



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



**CEVİZDE (*Juglans regia* L.) ÇİNKO VE BAKIR
KONSANTRASYONLARIYLA İLİŞKİLİ GENLERİN
GWAS ANALİZİ İLE BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Berfin Nazlıcan KAMAN

Biyomühendislik Anabilim Dalı

İzmir
2025

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CEVİZDE (*Juglans regia* L.) ÇİNKO VE BAKIR
KONSANTRASYONLARIYLA İLİŞKİLİ
GENLERİN GWAS ANALİZİ İLE
BELİRLENMESİ**

Berfin Nazlıcan KAMAN

Danışman: Doç Dr. Duygu ATEŞ

Biyomühendislik Anabilim Dalı
Biyomühendislik Yüksek Lisans Programı

İzmir
2025

Berfin Nazlıcan KAMAN tarafından Yüksek Lisans Bitirme tezi olarak sunulan “CEVİZDE (*Juglans regia* L.) ÇİNKO VE BAKIR KONSANTRASYONLARIYLA İLİŞKİLİ GENLERİN GWAS ANALİZİ İLE BELİRLENMESİ” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 29/05/2025 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Doç. Dr. Duygu ATEŞ

.....

Raportör Üye: Prof. Dr. M. Bahattin TANYOLAÇ

.....

Üye : Doç. Dr. Ozan KARAMAN

.....

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “CEVİZDE (*Juglans regia* L.) ÇİNKO VE BAKIR KONSANTRASYONLARIYLA İLİŞKİLİ GENLERİN GWAS ANALİZİ 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.

19/06/2025

İmzası

Berfin Nazlıcan KAMAN

ÖZET**CEVİZDE (*Juglans regia* L.) ÇİNKO VE BAKIR KONSANTRASYONLARIYLA İLİŞKİLİ GENLERİN GWAS ANALİZİ İLE BELİRLENMESİ**

KAMAN, Berfin Nazlıcan

Yüksek Lisans Tezi, Biyomühendislik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Duygu Ateş

Haziran 2025, 44 sayfa

Bu çalışmada, 154 farklı ceviz (*Juglans regia* L.) genotipinde genetik ve fenotipik analizler gerçekleştirilmiştir. Çinko (Zn) besin elementi konsantrasyonlarının 1,61 ve 8,98 mg/100 g arasında, bakır (Cu) besin elementi konsantrasyonlarının ise 0,12 ve 0,38 mg/100 g arasında değiştiği belirlenmiştir. Genom Çapında İlişki Analizi (GWAS) için Çeşitlilik Dizisi Teknolojisi (DART) kullanılarak toplam 16.473 Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP) üretilmiştir. Zn elementi ile ilişkili markörlerin tespitinde, Q + K modelini içeren Karma Doğrusal Model (MLM) kullanılmış ve 2021 yılında yedi, 2022 yılında ise dört ilişkili SNP belirlenmiştir. Aynı model kullanılarak yapılan analizlerde, Cu elementi ile ilişkili olarak 2021 yılında iki, 2022 yılında ise üç SNP tespit edilmiştir. Bu çalışmada saptanan markörlerin, farklı ceviz genotiplerindeki Zn ve Cu seviyeleri ile anlamlı düzeyde ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Bağlantılı SNP dizileri ile homoloji gösteren sekanslar incelenerek Zn elementi için bir potansiyel aday gen belirlenmiştir. Zn ve Cu ile ilişkili SNP'lerin, ceviz ıslah programlarında bu elementlerin seçilmesine yönelik olarak etkin bir şekilde kullanılabileceği öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ceviz, Çinko, Bakır, GWAS, SNP.



ABSTRACT**IDENTIFICATION OF GENES ASSOCIATED WITH ZINC AND
COPPER CONCENTRATIONS IN WALNUT (*Juglans regia* L.) BY
GWAS ANALYSIS**

KAMAN, Berfin Nazlıcan

MSc in Bioengineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Duygu Ateş

June 2025, 44 pages

A total of 154 walnut genotypes were analyzed in the study. Micronutrient concentrations of zinc (Zn) ranged from 1.61 to 8.98 mg/100 g, and copper (Cu) concentrations varied between 0.12 and 0.38 mg/100 g. Precisely 16,473 Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) were generated using Diversity Array Technology (DArT) for Genome-Wide Association Studies. The Mixed Linear Model (MLM), utilizing the Q matrix and Kinship matrix (Q + K) model, revealed seven associated markers for Zn in 2021 and four in 2022. The MLM (Q + K) model indicated two associated markers for Cu in 2021 and three in 2022. The markers found in this study were significantly associated with the levels of Zn and Cu in different walnut genotypes. One potential candidate gene for Zn was identified based on sequences showing homology to linked SNPs. The markers associated with Zn and Cu can be effectively used in walnut plant breeding programs to assist in selecting Zn and Cu traits.

Keywords: Walnut, Zinc, Copper, GWAS, SNP.

ÖNSÖZ

Dünya genelinde mikro besin alımının düşük olması ve bunlara bağlı riskler, önemli bir sağlık problemi olarak değerlendirilmektedir. Ceviz; içerdiği mineraller, proteinler, esansiyel yağ asitleri, vitaminler ve diğer besleyici bileşenler sayesinde, sağlığa katkı sağlayan yüksek nitelikli bir besin kaynağı olarak tüketilmektedir. Ceviz meyvesinde, beslenme açısından gerekli olan besin elementlerinin birikimi ve bu birikimin sağlık üzerindeki etkileri ile çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Cevizde biyofortifikasyon metodu ile çinko (Zn) ve bakır (Cu) konsantrasyonlarının yükseltilmesi, potansiyel olarak sağlık üzerinde olumlu etkiler oluşturabilir. Bu kapsamda, cevizde yürütülecek biyofortifikasyon çalışmaları için genetik kaynakların besin elementi konsantrasyonu yönünden değerlendirilmesi ve bu elementlerin birikimiyle ilişkili DNA markörlerinin tespit edilmesi gerekmektedir. Bu doğrultuda, sunulan çalışma; cevizde Zn ve Cu besin elementi konsantrasyonlarının genetik düzeyde ilişkilendirildiği ilk araştırma olma özelliğini taşımaktadır.

İZMİR

19/06/2025

Berfin Nazlıcan KAMAN



İÇİNDEKİLERSayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
İÇİNDEKİLER	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvi
SİMGELER DİZİNİ	xvii
KISALTMALAR DİZİNİ	xviii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
3. GEREÇ VE YÖNTEM	11
3.1. Bitki Materyalleri	11
3.2. Mikro Besin Elementi Analizi	13
3.3. Varyans Analizi	14
3.4. Popülasyon Yapısı Analizi	14
3.5. AM Analizi	15
3.6. Aday Gen Analizi	15
4. BULGULAR	16
4.1. Mikro Besin Elementi Analizi	16
4.2. Varyans Analizi	17

İÇİNDEKİLER (devam)

4.3.	Popülasyon Yapısı Analizi	19
4.4.	AM Analizi.....	21
4.5.	Aday Gen Analizi.....	24
5.	TARTIŞMA	26
5.1.	Mikro Besin Elementi Analizi.....	26
5.2.	Varyans Analizi.....	27
5.3.	Popülasyon Yapısı Analizi	28
5.4.	AM Analizi.....	28
5.5.	Aday Gen Analizi.....	30
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	31
	KAYNAKLAR DİZİNİ.....	32
	TEŞEKKÜR.....	43
	ÖZGEÇMİŞ	44

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 3. 1.** Kuru yakma işleminden sonra kül halindeki cevizlerin filtre kağıdı ve HCl ile süzdürülmesi 13
- Şekil 4. 1.** 154 ceviz genotipinde elementlerin yıllara göre dağılım grafiği (a) Zn 2021, (b) Zn 2022, (c) Cu 2021, (d) Cu 2022..... 17
- Şekil 4. 2.** (a) K değerleri ve ΔK değeri, (b) STRUCTURE programından elde edilen verilere göre ceviz genotiplerinin benzerliklerine göre dağılımı (Her grup farklı bir renkle gösterilmiştir: kırmızı, yeşil ve mavi). 20
- Şekil 4. 3.** 154 ceviz genotipinin PCA analizi..... 21
- Şekil 4. 4.** (a) 2021 ve (b) 2022 yılları için Zn besin elementiyle ilgili gözlenen -log₁₀ (P) değerlerinin beklenen -log₁₀ (P) değerlerine karşılık geldiği Q-Q grafikleri ve Zn besin elementi için Manhattan Grafikleri (c) 2021 (d) 2022. Manhattan Grafiklerindeki mavi çizgiler FDR eşik değerlerini temsil etmektedir. 23
- Şekil 4. 5.** (a) 2021 ve (b) 2022 yılları için Cu besin elementiyle ilgili gözlenen -log₁₀ (P) değerlerinin beklenen -log₁₀ (P) değerlerine karşılık geldiği Q-Q grafikleri ve Cu besin elementi için Manhattan Grafikleri (c) 2021 (d) 2022. Manhattan Grafiklerindeki mavi çizgiler FDR eşik değerlerini temsil etmektedir. 23

ÇİZELGELER DİZİNİÇizelgeSayfa

Çizelge 3. 1. 154 ceviz genotipinin adı, orijin ve ülke isimleri	11
Çizelge 4. 1. 154 ceviz genotipinde mikro besin elementi (Zn ve Cu) analizi sonuçları (2021-2022)	16
Çizelge 4. 2. Ceviz genotiplerinde Zn besin elementi için varyans analizi sonuçları	18
Çizelge 4. 3. Ceviz genotiplerinde Cu besin elementi için varyans analizi sonuçları	18
Çizelge 4. 4. Yalova iline ait 2021-2022 yıllarındaki sıcaklık, yağış ve nem verileri	18
Çizelge 4. 5. STRUCTURE analizi sonuçları	21
Çizelge 4. 6. Zn ve Cu besin elementi alımıyla ilişkili istatistiki olarak anlamlı bulunan markörler	22
Çizelge 4. 7. İlişkili bulunan SNP markörlerinin kromozom üzerinde 100 Kb yukarısında ve aşağısında bulunan genler	24
Çizelge 4. 8. NCBI veri tabanında yapılan GDV analizi sonucu	25

SİMGELER DİZİNİ

<u>Simge</u>	<u>Açıklama</u>
%	Yüzde
°C	Derece Celcius
Cu	Bakır
Zn	Çinko
Fe	Demir
Ca	Kalsiyum
Mg	Magnezyum
I	İyot
P	Fosfor
Mn	Manganez
HCl	Hidroklorik Asit

KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltma</u>	<u>Açıklama</u>
QTL	Kantitatif Özellik Lokusu
AM	İlişkilendirme Haritası
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi
DArT	Çeşitlilik Dizisi Teknolojisi
GWAS	Genom Çapında İlişki Çalışmaları
NGS	Yeni Nesil Sekanslama
LD	Bağlantı Dengesizliği
WIP	Ceviz Islah Programı
Chr	Kromozom
ICP-MS	İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrofotometresi
G	Genotip
Y	Yıl
H^2	Kalıtım Derecesi
K	Alt Popülasyon
MCMC	Monte Carlo Markov Zinciri
PCA	Temel Bileşenler Analizi
TASSEL	Trait Analysis in Association Evolution and Linkage
MLM	Karma Doğrusal Model

KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

MAF	Minör Alel Frekansı
IBS	Identity by State
FDR	Yanlış Keşif Oranı
Q-Q	Kuantil-Kuantil
NCBI	Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
<i>F_{st}</i>	Sabitlenme İndeksi
ABA	Absisik asit
DNA	Deoksiribonukleik asit
mg	Miligram
cm	Santimetre
kcal	Kilokalori
g	Gram
kg	Kilogram
ml	Mililitre
N	Normal
Kb	Kilobaz
RNA	Ribonukleik asit



1. GİRİŞ

İngiliz cevizi veya yaygın adıyla ceviz (*Juglans regia* L.), Juglandaceae familyasına ait diploid bir türdür ($2n = 32$) (Martínez-García et al., 2016). Asya, Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika, Güney Afrika, Avustralya ve Yeni Zelanda gibi bölgelerde yaygın olarak yetiştirilmektedir (Sütyemez et al., 2022). Badem (*Prunus dulcis* (Mill.) D. A. Webb) ve kajudan (*Anacardium occidentale* L.) sonra, dünya genelinde en yaygın yetiştirilen üçüncü sert kabuklu meyve olup yıllık yaklaşık 3,9 milyon ton hasat edilmektedir (Akpunar et al., 2024). Türkiye; Çin, Amerika Birleşik Devletleri ve İran'ın ardından dünyanın en büyük dördüncü ceviz üreticisi konumundadır (Akpunar et al., 2024). Ceviz, yüksek besin değerine sahip olması nedeniyle önemli bir gıda kaynağıdır (Bernard et al., 2018). Tarım ve sağlık başta olmak üzere birçok endüstride yaygın kullanım alanına sahip olması, cevizin ekonomik açıdan büyük bir değer kazandırmaktadır (Liu et al., 2021).

