

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Serkan AKCAN

**KAMAN CEVİZLERİNDE APOMİKSİS OLASILIĞININ MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2007

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KAMAN CEVİZLERİNDE APOMİKSİS OLASILIĞININ MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

Serkan AKCAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez 15/11/2007 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği İle Kabul Edilmiştir.

İmza.....	İmza.....	İmza.....
Prof. Dr. Salih KAFKAS	Prof.Dr. Nurgül TÜREMİŞ	Doç.Dr. Hakan ÖZKAN
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (**Proje No:ZF2006YL25**) ve TÜBİTAK-TOVAG (**Proje No: 104O139**) Tarafından Desteklenmiştir.

NOT:Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirimlerin, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir

ÖZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KAMAN CEVİZLERİNDE APOMİKSİS OLASILIĞININ MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

Serkan AKCAN

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman : Prof. Dr. Salih KAFKAS

Yıl : 2007, Sayfa: 76

Jüri : Prof. Dr. Salih KAFKAS

Prof.Dr. Nurgül TÜREMİŞ

Doç.Dr. Hakan ÖZKAN

Bu çalışma Kaman cevizlerinde apomiksiz olasılığını moleküler markörleri kullanarak ortaya çıkarmayı amaçlamıştır. Çalışmanın materyalini apomiktik olarak ceviz fidanı üretimi yapan iki farklı fidan üreticisinden alınan Kaman-1 ve Kaman-5 genotiplerine ait 40 adet bitki ile apomiktik olduğu belirtilen fidanlarla önceden kurulmuş ve kısmen meyve vermeye başlamış 20 ağaç ve orijinal Kaman-1 ve Kaman-5 genotipleri oluşturmuştur. Böylece projede toplam 62 genotip kullanılmıştır. Araştırmada moleküler markör yöntemlerinden ISSR ve SRAP teknikleri kullanılmıştır. ISSR yönteminde 15 adet polimorfik primer kullanılmıştır. SRAP tekniği ise cevizde ilk defa bu çalışmada kullanılmış olup taranan 120 primer kombinasyonu arasından seçilen 10 primer kombinasyonu bu çalışmada kullanılmıştır. Uygulanan 10 adet SRAP primeri toplam 185 adet bant üretmiş olup, bunun 100 adedinin polimorfik olduğu belirlenmiştir. ISSR analizlerinde 15 adet primer 200 adet bant vermiş olup, bunların 122 adedinin polimorfik olduğu belirlenmiştir. Tüm Kaman1 ve Kaman-5 genotipleri arasındaki genetik benzerlik indeksleri 0.60 ile 0.93 arasında değişmiştir Böylece aşısız olarak ve apomiktik olduğu iddia edilerek satılan ceviz fidanlarının apomiktik olmadıkları sonucu ortaya çıkmıştır. ISSR yönteminin SRAP tekniğine göre birbirine yakın ceviz genotiplerini daha iyi ayırdığı belirlenmiştir. Ayrıca ISSR ile SRAP genetik benzerlik katsayıları arasındaki korelasyon düşük (0.22) bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Ceviz, SRAP, ISSR, Genetik çeşitlilik, *Juglans regia*.

ABSTRACT

MSc THESIS

DETERMINATION OF APOMIXIS POSSIBILTY IN KAMAN WALNUT GENOTYPES

Serkan AKCAN

**DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
INSTITUTE OF BASIC AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF CUKUROVA**

**Supervisor : Prof. Dr. Salih KAFKAS
Year : 2007, page: 76
Jury : Prof. Dr. Salih KAFKAS
Prof. Dr. Nurgül TÜREMİŞ
Assoc. Prof. Hakan ÖZKAN**

It is aimed to expose possibility of apomixis in Kaman walnut genotypes by molekuler markers in this research. The plant materials in this study were 40 Kaman-1 and Kaman-5 seedlings obtained from two nurserymen who produce them as a apomictic and 20 trees planted previously as a apomictic that have partial nut production and orijinal Kaman-1 and Kaman-5 genotypes. Finally, 62 walnut plants were used in this project. SRAP and ISSR molekuler marker techniques were used in this study. Usage of SRAP marker was the first time in walnut and 10 primers produced totally 185 bands and 100 of them were polymorphic.while 15 ISSR primers amplified 200 bands and 122 of them were polymorphic. Genetic similarity coefficents among all Kaman-1 and Kaman-5 individuals changed between 0,60 and 0,93. As a result, this study demonstrated that non-grafted walnut seedlings sold as a apomictic in Kaman are not apomixis. In addition , ISSR markers differentiated walnut seedlings better than SRAP ones. Furthermore, the correlation between ISSR and SRAP genetic similarity matrices was foud very low (0,22).

Key Words : Walnut, SRAP, ISSR, Genetic diversity, *Juglans regia*.

TEŞEKKÜR

Öncelikle bana bu konuyu veren, araştırmaya yönlendiren ve bugüne kadar yapmış olduğumuz çalışmalarda yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, Yüksek Lisans'a başladığım günden itibaren çalışmalarına önder olan çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Salih KAFKAS'a yürekten teşekkürü borç bilirim. Tezin yürütülmesi aşamasında bilgisini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Çukurova Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü öğretim üyesi değerli hocam Doç. Dr. Hakan ÖZKAN'a, tezimin laboratuvar çalışmalarının yürütülmesinde maddi destek sağlayan TÜBİTAK-TOVAG grubuna ve Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine, Laboratuvar çalışmaları sırasında desteğini esirgemeyen değerli arkadaşım Zir. Yük. Müh. Yıldız DOĞAN'a, çok teşekkür ederim.

Bugüne kadar her zaman yanımda olan ve çalışmalarım sırasında maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli aileme (Mahmut AKCAN, Zeynep AKCAN ve Haluk AKCAN) yürekten sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
SİMGELER ve KISALTMALAR	XII
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	5
2.1. SRAP ve ISSR Markörleri İle İlgili Çalışmalar.....	5
2.2. Cevizlerde Moleküler Markör Teknikleri ile Yapılan Çalışmalar...	7
2.3. Apomiksis Kavramı Ve Cevizde Apomiksis Konusunda Yapılan	
Çalışmalar.....	9
2.3.1. Apomiksis.....	9
2.3.2. Cevizde Apomiksis İle İlgili Çalışmalar.....	10
2.3.3. Diğer bitki türlerinde apomiksisin belirlenmesi ile ilgili	
çalışmalar.....	12
3. MATERYAL ve METOT.....	14
3.1. Materyal.....	14
3.2. Yöntem	16
3.2.1. Yaprak örneklerinin toplanması.....	16
3.2.2. DNA izolasyonu.....	16
3.2.3. DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	17
3.2.4. ISSR analizleri.....	17
3.2.5. SRAP analizleri.....	19
3.2.6. Primerlerin Polimorfizm Oranlarının ve Bilgi	
İçeriklerinin Belirlenmesi	21
3.2.7. Primerlerin Ayırma Güçlerinin Belirlenmesi.....	21
3.2.8. Ceviz Genotipleri Arasındaki Genetik İlişkilerin	
	22

Belirlenmesi.....	
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	23
4.1. Cevizlerde Apomiksisin Ticari Olarak Üretimi Yapılan Fidanlarda Belirlenmesi.....	23
4.1.1. Kaman-1.....	23
4.1.2. Kaman-5.....	35
4.2. Cevizlerde Apomiksisin Tohumdan Çıkmış ve Meyve Vermeye Başlamış Ağaçlarda Belirlenmesi.....	48
4.2.1. Kaman-1.....	48
4.2.2. Kaman-5.....	55
4.3. ISSR ve SRAP Yöntemlerinin Polimorfizm ve Ayırma Gücü Bakımından Karşılaştırılması.....	61
4.4. ISSR ve SRAP Yöntemlerinden Elde Edilen Benzerlik İndeksleri Arasındaki Korelasyon.....	62
4.5. Apomiksisin Belirlenmesi İle İlgili Moleküler Çalışmaların Genel Değerlendirmesi.....	63
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	66
KAYNAKLAR.....	70
ÖZGEÇMİŞ.....	76

ÇİZELGELER DİZİNİ**SAYFA**

Çizelge 1.1	Dünya’da önemli ceviz üreticisi ülkelerin üretim değerleri	1
Çizelge 3.1	Denemede kullanılan fidan üreticilerinden alınan ceviz çöğürlerinin listesi.....	14
Çizelge 3.2	Tohumdan çıkmış ve meyve vermeye başlamış ağaçların listesi.....	15
Çizelge 3.3	Çalışmada kullanılan ISSR primerlerinin baz dizilimleri, baz sayıları ve ceviz DNA’sına PCR’da yapışma sıcaklıkları.....	18
Çizelge 3.4	Çalışma kapsamında kullanılan SRAP ileri primerleri.....	19
Çizelge 3.5	Çalışma kapsamında kullanılan SRAP geri primerleri.....	20
Çizelge 4.1	ISSR primerlerinin FidancıA’dan alınan Kaman-1 (FÜA-K1) genotiplerinde PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve ayırma gücü (AG) değerleri.....	25
Çizelge 4.2	ISSR primerlerinin FidancıB’den alınan Kaman-1 (FÜB-K1) genotiplerinde PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve ayırma gücü (AG) değerleri.....	26
Çizelge 4.3	SRAP primer çiftlerinin Fidancı A’dan alınan Kaman-1 (FÜA-K1) genotiplerinde PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve ayırma gücü (AG) değerleri.....	27
Çizelge 4.4	SRAP primer çiftlerinin FidancıB’den alınan Kaman-1 (FÜB- K1) genotiplerinde PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve ayırma gücü (AG) değerleri.....	28

Çizelge 4.5	Fidancı A'dan alınan Kaman-1 genotipinin çöğürlerinde ISSR analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.....	29
Çizelge 4.6	Fidancı A'dan alınan Kaman-1 genotipinin çöğürlerinde SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.....	29
Çizelge 4.7	Fidancı A'dan alınan Kaman-1 genotipinin çöğürlerinde ISSR ve SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.....	30
Çizelge 4.8	FidancıB'den alınan Kaman-1 genotipinin çöğürlerinde ISSR analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.....	32
Çizelge 4.9	FidancıB'den alınan Kaman-1 genotipinin çöğürlerinde SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.....	33
Çizelge 4.10	FidancıB'den alınan Kaman-1 genotipinin çöğürlerinde ISSR ve SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.....	33
Çizelge 4.11	ISSR primerlerinin FidancıA'dan alınan Kaman-5 (FÜA-K5) çöğürlerinde PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve ayırma gücü (AG) değerleri.....	37
Çizelge 4.12	ISSR primerlerinin FidancıB'den alınan Kaman-5 (FÜB-K5) çöğürlerinde PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve ayırma gücü (AG) değerleri.....	38
Çizelge 4.13	SRAP primer çiftlerinin FidancıA'dan alınan Kaman-5 (FÜA-K5) çöğürlerinde PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS),	39

	polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve ayırma gücü (AG) değerleri.....	
Çizelge 4.14	SRAP primer çiftlerinin FidancıB'den alınan Kaman-5 (FÜB-K5) çöğürlerinin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve ayırma gücü (AG) değerleri.....	40
Çizelge 4.15	Fidancı A'dan alınan Kaman-5 genotipinin çöğürlerinde ISSR analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.....	41
Çizelge 4.16	Fidancı A'dan alınan Kaman-5 genotipinin çöğürlerinde SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.....	41
Çizelge 4.17	Fidancı A'dan alınan Kaman-5 genotipinin çöğürlerinde ISSR ve SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.....	42
Çizelge 4.18	Fidancı B'den alınan Kaman-5 genotipinin çöğürlerinde ISSR analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.....	46
Çizelge 4.19	Fidancı B'den alınan Kaman-5 genotipinin çöğürlerinde SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.....	46
Çizelge 4.20	Fidancı B'den alınan Kaman-5 genotipinin çöğürlerinde ISSR ve SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.....	47
Çizelge 4.21	ISSR primerlerinin tohumdan çıkmış Kaman-1 (Tohum-K1) ağaçlarında PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve primerin ayırma gücü (AG) değerleri.....	50
Çizelge 4.22	SRAP primerlerinin tohumdan çıkmış Kaman-1 (Tohum-K1)	51

	ağaçlarında PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve primerin ayırma gücü (AG) değerleri.....	
Çizelge 4.23	Verime başlamış Kaman-1 ağaçlarında ISSR analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.....	52
Çizelge 4.24	Verime başlamış Kaman-1 ağaçlarında SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.....	52
Çizelge 4.25	Verime başlamış Kaman-1 ağaçlarında ISSR ve SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.....	52
Çizelge 4.26	ISSR primerlerinin tohumdan çıkmış Kaman-5 (Tohum-K5) ağaçlarında PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve primerin ayırma gücü (AG) değerleri.....	57
Çizelge 4.27	SRAP primerlerinin tohumdan çıkmış Kaman-5 (Tohum-K5) ağaçlarında PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve primerin ayırma gücü (AG) değerleri.....	58
Çizelge 4.28	Verime başlamış Kaman-5 ağaçlarında ISSR analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.....	58
Çizelge 4.29	Verime başlamış Kaman-5 ağaçlarında SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.....	59
Çizelge 4.30	Verime başlamış Kaman-5 ağaçlarında ISSR ve SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan	59

	genetik benzerlik indeksleri.....	
Çizelge 4.31	ISSR ve SRAP primerlerinden elde edilen toplam bant sayıları (TBS), primer başına düşen toplam bant sayısı (PBDTBS), polimorfik bant sayıları (PBS), primer başına düşen polimorfik bant sayısı (PBDPBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBI) ve primerin ayırma gücü (AG) değerleri.....	62
Çizelge 4.32	ISSR ve SRAP yöntemlerinden elde edilen genetik benzerlikler arasında yapılan Mantel kofenetik korelasyon testi sonuçları.....	63
Çizelge 4.33	Kaman-1 ve Kaman-5 genotiplerinde apomiksisin belirlenmesi ile ilgili yapılan moleküler çalışmaların genel özeti.....	64
Çizelge 4.34	Apomiksisin belirlenmesi ile ilgili yapılan moleküler çalışmalar kapsamında ISSR ve SRAP yöntemlerinin karşılaştırılması.....	65

ŞEKİLER DİZİNİ**SAYFA**

Şekil 3.1	“Size marker” olarak kullanılan, λ DNA’nın <i>EcoRI</i> ve <i>HindIII</i> kesim enzimleri ile hazırlanmış olan DNA’sı.....	19
Şekil 3.2	Me1-Em9, Me1-Em10, Me2-Em3, Me2-Em4 SRAP primerlerinin taramada kullanılan 6 Kaman cevizi genotipindeki amplifikasyonu	20
Şekil 4.1	19 Kaman-1 ceviz genotipinde ISSR 12.sıra ve UBC 853 no’lu ISSR primerinin amplifikasyon ürünleri.....	23
Şekil 4.2	FidancıA ve FidancıB’den alınan Kaman-1 ceviz çöğürlerinde SRAP Me3-Em9 primer çiftinin amplifikasyon ürünleri.....	24
Şekil 4.3	A fidan üreticisinden alınan çöğürlere ISSR tekniğinin uygulanması sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.	30
Şekil 4.4	A fidan üreticisinden alınan çöğürlere SRAP tekniğinin uygulanması sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.	31
Şekil 4.5	A fidan üreticisinden alınan çöğürlere ISSR ve SRAP tekniklerinden elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.....	31
Şekil 4.6	B fidan üreticisinden alınan çöğürlere ISSR tekniğinin uygulanması sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.	32
Şekil 4.7	B fidan üreticisinden alınan çöğürlere SRAP tekniğinin uygulanması sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.	34
Şekil 4.8	B fidan üreticisinden alınan çöğürlere ISSR ve SRAP tekniklerden elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.....	34
Şekil 4.9	23 FidancıA ve Fidancı B’den alınan Kaman-5 çöğürleri ile Kaman-5 ceviz genotipinde UBC 814 no’lu ISSR primerinin amplifikasyonu.....	36
Şekil 4.10	FidancıA ve FidancıB’den alınan Kaman-5 çöğürleri ile Kaman-5 ceviz genotipinde SRAP Me2-Em4 primer çiftinin amplifikasyonu.....	36

Şekil 4.11	A fidan üreticisinden alınan Kaman-5 çöğürlerine ISSR tekniğinin uygulanması sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.....	42
Şekil 4.12	A fidan üreticisinden alınan Kaman-5 çöğürlerine SRAP tekniğinin uygulanması sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.....	43
Şekil 4.13	A fidan üreticisinden alınan Kaman-5 çöğürlerine uygulanan ISSR ve SRAP teknikleri sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.....	44
Şekil 4.14	B fidan üreticisinden alınan Kaman-5 çöğürlerine ISSR tekniğinin uygulanması sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.....	44
Şekil 4.15	B fidan üreticisinden alınan Kaman-5 çöğürlerine SRAP tekniğinin uygulanması sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.....	45
Şekil 4.16	B fidan üreticisinden alınan Kaman-5 çöğürlerine ISSR ve SRAP tekniklerinin sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.....	47
Şekil 4.17	Tohumdan çıkmış ceviz genotiplerinde UBC 853 no'lu ISSR primerinin amplifikasyon ürünleri.....	48
Şekil 4.18	Tohumdan çıkmış Kaman-1 ceviz genotiplerinde SRAP Me3-Em1 primer çiftinin amplifikasyonu.....	49
Şekil 4.19	Tohumdan çıkmış ağaçlara ISSR tekniğinin uygulanması ve elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.....	53
Şekil 4.20	Tohumdan elde edilmiş ağaçlara SRAP tekniğinin uygulanması ve elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.....	54
Şekil 4.21	Tohumdan elde edilmiş ağaçlara ISSR ve SRAP tekniklerinin birlikte uygulanması ve elde edilen verilerin birlikte	54

	değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.....	
Şekil 4.22	Tohumdan çıkmış Kaman-5 ceviz genotiplerinde UBC 826 no'lu ISSR primerinin amplifikasyonu. Sırası ile çeşit ve genotiplerin isim listesi.....	55
Şekil 4.23	Tohumdan çıkmış Kaman-5 ceviz genotiplerinde SRAP Me2-Em4 primer çiftinin amplifikasyonu.....	56
Şekil 4.24	Tohumda elde edilmiş çöğür ağaçlarına ISSR tekniğinin uygulanması ve elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.....	60
Şekil 4.25	Tohumdan elde edilmiş çöğür ağaçlarına SRAP tekniğinin uygulanması ve elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.....	60
Şekil 4.26	Tohumdan elde edilmiş çöğür ağaçlarına ISSR ve SRAP tekniklerinin birlikte uygulanması ve elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi sonucu UPMGA analiziyle elde edilen soyağacı.....	61

SİMGELER ve KISALTMALAR

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
AG	: Ayırma Gücü
bç	: Baz Çifti
CTAB	: Setil Trimetil Amonyum Bromit
dk	: Dakika
dATP	: Deoksi Adenozin Trifosfat
dCTP	: Deoksi Sitidin Trifosfat
dGTP	: Deoksi Guanozin Trifosfat
dTTP	: Deoksi Timidin Trifosfat
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetikasit
EST	: Esteraz
HCl	: Hidroklorik Asit
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat
M	: Molar
MA	: Moleküler Ağırlık
MDH	: Malat Dehidrogenaz
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
NaCl	: Sodyum Klorür
Na ₂ S ₂ O ₅	: Sodyum Metabisülfid
ng	: Nanogram
PBI	: Polimorfizm Bilgi İçeriği
PBS	: Polimorfik Bant Sayısı
PBDTBS	: Primer Başına Düşen Toplam Bant Sayısı
PBDPBS	: Primer Başına Düşen Polimorfik Bant Sayısı
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PGM	: Fosfoglukomutaz

PO	: Polimorfizm Oranı
PRO	: Peroksidaz
PVP	: Polivinilpirolidon
QTL	: Kantitatif Özellik Lokusu
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic Dna
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
rpm	: Revolutions Per Minute
SAMPL	: Selective Amplification Of Microsatellite Polymorphic Loci
SRAP	: Sequence Related Amplified Polymorphism
SSR	: Simple Sequence Repeat
Taq	: <i>Thermus Aquaticus</i>
TBE	: Tris/Borat/EDTA (Tampon Çözeltilisi)
TBS	: Toplam Bant Sayısı
Tris	: Tris (Hidroksil Metil) Aminometan
Tris-HCl	: Tris Hidroklorür
UPGMA	: Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Average
UBC	: University Of British Columbia
UV	: Ultraviolet
µM	: Mikromolar
µl	: Mikrolitre
λ DNA	: Lamda Deoksiribonükleik Asit

1. GİRİŞ

Dicotyledoneae sınıfı, *Juglandales* takımı, *Juglandaceae* familyası, *Juglans* cinsinden olan cevizin; en çok *J. regia* türünün ticareti ve kültürü yapılmaktadır (**Manning, 1978**). *J. Regia* türü, **Şen (1986)**'e göre Karpat dağlarından güneyden itibaren Doğu Avrupa ve Türkiye, Irak, İran'ın doğusundan ve Himalaya dağlarının ötesinde kalan ülkeleri içeren geniş bir alanın tabii bitkisidir. Vavilov, cevizin orijin merkezlerinin Orta Asya ve Yakın Doğu olduğunu bildirmiştir.

Ceviz üretiminde Türkiye, dünyada önemli bir konumdadır. Ülkemizin hemen hemen her bölgesinde ceviz yetiştiriciliği yapılmaktadır. 2005 yılı istatistiklerine göre, dünyada önemli ceviz üreticisi olan ülkeler arasında sırayla Çin (420.000 ton), ABD (308.000 ton), İran (150.000 ton), Türkiye (133.000 ton) ve Ukrayna (70.000 ton) gelmektedir (**Faostat, 2005**).

Çizelge 1.1. Dünya'da önemli ceviz üreticisi ülkelerin üretim değerleri (**Faostat, 2005**).

