



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PEDRO CEVİZ ÇEŞİDİNDE SERBEST TOZLANMIŞ
TOHUMLARDAN ELDE EDİLEN GENOTİPLERİN
FENOLOJİK VE MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU**

AKİF NAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2019

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PEDRO CEVİZ ÇEŞİDİNDE SERBEST TOZLANMIŞ
TOHUMLARDAN ELDE EDİLEN GENOTİPLERİN
FENOLOJİK VE MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU**

AKİF NAR

Bu tez,
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS
derecesi için hazırlanmıştır.

KAHRAMANMARAŞ 2019

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Akif NAR tarafından hazırlanan “Pedro Ceviz Çeşidinde Serbest Tozlanmış Tohumlardan Elde Edilen Genotiplerin Fenolojik ve Moleküler Karakterizasyonu” adlı bu tez, jürimiz tarafından 08/08 / 2019 tarihinde oy birliği ile Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet SÜTYEMEZ (DANIŞMAN)

.....

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, KSÜ

Dr. Öğr. Üyesi Murat AYDEMİR (ÜYE)

.....

KSÜ Türkoğlu MYO

Dr. Öğr. Üyesi Selma BOYACI (ÜYE)

.....

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Ahi Evran

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Mustafa YAZICI

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

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

AKİF NAR



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

Proje No: 2018/1-4 YLS

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

**PEDRO CEVİZ ÇEŞİDİNDE SERBEST TOZLANMIŞ TOHUMLARDAN ELDE
EDİLEN GENOTİPLERİN FENOLOJİK VE MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

AKİF NAR

ÖZET

Ceviz, sert kabuklu meyveler içerisinde dünyada en fazla yetiştirilen meyve türüdür. Ceviz yetiştiriciliği ve ıslahı üzerine yıllardır çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Bu çalışmada Pedro ceviz çeşidinde serbest tozlanma sonucu elde edilen genotipler ve ana çeşidin (Pedro) fenolojik ve genetik farklılıkları tespit edilmiştir.

Genotipler arasındaki fenolojik farklılıkları tespit etmek amacıyla; tomurcuk patlama, ilk yapraklanma, yaprak sararma ve yaprak döküm gibi fenolojik özellikler incelenmiştir. Genetik farklılıkların belirlenmesinde ise ebeveyn çeşit (Pedro) ile genotipler arasında 12 Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm (ISSR) primeri kullanılmıştır.

Fenolojik gözlemlerde, tomurcuk patlama ve yapraklanma gibi fenolojik özellikler açısından genotiplerin ana bitkiye göre genelde daha geç aktif duruma geçtikleri gözlenmiştir.

Ceviz genotiplerinde tomurcuk patlamanın 53 gün, ilk yapraklanmanın 52 gün, yaprak sararmanın 42 gün ve yaprak dökümünün ise 54 gün gibi bir periyotta gerçekleştiği belirlenmiştir. Ana bitki (Pedro) ile genotipler mukayese edildiğinde, tomurcuk patlama ile ilk yapraklanmada %77.89, yaprak sararmada %28.42 ve yaprak dökümünde ise %69.47 seviyesinde fenolojik varyasyon olduğu tespit edilmiştir.

Genetik farklılıkların belirlenmesi amacıyla yürütülen analizler sonucunda polimorfizm oranının %95.3 olduğu tespit edilirken, genotiplerde benzerlik oranının %5 ile %99 arasında değiştiği belirlenmiştir. Genotipler arasındaki en yüksek varyasyonun Genotip 2 ile Genotip 8 arasında olduğu belirlenirken, dendogramda en düşük varyasyonun ise Genotip 29 ile Genotip 82 ve Genotip 29 ile Genotip 86 arasında olduğu tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında kümeleme analiz sonuçlarına göre ceviz genotiplerinin 2 ana kümeye ayrıldığı belirlenmiştir.

Araştırmada kullanılan populasyonun hem fenolojik hem de genetik olarak önemli bir çeşitliliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, gen kaynaklarının yönetiminde fenolojik ve moleküler verilerin birlikte kullanılmasının önemli olduğunu göstermektedir. Ayrıca, akraba ceviz genotiplerinde genetik varyasyonun belirlenmesinde ISSR markör tekniklerinin etkili bir yöntem olduğu teyit edilmiştir.

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

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Ağustos / 2019

Danışman: Prof. Dr. Mehmet SÜTYEMEZ
Sayfa sayısı: 54

**DETERMINATION OF PHENOLOGICAL AND GENETIC DIFFERENCES IN
GENOTYPES OBTAINED FROM OPEN POLLINATED SEEDS IN PEDRO
WALNUT CULTIVAR**

(M.Sc. THESIS)

AKİF NAR

ABSTRACT

Walnut is the most cultivated nuts in the world. There has been a lot of research on Walnut cultivation and breeding for many years. In this research, genotypes obtained from open pollination of Pedro walnut cultivar and their phenological and genetic differences were determined.

In order to determine the phenological differences between genotypes, phenological features such as bud burst, leafing date, leaf yellowing and defoliation date were investigated. 12 Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) primers were used to determine genetic differences between the parent (Pedro) and genotypes.

In phenological observations, in terms of phenological traits such as bud burst and leafing date, genotypes were generally latish than the parent.

In walnut genotypes, it was determined that the bud burst occurred in a period of 53 days, leafing date in a period of 52 days, leaf yellowing in a period of 42 days, and defoliation date in a period of 54 days. When genotypes were compared with the parent (Pedro), phenological variation was found to be 77.89% in bud burst and leafing date, 28.42% in leaf yellowing and 69.47% in defoliation date.

As a result of, the polymorphism rate was found to be 95.3%, and the genetic similarity rate in genotypes was found to be between 5% and 99%. The highest variation between genotypes was determined to be between Genotype 2 and Genotype 8, while the lowest variation was found to be between Genotype 29 and Genotype 82, Genotype 29 and Genotype 86. According to clustering analysis results, genotypes were divided into 2 main clusters.

The population used in the study was determined to have a significant diversity, both phenologically and genetically. The results show that it is important to use phenological and molecular data together in the management of gene resources. In addition, it has been confirmed that ISSR marker techniques which determine genetic variation in related walnut genotypes are effective methods.

Key words: Walnut, *Juglans regia* L., molecular, phenology, ISSR

Kahramanmaraş Sütçü İmam University
Institute for Graduate Studies in Science and Technology
Department of August / 2019

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet SÜTYEMEZ
Page number: 54

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın gerçekleşmesinde 3 yıl boyunca değerli bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, verdiği nasihatlerle hayatıma kattığı önemini asla unutmayacağım değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet SÜTYEMEZ'e teşekkür ederim. Araştırmalarım ve tezin hazırlanmasında bilgi ve tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen Dr. Şakir Burak BÜKÜCÜ, Dr. Akide ÖZCAN ve Dr. Halil TEKEREK'e teşekkür ederim. Ayrıca çalışmalarım da yardımını esirgemeyen değerli arkadaşım Yük. Ziraat Müh.Esra YILDIRIM'a teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında maddi ve manevi desteklerini üzerimden hiç eksik etmeyen kıymetli ailem; annem Zehra NAR, babam M. Ali NAR, eşim Esra NAR, abilerim ve kardeşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca lisans dönemimden bugüne kadar maddi ve manevi desteğini üzerimden hiç eksik etmeyen değerli büyüğüm Hüseyin NAR'a teşekkür ederim.

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

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
EKLER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	7
2.1. Fenolojik Çalışmalar	7
2.2. Moleküler Çalışmalar	9
3. MATERYAL VE METOT	13
3.1. Materyal	13
3.1.1. Pedro ceviz çeşidinin özellikleri	13
3.2. Metot	14
3.2.1. Ceviz tohumlarının ıslatılması ve ekimi	14
3.2.2. Fenolojik gözlemler	14
3.2.2.1. Tomurcuk patlama ve ilk yapraklanma dönemi	14
3.2.2.2. Dişi çiçek durumu	15
3.2.2.3. Yaprak sararma-döküm dönemi	15
3.2.2.4. Fenolojik sınıflandırma	16
3.2.3. Moleküler analizler	17
3.2.3.1. Yaprak örneklerinin toplanması	17
3.2.3.2. DNA izolasyonu	17
3.2.3.3. Genotiplerin DNA markörleri ile taranması	19
3.2.3.4. ISSR analizleri	19
3.2.3.5. Genotiplere ait jel görüntülerinin elde edilmesi	20
3.2.3.6. DNA bantlarının skorlanması	20
3.2.3.7. Veri analizi	20
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	22
4.1. Genotiplere Ait Fenolojik Gözlemler	22
4.1.1. Tomurcuk patlama-ilk yapraklanma dönemi	22

4.1.2. Dişı çiçek durumu	24
4.1.3. Yaprak sararma-döküm dönemi	24
4.2. Genotipler Arasındaki Genetik Farklılığın Belirlenmesi.....	31
4.3. Genotipler Arasında Genetik Farklılığın Değerlendirilmesi.....	32
4.4. Genotiplere ait Dendogram	33
4.5. Popülasyonun Genetik Yapı Analizi	36
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	38
KAYNAKLAR.....	40
EKLER.....	44
ÖZ GEÇMİŞ.....	54



ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 1.1. Dünya ceviz yetiştiriciliğinde söz sahibi ülkeler.....	2
Çizelge 1.2. Türkiye’de yıllara göre ceviz yetiştiriciliği	3
Çizelge 1.3. Türkiye’de illere göre ceviz üretim miktarı (ton).....	4
Çizelge 3.1. Genotiplerin ana bitkiye göre fenolojik özelliklerinin sınıflandırılması	16
Çizelge 3.2. PCR’de kullanılan ISSR primerleri ve nükleotid dizilimleri.....	19
Çizelge 4.1. Ceviz genotiplerinin bazı fenolojik özellikleri ve sınıflandırılması	27
Çizelge 4.2. Çalışmada kullanılan ISSR primerlerinin allel sayıları ve PIC (polimorfizm bilgi içeriği) değerleri	32

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Yıllara göre dünya kabuklu ceviz üretim miktarları	2
Şekil 3.1. Pedro ceviz çeşidine ait meyvelerin görünümü	13
Şekil 3.2. Fenolojik gözlemler (yapraklanma safhaları) a-Tomurcuk b- Tomurcuk kabarma c-Tomurcuk patlama d- İlk yapraklanma aşamaları	15
Şekil 3.3. Genotiplere ait dişi çiçek görünümü	15
Şekil 3.4. Genotiplere ait yaprak sararma ve yaprak dökümü.....	16
Şekil 3.5. Genç taze sürgünden yaprak örneklerinin alınması	17
Şekil 3.6. Ceviz genotiplerinin DNA izolasyonuna ait görseller (a-Yaprak örneklerinin tüplere yerleştirilmesi b- Tüplerin sıvı azota daldırılması c- Yaprakların ezilmesi d- Yaprakların ezilmiş görünümü e- Buffer eklenmesi f- Sıcak su banyosundan görünüm g- Pellet oluşumu h- %1 agaroz jel yükleme aşaması)	18
Şekil 4.1. Ceviz genotiplerinin tomurcuk patlama- ilk yapraklanma başlangıç dönemlerinin Pedro'ya göre (%) sınıflandırılması	24
Şekil 4.2. Ceviz genotiplerinin yaprak sararma-döküm dönemlerinin Pedro'ya göre (%) sınıflandırılması.....	26
Şekil 4.3. ISSR 12 primer kombinasyonlarına ait bantların görünümü	31
Şekil 4.4. Ceviz genotiplerine ait dendogram	35
Şekil 4.5. Structure programından elde edilen ideal ΔK değeri	36
Şekil 4.6. Ceviz genotiplerine ait kümeleme analizi sonuçları ($\Delta K=2$).....	37

EKLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Ek-1. Tomurcuk patlama- ilk yapraklanma periyodu	44
Ek-2. Yaprak sararma başlangıç-yaprak döküm periyodu	49



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

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

1. GİRİŞ

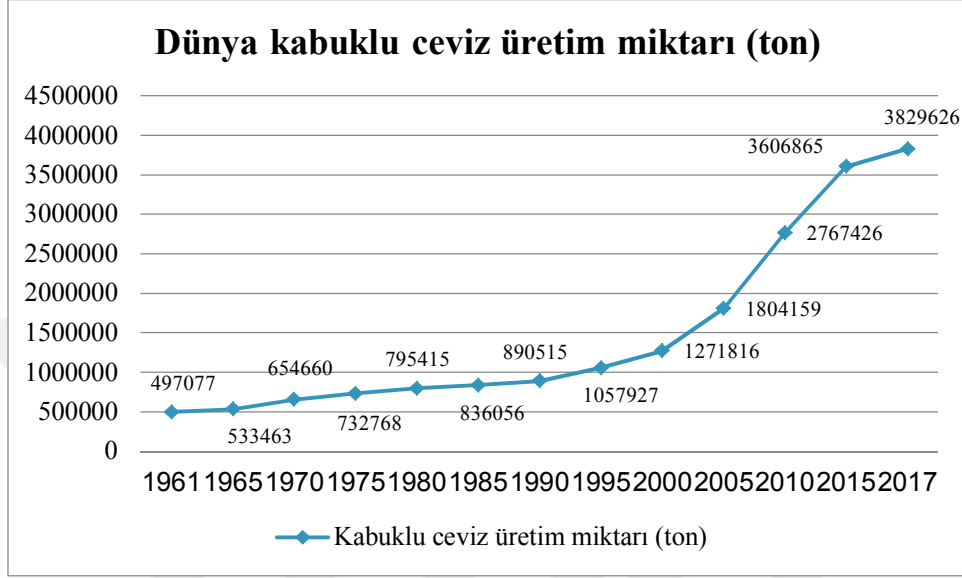
Sert kabuklu bir meyve türü olan ceviz; *Dicotyledoneae* sınıfı, *Juglandales* takımı, *Juglandaceae* familyasında *Juglans* cinsi içerisinde yer almakta ve 20'den fazla türü bulunmaktadır. Bu türler arasında *Juglans regia* L. meyve kalitesinin üstünlüğü nedeniyle ticari olarak yetiştirilen tek türdür (Şen, 1986). Ceviz diploit olup 32 kromozoma sahiptir (Woodworth, 1930). Geniş bir yayılım alanına sahip olan *Juglans regia* L., Asya, Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika, Güney Afrika, Avustralya ve Yeni Zelanda'nın birçok ılıman bölgesinde yayılım göstermekte ve yetiştiriciliği yapılmaktadır (Aradhya ve ark., 2006). Türkiye, hem Akdeniz Havzasında hem de Yakın Doğu'da yer aldığından bu türün gen merkezleri içerisinde büyük bir öneme sahiptir.

Sert kabuklu meyveler içerisinde yer alan ceviz, monoik yapıya sahip olup dikogami çiçeklenme özelliği gösteren bir meyve türüdür. Ceviz ağaçları bazı durumlarda kendini tozlayabilmekte ancak dikogami özelliğinden dolayı genellikle yabancı tozlanmaktadır. Bu nedenle bahçe tesislerinde genellikle tozlayıcı bitkiye ihtiyaç duyulmaktadır. Tozlanma, erkek çiçeklerden saçılan polenlerin rüzgâr yardımıyla dişi tepesine ulaşmasıyla gerçekleşir. Erkek çiçekler bir önceki sonbahar döneminde meydana gelmektedir. Bir püskül üzerinde 100-160 arasında değişen miktarda erkek çiçek bulundurmakta olup, bunlar yaklaşık iki milyon polen tanesi üretebilmektedir. Dişi çiçekler ise mevcut vegetasyon döneminde tepe veya yan tomurcuklarda meydana gelmektedir. Dişi çiçekler bir çiçek sapında genellikle 2'li veya 3'lü olarak görülmektedir (Bernard ve ark., 2018).

