



## Determination of Genetic Diversity Using SRAP Technique in Some Walnut Genotypes Obtained by Selection

Mehmet Yaman<sup>1,a,\*</sup>, Ercan Yıldız<sup>1,b</sup>, Hasan Pınar<sup>1,c</sup>, Aydın Uzun<sup>1,d</sup>, Ahmet Sümbül<sup>2,e</sup>, Şule Alkan<sup>1,f</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Agriculture Section of Garden Plants, Erciyes University, 38039 Kayseri, Turkey

<sup>2</sup>Department of Plant and Animal Production, Şuşehri Timur Karabal Vocational School, Cumhuriyet University, 58140 Sivas, Turkey

\*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Research Article</i></p> <p>Received : 16/07/2020 Accepted : 26/09/2020</p> <p><b>Keywords:</b> Walnut SRAP Marker Polymorphism Genetic diversity</p>	<p>Turkey is among the few countries in terms of plant diversity. An example of this situation is the variation in walnut seedlings grown from seed throughout the country. The genetic material to be used in fruit breeding should be original and the genetic relations among the genotypes should be well elucidated. In this research, genetic diversity was investigated among the walnut genotypes selected from Uşak province of Turkey with the use of molecular markers. In this study, molecular results showed that the 19 SRAP primer combinations produced, on average, 171 bands in the accessions examined, of which 77.2% were polymorphic. Base lengths of the bands obtained from markers varied between 100-1500 bp. The similarity ratio of walnut genotypes varied between 0.21 – 0.85. According to the results of the study, it was determined that SRAP marker system can be used to determine genetic diversity among walnut genotypes.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 8(12): 2577-2582, 2020

## Seleksiyonla Elde Edilmiş Bazı Ceviz Genotiplerinde SRAP Tekniği Kullanılarak Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Araştırma Makalesi</i></p> <p>Geliş : 16/07/2020 Kabul : 26/09/2020</p> <p><b>Anahtar Kelimeler:</b> Ceviz SRAP Markör Polimorfizm Genetik çeşitlilik</p>	<p>Türkiye bitki çeşitliliği bakımından ender ülkeler arasındadır. Bu durumun bir örneği de ülke genelinde tohumdan yetişen ceviz çöğürlerindeki varyasyondur. Bu farklılığın ceviz ıslahında kullanılabilmesi için genetik materyalin ismine doğru olması ve aralarındaki genetik ilişkilerin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Yapılan bu çalışmada Uşak ilinden seleksiyon ile elde edilmiş bazı ceviz genotiplerinde genetik çeşitliliğin moleküler markörler ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 19 adet SRAP markör kombinasyonu kullanılmıştır. Bu markörlerden sayıları 2 ile 18 arasında değişen toplam 171 skorlanabilir bant elde edilmiş olup, bunların %77,2'si polimorfik olarak bulunmuştur. Markörlerden elde edilen bantların baz uzunlukları ise 100-1500 bp arasında değişim göstermiştir. Ceviz genotiplerine ait benzerlik oranı 0,21 – 0,85 arasında değişim göstermiştir. Çalışma sonucuna göre SRAP markör sisteminin ceviz genotipleri arasında genetik çeşitliliği belirlemede etkili şekilde kullanılabileceği tespit edilmiştir.</p>

<sup>a</sup> [mhmt.-07@hotmail.com](mailto:mhmt.-07@hotmail.com)

<sup>b</sup> <https://orcid.org/0000-0002-2899-2238>

<sup>c</sup> [dkaki54@hotmail.com](mailto:dkaki54@hotmail.com)

<sup>d</sup> <https://orcid.org/0000-0003-1445-2385>

<sup>e</sup> [hpınarka@yahoo.com](mailto:hpınarka@yahoo.com)

<sup>f</sup> <https://orcid.org/0000-0002-0811-8228>

<sup>e</sup> [uzun38s@yahoo.com](mailto:uzun38s@yahoo.com)

<sup>f</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9496-0640>

<sup>e</sup> [ahmetsumbul@gmail.com](mailto:ahmetsumbul@gmail.com)

<sup>f</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9510-0992>

<sup>f</sup> [hasyuncu38@hotmail.com](mailto:hasyuncu38@hotmail.com)

<sup>f</sup> <https://orcid.org/0000-0003-4554-627X>



This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 International License

## Giriş

Türkiye farklı coğrafik ve ekolojik özelliklere sahip olmasından dolayı bitki çeşitliliği ve genetik kaynaklar açısından dünyada önemli bir konuma sahiptir (Pinar ve ark., 2019). Mevcut olan bu tür ve çeşit zenginliği ülkemizi birçok meyve türünün hem anavatanı hem de ekonomik olarak yetiştiricisi konumuna getirmiştir. Türkiye’de genetik çeşitliliğin fazla olması, ülkemizin tarım tarihinde meyvecilik kültürünü de önemli bir yere getirmiştir (Ercişli, 2004). Ceviz kültürü, ülkemizde çok eski olmasına rağmen, uzunca yıllar tohumdan yetişen çöğür ağaçları ile üretim gerçekleştirildiğinden üretimi ve ticareti henüz arzulan bir seviyeye ulaşamamıştır. Ancak son yıllarda aşılı yerli ve yabancı standart çeşitlerle kurulan bahçeler, ceviz türünü önemli bir konuma taşımaya başlamıştır (Yaman ve ark., 2017; Yıldız ve Sumer, 2019).