SIRA	ÜLKELER	ÜRETİM (ton)	%
1	Çin	420.000	28.2
2	ABD	308.000	20.7
3	İran	150.000	10.1
4	TÜRKİYE	133.000	8.9
5	Ukrayna	70.000	4.7
6	Hindistan	31.500	2.1
	Diğer	379.067	25.3
	DÜNYA	1.491.567	100

Cevizin gen merkezleri arasında olan Türkiye, ceviz varlığı ile dünyada ilk sırada olmasına rağmen, üretim ve ihracatta maalesef istenilen yerde değildir. Ancak son on yılda ülkemizde ceviz yetiştiriciliğinde olumlu gelişmeler yaşanmaktadır. Son yıllarda aşılı ceviz üretiminin fidancılık içinde karlı üretim kolu haline gelmesi yüzlerce kişiyi aşılı ceviz fidanı üretimine teşvik etmiştir (**Akça, 2005**). 1996 yılı verilerine göre ülkemiz ceviz yetiştiriciliğinde 2001.7 kg/ha verim söz konusu iken ABD'de 2758.8kg/ha, İran'da ise 3163.3 kg/ha verim alındığı belirtilmektedir (**Akça, 2005**). Ülkemiz ceviz yetiştiriciliğinde verimin düşük olmasının nedenleri arasında, kapama plantasyonların olmaması, ekolojik koşullara uyan çeşit seçiminin

yapılmaması, hastalık ve zararlılarla mücadelenin yapılmaması, gübreleme ve budama gibi teknik uygulamaların tamamen ihmal edilmesi sayılabilir.

Cevizler monoik bitki özelliğine sahiptir, yani erkek ve dişi çiçek salkımları aynı ağaç üzerinde fakat farklı yerlerde bulunur. Bir önceki gelişme döneminin sürgünleri üzerinde bulunan yan tomurcukların gelişmesiyle 10-100 arası erkek çiçek içeren püsküller (kedicik) oluşurken, o yılki gelişme dönemine ait ilkbahar sürgünlerinin ucunda ise sayıları 1-12 arası değişen dişi çiçekler oluşur (**Şen, 1986**).

Türkiye’de çoğu tohumdan çıkmış, 4 milyon civarında ceviz ağacı bulunmaktadır. Çok fazla genetik açılım meydana geldiği için her bir ceviz ağacı ayrı bir genotip durumundadır. Islah açısından bakıldığında bu durum çok önemli olsa da, ihracatta bir yeknesaklık sağlama bakımından dezavantajdır. Bu şekilde ülkemizin dış pazarda rekabet şansı bulunmamaktadır (**Akça, 2005**). Türkiye’nin dünya ceviz ihracatında rekabet edecek güce gelmesinin tek yolu standart çeşitlerle kapama bahçeler kurmaktır. Ülkemiz ekolojik koşullarının bir çok tip ve çeşidimizin iç ceviz olarak tüketilmeye elverişli olması iç ceviz ihracatında ülkemize kolaylıklar sağlayacaktır. Gerek iç ceviz gerekse dış ceviz satımında Türkiye’nin en önemli sorunu standart çeşitlerle üretimin yapılmamasıdır. Bir çuval dolusu meyvelerin dahi birbirinden farklı olması, hatta 1 kg iç cevizde bile çok farklı tipte iç ceviz bulunması ülkemiz ceviz ihracatının önünü kapamaktadır (**Akça, 2005**).

Ceviz çeşitleri şans çöğürlerinden veya ıslah programlarından meydana gelmiştir. Islahçılar için bu çeşitlerin tanımlanması oldukça önemlidir. Ancak genetik çeşitliliği belirlemek için kullanılan morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal yöntemler çevresel faktörlerden etkilenmekte ve oldukça zaman almaktadır. DNA markör tekniklerinin geliştirilmesiyle farklı ekolojilerdeki genetik materyaller karakterize edilebilmektedir. Günümüzde RAPD, SSR, ISSR, AFLP ve SRAP gibi moleküler markör teknikleri bu amaçla yoğun bir şekilde kullanılmaktadır.

Birçok bitki türünde yapılan araştırmalarda SSR ve AFLP markör teknikleri polimorfizm bakımından, RAPD ve ISSR tekniklerinin maliyet bakımından, RFLP, SSR, ISSR ve AFLP işaretleyicilerinin ise tekrarlanabilirlik bakımından avantajlı oldukları belirlenmiştir. (**Pejic ve ark., 1998; Mignouna ve ark., 2003; Rana ve Bhat, 2004**).

Zietkiewicz ve ark. (1994) tarafından geliştirilen ISSR tekniği mikrosatellitler arasında kalan bölgeleri çoğaltmaktadır. Bu teknikte rastgele üretilmiş dinükleotid, tetranükleotid ve pentanükleotid tekrarlarına sahip primerler kullanılmaktadır. Maliyeti ve tekrarlanabilirliği yüksek olan ISSR tekniği antepfıstığı (**Kafkas ve ark., 2006**), buğday (**Nagaoka ve Ogiwara, 1997**) ve diğer bir çok kültür bitkisinde tür içi ve türler arası genetik varyasyonun belirlenmesinde başarı ile kullanılmıştır.

Ceviz çeşitlerinde genetik ilişkilerinin DNA seviyesinde saptanmasında ilk kullanılan teknik RFLP olmuştur (**Fjellstrom ve ark., 1994**). Sonraki yıllarda **Nicese ve ark. (1998)** yaptıkları çalışmada RAPD ve **Potter ve ark. (2002)** yaptıkları çalışmada ISSR, **Dangl ve ark. (2005)** SSR, **Kafkas ve ark. (2005)** ise AFLP ve SAMPL tekniklerini kullanmışlardır.

Ülkemizde yoğun aşılı ceviz fidanı talebini karşılamak için ceviz çöğürleri tırpanlanarak yeni süren sürgünlerin aşı sürgünü olarak tanıtılması ve bu gibi çöğürlerin aşılı ceviz fidanı olarak satılması yaygın olarak karşımıza çıkan bir sorundur. Üreticiler bu durumu ancak ağaçların uzun süre meyveye yatmamasından ve meyveye yatan ağaçların meyvelerinin birbirinden çok farklı olmasından anlamaktadırlar. Uzun yıllar sonra anlaşılan bu sorun, sadece üreticiye zarar vermekle kalmayıp aynı zamanda ülkemiz ceviz yetiştiriciliğine de büyük zararlar vermektedir.

Çiçekli bitkilerin üremesi belli başlı üç farklı şekilde olmaktadır: (1) yabancı döllenme yoluyla üreme, (2) kendine döllenme yoluyla üreme ve (3) eşeysiz üreme. Çok yıllık bitkiler bu üç yöntemi de kullanmaktadır. Eşeysiz üreme bakımından apomiksis, yani döllenme olmadan tohum oluşumu çoğu çiçekli bitkinin yaşam döngüsünün önemli bir özelliğidir (**Richards, 2003**).

Apomiksis yolu ile bitki eldesi, başta ceviz olmak üzere, vejetatif çoğaltılması zor veya mümkün olmayan bitki türlerinde, önemli genotiplerin daha hızlı, kolay ve pratik bir şekilde kitlesel çoğaltılıp yayılması bakımından çok önemlidir. Nitekim, son yıllarda aşılı ceviz fidanına olan talebi karşılamak üzere Kırşehir'in Kaman ilçesinde apomiktik olduğu iddia edilen genotiplere ait tohumlardan yetiştirilen bitkilerle yüzlerce dönüm kapama ceviz bahçeleri kurulmuştur. Ancak bu

genotiplerin gerçekten apomiktik özelliğe sahip olup olmadıkları henüz belirlenmemiştir. Bununla birlikte, son birkaç yıl içerisinde apomiktik oldukları iddia edilen fidanlarla kurulan bahçelerin aşı ile çeşit değiştirme işlemine tabi tutuldukları önemli bir gerçektir (**Akça, 2005**). Bu bakımdan halihazırda bu şekilde dağıtımı yapılan fidanların genetik olarak birbirlerinin aynı olup olmadıklarının belirlenmesi ülkemiz ceviz yetiştiriciliğinin şu anda vakit geçirmeden çözülmesi gereken en önemli sorunlarından birisidir. Aksi durumda, tohumdan çıkan ceviz ağacı sayısı kapama bahçeler şeklinde artış gösterecektir. Dağıtımı yapılan genotiplerin apomiktik özelliğe sahip olması durumunda ise cevizlerde çok ciddi bir sorun olan çoğaltma ve fidan üretiminde bir homojenlik sağlanacaktır. Bu nedenle, cevizlerde apomiksisin incelenerek durumun genetiksel olarak ortaya konulması, hem pratik açıdan hem de ileride yapılacak ıslah çalışmalarına da genetik bilgi sağlaması bakımından oldukça önemli olacaktır. Bu nedenle bu çalışmanın amacı:

- 1- SRAP moleküler markör tekniğini cevizde uyarlamak,
- 2- Ticari olarak apomiktik olduğu iddia edilerek satışı yapılan çöğürlerin, apomiktik olup olmadıklarını SRAP ve ISSR moleküler markör tekniklerini kullanarak DNA düzeyinde ortaya çıkarmak,
- 3- Apomiktik olduğu iddia edilen çöğürlerle kurulmuş olan bahçelerdeki apomiksis varsayımının SRAP ve ISSR tekniklerini kullanarak araştırmak,
- 4- SRAP ve ISSR tekniklerinin cevizde çok yakın akraba olan bireylerde ayırma gücünü araştırmak,
- 5- Cevizde ISSR ve SRAP tekniklerini karşılaştırmak,
- 6- Böylece cevizlerde yapılacak moleküler markör çalışmalarına alt yapı oluşturmaktır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ**2.1. SRAP ve ISSR Markörleri İle İlgili Çalışmalar**

SRAP tekniği PCR esasına dayalı bir tekniktir. Bu yöntemde ileri ve geri olmak üzere iki primer kullanılır. Birinci primer ileri (forward) primer olup 17 nükleotid uzunluğundadır ve ilk 14 nükleotit sabittir. Bu ilk 14 bazın son 4 bazı CCGG bazlarını içerir ve bu nedenle ileri primer çoğunlukla ekzon bölgelerine bağlanır. Ayrıca ileri primer 3' ucunda üç tane seçici baz içerir ve bu bazlar rastgele seçilebilirler. İkinci primer ise geri (reverse) primer olarak adlandırılır ve 18 baz uzunluğundadır. Bu primerde ise ilk 15 nükleotit sabittir. Bu ilk 15 bazın son 4 bazı AATT bazlarını içerir ve bu nedenle ileri primer çoğunlukla intron ve promotor bölgelerine bağlanır. Son üç baz yine seçici olup rastgele seçilir. Bu primer ise genotipte daha çok intron ve promotor bölgelerini çoğaltır **(Li ve Quiros, 2001)**.

ISSR tekniğinin temeli de PCR'a dayalıdır. Çoğunlukla dinükleotid veya trinükleotid tekrarlarından oluşan primerler kullanılır. Bu teknikte mikrosatellitler arasında kalan bölgeler çoğaltılmaktadır. Primerin 3' ucunda bulunan seçici bazlar polimorfizm açısından önemlidir. Primerin DNA'ya yapışma sıcaklığı her primer için ayrı ayrı belirlenir. **(Zietkiewicz ve ark., 1994)**.

Ferriol ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada, SRAP ve AFLP moleküler markör yöntemlerini kullanarak Avrupa ve Amerika'dan toplanan *Cucurbita pepo* ve *Cucurbita ovifera* alt türlerinden toplam 69 genotip kullanmışlardır. Çalışmada 11 adet SRAP primer kombinasyonu denenmiş ve toplam 88 bant elde edilmiştir. Elde edilen bantların 64'ünün (%72.7) polimorfizm gösterdiği ve baz uzunluklarının ise 154 bp ile 653 bp arasında değiştiği belirlenmiştir. AFLP yönteminde ise 6 primer kombinasyonu denenmiş ve toplam 478 bant elde edilmiştir. Elde edilen bantların 253 tanesinin (%53) polimorfik oluşu saptanmıştır. Sonuçta her iki markör sistemi karşılaştırılmıştır: genetik benzerliklerin SRAP yönteminde AFLP ye göre daha düşük olduğunu ve SRAP yönteminin yakın çeşitleri ayırma konusunda verdiği bilgilerin, AFLP yöntemin verdiği bilgilere göre daha güvenilir olduğunu bildirmişlerdir.