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

Dünya'da 1960 yılında 497,077 ton kabuklu ceviz üretimi yapılmakta iken, 2017 yılında yaklaşık 8 kat artarak 3,829,626 ton üretim yapılmıştır. Üretim miktarındaki en

önemli artış ise 2000’li yıllardan sonra meydana gelmiştir (Şekil 1.1). Dünya’da 2017 yılında en fazla ceviz üretimi 1,925,403 ton ile Çin’de yapılmaktadır. Bu ülkeyi ABD ve İran takip ederken, Türkiye 210,000 ton üretimi ile dünya kabuklu ceviz üretim miktarında dördüncü sırada yer almaktadır. Üretim miktarları ile bu dört ülke Dünya ceviz üretiminin yaklaşık %80’ini karşılamaktadır (Çizelge 1.1)



Şekil 1.1. Yıllara göre dünya kabuklu ceviz üretim miktarları

Çizelge 1.1. Dünya ceviz yetiştiriciliğinde söz sahibi ülkeler

Ülkeler	Miktar (ton)	Oran (%)
Çin	1,925,403	50,28
ABD	571,526	14,92
İran	349,192	9,12
Türkiye	210,000	5,48
Meksika	147,198	3,84
Ukrayna	108,660	2,84
Şili	81,163	2,12
Romanya	43,720	1,14
Fransa	40,683	1,06
Hindistan	32,000	0,84

Kaynak: FAO (Anonymous, 2018)

Dünya’da önemli bir tarım ülkesi olan Türkiye mevcut konumu itibariyle ceviz yetiştiriciliği için bir cennet mekânıdır. Ancak diğer ülkeler ile kıyas edildiğinde Türkiye’nin üretim miktarı henüz istenilen seviyelerde değildir. Türkiye’de bu güzel meyve türüne gönül verenlerin sayısının artışı ile gelecekte dünya sıralamasında daha iyi yerlere gelineceği aşikârdır. Türkiye’de 2004 yılında 6,400,000 ağaçtan 126,000 ton ürün elde edilirken, 2018 yılına gelindiğinde ise 18,771,643 adet ceviz ağacından 215,000 ton ürün elde edildiği belirtilmektedir. Bu yıllar arasında (2004-2018) üretim miktarında ise %170 gibi bir artış görülürken ağaç sayısında yaklaşık %293 artış gözlemlenmiştir (Çizelge 1.2). Bu durumun sebebi yeni kurulan kapama bahçelerinin sayısında önemli bir artışın meydana gelmesi, ancak cevizin gençlik kısırlık süresinin uzun olması sebebiyle bu ağaçların tam verim çağına henüz ulaşamamış olmalarıdır.

Çizelge 1.2. Türkiye’de yıllara göre ceviz yetiştiriciliği

Yıl	Meyve veren yaşta ağaç sayısı (Adet)	Meyve vermeyen yaşta ağaç sayısı (Adet)	Toplu meyveliklerin alanı (Dekar)	Verim (kg/meyve veren ağaç)	Üretim (Ton)
2004	4,200,000	2,200,000	168,000	30	126,000
2005	4,535,000	2,245,000	197,000	33	150,000
2006	4,595,453	2,353,440	208,967	28	129,614
2007	4,926,985	2,788,405	286,797	35	172,572
2008	5,094,781	2,951,522	328,873	34	170,897
2009	5,191,724	3,200,279	366,736	34	177,298
2010	5,441,051	3,643,380	413,932	33	178,142
2011	5,594,576	4,045,119	468,378	33	183,240
2012	5,977,397	4,541,958	552,019	34	203,212
2013	6,526,028	4,877,669	639,015	33	212,140
2014	7,000,897	5,374,456	693,947	26	180,807
2015	7,596,020	5,560,227	718,196	25	190,000
2016	8,171,185	6,873,271	868,528	24	195,000
2017	8,766,811	7,894,728	920,128	24	210,000
2018	9,875,068	8,896,575	1,117,749	22	215,000

Kaynak: Tük (Anonim, 2018)

Türkiye'nin ceviz gen kaynakları içerisinde yer alması ve çok eski çağlardan beri cevizle olan ilgi nedeniyle, Anadolu'nun her karış toprağında bu meyve türünün ağacına rastlamak mümkündür. 2018 yılı verilerine göre Kahramanmaraş 10,515 ton üretim ile Türkiye'de en fazla üretim yapan il olarak kaydedilmiştir. Bu ilimizi ise Bursa, Denizli, Mersin, Çorum ve Antalya illeri takip etmiştir (Çizelge 1.3).

Çizelge 1.3. Türkiye'de illere göre ceviz üretim miktarı (ton)

İller	2013	2014	2015	2016	2017	2018
K. Maraş	10,316	6,106	10,631	10,451	10,902	10,515
Bursa	6,984	5,096	6,154	6,434	7,409	8,828
Denizli	6,981	7,866	3,275	6,391	7,962	8,537
Mersin	5,938	6,845	6,067	5,773	6,452	7,863
Çorum	6,423	1,374	3,393	6,564	6,938	7,031
Antalya	5,949	9,354	6,861	6,983	8,101	6,396

Kaynak: Tük (Anonim, 2019)

Her geçen yıl ceviz meyvesine olan talebin artması ile birlikte, bu meyve türünün yetiştiriciliğinde ve üzerinde yürütülen bilimsel çalışmaların sayısı da artış göstermiştir. Ceviz hem yetiştiricilik hem de çoğaltılması açısından meyvecilikte diğer bitki türlerine göre daha uzun zaman ve emek gerektirmektedir. Ayrıca ceviz gibi meyve türlerinin heterozigot yapıya sahip olması bu meyve türünün çoğaltılmasını güçleştirmektedir. Bu durum üretim açısından olumsuz bir etki oluşturmaya karşılık, ıslahçılar açısından önemli bir genetik varyasyon sağlamaktadır. Ancak ceviz meyve türünün gençlik kısırlığı süresinin uzun olması, ıslah çalışmalarını kısıtlayan diğer önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Son yıllarda biyoteknolojik yöntemlerdeki hızlı ilerleme bu sürenin kısılmasına da önemli katkılar sunmaktadır. Bu alanda kullanılan moleküler markör teknolojileri çok önemli bir biyoteknolojik araç olarak karşımıza çıkmaktadır. Moleküler markörler yardımıyla genomda, herhangi bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile ilgili DNA parçası temsil edilmektedir. Bu markör teknolojileri fiziksel haritalama, gen keşfi ve etiketleme, filogenetik çalışmalar, evrimsel genetik ve genetik çeşitlilik çalışmaları gibi pek çok alanda etkin şekilde kullanılmaktadırlar (Filiz ve Koç, 2011).

Bir bitkiyi ya da bitki grubunu morfolojik anlamda diğerlerinden ayıran özellikler morfolojik markörler olarak değerlendirilmekte olup, fenolojik farklılıklar bu grup markörler arasında yer almaktadır. Son yıllarda DNA markör teknolojisindeki ilerleme çok üst seviyelere ulaşmış ve filogenetik analizlerde çok etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Morfolojik markörler ile birlikte moleküler markörlerin kullanılması bitki ıslahçalarına daha yüksek etkinlikle çalışma imkânı sağlamaktadır (Ekincialp ve Kazankaya, 2012).

Bitkilerde ilk kullanılan markör tekniği RFLP olmuştur. RFLP tekniği PCR esaslı olmayıp, kodominant (eşbaskın) bir markör tekniğidir (Bark ve Havey, 1995). Uzun süre yaygın bir şekilde kullanılan RFLP, pahalı ve fazla zaman alıcı olması, çok fazla iş gücü gerektirmesi, yüksek kalitede DNA'ya gereksinim duyması gibi dezavantajları ile PCR temelli tekniklerin sağladığı avantajlar nedeniyle kullanımı oldukça sınırlı kalan bir moleküler markör tekniği olmuştur. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), 1985 yılında geliştirilmiş bir yöntem olup, *in vitro* koşullarda DNA dizilerinin çoğaltılması esasına dayanır (Yorgancılar ve ark., 2015). Botstein ve ark. (1980)'na göre, PCR'ın ortaya çıkması ile birlikte SSR, RAPD, AFLP ve ISSR gibi markör sistemleri de geliştirilmiştir. Bu markör sistemleri bazı avantaj ve dezavantajlara sahip olup, kullanımları laboratuvar şartları ve yürütülen çalışmalara göre değişiklik gösterebilmektedir. Bu doğrultuda polimorfizm açısından SSR ve AFLP markörleri, fiyat açısından RAPD ve ISSR yöntemleri avantajlı iken tekrarlanabilirlik açısından RFLP, SSR, ISSR ve AFLP yöntemleri avantajlı konumdadır. Şartların sınırlı olduğu ve radyoaktif madde kullanımının olmadığı laboratuvarlarda çalışma şartları göz önüne alınarak RAPD ve ISSR yöntemleri rahatlıkla kullanıldığı bildirilmiştir (Powell ve ark., 1996). Ayrıca SSR ve AFLP analizlerinde radyoaktif madde kullanmadan yüksek çözünürlükte agaroz jel kullanarak veya DNA'lar etidyum bromür ile boyanarak laboratuvar şartlarında bu yöntemler uygulanabilmektedir (Hormaza, 2002).

ISSR yöntemi, ökaryotik genomlarda tekrar eden 2, 3, 4, 5 gibi nükleotid birimlerinin lokustan bağımsız bir şekilde genomda rastgele dağılımlarını esas alan ancak RAPD yöntemine göre çok daha hassas ve tekrarlanabilirliği yüksek olan bir yöntem olarak öne çıkmaktadır (Zietkiewicz ve ark., 1994; Gupta ve ark., 1994). ISSR markörlerinin kullanımı hızlı, uygulanması kolay ve primerleri daha uzun olduklarından güvenilirlikleri fazladır (Bornet ve Branchard, 2001). Ayrıca bu markör tekniği son yıllarda bir çok bitki türünde genetik çeşitliliğin belirlenmesi, filogenetik çalışmalar ve genom haritalarının oluşturulması gibi konularda etkin bir şekilde kullanılmaktadır (Reddy

ve ark., 2002). Yeterli bilgi sunan ISSR primerlerini kullanmak düşük bir maliyet, zamandan tasarruf ve genetik analizlerde kolaylık sağlamaktadır. Ceviz meyve türünde ise bu markör tekniği genotiplerin orijinlerinin belirlenmesinde (Malvolti ve ark., 2010) ve genetik çeşitliliğin belirlenmesi (Potter ve ark., 2002; Christopoulos ve ark., 2010; Pollegioni ve ark., 2003) gibi konularda etkili bir şekilde kullanılmıştır.

Meyve türlerinde tohumla çoğaltmada elde edilen genotiplerde genetik varyasyonun çok önemli seviyede olduğu bilinmektedir. Ancak bu genetik varyasyonun fenolojik ve genetik olarak hangi seviyelerde olduğu ile ilgili yapılmış çalışma sayısı oldukça sınırlı kalmıştır. Bu tez kapsamında Pedro ceviz çeşidinde serbest tozlanmış ceviz genotiplerinin fenolojik özelliklerinin belirlenmesinin yanı sıra ISSR markör tekniği kullanılarak moleküler karakterizasyonun yapılması ve ana bitki ile aralarındaki genetik ilişkilerin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Fenolojik Çalışmalar

İtalya'nın kuzeyinde 1981-1983 yılları arasında çevre şartlarına uyumu araştırmak amacıyla Piemonte bölgesinde 19 yabancı ceviz çeşidi üzerinde çalışma yürütülmüştür. Bu çalışmada Amigo, Chase D9, Chico, Corne, Eureka, Franquette, Grandjean, Hartley, Marbot, Mayette, Parisienne, Payne, Pedro, Serr, Thoma, Trinta, Vina, Feltrina ve Sorrento gibi çeşitlerin büyüme kuvveti, taç şekli, yapraklanma, çiçeklenme ve verim durumları gözlemlenmiştir. Çalışma sonucuna göre bu ceviz çeşitlerinden Pedro, Hartley, Corne, Parisienne, Marbot, Mayette, Grandjean ve Franquette çeşitlerinin diğer çeşitlere göre daha geç yapraklanarak Piemonte bölgesinin iklim özelliklerine daha iyi uyum sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca Franquette çeşidinin diğer çeşitlere kıyasla daha geç yapraklanan çeşit olduğu tespit edilmiştir (Radicati ve ark., 1990).

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

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

Sütyemez ve Kaşka (2002), tarafından Kahramanmaraş ekolojik şartlarında 32 yerli ve yabancı ceviz genotipleri üzerinde yürüttükleri bir çalışmada, ilk yapraklanmanın 8 Mart tarihinde Serr, Şen-1, KR-2 ve Maraş-10 genotiplerinde, en geç yapraklanmanın ise 24 Nisan tarihinde Franquette çeşidinde görüldüğünü belirtmişlerdir. Pedro çeşidinde ise ilk yapraklanmanın 26 Mart tarihinde başladığı tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada ceviz genotiplerinin yaprak döküm dönemleride incelenmiş olup, en erken yaprak dökümün

Van-6 ve Kaman-4 çeşitlerinde, en geç ise Payne, Chandler, Pedro çeşitlerinde görüldüğü bildirilmiştir.

Türkiye'nin farklı yörelerinden seleksiyon yoluyla seçilmiş olan üstün özellikli çeşitler (Yalova-1, Yalova-3, Yalova- 4, Şebin, Bilecik, 77-H-1, Tokat-1, Şen-1, Kaplan-86) ve yurt dışında yetiştirilen bazı yabancı ceviz çeşitlerinin (Payne, Pedro, Hartley, Champion, Midland ve Serr) Yalova ekolojisine ait performanslarını belirlemek amacıyla yürütülen bir araştırmada, bazı önemli fenolojik ve pomolojik parametreler incelenmiştir. Çeşitlerin tamamında tepe tomurcuklarının Mart ayı içerisinde patladığı, Kasım ayı içerisinde ise hepsinin yaprak döktüğü belirlenmiştir (Tosun ve Akçay, 2005).

Baymış (2008) tarafından Kahramanmaraş ekolojik şartlarında yürütülen çalışmada tomurcuk kabarması, tomurcuk patlaması ve yapraklanma başlangıcı gibi fenolojik özellikler dikkate alındığında en erkenci (1-8 Nisan) Serr çeşidinin olduğu görülürken, Chandler çeşidinde ise yapraklanma başlangıcının 19 Nisan tarihinde gerçekleştiği belirtilmiştir. Yürütülen araştırmada diğer çeşitlere ait tomurcuk kabarması, tomurcuk patlaması ve yapraklanma başlangıçları ile ilgili fenolojik gözlemler ise 1-19 Nisan tarihleri arasında gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Safter (2011)'in yürüttüğü çalışmaya göre Hatay Yayladağı koşullarında yetiştirilen 12 ceviz genotipinde 2009 yılına göre 2008 yılında daha geç yapraklanmanın gerçekleştiği belirtilmiştir. En erken ilk yapraklanma Yalova 4, Şen 1 ve Tokat 1 ceviz çeşitlerinde 1 Nisan tarihinde gerçekleşirken, en geç ilk yapraklanma 7 Nisan'da Yalova 1 çeşidinde gerçekleşmiştir. Bu genotiplere ait yapraklanma periyodu ise 18 Mart-17 Nisan tarihleri arasında gerçekleştiği bildirilmiştir. 2008 yılının 2009 yılına göre yapraklanma periyodunun yayılım gösterdiği belirtilmiştir

Niksar ekolojik koşullarında yapılan bir çalışmada bazı yerli (Maraş 12, Maraş 18, Şebin, Kaman 1, Şen 1 ve Şen 2) ve yabancı kökenli (Fernor, Fernette, Chandler, Howard, Midland, Serr ve Pedro) ceviz çeşitleri arasında fenolojik karşılaştırmalara göre, ilk yapraklanmanın genel olarak yerli çeşitlerde daha erken gerçekleştiği tespit edilmiştir. Çalışmada ilk yapraklanma tarihleri en erkenden en gece doğru Serr, Maraş 12, Şen 2, Maraş 18, Şen 1, Şebin, Midland, Kaman 1, Pedro, Chandler, Fernette, ve Fernor olarak belirlenmiştir (Akça ve ark., 2014).

İran'da 2010-2011 yıllarında Mahmodi ve ark. (2016) tarafından yürütülen bir araştırmada 5 üstün nitelikli ceviz genotipinin Chandler, Hartley, Pedro, Ronde de

Montignac ve Franquette gibi standart çeşitler ile mukayesesi yapılmıştır. Araştırma sonucunda genotiplerin yapraklanma tarihlerinin 3-15 Nisan tarihleri arasında değiştiği, Pedro çeşidinin ise 7 Nisan tarihinde yapraklandığı bildirilmiştir.

Orman ve ark. (2017) tarafından 2007 ile 2011 yılları arasında Yalova ekolojik koşullarında yapılan çalışmada 10 çeşit (Sunland, Ashley, Vina, Rendede-38, Regio, Howard, Chandler, Fernor, Fernet ve Maraş-18) üzerinde fenolojik gözlemler alınmıştır. Yapılan fenolojik gözlemler sonucunda en erken ilk yapraklanma 28 Mart'ta Rendede-38 çeşidinde görülürken, en geç ilk yapraklanmanın ise 26 Nisan'da Fernor ve Fernet çeşitlerinde görüldüğü tespit edilmiştir.

Gaziantep bölgesinde yürütülen bir adaptasyon çalışmasında Bilecik, Chandler, Howard, Maraş-12, Maraş-18, Midland, Pedro, Serr ve Şen-1 ceviz çeşitleri materyal olarak kullanılmıştır. Çalışma sonucunda Chandler çeşidinin geç, Pedro çeşidinin orta geç, Maraş-12 ve Maraş-18 çeşitlerinin ise orta erken yapraklanma dönemine sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca araştırmada ceviz çeşitlerinin yaprak döküm tarihleri de incelenmiş olup, Chandler ve Pedro çeşitlerinin geç, Maraş-12 ve Maraş-18 çeşitlerinin orta erken yaprak döküm sınıflandırılmasında yer aldığı belirlenmiştir (Tahtacı ve ark., 2017).