Ceviz meyvesinin çeşitli kanser türlerini önleyici etkilere sahip olduğu, kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı ve kan şekerini düşürdüğü bildirilmiştir (Ozyigit et al., 2019). Ayrıca ceviz, yüksek mikro/makro element içeriği nedeniyle mineral açısından zengin bir meyve olarak tanımlanmaktadır (Ozyigit et al., 2019). Bu mineral besin öğelerinden bazıları, örneğin bakır (Cu) ve çinko (Zn), ağır metaller arasında değerlendirilmektedir (Ozyigit et al., 2019). Bu ağır metallerin canlı organizmalar üzerindeki etkileri, beslenmeyle alınan miktarlarına bağlıdır (Ozyigit et al., 2019). Zn; fizyolojik işleyişin sürdürülmesi, bağışıklık sistemi fonksiyonları, metabolizmanın düzenlenmesi, nörobilişsel mekanizmalar ve oksidatif strese yanıt gibi birçok biyolojik süreçte rol almakta olup, DNA sentezi, hücre proliferasyonu, protein sentezi ve hücre membran bütünlüğü için gerekli bir elementtir (Dresen et al., 2023). Zn, 300'den fazla enzimin kofaktörü olarak görev almaktadır (Dresen et al., 2023). Kadınlar için günlük önerilen Zn alım miktarı 7–10 mg, erkekler için ise 11–16 mg olarak belirtilmiştir (Dresen et al., 2023). Öte yandan Cu, yaşamsal öneme sahip 11 eser elementten biri olup büyüme ve gelişim süreçlerinde görev alan proteinler için redoks katalizörü olarak kritik bir rol üstlenmektedir (Altarelli et al., 2019). Cu elementini kofaktör olarak kullanan enzimler; enerji üretimi, nörotransmisyon, bağ doku olgunlaşması ve demir (Fe) metabolizması gibi birçok fizyolojik süreçte yer almaktadır (Altarelli et al., 2019). Yetişkinler için önerilen günlük Cu alım miktarı 0,90 mg olarak belirlenmiştir

(Fathy et al., 2023). Zn ve Cu'nun insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerine ek olarak, bu elementlerin bitki gelişimi ve fizyolojisinde de kritik roller üstlendiği bilinmektedir. Zn; protein ve oksin metabolizması, polen üretimi ve biyolojik membran bütünlüğü gibi süreçlerde görev almakta olup, bitkilerde patojen kaynaklı enfeksiyonlara karşı direnç ile ilişkilendirilmiştir (Ozturk et al., 2023). Bitkilerde Zn eksikliği; bodur büyüme, yaprak boyutunda küçülme, yaprak klorozu ve başakçık kısırlığı gibi belirtilere yol açmaktadır (Ozturk et al., 2023). Cu elementi ise hücre solunum, elektron taşıma zinciri, fotosentez, hücre duvarı sentezi, lignin oluşumu, oksidatif stres yanıtı ve hormon sinyal yolları gibi birçok biyolojik süreçte görev almaktadır (Mir et al., 2021). Bitkilerde Cu eksikliği, özellikle üreme organları ve genç yapraklarda belirgin etkiler gösterirken, aşırı Cu seviyeleri nekroz, kloroz, yaprak deformasyonu, bodur büyüme ve kök gelişiminin kısıtlanması gibi olumsuz sonuçlara yol açmaktadır (Mir et al., 2021).

Bu temel besin elementlerinin biyolojik süreçlerde kritik işlevlere sahip olması, bilim dünyasında büyük ilgi uyandırmıştır (Stanton et al., 2022). Yenilebilir bitki dokularındaki besin içeriğini artırmaya yönelik bir strateji olan biyofortifikasyon, beslenme programları ile birlikte uygulandığında etkili sonuçlar sağlayan sürdürülebilir bir çözüm olarak değerlendirilmektedir (Stanton et al., 2022). Genom düzenleme tekniklerindeki gelişmeler, genetik biyofortifikasyon stratejilerini giderek daha umut verici bir seçenek haline getirmiştir (Stanton et al., 2022).

Bitkilerde önemli tarımsal özellikler ile ilişkili gen bölgelerinin belirlenmesi, etkili ıslah çalışmalarının temelini oluşturmaktadır (Karaca et al., 2020). Geleneksel Kantitatif Özellik Lokusu (Quantitative Trait Locus - QTL) haritalama analizine dayalı çalışmalar, genellikle sınırlı genetik varyasyona ve düşük haritalama çözünürlüğüne sahip iki ebeveynli haritalama popülasyonları kullanılarak gerçekleştirilmektedir (Karaca et al., 2020). Buna karşın, ilişkilendirme haritalaması (Association Mapping - AM), doğal popülasyonlarda nükleotid polimorfizmleri ile fenotipik varyasyonlar arasındaki ilişkileri inceleyerek daha geniş bir genetik varyasyon ve yüksek haritalama çözünürlüğü sağlamaktadır (Karaca et al., 2020). Tek Nükleotid Polimorfizm (Single Nucleotide Polymorphism - SNP) markörleri, genetik AM'lerin oluşturulmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Zeng et al., 2023). Çeşitlilik Dizisi Teknolojisi (Diversity

Array Technology - DArT), son yıllarda genetik varyasyon ve gen haritalama araştırmalarını önemli ölçüde ilerleten maliyet etkin ve yüksek verimli bir yöntem olarak öne çıkmaktadır (Zeng et al., 2023). DNA hibridizasyonuna dayanan DArT teknolojisi, DNA sekansına bağımlı olmaksızın tüm genom boyunca çok sayıda markörü tespit edebilmekte ve otomatik veri toplama imkanı sağlamaktadır (Orman et al., 2020). Bu teknoloji, ceviz ıslah programlarının geliştirilmesine ve cevizin genetik çeşitliliğinin korunmasına katkıda bulunmaktadır (Orman et al., 2020).

Cevizde tohum şekli, çiçeklenme zamanı gibi birçok karakter, Genom Çapında İlişki Çalışmaları (Genome-Wide Association Studies - GWAS) ile incelenmiştir (Arab et al., 2019; Chatwin et al., 2023; Ji et al., 2021; Martínez-García et al., 2016; Orman et al., 2020; Wang et al., 2022). Morfolojik ve fizyolojik özelliklere dair yapılan GWAS analizleri, biyolojik yolların ve fenotiplerin temelinde yatan genetik varyasyonlar hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır (Clauw et al., 2024). GWAS, farklı fenotipe sahip varyantların genetik yapısının ortaya çıkarılmasında ve genetik çeşitlilik ile çevresel faktörler arasındaki etkileşimin anlaşılmasında güçlü bir araç olarak öne çıkmaktadır (Clauw et al., 2024). GWAS'ın belirtilen avantajlarına ve cevizin besin değeri yüksek olmasına rağmen, literatürde ceviz meyvesinde Zn ve Cu besin elementleri ile yapılan herhangi bir AM çalışmasına rastlanılmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı, incelenen ceviz genotiplerinin popülasyon yapısını ve genetik çeşitliliğini belirlemek ve Zn ile Cu besin elementi konsantrasyonları ile ilişkili SNP markörlerini tespit etmektir.

2. GENEL BİLGİLER

J. regia, yaygın olarak Pers cevizi, beyaz ceviz, İngiliz cevizi veya adi ceviz olarak adlandırılmaktadır (Catherine et al., 2022). Ceviz, Juglandaceae familyasına ait *Juglans* cinsine ve *regia* türüne aittir (Catherine et al., 2022). *Juglans* cinsi, dünya genelinde geniş bir yayılış gösterir ve yaklaşık 20 adet çok yıllık türü içeren dört seksiyona (Dioscaryon, Cardiocaryon, Trachycaryon ve Rhysocaryon) ayrılmaktadır (Wang et al., 2022). *J. regia*, Dioscaryon seksiyonuna ait tek türdür (Catherine et al., 2022). Ceviz, $2n = 32$ kromozoma sahip monoik bir ağaç türüdür (Wang et al., 2022). Diploid, tek evcikli ve dikogamik bir ağaç olup, rüzgarla tozlaşan ve yüksek derecede heterozigotluk gösteren bir yapıya sahiptir (Catherine et al., 2022). Ağacın kabuğu gri renkte olup, boyuna çatlaklı yapraklara sahiptir ve yapraklar almaşık dizilimli, tek teleksi, sapsız, eliptik veya uzun-mızraksı şekildedir (Bhat et al., 2023).

MÖ 7000 yılından beri anavatanı Pers olarak bilinen bu tür, Orta Asya'ya özgüdür ve Son Buzul Maksimum'undan sonra göçler yoluyla yayılmıştır (Catherine et al., 2022). Günümüzde ceviz bitkisi, Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika, Güney Afrika, Asya, Avustralya ve Yeni Zelanda gibi birçok bölgede yaygın olarak yetiştirilmektedir (Catherine et al., 2022).

J. regia; yaprak ve meyvesinin fitokimyası ve farmakolojisi; meyve ve ağacının antioksidan potansiyeli, kimyasal bileşimi ve besin değerleri; farklı ceviz genotiplerinin kızılötesi ve Raman spektroskopisi ile karakterizasyonu, yağ asidi profili ve nem içeriğini tahmini, iç kalitenin belirlenmesi (mantar ve böcek enfeksiyonu) ve kültür ayırımı; ceviz genetik kaynaklarının araştırılması, ceviz meyvesinin bileşimi ve yan ürünlerinin elde edilmesi, yağ bileşimi; kavurma işleminin cevizden elde edilen yağların kalite ve güvenliğine etkisi gibi birçok derlemenin konusu olmuştur (Catherine et al., 2022).

Ceviz ağacı, insanların gıda kaynağı olarak tükettiği en eski ağaçlardan biridir (Catherine et al., 2022). Bilinen en eski gıda kaynaklarından biri olmasının yanı sıra ticari açıdan en önemli ceviz türü olan *J. regia*, özellikle kabuklu meyve üretimi amacıyla yetiştirilmektedir (Wang et al., 2022). Ayrıca, dünya çapında yüksek

kaliteli odunu nedeniyle ekonomik açıdan önemli bir sert ağaç türü olarak yetiştirilmektedir (Catherine et al., 2022).

Ceviz bitkisi, yüzyıllardır deri tahrişlerini, eller ve ayaklarda aşırı terlemeyi tedavi etmek için kullanılmaktadır (Bhat et al., 2023). Yaprakları genel olarak sinüzit ve mide ağrılarının tedavisinde kullanılmakta olup, aynı zamanda antibakteriyel, antihelmintik, antidiyareik, hipoglisemik, tonik ve arındırıcı ilaç olarak dünya genelinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Bhat et al., 2023). Türk geleneksel tıbbında, taze yapraklar ateşi düşürmek için çıplak vücuda veya alna uygulanmakta, ayrıca romatizmal ağrıları hafifletmek amacıyla şişmiş eklemlere yerleştirilmektedir (Bhat et al., 2023). Ceviz ağacının odunu dayanıklı olup mobilya yapımı için bir malzeme olmasının yanı sıra aromatik esans içeren uçucu yağlar barındırmaktadır (Bhat et al., 2023). Ayrıca merhem olarak, bitkinin yaprakları güneş yanığı, yüzeysel yanıklar, saç derisi kaşıntısı, kepek ve diğer cilt rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Bhat et al., 2023). Ceviz, Filistin’de inflamatuvar hastalıklar, diyabet ve kalp rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmakta olup, damar sağlığı ve prostat sağlığını desteklemek amacıyla da uygulanmaktadır (Bhat et al., 2023). Tıbbi bir bitki olarak sayılabilecek *J. regia*; helmintiyazis, ishal, sinüzit, mide ağrıları, artrit, astım, egzama, skrofula, deri hastalıkları ve diyabet mellitus, anoreksi, tiroid fonksiyon bozuklukları, kanser, enfeksiyon hastalıkları ve çeşitli endokrin hastalıklar da dahil olmak üzere birçok rahatsızlığın tedavisinde geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır (Bhat et al., 2023). Hayes et al. (2016) tarafından yapılan çalışmalarda da, ceviz meyvesi tüketiminin insan sağlığı üzerinde birçok fayda sağladığı belirtilmiştir (Hayes et al., 2016).

Ceviz meyvesi, yüksek enerji değeri (630 kcal/100 g) ile en yoğun besinlerden biri olarak kabul edilmektedir (Iordanescu et al., 2021). İçeriğinde %52–77 yağ, %11–25 protein, %5–24 karbonhidrat ve %1,30–2,50 mineraller bulunmaktadır (Iordanescu et al., 2021). Ayrıca, kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), iyot (I), Fe, Cu ve Zn gibi besin elementleri ile E vitamini (46 mg/100 g), C vitamini (30–55 mg/100 g) ve B1 vitamini (0,34–0,80 mg/100 g) açısından da zengindir (Iordanescu et al., 2021).

Küresel nüfus artışı, gıda üretiminin sürdürülebilir bir şekilde artırılmasını gerektiren bir dinamik olarak öne çıkmaktadır (Bialowas et al., 2024). Önümüzdeki

yıllarda gıda talebinde daha da büyük bir artış yaşanacağı öngörülmekte ve buna bağlı olarak açlık oranlarının artacağı tahmin edilmektedir (Bialowas et al., 2024). Yetersiz beslenme ile birlikte, yalnızca enerji ve besin öğelerinin eksik alımı değil, vitamin ve mineral yetersizliklerine de giderek daha fazla dikkat çekilmektedir (Bialowas et al., 2024). Bu bağlamda, dünya çapında her üç kişiden birini etkileyebileceği belirtilen ‘gizli açlık’ terimi giderek daha fazla kullanılmaktadır (Bialowas et al., 2024). Minerallerin yeterli düzeyde temin edilmesi gerekliliği, yalnızca eksik bileşenlerle zenginleştirilmiş gıdalar geliştirme arayışına neden olmakla kalmayıp, aynı zamanda küresel gıda politikalarının da değişmesine yol açmıştır (Bialowas et al., 2024). Sürdürülebilir Kalkınma Amaçları çerçevesinde yalnızca genel gıda temininin değil, aynı zamanda içerdiği mikro besin elementlerinin yeterliliğinin de kritik bir konu olduğu vurgulanmıştır (Bialowas et al., 2024). Bu kapsamda, Zn ve Cu gibi mikro besin elementlerinin eksikliklerine de dikkat çekilmektedir (Bialowas et al., 2024).