Budak ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada, çimde ISSR, SRAP, RAPD ve SSR moleküler markör yöntemleri kullanarak, filogenetik akrabalıklarını ve kökenlerini tespit etmişlerdir. Çalışmada 15 genotip kullanılmıştır. 46 adet ISSR primeri kullanılmış, 256 tane bant elde edilmiş, bunların 207 tanesinin (%81) polimorfizm gösterdiği saptanmıştır. 180 tane SSR primeri kullanılmış, 194 bant elde edilirken, bunun 168 tanesinin (%87) polimorfizm gösterdiği belirlenmiştir. 30 tane RAPD primeri kullanılmış, toplam 210 bant oluşmuş ve bu bantların 165 tanesinin (%79) polimorfizm gösterdiği belirlenmiştir. Son olarak çalışmada 34 SRAP primeri kullanılmış, toplam 263 bant elde edilirken, bunların 249 tanesinin (%95) polimorfizm gösterdiği belirlenmiştir. Sonuçta, SRAP yönteminin çim çeşitlerini ayırmada en yüksek polimorfizm gösteren yöntem olduğu saptanmıştır. Ayrıca benzerlik indeksleri arasında yapılan korelasyon analizleri sonucunda, SRAP yönteminin en çok RAPD yöntemine benzediği ($r=0.73$) ve en az ise SSR ($r=0.09$) ve ISSR ($r=0.10$) yöntemlerine benzediği belirlenmiştir.

Budak ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada *Buchloe dactyloides* (boğa otu) bitkisinde nükleer ve organel genomlarında ISSR, SSR, SRAP ve RAPD moleküler markör sistemlerini kullanarak, çeşitli bölgelerdeki boğa otlarının akrabalıklarını ve ploidi seviyelerini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar 20 boğa otu içerisinde diploid, tetraploid, pentaploid ve hekzaploid fertleri ISSR, SSR, SRAP, RAPD moleküler marker sistemleri ile karakterize etmişlerdir. ISSR kullanılarak 30 ile 38, SSR kullanılarak 28 ile 35, SRAP kullanılarak 31 ile 37 arasında allel tespit edilmiş olup SRAP yönteminin SSR ve ISSR yöntemleri ile benzer sonuçlar verdiği, fakat RAPD yöntemiyle yapılan çalışmada ploidi seviyeleri ile allel sayıları arasında herhangi bir ilişkinin saptanamadığı görülmüştür. Bu nedenle, poliploid genotiplerle yapılan çalışmalarda RAPD yönteminin kullanışlı olmadığı bildirilmiştir.

Guo ve Luo (2005), Trabzon hurmasında (*Diospyros kaki* Thunb.) SRAP analizleri ile Japon ve Çin'de bulunan hurma çeşitlerinin akrabalıklarını ortaya koymuşlardır. Çalışmada 10 Çin, 11 Japon çeşidi, 6 adet de bunlarla ilişkili çeşitler olmak üzere 27 çeşit materyal olarak kullanılmıştır. SRAP analizinde toplam 72 primer kombinasyonu denenmiştir. Toplam 136 bant elde edilmiş olup, bunlardan 110

tanisinin (%80) polimorfik olduğu görülmüştür. Primer başına ortalama 5.5 bant elde edilmiştir. Araştırmacılar SRAP yöntemi ile hurma genotiplerini kolaylıkla ayırabildiklerini, yöntemin yeni ve çok güçlü olduğunu bildirmişlerdir.

Lin ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada SRAP, SSR RAPD moleküler markör metodlarını kullanarak pamukta elyaf kalitesi için kantitatif özellik lokuslarının belirlenmesi üzerinde çalışmışlardır. Çalışmada 238 SRAP primer kombinasyonu, 368 SSR primeri ve 600 adet RAPD primeri kullanılmıştır. Çalışmada F2 populasyonu kullanılmıştır. Kullanılan SSR primerinin %34.2'si, RAPD primerlerinin %10.3'ü ve SRAP primer kombinasyonlarının %50.8'i polimorfik bant üretmiştir. Toplam 749 polimorfik lokus belirlenmiş ve bunların 437 tanesi SRAP (3.61 lokus / primer), 205 tanesi SSR ve 107 tanesi RAPD yöntemlerinden elde edilmiştir. Bulunan 749 polimorfik lokustan toplam 566 adeti (363 SRAP, 141 SSR, 62 RAPD) bağlantı haritası oluşturmada kullanılmıştır. Bağlantı haritasının oluşumunda SRAP %64.1, SSR %24.9 ve RAPD ise %11 oranında katkıda bulunmuştur. Elyaf kalitesini etkileyen toplam 13 QTL belirlenmiş ve bunların 10 tanesinin (%76) SRAP markörü olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar en fazla kantitatif özellik lokuslarının SRAP yönteminde bulunmasını bu yöntemin genle ilgili DNA bölgelerini çoğaltmasından kaynaklanmasına bağlamışlardır.

2.2. Cevizlerde Moleküler Markör Teknikleri ile Yapılan Çalışmalar

RFLP moleküler markör tekniği ile Kaliforniya'da Wolfskill araştırma bahçesinde yer alan, 48 ceviz (*J. regia*) genotipi arasındaki genetik ilişki belirlenmiştir. Çalışmada 21 RFLP probu kullanılmış, bunlardan 16 tanesi polimorfik bant vermiştir. Çalışma sonucunda Ashley ile Payne çeşitleri birbirinden ayırt edilememiş olup iki farklı grup oluşmuştur. Kaliforniya ceviz genetik kaynağının Nepal, Çin, Kore ve Japon ceviz genetik kaynaklarına daha az benzerlik gösterdiği, Fransa, İç Avrupa ve İran genetik kaynakları ile daha yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir (**Fjellstrom ve ark., 1994**)

Fjellstrom ve Parfitt (1994), yaptıkları çalışmada cevizlerde genetik haritalama çalışmasında kullanılmak üzere, *PstI* restriksiyon enzimi ile oluşturulmuş genomik kütüphanesi kullanılarak 48 lokusa sahip 32 RFLP probu geliştirilmiştir.

Bu proplar 63 adet (*J. hindsii* x *J. regia*)x *J. regia* melez bitkileri ve ebeveynleri kullanılarak kalıtıma bakılmıştır. Çalışmada 42 lokus ile 12 bağlantı grubu belirlenmiştir.

RAPD tekniği ile yapılan bir araştırmada (*J. hindsii* x *J. regia*) x *J. regia* melez bitkileri kullanılarak genetik haritalama çalışması yapılmıştır. 25 primer kullanılarak 66 markör belirlenmiştir. Bunların içerisinde yedi tanesi 1:1 Mendel açılımı göstermiş ve genetik haritalama için kullanılmıştır (Woeste ve ark., 1996).

RAPD moleküler markör tekniği ile yapılan diğer bir araştırmada, değişik ceviz melezleri ayırt edilebilmiş ve ebeveynleri belirlenebilmiştir. Araştırmada iki farklı *J. nigra*. x *J. regia* F1 melezleri ile (*J. nigra* x *J. regia*) x *J. nigra* ve (*J. nigra* x *J. regia*) x *J. regia* geri melez bitkileri kullanılmıştır. Önce 80 adet primer taranmış, bunlardan 25 adet polimorfizm gösteren primer RAPD analizlerinde kullanılmak üzere seçilmiştir. Yapılan RAPD analizleri sonucunda toplam 91 bant görülmüştür. Sonuç olarak araştırmacılar, RAPD tekniğinin cevizlerde ebeveynlerin belirlenmesinde ve F1 melezlerinin ayırt edilmesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Malvolti ve ark., 1997).

Kaliforniya Üniversitesi'nde RAPD tekniği kullanılarak yapılan araştırmada, 19 ceviz (*J. regia*) çeşidi ebeveyn olarak kullanılmış ve ıslah sonucu ortaya çıkan çeşitlerin karakterizasyonu ve genotipler arası genetik ilişkileri belirlenmiştir. Çalışmada 72 primer kullanılmıştır. Tüm primerler bant vermesine karşın, sadece 18 primer polimorfik bant üretmiştir. Çalışmada ebeveynler ve yavruları arasında ortak bantlar görülürken sadece yavru bitkilerde amplifike olan bantlara da rastlanmıştır. Araştırmacılar, RAPD yönteminin genotipler arasındaki genetik benzerliğin saptanması, yeni çeşitlerin tanımlanması, ebeveyn seçimi, ceviz ıslahı programları gibi konularda kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Nicese ve ark., 1998)

Kaliforniya'da Wolfskill araştırma bahçesinde yer alan 48 ceviz (*J. regia*) çeşidi arasındaki genetik ilişki ISSR moleküler markör tekniğini ile belirlenmiştir. Önce dört genotipte 47 primer taranmış ve en fazla polimorfizm gösteren 8 primer seçilmiştir. Bu sekiz primerin 48 ceviz çeşidinde amplifikasyonu sonucu 54 bant elde edilmiş ve bunların 31 tanesi (%57) polimorfizm göstermiştir. Çalışma sonucunda ISSR tekniğinin RAPD tekniği ile benzer maliyette fakat, daha fazla polimorfizme

sahip olduğu, ceviz çeşitlerinin tanımlanmasında ve ceviz genotipleri arasındaki genetik ilişkilerin belirlenmesinde kullanılabileceğini bildirilmiştir (**Potter ve ark., 2002**).

Woeste ve ark. (2002), *J. nigra* türünde çalışma yapmış, 30 adet (GA/CT)_n tekrarlanan baz dizilerini içeren SSR primerlerini geliştirmişlerdir. Bu primerlerin *J. nigra*'da genetik haritalama çalışmalarında, populasyon çalışmalarında, çeşitlerin karakterizasyonunda kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Ancak, araştırmacılar bu primerlerin *J. regia*'da çalışıp çalışmadığını test etmemişlerdir. **Foroni ve ark. (2005)** ile **Dangl ve ark. (2005)**, *J. nigra*'da geliştirilen SSR primerlerini *J. regia* çeşitlerinde uygulamışlar ve sırasıyla araştırmacılar 6 adet ve 14 adet olmak üzere toplam 20 adet SSR primerinin *J. regia* çeşitlerinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Kafkas ve ark. (2005b) yaptıkları çalışmada, Kahramanmaraş Sütçüimam Üniversitesi genetik kaynaklarında bulunan 21 ceviz çeşidinde AFLP ve SAMPL moleküler markör tekniklerini kullanarak çeşitler arasındaki genetik ilişkiyi incelemişlerdir. Çalışmada 6 AFLP primer kombinasyonu kullanılmış ve toplam 179 bant elde edilmiştir. Elde edilen bantların %49.9'unun polimorfik olduğu ve primer başına ortalama bant sayısının 29.8 olduğu belirlenmiştir. SAMPL moleküler markör analizinde ise 2 primer kullanılmış, 51 bant elde edilmiş ve bu bantların %50.9'unun polimorfik olduğu saptanmıştır. Çalışma sonucunda SAMPL moleküler markör tekniğinin birbiri ile yakın ilişkili çeşitleri ayırmada, AFLP yöntemine göre daha etkili olduğu bildirilmiştir.