2.2. Moleküler Çalışmalar

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

Nicese ve ark. (1998) tarafından Kaliforniya Üniversitesi'nde ebeveyn olarak tercih edilen 19 adet ceviz (*J. regia* L.) çeşidinin genetik farklılıklarının belirlenmesi amacıyla moleküler analizlerini yapmışlardır. Yapılan çalışmada 72 adet RAPD primeri kullanılmış olup hepsinden bant elde edilmiştir. Bu primerlerden 23 tane polimorfik bant elde edilmiş ve bant uzunluklarının 250 bp ile 1700 bp arasında olduğu belirlenmiştir.

Amerika'nın Kaliforniya eyaletinde yapılan bir çalışmada 48 adet ceviz çeşidinin genetik ilişkisini tespit etmek için ISSR markör tekniği kullanılmıştır. Kullanılan 48 adet

ceviz çeşidinin 8 adet ISSR primeri ile taranması sonucu 54 adet bant elde edilmiştir. Bu bantların 31'inden polimorfik bant elde edilirken 23'ünden ise monomorfik bant elde edilmiştir. Her bir primerdeki polimorfik bant sayısının 1 ile 7 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca ISSR moleküler tekniğinin ceviz çeşitleri ile genotipler arasındaki genetik ilişkinin belirlenmesinde ve tanımlanmasında kullanılabileceği belirlenirken ISSR tekniğinin RAPD ile aynı maliyette fakat daha fazla polimorfik bant elde edildiği tespit edilmiştir (Potter ve ark., 2002).

Froni ve ark. (2005) tarafından yürütülen bir çalışmada Sorrento çeşidi ile aşı 6 bitki, 10 çöğür ve 6 farklı *J. regia* çeşidi 23 adet ISSR primeri ile taranmıştır. S-4 ve S-5 Serrento çöğürleri tüm ISSR primerlerinde bant vermiş ve ortalama allel sayısı 5.5 olarak hesaplanmıştır. Bant uzunlukları ise 120 bp ile 265 bp arasında değişim göstermiştir. Çalışmada kullanılan 23 adet ISSR primerinden 6'sında polimorfik bant elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre filogenetik dendogramın 3 gruba ayrıldığı tespit edilirken Sorrento çöğürlerinde benzerlik katsayısı 0.60-0.11 arasında, Sorrento aşı 6 çeşitlerde 0.47-0.26 arasında ve diğer çeşitlerde 0.71-0.08 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir.

Doğan (2006) tarafından yapılan bir çalışmada Türk ve yabancı orijinli 62 ceviz çeşit ve genotipi arasındaki genetik benzerliği belirlemek için ISSR ve RAPD DNA moleküler markör teknikleri kullanılmıştır. Kullanılan 25 adet ISSR primerinden toplamda 181 adet bant elde edilerek bunun 129 adedinin polimorfik olduğu tespit edilmiştir. RAPD analizlerinde kullanılan 25 adet primerden 211 bant elde edilmiş olup bunun 144 adedinin polimorfik olduğu tespit edilmiştir. ISSR primerlerinden elde edilen sonuçlara göre genetik benzerlik katsayısının 0.62-0.94 arasında değişim gösterdiği saptanmıştır. Bu ceviz çeşitlerinden Şen-1 ile KR-2 genetik olarak birbirine en yakın çeşitler iken, KR-2 ile Sunland genetik olarak birbirine en uzak genotipler olduğu belirlenmiştir. RAPD yönteminde ise genetik benzerlik katsayısı 0.63 ile 0.95 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. RAPD markörlerinden elde edilen sonuçlara göre Akça-2 ile Karabudur'un birbirine en yakın, Yalova-1 ile KR-2'nin birbirine en uzak genotipler olduğu tespit edilmiştir. Genotipler ve çeşitler arasındaki genetik ilişkiyi belirlemede ISSR ve RAPD tekniklerinin polimorfizm oranlarının yüksek olduğu ve ISSR tekniğinin RAPD tekniğine göre tekrarlanabilirlik açısından avantajlı olduğu saptanmıştır.

Kaman-1 ve Kaman-5 ceviz çeşidine ait tohumlardan elde edilen 62 adet ceviz genotipi üzerinde yürütülen bir çalışmada genetik farklılıkları belirlemek amacıyla ISSR ve SRAP teknikleri kullanılmıştır. Kaman-1 ve Kaman-5 çeşidine ait genotiplerde 10 SRAP

markör çiftinden 185 adet bant elde edilmiş olup 100 adedinin polimorfik olduğunu belirtilmiştir. Tekrar aynı genotipler üzerinde 15 adet ISSR markörü kullanılarak 200 adet bant elde edilmiş ve bu bantlardan 122 tanesinin polimorfik olduğu bildirilmiştir. Tüm Kaman-1 ve Kaman-5 genotipleri arasındaki genetik benzerlik indeksleri 0.60 ile 0.93 arasında değişiklik göstermiştir (Akcan, (2007).

Pollegioni ve ark. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, İtalya'nın kuzey (Bleggiana ve Feltrina) ve güney bölgesinden (Malizia ve Sorrento) alınan İtalyan ceviz çeşitleri üzerinde ISSR markör tekniğini kullanmışlardır. Araştırma sonucunda 9 farklı ISSR primerinden toplam 115 polimorfik bant elde ettiklerini ve elde edilen bantların polimorfizm oranının %65.2 olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca benzerlik matrisinde Sorrento ve Malizia çeşitleri arasında yüksek oranda genetik benzerlik olduğunu, fakat kuzey ve güney çeşitleri Bleggiana ve Feltrina arasında açık bir farklılaşma olduğunu belirtmişlerdir.

Antepfıstığı üzerinde 4 farklı yöntem ile zenginleştirilerek oluşturulan SSR primerlerinden yeni elde edilen ISSR primerleri antepfıstığı, ceviz, elma, kayısı ve kiraz gibi meyve türlerinde test edilmesi ve geliştirilmesi amacıyla çalışma yürütülmüştür. Bu çalışmada materyal olarak her bir meyve türüne ait 8 çeşit veya tip ile yeni geliştirilen 137 adet ISSR primeri kullanılmıştır. British Columbia Üniversitesi'nin geliştirdiği 36 adet ISSR primeri karşılaştırma amaçlı kullanılmıştır. Yeni dizayn edilen ISSR primerlerinden ceviz meyve türünde toplamda 613 bant elde edilmiş olup 395'i polimorfik bant göstermiştir. Antepfıstığında 618'i polimorfik olmak üzere toplam 791 bant, elmada 496'sı polimorfik olmak üzere toplam 696 bant, kayısıda 429 polimorfik olmak üzere toplam 666 bant, kirazda ise 281'i polimorfik olmak üzere 514 bant elde edildiği gözlemlenmiştir. Yeni geliştirilen ISSR primerleri ile UBC primerleri kıyaslandığında toplam bant sayısı ve polimorfizm içeriği açısından benzer özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Yeni dizayn edilen ISSR primerlerinin genetik haritalamada kullanılabileceği belirtilmiştir (Karadut ve Kafkas 2013).

Doğan ve ark. (2014) tarafından dünyada yetiştiriciliği yapılan önemli çeşitler ile Türkiye'nin farklı illerinden toplanan 59 ceviz genotipi üzerinde yapılan çalışmada, farklı moleküler ve markör yöntemlerinde oluşan 66 adet primerle (25 ISSR, 25 RAPD, 16 SSR) analizlerini yapmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda ceviz genotiplerinin dendogramda 3 ana grupta kümelendiğini belirlemişlerdir. 1. grupta; Kahramanmaraş ve Yalova illerinden elde edilen genotipler, 2. grupta; Kırşehir, Tokat ve Çorum'dan selekte edilen tohumlar, 3.

grupta ise; ABD ve Fransa'ya ait çeşitler yer almıştır. Genotipler arasındaki benzerlik oranının %58- 91 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. %58 ile en düşük benzerlik oranı KR-2 ile Karabodur arasında olurken, %91 ile en yüksek benzerlik oranı ise Akça-2 ile Back genotipleri arasında olduğunu belirtmişlerdir.

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

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

Araştırma kapsamında 2010-2013 yılları arasında Konya'nın Akşehir, Beyşehir ve Hüyük ilçelerinde yürütülen bir seleksiyon çalışmasında 2500 genotip arasından sekizinin üstün özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada bu sekiz ceviz genotipinin bazı önemli pomolojik ve fenolojik özelliklerinin yanı sıra ISSR tekniği kullanılarak bazı önemli ceviz çeşitleri ile genetik benzerlikleri incelenmiştir. Ceviz genotiplerinin yapraklanma dönemlerinin 10-27 Nisan, yaprak döküm dönemlerinin ise 1-17 Kasım tarihleri arasında yapraklarını döktüğü tespit edilmiştir. Genetik benzerlilikleri belirlemek amacıyla oluşturulan UPGMA dendogramında ise en yüksek genetik benzerlik (0.891) AK-2 ile AK-3 arasında, en düşük genetik benzerlik ise (0.491) Chandler ve Franquette arasında belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca Pedro ve Fernor çeşitlerinin yakın akraba oldukları tespit edilmiştir (İpek ve ark., 2019).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Araştırmada Prof. Dr. Nurettin Kaşka Sert Kabuklu Meyveler Uygulama ve Araştırma Merkezi genetik kaynaklarında bulunan Amerikan orijinli Pedro ceviz çeşidine ait tohumlar kullanılmıştır. Serbest tozlanan Pedro ceviz çeşidine ait 95 adet çöğür 2017-2018 yılları arasında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi'ne ait seralarda yetiştirilmiştir.

3.1.1. Pedro ceviz çeşidinin özellikleri

Amerika orijinli melez (Conway Mayette x Payne) bir çeşit olan Pedro çeşidi meyvelerini orta mevsimde olgunlaştırır. Çeşidin yan tomurcuklarda meyve verme oranı %65 civarındadır. Sıcak bölgelerde meyve kalitesinde düşmeler görülmesine rağmen açık renkli bir ceviz olup iç oranı %85'lere kadar çıkabilmektedir. Taç yapısı toplu ve küçük olup ağaçları nispeten kısa boylu olduğu için ev bahçelerinde dikime uygundur. Pedro çeşidi homogami özelliği gösteren çiçeklenme yapısına sahiptir. Kış soğuklama ihtiyacı çok düşük (400-500 saat) olan bu çeşit, geç donların görüldüğü bölgeler için uygun değildir. Çeşidin meyvelerinin kabuğa yapışması iyi, tadı lezzetli, iç ağırlığı 6.5 g, ve iç oranı %48'dir. Rakımı düşük kıyılar için uygun bir çeşittir. Tozlayıcı olarak Chandler, Cisco ve Scharsch Franquette çeşitleri kullanılmaktadır (Şen, 2011).



Şekil 3.1. Pedro ceviz çeşidine ait meyvelerin görünümü

3.2. Metot

3.2.1. Ceviz tohumlarının ıslatılması ve ekimi

Aynı ağaç üzerinde bulunan serbest tozlanma sonucu elde edilmiş pedro çeşidine ait 200 adet tohum +4 °C’de muhafaza edilmek üzere alınmıştır. Tohumlar ekilmeden önce vernelizasyon ihtiyacını gidermek, çimlenmeyi engelleyen maddeleri uzaklaştırmak, tohumun su alarak şişmesini sağlamak ve homojen bir çimlenme gerçekleştirmek için suda (7 gün) bekletilmiştir. Ayrıca bir hafta boyunca ıslatılan tohumların suyu her gün değiştirilmiştir.

Ekime hazırlanan bu tohumlar eşit miktarda torf, kum, perlit, toprak ve leonardit karışımı bulunan fidan yetiştirme saksılarına ekilmiştir. Saksılara ekilen bu ceviz tohumlarının nem miktarları kontrol edilerek su ihtiyaçları karşılanmıştır.

3.2.2. Fenolojik gözlemler

Araştırmada ceviz genotiplerine ait fenolojik gözlemler (tepe tomurcuğu patlama, ilk yapraklanma, yaprak sararma ve yaprak dökümü gibi) Ceviz Tanımlayıcısı (Walnut Descriptors)’na göre yapılmıştır (Anonymous, 1994).

3.2.2.1. Tomurcuk patlama ve ilk yapraklanma dönemi

Tomurcuğun kabarmasından sonra tomurcuk pullarının altından yeşil kısmın tam anlamıyla görüldüğü safha tomurcuk patlama safhası olarak kayıt altına alınır. (Şekil 3.2-c). Bu olay ceviz genotiplerine ait tomurcukların %50’sinde görüldüğünde tomurcuk patlama dönemi olarak kayıt altına alınmıştır (Anonymous, 1994).

İlk yapraklanma dönemi, tomurcukların %70’inde dal ile 45 derecelik açı yaparak yaprakçıkların görüldüğü safha (Şekil 3.2-d) olarak kayıt altına alınmıştır (Anonymous, 1994).



Şekil 3.2. Fenolojik gözlemler (yapraklanma safhaları) a-Tomurcuk b- Tomurcuk kabarma c-Tomurcuk patlama d- İlk yapraklanma aşamaları

Çalışmada kullanılan ceviz genotiplerinin tomurcuk patlama ve ilk yapraklanma dönemleri, ana bitkiye ait (Pedro) yapraklanma periyodu dikkate alınarak Çizelge 3.1'e göre sınıflandırılması yapılmıştır.

3.2.2.2. Dişi çiçek durumu

Pedro çeşidine ait genotiplerden alınan fenolojik gözlemlere göre dişi çiçek oluşumu “Var” veya “Yok” olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Genotiplere ait dişi çiçek görünümü

3.2.2.3. Yaprak sararma-döküm dönemi

Bitkilerde bulunan yapraklardaki yeşil rengin zamanla sarıya dönüştüğü ve yaprakların %70'inin sarardığı periyod sararma dönemi olarak tespit edilmiştir (Anonymous, 1994).

Bitkilerde bulunan yaprakların %70'inin dökülerek dinlenmeye girdiği dönem, yaprak döküm dönemi olarak kabul edilmiştir (Anonymous, 1994) (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Genotiplere ait yaprak sararma ve yaprak dökümü

3.2.2.4. Fenolojik sınıflandırma

Genotiplerin ana bitkiye göre fenolojik (Tomurcuk patlama, İlk yapraklanma, Yaprak sararma ve Yaprak döküm) özelliklerinin sınıflandırılması Çizelge 3.1'de belirlenen skalaya göre yapılmıştır.

Çizelge 3.1. Genotiplerin ana bitkiye göre fenolojik özelliklerinin sınıflandırılması

Sınıflandırma	Pedro'dan (gün olarak)
Çok yakın	±0-4
Yakın	±5-9
Orta	±10-14
Uzak	±15-19
Çok uzak	±20 ve üzeri

Kaynak: Sütyemez, (2019)

Fenolojik özellikler bakımından ana bitki ile genotipler arasındaki farklılık oranları aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

Toplam genotip sayısı - Çok yakın sınıfında yer alan genotip sayısı

Fenolojik farklılık oranı(%): _____ x 100

Toplam genotip sayısı

3.2.3. Moleküler analizler

3.2.3.1. Yaprak örneklerinin toplanması

Araştırmada elde edilen çöğürler içerisinde 90 adet ceviz genotipi rastgele seçilmiş ve seçilen ceviz genotiplerinin yaprak örneklerinin alınmasında genç ve hastalıksız olmasına dikkat edilmiştir. Çalışmada kullanılacak her ceviz genotipinden 3-5 adet alınan yaprak örnekleri %70'lik alkol ve saf sudan geçirilmiştir. Toplanan yaprak örnekleri kuru buz içerisinde korunarak laboratuvara getirilmiş ve DNA izolasyonuna kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir. (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Genç taze sürgünden yaprak örneklerinin alınması

3.2.3.2. DNA izolasyonu

Araştırma kapsamında ceviz yapraklarına ait DNA izolasyonu Doyle ve Doyle (1987)'nin geliştirdiği Bardak (2012)'in modifiye ettiği CTAB yöntemine göre yürütülmüştür.

1-Ceviz genotiplerine ait -80°C'de muhafaza edilen yaprak örnekleri 2000µl'lik tüplere yerleştirilerek sıvı azot yardımıyla iyice öğütülmüştür (Şekil 3.6).

2-Öğütülen yaprak parçacıklarının üzerine 1000 µl izolasyon çözeltisi (0.1 M Tris-HCL (pH:8), 1 M NaCl, 0.02 M EDTA (pH:8), %2 w/v CTAB, %2 Polyvinyl-pyrrolidone-40, %0.2 P-mercaptoethanol) eklenerek (Şekil 3.6) tüpler alt-üst edilmiştir.

3-İzolasyon solüsyonu eklenen örnekler 65°C'de su banyosunda her 10 dakikada bir alt-üst edilmek şartıyla 1 saat boyunca bekletilmiştir (Şekil 3.6).

4-Sıcak su banyosundan çıkarılan örneklerin üzerine 1000 µl kloroform/ izoamil alkol (24:1) eklenip 12000 rpm devirde +4°C'de 10 dakika santrifüj edilmiştir.

