



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



CEVİZ MEYVESİNDE DEMİR VE MANGAN KONSANTRASYONUNU BELİRLEYEN GENLERİN GWAS METODU İLE BELİRLENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Özge DOĞANAY

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

İzmir
2024

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**CEVİZ MEYVESİNDE DEMİR VE MANGAN
KONSANTRASYONUNU BELİRLEYEN
GENLERİN GWAS METODU İLE
BELİRLENMESİ**

Özge DOĞANAY

Danışman: Doç Dr. Duygu ATEŞ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı
Biyoteknoloji Yüksek Lisans Programı

İzmir
2024

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “CEVİZ MEYVESİNDE DEMİR VE MANGAN KONSANTRASYONUNU BELİRLEYEN GENLERİN GWAS METODU İLE BELİRLENMESİ” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

26/07/2024

İmzası

Özge DOĞANAY



ÖZET**CEVİZ MEYVESİNDE DEMİR VE MANGAN KONSANTRASYONUNU
BELİRLEYEN GENLERİN GWAS METODU İLE BELİRLENMESİ**

DOĞANAY, Özge

Yüksek Lisans Tezi, Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Duygu Ateş

Temmuz 2024, 51 sayfa

Ceviz, düşük glisemik indeksi ile insan sağlığına fayda sağlayan önemli bitkisel protein kaynaklarından biridir. Demir (Fe) ve Manganez (Mn), cevizin önemli besin bileşenlerinden ikisidir. Bu çalışmada ceviz meyvesindeki Mn ve Fe konsantrasyonlarıyla ilişkili SNP (Tek nükleotid polimorfizmleri) markörlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. 154 ceviz genotipinden oluşturulan populasyon iki farklı yıl boyunca değerlendirilmiş ve 16.473 SNP markörü ile genotipleme yapılmıştır. Toplam 154 genotip için GWAS (genom çapında ilişkilendirme çalışmaları) yapılmış ve sırasıyla beş ve 15 SNP'nin, ceviz genotiplerinde Fe ve Mn elementlerinin birikimini kontrol eden genlerle ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma, ceviz meyvelerindeki mikro besin elementlerinin besin değeri konsantrasyonlarındaki farklılığın genetik temeline ışık tutmaktadır. Biyofortifikasyon stratejilerinde cevizin besin değeri bileşenlerini arttırmak için belirlenen markörler, markör destekli seçim (MAS) yapmak için kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: GWAS, Ceviz, DArT, SNP, Mangan, Demir.

ABSTRACT
DETECTION OF GENES DETERMINING IRON AND MANGANESE
CONCENTRATION IN WALNUT FRUIT BY GWAS METHOD

DOĞANAY, Özge

MSc in Biotechnology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Duygu Ateş

July 2024, 51 pages

Walnut is one of the important plant protein sources that benefit human health with its low glycemic index. Iron (Fe) and Manganese (Mn) are two of the important nutritional components of walnut. This study aimed to determine SNP (Single Nucleotide Polymorphism) markers associated with Mn and Fe concentrations in walnut fruit. The population formed from 154 walnut genotypes was evaluated for two different years and genotyping was performed with 16.473 SNP markers. GWAS (genome-wide association studies) was performed for a total of 154 genotypes and it was determined that five and 15 SNPs, respectively, were associated with genes controlling the accumulation of Fe and Mn elements in walnut genotypes. This study sheds light on the genetic basis of the difference in nutritional value concentrations of micronutrients in walnut fruits. The markers determined to increase the nutritional value components of walnut in biofortification strategies can be used to perform marker-assisted selection (MAS).

Keywords: GWAS, Walnut, DArT, SNP, Manganese, Iron.



ÖNSÖZ

Mikro besin elementi eksiklikleri ve bunlarla ilişkili sağlık riskleri, dünya çapında önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Ceviz, proteinler, vitaminler, mineraller, esansiyel yağ asitleri ve diğer besin maddeleri açısından zengin olduğundan insan sağlığına faydaları olan yüksek kaliteli bir gıda olarak kabul edilmektedir. İnsan beslenmesi için gerekli besin elementlerinin ceviz meyvesinde birikimi ve insan sağlığına etkisi üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır. Ceviz meyvesinin de biyofortifikasyon yoluyla Fe ve Mn içeriğinin artırılması, insan sağlığı üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Cevizde biyofortifikasyon çalışmaları için ceviz populasyonunun genetik kaynakları besin elementleri açısından incelenmeli ve bu besin elementlerinin birikimiyle ilişkili DNA markörleri bulunmalıdır. Bu nedenle bu çalışma ceviz meyvesindeki Fe ve Mn mikro besin elementlerinin konsantrasyonlarını genlerle ilişkilendirmeyi amaçlamıştır.

İzmir

26.07.2024

Özge DOĞANAY



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
ÖNSÖZ	xv
İÇİNDEKİLER	xvii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xx
SİMGELER DİZİNİ	xxi
KISALTMALAR DİZİNİ	xxii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
3. GEREÇ VE YÖNTEM	8
3.1. Bitki Materyali Eldesi	8
3.2. Cevizde Mikro Besin Elementi Analizi	10
3.3. Fenotipik verilerin varyans analizi	11
3.4. Genotipik verilerin eldesi	11
3.5. Populasyon yapısının belirlenmesi	11
3.6. İlişki haritalaması	12
3.7. Aday gen tespiti	12
4. BULGULAR	13
4.1. Cevizde Mikro Besin Elementi Analizi	13
4.2. Fenotipik verilerin varyansının analizi	15

İÇİNDEKİLER(devam)

4.3. Genotipik veriler	16
4.4. Populasyonun yapısının belirlenmesi.....	16
4.5. İlişki analizi	18
4.6. Aday gen tespiti.....	23
5. TARTIŞMA	33
5.1. Cevizde Mikro Besin Elementi Analizi	33
5.2. Fenotipik verilerin varyans analizi	33
5.3. Populasyon yapısının belirlenmesi.....	34
5.4. İlişki haritalaması	35
5.5. Aday gen tespiti.....	37
6. ÖNERİLER.....	39
KAYNAKLAR DİZİNİ	40
TEŞEKKÜR.....	52
ÖZGEÇMİŞ	53

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.1:154 ceviz genotipinin Fe içeriğinin dağılım sıklığı (2021)	14
Şekil 4.2:154 ceviz genotipinin Fe içeriğinin dağılım sıklığı (2022)	14
Şekil 4.3: 154 ceviz genotipinin Mn içeriğinin dağılım sıklığı (2021)	15
Şekil 4.4: 154 ceviz genotipinin Mn içeriğinin dağılım sıklığı (2022)	15
Şekil 4.5: K değerleri ve ΔK	17
Şekil 4.6: SNP verilerinden elde edilen populasyon yapısı ($K = 3$)	17
Şekil 4.7: 154 ceviz genotipinin PCA grafiği	18
Şekil 4.8: 2021 yılı için Fe mikro besin elementinin Manhattan grafiği	19
Şekil 4.9: 2022 yılı için Fe mikro besin elementinin Manhattan grafiği	19
Şekil 4.10: 2021 yılı için Mn mikro besin elementinin Manhattan grafiği	20
Şekil 4.11: 2022 yılı için Mn mikro besin elementinin Manhattan grafiği	20
Şekil 4.12: Fe mikro besin elementinin 2021 yılına ait Q-Q grafiği	20
Şekil 4.13: Fe mikro besin elementinin 2022 yılına ait Q-Q grafiği	21
Şekil 4.14: Mn mikro besin elementinin 2021 yılına ait Q-Q grafiği.....	21
Şekil 4.15: Mn mikro besin elementinin 2022 yılına ait Q-Q grafiği.....	21

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge

Sayfa

Çizelge 3.1: Ceviz çeşitleri koleksiyonunun coğrafi kökenleri ve genotip adları ...9	9
Çizelge 4.1: 2021 ve 2022 yıllarında toplanan 154 ceviz genotipinin Fe ve Mn içerikleri13	13
Çizelge 4.2: Ceviz genotiplerindeki Fe ve Mn konsantrasyonlarının ANOVA analizi16	16
Çizelge 4.3: K=3 için beklenen heterozigotluk ve Fst değerleri.....17	17
Çizelge 4.4: Fe mikro elementi ile ilişkili markör listesi.....22	22
Çizelge 4.5: Mn mikro elementi ile ilişkili markör listesi22	22
Çizelge 4.6: SNP markörlerinin anatasyon sonuçları23	23

SİMGELER DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
%	Yüzde
°C	Derece Celcius
K	Potasyum
Na	Sodyum
Mg	Magnezyum
Ca	Kalsiyum
Fe	Demir
Zn	Çinko
Cu	Bakır
Mn	Mangan
Cd	Kadmiyum
MAS	Marker assisted selection

KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
GWAS	Genome Wide Association Mapping
AM	Association Mapping
LD	Linkage Disequilibrium SNP
DArT	Diversity Arrays Technology
PCA	Principal Component Analysis
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
FDR	False Discovery Rate
QTL	Quantitative Trait Loci
LG	Linkage Group
Chr	Kromozom
Mb	Megabaz
g	Gram
mg	Miligram
ml	Mililitre
kg	Kilogram

1. GİRİŞ

Sert kabuklu ceviz (*Juglans regia* L.), Juglandaceae familyasının *Juglans* cinsine ait bir meyvedir. Çok yıllıktır ve rüzgarla tozlaşır. Genomu diploid ($2n=2x=32$) kromozomlara sahiptir (Orman et al., 2020). Cevizin anavatanının Anadolu ve Orta Asya olduğu düşünülmektedir (Kalaev et al., 2020). Dünya çapında ceviz üretimi yılda 3,7 milyon tonun üzerindedir (Orooji et al., 2022). Üretimde Çin ilk sırada yer alırken onu ABD ve İran takip etmektedir (FAOSTAT, 2022). Türkiye ise, 141.790 hektar alanda üretilen 325 bin ton ceviz üretimiyle dünya ceviz üretiminde dördüncü sırada yer almaktadır (TÜİK, 2021). Üretimi daha ekonomik ve dünyanın birçok bölgesinde erişilebilir olduğu için bitki bazlı proteinler gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Sim et al., 2021). Ceviz, bu önemli bitkisel protein kaynaklarından biri olup dünya çapında ön plana çıkmakta ve birçok şekilde tüketilebilmektedir. Çerezlik olarak kullanımının yanı sıra reçel, yağ, helva, boya ve tane imalatında ayrıca pastacılık, bisküvi, parfüm ve ilaç sanayinde de kullanılmaktadır (Topcu, 2021). Cevizin düşük glisemik indeksi insan sağlığına faydalıdır (Şen, 2017). Düzenli ceviz tüketiminin kanser, diyabet, obezite, kalp hastalıkları ve kronik hastalıklar gibi birçok sağlık sorununu tedavi edebileceği klinik ve epidemiyolojik araştırmalarla ortaya konmuştur (Gundesli, 2021).

Cevizin 100 gramında 3,20 gram karbonhidrat, 68,0 gram yağ, 14,10 gram protein ve 630 kalori bulunmaktadır (Çağlarırnak, 2003). Bir avuç çiğ ceviz, kişinin günlük protein, yağ, antioksidan, vitamin (E, B1-3, B5-6, B9) ve mineral (K (potasyum), Na (sodyum), Mg (magnezyum), Ca (kalsiyum), Fe (demir), Zn (çinko) ve Cu (bakır) ihtiyacını karşılayabilmektedir (Şen ve Karadeniz, 2015). Manganez (Mn) ve Fe gibi besin elementlerinin cevizde birikimine odaklanan çok sayıda çalışma yapılmıştır (Cosmulescu et al., 2010; Muradoğlu et al., 2011; Gharibzahedi et al., 2012; Trandafir et al., 2016). Fe, nitrojenin sabitlenmesi, oksijenin taşınması ve depolanması, elektron transferi, substratın oksidasyonu ve indirgenmesi, hormon üretimi, DNA replikasyonu ve onarımı ve nitrojenin sabitlenmesi dahil olmak üzere insan vücudundaki çok sayıda metabolik işlemde rol oynamaktadır (Dlouhy and Outten, 2013). Fe için önerilen günlük alım miktarı yetişkin erkekler için sekiz mg, menopoz öncesi kadınlar için 18 mg ve hamile

kadınlar için 27 mg'dır (Pasricha et al., 2021). Demir eksikliği anemisi ve diğer sağlık sorunları, önerilen bu miktarların alınmaması nedeniyle ortaya çıkabilmektedir (Abbaspour et al., 2014). Dünya çapında 3,7 milyar kişi anemiye yakalanmıştır ve tüm ölümlerin %1,5'inden (0,8 milyon) anemi sorumludur (Aldemir et al., 2017). Kinazlar, hidrolazlar, transferazlar, piruvat karboksilazlar ve diğer çok sayıda enzim, Mn'yi kofaktör olarak kullanmaktadır (Freeland-Graves et al., 2016). Bir yetişkinin günde 0,7- 22,0 mg Mn tüketmesi önerilmektedir (Karaca et al., 2020). Hücrel enerji üretimi, immünolojik tepki, sinirsel aktivitenin kontrolü ve DNA, RNA ve protein sentezi için için gerekli bir elementtir (Ates et al., 2018a; Chen et al., 2018). Lupus, Perthes hastalığı ve Osgood Schlatters gibi kırık ve kollajen bozukluklarının yanı sıra amonyum toksisitesi de Mn eksikliği ile ilişkilendirilmiştir (Watts, 1990). Bu nedenle, bu tür elementleri günlük önerilen miktardan daha az tüketmek çeşitli sağlık sorunlarına neden olabilir. Bitki bazlı beslenme alışkanlıkları ve besinlerin mikro besin içeriğinin düşük olması bu sorunların başlıca nedenleridir (Hotz and Gibson, 2007; Tulchinsky, 2010). Bir çözüm olarak biyofortifikasyon önerilmektedir (Ates et al., 2018a). Biyofortifikasyon, bitki ıslahı ve biyoteknoloji kullanılarak bitkilerin mikro besin içeriğini artırmayı amaçlayan bir yaklaşımdır (Yang et al., 2007). Cevizde biyofortifikasyon çalışmaları için ceviz popülasyonunun genetik kaynakları besin elementleri açısından incelenmelidir. Daha sonra bu besin elementlerinin birikimiyle ilişkili DNA markörleri belirlenmelidir.

Diversity Array Teknolojisi (DArT) kullanılarak birçok SNP markörü oluşturulabilmektedir (Ates et al., 2018b; Erdoğmuş et al., 2020; Ferik et al., 2022). DArT, tüm genomdaki yüzlerce hatta binlerce SNP'yi tek bir çalışmayla bulabilen ucuz bir yöntemdir (Deres and Feyissa, 2022). Ek olarak, DNA hibridizasyonunu temel alır, analizi basitleştirir ve son derece etkilidir (Orman et al., 2020). Bu yöntem aynı zamanda veri toplamayı kolaylaştırır. DArT parmak izleri, ceviz ıslah programlarını hızlandırmak ve genotiplerindeki genetik çeşitliliği tanımlamak için çok önemlidir (Sansaloni et al., 2010).

Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS), birden fazla lokustaki alellerin bağlantı dengesizliğine (LD) dayalı niceliksel özelliklerin haritalandırılmasını sağlamaktadır. GWAS, markörler ve niceliksel özellikler arasındaki ilişkiyi belirlemek için kullanılmaktadır (Gupta et al., 2019; Uffelmann et al., 2021). Bu

yöntem, geleneksel bağlantı haritalarından daha hızlı ve daha ucuz sonuçlar sağlayabilir (Hamblin et al., 2011). İlişki haritalaması (AM), önemli bir tarihsel dönem boyunca doğal populasyon düzeyinde rekombinasyon olaylarını göstererek daha yüksek çözünürlüklü bir haritalama sağlamaktadır (Nordborg and Tavaré, 2002). GWAS, Japon kestanesi (Nishio et al., 2018), makademya (Nunn et al., 2022), ceviz (Bernard et al., 2020) ve badem (Sideli et al., 2023) gibi sert kabuklu yemişlerde çok sayıda çalışma tarafından incelenmiştir. Bugüne kadar AM çalışmaları, fotosentetik özellikler, verim, zar rengi ve meyve ve kabuk özellikleri (Arab et al., 2019; Orman et al., 2020) gibi çeşitli ceviz özelliklerini ele almıştır. Cevizde GWAS çalışmaları yapılmış olsa da, bu çalışma, ceviz meyvesindeki Fe ve Mn mikro elementlerinin alımını genlerle ilişkilendiren ilk GWAS çalışması olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Ceviz eski çağlardan beri insan beslenmesinde kullanılmaktadır. Ceviz ağacının anavatanı Orta Asya, Batı Himalayalar ve Kırgızistan'dır ve MÖ 1000 gibi erken bir tarihte Avrupa'da kültüre alınmıştır (Martínez et al., 2010). O zamandan beri dünya çapında Akdeniz tipi ekosistemlere sahip birçok bölgeye yayılmış ve adapte olmuştur. Badem, fındık, antep fıstığı ve kaju fıstığının yanı sıra dünyada en çok üretilen “kuruyemişler” arasındadır (Bernard et al., 2018b). Dünyanın en büyük ceviz üreticisi Çin olup onu ABD, İran, Türkiye, Ukrayna, Romanya, Fransa ve Hindistan takip etmektedir, ancak Şili ve Arjantin gibi diğer ülkelerde de üretim son yıllarda hızla artmıştır (Martínez et al., 2010). Ceviz proteinler, doymamış yağ asitleri, fosfolipidler, vitaminler, mineraller, esansiyel yağ asitleri ve diğer besin maddeleri açısından zengin olduğundan insan sağlığına faydaları olan yüksek kaliteli bir gıda olarak kabul edilmektedir (Geng et al., 2021). Ceviz tüketimi obezitenin, diyabetin ve kardiyovasküler hastalıkların tedavi edilmesinde ve önlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Kendall et al., 2011). İnsan beslenmesi için gerekli olan Fe ve Mn gibi besin elementlerinin ceviz meyvesinde birikimi üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır (Cosmulescu et al., 2010; Muradoglu et al., 2011; Gharibzahedi et al., 2012; Trandafir et al., 2016). Bu çalışmalarda ceviz meyvesindeki Mn miktarı 1,1-18,79mg/100g, Fe miktarı ise 1,2-6,6 mg/100g arasında bulunmuştur (Muradoglu et al., 2010; Trandafir et al., 2016; Acar ve Kazankaya, 2020; Verma et al., 2020).