Prasad (2012) tarafından sunulan verilere göre, yalnızca üç temel mikro besin elementinin (Fe, I, Zn) eksikliği, her yıl beş yaş altındaki yaklaşık yarım milyon çocuğun ölümüne neden olmaktadır (Prasad, 2012). Bununla birlikte, günümüzde dengesiz beslenme, bağırsak emilim bozuklukları, biyoyararlanımı sınırlayan faktörler ve gıdalardaki besin içeriğinin azalması gibi birçok faktör nedeniyle mineral eksikliği sorunu giderek artmaktadır (Bialowas et al., 2024). Çeşitli formlarda birçok gıda takviyesi mevcut olsa da, biyoyararlanımları farklılık göstermekte ve dengeli beslenmenin yerini tutamamaktadır (Bialowas et al., 2024). Bu nedenle, etkin gıda üretimi ile dengeli bir besin içeriğinin korunmasını sağlayacak çözümler aranmalıdır. Bu doğrultuda, yalnızca belirli bileşenlerin içeriğini artırmakla kalmayıp, aynı zamanda eksik besin öğelerinin biyoyararlanımını da yükselten fonksiyonel gıdalar üretme amacıyla minerallerle zenginleştirme tekniklerine odaklanılmıştır (Bialowas et al., 2024). Gıda fortifikasyonu, bitki ve hayvan büyüme süreçlerinden işlenme aşamalarına kadar, gıdaların genel besin içeriğinin artırılmasını ifade etmektedir (Bialowas et al., 2024). Özellikle meyve ve sebze gibi doğrudan tüketilen işlenmemiş gıdalar söz konusu olduğunda, belirlenen bileşenlerin zenginleştirilmesi, bitkinin büyüme aşamasında gerçekleştirilmelidir (Bialowas et al., 2024). Bu durum, biyofortifikasyon teknikleri kullanılarak sağlanmaktadır (Bialowas et al., 2024).

Bitkilerin, gıda takviyesi olarak kullanımı için genetik değişiklikler yoluyla iyileştirilmesi veya istenilen özelliklere sahip yeni çeşitlerin oluşturulması süreci biyofortifikasyon olarak adlandırılmaktadır (Naik et al., 2024). Bu amaçla uygun ebeveyn bitkiler kullanılarak melezleme işlemleri gerçekleştirilmelidir (Naik et al., 2024). Elde edilen yavru bireyler arasından, istenilen özellikleri taşıyanlar seçilerek diğerleri elenir (Naik et al., 2024). Bu strateji, provitamin A, Fe ve Zn gibi mikro besin öğelerinin içeriğini artırmak, özellikle çocuklar ve hamile kadınların günlük besin gereksinimlerini karşılamak amacıyla kullanılmaktadır (Naik et al., 2024). Dünya Sağlık Örgütü ve Uluslararası Tarımsal Araştırmalar Danışma Grubu, besin değeri artırılmış bitki çeşitlerinin geliştirilmesi üzerine aktif çalışmalar yürüten önde gelen uluslararası kuruluşlar arasında yer almaktadır (Naik et al., 2024).

Bitki ıslah süreçlerinin altında yatan mekanizmaların kapsamlı bir şekilde açıklanması, genetik düzeyde bitki ıslahının etkinliğini ve uygulanabilirliğini artırmak için gereklidir (Wang et al., 2022). Ancak, bu konudaki çalışmalar ağırlıklı olarak tahıllar, soya fasulyesi ve domates gibi tek yıllık bitkiler üzerine yoğunlaşmış olup, çok yıllık bitkiler ise büyük bitki boyları, uzun gençlik evreleri ve uzun jenerasyon süreleri nedeniyle uzun süre araştırılması güç sistemler olarak görülmüştür (Wang et al., 2022). Bununla birlikte, küresel ısınma, su kıtlığı, hızlı nüfus artışı ve çevresel bozulma gibi faktörler bağlamında sürdürülebilir tarımın temel bileşenleri olarak kabul edilen ve alternatif gıda kaynakları sağlayarak iklim üzerindeki etkileri azaltan çok yıllık bitkilerin geliştirilmesine yönelik ilgi son yıllarda artış göstermektedir (Wang et al., 2022).

Cevizin genetik ıslahının geliştirilmesine yönelik araştırmalar uzun bir gelişim sürecine sahiptir (Wang et al., 2022). Islah yaklaşımlarından biri olarak, morfolojik araştırmalar belirli yetiştirme koşullarına uygun genotiplerin seçimine yönelik önemli yönlendirmeler sağlamıştır (Wang et al., 2022). Çeşitli bahçecilik ve tarımsal özellikler arasındaki korelasyonlar erken dönemlerde açıklığa kavuşturulmuştur (Wang et al., 2022). Bununla birlikte, gelişmiş moleküler araştırma araçlarının ortaya çıkışı, seçim süreçleri ve evrimsel yönelimler hakkında yeni bakış açıları sunmuştur (Wang et al., 2022).

Yüksek yoğunluklu DNA markörlerinin geliştirilmesi, farklı genetik kaynakların genetik çeşitliliğinin anlaşılmasında önemli bir rol oynarken, bitkilerde

karmaşık kantitatif özelliklere yönelik ıslah programlarını hızlandırmış ve seleksiyon verimliliğini artırmıştır (Wang et al., 2022). Moleküler markör çeşitleri; cevizde genetik haritalama, genotip karakterizasyonu, genetik çeşitlilik ve akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla araştırmacılar tarafından benimsenmiştir (Wang et al., 2022).

Yeni Nesil Dizileme (Next Generation Sequencing - NGS) teknolojilerinin gelişimi sayesinde, genom çapındaki varyasyonları oldukça kısa sürede tespit etmek mümkün hale gelmiş ve bu durum SNP markörlerini ideal bir seçim haline getirmiştir (Wang et al., 2022). *J. regia*'nın ilk referans genomunun yayımlanması (Martínez-García et al., 2016), cevizin evrimsel süreci ve genetik ıslah çalışmaları için genomik çalışmaların başlamasına olanak sağlamıştır (Wang et al., 2022). Güncel uzun okuma ve Hi-C dizileme teknolojilerinin yardımıyla, *J. regia*'nın daha yüksek kalitede referans genomları yayımlanmış ve bu çalışmalar; cevizde yüksek verim, büyük meyve boyutu, ince kabuk ve açık renkli ceviz meyvesi gibi ürün özelliklerinin altında yatan genetik mekanizmaların araştırılmasına temel oluşturmuştur (Wang et al., 2022).

Bu bağlamda GWAS, çeşitli popülasyonlardaki Bağlantı dengesizliğinden (Linkage Disequilibrium - LD) yararlanarak hedef QTL belirlemek için ideal bir alternatif araç olarak öne çıkmaktadır (Wang et al., 2022). Geleneksel AM yöntemleriyle karşılaştırıldığında, GWAS doğal varyasyonu temel alarak tarih boyunca meydana gelmiş rekombinasyonlardan yararlanması sayesinde daha yüksek genetik çözünürlük sunmaktadır (Wang et al., 2022). ABD, Kaliforniya Üniversitesi'nin Ceviz Islah Programı (Walnut Improvement Program - WIP) kapsamında, yeniden dizileme verilerinden geliştirilen Axiom *J. regia* 700K SNP Array (Marrano et al., 2019a), ceviz genetiği ve ıslah araştırmalarını büyük ölçüde ilerletmiştir (Wang et al., 2022). Bu çalışmalar sonucunda belirlenen bazı ilişkili SNP'ler, istenen özelliklere sahip genotiplerin seçimi için moleküler markör geliştirme amacıyla daha ileri düzeyde kullanılmıştır (Wang et al., 2022).

Famula et al. (2019), yaptıkları çalışmada 241 ceviz genotipi ile Axiom *J. regia* 700K SNP Array teknolojisi kullanarak karbon izotop ayrımının fizyolojik özelliklere etkisini inceleyen bir AM çalışması yapmışlardır. Bu çalışmada toplam dört adet ilişkili markör bulmuşlardır (Famula et al., 2019). Başka bir çalışmada,

95 ceviz genotipi ve Axiom *J. regia* 700K SNP Array teknolojisi kullanılarak GWAS yapılmış, meyve ve kabuk özellikleriyle ilişkili 42 aday gen bulmuşlardır (Arab et al., 2019). Axiom *J. regia* 700K SNP Array teknolojisi kullanılarak yapılan başka bir çalışmada, hem QTL hem GWAS yaklaşımları ile yapraklanma zamanı, verim, hasat zamanı, yan dalanma ve zar rengi özellikleri ile ilişkili 55 markör saptanmıştır (Marrano et al., 2019b). Yapılan başka bir çalışmada, Axiom *J. regia* 700K SNP Array teknolojisi kullanarak hem GWAS hem QTL yaklaşımları sonucu sütur kuvveti ile ilişkili 94 aday gen belirlenmiştir (Sideli et al., 2020). Başka bir çalışmada, Axiom *J. regia* 700K SNP Array teknolojisi kullanılmış ve 170 ceviz genotipinde GWAS ve QTL yaklaşımlarıyla hem Chr1'de hem de Chr11'de tomurcuklanma, dişi ve erkek çiçeklenme zamanı ile ilişkili markörler ve aday genler tespit edilmiştir (Bernard et al., 2020). Yine aynı çalışma grubunun yapmış olduğu GWAS çalışmasında Axiom *J. regia* 700K SNP Array teknolojisi kullanılmış ve progesteron hormonu içeriği ile ilişkili yedi markör tespit edilmiştir (Bernard et al., 2025). Orman et al. (2020)'nin yapmış olduğu GWAS çalışmasında 154 ceviz genotipi ve DArT teknolojisi kullanılmıştır. Yapılan bu çalışmada meyve ve kabuk özellikleri ile ilişkili toplam 98 markör bulunmuştur (Orman et al., 2020). Yine DArT teknolojisi kullanılarak yapılan farklı bir GWAS çalışmasında ise 188 ceviz genotipi kullanılmış ve tomurcuklanma zamanı ve çiçeklenme özellikleri ile ilişkili toplam 246 markör tespit edilmiştir (Bükücü et al., 2020). Bir başka GWAS çalışmasında, 815 *J. regia* ve *J. sigillata* genotipleri kullanılmıştır (Ji et al., 2021). Bu çalışmada Illumina NovaSeq genotipleme aracı kullanılmış ve meyve, kabuk, çiçek özellikleri ile ilişkili toplamda 1250 markör ve 180 aday gen raporlanmıştır (Ji et al., 2021). Arab et al. (2022)'nin yaptığı GWAS çalışmasında 245 ceviz genotipi kullanılmıştır. MArray, MGBS ve PGBS data setlerinde, kuraklık stresinde fotosentetik yanıtlar ile ilişkili 198, 228 ve 152 markör bulunmuştur (Arab et al., 2022). Bernard et al. (2021)'in yaptığı GWAS çalışmasında, Axiom *J. regia* 700K SNP Array teknolojisi kullanılmış ve 170 ceviz genotipinde kabuk morfolojisi, şekli ve dokusu; kabuk/meyve hacimleri, ağırlıkları ve oranları; yağ asitleri yüzdesi, tokoferol içeriği ve E vitamini aktivitesi ile ilişkili toplamda 75 aday gen tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma aynı zamanda *J. regia*'da yapılan ilk besin içeriği ile alakalı GWAS çalışmasıdır (Bernard et al., 2021). Başka bir çalışmada, 101 ceviz genotipi ve Illumina HiSeq 2500 genotipleme aracı kullanılarak meyve ve kabuk özelliklerinin yanı sıra yağ ve protein içeriği ile GWAS çalışması yapılmıştır

(Wang et al., 2022). Yapılan bu çalışmada yağ içeriği ile ilişkili markörlerin Chr2'de, protein içeriği ile ilişkili markörler Chr3-5-7-9-11'de tespit edilmiştir (Wang et al., 2022). Yaptığımız bu çalışmada ve Akpunar et al. (2024)'nın da çalışmasındaki veri setini oluşturan 16.473 SNP markörü DArT teknolojisi ile elde edilmiştir. 154 ceviz genotipi kullanılmış, Ca ve fosfor (P) besin elementi içeriği ile ilişkili 89 ve 64 aday gen bulunmuştur ve bulunan bu aday genler; *pentatrikopeptit tekrarı içeren protein*, *HVA22-benzeri protein*, ve *HIPP7-benzeri protein* ailelerini içermektedir (Akpunar et al., 2024). Akpunar et al. (2024)'nın çalışmasına benzer bir çalışmada ise 154 ceviz genotipi ve aynı veri seti kullanılmış, Fe ve manganez (Mn) besin elementi içeriği ile ilişkili beş ve 15 markör tespit edilmiştir (Doğanay et al., 2025).

Sonuç olarak, ceviz sadece besleyici ve ekonomik değeri yüksek bir ürün olmakla kalmayıp, aynı zamanda genetik araştırmalar, tıbbi kullanım ve sürdürülebilir tarım açısından da büyük bir öneme sahiptir. Artan bilimsel çalışmalar sayesinde, ceviz ıslahı ve genetik araştırmalar daha sistematik bir hale gelmekte ve tarımsal üretimde verimliliğin artırılmasına yönelik yeni yöntemler geliştirilmektedir. Yapılan çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda sunulan bu çalışma, ceviz meyvesinde Zn ve Cu besin elementi alımıyla ilişkili ilk GWAS çalışması olacaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Bitki Materyalleri

Toplam 154 ceviz genotipi, iki ardışık yıl boyunca (2020-2021) Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü (Yalova, Türkiye) bahçelerinden hasat edilmiştir. Bitkiler standart kontrol stratejileri uygulanarak yetiştirilmiştir. Ceviz genotipleri, Amerika Birleşik Devletleri, Fransa, Sırbistan, Portekiz, Macaristan ve Türkiye kökenli çeşitleri kapsamaktadır (Çizelge 3.1.). DArT genotipleme verileri, ham DArT genotipleme çıktularından türetilmiştir (Orman et al., 2020).