5-Tüplerin üzerinde oluşan süpernatant farklı tüplere aktarılıp tekrar 1000 µl kloroform/ izoamil alkol (24:1) eklenerek alt-üst edilip 12000 rpm devirde, +4°C’ de 10 dakika santrifüj edilmiştir.

6-Tekrar oluşan süpernatant farklı tüplere aktarılmış ve -20°C’de muhafaza edilen 1000 µl propanol eklenerek -20°C’de 45 dakika boyunca bekletilmiştir.

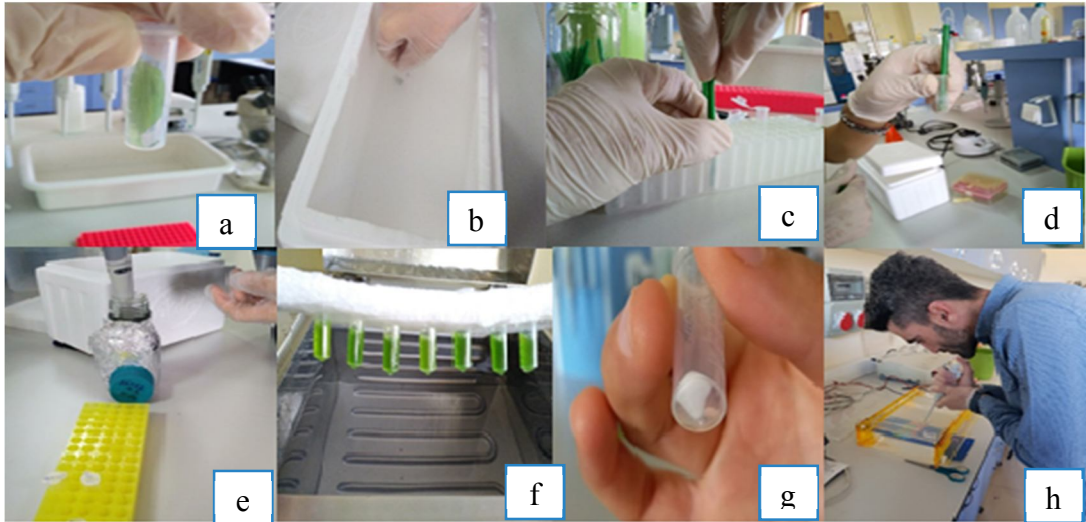
7- -20°C’den çıkarılan örnekler alt-üst etme işleminden sonra 12000 rpm devirde +4°C’de 10 dk santrifüj edilmiş olup pellet oluşumu sağlanmıştır (Şekil 3.6).

8-Oluşan pelletlerin üzerindeki sıvı uzaklaştırılarak 500 µl %70’lik etanol eklenip 13000 rpm devirde 2 dk santrifüj edilmiştir. Kirlilik görülen pelletlerde bu işlem iki defa tekrarlanmıştır.

9-Etenol uzaklaştırılarak pelletler 200 µl ultra saf suda çözündürülmüştür. Böylece izolasyon aşaması tamamlanmış olup PCR çalışmalarına kadar -20°C’de muhafaza edilmiştir.

10-İzolasyon sonucu elde edilen DNA’lar %1’lik agaroz jelde koşturularak DNA’ların ‘var’ yada ‘yok’ oldukları belirlenmiştir. DNA görüntüsü çıkmayan genotipler izolasyon işlemine tekrar tabi tutulmuştur (Şekil 3.6).

11-Elde edilen DNA’ların izolasyon saflıkları Nanodrop spektrofotometre (Thermo Nanadrop 2000 Spektrofotometre) ile belirlenmiştir. PCR çalışmaları için DNA konsantrasyonları 10 ng/µl olacak miktarda seyreltilmiştir.



Şekil 3.6. Ceviz genotiplerinin DNA izolasyonuna ait görseller (a-Yaprak örneklerinin tüplere yerleştirilmesi b- Tüplerin sıvı azota daldırılması c- Yaprakların ezilmesi d- Yaprakların ezilmiş görünümü e- Buffer eklenmesi f- Sıcak su banyosundan görünüm g- Pellet oluşumu h- %1 agaroz jel yükleme aşaması)

3.2.3.3. Genotiplerin DNA markörleri ile taranması

Araştırmada ceviz genotipleri arasındaki genetik farklılıkları belirlemek amacıyla 12 adet ISSR primeri kullanılmıştır (Çizelge 3.2). Bu çalışmada ISSR analizleri Zietkiewicz ve ark.'nın (1994) belirttiği yöntemle yapılmıştır.

Çizelge 3.2. PCR’de kullanılan ISSR primerleri ve nükleotid dizilimleri

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

3.2.3.4. ISSR analizleri

Araştırma kapsamında ana çeşit (Pedro) ile ceviz genotipleri arasındaki genetik farklılıkları belirlemek için, Zietkiewicz ve ark.'nın (1994) geliştirdiği, Bardak ve Bölek (2012) tarafından modifiye edilen ISSR analizleri yöntemine göre yapılmıştır. Yapılacak olan ISSR analizleri için kullanılacak kimyasalları ve PCR döngüsüne ait bağlanma sıcaklıkları ile süreleri aşağıda belirtildiği şekilde uygulanmıştır.

Kullanılan kimyasallar

2µl 10x PCR solüsyonu

1.5 µl MgCl₂

1µl dNTP (5mM) (Vivantis)

1µl ISSR primeri (10 pmol)

1.5 µl DNA Taq polimeraz

1 µl genomik DNA

12 µl dH₂O

ISSR PCR sıcaklık döngüleri

94°C 4 dk → 1 döngü

94°C 1 dk
50°C 1 dk
72°C 1 dk

} 35 döngü

72°C 10 dk → 1 döngü

4°C ∞ dk → 1 döngü

3.2.3.5. Genotiplere ait jel görüntülerinin elde edilmesi

Yapılan çalışmada ceviz genotiplerine ait jel görüntülerinin elde edilmesi için %3'lük agaroz jel hazırlanmış ve DNA'lar 1 X TBE tampon çözeltisi içerisinde 160 voltaj elektrik akımında 2 saat boyunca koşturulmuştur. Koşturulma işleminden sonra jel 15 dk etidyum bromür (1 litre saf su + 300µl etidyum bromür) ile muamele edilmiştir. Boyanan DNA bantları UV (ultraviyole) ışık altında görüntülenmiştir.

3.2.3.6. DNA bantlarının skorlanması

Çalışma kapsamında 91 adet ceviz genotipi üzerinde yapılan PCR analiz sonuçlarına göre ISSR okuma aralığı 200 ile 1000 baz çifti arasında olduğu tespit edilmiştir. Yapılan skorelama sonucunda DNA bantları ceviz genotipleri ile ana çeşit arasında mukayese edilerek aynı uzunlukta bulunan bantlar '1' olarak değerlendirilirken farklı uzunluklardaki bantlar '0' olarak değerlendirilmiştir (Bardak ve Bölek, 2012).

3.2.3.7. Veri analizi

Çalışmada kullanılan primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri skorelama sonucunda elde edilen verilere göre Excel'de hesaplanmıştır (Laborda ve ark., 2005). Elde edilen polimorfik bantların '1' ve '0' allel toplamaları yapıp her bandın ayrı ayrı allel frekansları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Buradaki f_i , i bandının frekansını belirtmektedir.

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

Araştırmada ceviz genotipleri arasındaki benzerlik katsayısını belirlemek amacıyla Nei (1972) indeksi POPGENE 3.2 paket programında hesaplanmıştır. Genotiplere ait dendogram ‘Unwieghted Pair Group of Aritmetic Means’ (UPGMA) yöntemine göre NTSYSpc v. 2.02 programı (Rohlf, 1998) kullanılarak Dice indeksine (Dice, 1945) göre oluşturulmuştur.

Ceviz genotiplerine ait kümeleme analizi Structure 2.3.4 paket programı kullanılarak yapılmıştır. İdeal grup sayısını belirlemek için her bir K değeri 10 bağımsız simülasyon ile 1’den 10’a kadar çalıştırılmıştır. Permütasyon modülü ise 10,000 ile 100,000 aralığında seçilmiş ve grup sayısını belirleyen Delta K değeri her bir K değeri için 5 tekrar yapılarak hesaplanmıştır. Analiz sonuçları zip dosyasında arşivlenmiş ve bu dosya “structure harvester” web sayfasına yüklenerek ideal ΔK değeri bulunmuştur (<http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışma 2017-2018 yılları arasında, metotta belirtilen yönteme göre yürütülmüştür. Araştırmada materyal olarak kullanılan tohumlar 2017 yılında çimlendirilmiş ve çimlenen tohumlar arasından rastgele seçilen 95 genotip üzerinde fenolojik gözlemler alınırken, moleküler çalışmalar 90 genotip üzerinden yürütülmüştür.

Araştırmada kullanılan 95 genotipe ait fenolojik bulgular ve 90 genotip üzerinde yürütülen moleküler seviyedeki çalışmalara ait veriler tezde sunulmuştur (Çizelge 4.1; Şekil 4.4; Şekil 4.5; Şekil 4.6).

4.1. Genotiplere Ait Fenolojik Gözlemler

4.1.1. Tomurcuk patlama-ilk yapraklanma dönemi

Ceviz genotipleri üzerinde elde edilen fenolojik gözlemler sonucunda tomurcuk patlama dönemi ilk olarak (8 Mart) "Genotip 65"te gözlemlenmiş olup, ana bitkide ise (Pedro) tomurcuk patlama döneminin 21 Mart tarihinde görüldüğü tespit edilmiştir. En geç tomurcuk patlamanın, ana bitkiden 39 gün sonra (29 Nisan) Genotip 24 ve Genotip 52'de gerçekleştiği gözlemlenmiştir (Çizelge 4.1).

Araştırmada kullanılan ceviz genotiplerinin tomurcuk patlama dönemleri 8 Mart ile 29 Nisan tarihleri arasında farklılık gösterdiği gözlemlenmiştir. Elde edilen veriler sonucunda çalışmada kullanılan 95 genotipten 21 genotipin (%22.11) ana bitki ile "aynı" dönemde, 3 genotipin (%3.16) ana bitkiden daha "önce" ve 71 genotipin (%74.73) ise ana bitkiye göre daha "geç" tomurcuk patlama periyoduna sahip oldukları belirlenmiştir. Genotiplere ait tomurcuk patlama periyodunun 53 gün boyunca devam ettiği kayıt altına alınmıştır. Ceviz genotiplerine ait tomurcuk patlama dönemleri incelendiğinde büyük bir kısmının (%77.89) ana bitkiye göre daha farklı dönemlerde tomurcuk patlamanın meydana gelmesi fenolojik çeşitlilik bakımından dikkat çekici bir durum olarak tespit edilmiştir.

Ünal (2011) tarafından Niksar ekolojik koşullarında bazı yerli ve yabancı çeşitleri üzerinde yapılan çalışmada Pedro çeşidine ait tomurcuk patlamanın 12-16 Nisan tarihinde gerçekleşirken, bu çalışmada ise Pedro çeşidinden elde edilen genotiplerin 8 Mart ile 29 Nisan tarihleri arasında tomurcuk patlattığı tespit edilmiştir.

Ayrıca 95 ceviz genotipine ait tomurcuk patlama döneminin “Pedro” ceviz çeşidi ile karşılaştırılarak sınıflandırılması yapılmıştır. Yapılan sınıflandırmaya göre genotiplerin; %22’si “Çok yakın”, %22’si “Yakın”, %19’u “Orta”, %17’si “Uzak” ve %20’si “Çok uzak” kategoride olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1; Şekil 4.1).

İlk yapraklanma dönemi ceviz meyve türleri içerisinde en önemli fenolojik özelliklerdendir. Bu dönemde ana bitkiye ait ilk yapraklanma döneminin 29 Mart’ta başladığı gözlemlenirken, çalışmada kullanılan ceviz genotipleri içerisinde ilk yapraklanmanın 19 Mart tarihinde “Genotip 65”te görüldüğü, en geç yapraklanmanın ise 9 Mayıs’ta “Genotip 52” de görüldüğü tespit edilmiştir. Fenolojik gözlemler sonucunda ceviz genotiplerine ait ilk yapraklanma dönemlerinin 59 gün gibi uzun bir zaman periyodu içerisinde yayılım gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.1).

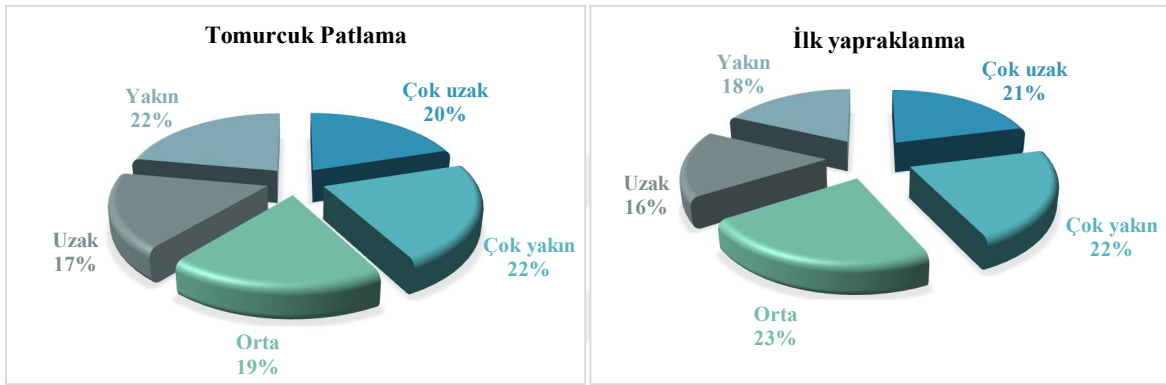
İran’da 2010-2011 yıllarında Mahmodi ve ark. (2016) tarafından yürütülen bir araştırmada 5 üstün nitelikli ceviz genotipinin Chandler, Hartley, Pedro, Ronde de Montignac ve Franquette gibi standart çeşitler ile mukayesesi yapılmıştır. Araştırma sonucunda, Pedro çeşidinin 7 Nisan tarihinde yapraklandığı bildirilmiştir. Bu araştırmada ise Pedro çeşidinin yapraklanma döneminin 29 Mart tarihinde gerçekleştiği belirlenmiştir. İki çalışma arasındaki tarihsel farklılığın ekolojik şartlardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmada kullanılan 95 ceviz genotipine ait ilk yapraklanma periyotları içerisinde 21 genotipin (%22.11) ana bitki ile “aynı”, 1 genotipin (%1.05) ana bitkiden “önce” ve 73 genotipin (%76.84) ise ana bitkiye kıyasla daha “geç” yapraklanmaya başladığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Elde edilen fenolojik gözlemler sonucunda 74 ceviz genotipinin ana bitkiden daha farklı zaman periyodu içerisinde ilk yapraklanmaya başladığı ve %77.89 gibi fenolojik farklılık olduğu belirlenmiştir.

Ayrıca çalışmada kullanılan ceviz genotiplerinin ilk yapraklanma dönemleri “Pedro” ceviz çeşidi ile karşılaştırılarak sınıflandırılmıştır. Yapılan sınıflandırmaya göre genotiplerin; %22’si “Çok yakın”, %18’i “Yakın”, %23’ü “Orta”, %16’sı “Uzak” ve %21’i ise “Çok uzak” kategoride oldukları belirtilmektedir (Çizelge 4.1; Şekil 4.1).

Araştırmada kullanılan ceviz genotiplerine ait fenolojik bulgular sonucunda genotipler arasındaki tomurcuk patlama ve ilk yapraklanma dönemleri incelendiğinde çok önemli fenolojik farklılıklar olduğu görülmektedir.

Sütyemez ve Kaşka (2002) tarafından 1998-2001 yılları arasında Kahramanmaraş ekolojik koşullarındaki 32 yerli ve yabancı ceviz genotipleri üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda, ilk yapraklanmanın en erken 8 Mart tarihinde Serr, Şen-1, KR-2 ve Maraş-10 genotiplerinde gerçekleştiği, en geç yapraklanmanın ise 24 Nisan tarihinde Franquette çeşidinde gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Araştırma içerisindeki “Pedro” ceviz çeşidine ait ilk yapraklanmanın ise 26 Mart tarihinde başladığı belirtilmiştir. Bu çalışmada ise Pedro ceviz çeşidinin ilk yapraklanma tarihi 29 Mart olarak alınmıştır (Çizelge 4.1). Yapılan iki çalışmadaki fenolojik verilere bakıldığında çalışmaların birbiri ile uyum sağladığı görülmektedir.



Şekil 4.1. Ceviz genotiplerinin tomurcuk patlama- ilk yapraklanma başlangıç dönemlerinin Pedro'ya göre (%) sınıflandırılması

4.1.2. Dişi çiçek durumu

Pedro çeşidine ait genotiplerden alınan fenolojik gözlemlere göre dişi çiçek oluşumu “Var” veya “Yok” olarak değerlendirilmiş olup, Genotip 5, Genotip 7, Genotip 12, Genotip 14, Genotip 17, Genotip 23, Genotip 24, Genotip 35, Genotip 42, Genotip 46, Genotip 47, Genotip 55, Genotip 56, Genotip 57, Genotip 71 ve Genotip 83’de “Var” olarak tespit edilmiştir. Diğer genotiplerde ise dişi çiçeğe rastlanmamıştır (Çizelge 4.1).