Mikro besin elementi eksiklikleri ve bunlarla ilişkili sağlık riskleri, büyük bir küresel sağlık yükü haline gelmiştir. Birleşmiş Milletler (BM), mikro besin elementi eksiklikleriyle mücadelenin 2035 yılına kadar ulaşılması gereken sürdürülebilir kalkınma hedeflerinden biri olduğunu ilan etmiştir (Descalsota et al., 2018). Gelişmiş ülkelerde beslenme gereksinimleri çeşitli diyetler ve/veya gıda takviyeleri ile sağlanırken, gelişmekte olan ülkelerde yaşayan insanlar daha sınırlı bir beslenmeye sahip olabilir ve besin takviyelerine erişimleri olmayabilir (Ward, 2014). Bu sorunun çözümü için biyofortifikasyon önerilmektedir (Ates et al., 2018a). Biyofortifikasyon, genomik, biyoteknoloji ve ıslah tekniklerini kullanarak bitkilerdeki mineral ve vitamin miktarını

artırmaya yönelik bir stratejidir (Ali and Borrill, 2020). Biyofortifikasyon, sürekli yatırım gerektiren diyet takviyeleri ile karşılaştırıldığında, mikro besin elementi eksikliğinin üstesinden gelmeye yönelik sürdürülebilir ve uzun vadeli bir yaklaşımdır (De Valença et al., 2017). Biyofortifikasyon ile daha yüksek Zn ve Se içeriğine sahip pirinç (Mangueze et al., 2018), daha yüksek Fe ve Zn içeren buğday (Verma et al., 2016) ve provitamin A ile zenginleştirilmiş mısır (Manjeru et al., 2019) eşitleri geliştirilmiştir. Ceviz meyvesinin de biyofortifikasyon ile Fe ve Mn içeriğinin artırılması, Fe ve Mn eksikliklerini azaltarak insan sağlığı üzerinde ve hastalıkların tedavisinde önemli bir etkiye sahip olabilir.

Ceviz üzerine yapılan alışmalar, *J. regia*'nın ilk referans genomunun, *de novo* derleme tarafından kısa okumalardan bir araya getirilmesiyle genomikte yeni bir döneme girmiştir (Martínez-García et al., 2016). Güncel uzun okuma (long read) ve Hi-C dizileme teknolojileri, daha yüksek verim, çatlama kolaylığı ve açık zar rengi gibi cevizlerde arzu edilen tarımsal özelliklerin altında yatan genetik mekanizmaların araştırılması için bir temel oluşturan *J. regia* referans genom kalitesinin iyileştirilmesine katkıda bulunmuştur (Ji et al., 2021; Wang et al., 2022). Son birkaç yıldır ceviz ışlahında kullanılmak üzer genomik araçlar geliştirilmiştir. Örneėin, *J. regia* 700 K SNP ipi, Kaliforniya Üniversitesi Davis Ceviz İyileştirme Programının (Walnut Improvement Program) 27 kurucusunun yeniden dizileme verileri kullanılarak oluşturulmuştur; bu, ceviz genetiğinin araştırılmasında ve geliştirilmesinde son derece yararlı olmuştur (Marrano et al., 2019). Araştırmacılar, GWAS aracılığıyla bu ceviz panelini kullanarak meyve fenotipleri ve fenolojiyle ilgili özelliklerle bağlantılı genomik lokusları haritalandırmışlardır (Marrano et al., 2019; Bernard et al., 2020; Sideli et al., 2020).

Marrano et al. (2019), cevizde yapraklanma zamanı, hasat zamanı, meyve zarı rengi, yan dallanma ve verim olmak üzere beş özellik ile ilgili GWAS analizi yapmıştır. Analizde, 584 ceviz genotipi 266.224 SNP markörü ile taranmış ve bu beş özellikle ilişkili 55 SNP markörü saptanmıştır. Bir diğer çalışma grubu, 95 adet ceviz genotipini ve yeni Axiom *J. regia* 700 K SNP genotipleme çipini kullanarak meyve ve kabukla ilişkili lokusları belirlemeyi

amaçlamış ve 55 SNP markörünün, meyve ve kabukla ilgili özelliklerle önemli derecede ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir (Arab et al., 2019). Ceviz Axiom 700 k SNP çipi ile genotipleme yapılan başka bir çalışmada ise, karbon izotop ayrımcılığı ($\Delta^{13}C$) tarafından belirlenen ekofizyolojik özellikleri karakterize etmek için bir ilişki haritalama yaklaşımı kullanmıştır. Toplam 126.554 SNP kullanılmış ve dört SNP'nin $\Delta^{13}C$ ile bağlantılı olduğu tespit edilmiştir (Famula et al., 2019). Bu çalışmada da kullandığımız, Orman et al. (2020) tarafından elde edilen toplam 13.611 SNP (DArT) kullanılarak, 154 ceviz genotipinde yedi farklı meyve özelliği (meyve ağırlığı, meyve uzunluğu, meyve yüksekliği, meyve genişliği, kabuk kalınlığı, kabuk ağırlığı ve kabuk oranı) ile ilişkili SNP markörleri saptanmıştır (Orman et al., 2020). Yedi SNP meyve ağırlığı, 26 SNP meyve uzunluğu, 15 SNP meyve yüksekliği, 18 SNP meyve genişliği, 18 SNP kabuk kalınlığı, 12 SNP kabuk ağırlığı ve iki SNP kabuk oranı ile ilişkili olmak üzere, toplam 98 SNP markörü rapor edilmiştir. Akpunar et al. (2024)' de aynı SNP verisini kullanmış ve Ca ve P alınımı ile ilgili sırası ile 16 ve 11 ilişkili SNP belirlemişlerdir. Yapılan farklı bir GWAS çalışmasında ise 188 ceviz çeşidinde yaprak tomurcuklarının patlama zamanı ve çiçeklenmeyle ilgili özellikler ile ilişkili markörler belirlenmiştir (Bükücü et al., 2020). DArT-seq ise, bu özelliklerin altında yatan markörleri tanımlamak için toplam 33.519 markör ile genotipleme amacıyla kullanılmıştır. Yaprak tomurcuklarının patlaması ve çiçeklenme ile ilişkili farklı fenolojik özellikler arasında önemli korelasyonlar belirlenmiş ve 246 farklı SNP markörü rapor edilmiştir. Farklı bir çalışmada; ceviz kabuğunun sütur özelliğinin genetik temelini incelemek için QTL haritalaması ve GWAS uygulamıştır (Sideli et al., 2020). Sütur kuvveti için LG05'te fenotipik varyasyonun %34'ünü açıklayan majör bir QTL saptanmış; ek olarak, LG01 ve LG11'de iki küçük QTL tanımlanmıştır. Bu üç QTL'nin tümü, karşılık gelen kromozomlar üzerinde GWAS ile doğrulanmıştır. Önemli ölçüde ilişkili beş SNP, MLM algoritması kullanılarak Chr05'te tanımlanmıştır. Bernard et al. (2020), yapmış oldukları GWAS çalışmasında Axiom™ *J. regia* 700 K SNP çip ile genotiplendirilen, 170 ceviz genotipinden oluşan bir panel kullanmıştır. Chr1'in başlangıç kısmında bulunan SNP'lerin, hem tomurcuklanma, hem de dişi çiçeklenme tarihleri ile güçlü ilişkileri olduğu saptanmış ve bu bulgular, aynı genomik bölgede saptanan QTL'ler tarafından doğrulanmıştır. Ayrıca Chr11'de çift

evcikliik ve yatay dallanma ile ilişkili SNP'ler saptanmış ve çiçeklenmeyi kontrol eden birçok aday gen belirlenmiştir. Özellikle dişi çiçeklenme tarihiyle ilişkili olarak, hücre bölünmesi ve şeker katabolize eden enzimleri kodlayan çift evcikliikle ilişkili genler bulunmuştur (Bernard et al., 2020). Aynı çalışma grubu, benzer şekilde Axiom™ *J. regia* 700 K SNP çip ile genotiplendirilen, 170 ceviz genotipinden oluşan aynı panelde, başka bir GWAS çalışması daha yürütmüş, çalışmada morfometrik, şekil, hacim, ağırlık, sütur ve besin bileşimi ile ilgili toplam 25 meyve özelliği için 60'tan fazla markör-özellik ilişkisi saptamışlardır (Bernard et al., 2021). Bernard et al. (2021)'in bu çalışması, aynı zamanda, cevizde besin içeriği ile ilgili yapılan ilk GWAS çalışması olup, E vitamini aktivitesi ile ilişkili iki SNP tanımlanmıştır. Yapılan farklı bir çalışmada, kabuk kalınlığının genetik temelini incelemek için GWAS yapılmıştır (Wang et al., 2022). GWAS, 10,9 Mb yüksek kaliteli SNP'ler ve 10 agronomik özellik (ceviz meyvesinin boyuna çapı, enine çapı, yan çapı, ağırlığı, iç ağırlığı, kabuk kalınlığı, yağ oranı, protein oranı, meyve indeksi ve meyve doluluk oranı) kullanılarak gerçekteşirilmıştir. JrPXC1 geninin ceviz kabuğunda ikincil duvar selüloz kalınlaşmasının düzenlenmesinde görev aldığı doğrulanmıştır (Wang et al., 2022). Arab et al. (2022), tek bir bahçe denemesinde üretilen ve farklı tarımsal iklim bölgelerinden gelen 150 farklı ceviz familyasından 1500 fidenin fotosentetik kapasiteleri değerlendirmiştir. GWAS'ta, ana ağaçlarda bulunan Axiom™ *J. regia* 700 K SNP çipi verileri (MArray) ve hem ana ağaçlarda (MGBS) hem de soylarda (PGBS) dizileme yoluyla genotipleme (GBS) verileri dahil olmak üzere üç genomik veri seti kullanılmıştır. Arap et al. (2022), MArray, MGBS ve PGBS veri kümeleri aracılığıyla her koşulda tüm fotosentetik özelliklerle ilişkili sırasıyla toplam 544, 524 ve 481 anlamlı SNP tanımlamıştır. Tanımlanan anlamlı SNP'lerin biri ve beşi sırasıyla MArray ve MGBS ile MGBS ve PGBS veri kümeleri arasında ortak bulunmuştur. Bu sonuçlar, iki farklı genotipleme yöntemi kullanılarak tanımlanan markör-özellik ilişkilerinin önemini göstermektedir. Görüldüğü üzere cevizde GWAS çalışmaları yapılmış olmasına rağmen bu çalışma, ceviz meyvesindeki Fe ve Mn mikro elementlerinin alımını genlerle ilişkilendiren ilk AM çalışması olacaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali Eldesi

Türkiye'nin çeşitli illerinden toplanan ve Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nün (ABKMAE) Genetik Kaynaklar Parselleri'nde bulunan, 154 farklı ceviz genotipinin her birinden toplanan ceviz meyveleri, mikro besin elementi (Fe ve Mn) analizlerinde kullanılmıştır. Ceviz genotiplerinin isimleri ve toplandıkları orijin bilgileri Çizelge 3.1'de sunulmuştur. Genotipler arasında Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden 135, ABD'den 10, Fransa'dan beş, eski Yugoslavya'dan iki, Portekiz'den bir ve Macaristan'dan bir çeşit yer almaktadır. Enstitü Genetik Kaynaklar Parselinde bulunan bu ceviz genotiplerinde bu süreçte herhangi bir işlem, uygulama veya proje yürütölmemiş olup, rutin bakım ve sulama koşulları altında, üç tekerrürlü olarak muhafaza edilmişlerdir.

Çizelge 3.1: Ceviz çeşitleri koleksiyonunun coğrafi kökenleri ve genotip adları (Orman et al., 2020)

No	Genotip ismi	Toplandığı orijin	Ülke	No	Genotip ismi	Toplandığı orijin	Ülke
1	126/8	Balıkesir	Türkiye	78	205/17	Kırklareli	Türkiye
2	24/KE/17	Erzincan	Türkiye	79	KM-2	Kahramanmaraş	Türkiye
3	C/440	Manisa	Türkiye	80	20/CML/119	Denizli	Türkiye
4	KAPLAN/86	Yalova	Türkiye	81	YALOVA/4	Yalova	Türkiye
5	24/KE/21	Erzincan	Türkiye	82	BACK	Yugoslavya	Yugoslavya
6	85-6	Kırklareli	Türkiye	83	K/1	Kahramanmaraş	Türkiye
7	88-1	Edirne	Türkiye	84	HOWARD	ABD	ABD
8	28/AL/11	Giresun	Türkiye	85	CHAMPION	Yugoslavya	Yugoslavya
9	AMIGO	ABD	ABD	86	YALOVA/3	Kocaeli	Türkiye
10	RENDEDE-38	Portekiz	Portekiz	87	268/33	Tekirdağ	Türkiye
11	104/114	Bursa	Türkiye	88	208C/117	Çanakkale	Türkiye
12	GÜMÜŞHANE /2	Gümüşhane	Türkiye	89	K58	Kırşehir	Türkiye
13	1035/73	Tekirdağ	Türkiye	90	FERNETTE	Fransa	Fransa
14	65-7	Van	Türkiye	91	68-AGA-34	Aksaray	Türkiye
15	15/33	Balıkesir	Türkiye	92	LARA	Fransa	Fransa
16	K/129	Kırklareli	Türkiye	93	68-AGA-28	Aksaray	Türkiye
17	KR/300	Kırşehir	Türkiye	94	FERNOR	Fransa	Fransa
18	26C/146	Tekirdağ	Türkiye	95	SOLEZ-1	Bursa	Türkiye
19	GİRESUN-16	Giresun	Türkiye	96	68-AGA-3	Aksaray	Türkiye
20	FRANQUETTE	Fransa	Fransa	97	KAMAN 1	Kırşehir	Türkiye
21	GİRESUN	Giresun	Türkiye	98	İSTANBUL/7	Yalova	Türkiye
22	40/KM-3	Kırşehir	Türkiye	99	M-10	Bulgaristan	Bulgaristan
23	155-B15	Edirne	Türkiye	100	HARTLEY	ABD	ABD
24	65-4	Van	Türkiye	101	FRX74/7	Yalova	Türkiye
25	230-37	Tekirdağ	Türkiye	102	PEDRO	ABD	ABD
26	20/CML/50	Denizli	Türkiye	103	MRS-18	Kahramanmaraş	Türkiye
27	C19	Kırklareli	Türkiye	104	MUYA-8	Bursa	Türkiye
28	C230/37	Manisa	Türkiye	105	20/BZK/501	Denizli	Türkiye
29	1974/3	Kırklareli	Türkiye	106	SERR	ABD	ABD
30	24/KE/14	Erzincan	Türkiye	107	BAYIR-1	Bursa	Türkiye
31	VINA	ABD	ABD	108	MUYA-1	Bursa	Türkiye
32	58/KO/2	Sivas	Türkiye	109	BM-1	Bursa	Türkiye
33	GİR/14	Giresun	Türkiye	110	182/112	Yalova	Türkiye
34	SEN/2	Erzincan	Türkiye	111	MRS-12	Kahramanmaraş	Türkiye
35	1974/1	Bursa	Türkiye	112	KURTKOY	Adapazarı	Türkiye
36	REGIO	Fransa	Fransa	113	74C/154	Kırklareli	Türkiye
37	24/KE/25	Erzincan	Türkiye	114	GİRESUN/7	Giresun	Türkiye
38	TOKAT-1	Tokat	Türkiye	115	GİRESUN/13	Giresun	Türkiye
39	242C/189	Bilecik	Türkiye	116	87/8	Tekirdağ	Türkiye
40	28/SE/39	Giresun	Türkiye	117	65C/116	Tekirdağ	Türkiye
41	177/52	Balıkesir	Türkiye	118	26C/107	Tekirdağ	Türkiye