Cevizin içinde yer aldığı *Juglans* cinsi yaklaşık olarak 20 türü içermekle beraber bunlar arasında en yaygın olanı ve kültürü yapıları *Juglans regia* L. olarak bilinmektedir (Zhao ve ark., 2017; Demir ve ark., 2018). Dünyada ve ülkemizde ceviz üretimi giderek artış göstermektedir (Demir ve ark., 2017). Bu artışa neden olan sebepler arasında en büyük pay, cevizin diğer pek çok meyve türlerine nazaran yüksek fiyattan alıcı bulması ve içerdiği yağ (%50-80), protein (%12-15), mineral ve vitaminler bakımından öne çıkması ile insan sağlığı açısından öneme sahip olması sayılabilir (Hayes ve ark., 2016). Cevizlerin hasattan sonra uzun süre depolanması, diğer birçok bahçe ürününe nazaran daha az tarımsal işleme ve iş gücüne ihtiyaç duyması, son yıllarda marjinal alanlarda desteklenmesi üretimi artıran diğer faktörler olarak sıralanabilir. Bu yüzden ceviz üretim değeri yaklaşık olarak 3,5 milyon tona ulaşmıştır. Ceviz yetiştiriciliğinde önemli bir payı olan ülkemiz, 215.000 ton üretim miktarı ile dünyada 4. sırada yer alarak, dünya ceviz üretiminde %5,9'luk paya sahip bulunmaktadır (FAO, 2018).

Türkiye’de tohumdan çıktığı varsayılan yaklaşık 4 milyonun üzerinde aşısız ceviz ağacı varlığı bilinmektedir (Uzun ve ark., 2017). Bu geniş genetik çeşitlilik özellikle ıslah çalışmalarında üstün özellikli bireylerin seçilmesinde büyük faydalar sağlamaktadır (Öztürk ve ark., 2020). Bitki türleri arasındaki genetik çeşitliliğin tanımlanması ve değerlendirilmesinde fenolojik ve morfolojik özellikler kullanılmasına rağmen (Çöçen ve ark., 2020), bu özelliklere dayalı tespitler kişiye göre bazen de ekolojik faktörlere göre değişiklik gösterdiği için her zaman doğru sonuç vermeyebilmektedir (Iqbal, 2019). Bu nedenle genotiplerin doğru tanımlanması için araştırmacılar farklı metotlara ihtiyaç duymuştur. Son yıllarda geniş uygulamaları olan ve morfolojik özellikler gibi çevre şartlarından etkilenmeyen moleküler markörlerin kullanımı giderek artmaktadır (Ahmad ve ark., 2017).

Ceviz türünde genetik çeşitliliğin araştırıldığı çalışmalar 1990’lı yılların ortalarından itibaren başlatılmış olup, ilk çalışmalarda daha çok RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) (Fjellstrom ve Parfitt, 1994; 1995) ve RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) (Woeste ve ark., 1996; Malvolti ve ark., 1997; Nicese ve ark., 1998) teknikleri kullanılmıştır. Günümüzde DNA teknolojisindeki ilerlemeler farklı moleküler markör tekniklerinin geliştirilmesine neden olmuştur. Özellikle farklı DNA moleküler markör teknikleri kültür bitkilerinde

genetik çeşitliliğin belirlenmesinde ve genotiplere özgü parmak izi analizlerinde yoğun olarak kullanılmaktadır. Parmak izi analizleri ile genetik çeşitliliği tespit etme çalışmalarında RAPD, AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SSR (Simple Sequence Repeats), RFLP, SRAP (Sequence Related Amplified) ve ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) teknikleri yoğun olarak kullanılmaktadır (Pinar ve ark., 2018). Yapılan çalışmalar sonucunda RAPD ve ISSR tekniklerinin polimorfizm bakımından, RFLP, SSR, AFLP ve SRAP DNA moleküler markör tekniklerinin ise tekrarlanabilirlik bakımından avantajlı olduğu bildirilmiştir (Powell ve ark., 1996). Son yıllarda kullanımı artan ve çok sayıda polimorfik bant verebilen bir markör sistemi olan SRAP markörlerinin hızlı, nispeten ucuz ve oldukça tekrarlanabilir olmaları nedeniyle genetik çeşitlilik çalışmaları için uygun olduğu belirtilmiştir (Pinar ve ark., 2017; Uzun ve ark., 2017).