4.1.3. Yaprak sararma-döküm dönemi

Araştırmada kullanılan ceviz genotiplerine ait fenolojik bulgulardaki yaprak sararma başlangıç tarihinin en erken 28 Ekim’de 54 nolu genotipte, en geç ise 9 Aralık’ta 77 nolu genotipte görüldüğü belirtilmiş olup ana bitkiye ait yaprak sararma başlangıç tarihinin 7 Kasım olduğu belirtilmiştir. Ceviz genotiplerine ait yaprak sararma başlangıç periyodunun 43 gün boyunca devam ettiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

Çalışma kapsamında kullanılan ceviz genotiplerine ve ana (Pedro) bitkiye ait yaprak sararma tarihleri kıyaslandığında 95 genotipten “68 (%71.58)” genotipin “aynı”, “12 (%12.64)” genotipin “önce” ve “15 (%15.78)” genotipin ise yaprak sararma döneminin ana bitkiye göre daha “geç” başladığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

Ayrıca 95 ceviz genotipine ait yaprak sararma tarihleri “Pedro” ceviz çeşidine göre sınıflandırılmıştır. Yapılan sınıflandırmaya göre genotiplerin; %72’si, “Çok yakın”, %21’i, “Yakın”, %4’ü, “Orta”, %1’i, “Uzak” ve %2’sinin ise “Çok uzak” olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1; Şekil 4.2).

Elde edilen bulgular sonucunda, çalışmada kullanılan ceviz genotiplerinin yaprak sararma dönemleri ana bitki ile mukayese edildiğinde %28.42 gibi fenolojik çeşitlilik olduğu gözlemlenmiştir.

Bu çalışmada kullanılan ceviz genotiplerine ait yaprak döküm periyodu en erken 6 Kasım’da 4 nolu genotipte gerçekleşirken en geç yaprak döküm ise 30 Aralık’ta 77 nolu genotipte görülmüştür. Yaprak döküm tarihi ana bitkide ise 24 Kasım’da gerçekleştiği kayıt altına alınmıştır (Çizelge 4.1).

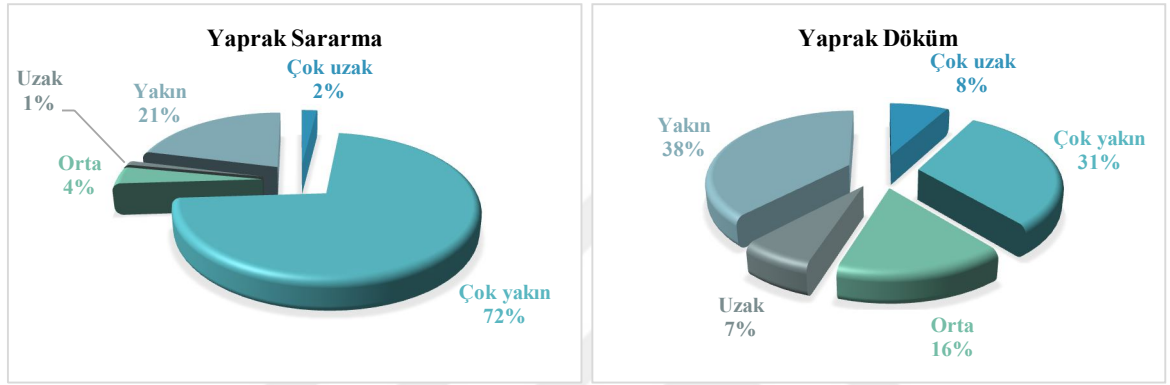
Ünal (2011) tarafından Niksar (Tokat)’da 12 yerli ve yabancı çeşit üzerinde yapılan adaptasyon çalışmasında Pedro çeşidine ait yaprak döküm dönemi 3-10 Aralık tarihinde gerçekleşirken, bu çalışmada ise Pedro çeşidinden elde edilen genotiplerin yaprak döküm dönemi 6 Kasım ile 30 Aralık tarihleri arasında gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Çalışmada kullanılan ceviz genotipleri ile ana bitkiye ait yaprak döküm tarihleri karşılaştırıldığında “29 (%30.53)” genotipin döküm tarihi ana bitki ile “aynı”, “4 (%4.21)” genotipin “önce” ve “62 (%65.26)” genotipin ise ana bitkiden daha geç yapraklarını döktüğü gözlemlenmiştir. Bu çalışmada üzerinde çalışılan ceviz genotiplerine ait yaprak döküm periyodunun 55 gün gibi geniş bir zaman diliminde tamamlandığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

Ayrıca çalışmada kullanılan ceviz genotipleri ile “Pedro” ceviz çeşidine ait yaprak döküm tarihleri arasında kıyaslama yapılarak sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırmaya göre genotiplerin %31’i “Çok yakın”, %38’i “Yakın”, %16’sı “Orta”, %7’si “Uzak” ve %8’i ise “Çok uzak” olmak üzere 5 ayrı grupta sınıflandırılmıştır (Çizelge 4.1; Şekil 4.2).

Fenolojik gözlemler sonucu 95 ceviz genotipinden alınan yaprak döküm tarihleri ile ana bitkiye ait yaprak döküm tarihi arasında önemli seviyede (%69.47) farklılık olduğu tespit edilmiştir.

Sütyemez ve Kaşka (2002) tarafından Kahramanmaraş ekolojik koşullarında yapılan çalışma sonucunda, 32 adet yerli ve yabancı ceviz çeşitlerine ait yaprak döküm periyotları gözlemlenmiştir. Ceviz çeşitleri arasında en erken yaprak dökümün 23 Kasım'da "Van-6" ve "Kaman-4" çeşitlerinde görüldüğü tespit edilmiş olup en geç yaprak dökümün ise Payne, Chandler, Pedro çeşitlerinde görüldüğü bildirilmiştir. Yürüttüğümüz bu çalışmada Pedro çeşidine ait genotiplerde yaprak dökümünün ise 6 Kasım ile 30 Aralık tarihleri arasında gerçekleştiği belirlenmiştir.



Şekil 4.2. Ceviz genotiplerinin yaprak sararma-döküm dönemlerinin Pedro'ya göre (%) sınıflandırılması

Çizelge 4.1. Ceviz genotiplerinin bazı fenolojik özellikleri ve sınıflandırılması (Pedro'ya göre)

Genotipler	Tomurcuk patlama	Pedro'dan (gün olarak)	Sınıflandırma	İlk yapraklanma	Pedro'dan (gün olarak)	Sınıflandırma	Dişi çiçek durumu	Yaprak sararma	Pedro'dan (gün olarak)	Sınıflandırma	Yaprak döküm	Pedro'dan (gün olarak)	Sınıflandırma
Genotip 1	7/04	+17	Uzak	15/04	+17	Uzak	Yok	4/11	-3	Çok yakın	3/12	+9	Yakın
Genotip 2	9/04	+19	Uzak	16/04	+18	Uzak	Yok	5/11	-2	Çok yakın	11/12	+17	Uzak
Genotip 3	23/04	+33	Çok uzak	30/04	+32	Çok uzak	Yok	31/10	-7	Yakın	4/12	+10	Orta
Genotip 4	30/03	+9	Yakın	8/04	+10	Orta	Yok	2/11	-5	Yakın	6/11	-18	Uzak
Genotip 5	24/03	+3	Çok yakın	1/04	+3	Çok yakın	Var	3/11	-4	Çok yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 6	29/03	+8	Yakın	6/04	+8	Yakın	Yok	2/11	-5	Yakın	9/12	-15	Uzak
Genotip 7	9/04	+19	Uzak	16/04	+18	Uzak	Var	10/11	+3	Çok yakın	3/12	+9	Yakın
Genotip 8	9/04	+19	Uzak	21/04	+23	Çok uzak	Yok	30/11	-8	Yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 9	26/03	+5	Yakın	8/04	+10	Orta	Yok	4/11	-3	Çok yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 10	15/03	-6	Yakın	25/03	-4	Çok yakın	Yok	5/11	-2	Çok yakın	3/12	+9	Yakın
Genotip 11	18/04	+28	Çok uzak	30/04	+32	Çok uzak	Yok	3/11	-4	Çok yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 12	14/04	+24	Çok uzak	19/04	+21	Çok uzak	Var	5/11	-2	Çok yakın	3/12	+9	Yakın
Genotip 13	12/04	+22	Çok uzak	19/04	+21	Çok uzak	Yok	5/11	-2	Çok yakın	3/12	+9	Yakın
Genotip 14	1/04	+11	Orta	7/04	+9	Yakın	Var	5/11	-2	Çok yakın	3/12	+9	Yakın
Genotip 15	10/04	+20	Çok uzak	18/04	+20	Çok uzak	Yok	13/11	+6	Yakın	3/12	+9	Yakın
Genotip 16	19/04	-2	Çok yakın	25/03	-4	Çok yakın	Yok	9/11	+2	Çok yakın	3/12	+9	Yakın
Genotip 17	7/04	+17	Uzak	16/04	+18	Uzak	Var	9/11	+2	Çok yakın	3/12	+9	Yakın
Genotip 18	6/04	+16	Uzak	15/04	+17	Uzak	Yok	5/11	-2	Çok yakın	3/12	+9	Yakın
Genotip 19	6/04	+16	Uzak	18/04	+20	Çok uzak	Yok	30/10	-8	Yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 20	13/03	-8	Yakın	17/04	+19	Uzak	Yok	4/11	-3	Çok yakın	4/12	+10	Orta
Genotip 21	31/03	+10	Orta	7/04	+9	Yakın	Yok	4/11	-3	Çok yakın	3/12	+9	Yakın
Genotip 22	4/04	+14	Orta	14/04	+16	Uzak	Yok	3/11	-4	Çok yakın	9/11	-15	Uzak
Genotip 23	4/04	+14	Orta	12/04	+14	Orta	Var	5/11	-2	Çok yakın	2/12	+8	Yakın

Çizelge 4.1.'in devamı

Genotipler	Tomurcuk patlama	Pedro'dan (gün olarak)	Sınıflandırma	İlk yapraklanma	Pedro'dan (gün olarak)	Sınıflandırma	Dişi çiçek durumu	Yaprak sararma	Pedro'dan (gün olarak)	Sınıflandırma	Yaprak döküm	Pedro'dan (gün olarak)	Sınıflandırma
Genotip 24	29/04	+39	Çok uzak	6/05	+38	Çok uzak	Var	3/11	-4	Çok yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 25	23/04	+33	Çok uzak	30/04	+32	Çok uzak	Yok	3/11	-4	Çok yakın	20/11	-4	Çok yakın
Genotip 26	2/04	+12	Orta	11/04	+13	Orta	Yok	11/11	+4	Çok yakın	2/12	+8	Yakın
Genotip 27	4/04	+14	Orta	12/04	+14	Orta	Yok	30/11	+23	Çok uzak	14/12	+20	Çok uzak
Genotip 28	28/03	+7	Yakın	6/04	+8	Yakın	Yok	5/11	-2	Çok yakın	19/11	-5	Yakın
Genotip 29	6/04	+16	Uzak	14/04	+16	Uzak	Yok	9/11	+2	Çok yakın	18/12	+24	Çok uzak
Genotip 30	30/03	+9	Yakın	7/04	+9	Yakın	Yok	5/11	-2	Çok yakın	21/11	-3	Çok yakın
Genotip 31	23/03	+2	Çok yakın	1/04	+3	Çok yakın	Yok	21/11	+14	Orta	3/12	+9	Yakın
Genotip 32	26/03	+5	Yakın	1/04	+3	Çok yakın	Yok	4/11	-3	Çok yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 33	6/04	+16	Uzak	15/04	+17	Uzak	Yok	2/11	-5	Yakın	23/11	-1	Çok yakın
Genotip 34	10/04	+20	Çok uzak	15/04	+17	Uzak	Yok	2/11	-5	Yakın	24/11	0	Çok yakın
Genotip 35	30/03	+9	Yakın	7/04	+9	Yakın	Var	12/11	+5	Yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 36	20/03	-1	Çok yakın	28/03	-1	Çok yakın	Yok	5/11	-2	Çok yakın	27/11	+3	Çok yakın
Genotip 37	19/03	-2	Çok yakın	26/03	-3	Çok yakın	Yok	4/11	-3	Çok yakın	29/11	+5	Yakın
Genotip 38	3/04	+13	Orta	12/04	+14	Orta	Yok	11/11	+4	Çok yakın	23/11	-1	Çok yakın
Genotip 39	28/03	+7	Yakın	6/04	+8	Yakın	Yok	2/11	-5	Yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 40	25/03	+4	Çok yakın	1/04	+3	Çok yakın	Yok	3/11	-4	Çok yakın	29/11	+5	Yakın
Genotip 41	20/03	-1	Çok yakın	28/03	-1	Çok yakın	Yok	4/11	-3	Çok yakın	30/11	+6	Yakın
Genotip 42	20/03	-1	Çok yakın	28/03	-1	Çok yakın	Var	6/11	-1	Çok yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 43	26/03	+5	Yakın	1/04	+3	Çok yakın	Yok	5/11	-2	Çok yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 44	23/03	+2	Çok yakın	31/03	+2	Çok yakın	Yok	9/11	+2	Çok yakın	3/12	+9	Yakın
Genotip 45	12/04	+22	Çok uzak	26/04	+28	Çok uzak	Yok	6/11	-1	Çok yakın	3/12	+9	Yakın
Genotip 46	1/04	+11	Orta	9/04	+11	Orta	Var	5/11	-2	Çok yakın	29/11	+5	Yakın
Genotip 47	28/03	+7	Yakın	6/04	+8	Yakın	Var	30/10	-8	Yakın	3/12	+9	Yakın
Genotip 48	31/03	+10	Orta	8/04	+10	Orta	Yok	5/11	-2	Çok yakın	28/11	+4	Çok yakın

Çizelge 4.1.'in devamı

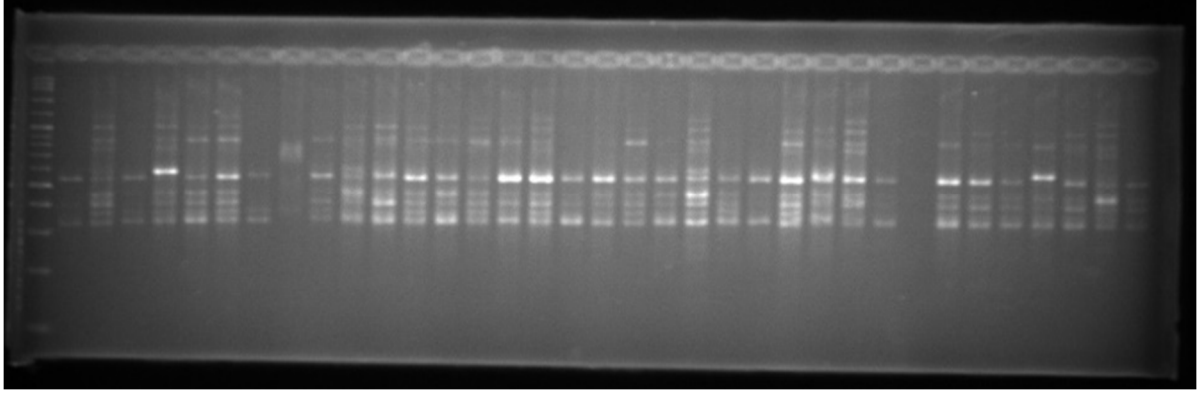
Genotipler	Tomurcuk patlama	Pedro'dan (gün olarak)	Sınıflandırma	İlk yapraklanma	Pedro'dan (gün olarak)	Sınıflandırma	Dişi çiçek durumu	Yaprak sararma	Pedro'dan (gün olarak)	Sınıflandırma	Yaprak döküm	Pedro'dan (gün olarak)	Sınıflandırma
Genotip 49	6/04	+16	Uzak	14/04	+16	Uzak	Yok	19/11	+12	Orta	3/12	+9	Yakın
Genotip 50	30/03	+9	Yakın	8/04	+10	Orta	Yok	29/10	-9	Yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 51	20/03	-1	Çok yakın	28/04	-1	Çok yakın	Yok	7/11	0	Çok yakın	6/12	+12	Orta
Genotip 52	29/04	+39	Çok uzak	9/05	+41	Çok uzak	Yok	8/11	+1	Çok yakın	3/12	+9	Yakın
Genotip 53	21/03	0	Çok yakın	29/03	0	Çok yakın	Yok	31/10	-7	Yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 54	28/03	+7	Yakın	6/04	+8	Yakın	Yok	28/10	-10	Orta	13/12	+19	Uzak
Genotip 55	28/03	+7	Yakın	8/04	+10	Orta	Var	6/11	-1	Çok yakın	17/12	+23	Çok uzak
Genotip 56	28/03	+7	Yakın	5/04	+7	Yakın	Var	8/11	+1	Çok yakın	21/11	-3	Çok yakın
Genotip 57	31/03	+10	Orta	7/04	+9	Yakın	Var	7/11	0	Çok yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 58	1/04	+11	Orta	9/04	+11	Orta	Yok	7/11	0	Çok yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 59	1/04	+11	Orta	7/04	+9	Yakın	Yok	5/11	-2	Çok yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 60	21/03	0	Çok yakın	1/04	+3	Çok yakın	Yok	8/11	+1	Çok yakın	3/12	+9	Yakın
Genotip 61	23/03	+2	Çok yakın	1/04	+3	Çok yakın	Yok	3/11	-4	Çok yakın	8/12	+14	Orta
Genotip 62	17/03	-4	Çok yakın	26/03	-3	Çok yakın	Yok	7/11	0	Çok yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 63	28/03	+7	Yakın	6/04	+8	Yakın	Yok	23/11	+16	Uzak	18/12	+24	Çok uzak
Genotip 64	6/04	+16	Uzak	16/04	+18	Uzak	Yok	13/11	+6	Yakın	20/12	+26	Çok uzak
Genotip 65	8/03	-13	Orta	19/03	-10	Orta	Yok	5/11	-2	Çok yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 66	28/03	+7	Yakın	6/04	+8	Yakın	Yok	6/11	-1	Çok yakın	1/12	+7	Yakın
Genotip 67	11/04	+21	Çok uzak	26/04	+28	Çok uzak	Yok	4/11	-3	Çok yakın	14/12	+20	Çok uzak
Genotip 68	5/04	+15	Uzak	14/04	+16	Uzak	Yok	6/11	-1	Çok yakın	2/12	+8	Yakın
Genotip 69	19/03	-2	Çok yakın	31/03	+2	Çok yakın	Yok	7/11	0	Çok yakın	2/12	+8	Yakın
Genotip 70	19/03	+29	Çok uzak	26/04	+28	Çok uzak	Yok	11/11	+4	Çok yakın	12/12	+18	Uzak
Genotip 71	19/03	-2	Çok yakın	4/04	+6	Yakın	Var	11/11	+4	Çok yakın	8/12	+14	Orta
Genotip 72	19/03	-2	Çok yakın	2/04	+4	Çok yakın	Yok	12/11	+5	Yakın	13/12	+19	Uzak
Genotip 73	19/03	-2	Çok yakın	4/04	+6	Yakın	Yok	8/11	+1	Çok yakın	1/12	+7	Yakın
Genotip 74	23/03	+2	Çok yakın	4/04	+6	Yakın	Yok	10/11	+3	Çok yakın	30/11	+6	Yakın