Çizelge 3.1. 154 ceviz genotipinin adı, orijin ve ülke isimleri

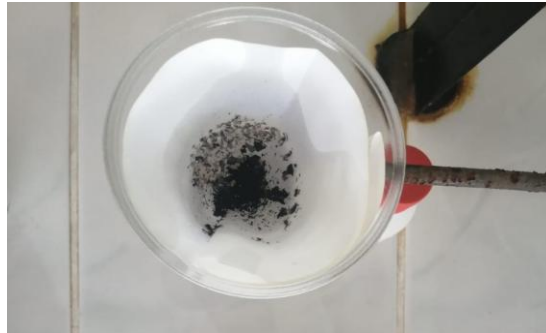
No	Genotip	Orijin	Ülke	No	Genotip	Orijin	Ülke
1	126/8	Balıkesir	Türkiye	78	205/17	Kırklareli	Türkiye
2	24/KE/17	Erzincan	Türkiye	79	KM-2	Kahramanmaraş	Türkiye
3	C/440	Manisa	Türkiye	80	20/CML/119	Denizli	Türkiye
4	KAPLAN/86	Yalova	Türkiye	81	YALOVA/4	Yalova	Türkiye
5	24/KE/21	Erzincan	Türkiye	82	BACK	Sırbistan	Sırbistan
6	85-6	Kırklareli	Türkiye	83	K/1	Kahramanmaraş	Türkiye
7	88-1	Edime	Türkiye	84	HOWARD	USA	USA
8	28/AL/11	Giresun	Türkiye	85	CHAMPION	Sırbistan	Sırbistan
9	AMIGO	USA	USA	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	SÖLEZ-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	Macaristan	Macaristan
23	155-B15	Edime	Türkiye	100	HARTLEY	USA	USA
24	65-4	Van	Türkiye	101	FRX74/7	Yalova	Türkiye

25	230-37	Tekirdağ	Türkiye	102	PEDRO	USA	USA
26	20/CML/50	Denizli	Türkiye	103	MRŞ-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	USA	USA
30	24/KE/14	Erzincan	Türkiye	107	BAYIR-1	Bursa	Türkiye
31	VINA	USA	USA	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	ŞEN/2	Erzincan	Türkiye	111	MRŞ-12	Kahramanmaraş	Türkiye
35	1974/1	Bursa	Türkiye	112	KURTKÖY	Adapazarı	Türkiye
36	REGIO	Fransa	Fransa	113	74C/154	Kırklareli	Türkiye
37	ŞEN1	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/Nİ/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	USA	USA	135	44001	Malatya	Türkiye
59	ASHLEY	USA	USA	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	USA	USA	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	USA	USA
76	24/ER/35	Erzincan	Türkiye	153	OĞUZLAR/77	Çorum	Türkiye
77	65/5	Van	Türkiye	154	YALOVA/1	İstanbul	Türkiye

3.2.Mikro Besin Elementi Analizi

Her genotipten bir kg numune hasat edilerek kuru yakma için rastgele cevizler seçilmiştir (Kacar and Inal, 2008). Seçilen bu cevizler, 70°C'de kuruyana kadar etüvde bekletilmiştir. Daha sonra, numuneler analitik öğütücü (Premier PRG-259) kullanılarak toz haline getirilmiştir. Tekrar etüvde kurutulan örnekler, her genotip için üç tekrarlı olacak şekilde bir gram ölçülerek porselen krozelere yerleştirilmiştir. Porselen krozeler, 550°C'de üç saat boyunca fırında yakılmıştır. Yakma işlemi sonrasında, numunelerin kül halleri süzme kağıdı ile süzülerek balon jojelere aktarılmıştır. Hacim, 10 ml HCl (1 N) asidik çözeltisi ve sıcak su eklenerek 50 ml'ye tamamlanmıştır. Numunelerdeki Zn ve Cu konsantrasyonları, İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer - ICP-MS, Agilent Technologies 7900) kullanılarak belirlenmiştir. Zn ve Cu konsantrasyonlarına ait spektrofotometrik sonuçlar mg/100 g cinsine dönüştürülmüştür.



Şekil 3. 1. Kuru yakma işleminden sonra kül halindeki cevizlerin filtre kağıdı ve HCl ile süzdürülmesi

3.3.Varyans Analizi

Çevresel faktörlerin genetik üzerindeki etkisini test etmek ve genotip (G), yıl (Y) ve $Y \times G$ etkileşimlerinin etkilerini belirlemek için SPSS istatistik yazılımı (v.29.0) kullanılarak varyans analizi uygulanmıştır. Varyans analizi, ceviz genotiplerinin fenotipik verileri üzerinde rastgele blok düzeni ile toplam üç tekrar kullanılarak gerçekleştirilmiş ve anlamlılık seviyesi %1 olarak belirlenmiştir. Ayrıca, kalıtım derecesi (Heritability - H^2) hesaplanmıştır (Ma et al., 2021).

3.4.Popülasyon Yapısı Analizi

Ceviz genotiplerinin popülasyon yapısı, alel frekanslarına dayanarak genetik olarak farklılaşan grupları belirlemek için STRUCTURE yazılımı (v.2.3.4) (Pritchard et al., 2000) ile incelenmiştir. Bayesian modellemesi kullanılarak, olası alt popülasyonların (K) toplam sayısı, 10 bağımsız çalışmada 1 ile 10 arasındaki K değerleri ile belirlenmiştir. Her analizde 50.000 adımlık yanma periyodu ve 50.000 Monte Carlo Markov Zinciri (Monte Carlo Markov Chain - MCMC) iterasyonu gerçekleştirilmiştir. En uygun K değeri, STRUCTURE HARVESTER (Earl and VonHoldt, 2012) aracılığıyla hesaplanan ΔK değerleri (Evanno et al., 2005) ile belirlenmiştir. Ayrıca, göreceli genetik mesafelerin konumsal açıklamasını elde etmek için R istatistik programı (v.4.2.2) (Team, 2020) ile Temel Bileşenler Analizi (Principal Component Analysis - PCA) uygulanmıştır.

3.5.AM Analizi

AM analizi, Trait Analysis in Association Evolution and Linkage (TASSEL, v.5.2.88) (Bradbury et al., 2007) yazılımında Karma Doğrusal Model (Mixed Linear Model - MLM) yöntemi ile uygulanmıştır. Analizler, Hapmap formatında 16.473 yüksek kaliteli SNP markörü içeren bir veri setinde gerçekleştirilmiştir. Markörler, %80 çağrı oranı ve %5 Minör Alel Frekansı (MAF) temel alınarak filtrelenmiştir. MLM analizi, Q matrisi ve Akralılık matrisi (Q + K) yaklaşımı ile gerçekleştirilmiş ve Manhattan grafiklerinin oluşturulmasında "qqman" R paketi kullanılmıştır. Akralılık matrisi, TASSEL'de merkezlenmiş IBS (Identity by State) yöntemi ile hesaplanmıştır. Yanlış Keşif Oranı (False Discovery Rate - FDR) < 0,05 (Benjamini and Hochberg, 1995) düzeltme eşik değeri kullanılarak önemli

markörler belirlenmiştir. R qqman paketi ayrıca Kuantil-Kuantil (Quantile-Quantile - Q-Q) grafikleri oluşturmak için kullanılmıştır.

3.6.Aday Gen Analizi

Cevizlerde Zn ve Cu konsantrasyonları ile ilişkili anlamlı SNP markörlerini içeren diziler kullanılarak, Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (National Center for Biotechnology Information - NCBI) veritabanında bulunan Genom Veri Görüntüleyici (Genome Data Viewer -GDV) aracı ile analiz gerçekleştirilmiştir. İlgili SNP'ler için 100 Kb sola ve 100 Kb sağa olmak üzere toplam 200 Kb'lik bir bölge taranarak potansiyel fonksiyonlara sahip aday genler belirlenmiştir.



4. BULGULAR

4.1.Mikro Besin Elementi Analizi

Çizelge 4. 1., 2021 ve 2022 yıllarında 154 ceviz genotipi için belirlenen Zn ve Cu besin değerlerine ait ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerleri göstermektedir.

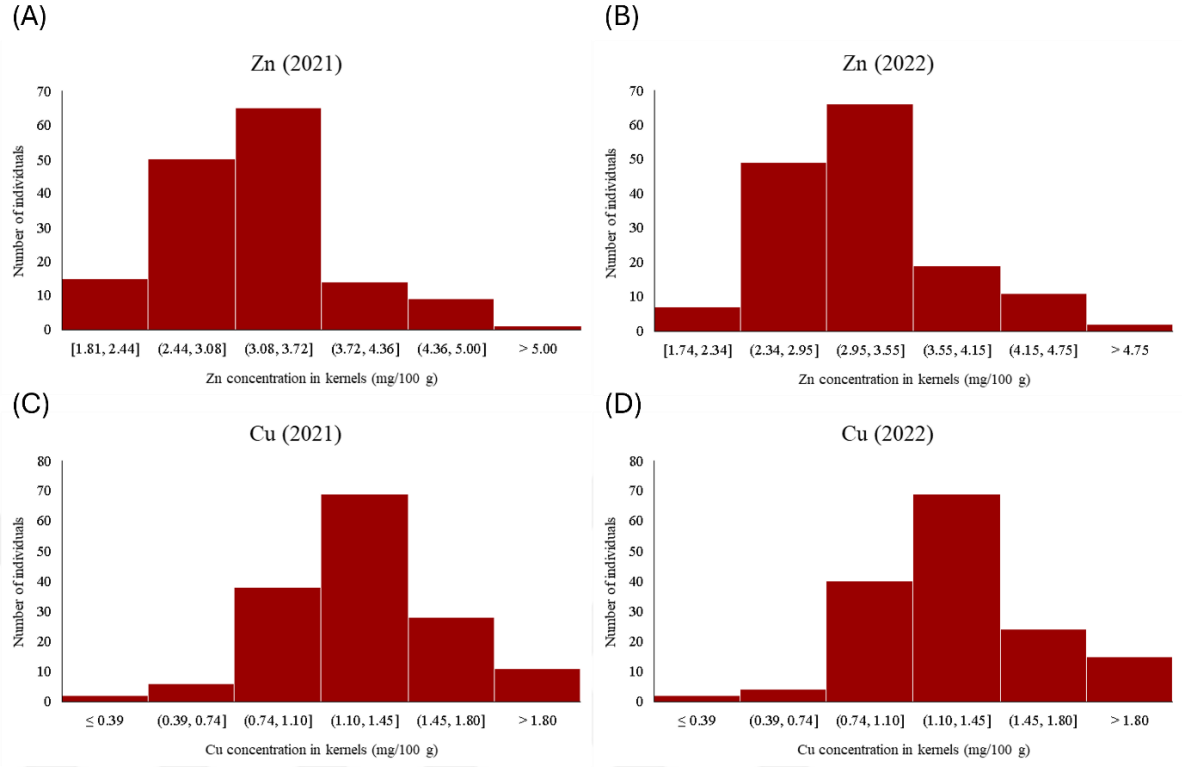
Çizelge 4. 1. 154 ceviz genotipinde mikro besin elementi (Zn ve Cu) analizi sonuçları (2021-2022)

Element	Yıl	Minimum	Ortalama	Standart Sapma	Maximum
Zn (mg/100g)	2021	1,75	3,23	0,77	8,98
	2022	1,61	3,18	0,60	4,88
Cu (mg/100g)	2021	0,15	1,27	0,37	2,70
	2022	0,12	1,28	0,38	2,66

Cevizlerde Zn konsantrasyonu 1,61 ile 8,98 mg/100 g arasında değişmiş, ortalama 3,21 mg/100 g olarak hesaplanmış ve 5,58 katlık bir değişim gözlemlenmiştir. Sonuçlar, Zn konsantrasyonunun 2021 yılında 1,75 ile 8,98 mg/100 g, 2022 yılında ise 1,61 ile 4,88 mg/100 g arasında değiştiğini ortaya koymuştur (Çizelge 4. 1.). İki yıl için gerçekleştirilen besin elementi analizi ölçümlerine göre, en yüksek Zn konsantrasyonu ‘65/3’ genotipinde, en düşük Zn konsantrasyonu ise ‘Muya-8’ genotipinde tespit edilmiştir. Zn besin elementi analizi sonuçlarının histogram dağılım grafikleri Şekil 4. 1. (a) ve 4. 1. (b)’de sunulmuştur. Cevizlerdeki Zn konsantrasyonlarının normal binom dağılımı gösterdiği belirlenmiştir.

Cevizlerde Cu konsantrasyonu 0,12 ile 2,70 mg/100 g arasında değişmiş, ortalama 1,27 mg/100 g olarak hesaplanmış ve 22,50 katlık bir değişim gözlemlenmiştir. Sonuçlar, Cu konsantrasyonunun 2021 yılında 0,15 ile 2,70 mg/100 g, 2022 yılında ise 0,12 ile 2,66 mg/100 g arasında değiştiğini ortaya koymuştur (Çizelge 4. 1.). İki yıl için gerçekleştirilen besin analizi ölçümlerine göre, en yüksek Cu konsantrasyonu ‘Yanık’ genotipinde, en düşük Cu konsantrasyonu ise ‘Şen/2’ genotipinde tespit edilmiştir. Cu besin elementi analizi sonuçlarının histogram dağılım grafikleri Şekil 4. 1. (c) ve 4. 1. (d)’de sunulmuştur.

Cevizlerdeki Cu konsantrasyonlarının normal binom dağılımı gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 4. 1. 154 ceviz genotipinde elementlerin yıllara göre dağılım grafiği a) Zn 2021, b) Zn 2022, c) Cu 2021, d) Cu 2022

4.2. Varyans Analizi

Varyans analizleri, Zn ve Cu elementlerine ait fenotipik verilerin G, Y ve Y \times G etkileşimlerinin etkisini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4. 2. ve Çizelge 4. 3.). Zn ve Cu için G faktörüne ait p değerleri, $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. H^2 değeri Zn için 0,97, Cu için ise 0,96 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, 2021 ve 2022 yıllarına ait Yalova Merkez ilçesi meteorolojik verileri, Çevre, Şehircilik ve İklim Değişikliği Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nden temin edilmiş olup, ortalama minimum, maksimum ve ortalama sıcaklık, ortalama yağış ve ortalama nem değerlerinin birbirine oldukça yakın olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4. 4.).