Yapılan bu çalışmada, ağırlıklı olarak Uşak ilinden geç yapraklanma, yan dal verimliliği, meyve kalite özelliği, antraknoz ve meyve iç kurdu gibi hastalık ve zararlılara dayanım açısından önemli kayda değer genotiplerin belirlenmesi amacıyla yapılan seleksiyon çalışmasında seçilen ceviz genotiplerinde genetik çeşitliliğin SRAP markör tekniği ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Yöntem

### Materyal

Çalışmada, İç Ege Bölgesinde yer alan Uşak ilinde tohumdan çıkmış ceviz plantasyonları içerisinde genel anlamıyla geç yapraklanan ve yan dallarda yüksek oranda meyve veren tiplerin belirlenmesi amacıyla yürütülen çalışmada bazı fenolojik ve morfolojik özellikleri ortaya konmuş 18 adet genotip, bitkisel materyal olarak yer almıştır (Çizelge 1). Çok sayıda ceviz genotipinin seleksiyon yoluyla morfolojik özelliklere bağlı olarak 53 genotipin değerlendirilmeye alındığı çalışma kapsamında genotiplere verilen numaralar, bu çalışmada da aynı olup sadece UŞAK kodu kullanılmamıştır (Yıldız ve ark., 2017; 2019). Ayrıca, bu genotiplere ek olarak geç yapraklanma özelliğine sahip Genotip-54 (Gediz/Kütahya) ve Genotip-55 (Çameli/Denizli) çeşitleri ile birlikte referans çeşit olarak kullanılan 1 adet yerli (Şebin) ve 3 adet yabancı (Livermore, Trampito ve Chandler) ceviz çeşitlerinde dahil edilmiştir. Referans olarak kullanılan ceviz çeşitleri Uşak ilinde ticari bir ceviz bahçesinden temin edilmiştir. Referans çeşitlerden Şebin ve Chandler çeşitlerine ait bazı özellikler (meyve eni, meyve boyu, meyve ağırlığı vb.) Yıldız ve Sumer (2019) tarafından tanımlanırken, Trampito çeşidinin Uşak ekolojik koşullarında özellikle Fernor çeşidi kadar geç yapraklanma özelliğine sahip olduğu, Livermore çeşidinin ise yapraklanma özelliğinin Chandler çeşidiyle benzer olduğu belirtilmiştir.

### Yöntem

Ceviz genotiplerinden alınan genç yapraklarda DNA izolasyonu CTAB metoduna göre gerçekleştirilmiştir (Doyle ve Doyle, 1990). Bu genotiplere ait DNA konsantrasyonları spektrofotometre (BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, United States) ile ölçülerek DNA örnekleri TE (10 mM Tris-HCl, 0,1 mM EDTA, pH 8,0)

solüsyonunda hazırlanmış ve kullanıncaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

### Pcr Analizleri

DNA örneklerinde mix yapılarak 12 adet ileri ve 18 adet geri olmak üzere 216 adet SRAP primer kombinasyonları ile ön tarama gerçekleştirilmiştir. Bu testler sonucunda en fazla sayıda polimorfik bant elde edilen 19 adet SRAP markör kombinasyonu kullanılmıştır (Çizelge 2). PCR bileşenleri toplam hacim her bir genotip için 15 µL olacak şekilde ve 2 µL DNA (20 ng), 1,5 µL 10xPCR Buffer, 0,2 µL Taq DNA polymerase (5u µL<sup>-1</sup>), 1 µL dNTP (2,5 mM), 1,5 µL MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 2 µL 10 mM SRAP markör, 6,8 µL H<sub>2</sub>O olarak hazırlanmıştır. PCR koşulları ise 94°C 3 dk başlangıç denaturasyonunun ardından 35 döngüde 94°C 1 dak, 38°C 45 sn, 72°C 2 dak ve daha sonra final uzama için 72°C 10 dak olarak kullanılmıştır (Uzun ve ark., 2009; 2017; 2020). PCR ürünleri 1X TAE buffer içerisinde %2'lik agaroz jelde elektroforez yapılmış ve etidium bromidle boyandıktan sonra jel görüntüleme (Kodak) ünitesinde görüntülenmiştir.

### Veri Analizleri

Görüntüleme işlemi sonrasında jellerden elde edilen görüntülerde bant varlığı durumunda (1), yoksa (0) ve amplifikasyon oluşmamış ise (9) rakamları verilerek skorlama yapılmıştır. NTSYSpc 2,1 bilgisayar paket programı kullanılarak elde edilen veriler analiz edilmiştir (Rohlf, 2000). Bireyler arasında benzerlik indeksleri belirlenmiştir (Dice, 1945). DİCE benzerlik matrisine dayalı UPGMA metoduna göre ceviz genotiplerinin dendrogramı oluşturulmuştur. Oluşturulan DİCE benzerlik matrisinde yer alan genotiplerin birbirine ne kadar uzak oldukları OUTPUT modülünde matris değerleri hesaplanarak belirlenmiştir. DİCE benzerlik katsayısına dayalı matris, COPH modülü kullanılarak ağaç matrisi ultrametrik benzerlik matrisine çevrilmiş ve MxCOMP modülü kullanılarak ultrametrik benzerlik matrisi ile benzerlik matrisinin uyumu karşılaştırılmıştır. Mantel testi (Mantel, 1967) diye adlandırılan bu test sonucunda dendrogramın benzerlik verilerini ne kadar iyi temsil ettiğini gösteren kofenetik korelasyon değerinin (r) yorumu: 0,9<r, çok iyi; 0,8<r<0,9, iyi; 0,7<r<0,8, zayıf ve r<0,7, çok zayıf şeklinde yapılmıştır (NTSYS PC 2,1 Manual).