2.3. Apomiksis Kavramı ve Cevizde Apomiksis Konusunda Yapılan Çalışmalar

2.3.1. Apomiksis

Apomiksis kavramı konusunda bugüne kadar birbirinden farklı tanımlamalar yapılmış olmasına karşın, günümüzde esas olarak döllenme olmadan tohumlu meyve oluşumu olarak adlandırılmaktadır. Sporofitik ve gametofitik apomiksis olmak üzere iki tipi mevcuttur. Adventif embriyoni olarak da adlandırılan sporofitik apomiksisde embriyolar embriyo kesesi dışındaki nusellus veya integumentler gibi sporofitik

hücrelerden meydana gelmektedir. Bu apomiksis tipinde embriyo kesesi oluşmamakta ve embriyo direk olarak sporofitik doku hücrelerinden oluşmaktadır.

Gametofitik apomiksisde ise oluşan diploid embriyo kesesi içerisindeki diploid yumurta hücresi gelişerek embriyoyu oluşturmaktadır. Döllenenmemiş yumurta hücresinden embriyo oluşumuna partenogenesis adı da verilmektedir. Gametofitik apomiksisin apospory ve diplospory olmak üzere iki tipi vardır. Diplosporide embriyo kesesi direk olarak veya durdurulmuş mayozdan sonra megaspor ana hücresinden mitozla oluşurken, aposporide embriyo kesesi nüseller hücrelerden meydana gelir. Apospory yüksek yapılı bitkilerde en yaygın apomiksis tipi olup, bazen çoklu embriyo kesesi varlığıyla karakterize edilmektedir. Eğer bir genotip hem apomiktik hem de döllenmiş tohum üretiyorsa buna fakültatif apomiksis denilmektedir. Endospermin oluşma şekline göre ise apomiksis pseudogamous ve autonomous olarak ikiye ayrılmaktadır. Pseudogamous tipinde apomiktik tohum eldesi için mutlaka tozlanma gereklidir. Çünkü embriyo tozlanma sonucu oluşan triploid endosperminden beslenmektedir. Autonomous tipte ise tozlanmaya gerek yoktur ve endosperm kendiliğinden meydana gelmektedir ve diploid yapıdadır (**Darrigues ve ark., 2003; Spielman ve ark., 2003; Agafonov ve ark., 2004**).

Apomiksis 35 familya'yı içine alan 300'den fazla bitki türünde belirlenmiştir. En başta gelen familyalar Poaceae, Asteraceae ve Rosaceae'dir (**Richards, 2003**).

2.3.2. Cevizde Apomiksis ile İlgili Çalışmalar

Cevizde apomiksis ile ilgili ilk bulgular **Nuth (1933), Chriffen (1960)** ve **Shanderl (1964)** tarafından rapor edilmiştir. Nuth dikogami gösteren ve izole edilen cevizlerin meyve verdiklerini gözlemlemiştir. Daha sonra Shanderl izole ettiği dişi çiçeklerden tozlama yapmadan meyve elde etmiş ve en iyi apomiktik genotipi 10 yıl sonra seçmiştir. Araştırmacı bu özelliğin Alman ve Macar çeşitlerinin genel karakteri olduğunu belirtmiştir (**Valdivieso, 1990**).

Sartorius ve Stösser'e (1997) göre cevizlerde apomiktik meyve tutumu konusunda ilk gözlem, eski Sovyetler Birliğinde 1949 yılında Zarubin tarafından yapılmıştır. Daha sonra Almanya'da 1964 yılında Schanderl, izolasyon yapılan çiçeklerden apomiktik meyve elde etmiştir. Nitekim literatüre bakıldığında, Portekiz

(Valdivieso, 1990), Rusya (Loiko, 1990), Almanya (Sartorius, 1990) ve ABD’de (Aly Mohammed ve ark., 1992) apomiktik ceviz genotiplerinin varlığından söz edilmektedir.

Shanderl’nin çalışmasına göre (Valdivieso, 1990), apomiktik embriyo normalde olduğu gibi embriyo kesesinin bulunduğu yerde oluşmamış ve apomiktik embriyo mikrofile yakın ve nusellus boşluğu ile mikrofil arasında yerleşmiştir. Bazen mikrofile çok yakın bazen de biraz uzak olan somatik embriyo direk olarak bir nusellus hücresinden meydana gelmiştir (adventif embriyonu). Araştırmacı, bundan sonraki apomiktik embriyo büyümesinin normal döllenmiş embriyo büyümesinden farklı olmadığını belirlemiştir. Buna göre, önce iki parçalı ovül büyümüş ve sonra dış integüment tarafından oluşturulan boşluğa girmiştir. Hızlı ovül büyümesi apomiktik embriyonun nusellus boşluğuna ulaşmasına yardımcı olmuş ve bu boşluktaki sıvı, embriyo tarafından kullanılarak normal döllenme sonucu oluşan endospermin yerini almıştır. Ancak araştırmacı, apomiktik meyve tutumunun yıllara göre %2.5 ile %57 arasında değiştiğini ve iklimsel koşullara bağlı olduğunu bildirmiştir.

Almanya’da Sartorius (1990) tarafından yapılan bir doktora çalışmasında apomiktik olduğu daha önce belli olan iki ceviz çeşidinde mekanizmayı belirlemek bakımından histolojik çalışmalar yapılmıştır. Apomiktik olmadığı bilinen bir çeşit daha çalışmaya ilave edilerek toplam üç çeşitte çiçeklerin bir kısmı açık tozlamaya bırakılmış diğer bir kısmı da bez torbalarla izole edilmiştir. İki yıl süresince yapılan bu çalışmada 1986 yılında %0.8-17.3 ve 1987 yılında ise %1.5-33.6 oranında meyve tutumu elde edilmiştir. Açık tozlamada meyve tutumu ise 1986 yılında %7.6-26.3 ve 1987 yılında ise %0-19.3 arası olmuştur. Yapılan histolojik çalışmalarda embriyo kesesi, embriyo kesesi ana hücresinden meydana gelmiş ve somatik bir nusellus hücresinden apospor embriyo kesesi oluşumu gözlenmemiştir. Apomiktik tohum taslaklarında apomayotik embriyo kesesi oluşumu diplospory yoluyla yani indirgenmemiş bir makrospordan meydana geldiği belirlenmiştir. Normal sekiz çekirdekli embriyo kesesi oluşumu gözlenmiş ancak izole edilen çiçeklerden embriyo her zaman için yumurta hücresinin bölünmesiyle yani partenogenesis yoluyla oluşmuştur. Bir istisna dışında adventif embriyonu oluşumuna rastlanmamıştır. Döllenmemiş ve bu nedenle dökülmüş olan yumurtalıklar içerisinde endosperm

çekirdeği oluşumu gözlenmiştir. Endosperm embriyonun varlığına bağlı olmaksızın kendiliğinden (otonom) olarak gelişim göstermiştir. Yapılan kromozom çalışmalarında hem apomiktik hem de apomiktik olmayan örneklerde endospermin diploid yapıda olduğu belirlenmiştir.

Aly Mohammed ve ark. (1992) tarafından yapılan çalışmada ceviz ovül dokularından elde edilen somatik embriyoların apomiktik veya zigotik mi oldukları izoenzim ve RFLP yöntemleri kullanılarak belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmada Cisco ve Sunland ceviz çeşitlerinin dişi çiçek salkımları izole edilmiş ve herhangi bir yapay tozlama çalışması yapılmamıştır. Izoenzim analizlerinde biri dışında tüm embriyolar ana bitki ile aynı bulunmuş, ancak RFLP analizleri embriyoların zigotik olduklarını göstermiştir. İzole edilen çiçeklerden zigotik embriyoların oluşması, ya tozlanmanın izolasyon işleminden önce gerçekleşmesi ve çiçek tozlarının çiçekler reseptif oluncaya kadar torba içinde canlı kalmasından veya iyi bir izolasyonun yapılmamasından kaynaklanabileceği belirtilmiştir.

2.3.3. Diğer Bitki Türlerinde Apomiksisi Belirlenmesi ile İlgili Çalışmalar

Bitkilerde apomiksisi belirlemek için araştırmacılar bugüne kadar fenotipik, sitolojik, biyolojik ve moleküler markörler kullanmışlardır (**Darrigues ve ark., 2003**). Bunların içerisinde moleküler markör teknikleri son yıllarda en çok kullanılan yöntemler olmuştur. Bu teknikler, değişik türlerde apomiksisi ve düzeyinin belirlenmesinde (**Nassar ve ark., 1998**), apomiksisi ile ilişkili markörün bulunmasında, kalıtımında ve haritalanmasında (**Ozias-Askins ve ark., 1993; 1998; Leblanc ve ark., 1995; Gustine ve ark., 1997; Grimanelli ve ark., 1998; Spillane ve ark., 2001**) kullanılmışlardır.

Manyok (*Monihot esculenta*) bitki türünde **Nassar ve ark. (1998)** tarafından yapılan moleküler çalışmada apomiktik olduğu düşünülen iki genotipe ait açık tozlama ile elde edilmiş toplam 67 yavru bitkide RAPD yöntemi kullanılarak yavru bitkiler ile ana bitkiler arasındaki benzerliklere bakılmıştır. Araştırmada 24 adet polimorfik RAPD primeri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, yavru bitkilerin %2 oranında ana bitkinin aynısı olduğunu göstermiştir. Araştırmacılara göre, apomiktik

olan bitkilerin ana ile aynı RAPD bantları üretmesi gerektiği ve yavru bitkiler ile ana bitki arasında polimorfizm görülmesinin bu tip bitkilerin apomiktik değil, zigotik olduklarını gösterdiğini bildirmişlerdir.

Pessino ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada, *Brachiaria* hibritlerinde apomiksis ile ilgili beş marker saptayabilmişlerdir. Normalde diploid yapıdaki *Brachiaria ruziziensis* kolhisin ile muamele edilerek tetraploid hale getirmiş ve apomiktik olan *Brachiaria brizantha* çeşidi ile melezleme sonucu 43 tane F1 bitkisi elde edilerek populasyon oluşturulmuştur. Çalışmada 25 RFLP probu ve 46 AFLP markörü üretilmiş, Bunlardan üç tane RFLP markörünün ve iki tane AFLP markörünün apomiksis ile ilişkili oluğu saptanmıştır.

Zeng ve ark. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada, *Woonyoungia septentrionalis* türünün apomiktik özelliğe sahip olup olmadığı iki genotipte çiçeklerin izole edilmesi, yapay tozlama ve doğal tozlanma uygulamalarıyla belirlenmeye çalışılmıştır. Araştırmacılar, meyve tutma oranı, tohum oluşturma oranı ve tohumların çimlenme durumlarını incelemişlerdir. Tüm uygulamalarda elde edilen bulguların birbirine benzer bulunması nedeniyle araştırmacılar bu türde fakültatif apomiksisin varlığını işaret etmişlerdir.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

Apomiksisi belirlemek amacıyla apomiktik olarak ceviz fidanı üretimi yapan iki farklı fidan üreticisinden Kaman-1 ve Kaman-5 olarak satışı yapılan toplam 40 adet bitki (**Çizelge 3.1**) ile apomiktik olduğu belirtilen tohumlarla (Kaman-1 ve Kaman-5) önceden kurulmuş ve kısmen meyve vermeye başlamış 20 ağaç denemenin materyalini oluşturmuştur (**Çizelge 3.2**). Bu araştırmada ayrıca Kaman-1 ve Kaman-5 genotiplerinin ana ağaçları da kontrol olarak kullanılmıştır. Böylece toplam 62 adet bitki bu çalışmada materyal olarak kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan fidan üreticilerinden alınan ceviz çöğürlerinin listesi.