42	85/12	Tekirdağ	Türkiye	119	142C/127	Kırklareli	Türkiye
43	ALTINOVA	Altınova	Türkiye	120	KOCAELİ/2	Kocaeli	Türkiye
44	60/NI/10	Tokat	Türkiye	121	258/49	Çanakkale	Türkiye
45	24/KE/20	Erzincan	Türkiye	122	14B/19	İstanbul	Türkiye
46	24/KE/15	Erzincan	Türkiye	123	7/C140	Edirne	Türkiye
47	BİLECİK	Bilecik	Türkiye	124	24/ER/37	Erzincan	Türkiye
48	MERSİN/5	Mersin	Türkiye	125	MERSİN/3	Mersin	Türkiye
49	1974/4	Balıkesir	Türkiye	126	103/107	Bursa	Türkiye
50	TU/1	Tokat	Türkiye	127	07/KOR/1	Antalya	Türkiye
51	98/115	Tekirdağ	Türkiye	128	35/İZ/1	İzmir	Türkiye
52	KM/1	Kırşehir	Türkiye	129	49/97	Bursa	Türkiye
53	239/C80	Adapazarı	Türkiye	130	MUĞLA/2	Muğla	Türkiye
54	C56	Yalova	Türkiye	131	156C/17	Bilecik	Türkiye
55	141C/179	Bilecik	Türkiye	132	58/KO/21	Sivas	Türkiye
56	40KR/2	Kırşehir	Türkiye	133	28/AL/12	Giresun	Türkiye
57	20/BZK/502	Denizli	Türkiye	134	İSTANBUL/2	İstanbul	Türkiye
58	PAYNE	ABD	ABD	135	44001.00	Malatya	Türkiye
59	ASHLEY	ABD	ABD	136	AMASYA/4	Amasya	Türkiye
60	74/7	Yalova	Türkiye	137	SALTO/6	Adıyaman	Türkiye
61	230/33	Kırklareli	Türkiye	138	214/47	Çanakkale	Türkiye
62	C4400-11	İzmir	Türkiye	139	MUSABAK	Van	Türkiye
63	77H/1	Yalova	Türkiye	140	1974/8	Kırklareli	Türkiye
64	TOKAT-40	Tokat	Türkiye	141	İSTANBUL/1	İstanbul	Türkiye
65	24/KE/18	Erzincan	Türkiye	142	60/TO/24	Tokat	Türkiye
66	147C/176	Kırklareli	Türkiye	143	83/C/150	Kırklareli	Türkiye
67	65/6	Van	Türkiye	144	144/84	Bursa	Türkiye
68	BURSA/2	Bursa	Türkiye	145	ANTALYA/7	Antalya	Türkiye
69	65/4	Van	Türkiye	146	YANIK	Adapazarı	Türkiye
70	143/187	Bilecik	Türkiye	147	TOKAT/8	Tokat	Türkiye
71	MIDLAND	ABD	ABD	148	12/C/35	Tekirdağ	Türkiye
72	40KR/1	Kırşehir	Türkiye	149	77/C/105	Tekirdağ	Türkiye
73	58/KO/20	Sivas	Türkiye	150	56/54	Balıkesir	Türkiye
74	1974/5	Adapazarı	Türkiye	151	ŞEBİN	Giresun	Türkiye
75	65/3	Van	Türkiye	152	CHANDLER	ABD	ABD
76	24/ER/35	Erzincan	Türkiye	153	OĞUZLAR/77	Çorum	Türkiye
77	65/5	Van	Türkiye	154	YALOVA/1	İstanbul	Türkiye

3.2. Cevizde Mikro Besin Elementi Analizi

Ceviz içleri kuru yakma yöntemiyle yakılmıştır (Kacar ve İnal, 2008). Kuru yakma analizinde her bir ceviz genotipi için üç tekerrür kullanılmıştır. Her genotip için meyveler toplanmış (bir kg) ve kabuklarından ayrılmıştır. Numuneler havalandırılmalı bir fırında 70°C'de kurutulup daha sonra öğütülmüştür. Öğütülmüş ceviz örnekleri porselen krozelere 1 g tartılarak kül fırınında 550 °C'de 3 saat boyunca yakılmıştır. Yakıldıktan sonra geriye kalan kül, 10 mililitre 1 M

hidroklorik asit ile karıştırılmıştır. Çözeltiyi 50 ml'lik şişelere süzmek için filtre kâğıdı kullanılmış ve 50 ml'ye tamamlayacak şekilde distile su ilave edilmiştir. İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi olan Agilent 7900 ICP-MS kullanılarak numunelerin Mn ve Fe elementi içerikleri belirlenmiştir.

3.3. Fenotipik verilerin varyans analizi

İstatistik yazılımı SPSS sürüm 29.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak, genotipin (G), yılın (Y) ve bu iki parametrenin ortak etkileşimlerinin etkilerini belirlemek amacıyla karma etki modeline (mixed-effect model) dayalı olarak her veri seti için varyans analizi yapılmıştır. Ayrıca kalıtım derecesi (heritability) Ma et al. (2021) tarafından verilen formüle göre hesaplanmıştır.

3.4. Genotipik verilerin eldesi

Orman et al. (2020) DArT analizi ile toplam 16.774 SNP geliştirmiş ve bu SNP verileri mevcut çalışmada analiz için kullanılmıştır.

3.5. Populasyon yapısının belirlenmesi

STRUCTURE yazılımı ile (v.2.3.4), Bayesian modelleme kullanılarak 154 ceviz genotipinin populasyon yapıları belirlenmiştir (Pritchard et al., 2000). K değeri, her lokustaki alel frekansları tarafından belirlenen popülasyondaki grup sayısını temsil eder (Evanno et al., 2005). STRUCTURE HARVESTER programı ile (Earl and VonHoldt, 2012), her K değeri için en yüksek olasılığı gösteren K değeri belirlenmiştir. En iyi K değerini bulmak için 1-10 arasında değişen her grup için hesaplama yapılmıştır. 50.000 Markov Chain Monte Carlo (MCMC) tekrarı çalıştırılmıştır. Ek olarak, ilişki sonuçlarındaki olası karmaşıklığı en aza indirmek ve doğru ilişkileri tanımlamaya yardımcı olmak için, popülasyondaki genetik çeşitliliği temsil eden bir Q matrisi STRUCTURE yazılımı kullanılarak oluşturulmuştur (Ozturk et al., 2017). Aynı gruptaki bireyler arasında beklenen heterozigotluk (gen çeşitliliği) ve populasyon farklılaşması (F_{st} değeri), STRUCTURE yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır (Shahi Shavvon et al., 2023). R programı, genotiplerin uzaysal konumlarını gösteren temel bileşenler analizini (PCA) gerçekleştirmek için kullanılmıştır.

3.6. İlişki haritalaması

Popülasyondaki genotipler arasındaki göreceli akrabalık ilişkilerini ayarlamak için TASSEL 5.0 (v.5.2.87) yazılımı kullanılarak bir akrabalık (K) matrisi elde edildi (Bradbury et al., 2007). Daha sonra, bu veri kümelerini birlikte değerlendirmek için, hem Q matrisini hem de K matrisini içeren Mixed Linear Model (MLM) Q + K yaklaşımı, popülasyon yapısını ve genotipler arasındaki ilişkiyi hesaba katmak için kullanıldı (Karaca et al., 2020). TASSEL, SNP markörleri ve mikro besinler arasındaki ilişkileri gösteren Manhattan grafiklerini oluşturmak ve genotipler arasındaki genetik ilişkileri gösteren akrabalık matrisini hesaplamak için kullanılmıştır. Önemli markörlerin tanımlanması R yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve her bir mikro elementin false discovery rate (FDR) (Benjamini and Hochberg, 1995) değeri bağımsız hesaplanmıştır. Ayrıca TASSEL program, quantile-quantile (Q-Q) grafiklerini görüntülemek için kullanılmıştır.

3.7. Aday gen tespiti

Ulusal NCBI veri tabanını kullanarak, Fe ve Mn konsantrasyonlarıyla bağlantılı önemli SNP markörlerinin sekanslarına dayanarak aday genleri tanımlamak için Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) analizi yapılmıştır. SNP pozisyonunun 100 kb yukarı ve aşağı akışındaki genler tanımlanmıştır.

4. BULGULAR

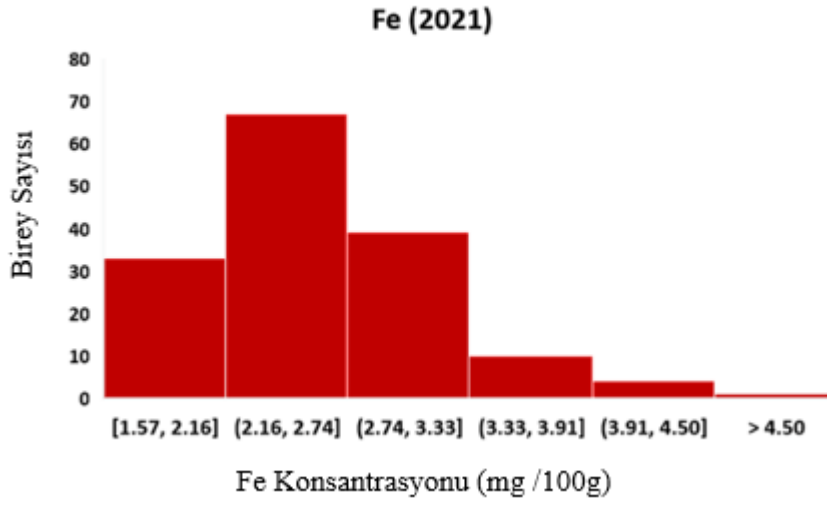
4.1. Cevizde Mikro Besin Elementi Analizi

Toplam 154 farklı ceviz genotipinin meyvelerindeki iki yıllık (2021–2022) Fe ve Mn düzeyleri Çizelge 4.1’de gösterilmektedir. Meyvelerdeki Fe konsantrasyonu 1,57 ila 4,71 mg/100 g arasında değişmektedir ve ortalama 2,61 mg/100 g; Mn konsantrasyonu ise 1,13 ile 53,64 mg/100 g arasında değişmektedir ve ortalama değeri 5,62 mg/100 g bulunmuştur (Çizelge 4.1). Ceviz genotipleri arasında Fe ve Mn konsantrasyonları sırasıyla yaklaşık üç ve 47,5 kat farklılık göstermiştir. "SEN/2" genotipi en yüksek Fe içeriğine (5,45 mg/100 g) sahipken, "MUYA-8" genotipi en düşük Fe içeriğine (1,20 mg/100 g) sahiptir. Mn miktarı açısından değerlendirildiğinde "C19" genotipi en düşük Mn içeriğine (1,02 mg/100g) sahipken, "TOKAT/8" genotipi en yüksek Mn içeriğine (55,58 mg/100g) sahip genotipler olarak belirlenmiştir.

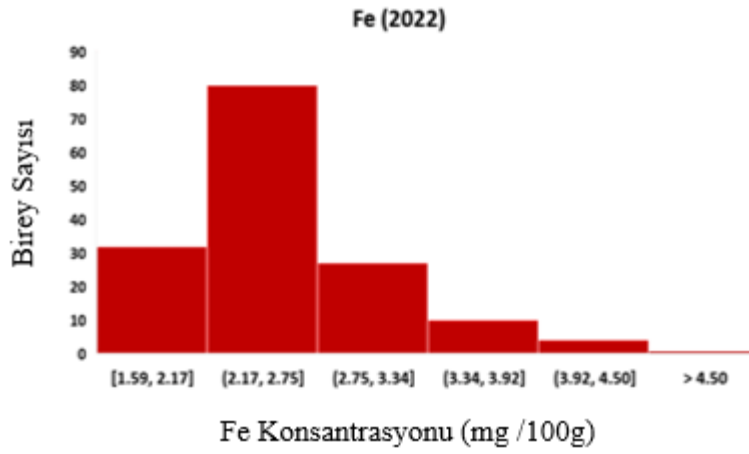
Çizelge 4.1: 2021 ve 2022 yıllarında toplanan 154 ceviz genotipinin Fe ve Mn içerikleri

	Fe (mg/100g)		Mn (mg/100g)	
Yıl	2021	2022	2021	2022
Minimum	1,57	1,79	1,14	1,13
Maksimum	4,71	4,71	53,64	52,55
Ortalama	2,63	2,59	5,67	5,57
Standart sapma	0,54	0,53	9,11	9,01

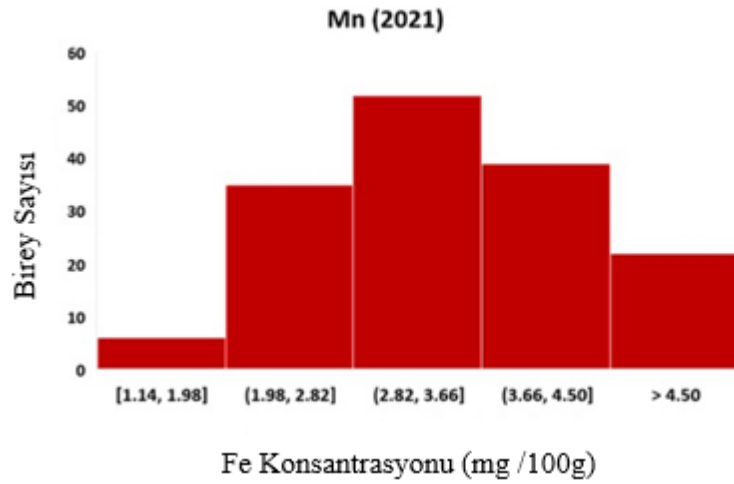
Meyvelerdeki Fe (Şekil 4.1, 4.2) ve Mn (Şekil 4.3, 4.4) konsantrasyonları için 154 genotipin sürekli binom dağılım modeli (continuous binomial distribution pattern), bu konsantrasyonların iki yıllık (2021– 2022) ortalama frekans dağılımı ile belirlenmiştir. Fenotipleme profillerine dayalı olarak Fe ve Mn konsantrasyonlarının frekans dağılımları, her genotipin genetik arka planının önemini ortaya koymuştur.



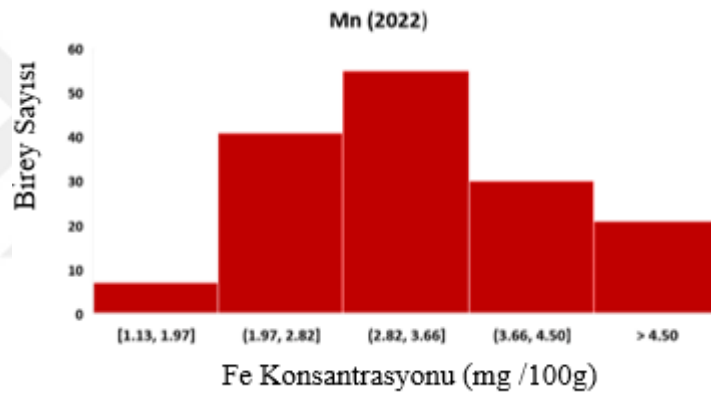
Şekil 4.1:154 ceviz genotipinin Fe içeriğinin dağılım sıklığı (2021)



Şekil 4.2:154 ceviz genotipinin Fe içeriğinin dağılım sıklığı (2022)



Şekil 4.3: 154 ceviz genotipinin Mn içeriğinin dağılım sıklığı (2021)



Şekil 4.4: 154 ceviz genotipinin Mn içeriğinin dağılım sıklığı (2022)

4.2. Fenotipik verilerin varyansının analizi

Fe'nin ANOVA analizi sonucu ceviz genotiplerinin Fe konsantrasyonunun $P \leq 0.001$ seviyesinde anlamlı olduğunu gösterdi, yani bu elementin birikiminin genotiplere göre farklı konsantrasyonlarda olduğu anlamına gelmektedir (Çizelge 4.5). Ayrıca bu besin elementinde Y ve Y*G etkileşimlerinin etkilerinin önemsiz olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

Fe besin elementi gibi ceviz genotipleri arasındaki Mn konsantrasyonu farkının da $P \leq 0,001$ düzeyinde anlamlı bulunması bu elementin birikiminin genotipe göre değiştiğini göstermektedir. Ayrıca bu elementte Y ve Y*G etkileşimlerinin etkilerinin de anlamlı olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Ek

olarak, kalıtım değerinin Fe için 0,92 ve Mn için 0,99 olması, bunların çevresel faktörlerle karşılaştırıldığında, genetik faktörlerin etkisi altında olduğu kadar niceliksel olarak da kalıtsal olduklarını göstermektedir.

Çizelge 4.2: Ceviz genotiplerindeki Fe ve Mn konsantrasyonlarının ANOVA analizi

	Fe				Mn			
	df	Ort	F	Önemlilik	df	Ort	F	Önemlilik
Yıl (Y)	1	0,29	6,50	0,01	1	2,47	15,48	<0,001
Genotip (G)	153	1,70	37,76	<0,001	153	495.34	3108.37	<0,001
Y * G	153	0,02	0.46	1	153	0,38	2,39	<0,001
Hata	616	0,04			616	0,16		
Kalıtılabilirlik	0,92				0,99			

4.3. Genotipik veriler

Orman et al. (2020) tarafından geliştirilen toplam 16.774 SNP markörü %80 filtrasyon oranına (call rate) göre filtrelenmiştir. Geriye kalan 16.473 temiz SNP markörü kullanılarak genotipleme yapılmıştır.

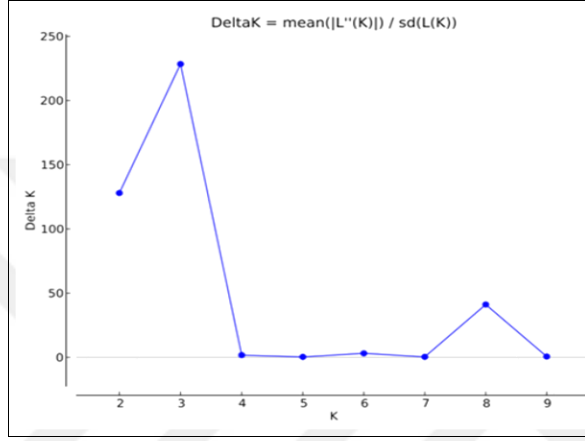
4.4. Populasyonun yapısının belirlenmesi

STRUCTURE programı kullanılarak 16.473 SNP markörünün tamamı incelenmiştir. Toplam 154 ceviz genotipi populasyon yapısına göre üç farklı gruba ayrılmıştır. Delta K'nın (ΔK) en yüksek değerinin $K = 3$ 'te olduğu bulunmuştur (Şekil 4.5). Tüm ana gruplar çok düşük değişkenliğe sahip birkaç alt gruba bölünmüştür. $K=3$ 'te birinci grup (Şekil 4.6, kırmızı) ve üçüncü grup (Şekil 4.6, mavi) Türk çeşitlerinden, ikinci grup (Şekil 4.6, yeşil) ise ABD, Fransa ve Portekiz çeşitlerinden oluşmuştur.