Çizelge 4. 2. Ceviz genotiplerinde Zn besin elementi için varyans analizi sonuçları

Varyans Analizi						
Bağımlı Değişken: Zn Konsantrasyonu						
Kaynak	Tip II Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	F Olasılık	H ²
Model	9914,72	308	32,19	1506,54	<0,01	0,97
Yıl	0,55	1	0,55	26,03	<0,01	
Genotip	389,22	153	2,54	119,05	<0,01	
Yıl*Genotip	37,75	153	0,24	11,55	<0,01	
Hata	13,16	616	0,02			
Toplam	9927,88	924				

Çizelge 4. 3. Ceviz genotiplerinde Cu besin elementi için varyans analizi sonuçları

Varyans Analizi						
Bağımlı Değişken: Cu Konsantrasyonu						
Kaynak	Tip II Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Karaler Ortalaması	F	F Olasılık	H ²
Model	1624,46	308	5,27	531,53	<0,01	0,96
Yıl	0,01	1	0,01	0,12	0,72	
Genotip	122,17	153	0,79	80,47	<0,01	
Yıl*Genotip	1,04	153	0,01	0,68	0,99	
Hata	6,11	616	0,01			
Toplam	1630,57	924				

Çizelge 4. 4. Yalova iline ait 2021-2022 yıllarındaki sıcaklık, yağış ve nem verileri

Yıl	Ay	Minimum Sıcaklık (°C)	Maximum Sıcaklık (°C)	Ortalama Sıcaklık (°C)	Ortalama Yağış (mm)	Ortalama Nem (%)
2021	1	0	18	7	46	72
	2	-1	24	9	57	69
	3	0	24	10	55	74
	4	3	25	12	24	69
	5	6	33	17	66	72
	6	12	30	22	115	71
	7	16	33	24	1	72
	8	16	34	24	0	71
	9	15	33	23	27	74
	10	11	30	19	77	75
	11	3	20	12	46	78
	12	3	22	12	28	76
		Yıllık Ortalama	7	27	16	45
2022	1	-5	26	9	152	73

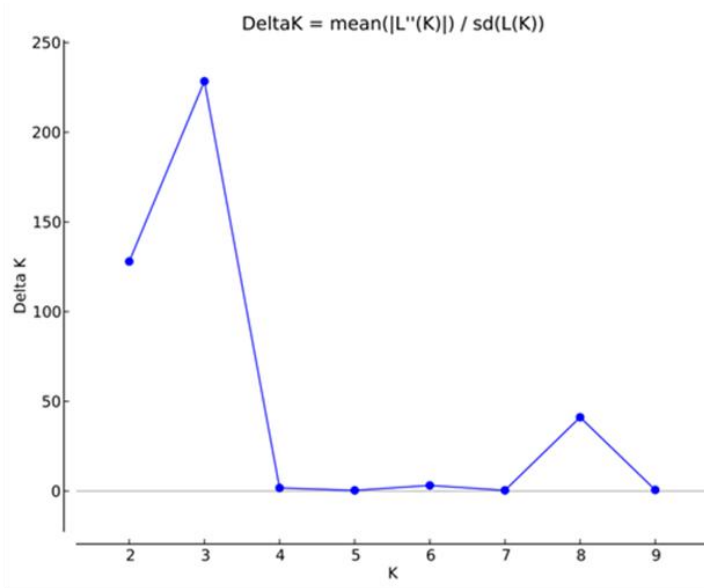
2	-2	25	8	54	77
3	-1	21	8	106	78
4	2	24	12	55	78
5	6	31	18	30	73
6	11	30	21	95	80
7	18	33	25	26	76
8	17	35	25	8	72
9	11	32	20	16	72
10	6	25	15	40	78
11	2	28	13	54	78
12	-1	23	11	124	72
Yıllık					
Ortalama	5	28	15	63	75

4.3. Popülasyon Yapısı Analizi

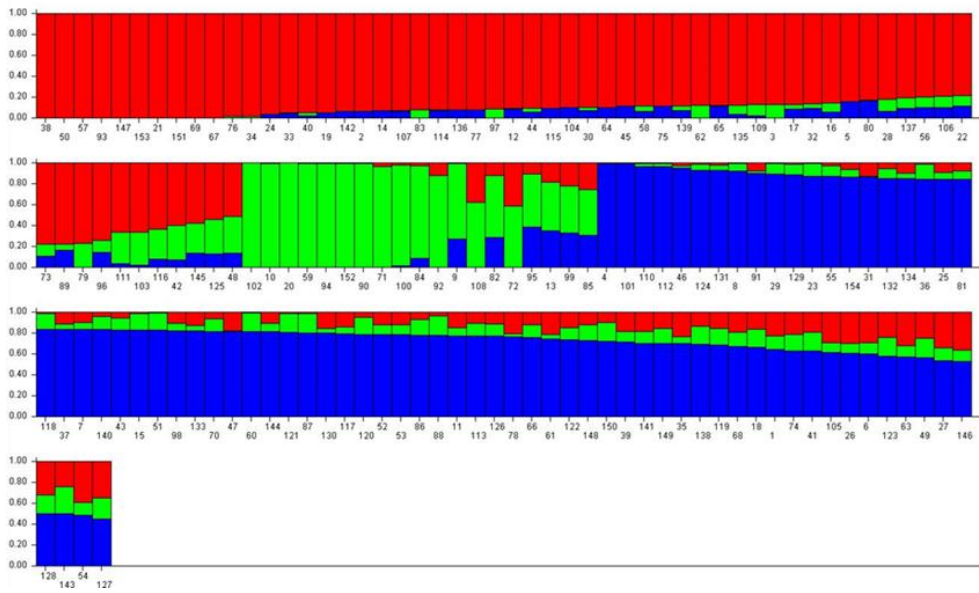
Şekil 4. 2. (a)'da sunulan verilere göre, K değerlerinin ΔK değeri üç olarak belirlenmiş ve 154 ceviz genotipinin üç farklı alt gruba ayrıldığı tespit edilmiştir. Elde edilen gruplar içerisindeki genotiplerin dağılımı Şekil 4. 2. (b)'de gösterilmiştir. K = 3 seviyesinde, birinci küme (Şekil 4. 2. (b), yeşil) Portekiz, Fransa ve ABD kaynaklı genotipleri içerirken; ikinci (Şekil 4. 2. (b), kırmızı) ve üçüncü küme (Şekil 4. 2. (b), mavi) Türk genotiplerinden oluşmaktadır. İkinci kümede TOKAT/8 – TOKAT-1 – TU/1 (Tokat), 20/BZK/502 (Denizli), 65/6 – 65/4 (Van), ŞEBİN – GİRESUN (Giresun), OĞUZLAR/77 (Çorum) ve 68-AGA-28 (Aksaray) genotipleri yer alırken, üçüncü kümede KAPLAN/86 – FRX74/7 (Yalova) genotipleri yer almaktadır. Genetik mesafelerin değerlendirildiği PCA sonuçları da, kullanılan ceviz popülasyonunun üç farklı alt gruba ayrıldığını göstermiştir (Şekil 4. 3.). Bu bulgu, STRUCTURE analizi ile elde edilen sonuçları desteklemektedir.

Üç küme için beklenen heterozigotluk değerleri sırasıyla 0,37, 0,24 ve 0,34 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4. 5.). Ortalama beklenen heterozigotluk değeri 0,32'dir (Çizelge 4. 5.). Sabitleme indeksi (Fixation Index - *Fst*) değerleri sırasıyla 0,07, 0,45 ve 0,13 olarak bulunmuş, ortalama *Fst* değeri ise 0,22 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4. 5.).

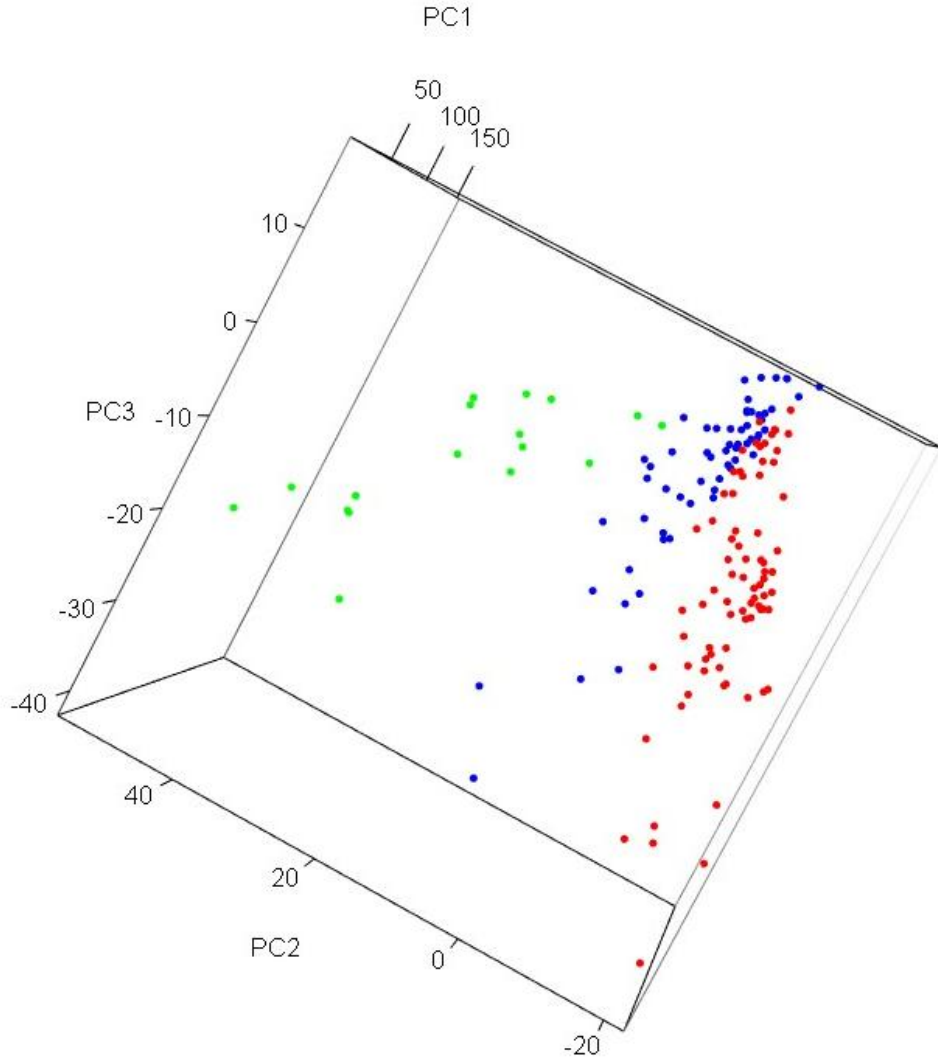
(A)



(B)



Şekil 4. 2. a) K değerleri ve ΔK değeri, **b)** STRUCTURE programından elde edilen verilere göre ceviz genotiplerinin benzerliklerine göre dağılımı (Her grup farklı bir renkle gösterilmiştir: kırmızı, yeşil ve mavi).



Şekil 4. 3. 154 ceviz genotipinin PCA analizi

Çizelge 4. 5. STRUCTURE analizi sonuçları

Alt Küme	Beklenen Heterozigosite	<i>Fst</i> Değeri	Genotip Sayısı
1	0,24	0,45	19
2	0,37	0,07	61
3	0,34	0,13	74
Ortalama	0,32	0,22	

4.4.AM Analizi

İstatistiksel analizler sonucunda, $FDR < 0,05$ kriterine göre fenotipik karakterler ile ilişkili markörler tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, Zn besin elementi ile ilişkili yedi markör 2021 yılında, dört markör ise 2022 yılında anlamlı bulunmuştur. Bu markörlerden biri olan SNP9489, her iki yılda da Zn

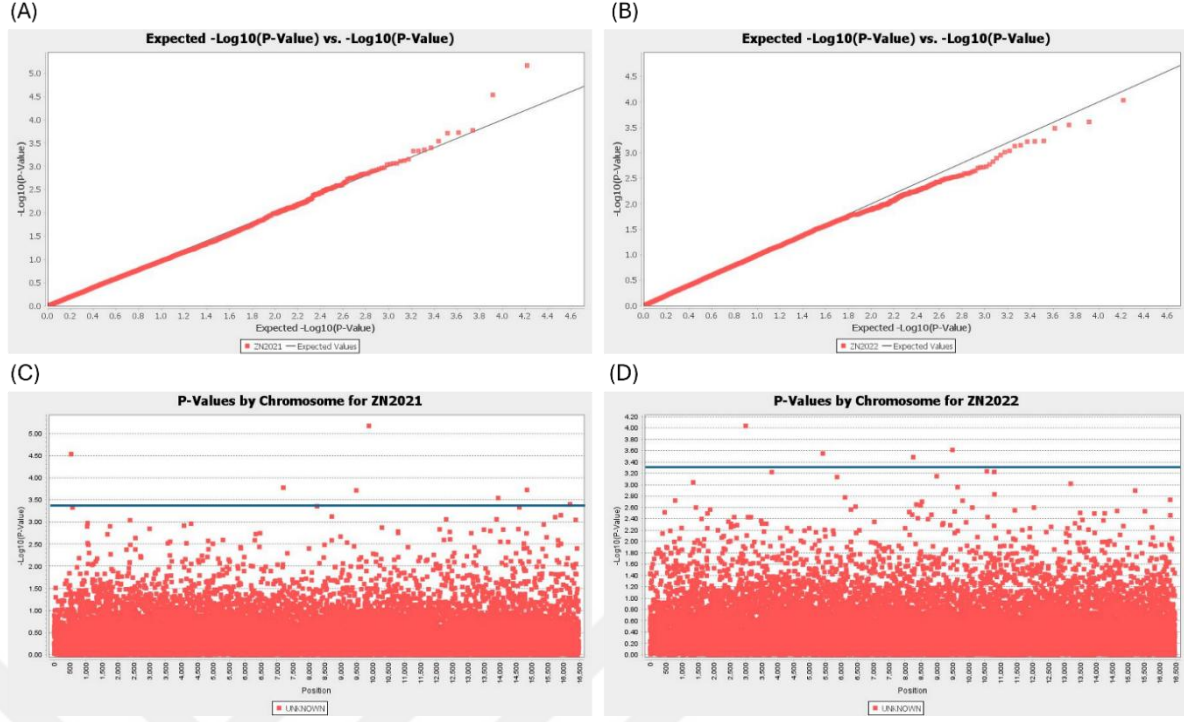
birikimi ile ilişkili bulunmuştur. Zn besin elementi ile ilişkili markörler (M9890, M536, M7201, M14848, M9489, M13945, M16199, M3000, M5420 ve M8259) ile bu markörlerin p değerleri ve belirleyicilik katsayıları (Coefficient of Determination - R²) Çizelge 4. 6.'da verilmiştir.