Çizelge 4.1.'in devamı

Genotipler	Tomurcuk patlama	Pedro'dan (gün olarak)	Sınıflandırma	İlk yapraklanma	Pedro'dan (gün olarak)	Sınıflandırma	Dişi çiçek durumu	Yaprak sararma	Pedro'dan (gün olarak)	Sınıflandırma	Yaprak döküm	Pedro'dan (gün olarak)	Sınıflandırma
Genotip 75	19/03	-2	Çok yakın	2/04	+4	Çok yakın	Yok	15/11	+8	Yakın	5/12	+11	Orta
Genotip 76	20/03	-1	Çok yakın	31/03	+2	Çok yakın	Yok	6/11	+1	Çok yakın	1/12	+7	Yakın
Genotip 77	1/04	+11	Orta	11/04	+13	Orta	Yok	9/12	+32	Çok uzak	30/12	+36	Çok uzak
Genotip 78	5/04	+15	Uzak	11/04	+13	Orta	Yok	11/11	+4	Çok yakın	2/12	+8	Yakın
Genotip 79	30/03	+9	Yakın	9/04	+11	Orta	Yok	8/11	+1	Çok yakın	4/12	+10	Orta
Genotip 80	8/04	+18	Uzak	16/04	+18	Uzak	Yok	13/11	+6	Yakın	18/12	+24	Çok uzak
Genotip 81	15/04	+25	Çok uzak	26/04	+28	Çok uzak	Yok	8/11	+1	Çok yakın	28/11	+4	Çok yakın
Genotip 82	28/03	+7	Yakın	8/04	+10	Orta	Yok	12/11	+5	Yakın	6/12	+12	Orta
Genotip 83	29/03	+8	Yakın	8/04	+10	Orta	Var	11/11	+4	Çok yakın	30/11	+6	Yakın
Genotip 84	14/04	+24	Çok uzak	23/04	+25	Çok uzak	Yok	21/11	+14	Orta	6/12	+12	Orta
Genotip 85	2/04	+12	Orta	12/04	+14	Orta	Yok	16/11	+9	Yakın	6/12	+12	Orta
Genotip 86	10/04	+20	Çok uzak	26/04	+28	Çok uzak	Yok	9/11	+2	Çok yakın	1/12	+7	Yakın
Genotip 87	3/04	+13	Orta	12/04	+14	Orta	Yok	8/11	+1	Çok yakın	3/12	+9	Yakın
Genotip 88	4/04	+14	Orta	11/04	+13	Orta	Yok	4/11	-3	Çok yakın	5/12	+11	Orta
Genotip 89	6/04	+16	Uzak	16/04	+18	Uzak	Yok	3/11	-4	Çok yakın	5/12	+11	Orta
Genotip 90	11/04	+21	Çok uzak	21/04	+23	Çok uzak	Yok	12/11	+5	Yakın	5/12	+11	Orta
Genotip 91	11/04	+21	Çok uzak	21/04	+23	Çok uzak	Yok	4/11	-3	Çok yakın	24/11	0	Çok yakın
Genotip 92	11/04	+21	Çok uzak	21/04	+23	Çok uzak	Yok	7/11	0	Çok yakın	5/12	+11	Orta
Genotip 93	5/04	+15	Uzak	12/04	-14	Orta	Yok	3/11	-4	Çok yakın	22/11	-2	Çok yakın
Genotip 94	3/04	+13	Orta	9/04	+11	Orta	Yok	6/11	-1	Çok yakın	6/12	+12	Orta
Genotip 95	20/04	+30	Çok uzak	26/04	+28	Çok uzak	Yok	5/11	-2	Çok yakın	3/12	+9	Yakın
Pedro	21/03	0	-	29/03	0	-		7/11	0	-	24/11	0	-

4.2. Genotipler Arasındaki Genetik Farklılığın Belirlenmesi

Araştırma kapsamında kullanılan ceviz genotipleri arasındaki varyasyonun belirlenmesinde ISSR markör tekniği kullanılmıştır. Çalışmada 12 adet ISSR primer kullanılmış olup ISSR 15'ten bant elde edilememiştir. Çalışmada kullanılan 11 primerden 43 adet bant elde edilmiş, bu bantların 41 tanesinde polimorfizm görülürken 2 bantın ise monomorfik olduğu kayıt altına alınmıştır. Kullanılan primerlere ait polimorfizm bilgi içeriği (PIC) %14 ile %91 değerleri arasında farklılık göstermiştir. Çalışmada kullanılan ISSR primerlerine ait polimorfizm oranının %95.3 olduğu belirlenmiştir. Araştırma sonucunda en fazla allel (8) üreten primerin ISSR 12 olduğu tespit edilerek, ortalama allel sayısı ise 4.5 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2).



Şekil 4.3. ISSR 12 primer kombinasyonlarına ait bantların görünümü

Potter ve ark. (2002)' ABD'nin Kaliforniya eyaleti Wolfskill araştırma bahçesinde bulunan 48 adet ceviz (*J. regia*) çeşidi üzerinde ISSR markör tekniği kullanarak çeşitler arasındaki genetik ilişkileri incelemişlerdir. Yapılan incelemede 8 adet ISSR primerinin 48 adet ceviz çeşidi üzerinde yapılan amplifikasyon sonucunda 54 bant elde edilmiş ve elde edilen bantlardan 31 tanesinde (%57) polimorfizm olduğunu belirlemişlerdir. Kullanılan her bir primere ait bant sayısı 5 ile 9 arasında değişkenlik gösterirken, polimorfik bant sayısında ise 1 ile 7 arasında değişim olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar ISSR primerlerinin ceviz çeşit ve genotipleri arasındaki genetik farklılıkların belirlenmesinde, RAPD tekniği ile mukayese edildiğinde, benzer maliyet olduğunu ancak ISSR tekniğinde daha fazla polimorfik bant elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Pollegioni ve ark. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, İtalya'nın Kuzey (Bleggiana ve Feltrina) ve Güney bölgesinden (Malizia ve Sorrento) alınan İtalyan ceviz çeşitleri üzerinde ISSR markör tekniğini kullanmışlardır. Araştırma sonucunda 9 farklı

ISSR primerinden toplam 115 polimorfik bant elde ettiklerini ve elde edilen bantların polimorfizm oranının %65.2 olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca benzerlik matrisinde Sorrento ve Malizia çeşitleri arasında yüksek oranda genetik benzerlik olduğunu, fakat Kuzey ve Güney çeşitleri Bleggiana ve Feltrina arasında açık bir farklılaşma olduğunu belirtmişlerdir.

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

Sayı	Primer adı	Baz dizilimi	Allel sayısı	PIC
1	ISSR1	CACACACACACAA	2	0,60
2	ISSR3	CACACACACACAGG	3	0,91
3	ISSR5	CACACACACACAG	3	0,16
4	ISSR6	CACACACACACACAGT	6	0,14
5	ISSR7	ACACACACACACACACCG	5	0,78
6	ISSR8	ACACACACACACACACACC	4	0,72
7	ISSR9	ACACACACACACACACTG	4	0,42
8	ISSR12	GAGAGAGAGAGAGAGAGAC	8	0,28
9	ISSR13	AGAGAGAGAGAGAGAGGC	6	0,75

4.3. Genotipler Arasında Genetik Farklılığın Değerlendirilmesi

Bu çalışmada yürütülen ceviz genotiplerine ait genetik varyasyon, Nei'ye (1972) göre hesaplanmıştır. Araştırma kapsamında Pedro çeşidine ait genotiplerde genetik benzerliğin en yakın (0.05) Genotip 8 ile Genotip 2 arasında olduğu, en uzak (0.997) genetik benzerliğin ise Genotip 29 ile Genotip 82 ve Genotip 29 ile Genotip 86 arasında olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma kapsamında genotipler ile ana bitki arasındaki genetik farklılıklar incelendiğinde ana bitkiye en yakın (0.158) Genotip 49 ile Genotip 75 olduğu belirlenmiş olup, genetik farklılığın en uzak olduğu genotiplerin ise Genotip 4 (0.957), Genotip 35 (0.939)'te görüldüğü tespit edilmiştir.

Laboratuvar koşullarında Doğan'ın (2006) yürüttüğü bir çalışmada Türk ve yabancı kökenli 62 ceviz çeşidi arasındaki genetik benzerliği belirlemek amacı ile ISSR ve RAPD markör tekniklerine ait 25'er primer tüm ceviz çeşitlerine uygulanmıştır. Kullanılan ISSR primerlerinden 129'u polimorfik olmak üzere 181 adet bant elde edilmiştir. RAPD primerlerinden ise toplam 211 bant elde edilirken, 144 tanesinin polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Markörlere ait genetik benzerlik katsayısının ISSR tekniğinde 0.62 ile 0.94

olduğu belirlenirken, RAPD tekniğinde ise bu değerin 0.63 ile 0.95 arasında yayılım gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca yapılan çalışma sonucunda ISSR ve RAPD markör tekniklerinin çeşitler arasındaki genetik benzerliği belirlemede benzer sonuçlar vermesine rağmen ISSR tekniğinin RAPD tekniğine göre tekrarlanabilirlik açısından daha üstün özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Doğan'ın yürüttüğü çalışmaya kıyasla yapmış olduğumuz çalışmada genotipler ile ana bitki arasında daha geniş bir genetik varyasyon olduğu gözlenmiştir.

4.4. Genotiplere ait Dendogram

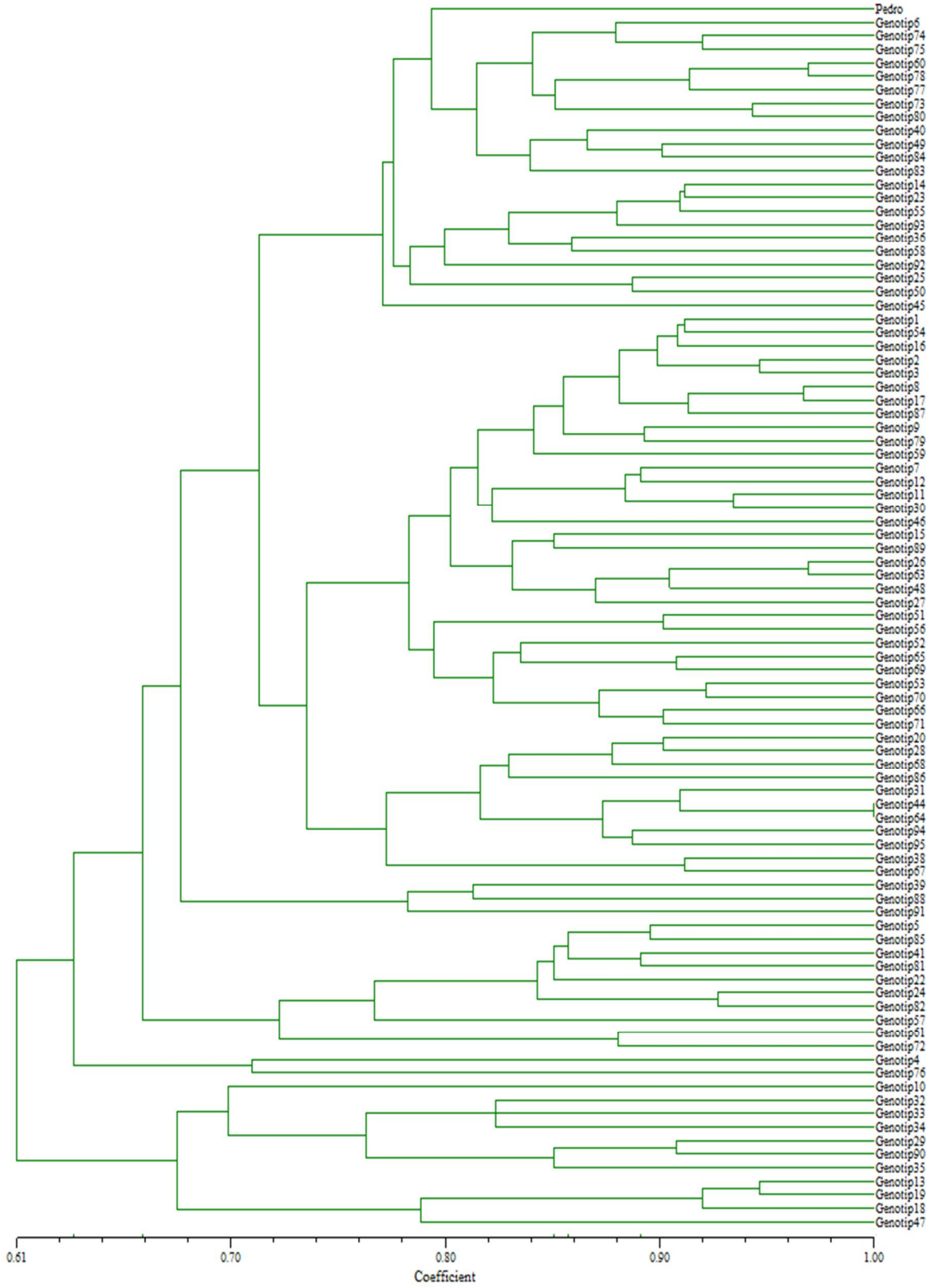
Araştırma kapsamında kullanılan ceviz genotiplerine ait dendogram, 9 adet ISSR markörleri ile tarandıktan sonra elde edilen veriler UPGMA (Unweighed Pair Group Method of Aritmetic Averages) yöntemine göre NTSYSpC ver. 2.2 programında hesaplanmıştır. (Şekil 4.4). Elde edilen dendogramın 2 ana gruptan oluştuğu tespit edilmiştir (Şekil 4.4).