Sayı	Fidan Üreticisi	Genotip	Bitki No	Kod	Kısaltma
1	A	Kaman-1	1	FÜA-K1-1	A1
2	A	Kaman-1	2	FÜA-K1-2	A2
3	A	Kaman-1	3	FÜA-K1-3	A3
4	A	Kaman-1	4	FÜA-K1-4	A4
5	A	Kaman-1	5	FÜA-K1-5	A5
6	A	Kaman-1	6	FÜA-K1-6	A6
7	A	Kaman-1	7	FÜA-K1-7	A7
8	A	Kaman-1	8	FÜA-K1-8	A8
9	A	Kaman-1	9	FÜA-K1-9	A9
10	A	Kaman-1	10	FÜA-K1-10	A10
11	A	Kaman-5	1	FÜA-K5-1	B1
12	A	Kaman-5	2	FÜA-K5-2	B2
13	A	Kaman-5	3	FÜA-K5-3	B3
14	A	Kaman-5	4	FÜA-K5-4	B4
15	A	Kaman-5	5	FÜA-K5-5	B5
16	A	Kaman-5	6	FÜA-K5-6	B6
17	A	Kaman-5	7	FÜA-K5-7	B7
18	A	Kaman-5	8	FÜA-K5-8	B8
19	A	Kaman-5	9	FÜA-K5-9	B9
20	A	Kaman-5	10	FÜA-K5-10	B10
21	B	Kaman-1	1	FÜB-K1-1	A11
22	B	Kaman-1	2	FÜB-K1-2	A12
23	B	Kaman-1	3	FÜB-K1-3	A13
24	B	Kaman-1	4	FÜB-K1-4	A14
25	B	Kaman-1	5	FÜB-K1-5	A15
26	B	Kaman-1	6	FÜB-K1-6	A16

Çizelge 3.1'in devamı.

Sayı	Fidan Üreticisi	Genotip	Bitki No	Kod	Kısaltma
27	B	Kaman-1	7	FÜB-K1-7	A17
28	B	Kaman-1	8	FÜB-K1-8	A18
29	B	Kaman-5	9	FÜB-K5-1	B11
30	B	Kaman-5	1	FÜB-K5-2	B12
31	B	Kaman-5	2	FÜB-K5-3	B13
32	B	Kaman-5	3	FÜB-K5-4	B14
33	B	Kaman-5	4	FÜB-K5-5	B15
34	B	Kaman-5	5	FÜB-K5-6	B16
35	B	Kaman-5	6	FÜB-K5-7	B17
36	B	Kaman-5	7	FÜB-K5-8	B18
37	B	Kaman-5	8	FÜB-K5-9	B19
38	B	Kaman-5	9	FÜB-K5-10	B20
39	B	Kaman-5	10	FÜB-K5-11	B21
40	B	Kaman-5	11	FÜB-K5-12	B22

Çizelge 3.2. Tohumdan çıkmış ve meyve vermeye başlamış ağaçların listesi.

Sayı	Kaynak	Genotip	Bitki no	Kod	Kısaltma
1	Tohum	Kaman-1	1	Tohum-K1-1	A19
2	Tohum	Kaman-1	2	Tohum-K1-2	A20
3	Tohum	Kaman-1	3	Tohum-K1-3	A21
4	Tohum	Kaman-1	4	Tohum-K1-4	A22
5	Tohum	Kaman-1	5	Tohum-K1-5	A23
6	Tohum	Kaman-1	6	Tohum-K1-6	A24
7	Tohum	Kaman-1	7	Tohum-K1-7	A25
8	Tohum	Kaman-1	8	Tohum-K1-8	A26
9	Tohum	Kaman-1	9	Tohum-K1-9	A27
10	Tohum	Kaman-1	10	Tohum-K1-10	A28
11	Tohum	Kaman-5	1	Tohum-K5-1	B23
12	Tohum	Kaman-5	2	Tohum-K5-2	B24
13	Tohum	Kaman-5	3	Tohum-K5-3	B25
14	Tohum	Kaman-5	4	Tohum-K5-4	B26
15	Tohum	Kaman-5	5	Tohum-K5-5	B27
16	Tohum	Kaman-5	6	Tohum-K5-6	B28
17	Tohum	Kaman-5	7	Tohum-K5-7	B29
18	Tohum	Kaman-5	8	Tohum-K5-8	B30
19	Tohum	Kaman-5	9	Tohum-K5-9	B31
20	Tohum	Kaman-5	10	Tohum-K5-10	B32

3.2. Yöntem

3.2.1. Yaprak Örneklerinin Toplanması

Çöğürlerden ve ağaçlardan alınan yaprak örnekleri ayrı ayrı kese kağıtlarına konduktan sonra buz kutusu içerisinde laboratuvara ulaştırılmıştır. Yaprak örnekleri %50'lik alkolle yıkanıp kurutulduktan sonra sıvı azot (-196 °C) ile muamele edilmiş ve DNA izolasyonuna kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. DNA İzolasyonu

DNA ekstraksiyonu için laboratuvarında düzenli olarak cevizlerde uygulanmakta olan, **Doyle ve Doyle'nin (1987)** geliştirdiği ve **Kafkas ve ark'nın (2005b)** modifiye ettiği yöntem uygulanmıştır.

Bu yöntemde; 0.5 g genç yaprak örneği alınarak, bir miktar sıvı azot ile havanda iyice ezilmiş olup, 1.5 mililitrelik üç adet eppendorf tüpe eşit miktarda konulduktan sonra her bir eppendorf tüp içerisine 0.7 ml CTAB tampon çözeltisi (100 mM Tris-HCl, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, %2 CTAB, %2 PVP, β -mercaptoethanol, %0.1 Na₂S₂O₅) ilave edilmiştir. Daha sonra ise 65°C'de sıcak su banyosuna konulmuştur.

Sıcak su banyosuna alınan eppendorf tüpler 10 dk. arayla çalkalanmıştır ve bu işlem 60 dk. boyunca devam etmiştir. Sıcak su banyosundan sonra eppendorf tüpler oda sıcaklığında 5-10 dk. bekletildikten sonra her bir tüpün içerisine ekstraksiyon buffer ile 0.7 ml kloroform:isoamyl alkol (24 : 1) ilave edilmiştir. Bu aşamadan sonra tüpler 15 dk. boyunca her 3 dakikada bir çalkalanmış olup daha sonra 15 dk. süre ile 13.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda tüplerin üst fazları yeni eppendorf tüplere aktararak DNA çökmesi için üzerlerine soğuk isopropanol ilave edilmiştir. DNA çökmesi soğuk ortamlarda daha iyi gerçekleştiği için eppendorf tüpler -70 °C'de 2 saat bekletilmiş olup bu süre sonunda 10 dk süre ile 10.000 rpm'de santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sayesinde DNA tüplerin dibine çökelmiş ve üstte bulunan isopropanol ise boşaltılmıştır. Bu işlemten sonra tüplerin içerisine 0.5 ml %76'luk etanol ilave edilerek yıkama işlemine geçilmiştir. Etanol

eklenen tüpler +4 °C'de 2 saat bekletildikten sonra kurumaya alınmıştır. Kurutulan DNA saf suda çözülerek izolasyon tamamlanmıştır.

3.2.3. DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Moleküler markör analizlerinin uygulanmasından önce DNA konsantrasyonunun belirlenmesi PCR reaksiyonu açısından oldukça önem arz etmektedir. Çalışmada DNA konsantrasyonunu ayarlarken %0.8'lik agaroz jel konsantrasyonu kullanılmış olup, her bir Kaman Cevizi genotipinin DNA konsantrasyonu, konsantrasyonu belli olan λ DNA ile karşılaştırılmak suretiyle tahmini olarak 5 ng/μl ayarlanmıştır.

Öncelikle her bir Kaman cevizi genotipinden izole edilen ve saf suda çözdürülen DNA'dan 2 μl, yükleme boyasından 4 μl ve saf sudan 14 μl alınmak suretiyle 20 μl'lik örnekler hazırlanmış olup, bu örneklerin 10 μl'si %0.8'lik konsantrasyonda hazırlanmış agaroz jel üzerinde bulunan yuvalara yüklenmiştir. Elektroforezde 45 dakika 90 voltta koşturma işlemi yapılmış olup UV ışığı altında jelin resmi alınmıştır. Agaroz jele yüklenen konsantrasyonu belli λ DNA'lar (25ng-50ng-100ng-200ng) ile cevizleri genotipleri DNA'ları karşılaştırılarak her bir genotipten elde edilen stok DNA'nın konsantrasyonu tahmin edilmiştir. PCR analizlerinde 5 ng/μl DNA konsantrasyonu kullanılmıştır. Bu aşamada her bir örneğin konsantrasyonu stok DNA'ların konsantrasyonu baz alınarak 5 ng/μl olacak şekilde ayarlanmıştır. Ayarlanan örnekler tekrar %0.8'lik konsantrasyonda agaroz jelde bulunan kuyucuklara yüklenerek 90 voltta 45 dakika koşturulmuş ve UV altında resimleri çekilmiştir. Tahmini olarak 5 ng/μl'den fazla olanlara saf su, az olanlara ise stok DNA'dan eklenerek tüm örneklerin konsantrasyonu 5 ng/μl'ye ayarlanmıştır.

3.2.4. ISSR Analizleri

ISSR analizleri **Zietkiewicz ve ark. (1994)**'nın geliştirdiği ve **Doğan'ın (2006)** cevize uyarladığı yöntemle göre yapılmıştır. Buna göre 25 μl amplifikasyon reaksiyonu 75 mM Tris-HCl, pH=8.8, 20 mM (NH₄)₂SO₄ 2 mM MgCl₂, 0.1% Tween

20, 100 μ M dATP, 100 μ M dTTP, 100 μ M dGTP, 100 μ M dCTP, 0.2 μ M primer, 1.0 unite Taq DNA polymerase ve 10 ng DNA içermiştir. Sıcaklık ve döngü koşulları olarak, 94⁰C’de 2 dk. ön denatürasyon işleminden sonra, 35 döngü boyunca örnekler denatürasyon için 94 ⁰C’de 1 dk, primerin DNA’ya yapışması için primere göre değişmek üzere 40-60 ⁰C’de 1 dk, ve uzama safhası için 72 ⁰C’de 2 dk. tutulmuşlardır. Ayrıca, örnekler son uzama safhası için 72 ⁰C’de 10 dk. bekletilmişlerdir.