Çalışma sonuçlarına göre, Cu besin elementi ile ilişkili iki markör 2021 yılında, üç markör ise 2022 yılında anlamlı bulunmuştur. SNP2626 ve SNP9835 markörleri her iki yılda da Cu birikimi ile ilişkili olarak belirlenmiştir. Cu besin elementi ile ilişkili markörler (M2626, M9835 ve M13159) ile bu markörlerin p değerleri ve R² değerleri Çizelge 4. 6.'da sunulmuştur. Zn ve Cu ile ilişkili SNP'lerin R² değerleri 0,08 ile 0,14 arasında değişmektedir.

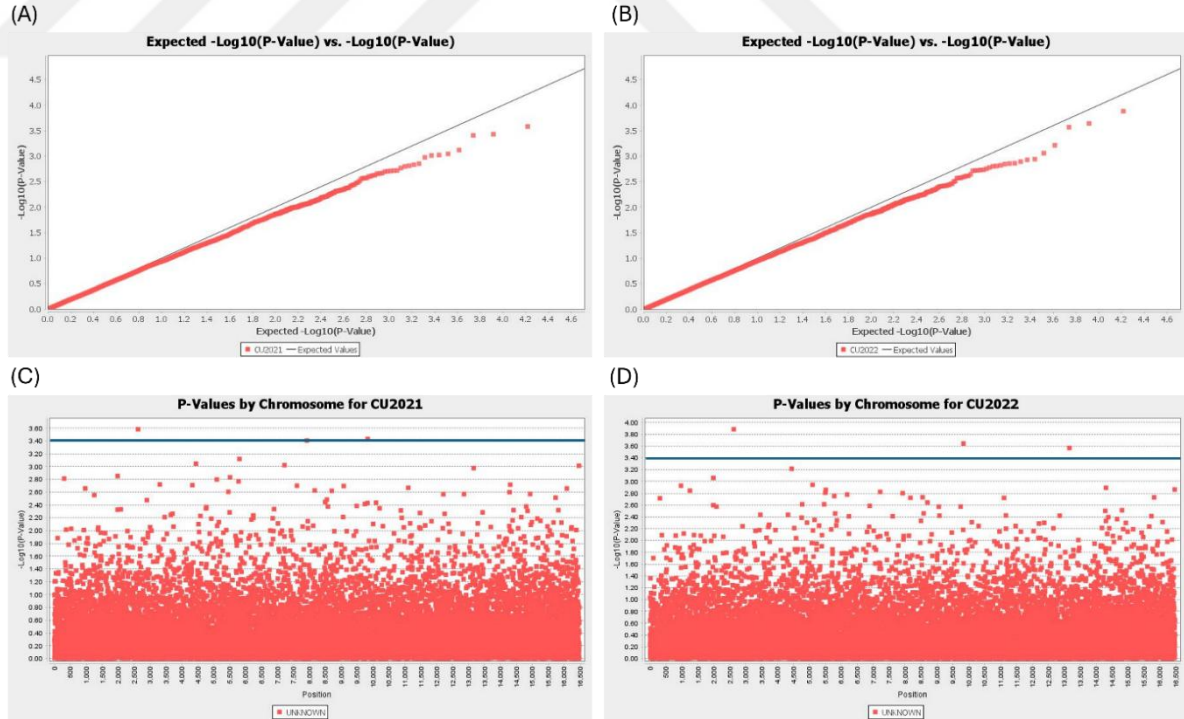
MLM (Q + K) analiz sonuçları Zn besin elementi için Şekil 4. 4.'de, Cu besin elementi için Şekil 4. 5.'te Q-Q ve Manhattan grafiklerinde gösterilmiştir.

Çizelge 4. 6. Zn ve Cu besin elementi alımıyla ilişkili istatistiki olarak anlamlı bulunan markörler

Özellik	Yıl	SNP ID	Markör p	Markör R ²	FDR
Zn	2021	M9890	6,79E-06	0,14	3,36
		M536	2,93E-05	0,12	
		M7201	1,68-E04	0,09	
		M14848	1,89E-04	0,09	
		M9489	1,94E-04	0,09	
		M13945	2,87E-04	0,09	
		M16199	4,00E-04	0,08	
	2022	M3000	9,24E-05	0,10	3,33
		M9489	2,46E-04	0,09	
		M5420	2,82E-04	0,09	
M8259		3,28E-04	0,08		
Cu	2021	M2626	2,62E-04	0,09	3,40
		M9835	3,73E-04	0,08	
	2022	M2626	1,31E-04	0,10	3,39
		M9835	2,28E-04	0,09	
		M13159	2,70E-04	0,09	



Şekil 4. a) 2021 ve b) 2022 yılları için Zn besin elementiyle ilgili gözlenen $-\log_{10}(P)$ değerlerinin beklenen $-\log_{10}(P)$ değerlerine karşılık geldiği Q-Q grafikleri ve Zn besin elementi için Manhattan Grafikleri c) 2021, d) 2022. Manhattan Grafiklerindeki mavi çizgiler FDR eşik değerlerini temsil etmektedir.



Şekil 4. 5. a) 2021 ve b) 2022 yılları için Cu besin elementiyle ilgili gözlenen $-\log_{10}(P)$ değerlerinin beklenen $-\log_{10}(P)$ değerlerine karşılık geldiği Q-Q grafikleri ve Cu besin elementi için Manhattan Grafikleri c) 2021, d) 2022. Manhattan Grafiklerindeki mavi çizgiler FDR eşik değerlerini temsil etmektedir.

4.5.Aday Gen Analizi

GDV aracılığıyla yapılan analiz sonucunda, Zn ve Cu birikimi ile ilişkili olduğu belirlenen 13 SNP dizisinin 11'inin aday genlerle bağlantılı olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4. 7.). Bu SNP'lerden biri olan M3000'nin, *J. regia* genomunda Chr7'de lokalize olduğu bulunmuştur (Çizelge 4. 8.).

Çizelge 4. 7. İlişkili bulunan SNP markörlerinin kromozom üzerinde 100 Kb yukarısında ve aşağısında bulunan genler

Karakter	SNP ID	Chr	Genin tanımı	Pozisyon	Genin işlevi	Kaynak
Zn	M13945	11	LOC108984023 <i>protein RMD5 homolog</i>	4685567..4691018	Metal iyon bağlanması, ubikuitin-protein ligaz aktivitesi, proteozom-medyatörlü ubikuitin-bağımlı protein katabolik süreci	Burge et al., (2012)
	M9890	16	LOC108987116 <i>potassium transporter 6-like</i>	18379857..18390282	K iyonu transmembran taşıyıcı aktivitesi	
	M536	1	LOC108998542 <i>heavy metal-associated isoprenylated plant protein 31</i>	9454027..9455397	Metal iyonu bağlanması	
	M536	1	LOC108998576 <i>heavy metal-associated isoprenylated plant protein 39-like</i>	9445996..9447040	Metal iyonu bağlanması	
	M16199	2	LOC109008325 <i>pentatricopeptide repeat-containing protein At1g31920</i>	26623154..26625507	RNA bağlanması, protein bağlanması, Zn iyonu bağlanması, RNA modifikasyonu	
Cu	M9835	11	LOC118343821 <i>phospholipase D alpha 1-like</i>	35778809..35786530	Ca iyonu bağlanması, fosfolipaz D aktivitesi, fosfatidilkolin metabolik süreci, fosfolipid katabolik süreci	
	M9835	11	LOC108992201 <i>pentatricopeptide repeat-containing protein At4g21065-like</i>	35731952..35734513	RNA bağlanması, protein bağlanması, Zn iyonu bağlanması, RNA modifikasyonu	
	M2626	3	LOC108988408 <i>calmodulin binding protein PICBP-like</i>	3920321..3925460	Kalmodulin bağlanması	
	M2626	3	LOC108988409 <i>probable calcium-binding protein CML36</i>	3952302..3953443	Ca iyonu bağlanması	

	M13159	3	LOC108998053 <i>zinc finger CCCH domain-containing protein 6-like</i>	13278080..1 3283999	Metal iyonu bağlanması	
--	--------	---	---	------------------------	------------------------	--

Çizelge 4. 8. NCBI veri tabanında yapılan GDV analizi sonucu

Karakter	SNP ID	SNP markörüyle ilişkilendirilmiş aday gen	Tür	Query cover	E değeri	Benzerlik yüzdesi
Zn	M3000	<i>Juglans regia HVA22-like protein k</i> (LOC108995309)	<i>Juglans regia</i>	100	9.00E-30	100



5. TARTIŞMA

5.1.Mikro Besin Elementi Analizi

Bu çalışma, 154 ceviz genotipi arasında Zn konsantrasyonlarının 1,61 – 8,98 mg/100 g arasında değiştiğini ortaya koymuştur (Çizelge 4. 1.). Bu durum, genotipler arasındaki Zn konsantrasyonunda yaklaşık dört katlık bir varyasyon olduğunu göstermektedir. Önceki çalışmalarda cevizde farklı Zn konsantrasyonları rapor edilmiştir. Zn konsantrasyonlarının 1,10 – 2,45 mg/100 g (Çağlarırnak, 2003) ve 1,80 – 4,52 mg/100 g (Trandafir et al., 2016) arasında değiştiği belirlenmiş olup, bu değerler yaklaşık iki katlık bir varyasyonu temsil etmektedir. Daha kapsamlı bir çalışma ise 0,50 – 7,00 mg/100 g arasında değişen bir Zn konsantrasyonu tespit ederek 14 katlık bir varyasyonu ortaya koymuştur (Geng et al., 2021). Ayrıca, bu çalışmada gözlenen en yüksek Zn içeriğinin (8,98 mg/100 g), önceki çalışmalar tarafından bildirilen en yüksek değerlere kıyasla daha fazla olduğu belirlenmiştir; bu değerler 7,00 mg/100 g (Geng et al., 2021) ve 4,70 mg/100 g (Gerçekcioğlu, 2020) olarak bildirilmiştir. Gözlenen en yüksek Zn konsantrasyonunun '65/3' olarak tanımlanan genotipte (genotip numarası 75, Çizelge 3. 1.) bulunması, bu genotipin Zn konsantrasyonunu artırmaya yönelik ileri düzey ıslah programlarında potansiyel bir ebeveyn olabileceğini göstermektedir.

Ceviz genotiplerinde Cu konsantrasyonu 0,12 – 2,70 mg/100 g arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4. 1.). Bu durum, genotipler arasında yaklaşık 22 katlık bir varyasyon olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada elde edilen Cu konsantrasyonu aralığının, önceki çalışmalara kıyasla daha kapsamlı olduğu belirlenmiştir. Cu konsantrasyonu, 0,55 – 1,93 mg/100 g (Başer et al., 2016) aralıklarında bildirilmiş olup, yaklaşık üç katlık bir varyasyon göstermektedir. Diğer çalışmalarda ise Cu konsantrasyonunun 0,80 – 3,50 mg/100 g (Gerçekcioğlu, 2020) ve 0,35 – 1,43 mg/100 g (Muradoğlu ve Balta, 2010) arasında değiştiği belirlenmiş, bu durum yaklaşık dört katlık bir varyasyonu ortaya koymuştur. Gözlenen en yüksek Cu konsantrasyonunun (2,70 mg/100 g), 'SEN/2' olarak tanımlanan genotipte (genotip numarası 34, Çizelge 3. 1.) bulunması, bu genotipin Cu konsantrasyonunu artırmaya yönelik ileri düzey ıslah programlarında potansiyel bir ebeveyn olabileceğini göstermektedir.

Cevizde Zn ve Cu element içeriklerinin dağılımına göre, bu konsantrasyonların 154 genotip arasında sürekli ve binom bir dağılım paterni gösterdiği belirlenmiştir. Önceki araştırmalar ile bu çalışma arasındaki varyasyonun, farklı genotiplerin kullanılması ve önceki çalışmalarda bu çalışmaya kıyasla daha az sayıda genotipin incelenmiş olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Elde edilen sonuçlar, daha büyük bir popülasyon büyüklüğünün genetik varyasyonu artırdığını ve GWAS analizlerinde daha yüksek çözünürlükle nadir alellerin belirlenmesini sağladığını ortaya koymaktadır (Simons et al., 2018).

5.2.Varyans Analizi

Varyans analizi sonuçları, 154 ceviz genotipinde Zn ve Cu konsantrasyonlarının $p \leq 0,01$ düzeyinde anlamlı olduğunu göstermiştir (Çizelge 4. 2. ve 4. 3). Zn elementi için G, Y ve $Y \times G$ etkileşim değerlerinin 0,01'den küçük olması, bu üç faktörün Zn besin birikimini etkilediğini ortaya koymuştur. Cu elementi için ise yalnızca G etkileşim değerinin 0,01'den küçük olması, Cu besin birikiminin yalnızca genotip faktörü tarafından etkilendiğini göstermektedir.

Varyans analizinden elde edilen H^2 sonuçlarına göre (Çizelge 4. 2. ve 4. 3.), Zn ve Cu besin elementlerinin H^2 değerlerinin 0,90'nın üzerinde olduğu belirlenmiştir. Bu durum, bu besin elementlerinin birikiminin esas olarak genetik faktörlerden etkilendiğini ve çevresel faktörlerin etkisinin çok daha az olduğunu göstermektedir. Sonuçlar, cevizde Zn ve Cu besin elementlerinin birikiminden genetik faktörlerin sorumlu olduğunu doğrulamaktadır. Bu nedenle, mevcut çalışma, Zn ve Cu elementlerinin birikimini kontrol eden SNP markörlerini tespit etmek açısından da önem taşımaktadır. Benzer şekilde, önceki çalışmalarda da çevrenin mikro besin elementlerinin birikimini etkilemediği bildirilmiştir (Acar and Kazankaya, 2020; Başer et al., 2016; Muradoğlu ve Balta, 2010; Simsek, 2016; Yıldız ve Sümbül, 2019). Cevizde yapılan AM çalışmalarında H^2 değerlerinin 0,22 – 0,96 (Bernard et al., 2020), 0,16 – 0,84 (Sideli et al., 2020) ve 0,71 – 0,91 (Bernard et al., 2021) arasında değiştiği belirlenmiştir. Yüksek H^2 değerleri, bu elementlerin birikiminin çevresel faktörlerden etkilenmediğini göstermektedir (Akpunar et al., 2024). Önceki raporlarla karşılaştırıldığında, bu çalışmada elde edilen H^2 değerlerinin nispeten daha yüksek olduğu ve mikro besin elementi birikiminin genotipik faktörlerle ilişkili olduğu görülmektedir.