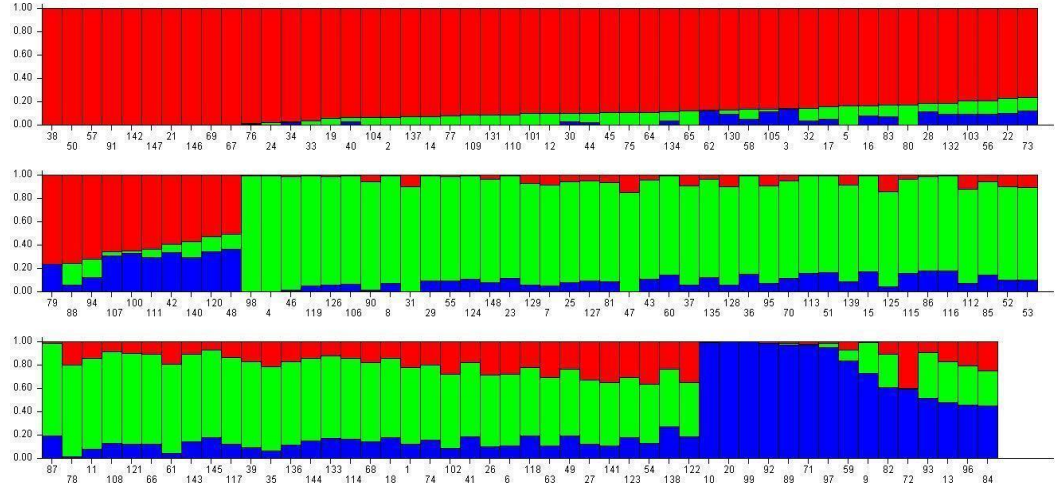
Çizelge 4.3, $K = 3$ 'te beklenen heterozigotluğun 0,24 ila 0,37 arasında değiştiğini ve ortalama 0,32 olduğunu, F_{st} 'nin ise 0,07 ila 0,45 arasında değiştiğini ve ortalama değerinin 0,22 olduğunu göstermektedir. PCA, 154 ceviz genotipini üç ana gruba ayırmıştır (Şekil 4.7). PCA analizinin sonucu STRUCTURE'ın sonuçlarını doğrulamıştır.

Çizelge 4.3: K=3 için beklenen heterozigotluk ve Fst değerleri

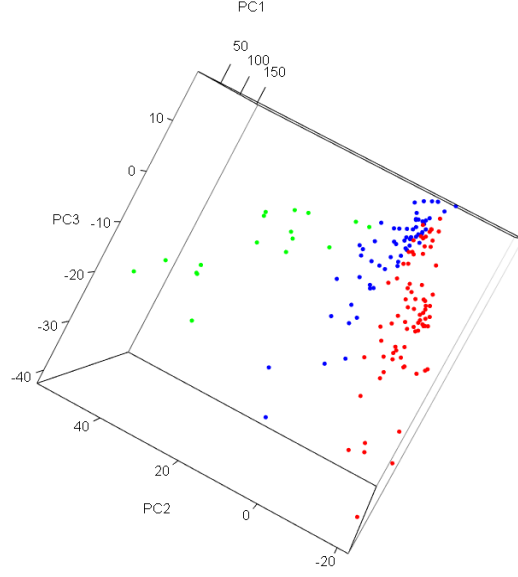
Gruplar	K=3	
	Beklenen Heterozigotluk	Fst Değeri
1	0,37	0,07
2	0,24	0,45
3	0,34	0,13
Ortalama	0,32	0,22



Şekil 4.5: K değerleri ve ΔK



Şekil 4.6: SNP verilerinden oluşturulan populasyon yapısı (K = 3). Her birey dikey bir çizgiyle temsil ediliyor ve farklı renkler farklı grupları belirtiyor. Tamamı mavi veya kırmızı renk olan dikey çizgiler Türk çeşitlerini, yeşil renk ise ABD, Fransa ve Portekiz çeşitlerini temsil etmektedir.



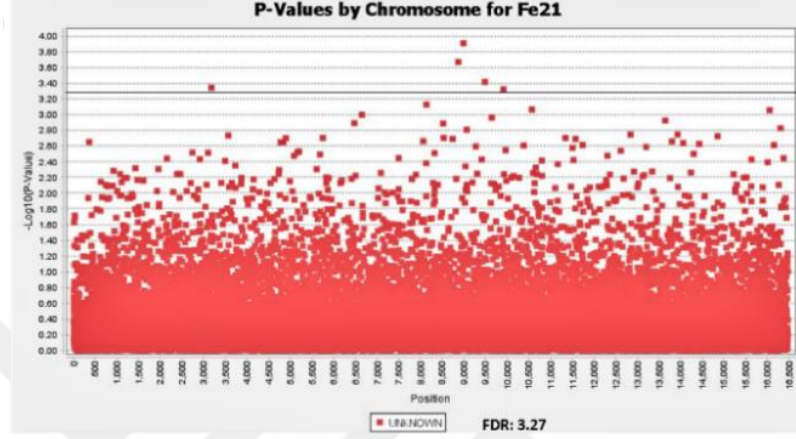
Şekil 4.7: 154 ceviz genotipinin PCA grafiği. Her birey bir nokta ile temsil ediliyor ve farklı renkler farklı grupları belirtiyor. Mavi veya kırmızı renk Türk çeşitlerini, yeşil renk ise ABD, Fransa ve Portekiz çeşitlerini temsil etmektedir.

4.5. İlişki analizi

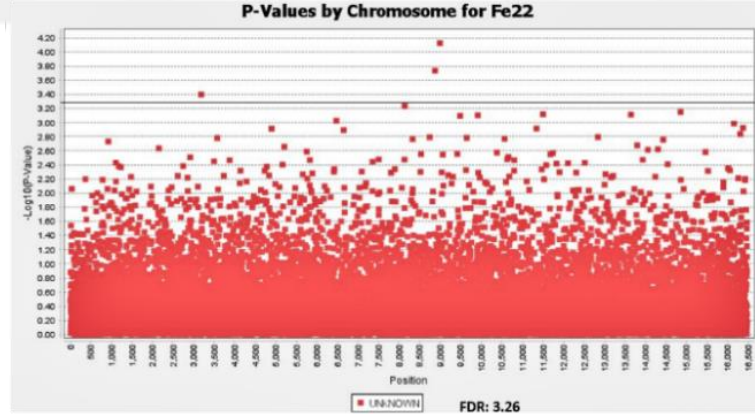
TASSEL programında MLM (Q-K) modeli kullanılarak farklı deneysel koşulların ortalaması alınarak oluşturulan veri setlerinin birleştirilmesiyle Manhattan grafikleri üretilmiş ve her markör için FDR değerlerine uygun olarak ilişki haritalama analizleri gerçekleştirilmiştir. FDR çizgisinin üstünde kalan markörler önemli kabul edilmiştir (Şekil 4.8; 4.11). Ek olarak, Şekil 4.12 ve 4.15'te Q-Q grafikleri gösterilmektedir. Bu grafikler, elementlere ait beklenen (Expected-log10(p)) ve gözlenen (Observed-log10(p)) p değerlerini göstermektedir.

Toplam 16.473 SNP'den üçünün [SNP8997, SNP8879, SNP3185, SNP9917] ve beşinin [SNP8997, SNP8879, SNP9489, SNP3185] sırasıyla 2022 ve 2021'de yetiştirilen cevizlerin Fe alınımları ile önemli ölçüde ($P < 0,01$) ilişkili olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.4). Fe alınımları güçlü bir şekilde ilişkili olan üç SNP (SNP8997, SNP8879 ve SNP3185) hem 2021 hem de 2022 yıllarında ortak çıkmıştır (Çizelge 4.4).

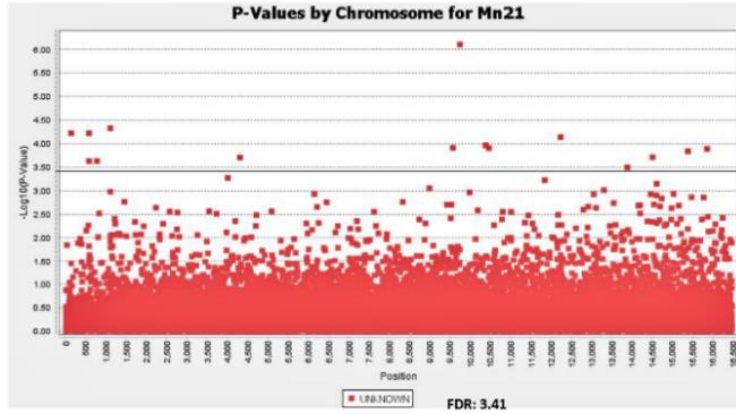
Toplam 16.473 SNP'den 15'i [SNP9749, SNP1107, SNP132, SNP580, SNP12232, SNP10383, SNP9574, SNP10464, SNP15859, SNP15384, SNP14511, SNP4309, SNP582, SNP775, SNP13887] hem 2021 hem de 2022 yıllarında Mn alınımları ile önemli ölçüde ilişkili çıkmıştır (Çizelge 4.5).



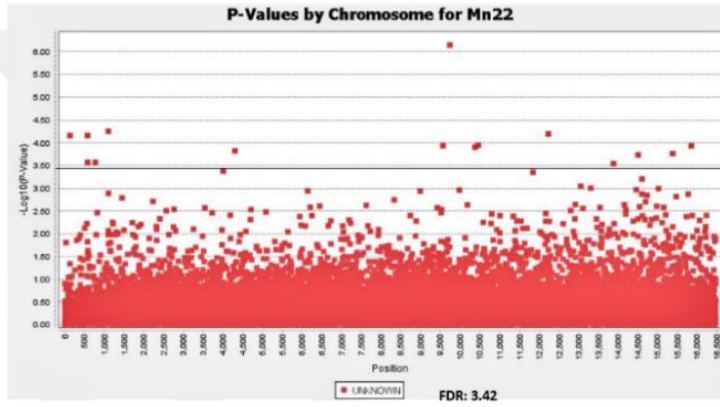
Şekil 4.8: 2021 yılı için Fe mikro besin elementinin Manhattan grafiği. Her bir kırmızı kare bir markörü temsil etmektedir. FDR çizgisinin üzerindeki markörler ilişkili bulunan markörlerdir ve önemli kabul edilmişlerdir.



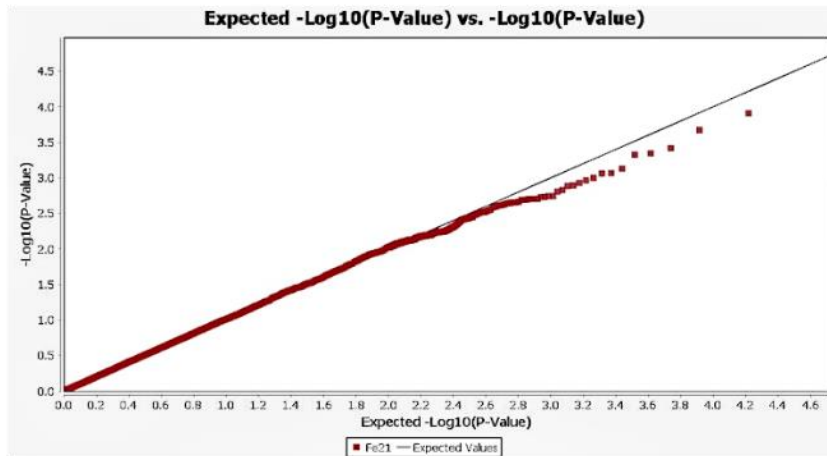
Şekil 4.9: 2022 yılı için Fe mikro besin elementinin Manhattan grafiği. Her bir kırmızı kare bir markörü temsil etmektedir. FDR çizgisinin üzerindeki markörler ilişkili bulunan markörlerdir ve önemli kabul edilmişlerdir.



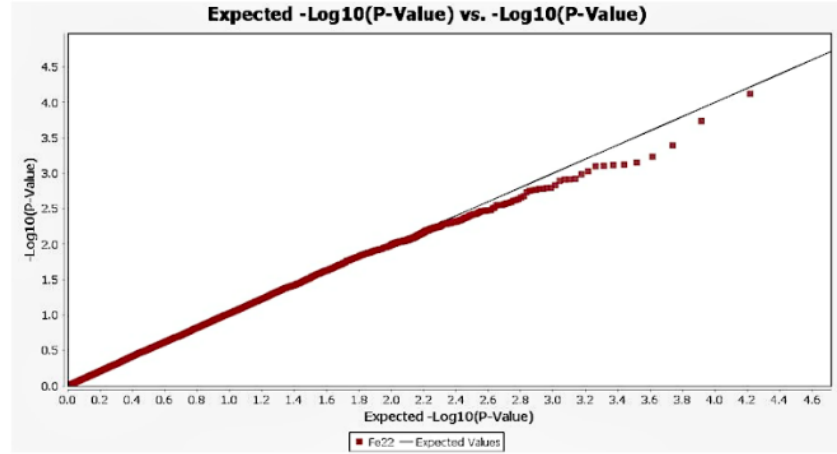
Şekil 4.10: 2021 yılı için Mn mikro besin elementinin Manhattan grafiği. Her bir kırmızı kare bir markörü temsil etmektedir. FDR çizgisinin üzerindeki markörler ilişkili bulunan markörlerdir ve önemli kabul edilmişlerdir.



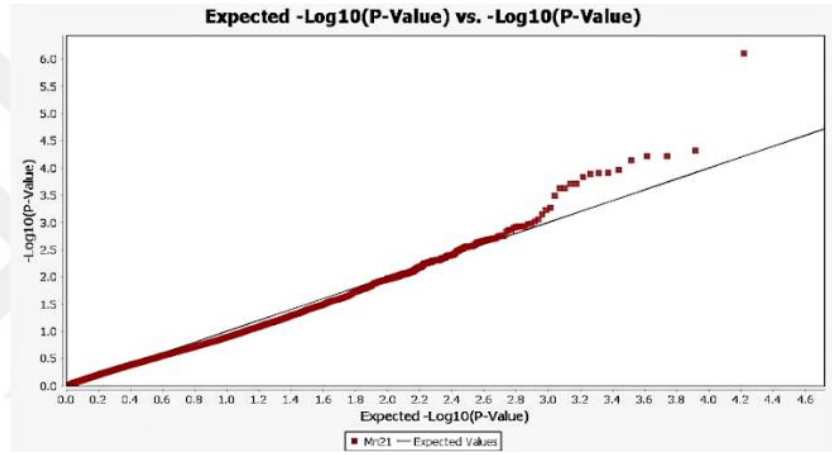
Şekil 4.11: 2022 yılı için Mn mikro besin elementinin Manhattan grafiği. Her bir kırmızı kare bir markörü temsil etmektedir. FDR çizgisinin üzerindeki markörler ilişkili bulunan markörlerdir ve önemli kabul edilmişlerdir.