Ayrıca çalışmada kullanılan her bir markör için toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı ve polimorfizm oranı da belirlenmiştir. Polimorfizm oranı hesaplanırken (Polimorfik Bant sayısı × 100 / Toplam Bant sayısı) formülü kullanılmıştır.

$$\text{Polimorfizm Oranı: } \frac{\text{Polimorfik bant sayısı} \times 100}{\text{Toplam bant sayısı}}$$

### Bulgular ve Tartışma

Türkiye'nin farklı illerinden toplanan 20 adet ceviz genotipi ile referans olması için alınan 1 adet yerli ve 3 adet yabancı ceviz çeşidi SRAP markörleriyle genetik çeşitliliğin belirlenmesi amacıyla değerlendirilmiştir. Çalışmada toplam 171 skorlanabilen bant elde edilmiş olup, bunların %77,2'si polimorfik olarak bulunmuştur. Çalışmadan elde ettiğimiz polimorfizm oranı cevizlerde

daha önce SRAP tekniği kullanan Akcan ve ark. (2008)'nin çalışmasından (%55,3) yüksek, Uzun ve ark. (2017)'nin çalışmasından (%90,0) ise düşük bulunmuştur. Çalışmada kullanılan genotiplerin tohumdan yetişmesi ve buna bağlı olarak genetik açılımlar meydana geldiği ayrıca farklı illerden seçildiği için kullanılan bütün primerlerde monomorfik bant oluşmamıştır ve dolayısı ile polimorfizm oranı yüksek bulunmuştur. Diğer yandan değişik moleküler tekniklerle ülkemizde yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar alınmıştır. Bahsi geçen çalışmalarda elde edilen skorlanabilir bantların SAMPL ve AFLP tekniklerinde %50,4'ünün (Kafkas ve ark., 2005), RAPD ve ISSR tekniklerinde sırasıyla %68,2 ve %71,2'sinin (Doğan, 2006), RAPD tekniğinde %81,4'ünün (Kaya, 2013), SSR, ISSR ve RAPD tekniklerinde sırasıyla %99,1, %71,1 ve %69,1'inin (Doğan ve ark., 2014), ISSR tekniğinde %79,6 (Orman, 2018) ve %61,1'inin (İpek ve ark., 2019) polimorfik olduğu belirlenmiştir. Polimorfizm oranlarında ortaya çıkan bu farklılığın sebebi, büyük bir olasılıkla kullanılan gen kaynağının ve primerlerin farklı olmasından kaynaklanabilir.

Çalışmada kullanılan SRAP markörleri için primer başına ortalama bant sayısı 9,0 iken, polimorfik bant sayısı 7,0 olarak belirlenmiştir. En yüksek polimorfik bant sayıları Em12-me2 ve Em13-me5 kombinasyonundan 15 adet olarak saptanmıştır. En düşük polimorfik bant sayısı ise 2 adet ile Em7-me15, Em11-me5 ve Em14-me5 kombinasyonlarında tespit edilmiştir. Kullanılan markörlere ait baz uzunluğu değerleri 100-1500 bp arasında değişmiştir (Çizelge 2). SRAP tekniği ile yapılan çalışmalarında Uzun ve ark. (2017), primer başına düşen bant sayısını 6,5 olarak hesaplarken, polimorfik bant sayısını ise 5,9 olarak saptamıştır. Yine aynı çalışmada en fazla bant sayısı Em10-Me10 primer kombinasyonundan (12 adet) ve en az bant sayısı ise Em9-Me6 ve Em16-Me3 primer kombinasyonlarından (3 adet) elde edilmiştir. Çalışmalardan farklı sonuçların alınması kullanılan bitkisel materyallerin farklı olmasının bir sonucu olarak yorumlanabilir. Benzerlik indeksleri ile dendrogram arasındaki korelasyonu ortaya koyan kofenetik korelasyon katsayısı, r = 0,85 olarak belirlenmiştir. Bu değer 0,8 ile 0,9 arasında olması, benzerlik indeksleri ile dendrogram arasında iyi bir ilişki olduğunu ifade etmektedir (Mohammadi ve Prasanna, 2003). Buradan hareketle, benzerlik indeksleri ile elde edilen dendrogram arasında yüksek düzeyde bir korelasyonun olduğu, dendrogramın benzerlik indekslerini yüksek bir oranda temsil ettiği görülmektedir.