5.3. Popülasyon Yapısı Analizi

AM yapılmadan önce popülasyon yapısının belirlenmesi gerekmektedir, çünkü alt popülasyon ayrımı doğrudan haritanın gücünü etkilemektedir (Abdurakhmonov and Abdulkarimov, 2008). Bu çalışmada popülasyon yapısı, STRUCTURE yazılımı kullanılarak belirlenmiştir. Toplam 50.000 iterasyon ile 16.473 SNP markörü analiz edilmiştir. $K = 3$ seviyesinde yapılan analizlerde, ikinci ve üçüncü gen havuzlarının (Şekil 4. 2. (b) Kırmızı ve Mavi) ağırlıklı olarak Türk genotiplerini, birinci gen havuzunun (Şekil 4. 2. (b) Yeşil) ise ağırlıklı olarak ABD, Fransız ve Portekiz genotiplerini içerdiğini göstermektedir (Çizelge 3. 1.). Mevcut çalışmada kullanılan ceviz genotipleri herhangi bir coğrafi kümeleşme göstermemiştir. STRUCTURE analizine göre, yalnızca küçük bir yüzdelik dilim ceviz genotipi orijini temel alarak kümelenebilir. Ancak bazı genotiplerin farklı popülasyonlara dahil olduğu gözlemlenmiştir. Ceviz genotiplerinin yetiştirilmek üzere bir bölgeden başka bir bölgeye transfer edilmesi, bu olgunun olası bir açıklaması olabilir (Orman et al., 2020).

Bu çalışmada, 16.473 SNP içeren bir veri seti analiz edilmiş ve ortalama beklenen heterozigotluk değeri 0,32 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4. 5.). Beklenen heterozigotluk, bir popülasyon içindeki genetik çeşitliliği niceliksel olarak değerlendirmek için önemli bir istatistik olup, heterozigot genotipe sahip bireylerin beklenen oranını temsil etmektedir (Luo et al., 2019). Ayrıca, ortalama *Fst* değeri 0,22 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4. 5.). *Fst* değerleri, popülasyon yapısının genetik varyansı ne ölçüde açıkladığını belirlemek için kullanılmaktadır (Luo et al., 2019). Önceki çalışmalarda beklenen heterozigotluk değerleri sırasıyla 0,22 (Ahmed et al., 2012), 0,05 (Noor Shah et al., 2018), 0,56 (Bernard et al., 2018), 0,38 (Arab et al., 2019) ve 0,33 (Orman et al., 2020) olarak rapor edilmiştir. Ortalama *Fst* değerleri ise 0,30 (Ahmed et al., 2012), 0,18 (Noor Shah et al., 2018), 0,10 (Bernard et al., 2018), 0,07 (Arab et al., 2019) ve 0,23 (Orman et al., 2020) olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada elde edilen beklenen heterozigotluk ve *Fst* değerleri, önceki araştırmaların bulgularıyla uyumlu bulunmuştur.

5.4. AM Analizi

AM analizlerinin doğruluğu ve kapsayıcılığı açısından, popülasyonun büyüklüğü oldukça önemli bir parametredir (Galeano et al., 2012). Popülasyon

büyüklüğü arttıkça istatistiksel güç artmakta ve ilişkili markörlerin bulunma olasılığı da artmaktadır (Galeano et al., 2012). Yapılan bir çalışmada, AM çalışmaları için popülasyon büyüklüğünün en az 100 bireyden oluşması gerektiği, daha düşük olduğu durumlarda istatistiksel gücün önemli derecede azaldığı raporlanmıştır (Hong and Park, 2012). Bu çalışmada kullanılan birey sayısının (154), GWAS analizinden anlamlı sonuç elde etmek için yeterli olduğu belirlenmiştir. Diğer çalışmalarda kullanılan birey sayıları ise 95 (Arab et al., 2019), 154 (Orman et al., 2020), 170 (Bernard et al., 2020) ve 188 (Bükücü et al., 2020) olarak bildirilmiştir.

Yapılan çalışmada, Q-Q grafik sonuçlarının beklenen değer çizgisi ile uyumlu olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4. 4. (a), (b) ve Şekil 4. 5. (a), (b)).

Önceki çalışmalarda, cevizde kabuk ve meyve özellikleri ile ilişkili SNP markörlerini belirlemek amacıyla AM analizi yapılmıştır (Bernard et al., 2021). DArT teknolojisi kullanılarak yapılan GWAS analizlerinde 13.611 SNP (Orman et al., 2020) ve 20.868 SNP (Karaca et al., 2020) kullanılmıştır. Benzer şekilde, Ca ve P konsantrasyonları ile ilişkili SNP markörlerini belirlemek amacıyla bir AM analizi gerçekleştirilmiştir (Akpunar et al., 2024). Yapılan bu çalışmada kullanılan veri seti çalışmamızla aynı olup 16.473 markör kullanılmıştır. Bu çalışmada kullanılan 16.473 SNP markörünün, Zn ve Cu birikimi ile ilişkili markörleri belirlemek için yeterli olduğu ortaya konmuştur. Ek olarak, cevizde meyve özellikleri ile ilişkili markör sayıları 22 (Sideli et al., 2020) ve 95 (Arab et al., 2019) olarak bildirilmiştir. Ceviz bitkisinde yapılan ilk besin elementi GWAS çalışmasında E vitamini ile ilişkili iki adet SNP markörü tespit edilmiştir (Bernard et al., 2021). Başka bir GWAS çalışmasında, cevizde yağ içeriği ile ilişkili 379 markör bulunmuştur (Wang et al., 2022). Akpunar et al. (2024)'nin yaptığı çalışmada, Ca alımı ile ilişkili 16, P alımı ile ilişkili 11 SNP markörü tespit edilmiştir. Yine cevizde besin elementi karakterine yönelik yapılan bir GWAS çalışmasında, Fe alımı ile ilişkili beş, Mn alımı ile ilişkili 15 SNP markörü bulunmuştur (Doğanay et al., 2025). Bu çalışma ise, Zn konsantrasyonu ile ilişkili 10, Cu konsantrasyonu ile ilişkili üç SNP markörü tespit edilmiştir (Çizelge 4. 6.).

5.5.Aday Gen Analizi

Belirli bir SNP markörünün bir özellik ile güçlü korelasyon göstermesi, SNP'nin doğrudan ilgili genin içinde bulunmasından veya mikro besin elementlerinin konsantrasyonunu, alınımını, birikimini düzenleyen gen veya gen grupları ile yüksek derecede bağlantılı olmasından kaynaklanabilir (Diapari et al., 2014). Bu çalışmada, GDV analizi sonucunda, cevizde Zn birikimi ile ilişkili SNP markör dizileri ile benzerlik gösteren potansiyel bir aday gen bulunmuştur (Çizelge 4. 8.). *HVA22-benzeri protein k*, *HVA22 protein* ailesinin bir üyesidir. Bu proteinin homolog transkriptlerinin, arpa ve *Arabidopsis thaliana* bitkilerinde kuraklığa, soğuğa tuz stresine maruz kaldığında ve absisik asit (ABA) varlığında anlamlı düzeyde arttığı bildirilmiştir (Chen et al., 2002; Shen et al., 1993, 2001). Ayrıca, kuraklık stresi altında, buğday köklerinde *HVA22* homolog transkriptlerinin birikimi gözlemlenmiştir (Grzesiak et al., 2019).