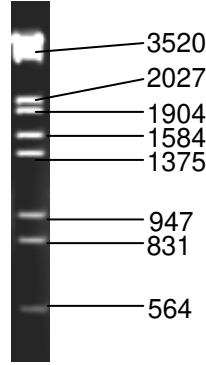
Araştırmada primer olarak ise daha önce **Doğan (2006)** tarafından polimorfik olduğu belirlenen 15 primer kullanılmıştır (**Çizelge 3.3**). Bu primerlerin baz dizilimleri farklı olduğu için kalıp DNA’ya yapışma sıcaklıkları da (annealing) farklıdır. Bu sıcaklıklar **Kafkas ve ark. (2006)** tarafından yapılan bir çalışmada belirlenmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan ISSR primerlerinin baz dizilimleri, baz sayıları ve ceviz DNA’sına PCR’da yapışma sıcaklıkları.

No	Kod	Baz dizilimi (5’ – 3’)	Baz Sayısı	DNA’ya Yapışma Sıcaklıkları(°C)
1	UBC 808	AGA GAG AGA GAG AGA GC	17	52
2	UBC 810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	17	50
3	UBC 811	GAG AGA GAG AGA GAG AC	17	52
4	UBC 814	CTC TCT CTC TCT CTC TA	17	50
5	UBC 815	CTC TCT CTC TCT CTC TG	17	52
6	UBC 823	TCT CTC TCT CTC TCT CC	17	52
7	UBC 826	ACA CAC ACA CAC ACA CC	17	52
8	UBC 829	TGT GTG TGT GTG TGT GC	17	52
9	UBC 834	AGA GAG AGA GAG AGA GYT	18	52
10	UBC 846	CAC ACA CAC ACA CAC ART	18	54
11	UBC 853	TCT CTC TCT CTC TCT CRT	18	52
12	UBC 854	TCT CTC TCT CTC TCT CRG	18	54
13	UBC 855	ACA CAC ACA CAC ACA CYT	18	52
14	UBC 856	ACA CAC ACA CAC ACA CYA	18	52
15	UBC 858	TGT GTG TGT GTG TGT GRT	18	52

Elde edilen PCR ürünleri 0.5 x TBE tampon çözeltisinde (89 mM Tris-Cl, 89 mM borik asit, 20 mM EDTA) %1.8’lik agaroz jelde koşularak etidiyum bromit ile boyanmış ve UV altında fotoğrafları çekilmiştir.

Bant büyüklüklerinin belirlenmesinde λ DNA'nın *EcoRI* ve *HindIII* kesim enzimleri ile hazırlanmış olan DNA'sı kullanılmıştır. Bu DNA'da bant büyüklükleri sırasıyla 564, 831, 947, 1375, 1584, 1904, 2027, 3520 bp şeklindedir (**Şekil 3.1**).



Şekil 3.1. “Size marker” olarak kullanılan, λ DNA'nın *EcoRI* ve *HindIII* kesim enzimleri ile hazırlanmış olan DNA'sı.

3.2.5. SRAP Analizleri

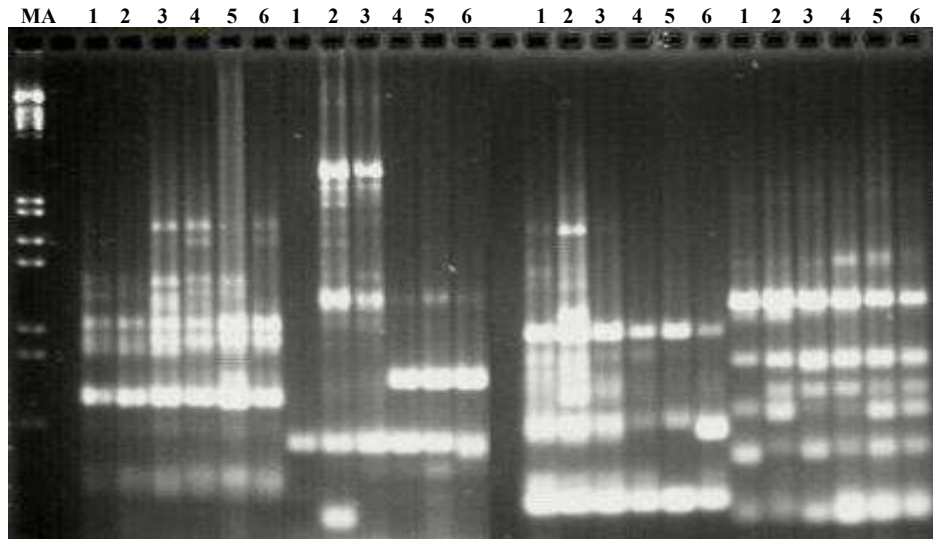
SRAP analizleri **Li ve Quiros'un (2001)** geliştirmiş olduğu yönteme göre yapılmıştır. Proje kapsamında 10 ileri (**Çizelge 3.4**) ve 20 geri (**Çizelge 3.5**) kullanılmak üzere toplam 120 adet primer kombinasyonu 6 genotipte polimorfizm bakımından taranmıştır (**Şekil 3.2**). Kullanılan primer çiftlerinden 70 adedinin polimorfik bant ürettiği fakat 9 adedinin polimorfik bant üretmediği belirlenmiştir. Geriye kalan 41 adet primer çifti ise hiç bant üretmemiştir. Tarama işlemi sonucunda en polimorfik olduğu belirlenen 10 adet SRAP primer çifti 29 adet Kaman-1 ve 33 adet Kaman-5 cevizi genotipine uygulanmıştır.

Çizelge 3.4. Çalışma kapsamında kullanılan SRAP ileri primerleri.

No	Kod	İleri Primerler (5' – 3')	Baz Sayısı
1	Me1	TGA GTC CAA ACC GGA TA	17
2	Me2	TGA GTC CAA ACC GGA GC	17
3	Me3	TGA GTC CAA ACC GGA AT	17
4	Me4	TGA GTC CAA ACC GGA CC	17
5	Me5	TGA GTC CAA ACC GGA AG	17
6	Me6	TGA GTC CAA ACC GGA CA	17
7	Me7	TGA GTC CAA ACC GGA CG	17
8	Me8	TGA GTC CAA ACC GGA CT	17
9	Me9	TGA GTC CAA ACC GGA GG	17
10	Me10	TGA GTC CAA ACC GGA AA	17

Çizelge 3.5. Çalışma kapsamında kullanılan SRAP geri primerleri.

No	Kod	Geri Primerler (3' – 5')	Baz sayısı
1	Em1	GAC TGC GTA CGA ATT AAT	18
2	Em2	GAC TGC GTA CGA ATT TGC	18
3	Em3	GAC TGC GTA CGA ATT GAC	18
4	Em4	GAC TGC GTA CGA ATT TGA	18
5	Em5	GAC TGC GTA CGA ATT AAC	18
6	Em6	GAC TGC GTA CGA ATT GCA	18
7	Em7	GAC TGC GTA CGA ATT CAA	18
8	Em8	GAC TGC GTA CGA ATT CAC	18
9	Em9	GAC TGC GTA CGA ATT CAG	18
10	Em10	GAC TGC GTA CGA ATT CAT	18
11	Em11	GAC TGC GTA CGA ATT CTA	18
12	Em12	GAC TGC GTA CGA ATT CTC	18
13	Em13	GAC TGC GTA CGA ATT CTG	18
14	Em14	GAC TGC GTA CGA ATT CTT	18
15	Em15	GAC TGC GTA CGA ATT GAT	18
16	Em16	GAC TGC GTA CGA ATT GTC	18
17	Em17	GAC TGC GTA CGA ATT GAG	18
18	Em18	GAC TGC GTA CGA ATT AAG	18
19	Em19	GAC TGC GTA CGA ATT GAA	18
20	Em20	GAC TGC GTA CGA ATT GTT	18



Şekil 3.2. Me1-Em9, Me1-Em10, Me2-Em3, Me2-Em4 SRAP primerlerinin taramada kullanılan 6 Kaman cevizi genotipindeki amplifikasyonu (1. Kaman-1, 2.FÜA-K1-6, 3. Tohum-K1-5, 4. Kaman-5, 5. FÜB-K5-5, 6. Tohum-K5-8, MA: moleküler ağırlık.

PCR reaksiyonu 25 µl'de yapılmıştır. Buna göre, amplifikasyon reaksiyonu 75 mM Tris-HCl, pH=8.8, 20 mM (NH₄)₂SO₄ 2 mM MgCl₂, 0.1% Tween 20, 100 µM dATP, 100 µM dTTP, 100 µM dGTP, 100 µM dCTP, 0.2 µM primer, 1.0 unite Taq DNA polymerase ve 10 ng DNA içermiştir. İleri primerler primerlerin DNA'ya yapışma (annealing) sıcaklığı ilk 5 döngüde 35 °C geri kalan 30 döngüde ise 50 °C olarak ayarlanmıştır. Toplam 35 döngü boyunca örnekler 94 °C'de 1 dk ve 72 °C'de 2 dk tutulmuştur.

SRAP analizleri sonucunda elde edilen PCR ürünleri 0.5 x TBE tampon çözeltisinde (89 mM Tris-Cl, 89 mM borik asit, 20 mM EDTA) %2'lik agaroz jelde koşularak etidiyum bromit ile boyanmış ve UV altında fotoğrafları çekilmiştir.

Elde edilen DNA bantlarının büyüklüklerinin belirlenmesinde λ DNA'nın *EcoRI* ve *HindIII* kesim enzimleri ile hazırlanmış olan DNA'sı kullanılmıştır. Bu DNA'da bant büyüklükleri sırasıyla 564, 831, 947, 1375, 1584, 1904, 2027, 3520 bp şeklindedir.

3.2.6. Primerlerin Polimorfizm Oranlarının ve Bilgi İçeriklerinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan ISSR ve SRAP primerlerinin polimorfizm oranları (PO), primerlerden elde edilen polimorfik bant sayılarının, toplam bant sayısına bölünüp 100 ile çarpılması ile bulunmuştur.