Yapılan UPGMA ile oluşturulan dendrograma göre, genetik benzerlik değerlerinin 0,21 ile 0,85 arasında değiştiği belirlenirken, 2 ana küme oluşmuştur (Şekil 1). I. ana kümede oluşan grupların birinde (I-A) 16 genotip ve Chandler çeşidi, diğerinde (I-B) ise 4 genotip ve Şebin çeşidi yer almıştır. I-B grubunda Genotip-54 ayrı grup oluştururken, Genotip-31 ile Genotip-55 ve Genotip-28 ile Şebin çeşidi ayrı grup oluşturmuştur. Bu alt grupta Genotip-31 ile Genotip-55 arasındaki benzerlik yaklaşık 0,66, Genotip-28 ile Şebin çeşidi arasındaki benzerlik yaklaşık 0,60 olarak tespit edilmiştir. II. ana kümeyi ise Livermore ve Trampito çeşitleri yaklaşık 0,67 benzerlik oranı ile oluşturmuştur. Genetik olarak en yakın olan genotiplerin %82 benzerlik oranıyla Genotip-33 ve Genotip-35 olduğu, en uzak genotiplerin ise Trampito ile Şebin çeşidi (matrix değeri: 0,05) arasında olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada yer alan genotiplerin lokasyonları

Table 1. Locations of genotypes included in the study

Genotip Numarası	Lokasyon	İl	Genotip Numarası	Lokasyon	İl
1	Merkez	Uşak	29	Banaz	Uşak
3	Merkez	Uşak	31	Banaz	Uşak
4	Eşme	Uşak	33	Banaz	Uşak
6	Eşme	Uşak	35	Sivash	Uşak
7	Eşme	Uşak	37	Sivash	Uşak
9	Eşme	Uşak	41	Sivash	Uşak
10	Merkez	Uşak	46	Ulubey	Uşak
11	Merkez	Uşak	47	Ulubey	Uşak
14	Merkez	Uşak	54	Gediz	Kütahya
28	Banaz	Uşak	55	Çameli	Denizli

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan markör kombinasyonlarına ait baz uzunlukları, polimorfik bant sayıları ve polimorfizm oranları

Table 2. Base lengths, polymorphic band numbers and polymorphism ratios of marker combinations used in the study

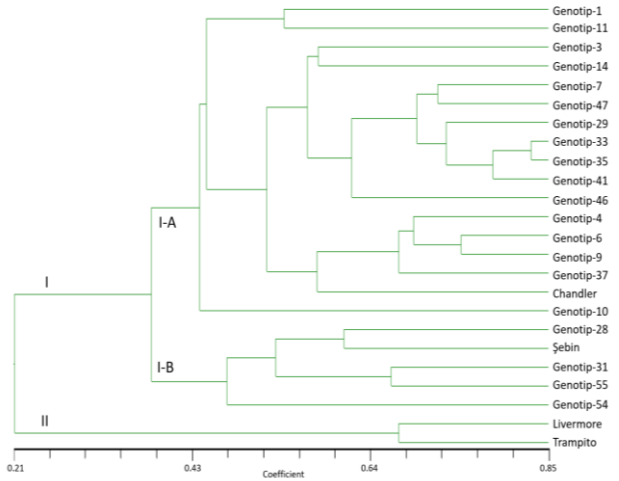
Markör Adı	Baz Uzunluğu (bp)	Toplam Bant Sayısı	Polimorfik Bant Sayısı	Polimorfizm Oranı (%)
Em1-me5	200-1100	7	5	71
Em2-me7	200-1500	16	12	75
Em3-me8	175-1400	12	10	83
Em3-me10	400-1300	6	3	50
Em4-me5	225-1200	7	7	100
Em6-me3	100-1500	11	11	100
Em6-me10	300-1300	14	9	64
Em7-me2	150-800	8	6	75
Em7-me3	200-700	8	5	63
Em7-me10	300-1400	12	10	83
Em7-me15	400-100	4	2	50
Em8-me5	200-1200	6	5	83
Em11-me5	900-100	2	2	100
Em12-me2	2800-1400	18	15	83
Em12-me7	225-1200	6	4	75
Em13-me5	275-1400	17	15	88
Em13-me7	225-1100	9	5	56
Em14-me5	325-700	3	2	67
Em15-me8	350-800	5	5	100
Ortalama	100-1500	9.0	7.0	77.2

Ülkemizde ceviz çeşit ve genotipleriyle yapılan çalışmalarda farklı moleküler markör teknikleri kullanılmıştır. Yapılan ilk çalışmada ülkemizin değişik bölgelerinden seçilen 21 ceviz çeşit ve genotipi arasındaki genetik ilişki AFLP ve SAMPL tekniği ile değerlendirilirken, benzerlik indeksinin 0,77 ile 0,99 arasında olduğu belirlenmiştir (Kafkas ve ark., 2005). Hatay ilinden seçilen 22 ceviz genotipinde AFLP markörleri ile yapılan bir çalışmada, genotiplerin 0,90 ile 1,00 arasında benzerlik indeksine sahip olduğu belirlenmiştir (Bayazit ve ark., 2007). 59 ceviz çeşit ve genotipinin RAPD, ISSR ve SSR olmak üzere farklı moleküler markör yöntemleriyle analiz edildiği bir çalışmada, tüm çeşit ve genotiplerin 0,54-0,91 arasında benzerlik indeksine sahip olduğu ve elde edilen dendrogramda çeşit ve genotiplerin 3 ana grupta kümelendiği saptanmıştır (Doğan ve ark., 2014). Kayseri yöresinden seçilen 50 ceviz genotipi arasındaki genetik benzerliğinin SRAP markör tekniği ile analiz edildiği ve benzerlik oranlarının 0,62-0,99 arasında yer aldığı Uzun ve ark. (2017) tarafından bildirilmiştir. Ülkemizin değişik bölgelerinden toplanan 47 ceviz çeşit ve genotipi arasındaki genetik benzerliğin ISSR tekniği ile belirlendiği bir çalışmada, genotiplerin benzerlik indeksi 0,21 ile 0,83