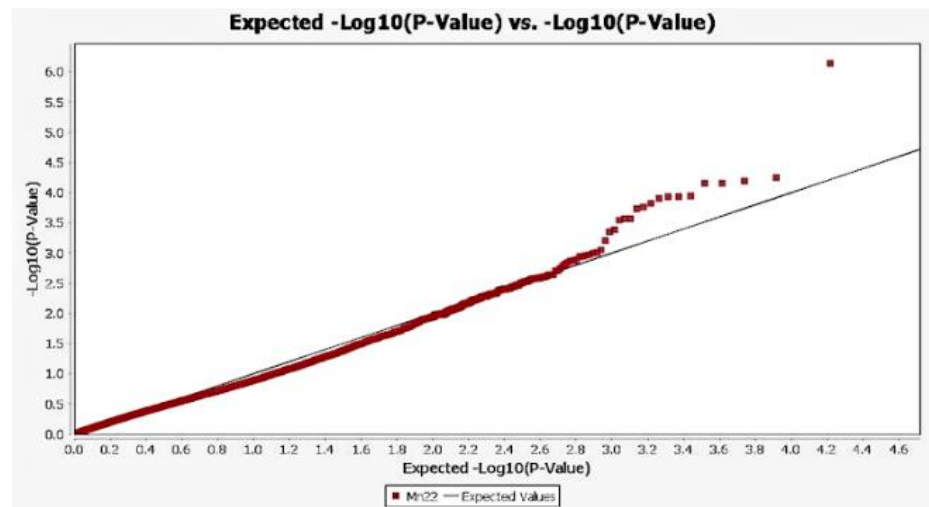
Şekil 4.12: Fe mikro besin elementinin 2021 yılına ait Q-Q grafiği



Şekil 4.13: Fe mikro besin elementinin 2022 yılına ait Q-Q grafiği



Şekil 4.14: Mn mikro besin elementinin 2021 yılına ait Q-Q grafiği



Şekil 4.15: Mn mikro besin elementinin 2022 yılına ait Q-Q grafiği

Çizelge 4.4: Fe mikro elementi ile ilişkili markör listesi

Özellik (Fe)				
Yıl	SNP ID	Markör P	Markör R ²	FDR
2021	SNP8997	1,24E-04	0,10	3,27
	SNP8879	2,14E-04	0,10	
	SNP9489	3,82E-04	0,09	
	SNP3185	4,51E-04	0,09	
	SNP9917	4,73E-04	0,08	
2022	SNP8997	7,53E-05	0,11	3,26
	SNP8879	1,84E-04	0,10	
	SNP3185	4,03E-04	0,09	

Çizelge 4.3: Mn mikro elementi ile ilişkili markör listesi

Özellik (Mn)									
Yıl	SNP ID	Markör P	Markör R ²	FDR	Yıl	SNP ID	Markör P	Markör R ²	FDR
2021	SNP9749	7,82E-07	0,18	3,41	2022	SNP9749	7,19E-07	0,18	3,42
	SNP1107	4,75E-05	0,12			SNP1107	5,60E-05	0,11	
	SNP132	6,06E-05	0,11			SNP12232	6,41E-05	0,11	
	SNP580	6,06E-05	0,11			SNP132	6,97E-05	0,11	
	SNP12232	7,28E-05	0,11			SNP580	6,97E-05	0,11	
	SNP10383	1,09E-04	0,10			SNP10464	1,13E-04	0,10	
	SNP9574	1,22E-04	0,10			SNP9574	1,16E-04	0,10	
	SNP10464	1,24E-04	0,10			SNP15859	1,17E-04	0,10	
	SNP15859	1,30E-04	0,10			SNP10383	1,25E-04	0,10	
	SNP15384	1,46E-04	0,10			SNP4309	1,50E-04	0,10	
	SNP14511	1,94E-04	0,10			SNP15384	1,73E-04	0,10	
	SNP4309	1,96E-04	0,10			SNP14511	1,85E-04	0,10	
	SNP582	2,36E-04	0,09			SNP582	2,69E-04	0,09	
	SNP775	2,36E-04	0,09			SNP775	2,69E-04	0,09	
	SNP13887	3,21E-04	0,09			SNP13887	2,86E-04	0,09	

4.6. Aday gen tespiti

Bu çalışmada cevizde Mn ve Fe mikro elementlerinin alınımı ile önemli ölçüde ilişkili SNP dizileri kullanılarak NCBI veri tabanına karşı bir BLAST araştırması yapılmıştır. İlişkili markörlerle (parantez içinde verilen) benzerlik gösteren diziler, cevizin Mn içeriği için beş olası aday genini tanımlamak için kullanılmıştır. Bu genler şu şekildedir: WPP alanıyla etkileşime giren kuyruk bağlantılı protein 2 (SNP1107), etilene duyarlı transkripsiyon faktörü ERN3 benzeri (SNP12232), çeviri faktörü GUF1 homologu (SNP9574), SMAX1-LIKE 6 benzeri protein (SNP15384), beyaz-kahverengi kompleks homolog protein 30 (SNP1451) (Çizelge 4.4). Bu 5 aday genin içinde konumlanan SNP'ler ve herhangi bir gen üzerinde konumlanmayan SNP'lerin pozisyonunun 100 kb yukarı ve aşağı akışındaki genler belirlenmiş ve Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Anatasyon sonuçlarına göre Fe mikro elementi ile ilişkili SNP'lerin hiçbirisi bir gen üzerinde konumlanmamıştır. Çizelge 4.7, Fe besin elementi için, SNP pozisyonlarının 100 kb yukarı ve aşağı akışında bulunan genleri göstermektedir. Mn ve Fe alınımı ile ilişkilendirilen (Çizelge 4.4, 4.5) ve Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7'de olmayan SNP'lerin dizileri, karakterize edilen genlerle önemli bir benzerlik göstermemiştir.

Çizelge 4.5: Mn mikro elementinin alınımı ile ilişkili SNP markörlerinin anatasyon sonuçları

SNP	Genin Tanımı	Bilimsel Adı	Genin İşlevi	Kromozom
SNP1107	WPP domain-interacting tail-anchored protein 2 (LOC108989419)	<i>J. regia</i>	Membranla ilişkili (Coudert et al., 2023).	13
	Transcription factor bHLH49 (LOC108989406)	<i>J. regia</i>	DNA bağlama transkripsiyon faktörü aktivitesini ve protein dimerizasyon aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	13
	Peroxidase 11 (LOC108989409)	<i>J. regia</i>	Hem bağlanmasını ve peroksidaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	13
	LAG1 longevity assurance homolog 3-like (LOC108989424)	<i>J. regia</i>	Sfingozin N-asiltransferaz aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	13
	Protein SOB FIVE-LIKE 3-like (LOC108989410)	<i>J. regia</i>	Sitokinin üretim sürecine katılır (Coudert et al., 2023).	13
	6-phosphogluconate dehydrogenase,	<i>J. regia</i>	NADP bağlanmasını ve fosfoglukonat dehidrojenaz	13

	decarboxylating 1-like (LOC108989414)		aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	
	Serotonin N- acetyltransferase 2, chloroplastic (LOC108989416)	<i>J. regia</i>	N-asetiltransferaz aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	13
	Probable protein S- acyltransferase 16 (LOC108989417)	<i>J. regia</i>	Palmitoiltransferaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012).	13
	Chaperonin 60 subunit beta 4, chloroplastic-like (LOC108989425)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını ve ATP'ye bağımlı protein katlama şaperonunu etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	13
	Putative U-box domain- containing protein 42 (LOC108989404)	<i>J. regia</i>	Protein bağlanmasını ve ubiquitin-protein transferaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012)	13
	DNA-directed RNA polymerase 1B, mitochondrial (LOC108989412)	<i>J. regia</i>	DNA bağlanmasını ve DNA'ya yönelik 5'-3' RNA polimeraz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	13
	Heat shock protein 90-5, chloroplastic (LOC108989413)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını, ATP'ye bağımlı protein katlama şaperonunu ve katlanmamış protein bağlanmasını etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	13
	Alpha/beta hydrolase domain-containing protein 17B-like (LOC108989408)	<i>J. regia</i>	Hidroliz reaksiyonunu katalize eder (Coudert et al., 2023).	13
	Protein FAR1-RELATED SEQUENCE 6-like (LOC109003640)	<i>J. regia</i>	Çinko iyonunun bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012)	13
	Protein FAR-RED IMPAIRED RESPONSE 1- like (LOC118344171)	<i>J. regia</i>	Çinko iyonunun bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012)	13
	UDP-glycosyltransferase 89A2-like (LOC108989420)	<i>J. regia</i>	UDP-glikoziltransferaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012)	13
	Receptor-like protein 7 (LOC108981641)	<i>J. regia</i>	Protein bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	13
SNP12232	Ethylene-responsive transcription factor ERN3- like (LOC108998251)	<i>J. regia</i>	DNA bağlanması (Coudert et al., 2023).	12
	Flap endonuclease GEN- like 1 (LOC108998295)	<i>J. regia</i>	5'-flap endonükleaz aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019)	12
	UDP-galactose/UDP- glucose transporter 4-like (LOC108998210)	<i>J. regia</i>	Transmembran taşıyıcı aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019)	12
	Peroxisomal membrane protein 11C (LOC108998272)	<i>J. regia</i>	Peroksizomun oluşumu, organizasyonu ve bakımında rol oynar (Coudert et al., 2023).	12
	F-box protein At4g00755- like (LOC108998271)	<i>J. regia</i>	Protein bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012)	12
	F-box protein PP2-A13-like (LOC108998282)	<i>J. regia</i>	Protein bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012)	12
	Cytochrome P450 87A3- like (LOC108998268)	<i>J. regia</i>	Hem bağlanmasını, demir iyonu bağlanmasını, monooksijenaz aktivitesini ve oksidoredüktaz aktivitesini	12

			etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	
	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 18-like (LOC108998232)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını ve protein kinaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012)	12
SNP9574	Translation factor GUF1 homolog. mitochondrial (LOC109002596)	<i>J. regia</i>	GTP bağlanmasını, GTPaz aktivitesini ve mitokondriyal ribozom bağlanmasını etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	10
	Protein IQ-DOMAIN 31-like (LOC109002598)	<i>J. regia</i>	Protein bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	10
	Polyvinylalcohol dehydrogenase-like (LOC109002599)	<i>J. regia</i>	Oksidoredüktaz aktivitesi (Coudert et al., 2023).	10
	Probable serine/threonine-protein kinase PIX7 (LOC109002600)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını ve protein kinaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012)	10
	DExH-box ATP-dependent RNA helicase DExH18, mitochondrial-like (LOC109002602)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını, RNA helikaz aktivitesini ve hidrolaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	10
	Cullin-3A-like (LOC109002603)	<i>J. regia</i>	Ubikitin protein ligaz bağlanmasını etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	10
	Transcription factor PRE6-like (LOC109002575)	<i>J. regia</i>	Protein dimerizasyon aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	10
	Binding partner of ACD11 1-like (LOC109010975)	<i>J. regia</i>	RNA bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	10
	Homeobox-leucine zipper protein HAT7-like (LOC109010974)	<i>J. regia</i>	DNA bağlama transkripsiyon faktörü aktivitesini ve diziye özgü DNA bağlanmasını etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	10
	Pentatricopeptide repeat-containing protein At5g39680-like (LOC109010977)	<i>J. regia</i>	RNA bağlanmasını, protein bağlanmasını ve çinko iyonu bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	10
	Chaperone protein dnaJ 10-like (LOC109020961)	<i>J. regia</i>	Bitki gelişimi (muhtemelen bölmelerin yapısal organizasyonunda) (Coudert et al., 2023).	10
	F-box protein SKP2B-like (LOC109020960)	<i>J. regia</i>	Pseudo gen	10
	40S ribosomal protein SA-like (LOC109020963)	<i>J. regia</i>	Pseudo gen	10
	Probable WRKY transcription factor 72 (LOC109002574)	<i>J. regia</i>	DNA bağlama transkripsiyon faktörü aktivitesini ve diziye özgü DNA bağlanmasını etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	10
	Serine carboxypeptidase-like 45 (LOC118349579)	<i>J. regia</i>	Serin tipi karboksipeptidaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012)	10
	Plant cysteine oxidase 2-like (LOC109002595)	<i>J. regia</i>	Oksidoredüktaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	10

	V-type proton ATPase subunit d1 (LOC109002594)	<i>J. regia</i>	Proton taşıyan ATPase aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	10
	FACT complex subunit SSRP1-like (LOC109002591)	<i>J. regia</i>	DNA, histon ve nükleozom bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	10
	Auxin efflux carrier component 8-like (LOC109002590)	<i>J. regia</i>	Oksin akışı transmembran taşıyıcı aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019)	10
	Hypersensitive-induced reaction 1 protein-like (LOC109002588)	<i>J. regia</i>	Potasyum iyon kanallarını düzenler ve aşırı duyarlı yanıt benzeri hücre ölümünün pozitif düzenleyicisi olarak görev yapar (Coudert et al., 2023).	10
	Mitochondrial outer membrane protein porin of 34 kDa-like (LOC109002589)	<i>J. regia</i>	Voltaj kapılı monoatomik anyon kanalı aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	10
	Protein FAR1-RELATED SEQUENCE 9-like (LOC109002585)	<i>J. regia</i>	Çinko iyonunun bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	10
	Protein CLP1 homolog (LOC109008924)	<i>J. regia</i>	Polinükleotid 5'-hidroksil kinaz aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	10
	Probable serine/threonine-protein kinase PIX7 (LOC109008923)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını ve protein kinaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012)	10
	DEXH-box ATP-dependent RNA helicase DEXH18, mitochondrial-like (LOC109020962)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını, RNA helikaz aktivitesini ve hidrolaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	10
SNP15384	Protein SMAX1-LIKE 6-like (LOC108983205)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını ve ATP hidroliz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012).	5
	Receptor-like protein kinase FERONIA (LOC109019774)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını ve protein kinaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012)	5
	Protein FAR1-RELATED SEQUENCE 9-like (LOC118348415)	<i>J. regia</i>	Çinko iyonunun bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	5
	AAA-ATPase At2g46620-like (LOC108983202)	<i>J. regia</i>	Pseudo gen	5
	Putative serine/threonine-protein kinase-like protein CCR3 (LOC108983204)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını ve protein serin/treonin kinaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	5
	Phosphoinositide phospholipase C 4-like (LOC108983207)	<i>J. regia</i>	Fosfatidilinositol fosfolipaz C aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	5
	Protein O-glucosyltransferase 1-like (LOC108982995)	<i>J. regia</i>	Transferaz aktivitesi (Coudert et al., 2023).	5
	Probable pyridoxal 5'-phosphate synthase subunit PDX1 (LOC108982999)	<i>J. regia</i>	Amin-liyaz aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	5
	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase CYP20-1 (LOC108983000)	<i>J. regia</i>	Peptidil-prolil cis-trans izomeraz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012).	5
	E3 ubiquitin-protein ligase APD2-like (LOC108982994)	<i>J. regia</i>	Pseudo gen	5

	ATP synthase subunit d, mitochondrial-like (LOC108982997)	<i>J. regia</i>	Pseudo gen	5
	Omega-3 fatty acid desaturase, endoplasmic reticulum-like (LOC108989903)	<i>J. regia</i>	Oksidoredüktaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012).	5
SNP14511	Putative white-brown complex homolog protein 30 (LOC108990896)	<i>J. regia</i>	ABC tipi taşıyıcı aktivitesini, ATP bağlanmasını ve ATP hidroliz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012).	3
	Pentatricopeptide repeat-containing protein At2g32630 (LOC108990892)	<i>J. regia</i>	Protein bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	3
	OVARIAN TUMOR DOMAIN-containing deubiquitinating enzyme 12-like (LOC108990907)	<i>J. regia</i>	Sistein tipi deubikuitinaz aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	3
	Indole-3-acetic acid-induced protein ARG7-like (LOC109018217)	<i>J. regia</i>	Oksine yanıt (Coudert et al., 2023).	3
	Transcription factor TCP11-like (LOC108990895)	<i>J. regia</i>	DNA bağlama transkripsiyon faktörü aktivitesini ve diziye özgü DNA bağlanmasını etkinleştirir (Tang et al., 2019).	3
SNP10383	Protein CNGC15a-like (LOC109008643)	<i>J. regia</i>	Voltaj kapılı potasyum kanalı aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012)	3
	RNA-binding protein CP29B, chloroplastic-like (LOC109008641)	<i>J. regia</i>	MRNA bağlanmasını etkinleştirir (Tang et al., 2019).	3
	Cytokinin riboside 5'-monophosphate phosphoribohydrolase LOG3-like (LOC109008645)	<i>J. regia</i>	N-glikozil bileşiklerini hidrolize ederek hidrolaz aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	3
	Auxin response factor 18-like (LOC109004302)	<i>J. regia</i>	DNA ve protein bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	3
	Pentatricopeptide repeat-containing protein At2g37230 (LOC109003890)	<i>J. regia</i>	Protein bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012)	3
SNP9749	OVARIAN TUMOR DOMAIN-containing deubiquitinating enzyme 12-like (LOC108990907).	<i>J. regia</i>	Sistein tipi deubikuitinaz aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	3
	Transcription factor TCP11-like (LOC108990895)	<i>J. regia</i>	DNA bağlama transkripsiyon faktörü aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	3
	Pentatricopeptide repeat-containing protein At2g32630 (LOC108990892)	<i>J. regia</i>	Protein bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	3
	Putative white-brown complex homolog protein 30 (LOC108990896)	<i>J. regia</i>	ABC tipi taşıyıcı aktivitesini, ATP bağlanmasını ve ATP hidroliz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012).	3

	General transcription factor IIE subunit 1 (LOC108990915)	<i>J. regia</i>	RNA polimeraz II promotöründe transkripsiyonun başlatılmasında rol oynar (Burge et al., 2012).	3
SNP132	U3 small nucleolar ribonucleoprotein protein MPP10(LOC108991481).	<i>J. regia</i>	rRNA işlemeye dahil olur (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	2
	Anthranilate phosphoribosyltransferase, chloroplastic-like (LOC109003875).	<i>J. regia</i>	Antranilat fosforibosiltransferaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	2
	Glutaredoxin-like (LOC108991462)	<i>J. regia</i>	Glutasyon disülfid oksidoredüktaz aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	2
	Triose phosphate/phosphate translocator, non-green plastid, chloroplastic-like (LOC108991483)	<i>J. regia</i>	Antiporter aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	2
	Transcription factor MYB98-like (LOC108991460)	<i>J. regia</i>	RNA polimeraz II'ye özgü DNA bağlama transkripsiyon faktörü aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	2
	Probable disease resistance protein At5g45490 (LOC108991488)	<i>J. regia</i>	ADP bağlanmasını etkinleştirir (Burge et al., 2012).	2
	GDSL esterase/lipase At5g62930 (LOC108991482)	<i>J. regia</i>	Ester bağlarına etki ederek hidrolaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012).	2
	Probable boron transporter 2 (LOC108991474)	<i>J. regia</i>	Çözünen:inorganik anyon antiporter aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	2
	50S ribosomal protein L7/L12 (LOC108991486)	<i>J. regia</i>	Ribozomun yapısal bileşenini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	2
	Diphthine methyltransferase homolog (LOC109003873)	<i>J. regia</i>	Protein bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	2
SNP15859	WD repeat-containing protein 20 homolog (LOC109011163)	<i>J. regia</i>	Protein bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	3
	RNA-dependent RNA polymerase 6-like (LOC109011160)	<i>J. regia</i>	RNA'ya bağımlı RNA polimeraz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	3
	Probable E3 ubiquitin-protein ligase LOG2 (LOC108989075)	<i>J. regia</i>	Ubikitin protein ligaz aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	3
	Fasciclin-like arabinogalactan protein 11 (LOC109011164)	<i>J. regia</i>	Bitki tipi ikincil hücre duvarı biyogenezinde yer alır (Gaudet et al., 2011)	3
	Fasciclin-like arabinogalactan protein 12 (LOC109011166)	<i>J. regia</i>	Bitki tipi ikincil hücre duvarı biyogenezinde yer alır (Gaudet et al., 2011)	3
	DnaJ protein P58IPK homolog (LOC109011167)	<i>J. regia</i>	Protein bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	3
	Zinc finger protein JACKDAW-like (LOC109011168)	<i>J. regia</i>	DNA bağlama transkripsiyon faktörü aktivitesini ortadan kaldırır (Tang et al., 2019).	3
	NAC domain-containing protein 2-like (LOC109011176)	<i>J. regia</i>	DNA bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	3