Yapılan araştırmada Pedro çeşidi ile Genotip 6, Genotip 40, Genotip 49, Genotip 60, Genotip 73, Genotip 74, Genotip 75, Genotip 77, Genotip 78, Genotip 80, Genotip 83 ve Genotip 84'ün genetik olarak aynı grupta kümelendiği tespit edilmiştir. Ayrıca Genotip 40, Genotip 60, Genotip 73, Genotip 74 ve Genotip 75'in ana çeşide fenolojik ve genetik olarak çok yakın benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Genotip 14, Genotip 23, Genotip 25, Genotip 36, Genotip 45, Genotip 50, Genotip 55, Genotip 58, Genotip 92 ve Genotip 93'ün ana bitkiye yakın benzerlik gösterdiği belirlenmiş olup, Genotip 50 ve Genotip 55'in hem fenolojik hem de genetik açıdan yakın benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Genetik olarak ana bitkiye Genotip 10, Genotip 13 ve Genotip 18, Genotip 19, Genotip 29, Genotip 32, Genotip 33, Genotip 34, Genotip 35, Genotip 47 ve Genotip 90'ın çok uzak olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Genotip 13, Genotip 34 ve Genotip 90'ın, fenolojik olarakta çok uzak olduğu belirlenmiştir. Ana bitkiye genetik olarak Genotip 4, Genotip 5, Genotip 22, Genotip 24, Genotip 39, Genotip 41, Genotip 57, Genotip 61, Genotip 72, Genotip 76, Genotip 81, Genotip 82, Genotip 85, Genotip 88 ve Genotip 91' uzak olduğu tespit edilmiştir. Dendogramda bulunan 43 adet ceviz genotipinin orta kategoride yer aldığı belirlenmiş olup, bu kategoride yer alan ceviz genotipleri arasından 9 genotipin (Genotip 26, Genotip 27, Genotip 38, Genotip 46, Genotip 48, Genotip 59,

Genotip 65, Genotip 87, Genotip 94) ise ana bitkiye (Pedro) fenolojik ve genetik olarak orta derecede benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

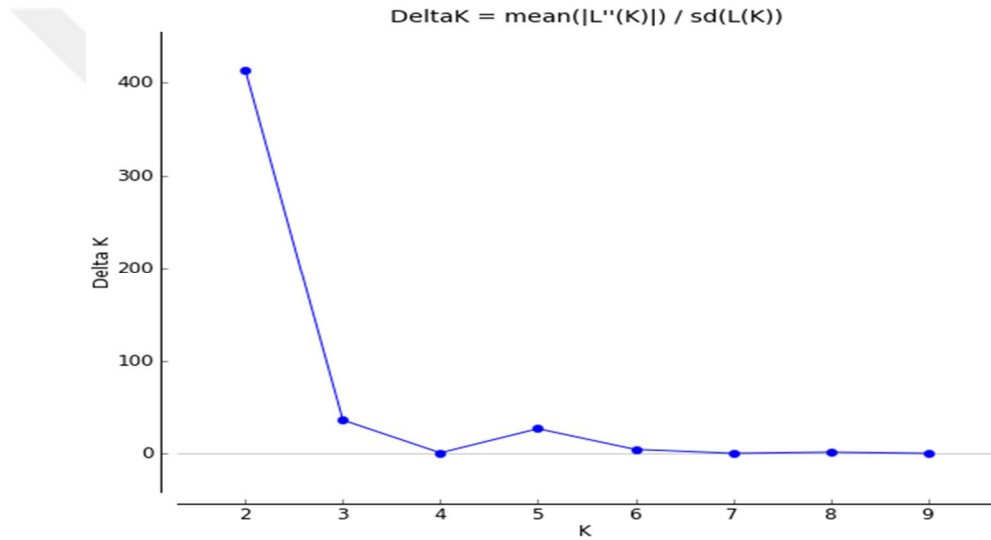
İpek ve ark. (2019) tarafından 2010-2013 yılları arasında Konya'nın Akşehir, Beyşehir ve Hüyük ilçelerinde yürütülen bir seleksiyon çalışmasında 2500 genotip arasından sekizinin üstün özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada bu sekiz ceviz genotipinin bazı önemli pomolojik ve fenolojik özelliklerinin yanı sıra ISSR tekniği kullanılarak bazı önemli ceviz çeşitleri ile genetik benzerlikleri incelenmiştir. Ceviz genotiplerinin yapraklanma dönemlerinin 10-27 Nisan, yaprak döküm dönemlerinin ise 1-17 Kasım tarihleri arasında yapraklarını döktüğü tespit edilmiştir. Genetik benzerlilikleri belirlemek amacıyla oluşturulan UPGMA dendogramında ise en yüksek genetik benzerlik (0.891) AK-2 ile AK-3 arasında, en düşük genetik benzerlik ise (0.491) Chandler ve Franquette arasında belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca Pedro ve Fernor çeşitlerinin yakın akraba oldukları tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada ise Pedro çeşidinden elde edilen genotipler arasından, Genotip 40, Genotip 74 ve Genotip 75'in hem fenolojik hem de genetik açıdan çok yakın benzerlik gösterdiği gözlemlenmiştir.



Şekil 4.4. Ceviz genotiplerine ait dendrogram

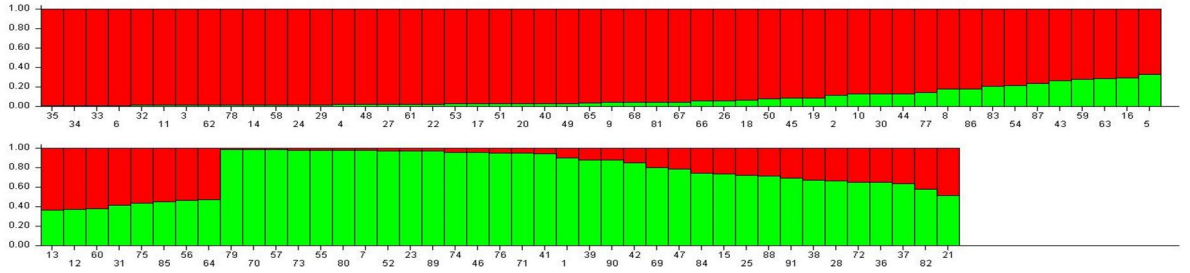
4.5. Popölasyonun Genetik Yapı Analizi

Araştırmada kullanılan 91 ceviz genotiplerine ait optimum genetik grup sayısını elde etmek için Bayesian yöntemine göre Structure 2.3.4 yazılımı kullanılarak kümeleme analizi yapılmıştır (Pritchard ve ark. 2000). Ceviz genotiplerine ait ideal grup sayısını belirlemek amacıyla her bir ΔK değeri için 10 bağımsız simölasyon ile ΔK değerleri 1'den 10'a kadar çalıştırılmıştır. Araştırmada permütasyon modölü, 10,000-100,000 aralığında tarama yapılmış ve her bir ΔK değeri için 5 kez tekrar edilerek uygun ΔK değeri tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar zip dosyası şeklinde depolanarak 'Structure Harvester' programına yüklenerek ideal K değeri 2 olarak belirlenmiştir (<http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>).



şekil 4.5. Structure programından elde edilen ideal ΔK değeri

Yapılan alışma sonucunda Structure 2.3.4 programından elde edilen ideal K değeri hesaplanarak şekil 4.5'teki diyagram elde edilmiştir. Genotipler arasındaki genetik farklılığı belirlemek amacıyla tekrar Structure 2.3.4 programında kümeleme analizi yapılmıştır. şekil 4.6'daki kümeleme analizi sonucunda genotiplerin 2 ana gruba ayrıldığı görölürken, farklı renkte gruplanmış olması genotipler arasında farklılık olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.6. Ceviz genotiplerine ait kümeleme analizi sonuçları ($\Delta K=2$)



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmada ana (ebeveyn) bitki ile genotipler arasındaki elde edilen fenolojik gözlemler mukayese edildiğinde, tomurcuk patlama tarihinin ana bitkide 21 Mart tarihinde başladığı belirlenirken ceviz genotiplerinde ise bu tarihin 8 Mart ile 29 Nisan arasında gerçekleştiği belirlenmiştir. Genotiplere ait ilk yapraklanma periyodunun 19 Mart ile 9 Mayıs tarihleri arasında gerçekleştiği tespit edilirken, bu periyodun ana bitkide 29 Mart tarihinde başladığı tespit edilmiştir. Yaprak sararma ve döküm periyodunun ana bitkide 7 Kasım ile 24 Kasım tarihleri arasında gerçekleştiği görülmüştür. Ceviz genotiplerine ait yaprak sararma başlangıç tarihleri 28 Ekim ile 9 Aralık arasında gerçekleşirken, yaprak döküm periyodunun ise 6 Kasım ile 30 Aralık tarihleri arasında tamamlandığı belirlenmiştir.

Ceviz genotiplerine ait fenolojik bulgular sonucunda, genotiplerin ana bitkiye göre uyanma ve dinlenme periyotlarının daha geç gerçekleştiği tespit edilmiştir. Ceviz genotipleri ile ana bitki (Pedro) arasındaki fenolojik farklılık oranları “tomurcuk patlamada %77.89”, “ilk yapraklanmada %77.89”, “yaprak sararma başlangıcında %28.42” ve “yaprak döküm bitişinde ise %69.47” oranında farklılık olduğu tespit edilmiştir.

Araştırma kapsamında ceviz genotipleri ile Pedro çeşidi arasındaki genetik varyasyonun belirlenmesi amacıyla 12 adet ISSR primeri kullanılarak toplamda 43 bant elde edilmiş olup bu bantların 41 tanesinin (%95.3) polimorfik olduğu kayıt altına alınmıştır. Ortalama allel sayısı 4.5 olarak bulunmuştur. ISSR primerlerine ait PIC değerleri 0.14 ile 0.91 arasında farklılık göstermiş ve ortalama PIC değeri 0.52 olarak tespit edilmiştir.

Yapılan çalışma sonucunda ceviz genotiplerine ait genetik benzerlik kat sayısı incelenmiş olup, genetik benzerliğin en yakın (0.05) Genotip 8 ile Genotip 2 arasında olduğu, en uzak (0.997) genetik benzerliğin ise Genotip 29 ile Genotip 82 ve Genotip 29 ile Genotip 86 arasında olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan bu çalışmada elde edilen dendogramda 2 ana grup oluşmuştur. Bu dendograma göre Genotip 6, Genotip 40, Genotip 49, Genotip 60, Genotip 73, Genotip 74, Genotip 75, Genotip 77, Genotip 78, Genotip 80, Genotip 83 ve Genotip 84’ün ana bitkiye (Pedro) çok yakın benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Structure 2.3.4 programında yapılan kümeleme analizi sonucunda ise dendogramda olduğu gibi 2 ana grup oluşmuş ve birbirlerini destekleyen sonuçlar elde edilmiştir.

Araştırma sonucunda genotiplerin ana bitkiye hem fenolojik hem de genetik açıdan 5 genotipin (Genotip 40, Genotip 60, Genotip 73, Genotip 74 Genotip 75) çok yakın, 2 genotipin (Genotip 50, Genotip 55) yakın, 9 genotipin (Genotip 26, Genotip 27, Genotip 38, Genotip 46, Genotip 48, Genotip 59, Genotip 65, Genotip 87, Genotip 94) orta derecede, 3 genotipin (Genotip 13, Genotip 34, Genotip 90) ise çok uzak derecede benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Araştırmada Pedro ceviz çeşidinin tohumlarından elde edilen çöğürlerde genetik varyasyonlarının belirlenmesi, popülasyonun zengin bir genetik çeşitliliğe sahip olup olmadığı fenolojik ve moleküler belirteçler yardımıyla tespit edilmiştir. Bu açıdan genotiplerin hem fenolojik hem de genetik olarak önemli bir varyasyona sahip olduğu tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda gen kaynaklarının yönetiminde morfolojik ve moleküler verilerin birlikte kullanılmasının daha net bir karakterizasyon sağladığı teyit edilmiştir. Ayrıca ceviz (*Juglans regia* L.) meyve türünde yakın akraba olan genotiplerde genetik farklılıkları belirlemek amacıyla ISSR primerlerinin güvenli bir şekilde kullanılabileceği belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Anonim (2018). Tk (13.05.2019) www.tuik.gov.tr/start.do
- Anonymous (1994). Walnut Descriptors for Walnut (*Juglans* Spp.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Anonymous (2018). FAO (13.05.19) <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Akcan, S. (2007). Kaman Cevizlerinde Apomiksis zelliğinin Moleküler Yöntemlerle Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Adana Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana. 93s.
- Akça, Y., nal, B., elik, M., Okay, Y. (2014). Comparison of Some Promising Turkish and Foreign Walnut Cultivars. *Acta Hort.*, 1050 : 143-149.
- Aradhya, M.K., Potter, D., Simon, C.J. (2006). Cladistic Biogeography of *Juglans* (*Juglandaceae*) Based on Chloroplast DNA Intergenic Spacer Sequences. In Darwin's Harvest: New Approaches to The Origins, Evolution and Conservation of Crops (Motley, T.J., Zerega, N., Cross, H., Eds). New York: Columbia University Press, P. 143-170.
- Bardak, A. (2012). Lif ve Hav Oluşumuyla İlişkili DNA Markrlerinin Pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) Genomunda Haritalanması ve QTL Analizi. Doktora Tezi. Kahramanmaraş St İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kahramanmaraş. 141s.
- Bardak, A., Blek, Y. (2012). Genetic Diversity of Diploid and Tetraploid Cottons Determined by SSR and ISSR Markers, *Turkish Journal of Field Crops*, 17(2) : 139-144.
- Bark, O. H., Havey, M.J., (1995). Similarities and relationship among population of the bulb onion as estimated by RFLPs. *Theor. Appl. Genetics*, 90 : 407-414.
- Barone, E., Bounous, G., Inglese, P., Zappia, R. (1991). English Walnut Cultivar Testing in Southern Italy. *Acta Hort.*, 284 : 105-110.
- Baymış, M. (2008). Yerli ve Yabancı Bazı Ceviz (*Juglans Regia* L.) Tip ve eşitlerinin Kahramanmaraş Ekolojik şartlarında Performanslarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş St İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kahramanmaraş. 103s.
- Bernard, A., Lheureux, F., Dirlewanger, E. (2018). Walnut: Past and Future of Genetic Improvement. *Tree Genetics and Genomes*, 14(1) : 1.
- Bornet, B., Branchard, M. (2001). Nonanchored inter-simple sequence repeat (ISSR) markers: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Mol Biol Reporter* 19: P. 209-215.

- Botstein, D., White, R., Skolnick, M., Davis, R.W. (1980). Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. *Am. J. Of Human Genetic*, 32 : 314-331.
- Christopoulos, M.V., Rouskas, D., Tsantili, E., Bebeli, P.J. (2010). Germplasm Diversity and Genetic Relationships Among Walnut (*Juglans regia* L.) Cultivars and Greek Local Selections Revealed by Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers. *Scientia Horticulturae*, 125(4) : 584-592.
- Dice, L.R. (1945). Measures of the Amount of Ecologic Association Between Species. *Ecology*, 26 : 297-302.
- Doğan, Y. (2006). Bazı Ceviz (*Juglans regia* L) Çeşit ve Genotiplerinin Moleküler Markör Teknikleri ile Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana. 83s.
- Doğan, Y., Kafkas, S., Sütyemez, M., Akça, Y., Türemiş, N. (2014). Assessment and Characterization of Genetic Relationships of Walnut (*Juglans regia* L.) Genotypes by Three Types of Molecular Markers. *Scientia Horticulturae*, 168 : 81-87.
- Doyle, J.J. Doyle, J.L. (1987). A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19 : 11-15.
- Ebrahimi, A., Zarei, A., Lawson, S., Woeste, K.E., Smulders, M.J.M., (2016). Genetic Diversity and Genetic Structure of Persian Walnut (*Juglans regia*) Accessions from 14 European, African, and Asian Countries Using SSR markers. *Tree genetics and genomes*, 12(6) : 114.
- Ekincialp, A., Kazankaya, A. (2012). Hakkâri Yöresi Kuşburnu Genotiplerinin (*Rosa* Spp.) Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 22(1) : 7-11.
- Erdoğan, V., Aygün, A. (2016). Ceviz (*Juglans regia* L.) Çeşitlerinin RAPD Tekniği ile Genetik Tanımlanması. VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Bildirileri. *Bahçe Özel Sayı*, 1 : 919-924.
- Filiz, E., Koç, İ. (2011). Bitki Biyoteknolojisinde Moleküler Markörler. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2) : 207-214.
- Fjellstrom, R. G., Parfitt, D. E., McGranahan, G. H. (1994). Genetic Relationships and Characterization of Persian Walnut (*Juglans regia* L.) Cultivars Using Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLPs). *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119(4) : 833-839.
- Foroni, I., Rao, R., Woeste, K., Gallitelli, M. (2005). Characterisation of *Juglans regia* L. with SSR Markers and Evaluation of Genetic Relationships Among Cultivars and The 'Sorrento' Landrace. *Journal of Horticultural Science Biotechnology*, 80(1) : 49-53.
- Gupta, M., Chyi, Y.S., Romero-Severson, J., Owen, J.L. (1994). Amplification of DNA Markers from Evolutionarily Diverse Genomes Using Single Primers of Simple-Sequence Repeats. *Theor. Appl. Genetics*, 89 : 998-1006.