oranı arasında değişmiştir (Orman, 2018). Konya ilinden seçilmiş 8 genotip ile 9 yerli ve yabancı ceviz çeşidi arasındaki genetik benzerliğin ISSR tekniği ile analiz edildiği bir başka çalışmada, benzerlik oranının en düşük %49, en yüksek ise %89 olduğu bildirilmiştir (İpek ve ark., 2019). Çalışmalar arasında temel bazı farklılıkların olduğu görülmekle birlikte ortaya çıkan bu farklılık, ceviz genotiplerinin farklı bölgelerden elde edilmesi ve tohumdan çıkması nedeniyle genetik açılım göstermeleri sonucu geniş bir varyasyon oluşturması şeklinde açıklanabilir.

Çalışmada elde ettiğimiz sonuçlara göre, oluşan alt gruplar, genotiplerin alındığı coğrafi kökenlerine göre kısmen anlamlı olarak gruplanırken, genel olarak gruplarda karışık şekilde yer almıştır. Benzer şekilde, AFLP markörleri ile yapılan bir çalışmada, Hatay ilinden seçilen 22 ceviz genotipi kökenlerine göre gruplanmamıştır (Bayazit ve ark., 2007). Yine ISSR tekniği ile ülkemizin değişik bölgelerinden selekte edilen 47 ceviz genotipiyle çalışan Orman (2018), genotiplerin ekolojik orijinleri ile bağlantılı olabildiği gibi, bunlardan bağımsız olarak da ortaya çıkabildiğini tespit etmiştir. Öte yandan Doğan ve ark. (2014), Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan ceviz genotiplerinin kökenlerine göre gruplandırıldığını

belirtmiştir. Benzer şekilde Christopoulos ve ark. (2010) Yunanistan'ın farklı kesimlerinden toplanan ceviz genotipleri arasında önemli farklılıkların olduğunu ve genotiplerin kökenlerine göre gruplandığını ifade etmişlerdir. Diğer yandan Shah ve ark. (2016) Hindistan'ın Jammu ve Keşmir bölgelerinden toplanan ceviz genotipleri üzerinde SSR markörleri ile bir çalışma yürütmüş ve genotiplerin dendrogramdaki küçük gruplar halinde kümelendiğini belirtmiştir. Çalışmada yer alan mevcut genotipler, farklı coğrafik alanlardan toplanmıştır. Anadolu uzun yıllardır Asya ve Avrupa kıtaları arasında ticaret güzergahı olarak yer alırken, bu durum Türkiye'nin farklı bölgelerinden gelen ceviz genotiplerinin karışımıyla sonuçlanmıştır. Yabancı genotiplerin Türkiye'ye getirilmesi ceviz genotipleri arasındaki genetik çeşitliliği de artırmıştır. Benzer bir durumun, yine ticaret yolu üzerinde yer alan Yunanistan için de geçerli olduğu Ebrahimi ve ark. (2016) tarafından da bildirilmiştir. Mevcut çalışma geçmişte yapılan ceviz çalışmalarında olduğu gibi aynı orijine sahip genotiplerin bile tohumdan yetişmesi ve açıkta tozlanması nedeniyle geniş bir genetik varyasyona sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 1. SRAP markörleri ile ceviz genotiplerine ait dendrogram  
Figure 1. Dendrogram of walnut genotypes with SRAP markers

Sonuç olarak, SRAP markörlerinin ceviz türünde genetik ilişkinin belirlenmesinde yüksek polimorfizm sağladığı ve genotiplerin birbirinden ayrılmasında başvurulabilecek bir sistem olduğu öngörülmektedir. İslah çalışmalarında genetik popülasyonlar çok yüksek sayılara ulaşmaktadır. Mevcut materyaller içerisinde genetik farklılıkların veya benzerliklerin markörler aracılığıyla tespit edilmesi gerek iş gücü gerek ise zaman açısından son derece değerlidir. Çevreye uyum ve tarımsal özellikler baz alınarak genetik olarak birbirine uzak genotiplerin seçilmesi ve ıslah çalışmalarında kullanılması ile geniş bir varyasyon sağlanabilir. Uşak ilinde belirlenen ceviz materyalleri arasında genetik çeşitliliği artırmak için birbirine yakın genotipler yerine birbirine en uzak genotiplerin seçilmesi varyasyonu artırmaya yardımcı olacaktır. Diğer yandan bu çalışmaların bölgesel bazda yapılması adaptasyon açısından da değerlidir. Çalışmanın yapıldığı bölgelerde uzun yıllar yetişen bu genotiplerde, yeni çeşit adayı bireylerin bölge şartlarına adaptasyonunun sağlanmasını da olumlu yönde etkileyebileceği düşünülmektedir.