	Syntaxin-71-like (LOC109011169)	<i>J. regia</i>	SNAP reseptör aktivitesini ve SNARE bağlanmasını etkinleştirir (Tang et al., 2019).	3
	Probable E3 ubiquitin-protein ligase ZFP1 (LOC109011170)	<i>J. regia</i>	Ubikitin protein ligaz aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	3
	Putative serine/threonine-protein kinase (LOC108989076)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını ve protein kinaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012).	3
SNP582	Nitrate reductase [NAD(P)H]-like (LOC109006417)	<i>J. regia</i>	Hem bağlanmasını, molibden iyon bağlanmasını ve nitrat redüktaz (NADPH) aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012).	13
	Small ribosomal subunit protein S13, mitochondrial-like (LOC109018769)	<i>J. regia</i>	RNA bağlanmasını ve ribozomun yapısal bileşenini etkinleştirir (Burge et al., 2012).	13
	Phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase 1-like (LOC118344261)	<i>J. regia</i>	1-fosfatidilinositol-4-fosfat 5-kinaz aktivitesini ve ATP bağlanmasını etkinleştirir (Burge et al., 2012).	13
	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1-like (LOC109006418)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını ve protein kinaz aktivitesini sağlar (Burge et al., 2012).	13
	Internal alternative NAD(P)H-ubiquinone oxidoreductase A2, mitochondrial-like (LOC109006421)	<i>J. regia</i>	NADH dehidrojenaz aktivitesini sağlar (Tang et al., 2019).	13
	Transmembrane protein 50A (LOC109006422)	<i>J. regia</i>	Geç endozomdan vakuole taşınmaya dahil olur (Tang et al., 2019).	13
	Myb protein-like (LOC118344252)	<i>J. regia</i>	RNA polimeraz II cis-düzenleyici bölge sekansına özgü DNA bağlanmasını etkinleştirir (Tang et al., 2019).	13
SNP775	DEAD-box ATP-dependent RNA helicase 52A-like (LOC109002414)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını, RNA helikaz aktivitesini ve nükleik asit bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	5
	Methylesterase 17-like (LOC109002410)	<i>J. regia</i>	Metil indol-3-asetat esterase aktivitesini, metil jasmonat esterase aktivitesini ve metil salisilat esterase aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	5
	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit beta-like (LOC109002409)	<i>J. regia</i>	mRNA bağlanmasını ve çeviri başlatma faktörü aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	5
	Pathogenesis-related genes transcriptional activator PTI6-like (LOC109002411)	<i>J. regia</i>	DNA bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	5
	Ubiquitin-conjugating enzyme E2-17 kDa (LOC109002412)	<i>J. regia</i>	Ubikitin konjuge edici enzim aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	5
	26S proteasome regulatory subunit 6B homolog (LOC109002408)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını, ATP hidroliz aktivitesini ve proteazom aktive edici aktiviteyi etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	5

	Probable inactive receptor kinase At5g58300 (LOC109002407)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını, protein bağlanmasını ve protein kinaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012).	5
	Trans-cinnamate 4-monooxygenase (LOC109002391)	<i>J. regia</i>	Hem bağlamayı, demir iyonu bağlamayı ve trans-sinamat 4-monooksijenaz aktivitesini sağlar (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	5
	Putative disease resistance protein RGA4 (LOC109002393)	<i>J. regia</i>	ADP bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	5
	Putative disease resistance protein RGA1	<i>J. regia</i>	ADP bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	5
	Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g06840 (LOC109002406)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını, protein bağlanmasını ve protein kinaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012).	5
SNP13887	Double-stranded RNA-binding protein 2-like (LOC109009284)	<i>J. regia</i>	Pseudo gen	11
	Pentatricopeptide repeat-containing protein At3g12770-like (LOC109009295)	<i>J. regia</i>	RNA bağlanmasını, protein bağlanmasını ve çinko iyonu bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	11
	Acyltransferase-like protein At1g54570, chloroplastic (LOC108981988)	<i>J. regia</i>	O-asiltransferaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012).	11
	2-alkenal reductase (NADP(+)-dependent)-like (LOC109020347)	<i>J. regia</i>	O-asiltransferaz aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	11
	Probable nucleolar protein 5-2 (LOC109009291)	<i>J. regia</i>	snoRNA bağlanmasını sağlar (Tang et al., 2019).	11
	Probable serine/threonine-protein kinase At1g54610 (LOC109009293)	<i>J. regia</i>	Pseudo gen	11
	Protein HASTY 1 (LOC109009288)	<i>J. regia</i>	RNA bağlanmasını engeller (Tang et al., 2019).	11
	Sodium/hydrogen exchanger 2-like (LOC109005679)	<i>J. regia</i>	Sodyum:proton antiporter aktivitesinde görev alır (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	11
	WD repeat-containing protein 48-like (LOC108999550)	<i>J. regia</i>	Ubikitin bağlanmasını etkinleştirir (Tang et al., 2019).	11

Çizelge 4.7: Fe mikro elementinin alınımı ile ilişkili SNP markörlerinin anatasyon sonuçları

SNP	Genin Tanımı	Bilimsel Adı	Genin İşlevi	Kromozom
SNP8997	DnaJ protein homolog (LOC108982680)	<i>J. regia</i>	Pseudo gen	13
	Vacuolar protein sorting-associated protein 60.2-like (LOC108982681)	<i>J. regia</i>	Pseudo gen	13
	SKP1-like protein 21 (LOC108982669)	<i>J. regia</i>	Hedef proteinlerin her yerde bulunmasını ve ardından bunların proteazomal bozulmasına katılır (Coudert et al., 2023).	13
	Kinesin-like protein KIN-10C (LOC109021216)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını, ATP hidroliz aktivitesini, mikrotübül	13

			bağlanmasını, mikrotübül motor aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	
	Probable prolyl 4-hydroxylase 12 (LOC109021218)	<i>J. regia</i>	L-askorbik asit bağlanmasını, demir iyonu bağlanmasını ve prokollajen-prolini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	13
	60S ribosomal protein L36-3-like (LOC109007913)	<i>J. regia</i>	Ribozomun yapısal bileşenini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	13
	ATPase WRNIP1 (LOC109007853)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını, DNA ve protein bağlanmasını, enzim aktivatör aktivitesini ve tek sarmallı DNA helikaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	13
	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase YODA-like (LOC108982672)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını ve protein kinaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012).	13
SNP8879	tRNA-splicing endonuclease subunit Sen2-1-like (LOC109019374)	<i>J. regia</i>	Nükleik asit bağlanmasını ve tRNA-intron endonükleaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	5
	Very-long-chain (3R)-3-hydroxyacyl-CoA dehydratase PASTICCINO 2-like (LOC118343756)	<i>J. regia</i>	3-hidroksiasil-CoA dehidrataz aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	5
	Tetraspanin-3-like (LOC108988581)	<i>J. regia</i>	Oksinle aktifleşen sinyal yoluna dahil olur (Tang et al., 2019).	5
	Dof zinc finger protein DOF2.1-like (LOC108988588)	<i>J. regia</i>	DNA bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	5
	NEDD8-specific protease 1 (LOC108988586)	<i>J. regia</i>	Sistein tipi peptidaz aktivitesini ve deNEDDilaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	5
	Phosphatidylinositol transfer protein 2-like (LOC108988582)	<i>J. regia</i>	Fosfolipid taşıyıcı aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	5
	Phosphatidylinositol transfer protein 1-like (LOC109020117)	<i>J. regia</i>	Fosfolipid taşıyıcı aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	5
	tRNA-splicing endonuclease subunit Sen2-1-like (LOC108988579)	<i>J. regia</i>	Nükleik asit bağlanmasını ve tRNA-intron endonükleaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	5
	Pentatricopeptide repeat-containing protein At2g28050 (LOC109009327)	<i>J. regia</i>	Protein bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	5
	Protein FAR1-RELATED SEQUENCE 5-like (LOC108988576)	<i>J. regia</i>	DNA şablonlu transkripsiyonun düzenlenmesinde rol oynar (Tang et al., 2019).	5
SNP3185	Oxalate--CoA ligase-like (LOC109014451)	<i>J. regia</i>	Orta zincirli yağ asidi-CoA ligaz aktivitesini etkinleştirir (Tang et al., 2019).	2
	Probable copper-transporting ATPase HMA5 (LOC109014452)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını, ATPaz-bağlı monoatomik katyon transmembran taşıyıcı aktivitesini ve bakır iyonu bağlanmasını etkinleştirir (Burge et al., 2012).	2
	Glutathione S-transferase T1-like (LOC109014457)	<i>J. regia</i>	Glutatyon transferaz aktivitesine dahil olur (Coudert et al., 2023).	2

Serine racemase (LOC109014449)	<i>J. regia</i>	D-serin ve amonyak-liyaz aktivitesini, magnezyum iyon bağlanmasını ve piridoksal fosfat bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	2
Tubulin beta-9 chain (LOC109014450)	<i>J. regia</i>	GTP bağlanmasını, GTPaz aktivitesini ve hücre iskeletinin yapısal bileşenini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	2
Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g63430 (LOC109014447)	<i>J. regia</i>	ATP bağlanmasını, protein bağlanmasını ve protein kinaz aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012).	2
Heavy metal-associated isoprenylated plant protein 39-like (LOC109014525)	<i>J. regia</i>	Metal iyon bağlanmasını sağlar (Burge et al., 2012).	2
Blue copper protein 1b-like (LOC109014508)	<i>J. regia</i>	Elektron transfer aktivitesini etkinleştirir (Burge et al., 2012; Tang et al., 2019).	2

5. TARTIŞMA

5.1. Cevizde Mikro Besin Elementi Analizi

Bu çalışmada 154 ceviz genotipinin Mn içeriği 1,13 ile 53,64 mg/100g arasında değişmiştir (Çizelge 4.1). Önceki çalışmalarda ise 1,1 ile 18,79 mg/100g arasında bulunmuştur (Muradoglu et al., 2010; Trandafir et al., 2016; Acar ve Kazankaya, 2020; Verma et al., 2020). Mn konsantrasyonu 154 ceviz genotipinde geniş varyasyon (~47,50 kat varyasyon) gösterirken, diğer çalışmalarda daha az varyasyon (~17,08 kat varyasyon) görülmüştür. Bunun nedeni ise bu çalışmada kullanılan 154 genotipin önceki çalışmalara göre hem daha fazla hem de daha çeşitli genotipleri içermesidir (Muradoglu et al., 2010; Trandafir et al., 2016; Acar ve Kazankaya, 2020; Verma et al., 2020). En düşük Mn içeriği (1,02 mg/100g) 'C19' genotipinde, en yüksek Mn içeriği ise 'TOKAT/8' genotipinde (55,58 mg/100g) belirlenmiştir. Mn konsantrasyonuna ilişkin gelecekteki ıslah araştırmaları için C19 ve TOKAT/8 genotipleri ebeveyn olarak kullanılabilir.

Çizelge 4.1, 154 genotip ceviz içlerindeki Fe konsantrasyonunun 1,57 ile 4,71 mg/100g arasında değiştiğini göstermektedir. Daha önceki raporlarda ceviz genotiplerindeki Fe konsantrasyonunun 1,2-6,6 mg/100g olduğu ve yaklaşık 5,5 kat değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir (Muradoglu et al., 2010; Trandafir et al., 2016; Acar ve Kazankaya, 2020; Verma et al., 2020). Bu çalışmada Mn konsantrasyonunda üç kat varyasyon vardır. Bu varyasyon önceki çalışmalarda verilen aralık dahilindedir ve AM çalışmaları için kabul edilebilirdir. En düşük Fe konsantrasyonu (1,20 mg/100g) 'MUYA-8' genotipinde bulunurken en yüksek Fe (5,45 mg/100g) 'SEN/2' genotipinde ölçülmüştür. Sonuç olarak, Fe konsantrasyonuna ilişkin yapılacak ıslah çalışmalarında SEN/2 ve MUYA-8 genotipleri ebeveyn olarak kullanılabilir.

5.2. Fenotipik verilerin varyans analizi

Cevizlerde Fe elementinin alımına ilişkin ANOVA analizi sonuçları, Y ve Y*G etkileşimlerinin istatistiksel olarak önemsiz olduğunu, G'nin etkisinin ise istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.5). Momçilova et

al., (2016) yaptıkları çalışmada cevizlerin Cd, Fe, Cu ve Zn gibi besin elementlerinin içeriğini dört yıl üst üste belirlemişlerdir. Çalışmamızın varyans analizi sonuçlarına benzer şekilde, Cd, Fe, Cu ve Zn birikiminin genotiplere bağlı olduğu ve örneklerin hasat yılının incelenen mikro elementlerin hiçbirini önemli ölçüde etkilemediğini göstermiştir (Momchilova et al., 2016). Bulgularımız Y, G ve Y*G etkileşimlerinin Mn konsantrasyonu için istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir (Çizelge 4.5). Bunun nedeni, çevre koşullarının, toprak bileşiminde bitkilere faydalı olan besin maddelerinin alımı üzerinde etkili olabilmesidir (Sankaran et al., 2009). Bulgularımıza benzer şekilde Rabadán et al., (2019) ceviz, fıstık ve badem genotiplerini kullanarak yaptıkları çalışmada Mn, Zn ve Cu gibi besin elementlerinin konsantrasyonlarının yıllara bağlı olarak çevre koşullarından etkilenebileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada, ceviz genotiplerinin kalıtım değerleri (Fe için 0,92 ve Mn için 0,99) ve fenotipik verilerinin varyans analizi, bu besin maddelerinin meyvelerde birikmesinde çevresel faktörlerden ziyade genetik faktörlerin rol oynadığını açıkça göstermektedir (Çizelge 4.5). Bu durum, farklı bitkiler üzerinde yapılan çalışmalarda da benzer şekilde rapor edilmiştir (Erdoğan et al., 2020; Liu et al., 2021)

5.3. Populasyon yapısının belirlenmesi

SNP'ler, genomlarda oldukça bol miktarda bulundukları için diğer markör sistemleri ile karşılaştırıldığında daha yüksek harita çözünürlüğünü üretebilmektedir (Mammadov et al., 2012). Bu çalışmada genotipleme için kullanılan 16.473 temiz SNP verileri yüksek derecede populasyon çeşitliliğini temsil etmektedir. Ceviz özellikleri (Fe ve Mn birikimi) ile ilgili ilişkiler, DArT verileri ve ceviz populasyonu ile fenotipleme kullanılarak bulunmuştur. Bu çalışmada ceviz genotiplerindeki genetik çeşitliliğin dağılımı, STRUCTURE analizi yapılarak belirlenmiştir. Bu analize göre ceviz genotipleri $K = 3$ 'te üç ayrı gruba ayrılmıştır (Şekil 4.5). STRUCTURE analizinde ceviz çeşitlerinin yalnızca bir kısmı orijinlerine dayalı olarak net bir kümelenme gösterirken geri kalan çeşitler diğer bölgelerden gelen populasyonların kısmi veya hatta baskın bir üyeliğini göstermiştir (Şekil 4.6).

Gen akışı ve *Fst* populasyonun yapısını anlamak için iki önemli parametredir (Shahi Shavvon et al., 2023). *Fst*, 154 genotipte ortalama 0,22 olmak üzere 0,07 ile 0,45 arasında değişmiştir (Çizelge 4.3). Daha önce yapılan çalışmalarda ise ortalama *Fst* değeri 0,09 ile 0,30 arasında bulunmuştur (Ahmed et al., 2012; Li et al., 2023; Shahi Shavvon et al., 2023). Wright'ın sınıflandırması, genetik farklılaşmanın sırasıyla 0,00 ile 0,05, 0,051 ile 0,15, 0,151 ile 0,25 ve > 0,25 arasındaki *Fst* değerleri için küçük, orta, yüksek ve en yüksek olduğunu göstermektedir (Lopera-Barrero et al., 2015). Bu sınıflandırmaya göre *Fst* değerimiz populasyonlar arasındaki farklılaşmanın yüksek olduğunu göstermektedir. Mevcut çalışmada beklenen ortalama heterozigotluk 0,32 olup (Çizelge 5.3) daha önceki çalışmalarda beklenen ortalama heterozigotluğun 0,05 ile 0,56 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Han et al., 2016; Bernard et al., 2018a; Shah et al., 2018; Shahi Shavvon et al., 2023). Literatürdeki bu farklılık, üreme sistemleri, doğal seçim, evrim, yaşam öyküsü, darboğaz etkisi ve habitat parçalanması gibi çeşitli faktörlerin genetik çeşitlilik üzerindeki etkisiyle açıklanabilir (Li et al., 2023).