Gen anotasyon analizi, SNP bölgesinin 100 Kb yukarısında ve aşağısında yer alan genler üzerinde gerçekleştirilmiş ve bu analizler sonucunda birden fazla aday gen belirlenmiştir. Bu genler baz alınarak, 10 markörün önemli olduğu tespit edilmiştir. M13945, M13159, M9890, M9835, M2626 ve M536 markörleri, Ca ve Zn gibi iyonları bağlayan dokuz genle ilişkili bulunmuştur (Çizelge 4. 7.). Ek olarak, M16199 markörü, *pentatrikopeptid tekrar içeren At1g31920 proteini* ile ilişkili bulunmuştur (Çizelge 4. 7.). Bu gen, Zn iyonlarının bağlanmasını kolaylaştırmakta ve sinyal iletiminde ikinci haberci olarak görev yapmaktadır (Burge et al., 2012; Li et al., 2022). Bu çalışmada tespit edilen 10 aday genin, Zn ve Cu markörleri ile güçlü ilişkiler göstermesi beklenmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, 154 ceviz genotipi arasında Zn ve Cu konsantrasyonlarının geniş bir varyasyon aralığında dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Varyans analizleri sonucunda yüksek kalıtım derecesi belirlenmiş ve genotiplerin Zn ve Cu besin elementi alımının düzenlenmesi üzerinde önemli etkilere sahip olduğu bulunmuştur. AM analizi, SNP markörleri ile Zn ve Cu besin elementleri arasında önemli ilişkiler ortaya koymuştur. Bu çalışmada tespit edilen markörlerin, ceviz ıslah programlarında Zn ve Cu alımını düzenleyen genlere sahip bireylerin seçilmesine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, besin elementlerinin birikimiyle ilişkili gen bölgelerinin belirlenmesini sağlamış; bu da, besin içeriği yüksek genotiplerin seçilmesi ve biyofortifikasyon temelli ıslah programlarının geliştirilmesi açısından önemli bir kaynak oluşturmuştur.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abdurakhmonov, I. Y., and Abdukarimov, A.,** 2008, Application of association mapping to understanding the genetic diversity of plant germplasm resources. In *International Journal of Plant Genomics* (Vol. 2008). <https://doi.org/10.1155/2008/574927>
- Acar, S., and Kazankaya, A.,** 2020, Some fruit properties and macro-micro element contents of selected walnuts (*Juglans regia* L.) from Batman region. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 30(2), 243–251. <https://doi.org/10.29133/yyutbd.698507>
- Ahmed, N., Mir, J. I., Mir, R. R., Rather, N. A., Rashid, R., Wani, S. H., Shafi, W., Mir, 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(2), 149–160. <https://doi.org/10.1007/s12298-012-0104-z>
- Akpunar, B. E., Orman, E., Yagmur, B., Tanyolac, M. B., and Ates, D.,** 2024, Identification of SNP markers linked to calcium and phosphorus accumulation in walnut (*Juglans regia* L.) fruit by GWAS. *Scientia Horticulturae*, 335. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113341>
- Altarelli, M., Ben-Hamouda, N., Schneider, A., and Berger, M. M.,** 2019, Copper deficiency: causes, manifestations, and treatment. *Nutrition in Clinical Practice* (Vol. 34, Issue 4, pp. 504–513). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/ncp.10328>
- Arab, M. M., Brown, P. J., Abdollahi-Arpanahi, R., Sohrabi, S. S., Askari, H., Aliniaiefard, S., Mokhtassi-Bidgoli, A., Mesgaran, M. B., Leslie, C. A., Marrano, A., Neale, D. B., 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. <https://doi.org/10.1093/hr/uhac124>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- 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). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42940-1>
- Başer, S., Kazankaya, A., Doğan, A., Yaviç, A., and Çelik, F.,** 2016, Some physical and chemical properties of cold-resistant walnut genotypes (*Juglans regia* L.) from Van Lake Basin. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 26(4), 632–641. <https://doi.org/10.29133/yyutbd.267173>
- 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: Statistical Methodology*, 57(1), 289–300. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>
- Bernard, A., Crabier, J., Donkpegan, A. S. L., 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(January). <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.607213>
- Bernard, A., Dirlewanger, E., Delmas, M., Racofier, D., Greil, M. L., Lainé, A. L., Porte, C., Gennetay, D., Keller, M., and Chemineau, P.,** 2025, Genome-wide association study dissects the genetic architecture of progesterone content in Persian walnut leaves (*Juglans regia* L.). *BMC Genomics*, 26(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-025-11341-2>
- Bernard, A., Lheureux, F., and Dirlewanger, E.,** 2018, Walnut: past and future of genetic improvement. In *Tree Genetics and Genomes* (Vol. 14, Issue 1). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s11295-017-1214-0>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bernard, A., Marrano, A., Donkpegan, A., Brown, P. J., Leslie, C. A., Neale, D. B., Lheureux, F., and Dirlwanger, 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). <https://doi.org/10.1186/s12864-020-6616-y>
- Bhat, A. A., Shakeel, A., Rafiq, S., Farooq, I., Malik, A. Q., Alghuthami, M. E., Alharthi, S., Qanash, H., and Alharthy, S. A.,** 2023, *Juglans regia* Linn .: A natural repository of vital phytochemical and pharmacological compounds.
- Bialowas, W., Blicharska, E., and Drabik, K.,** 2024, Biofortification of plant- and animal-based foods in limiting the problem of microelement deficiencies. *A Narrative Review*.
- 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(19), 2633–2635. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm308>
- 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). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71809-x>
- Burge, S., Kelly, E., Lonsdale, D., Mutowo-Muellenet, P., McAnulla, C., Mitchell, A., Sangrador-Vegas, A., Yong, S. Y., Mulder, N., and Hunter, S.,** 2012, Manual GO annotation of predictive protein signatures: the InterPro approach to GO curation. *Database : The Journal of Biological Databases and Curation*, 2012, 1–6. <https://doi.org/10.1093/database/bar068>
- Çağlarırnak, N.,** 2003, Biochemical and physical properties of some walnut genotypes (*Juglans regia* L.). *Nahrung - Food*, 47(1), 28–32. <https://doi.org/10.1002/food.200390004>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Catherine, R., Artaud, J., and Le, Y.,** 2022, Walnut (*Juglans regia* L.) oil chemical composition depending on variety , locality , extraction process and storage conditions : A comprehensive review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 110 (November 2021). <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104534>
- Chatwin, W., Shirley, D., Lopez, J., Sarro, J., Carlson, J., Devault, A., Pfrender, M., Revord, R., Coggeshall, M., and Romero-Severson, J.,** 2023, Female flowers first: QTL mapping in eastern black walnut (*Juglans nigra* L.) identifies a dominant locus for heterodichogamy syntenic with that in Persian walnut (*J. regia* L.). *Tree Genetics and Genomes*, 19(1). <https://doi.org/10.1007/s11295-022-01580-9>
- Chen, C. N., Chu, C. C., Zentella, R., Pan, S. M., and Ho, T. H. D.,** 2002, *AtHVA22* gene family in *Arabidopsis*: Phylogenetic relationship, ABA and stress regulation, and tissue-specific expression. *Plant Molecular Biology*, 49(6), 633–644. <https://doi.org/10.1023/A:1015593715144>
- Clauw, P., Ellis, T. J., Liu, H.-J., and Sasaki, E.,** 2024, Beyond the standard GWAS - a guide for plant biologists. *Plant And Cell Physiology*, 00(00), 1–13. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcae079>
- Diapari, M., Sindhu, A., Bett, K., Deokar, A., Warkentin, T. D., Taran, B., and Francki, M.,** 2014, Genetic diversity and association mapping of iron and zinc concentrations in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Genome*, 57(8), 459–468. <https://doi.org/10.1139/gen-2014-0108>
- Doğanay, Ö., Orman, E., Yağmur, B., Tanyolaç, M. B., and Ateş, D.,** 2025, A genome-wide association study to detect candidate genes controlling iron and manganese accumulation in walnut (*Juglans regia* L.). 49(1). <https://doi.org/10.55730/1300-011X.3249>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Dresen, E., Pimiento, J. M., Patel, J. J., Heyland, D. K., Rice, T. W., and Stoppe, C.,** 2023, Overview of oxidative stress and the role of micronutrients in critical illness. In *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* (Vol. 47, Issue S1, pp. S38–S49). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/jpen.2421>
- 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.
- 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. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- 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 and Genomes*, 15(1). <https://doi.org/10.1007/s11295-018-1307-4>
- Fathy, A., Mohammed, E. N., Ateya, A. A. Y., and Hussein, S.,** 2023, Brief overview about anemia and copper deficiency in bariatric surgery. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 14. <https://doi.org/10.47750/pnr.2023.14.02.132>
- Galeano, C. H., Cortés, A. J., Fernández, A. C., Soler, Á., Franco-Herrera, 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. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-13-48>
- 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*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/9302181>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gerçekcioğlu, R.**, 2020, Chemical properties of outstanding featured walnut (*Juglans regia* L.) genotypes. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpasa University*, 37(2020–1), 1–8. <https://doi.org/10.13002/jafag4645>
- Grzesiak, M. T., Hordyńska, N., Maksymowicz, A., Grzesiak, S., and Szechyńska-Hebda, M.**, 2019, Variation among spring wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes in response to the drought stress. *Plants*, 8(12). <https://doi.org/10.3390/plants8120584>
- Hayes, D., Angove, M. J., Tucci, J., Dennis, C., Hayes, D., Angove, M. J., Tucci, J., Walnuts, C. D., Hayes, D., Angove, M. J., Tucci, J. O. E., and Dennis, C.**, 2016, Research in human health walnuts (*Juglans regia*). *Chemical Composition and Research in Human Health*. 8398. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.760516>
- Hong, E. P., and Park, J. W.**, 2012, Sample size and statistical power calculation in genetic association studies. *Genomics & Informatics*, 10(2), 117. <https://doi.org/10.5808/gi.2012.10.2.117>
- Iordanescu, O. A., Radulov, I., Buhan, I. P., Cocan, I., Berbecea, A. A., Popescu, I., Posta, D. S., Camen, D., and Lalescu, D.**, 2021, Physical, nutritional and functional properties of walnuts genotypes (*Juglans regia* L.) from Romania. *Agronomy*, 11(6), 1–14. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061092>
- Ji, F., Ma, Q., Zhang, W., Liu, J., Feng, Y., Zhao, P., Song, X., Chen, J., Zhang, J., Wei, X., Zhou, Y., Chang, Y., Zhang, P., Huang, X., Qiu, J., and Pei, D.**, 2021, A genome variation map provides insights into the genetics of walnut adaptation and agronomic traits. *Genome Biology*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s13059-021-02517-6>
- Kacar, B., and Inal, A.**, 2008, Plant analysis. *Nobel Pres*, 1241, 891.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Karaca, N., Ates, D., Nemli, S., Ozkuru, E., Yilmaz, H., Yagmur, B., Kartal, C., Tosun, M., Ocak, O. O., Otlas, S., Kahrıman, A., 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. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2019.09.012>
- Li, T., Jiao, R., Ma, J., Zang, J., Zhao, G., and Zhang, T.,** 2022, Zinc binding strength of proteins dominants zinc uptake in Caco-2 cells. *RSC Advances*, *12*(33), 21122–21128. <https://doi.org/10.1039/d2ra03565k>
- Liu, M., Li, C., Cao, C., Wang, L., Li, X., Che, J., Yang, H., Zhang, X., Zhao, H., He, G., and Liu, X.,** 2021, Walnut fruit processing equipment: academic insights and perspectives. *Food Engineering Reviews* (Vol. 13, Issue 4, pp. 822–857). Springer. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09273-6>
- Luo, Z., Brock, J., Dyer, J. M., Kutchan, T., Schachtman, D., Augustin, M., Ge, Y., Fahlgren, N., and Abdel-Haleem, H.,** 2019, Genetic diversity and population structure of a *Camelina sativa* spring panel. *Frontiers in Plant Science*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00184>
- 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. <https://doi.org/10.1111/ppl.13466>
- Marrano, A., Martínez-García, P. J., Bianco, L., Sideli, G. M., Di Pierro, E. A., Leslie, C. A., Stevens, K. A., Crepeau, M. W., Troglio, M., Langley, C. H., and Neale, D. B.,** 2019(a), A new genomic tool for walnut (*Juglans regia* L.): development and validation of the high-density Axiom™ *J. regia* 700K SNP genotyping array. *Plant Biotechnology Journal*, *17*(6), 1027–1036. <https://doi.org/10.1111/pbi.13034>
- Marrano, A., Sideli, G. M., Leslie, C. A., Cheng, H., and Neale, D. B.,** 2019(b), Deciphering of the genetic control of phenology, yield, and pellicle color in Persian walnut (*Juglans regia* L.). *Frontiers in Plant Science*, *10*(September), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01140>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Martínez-García, P. J., Crepeau, M. W., Puiu, D., Gonzalez-Ibeas, D., Whalen, J., Stevens, K. A., Paul, R., Butterfield, T. S., Britton, M. T., Reagan, R. L., Chakraborty, S., Walawage, S. L., Vasquez-Gross, H. A., Cardeno, C., Famula, R. A., Pratt, K., Kuruganti, S., Aradhya, M. K., Leslie, C. 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: For Cell and Molecular Biology*, 87(5), 507–532. <https://doi.org/10.1111/tpj.13207>
- Mir, A. R., Pichtel, J., and Hayat, S.,** 2021, Copper: uptake, toxicity and tolerance in plants and management of Cu-contaminated soil. *BioMetals*, 34(4), 737–759. <https://doi.org/10.1007/s10534-021-00306-z>
- Muradoğlu, F., ve Balta, F.,** 2010, Ahlat (Bitlis) yöresinden selekte edilen cevizlerin (*Juglans regia* L.) bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 20(1), 41–45.
- Naik, B., Kumar, V., Rizwanuddin, S., and Mishra, S.,** 2024, Biofortification as a solution for addressing nutrient deficiencies and malnutrition. *Heliyon*, 10(9), e30595. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30595>
- Noor Shah, U., 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. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.07.005>
- Orman, E., Ateş, D., Özkuru, E., Hepaksoy, S., Kafkas, S., and Tanyolaç, M. B.,** 2020, Association mapping of several nut characters in walnut (*Juglans regia* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 44(2), 208–227. <https://doi.org/10.3906/tar-1909-35>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ozturk, H., Niazi, P., Mansoor, M., Monib, A. W., Alikhail, M., and Azizi, A.,** 2023, The function of zinc in animal, plant, and human nutrition. *Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology*, 2(2), 35–43. <https://doi.org/10.55544/jrasb.2.2.6>
- Ozyigit, I. I., Uras, M. E., Yalcin, I. E., Severoglu, Z., Demir, G., Borkoev, B., Salieva, K., Yucel, S., Erturk, U., and Solak, A. O.,** 2019, Heavy metal levels and mineral nutrient status of natural walnut (*Juglans regia* L.) populations in Kyrgyzstan: nutritional values of kernels. *Biological Trace Element Research*, 189(1), 277–290. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1461-4>
- Prasad, R.,** 2012, Micro mineral nutrient deficiencies in humans, animals and plants and their amelioration. *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences*, 82(2), 225–233. <https://doi.org/10.1007/s40011-012-0029-x>
- Pritchard, J. K., Stephens, M., and Donnelly, P.,** 2000, Inference of population structure using multilocus genotype data. <http://www.stats.ox.ac.uk/pritch/home.html>.
- Shen, Q., Chen, C. N., Brands, A., Pan, S. M., and Ho, T. H. D.,** 2001, The stress- and abscisic acid-induced barley gene *HVA22*: Developmental regulation and homologues in diverse organisms. *Plant Molecular Biology*, 45(3), 327–340. <https://doi.org/10.1023/A:1006460231978>
- Shen, Q., Uknes, S. J., and Ho, T. H. D.,** 1993, Hormone response complex in a novel abscisic acid and cycloheximide-inducible barley gene. *Journal of Biological Chemistry*, 268(31), 23652–23660. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)49512-4](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)49512-4)

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sideli, G. M., Marrano, A., Montanari, S., Leslie, C. A., Allen, B. J., Cheng, H., Brown, P. J., and Neale, D. B.,** 2020, Quantitative phenotyping of shell suture strength in walnut (*Juglans regia* L.) enhances precision for detection of QTL and genomewide association mapping. *PLoS ONE*, 15(4), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231144>
- Simons, Y. B., Bullaughey, K., Hudson, R. R., and Sella, G.,** 2018, A population genetic interpretation of GWAS findings for human quantitative traits. *PLoS Biology*, 16(3), e2002985.
- Simsek, M.,** 2016, Chemical, mineral, and fatty acid compositions of various types of walnut (*Juglans regia* L.) in Turkey. In *Bulgarian Chemical Communications* (Vol. 48, Issue 1).
- Stanton, C., Sanders, D., Krämer, U., and Podar, D.,** 2022, Zinc in plants: Integrating homeostasis and biofortification. In *Molecular Plant* (Vol. 15, Issue 1, pp. 65–85). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2021.12.008>
- Sütyemez, M., Bükücü, Ş. B., and Özcan, A.,** 2022, Pomological and phenological description of the new ‘Bahri Koz’ cultivar of walnut (*Juglans regia* L.) and its nutritional value. *Journal of Nuts*, 13(2), 131–139. <https://doi.org/10.22034/jon.2022.1952690.1154>
- Team, R. C.,** 2020, RA language and environment for statistical computing, R Foundation for Statistical. *Computing*.
- 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. <https://doi.org/10.1051/fruits/2016006>
- Wang, J., Ye, H., Zhou, H., Chen, P., Liu, H., Xi, R., Wang, G., Hou, N., 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). <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03824-1>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Yıldız, E., ve Sümbül, A., 2019, Bazı yerli ve yabancı ceviz çeşit ve genotiplerin meyvelerinde mineral madde içerikleri. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 24 (3):174-180, 2019.

Zeng, Z., Zhao, D., Wang, C., Yan, X., Song, J., Chen, P., Lan, C., and Singh, R. P., 2023, QTL cluster analysis and marker development for kernel traits based on DArT markers in spring bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1072233>



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince akademik bilgi ve deneyimleriyle çalışmamın her aşamasında beni yönlendiren ve destekleyen danışmanım Doç. Dr. Duygu ATEŞ'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Kendisinin rehberliği, bu sürecin sağlıklı ve verimli bir şekilde ilerlemesine önemli katkı sağlamıştır.

Ayrıca, akademik yolculuğumun başından itibaren bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak her zaman yanımda olan Sayın Prof. Dr. M. Bahattin TANYOLAÇ'a teşekkür ederim. Kendilerinin katkıları, çalışmamın başarıyla tamamlanmasında belirleyici bir rol oynamıştır.

Bu tez çalışması, TÜBİTAK tarafından desteklenen 122O658 numaralı proje kapsamında gerçekleştirilmiştir. Sağladığı mali ve teknik destekten dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Son olarak, yüksek lisans eğitimim boyunca verdikleri manevi destekle yanımda olan aileme ve arkadaşlarıma şükranlarımı sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

2016 yılında Yunus Emre Anadolu Lisesi'nden mezun olmuştur ve aynı yıl içerisinde Ege Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü'nü kazanmıştır. 2016-2017 yılları arasında İngilizce hazırlık sınıfını başarılı bir şekilde tamamlamış olup, 2017-2021 yılları arasında Ege Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü'nde lisans eğitimi almıştır. 2021 yılında 5 ay süreyle Dikili Çiftlik A.Ş.'de Biyomühendis ünvanı ile görev alarak sektör deneyimi kazanmıştır. 2022 yılında yüksek lisans eğitimine Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda başlamıştır. Bu süreçte 'Identification of genes associated with zinc and copper concentrations in walnut (*Juglans regia* L.) by GWAS analysis' başlıklı uluslararası makaleyi Turkish Journal of Botany dergisinde yayınlamıştır. Aynı zamanda 2024 yılı Nisan ayından itibaren Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü'nde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başlamıştır.