## Kaynaklar

- Ahmad F, Akram A, Farman K, Abbas T, Bibi A, Khalid S, Waseem M. 2017. Molecular Markers and Marker Assisted Plant Breeding. Current Status and their Applications in Agricultural Development. Journal of Environmental and Agricultural Sciences, 11: 35-50.
- Akcan S, Kafkas S, Sütyemez M, Akca Y, Eti S, Türemiş N. 2008. Kaman Cevizlerinde Apomiksis Olasılığının Dişi Çiçeklerin İzolasyonu ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması. Alatarım, 7 (1): 1-10.
- Bayazit S, Kazan K, Gulbitti S, Cevic V, Ayanoglu H, Ergul A. 2007. AFLP analysis of genetic diversity in low chill requiring walnut (*Juglans regia* L.) genotypes from Hatay. Turkey Scientia Horticulturae, 111 (4): 394-398. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.11.006>
- Christopoulos MV, Rouskas D, Tsantili E, Bebeli P. 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. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.05.006>
- Cocun E, Pinar H, Uzun A, Yaman M, Saritepe Y, Kokargul R, Aslan A, Altun OK. 2020. Morphological and biochemical characteristics to be used in identification of mulberry genotypes. Fresenius Environmental Bulletin 29(1): 79-84.
- Demir B, Sayıncı B, Çetin N, Yaman M, Çömlek R, Aydın Y, Sütyemez M. 2018. Elliptic Fourier based analysis and multivariate approaches for size and shape distinctions of walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. Grasas y Aceites, 69(4): 271. doi: <https://doi.org/10.3989/gya.0104181>
- Demir B, Yaman M, Çetin N. 2017. Tarımsal Biyokütle Enerjisine Hammadde Oluşturan Cevizin (*Juglans Regia* L.) Enerji Eşdeğeri". Bahçe 46 (Özel Sayı 2): 83-87.
- Dice LR. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species, Ecology 26, 297-302. doi: <https://doi.org/10.2307/1932409>
- Doğan Y, Kafkas S, Sütyemez M, Akca Y, Türemiş N. 2014. Assessment and characterization of genetic relationships of walnut (*Juglans regia* L.) genotypes by three types of molecular markers. Sci Hortic 168: 81-87.
- Doğan Y. 2006. Bazı Ceviz (*Juglans regia* L.) Çeşit ve Genotiplerinin Moleküler Markör Teknikleri ile Karakterizasyonu Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye.
- Doyle JJ, Doyle JL. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, 12: 13-15.
- Ebrahimi A, Zarei A, Lawson S, Woeste KE, Smulders MJM. 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, 12:114. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11295-016-1075-y>.
- Ercisli S. 2004. A short review of the fruit germplasm resources of Turkey. Genetic Resources and Crop Evolution, 51(4): 419-435. doi: <https://doi.org/10.1023/B:GRES.0000023458.60138.79>
- FAO, 2018. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT, Available from: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> [Accessed 14 April 2020]
- Fjellstrom RG, Parfitt DE. 1994 Walnut (*Juglans* spp.) Genetic Diversity Determined by Restriction Fragment Length Polymorphisms. Genome, 37: 690-700. doi: <https://doi.org/10.1139/g94-097>
- Fjellstrom RG, Parfitt DE. 1995 Phylogenetic Analysis and Evolution of Genus *Juglans* (*Juglandaceae*) as Determined from Nuclear Genome RFLPs. Plant Systematics and Evolution, 197: 19-32. doi: <https://doi.org/10.1007/BF00984629>