5.4. İlişki haritalaması

GWAS, Orman et al., (2020)'nin DArT analizinden elde edilen 16.473 temiz SNP kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Daha önceki çalışmalarda Bükücü et al., (2020), DArTseq kullanarak GWAS çalışmasında 33.519 SNP geliştirirken, Axiom *J. regia* 700 K SNP genotipleme çipini kullanarak 266.224 (Marrano et al., 2019), 126.554 (Arab et al., 2019) ve 364.275 (Bernard et al., 2020) temiz SNP geliştiren çalışmalar bulunmaktadır. Diğer çalışmalarda daha fazla SNP elde edilmesinin nedeni, Axiom™ *J. regia* 700K SNP çipinin şu anda bir ağaç için en büyük SNP çipi olması nedeniyle kullanılan yöntemle ilgili olabilir (Marrano et al., 2019). Bitkilerde AM analizinde önemli bir faktör, çalışılacak populasyonun seçimidir (Karaca et al., 2019). Ek alellerin elde edilebilmesi için bireylerin populasyon içerisinde mümkün olan en fazla çeşitliliğe sahip olması büyük önem taşımaktadır (Karaca et al., 2019). AM'de hibrit populasyonlar (F_2 , RIL, DH) yerine doğal populasyonlar kullanılır çünkü bunlar daha kısa sürede kalıcı sonuçlar üretmektedirler (Yano et al., 2016; Shakiba et al., 2017). Bu yöntem ile yüksek

harita çözünürlüğü ve daha fazla bağlantılı genetik markör elde edilmektedir (Myles et al., 2009). İlişkilendirme haritalarının etkinliğindeki bir diğer önemli husus, popülasyonun büyüklüğüdür ve popülasyon büyüdükçe ilişkili bir markörün keşfedilme olasılığı da artmaktadır (Galeano et al., 2012). Bu çalışmada çok sayıda genotip (154 genotip) kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Ceviz için yapılan önceki AM çalışmalarında Arab et al., (2019) 95, Bernard et al., (2020) 170 ve Bukucu et al., (2020) 188 ceviz genotipi kullanmıştır. Cevizde iyi doymuş bir genom taraması gerçekleştirmek amacıyla etkili bir AM analizi için, bu çalışmada kullanılan genotip (154 genotip) ve markör (16.473 SNP) sayısının uygun olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada toplam 18 SNP markörününü hem 2021 hem de 2022 yılında meyvedeki Fe ve Mn konsantrasyonlarıyla güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur (Çizelge 5.4, 4.5). Bu tutarlılık, kullanılan yöntemlerin ve ilişki haritalama analizinin gücünü göstermektedir. Şu ana kadar cevizdeki Fe ve Mn mikro elementlerinin birikimi ile ilişkili markörleri bulmak için GWAS'ı kullanan hiçbir araştırma yapılmamıştır. Ancak Orman et al., (2020), 13.611 SNP verisini kullanarak 154 ceviz genotipini taramış ve ilgilenilen özelliklerle ilgili toplam 98 önemli SNP markörü rapor etmiştir. Bunlar arasında yedi SNP meyve ağırlığıyla, 26 SNP meyve uzunluğuyla, 15 SNP meyve yüksekliğiyle, 18 SNP meyve genişliğiyle, 18 SNP kabuk kalınlığıyla, 12 SNP ceviz içi ağırlığıyla ve iki SNP ceviz içi oranıyla ilişkilendirilmiştir (Orman et al., 2020). Ayrıca, diğer AM çalışmalarında çeşitli SNP'ler farklı ceviz özellikleriyle ilişkilendirilmiştir. Bu özelliklerden bazıları ve bulunan SNP sayıları şunlardır: karbon izotop ayrımcılığıyla ($\Delta^{13}C$) ilgili dört SNP; yapraklanma zamanı, hasat zamanı, meyve kabuk rengi, yan dallanma ve verim ile ilgili 55 SNP; sütür karakteristiğiyle ilgili beş SNP; E vitamini aktivitesi ve tokoferol içeriğiyle ilişkili iki SNP (Famula et al., 2019; Marrano et al., 2019; Sideli et al., 2020; Bernard et al., 2021).

Bu çalışmanın bulguları, GWAS'ın, insan beslenmesindeki en önemli yemişlerden biri için iki önemli mikro besin maddesi arasındaki markör-özellik ilişkilerini belirleme konusunda geniş potansiyelini ortaya koymuştur. Ceviz genotiplerinde bu markörlerin varlığının doğrulanması ve popülasyon

yapısının belirlenmesi, doğal populasyonlardaki rekombinasyon olaylarının daha iyi anlaşılmasını sağlayacak ve gelecekteki genom bilimi ve tarımsal araştırmalara fayda sağlayacaktır. Ayrıca elde edilen veriler, besin değeri yüksek ceviz genotiplerinin üretiminde ve ileride yapılacak ıslah çalışmalarında ebeveyn seçiminde kullanılabilir.

5.5. Aday gen tespiti

Mn birikimi için beş potansiyel aday gen bulunmuştur (Çizelge 5.1). WPP alanıyla etkileşime giren kuyruk bağlantılı protein 2, RANGAP proteinlerinin Arabidopsis kök uçlarına nükleer zarf yerleştirilmesi için gereklidir (Zhao et al., 2008). SUN-WIP-WIT2-KAKU1 kompleksinin bir bileşeni olan bu protein, Arabidopsis'in nükleer şeklinde değişikliklere neden olan sitoplazmik basınçların nükleer zarfa aktarılmasına aracılık etmektedir (Zhou et al., 2015). Etilene duyarlı transkripsiyon faktörü ERN3 benzeri, *Medicago truncatula*'da tanımlanmıştır (Andriankaja et al., 2007). Rhizobium NF (Nod faktörü) kutusu içeren hedef raportörleri eksprese eden *Nicotiana benthamiana* hücrelerinde, ERN3 potansiyel bir baskılayıcı olarak işlev görmektedir (Andriankaja et al., 2007). Mitokondriyal translasyon faktörü GUF1 homologu, mitokondride protein sentezini uyarmaktadır (Coudert et al., 2023). SMAX1-LIKE 6 proteini, Arabidopsis'in dallanmasını düzenleyen transkripsiyonel koruyucu kompleksin bir parçasıdır (Soundappan et al., 2015; Wang et al., 2015). Kökte oksin taşınmasını ve PIN1 birikimini, kotiledon uzamasını ve yan kök büyümesini düzenlemektedir (Soundappan et al., 2015). Beyaz-kahverengi kompleks homolog protein 30 ABC taşıyıcı ailesine aittir (Niu et al., 2021). ABC tipi taşıyıcı aktivitesinde, ATP'nin bağlanması ve ATP'nin hidroliz aktivitesinde rol oynayan bir üyedir (Coudert et al., 2023). Beyaz-kahverengi kompleks ailesinden proteinler, bitkilerin değişen ortamlara uyum sağlamasını ve biyotik ve abiyotik streslere dayanmasını sağlayan çok sayıda fizyolojik sürece dahil olmaktadır (Li et al., 2019).

Ayrıca ilgili markörlerin sağında ve solunda 100.000 baz çifti içerisinde yer alan potansiyel aday genler incelendiğinde (Çizelge 4.6, 4.7) bu genlerin ATP, DNA, protein ve Zn iyonu bağlanması yanı sıra çeşitli enzim aktivitelerinde

görev aldığı görülmektedir. Genlerin çoğu birçok biyolojik sürece katılırken bazı genlerin psödogen olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, bu araştırmada keşfedilen aday genler daha önce ceviz meyvesinde Mn ve Fe birikimi ile ilişkilendirilmemiştir.



6. ÖNERİLER

Bu çalışma, SNP gibi moleküler markörler kullanılarak yapılacak olan ileriki araştırmalar için temel bilgiler sağlayabilir. Tespit edilen SNP'ler, marköre dayalı seleksiyon çalışmalarında kullanılabilir. Bu çalışma incelenen besin elementleri ve besin değerleri konsantrasyonlarında büyük bir çeşitlilik olduğunu göstermiştir. Yüksek besin değeri ve besin elementi içeren genotipler, gelecekte biyofortifiye ceviz genotipleri üretmek için ebeveyn olarak kullanılabilir ve insanlarda bunların eksiklikleri nedeniyle ortaya çıkabilecek hastalıkların önlenmesini sağlayabilir.



KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abbaspour, N., Hurrell, R. and Kelishadi, R.,** 2014, Review on iron and its importance for human health, *Journal of Research in Medical Sciences: the Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 19(2), 164p.
- Acar, S, Kazankaya, A.,** 2020, Batman yöresinden selekte edilen cevizlerin (*Juglans regia* L.) bazı meyve özellikleri ile makro-mikro element düzeyleri, *Yüzüncü Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 30(2), 243-251 pp.
- Ahmed, N., Mir, J.I., Mir, R.R., Rather, N.A., Rashid, R., Wani, S.H. and Sheikh, M.A.,** 2012 SSR and RAPD analysis of genetic diversity in walnut (*Juglans regia* L.) genotypes from Jammu and Kashmir, India, *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 18, 149-160 pp.
- Aldemir, S., Ateş, D., Temel, H. Y., Yağmur, B., Alsaleh, A., Kahriman, A. And Tanyolac, M. B.,** 2017, QTLs for iron concentration in seeds of the cultivated lentil (*Lens culinaris* Medic.) via genotyping by sequencing. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 41(4), 243-255 pp.
- Ali, M.W. and Borrill, P.,** 2020, Applying genomic resources to accelerate wheat biofortification, *Heredity*, 125(6), 386-395 pp.
- Andriankaja, A., Boisson-Dernier, A., Frances, L., Sauviac, L., Jauneau, A., Barker, D. G. and de Carvalho-Niebel, F.,** 2007, AP2-ERF transcription factors mediate Nod factor-dependent Mt ENOD11 activation in root hairs via a novel cis-regulatory motif, *The Plant Cell*, 19(9), 2866-2885 pp.
- Arab, M.M., Marrano, A., Abdollahi-Arpanahi, R., Leslie, C.A., Askari, H., Neale, D.B. and Vahdati, K.,** 2019, Genome wide patterns of population structure and association mapping of nut-related traits in persian walnut populations from iran using the Axiom J. regia 700K SNP Array, *Scientific Reports*, 9(1), 1-14 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Arab, M.M., Brown, P.J., Abdollahi-Arpanahi, R., Sohrabi, S.S., Askari, H., Aliniaiefard, S. and Vahdati, K.,** 2022, Genome-wide association analysis and pathway enrichment provide insights into the genetic basis of photosynthetic responses to drought stress in Persian walnut. *Horticulture Research*, 9, uhac124.
- Ates, D., Aldemir, S., Yagmur, B., Kahraman, A., Ozkan, H., Vandenberg, A. And Tanyolac, M.B.,** 2018a, QTL mapping of genome regions controlling manganese uptake in lentil seed, *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 8(5), 1409-1416 pp.
- Ates, D., Ascioğul, T. K., Nemli, S., Erdogmus, S., Esiyok, D., and Tanyolac, M.B.,** 2018b, Association mapping of days to flowering in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) revealed by DArT markers, *Molecular Breeding*, 38, 1-14.
- Benjamini, Y. and Hochberg, Y.,** 1995, Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing, *Journal of the Royal statistical society: series B (Methodological)*, 57(1), 289-300 pp.
- Bernard, A., Barreneche, T., Lheureux, F., and Dirlewanger, E.,** 2018a, Analysis of genetic diversity and structure in a worldwide walnut (*Juglans regia* L.) germplasm using SSR markers. *PLoS One*, 13(11), e0208021.
- Bernard, A., Lheureux, F. and Dirlewanger, E.,** 2018b, Walnut: past and future of genetic improvement, *Tree genetics & genomes*, 14(1), 1p.
- Bernard, A., Marrano, A., Donkpegan, A., Brown, P.J., Leslie, C.A., Neale, D.B. and Dirlewanger, E.,** 2020, Association and linkage mapping to unravel genetic architecture of phenological traits and lateral bearing in Persian walnut (*Juglans regia* L.), *BMC genomics*, 21, 1-25 pp.
- Bernard, A., Crabier, J., Donkpegan, A. S., Marrano, A., Lheureux, F. and Dirlewanger, E.,** 2021, Genome-wide association study reveals candidate genes involved in fruit trait variation in Persian walnut (*Juglans regia* L.), *Frontiers in Plant Science*, 11, 607213p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Bonferroni, C.E.**, 1935, Il calcolo delle assicurazioni su gruppi di teste, *Studi in onore del professore salvatore ortu carboni*, 13-60 pp.
- Bradbury, P.J., Zhang, Z., Kroon, D.E., Casstevens, T.M., Ramdoss, Y. and Buckler, E.S.**, 2007, Tassel: software for association mapping of complex traits in diverse samples, *Bioinformatics*, 23, 2633-2635 pp.
- Burge, S., Kelly, E., Lonsdale, D., Mutowo-Muellenet, P., McAnulla, C., Mitchell, A. and Hunter, S.**, 2012, Manual GO annotation of predictive protein signatures: the InterPro approach to GO curation, Database, 2012, bar068.
- Bükücü, Ş.B., Sütyemez, M., Kefayati, S., Paizila, A., Jighly, A. and Kafkas, S.**, 2020, Major QTL with pleiotropic effects controlling time of leaf budburst and flowering-related traits in walnut (*Juglans regia* L.), *Scientific reports*, 10(1), 15207p.
- Cağlarırnak, N.**, 2003, Biochemical and physical properties of some walnut genotypes (*Juglans regia* L.), *Food/Nahrung*, 47(1), 28-32 pp.
- Chen, P., Bornhorst, J. And Aschner, M.A.**, 2018, Manganese metabolism in humans.
- Cosmulescu, S., Mihai, B.O.T.U. and Trandafir, I.**, 2010, Mineral composition and physical characteristics of walnut (*Juglans regia* L.) cultivars originating in Romania, *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 24(4), 33-37 pp.
- Coudert, E., Gehant, S., de Castro, E., Pozzato, M., Baratin, D., Neto, T. and Bridge, A.**, 2023, Annotation of biologically relevant ligands in UniProtKB using ChEBI. *Bioinformatics*, 39(1), btac793.
- De Valença, A.W., Bake, A., Brouwer, I.D. and Giller, K.E.**, 2017, Agronomic biofortification of crops to fight hidden hunger in sub-Saharan Africa, *Global food security*, 12, 8-14 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Deres, D. and Feyissa, T.**, 2022, Concepts and applications of diversity array technology (DArT) markers for crop improvement, *Journal of Crop Improvement*, 1-21 pp.
- Descalsota, G.I.L., Swamy, B.M., Zaw, H., Inabangan-Asilo, M.A., Amparado, A., Mauleon, R. and Reinke, R.**, 2018, Genome-wide association mapping in a rice Magic plus population detects QTLs and genes useful for biofortification, *Frontiers in plant science*, 9, 1347p.
- Dlouhy, A.C. and Outten, C.E.**, 2013, The iron metallome in eukaryotic organisms, *Metallomics and the Cell*, 241-278 pp.
- Earl, D.A. and VonHoldt, B.M.**, 2012, Structure Harvester: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation genetics resources*, 4, 359-361 pp.
- Erdogmus, S., Ates, D., Nemli, S., Yagmur, B., Asciogul, T.K., Ozkuru, E. And Tanyolac, M.B.**, 2020, Genome-wide association studies of Ca and Mn in the seeds of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *Genomics*, 112(6), 4536-4546 pp.
- Evanno, G., Regnaut, S. and Goudet, J.**, 2005, Detecting the number of clusters of individuals using the software Structure: a simulation study, *Molecular ecology*, 14(8), 2611-2620 pp.
- Famula, R.A., Richards, J.H., Famula, T.R. and Neale, D.B.**, 2019, Association genetics of carbon isotope discrimination and leaf morphology in a breeding population of *Juglans regia* L., *Tree Genetics & Genomes*, 15, 1-13 PP.
- Faostat**, 2022, “Food and agriculture organization of the United Nations”, <https://www.fao.org/faostat/en/#home> (Accessed 25 April 2022)
- Ferik, F., Ates, D., Ercisli, S., Erdogan, A., Orhan, E. And Tanyolac, M.B.**, 2022, Genome-wide association links candidate genes to fruit firmness, fruit flesh color, flowering time, and soluble solid content in apricot (*Prunus armeniaca* L.), *Molecular Biology Reports*, 49(6), 5283-5291 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Freeland-Graves, J.H., Mousa, T.Y. and Kim, S.**, 2016, International variability in diet and requirements of manganese: Causes and consequences, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 38, 24-32 pp.
- Galeano, C.H., Cortés, A.J., Fernández, A.C., Soler, Á., FrancoHerrera, N., Makunde, G., Vanderleyden, J. and Blair, M.W.**, 2012, gene based single nucleotide polymorphism markers for genetic and association mapping in common bean, *BMC Genetics*, 13:48.
- Gaudet, P., Livstone, M.S., Lewis, S.E. and Thomas, P.D.**, 2011, Phylogenetic-based propagation of functional annotations within the Gene Ontology consortium, *Briefings in bioinformatics*, 12(5), 449-462 pp.
- Geng, S., Ning, D., Ma, T., Chen, H., Zhang, Y. and Sun, X.**, 2021, Comprehensive analysis of the components of walnut kernel (*Juglans regia* L.) in China. *Journal of Food Quality*, 1-11 pp.
- Gharibzahedi, S.M.T., Mousavi, S.M., Hamed, M. and Khodaiyan, F.**, 2012, Comparative analysis of new Persian walnut cultivars: nut/kernel geometrical, gravimetric, frictional and mechanical attributes and kernel chemical composition, *Scientia Horticulturae*, 135, 202-209 pp.
- Gupta, P.K., Kulwal, P.L. and Jaiswal, V.**, 2019, Association mapping in plants in the post-GWAS genomics era, *Advances in genetics*, 104, 75-154 pp.
- Gündeşli, M.A.**, 2021, Nature's miracle walnut and human health, *Walnut. Ankara, Turkey: Iskad Publishing House*, 365p.
- Hamblin, M.T., Buckler, E. S. and Jannink, J.L.**, 2011, Population genetics of genomics-based crop improvement methods, *Trends in Genetics*, 27(3), 98-106 pp.
- Han, H., Woeste, K.E., Hu, Y., Dang, M., Zhang, T., Gao, X.X. and Zhao, P.**, 2016, Genetic diversity and population structure of common walnut (*Juglans regia*) in China based on EST-SSRs and the nuclear gene phenylalanine ammonia-lyase (PAL). *Tree Genetics & Genomes*, 12, 1-12 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Hotz, C. And Gibson, R.S.,** 2007, Traditional food-processing and preparation practices to enhance the bioavailability of micronutrients in plant-based diets, *The Journal of nutrition*, 137(4), 1097-1100 pp.
- Ji, F., Ma, Q., Zhang, W., Liu, J., Feng, Y., Zhao, P. and Pei, D.,** 2021, A genome variation map provides insights into the genetics of walnut adaptation and agronomic traits, *Genome Biology*, 22(1), 1-22 pp.
- Kacar, B. and İnal, A.,** 2008, Bitki Analizleri, Nobel Yayınları, Yayın No: 1241. *Fen Bilimleri*, 892s.
- Kalaev, V.N., Karpova, S.S., Al-Hachami, F.R., Ignatova, I.V. and Slavskiy, V.A.,** 2020, Cytogenetic polymorphism of seed progeny of walnut (*Juglans regia* L.) during introduction in the central chernozem region, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 48(3), 1519-1533 pp.
- Karaca, N., Ates, D., Nemli, S., Ozkuru, E., Yilmaz, H., Yagmur, B. And Tanyolac, M.B.,** 2020, Association mapping of magnesium and manganese concentrations in the seeds of *C. arietinum* and *C. Reticulatum*, *Genomics*, 112(2), 1633-1642 pp.
- Karaca, N., Ates, D., Nemli, S., Ozkuru, E., Yilmaz, H., Yagmur, B., and Tanyolac, M.B.,** 2019, Genome-wide association studies of protein, lutein, vitamin C, and fructose concentration in wild and cultivated chickpea seeds, *Crop Science*, 59(6), 2652-2666 pp.
- Kendall, C.W.C., Esfahani, A., Josse, A.R., Augustin, L.S.A., Vidgen, E. and Jenkins, D.J.A.,** 2011, The glycemic effect of nut-enriched meals in healthy and diabetic subjects, *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 21, 34-39 pp.
- Li, X., Wang, X., Cui, Z., Shi, W., Huang, J. and Wang, J.,** 2023, Development of polymorphic microsatellite markers and identification of applications for wild walnut (*Juglans regia* L.) in Middle Asia, *Diversity*, 15(10), 1073p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Li, Z., Xue, Y., Zhou, H., Li, Y., Usman, B., Jiao, X., and Qiu, Y.,** 2019, High-resolution mapping and breeding application of a novel brown planthopper resistance gene derived from wild rice (*Oryza rufipogon* Griff), *Rice*, 12(1), 1-13 pp.
- Liu, J., Huang, L., Li, T., Liu, Y., Yan, Z., Tang, G. and Wu, B.,** 2021, Genome-wide association study for grain micronutrient concentrations in wheat advanced lines derived from wild emmer, *Frontiers in Plant Science*, 12, 651283p.
- Lopera-Barrero, N.M., Santos, S.C.A.D., Rodriguez-Rodriguez, M.D.P., Fornari, D.C., Zancheta, C., Poveda-Parra, A.R. and Ribeiro, R.P.,** 2015, Genetic diversity of wild populations and broodstocks of curimba for restocking programs in the Tietê, Grande, Pardo and Mogi Guaçu rivers (Brazil), *Bol. Inst. Pesca, São Paulo*, 41(2), 287-304 pp.
- Ma, L., Qing, C., Zhang, M., Zou, C., Pan, G. and Shen, Y.,** 2021, GWAS with a PCA uncovers candidate genes for accumulations of microelements in maize seedlings, *Physiologia plantarum*, 172(4), 2170-2180 pp.
- Mammadov, J., Aggarwal, R., Buyyarapu, R. and Kumpatla, S.,** 2012, SNP markers and their impact on plant breeding, *International journal of plant genomics*, 2012.
- Mangueze, A.V.D.J., Pessoa, M.F., Silva, M.J., Ndayiragije, A., Magaia, H.E., Cossa, V.S. and Ramalho, J.C.,** 2018, Simultaneous zinc and selenium biofortification in rice. Accumulation, localization and implications on the overall mineral content of the flour, *Journal of cereal science*, 82, 34-41 pp.
- Manjeru, P., Van Biljon, A. and Labuschagne, M.,** 2019, The development and release of maize fortified with provitamin A carotenoids in developing countries, *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(8), 1284-1293 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Marrano, A., Sideli, G.M., Leslie, C.A., Cheng, H. and Neale, D.B.,** 2019, Deciphering of the genetic control of phenology, yield, and pellicle color in Persian walnut (*Juglans regia* L.), *Frontiers in Plant Science*, 1140p.
- Martínez, M.L., Labuckas, D.O., Lamarque, A.L. and Maestri, D.M.,** 2010, Walnut (*Juglans regia* L.): genetic resources, chemistry, by-products, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(12), 1959-1967 pp.
- Martínez-García, P.J., Crepeau, M.W., Puiu, D., Gonzalez-Ibeas, D., Whalen, J., Stevens, K.A. and Neale, D.B.,** 2016, The walnut (*Juglans regia*) genome sequence reveals diversity in genes coding for the biosynthesis of non-structural polyphenols, *The Plant Journal*, 87(5), 507-532 pp.
- Momchilova, S., Arpadjan, S. and Blagoeva, E.,** 2016, Accumulation of microelements Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, Zn in walnuts (*Juglans regia* L.) depending on the cultivar and the harvesting year, *Bulgarian Chemical Communications*, 48, 50-54 pp.
- Muradoglu, F., Oguz, H.I., Yildiz, K. and Yilmaz, H.,** 2010, Some chemical composition of walnut (*Juglans regia* L.) selections from Eastern Turkey, *African Journal of Agricultural Research*, 5(17), 2379-2385 pp.
- Muradoğlu, F., Gündoğdu, M. and Kalan, C.,** 2011, Bingöl yöresi ceviz genotiplerinin bazı kimyasal ve mineral içeriklerinin belirlenmesi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 16(1), 17-21 pp.
- Myles, S., Peiffer, J., Brown, P., Ersoz, E., Zhang, Z., Costich, D. and Buckler, E.,** 2009, Association mapping: critical considerations shift from genotyping to experimental design, *Plant Cell*, Online 21, 2194—2202 pp.
- Nishio, S., Hayashi, T., Yamamoto, T., Terakami, S., Iwata, H., Imai, A. and Saito, T.,** 2018, Bayesian genome-wide association study of nut traits in Japanese chestnut. *Molecular Breeding*, 38, 1-16 pp.
- Niu, L., Li, H., Song, Z., Dong, B., Cao, H., Liu, T. and Fu, Y.,** 2021, The functional analysis of ABCG transporters in the adaptation of pigeon pea (*Cajanus cajan*) to abiotic stresses, *PeerJ*, 9, e10688.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Nordborg, M. and Tavaré, S.,** 2002., Linkage disequilibrium: what history has to tell us, *Trends in Genetics*, 18(2), 83-90 pp.
- Nunn, J., De Faveri, J., O'Connor, K., Alam, M., Hardner, C., Akinsanmi, O. And Topp, B.,** 2022, Genome wide association study for abscission failure of fruit pericarps (stick-tights) in wild macadamia germplasm, *Agronomy*, 12(8), 1913p.
- Orman, E., Ateş, D., Özkuru, E., Hepaksoy, S., Kafkas, S. and Tanyolac, M.B.,** 2020, Association mapping of several nut characters in walnut (*Juglans regia* L.), *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 44(2), 208-227 pp.
- Orooji, Y., Han, N., Nezafat, Z., Shafiei, N., Shen, Z., Nasrollahzadeh, M. and Klemeš, J.J.,** 2022, Valorisation of nuts biowaste: Prospects in sustainable bio (nano) catalysts and environmental applications, *Journal of Cleaner Production*, 347, 131220p.
- Pasricha, S.R., Tye-Din, J., Muckenthaler, M.U. and Swinkels, D.W.,** 2021, Iron deficiency, *The Lancet*, 397(10270), 233-248 pp.
- Pritchard, J.K., Stephens, M. and Donnelly, P.,** 2000, Inference of population structure using multilocus genotype data, *Genetics*, 155(2), 945-959 pp.
- Rabadán, A., Álvarez-Ortí, M. and Pardo, J.E.,** 2019, A comparison of the effect of genotype and weather conditions on the nutritional composition of most important commercial nuts. *Scientia Horticulturae*, 244, 218-224 pp.
- Sankaran, R.P., Huguet, T. and Grusak, M.A.,** 2009, Identification of QTL affecting seed mineral concentrations and content in the model legume *Medicago truncatula*, *Theoretical and Applied genetics*, 119, 241-253 pp.
- Sansaloni, C.P., Petroli, C.D., Carling, J., Hudson, C.J., Steane, D.A., Myburg, A.A. and Kilian, A.,** 2010, A high-density Diversity Arrays Technology (DArT) microarray for genome-wide genotyping in *Eucalyptus*, *Plant Methods*, 6, 1-11 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Shah, U.N., Mir, J.I., Ahmed, N. and Fazili, K. M.,** 2018, Assessment of germplasm diversity and genetic relationships among walnut (*Juglans regia* L.) genotypes through microsatellite markers., *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(4), 339-350 pp.
- Shahi Shavvon, R., Qi, H.L., Mafakheri, M., Fan, P.Z., Wu, H.Y., Bazdid Vahdati, F. and Liu, J.,** 2023, Unravelling the genetic diversity and population structure of common walnut in the Iranian Plateau, *BMC Plant Biology*, 23(1), 1-13 pp.
- Shakiba, E., Edwards, J.D., Jodari, F., Duke, S.E., Baldo, A.M., Korniliev, P., McCouch, S.R. and Eizenga, G.C.,** 2017, Genetic architecture of cold tolerance in rice (*Oryza sativa*) determined through high resolution gfmuraenomewide analysis, *PloS one*, 12(3): e0172133.
- Sideli, G.M., Marrano, A., Montanari, S., Leslie, C.A., Allen, B.J., Cheng, H. and Neale, D.B.,** 2020, Quantitative phenotyping of shell suture strength in walnut (*Juglans regia* L.) enhances precision for detection of QTL and genome-wide association mapping, *PloS One*, 15(4), e0231144.
- Sideli, G.M., Mather, D., Wirthensohn, M., Dicenta, F., Goonetilleke, S.N., Martínez-García, P.J. and Gradziel, T.M.,** 2023, Genome wide association analysis and validation with KASP markers for nut and shell traits in almond (*Prunus dulcis* [Mill.] DA Webb), *Tree Genetics & Genomes*, 19(2), 13p.
- Sim, S.Y.J., Srv, A., Chiang, J. H. And Henry, C.J.,** 2021, Plant proteins for future foods: A roadmap. *Foods*, 10(8), 1967p.
- Soundappan, I., Bennett, T., Morffy, N., Liang, Y., Stanga, J.P., Abbas, A., and Nelson, D.C.,** 2015, SMAX1-LIKE/D53 family members enable distinct MAX2-dependent responses to strigolactones and karrikins in Arabidopsis, *The Plant Cell*, 27(11), 3143-3159 pp.
- Şen, S. M. and Karadeniz, T.,** 2015, The nutritional value of walnut, *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 11(18), 68-71 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Şen, S.M.**, 2017, Cevizin besin değeri ve sağlıklı beslenmedeki önemi, *Bahçe*, 46(Özel Sayı 2), 1-9s.
- Tang, H., Finn, R.D. and Thomas, P.D.**, 2019, TreeGraft: phylogenetic tree-based annotation of proteins with Gene Ontology terms and other annotations, *Bioinformatics*, 35(3), 518-520 pp.
- Topcu, H.**, 2021, Conventional and molecular breeding in walnut, *Walnut. Ankara, Turkey: Iskad Publishing House*.
- Trandafir, I., Cosmulescu, S., Botu, M. and Nour, V.**, 2016, Antioxidant activity, and phenolic and mineral contents of the walnut kernel (*Juglans regia* L.) as a function of the pellicle color, *Fruits*, 71(3), 177-184 pp.
- Tuik**, 2021 “Meyve Ürünleri İçecek ve Baharat Bitkileri. Bitkisel Üretim İstatistikleri”, <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2021-37249> (Accessed 25 April 2022)
- Tulchinsky, T.H.**, 2010, Micronutrient deficiency conditions: global health issues, *Public health reviews*, 32, 243-255 pp.
- Uffelmann, E., Huang, Q.Q., Munung, N.S., De Vries, J., Okada, Y., Martin, A.R. and Posthuma, D.**, 2021, Genome-wide association studies. *Nature Reviews Methods Primers*, 1(1), 59p.
- Verma, M.K., Sharma, V.K., Lal, S.H.I.V., Mir, J., Sofi, A.A., Singh, D.B. and Bhat, H.A.**, 2020, Quality profiling of Indian walnut (*Juglans regia*) from Kashmir valley, *Indian J. Agric. Sci*, 90(3), 573-6 pp.
- Verma, S. K., Kumar, S., Sheikh, I., Malik, S., Mathpal, P., Chugh, V. and Dhaliwal, H.S.**, 2016. Transfer of useful variability of high grain iron and zinc from *Aegilops kotschy* into wheat through seed irradiation approach, *International Journal of Radiation Biology*, 92(3), 132-139 pp.
- Wang, J., Ye, H., Zhou, H., Chen, P., Liu, H., Xi, R. and Zhao, P.**, 2022, Genome-wide association analysis of 101 accessions dissects the genetic basis of shell thickness for genetic improvement in Persian walnut (*Juglans regia* L.), *BMC Plant Biology*, 22(1), 436p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Wang, L., Wang, B., Jiang, L., Liu, X., Li, X., Lu, Z. and Li, J.,** 2015, Strigolactone signaling in Arabidopsis regulates shoot development by targeting D53-like SMXL repressor proteins for ubiquitination and degradation, *The Plant Cell*, 27(11), 3128-3142 pp.
- Ward, E.,** 2014, Addressing nutritional gaps with multivitamin and mineral supplements, *Nutrition journal*, 13(1), 1-10 pp.
- Watts, D.L.,** 1990, The nutritional relationships of manganese, *Journal of Orthomolecular Medicine*, 5(4), 219-222 pp.
- Yang, X. E., Chen, W. R. and Feng, Y.,** 2007, Improving human micronutrient nutrition through biofortification in the soil–plant system: China as a case study, *Environmental Geochemistry and Health*, 29, 413-428 pp.
- Yano, K., Yamamoto, E., Aya, K., Takeuchi, H., Lo, P-c., Hu, L., Yamasaki, M., Yoshida, S., Kitano, H. and Hirano, K.,** 2016, Genome-wide association study using whole-genome sequencing rapidly identifies new genes influencing agronomic traits in rice, *Nature Genetics*, 48(8): 927-934 pp.
- Zhao, Q., Brkljacic, J. and Meier, I.,** 2008, Two distinct interacting classes of nuclear envelope–associated coiled-coil proteins are required for the tissue-specific nuclear envelope targeting of Arabidopsis RanGAP, *The Plant Cell*, 20(6), 1639-1651 pp.
- Zhou, X., Graumann, K. and Meier, I.,** 2015, The plant nuclear envelope as a multifunctional platform LINCed by SUN and KASH. *Journal of Experimental Botany*, 66(6), 1649-1659 pp.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam boyunca beni yönlendiren ve bilgi ve deneyimlerini paylaşmaktan çekinmeyen değerli danışman hocam Doç. Dr. Duygu ATEŞ'e çok teşekkür ederim. Kendisi, bu süreçte hem akademik rehberim hem de ilham kaynağım olmuştur.

İlk günümünden itibaren bana her zaman destek olup bilgi ve deneyimlerini cömertçe paylaşan Sayın Prof. Dr. M. Bahattin TANYOLAÇ'a teşekkür ederim. Çalışmalarımın başarılı bir şekilde tamamlanmasında, hocamın rehberliği ve uzmanlığı önemli bir rol oynamıştır.

Bu çalışma, TÜBİTAK'ın 122O658 nolu proje desteği ile gerçekleştirilmiştir. Sağladığı finansal ve teknik destek için TÜBİTAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bu destek, araştırmalarımı daha ileriye taşımama olanak tanımıştır.

Son olarak, akademik yolculuğum boyunca bana destek olan aileme ve arkadaşlarıma da teşekkür etmek isterim. Onların manevi desteği, bu süreçte bana güç ve moral kaynağı olmuştur.

ÖZGEÇMİŞ

Özge Doğanay İlk ve Orta öğrenimini Niğde’de tamamladı. 2013 yılında Toki Anadolu Öğretmen Lisesinden mezun oldu. 2018 yılında Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesinden Tarımsal Genetik Mühendisi ünvanı ile mezun oldu. 2021 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda lisansüstü eğitimine başladı.