- Hormaza, J. I. (2002). Molecular Characterization and Similarity Relationships Among Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Genotypes Using Simple Sequence Repeats. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(2-3) : 321-328.
- Ipek, M., Arıkan, Ş., Pırlak, L., Eşitken, A. (2019). Phenological, Morphological and Molecular Characterization of Some Promising Walnut (*Juglans regia* L) Genotypes in Konya. *Erwerbs-Obstbau*, 61(2) : 149-156.
- Karadut, Ö., Kafkas, S. (2013). Antepfıstığı SSR Lokuslarından Yeni ISSR Primerlerinin Geliştirilmesi. *Ç.Ü Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 29(2) : 139-148.
- Laborda, P.R., Oliveira K.M., Garcia A.A., Paterniani M.E., De Souza A.P. (2005). Tropical Maize Germplasm: What can We Say About Its Genetic Diversity in the Light of Molecular Markers. *Theor Appl Genetik*, 111(7) : 1288- 1299.
- Mahmoodi, R., Hassani, D., Amiri, M. E., Jaffaraghaei, M. (2016). Phenological and Pomological Characteristics of Five Promised Walnut Genotypes in Karaj, Iran. *Journal of Nuts*, 7(1) : 1-8.
- Malvolti, M. E., Pollegioni, P., Bertani, A., Mapelli, S., Cannata, F. (2010). *Juglans regia* Provenance Research by Molecular, Morphological and Biochemical Markers: A Case Study in Italy. *Biores. Biodiv. Bioavail*, 4 : 84-92.
- Nei, M. (1972). Genetic Distance Between Populations. *The American Naturalist*, 106 : 283-292.
- Nicese F.P., Hormaza J.I., Mcgranahan, G.H. (1998). Molecular Characterization, Genetic Relatedness Among Walnut (*Juglans regia* L.) Genotypes Based on RAPD Markers. *Euphytica*, 101 : 199-206.
- Orman, E., Fidancı, A., Pezikoğlu, F., Tosun, İ. (2017). Yerli ve Yabancı Ceviz çeşitlerinin Farklı Ekolojilere Uyumluluğu Üretim ve Pazarlama Sorunlarının Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar. *Bahçe Dergisi Özel Sayı*, 46(2) : 289-294.
- Pollegioni P., Bartoli S., Cannata F., Malvolti M.E. (2003). Genetic Differentiation of Four Italian Walnut (*Juglans regia* L.) Varieties by Inter Simple Sequence Repeat (ISSR). *J Genet Breed.*, 57 : 231-240.
- Pollegioni, P., Woeste, K., Binbağı, A., Mugnozsa, G., Scarascia, Malvolti, M.E. (2008). Characteristics of *Juglans nigra* (L), *Juglans regia* (L) and *Juglans X Intermediate* (Carr.) Ssr Markers: A Case Study in Italy. *Silvae Genetica*, 58(1-2) : 68-78.
- Potter, D., Gao, F., Aiello, G., Leslie, C., Mc. Granahan, G.H. (2002). Intersimple Sequence Repeat Markers for Fingerprinting and Determining Genetic Relationships of Walnut (*Juglans regia*) Cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 127(1) : 75-81.
- Powell, W., Machray, G.C., Provan, J. (1996). Polymorphism Revealed by Simple Sequence Repeats. *Trends in Plant Science*, 1(7) : 215-221.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*, 155(2) : 945-959.

- Radicati, L., Vergano, G., Zannini, P. (1990). Vegetative and Productive Evaluation of 19 Walnut Cultivar in Piemonte (Italy). First Int. Symp. on Walnut Prod. Sept. Budapest, Hungary. Acta Hort: 25-29.
- Reddy, M.P., Sarla, N., Siddiq, A. (2002). Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Polymorphism and Its Application in Plant Breeding. *Euphytica*, 128 : 9-17.
- Rohlf, F.J. (1998). NTSYSp numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.0 user guide.
- Safter, B. (2011). Bazı Ceviz (*Juglans regia* L.) Genotiplerinin Yayladağı (Hatay) Koşullarındaki Fenolojik Özellikleri ve Yan Dal Verimliliği. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 42(2) : 95-102.
- Solar, A. (1990). Phenological and Pomological Characteristics of Walnut Cultivars in Northeastern Slovenia, First Int. Sym. on Walnut Prod. Acta Hort. P.284.
- Sütyemez, M., Kaşka, N. (2002). Bazı Yerli ve Yabancı Ceviz (*Juglans regia* L.) Çeşitlerinin Kahramanmaraş Ekolojisine Adaptasyonu, *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 5(1) : 148-158.
- Sütyemez, M. (2019). Bitki Islahı Ders Notları (Yayınlanmamış).
- Şahin. İ. (2005). Sağlıklı Beslenmede Ceviz. *Bahçe Ceviz*. 34(1) : 157-162.
- Şen, S.M. (1986). Ceviz Yetiştiriciliği, Eser Matbaası, Samsun, 229s.
- Şen, S.M. (2011). Ceviz Yetiştiriciliği Besin Değeri Folklorü, Başak Matbacılık, 4. Baskı, Ankara. 203s.
- Tahtacı, S.A., Gözel, H., Yılmaz, A., Eldoğan, Ü., Şahan, A. (2017). Phenological Development State of Some Domestic and Foreign Walnut Varieties in Gaziantep Region. *Bahçe*, 46(2) : 153-156.
- Tosun, İ., Akçay, M.E. (2005). Yerli ve Yabancı Bazı Ceviz Çeşitlerinin Yalova Ekolojisindeki Fenolojik ve Pomolojik Özellikleri. *Bahçe*, 34(1) : 35-40.
- Ünal, B. (2011). Niksar Ekolojik Koşullarında Bazı Yerli Ve Yabancı Ceviz Çeşitlerinin Adaptasyon Yeteneklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Tokat. 59s.
- Woodworth, R.H. (1930). Meiosis of microsporogenesis in the *Juglandaceae*. *American Journal of Botany*, 9 : 863-869.
- Yorgancılar, M., Yakışır, E., Erkoyuncu, M.T. (2015). Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 4(2) : 1-12.
- Zietkiewicz, Ewa, Rafalski A., Damian L. (1994). Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)- Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification . *Genomics*, 20(2) : 176-183.

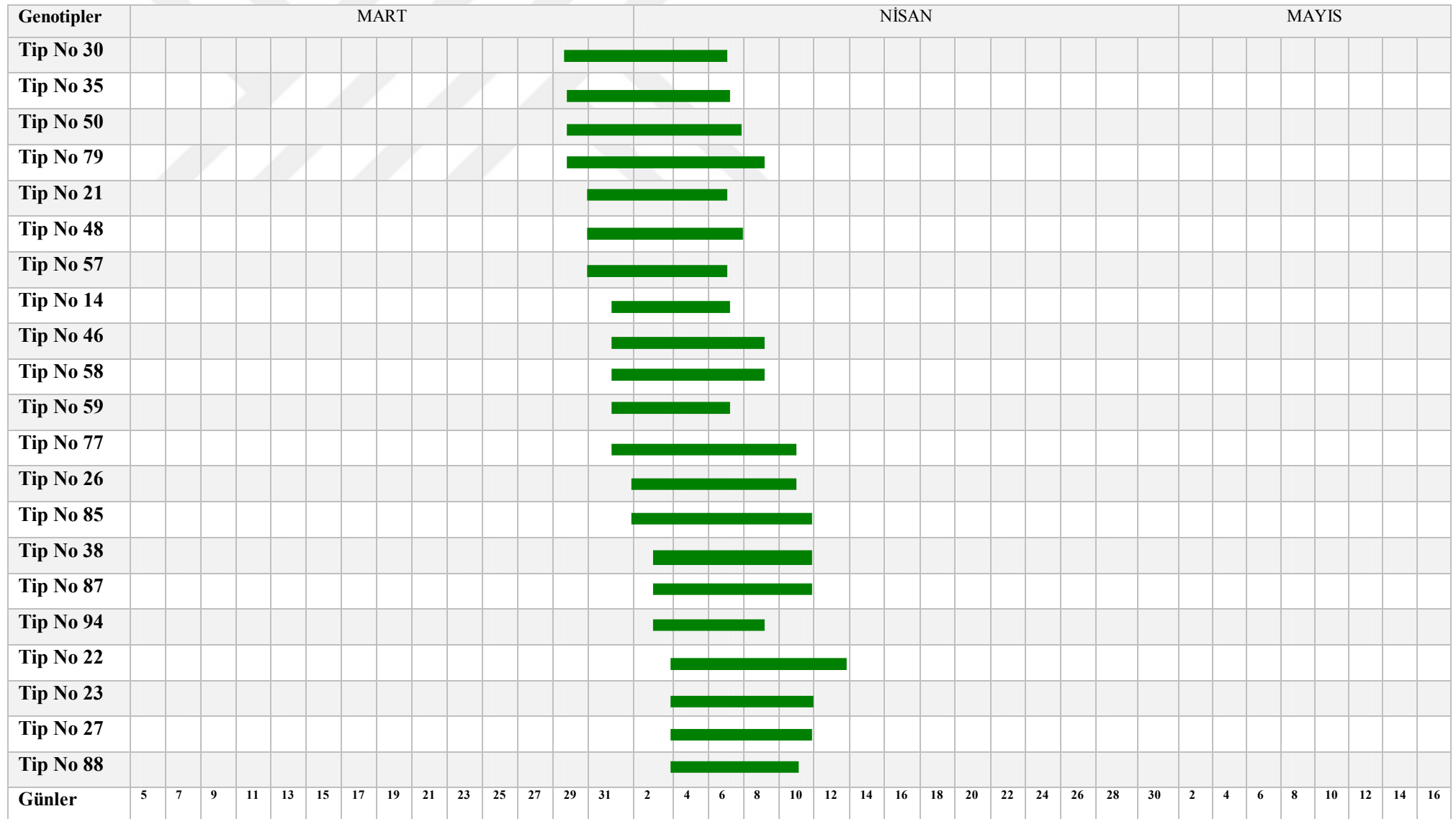
Ek-1. Tomurcuk patlama- ilk yapraklanma periyodu



Ek-1'in devamı

Genotipler	MART															NİSAN															MAYIS																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																									
Tip No 31																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								</

-1'in devamı



-1'in devamı

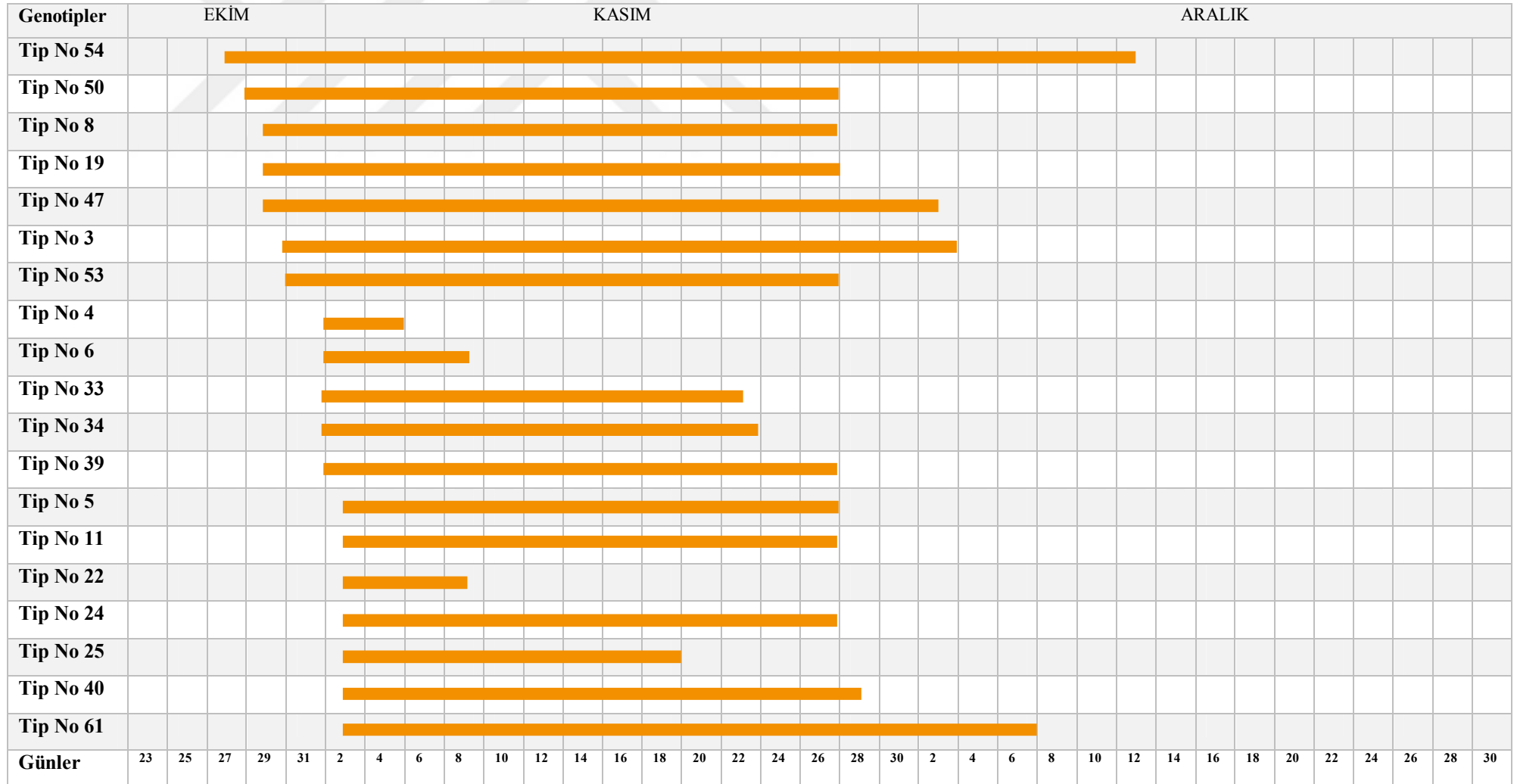


Ek-1'in devamı

Genotipler	MART														NİSAN														MAYIS																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
Tip No 91																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										

-2. Yaprak sararma başlangıç-yaprak döküm periyodu

tipler	EKİM	KASIM
No 54		
No 50		
No 9		



Ek-2'nin devamı

Genotipler	EKİM					KASIM															ARALIK														
Tip No 89																																			
Tip No 93																																			
Tip No 1																																			
Tip No 9																																			
Tip No 20																																			
Tip No 21																																			
Tip No 32																																			
Tip No 37																																			
Tip No 41																																			
Tip No 67																																			
Tip No 88																																			
Tip No 91																																			
Tip No 2																																			
Tip No 10																																			
Tip No 12																																			
Tip No 13																																			
Tip No 14																																			
Tip No 18																																			
Tip No 23																																			
Tip No 28																																			
Günler	23	25	27	29	31	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30

Ek-2'nin devamı

Genotipler	EKİM					KASIM															ARALIK														
Tip No 30																																			
Tip No 36																																			
Tip No 43																																			
Tip No 46																																			
Tip No 48																																			
Tip No 59																																			
Tip No 65																																			
Tip No 95																																			
Tip No 42																																			
Tip No 45																																			
Tip No 55																																			
Tip No 66																																			
Tip No 68																																			
Tip No 94																																			
Tip No 76																																			
Pedro																																			
Tip No 51																																			
Tip No 57																																			
Tip No 58																																			
Tip No 62																																			
Tip No 69																																			
Günler	23	25	27	29	31	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30

Ek-2'nin devamı

Genotipler	EKİM							KASIM														ARALIK													
Tip No 92																																			
Tip No 52																																			
Tip No 56																																			
Tip No 60																																			
Tip No 73																																			
Tip No 79																																			
Tip No 81																																			
Tip No 87																																			
Tip No 16																																			
Tip No 17																																			
Tip No 29																																			
Tip No 44																																			
Tip No 86																																			
Tip No 7																																			
Tip No 74																																			
Tip No 71																																			
Tip No 26																																			
Tip No 38																																			
Tip No 70																																			
Tip No 78																																			
Günler	23	25	27	29	31	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30

Ek-2'nin devamı

Genotipler	EKİM					KASIM															ARALIK														
Tip No 83																																			
Tip No 35																																			
Tip No 72																																			
Tip No 82																																			
Tip No 90																																			
Tip No 15																																			
Tip No 64																																			
Tip No 80																																			
Tip No 75																																			
Tip No 85																																			
Tip No 49																																			
Tip No 31																																			
Tip No 84																																			
Tip No 63																																			
Tip No 27																																			
Tip No 77																																			
Günler	23	25	27	29	31	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30

ÖZ GEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Akif NAR
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : Kahramanmaraş
Medeni hali :
Telefon :
Faks :
e-posta : akfmr4646@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	KSÜ/Bahçe Bitkileri	2016
Lise	19 Mayıs Lisesi	2011

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
-----	-----	-------

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. Cam, E., Bukucu, B., Oguz, İ., Ozcan, A., Nar, A., Yıldırım, E., Kafkas S., Kafkas E., (2018). Characterization of total phenol content and antioxidant capacity in Chandler x Kaplan-86 F1Walnut Population. XXX. International Horticultural Congress. 12-16 August 2018. İstanbul, Turkey. Oral Presentation.