- Hayes D, Angove MJ, Tucci J, Dennis C. 2016. Walnuts (*Juglans regia*) chemical composition and research in human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(8): 1231-1241. doi: 10.1080/10408398.2012.760516
- 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: 149-156. doi: https://doi.org/10.1007/s10341-018-0411-9
- Iqbal J. 2019. Morphological, physiological and molecular markers for the adaptation of wheat in drought condition. *Asian Journal of Biotechnology and Genetic Engineering*, 1-13. DOI: 10.9734/AJBGE//2019/46253
- Kafkas S, Özkan H, Sütyemez M. 2005. DNA Polymorphism and Assessment of Genetic Relationships in Walnut Genotypes Based on AFLP and SAMPL Markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 130(4): 585-590.
- Kaya M. 2013. Uzundere'nin Cevizli Köyünde Yetişen Cevizlerin (*Juglans* spp.) Moleküler Karakterizasyonu. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye.
- Malvolti ME, Spada M, Beritognolo I, Cannata F. 1997. Differentiation of Walnut Hybrids (*Juglans nigra* L. x *Juglans regia* L.) through RAPD Markers. In: Gomez Pereira JA, Martins JMS, Pinto de Abreu C (editors). III International Walnut Congress, Alcobaca, Portugal, 13-16 June 1995, *Acta Horticulturae* 462, pp. 43-52. doi: 10.17660/ActaHortic.1997.442.4.
- Mantel N. 1967. The detection of disease clustering and generalized regression approach. *Cancer Research*, 27: 209-220.
- Mohammadi SA, Prasanna BM. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43(4): 1235-1248. doi: https://doi.org/10.2135/cropsci2003.1235
- Nicese FP, Hormaza JI, Mcgranahan GH. 1998. Molecular Characterization and Genetic Relatedness among Walnut (*Juglans regia* L.) Genotypes Based on RAPD Markers. *Euphytica*, 101: 199-206. doi: https://doi.org/10.1023/A:1018390120142
- Orman E. 2018. Bazı Yerli Ceviz (*Juglans regia* L.) Genotiplerinin Agromorfolojik ve Moleküler Olarak Tanımlanması. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye.
- Öztürk Hİ, Dursun A, Hosseinpour A, Haliloğlu K. 2020. Genetic diversity of pinto and fresh bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm collected from Erzincan province of Turkey by inter-primer binding site (iPBS) retrotransposon markers. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, vol.44, 417-427
- Pınar H, Yaman M, Sarısu HC, Uzun A, Yiğit MA. 2018. Bazı Kiraz Anaçlarının Genetik Akrabalık İlişkilerinin RAPD Moleküler Markır Yöntemi ile Belirlenmesi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 22(3): 326-334.
- Pınar H, Ercişli S, Bircan M, Ünlü M, Uzun A, Yılmaz KU, Yaman M. 2017. Morphological, Molecular, and Self-(In) Compatibility Characteristics of New Promising Apricot Genotypes. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 19: 365-376.
- Pınar H, Uzun A, Unlu M, Yaman M. 2019. Genetic Diversity in Turkish Banana (*Musa Cavendishii*) Genotypes with Damd Markers. *Fresenius Environmental Bulletin*, No.1, 459-463.
- Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalski A. 1996. The Comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) Markers for Germplasm Analysis. *Molecular Breeding*, 2: 225-38. doi: https://doi.org/10.1007/BF00564200
- Rohlf JF. 2000. NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Exeter Software, Setauket, New York.
- Shah UN, Mir JI, Ahmed N, Fazili KM. 2016. Assessment of germplasm diversity and genetic relationships among walnut (*Juglans regia* L.) genotypes through microsatellite markers. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(4):339-350. doi: https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.07.005
- Uzun A, Coşkun ÖF, Yaman M, Pınar H, Paris K. 2017. Identification of Genetic Similarities among Walnut (*Juglans regia* L.) Genotypes Selected from Central Anatolia Region of Turkey with SRAP Markers. *Alatırım*, 26-34.
- Uzun A, Çil A, Yaman M, Coşkun ÖF. 2020 Genetic Diversity and Some Fruit Characteristics of Quince Genotypes Collected from Kayseri Region. *Turkish Journal of Agriculture Food Science and Technology*, 8(2): 318-323. doi: https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i2.318-323.3012
- Uzun A, Yesiloglu T, Aka-Kacar Y, Tuzcu O, Gulsen O. 2009. Genetic diversity and relationships within *Citrus* and related genera based on sequence related amplified polymorphism markers (SRAPs). *Scientia Horticulturae* 121 (3): 306-312. doi: https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.02.018
- Woeste K, Mcgranahan GH, Bernatzky R. 1996. Randomly Amplified Polymorphic DNA Loci from A Walnut Backcross (*Juglans hindsii* x *Juglans regia*) x *Juglans regia*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121(3): 358-361.
- Yaman M, Şekerci AD, Uzun A, Say A. 2017. Walnut production potential of Kayseri province. *Bahçe*, 46(2): 129-132.
- Yıldız E, Okatan V, Çolak AM, Türk MU. 2017. Vegetative and Phenological Characteristics of Promising Walnut (*Juglans regia* L.) Genotypes in Uşak (Turkey) Province. *The Eurasian Agriculture and Natural Sciences Congress*, 20-23 September 2017. Bishkek, Kyrgyzstan, 18-24.
- Yıldız E, Okatan V, Çolak AM, Türk MU. 2019. İç Ege Bölgesinden (Uşak) Seçilen Ümitvar Ceviz Genotiplerinin Tartılı Derecelendirme Yöntemine Göre Değerlendirilmesi. *V. International Congress on Vocational and Technical Sciences*. 24-27 January 2019, Cairo, Egypt, 73-78.
- Yıldız E, Sumer G. 2019. Adaptation of Some Local and Foreign Walnut Cultivars (*Juglans regia* L.) under Inner Aegean Region/Turkey Ecological Conditions. *Fresenius Environmental Bulletin*, 28(7): 5206-5211.
- Zhao H, Bai H, Jing Y, Li W, Yin S, Zhou H. 2017 A pair of taxifolin-3-O-arabinofuranoside isomers from *Juglans regia* L. *Natural Product Research*, 31(8): 945-950. doi: https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1258554