Polimorfizm bilgi içeriklerinin (PBI) belirlenmesinde ise öncelikle çalışmada polimorfik bantlarda toplam var (1) ve yok (0) olan bant sayıları belirlenmiş olup bu bantların frekansları ayrı ayrı hesaplanmış ve **Smith ve ark.'nın (1997)** geliştirdikleri yöntemle primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Formülde yer alan P_i, i bandının frekansını temsil etmektedir.

$$PBI = 1 - \sum P_i^2$$

3.2.7. Primerlerin Ayırma Güçlerinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan primerlerin ayırma güçleri **Prevost ve Wilkinson (1999)** tarafından geliştirilen yönteme göre aşağıdaki formül esas alınarak

hesaplanmıştır. Formülde bulunan “p”, “I” bandının toplam ceviz genotipindeki oranı temsil etmektedir.

$$\text{Ayırma gücü} = \sum I_b$$

$$I_b = 1 - (2 \times |0.5 - p|)$$

3.2.8. Ceviz Genotipleri Arasındaki Genetik İlişkilerin Belirlenmesi

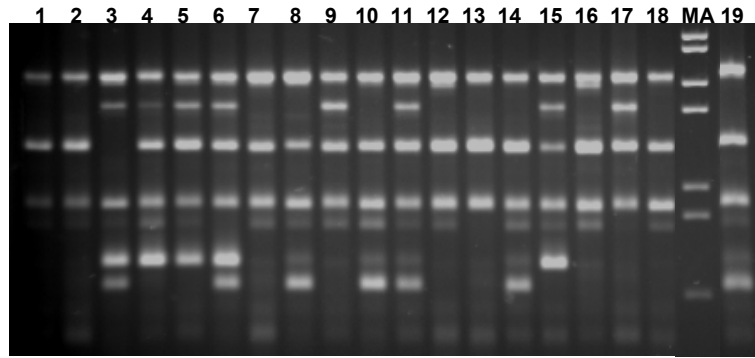
SRAP ve ISSR amplifikasyon ürünleri var (1) yada yok (0) şeklinde değerlendirilmiş ve elde edilen veriler NTSYSpc 2.11V (**Rohlf, 2004**) bilgisayar paket programında analiz edilmiştir. Sonuç olarak analiz edilen genotiplerin birbirlerinin aynısı mı yoksa birbirlerinden farklı mı oldukları belirlenmiştir. Farklı olan bireylerin de birbirlerinden ne kadar farklı oldukları aralarındaki genetik benzerliğin hesaplanmasıyla bulunmuştur. Ayrıca aynı paket programları kullanılarak soyağaçları da elde edilmiştir. Genetik benzerlik indeksi Jaccard’a göre hesaplanmış olup, soyağacının elde edilmesinde UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average) yöntemi kullanılmıştır. Her iki markör yönteminden elde edilen veriler ayrı ayrı değerlendirildiği gibi birlikte de değerlendirilmiş olup, Mantel kofenetik korelasyon testi (**Mantel, 1967**) yapılarak her iki yöntemden elde edilen benzerlik indeksleri arasındaki korelasyonlar hesaplanmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Cevizlerde Apomiksisin Ticari Olarak Üretimi Yapılan Fidanlarda Belirlenmesi

4.1.1. Kaman-1

FidancıA ve FidancıB'den alınan Kaman-1 çöğürlerinde daha önce cevizde **Doğan (2006)** tarafından yapılmış olan çalışmada polimorfik olduğu belirlenen 15 ISSR primeri uygulanmış olup, UBC853 no'lu primerinin kullanılması ile elde edilen bir jelin görüntüsü **Şekil 4.1**'de verilmiştir.

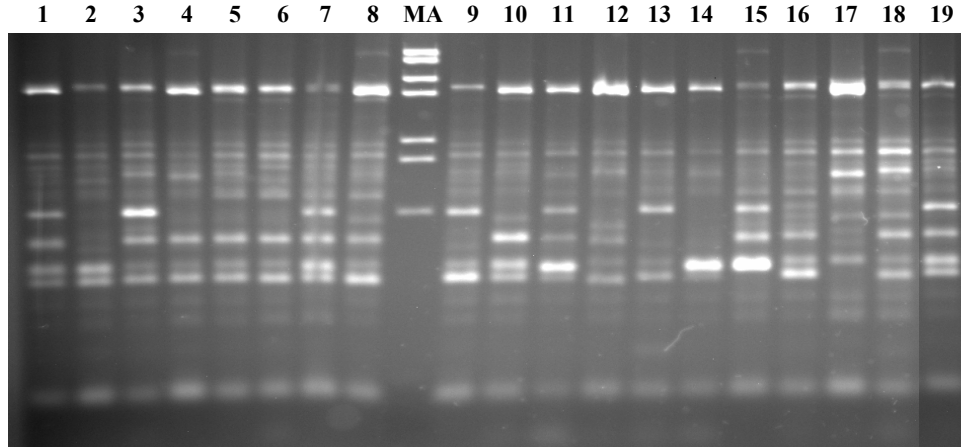


Şekil 4.1. FidancıA ve FidancıB'den alınan 19 adet Kaman-1 ceviz çöğüründe UBC 853 no'lu ISSR primerinin amplifikasyon ürünleri. Sırası ile çeşit ve genotiplerin isim listesi, (1. FÜA-K1-1, 2. FÜA-K1-2, 3. FÜA-K1-3, 4. FÜA-K1-4, 5. FÜA-K1-5, 6. FÜA-K1-6, 7. FÜA-K1-7, 8. FÜA-K1-8, 9. FÜA-K1-9, 10. FÜA-K1-10, 11. FÜB-K1-1, 12. FÜB-K1-2, 13. FÜB-K1-3, 14. FÜB-K1-4, 15. FÜB-K1-5, 16. FÜB-K1-6, 17. FÜB-K1-7, 18. FÜB-K1-8, 19. Kaman-1) MA: moleküler ağırlık.

Şekil 4.1'e bakıldığında, ISSR UBC 853 no'lu primerinin 19 adet Kaman-1 ceviz genotipi ile yapılan PCR amplifikasyonu sonucu oluşan ürünlerin elektroforezde koşturulup UV ışığı altında çekilen jel resminde toplam 7 adet bandın 5'inin polimorfik olduğu ve bu polimorfik bantların büyüklüklerinin 570–1400 bp arasında değiştiği belirlenmiştir.

SRAP tekniğinde yapılan taramalar sonucunda en polimorfik olduğu belirlenen 10 primer çifti FidancıA ve FidancıB'den alınan 18 adet Kaman-1 genotipine uygulanmış ve bu genotipler arasındaki genetik ilişki tespit edilmiştir.

Örnek olarak Me3-Em9 primer çiftinin Kaman-1 genotiplerindeki amplifikasyonu sonucu elde edilen ürünlerin gösterildiği jel görüntüsü **Şekil 4.2.**'de verilmiştir.



Şekil 4.2. FidancıA ve FidancıB'den alınan 19 adet Kaman-1 ceviz çöğüründe SRAP Me3-Em9 primer çiftinin amplifikasyon ürünleri. Sırası ile çeşit ve genotiplerin isim listesi, (1. FÜA-K1-1, 2. FÜA-K1-2, 3. FÜA-K1-3, 4. FÜA-K1-4, 5. FÜA-K1-5, 6. FÜA-K1-6, 7. FÜA-K1-7, 8. FÜA-K1-8, 9. FÜA-K1-9, 10. FÜA-K1-10, 11. FÜB-K1-1, 12. FÜB-K1-2, 13. FÜB-K1-3, 14. FÜB-K1-4, 15. FÜB-K1-5, 16. FÜB-K1-6, 17. FÜB-K1-7, 18. FÜB-K1-8, 19. Kaman-1) MA: moleküler ağırlık.

Şekil 4.2 incelendiğinde, Me3-Em9 primer çiftinin 19 adet Kaman-1 ceviz genotipi ile yapılan PCR amplifikasyonu sonucu oluşan ürünlerin elektroforezde koşturulup UV ışığı altında çekilen jel resminde toplam 8 adet bandın 4'ünün polimorfik olduğu ve bu polimorfik bantların büyüklüklerinin 100–750 bp arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir.

ISSR analizlerinde kullanılan primerlerin FidancıA ve FidancıB'den alınan çöğürlerde toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), ayırma gücü (AG) ve primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) değerleri **Çizelge 4.1** ve **Çizelge 4.2**'de verilmiştir.

A firmasından alınan Kaman-1 çöğürlerine 15 adet ISSR primerinin uygulanması sonucunda toplam 104 bant elde edilmiş olup, 50 tanesinin polimorfik olduğu görülmüştür. Primerlerden ortalama 6.9 tane bant elde edilmiştir. Polimorfizm oranı ise %47.3 olarak tespit edilmiştir. En düşük polimorfizm oranı

(%16.7) UBC 810 no'lu primerden elde edilirken, en yüksek polimorfizm oranı (%87.5) UBC 826 no'lu primerden elde edilmiştir.

Çizelge 4.1. ISSR primerlerinin FidancıA'dan alınan Kaman-1 (FÜA-K1) genotiplerinde PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBI) ve ayırma gücü (AG) değerleri.

No	Primer	TBS	PBS	PO (%)	PBI	AG
1	UBC 808	9	5	55.56	0.60	1.13
2	UBC 810	6	1	16.67	0.97	0.36
3	UBC 811	7	4	57.14	0.73	0.82
4	UBC 814	8	3	37.50	0.93	0.55
5	UBC 815	8	3	37.50	0.89	0.55
6	UBC 823	7	2	28.57	0.69	1.09
7	UBC 826	8	7	87.50	0.68	0.94
8	UBC 829	7	3	42.86	0.85	0.67
9	UBC 834	8	4	50.00	0.60	1.18
10	UBC 846	8	4	50.00	0.61	1.14
11	UBC 853	6	5	83.33	0.56	1.24
12	UBC 854	5	2	40.00	0.78	0.82
13	UBC 855	8	3	37.50	0.62	1.03
14	UBC 856	5	3	60.00	0.53	1.33
15	UBC 858	4	1	25.00	0.60	1.27
Toplam		104	50	-	10.64	14.11
Ortalama		6.93	3.33	47.28	0.71	0.94

A firmasından alınan Kaman-1 genotiplerinde ortalama polimorfizm bilgi içeriği değeri 0.71 olarak belirlenmiş olup, en yüksek (0.97) polimorfizm bilgi içeriği değeri UBC 810 no'lu, en düşük (0.53) polimorfizm bilgi içeriği değeri ise UBC 856 no'lu primerden elde edilmiştir. Primerlerin ayırma güçleri (AG) incelendiğinde; toplam ayırma gücü değeri 14.11 olarak bulunmuş olup, en yüksek (1.33) ayırma gücü değeri UBC 856 no'lu primerden elde edilirken, en düşük (0.36) ayırma gücü değeri UBC 810 no'lu primerden elde edilmiştir.

B firmasından alınan Kaman-1 fidanlarında ise toplam 109 bant elde edilmiş ve 59 tanesinin polimorfik olduğu belirlenmiştir. Primerler ortalama 7.2 tane bant vermiştir. En düşük polimorfizm oranı (%25) UBC 858 no'lu primerden elde edilirken, en yüksek polimorfizm oranı (%75) UBC 834 no'lu primerden elde edilmiştir.

Çizelge 4.2. ISSR primerlerinin FidancıB'den alınan Kaman-1 (FÜB-K1) genotiplerinde PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBI) ve ayırma gücü (AG) değerleri.

No	Primer	TBS	PBS	PO	PBI	AG
1	UBC 808	10	7	70.00	0.63	1.02
2	UBC 810	7	2	28.57	0.82	0.78
3	UBC 811	8	5	62.50	0.67	1.02
4	UBC 814	8	4	50.00	0.85	0.72
5	UBC 815	8	5	62.50	0.61	1.16
6	UBC 823	7	3	42.86	0.40	1.16
7	UBC 826	7	5	71.43	0.79	0.84
8	UBC 829	8	4	50.00	0.81	0.72
9	UBC 834	8	6	75.00	0.38	1.52
10	UBC 846	8	4	50.00	0.60	1.11
11	UBC 853	7	5	71.43	0.82	0.71
12	UBC 854	5	2	40.00	0.51	1.33
13	UBC 855	9	4	44.44	0.78	0.89
14	UBC 856	5	2	40.00	0.82	0.78
15	UBC 858	4	1	25.00	0.69	1.11
Toplam		109	59	-	10.18	14.88
Ortalama		7.27	3.93	52.25	0.68	0.99

B firmasından alınan Kaman-1 genotiplerinde ise ortalama polimorfizm bilgi içeriği değeri 0.68 olarak bulunmuştur. En yüksek (0.85) polimorfizm bilgi içeriği değeri UBC 814 no'lu primerden elde edilirken, en düşük (0.38) polimorfizm bilgi içeriği UBC 834 no'lu primerden elde edilmiştir. Primerlerin ayırma güçlerine bakıldığında, toplam ayırma gücü değeri 14.88 olarak tespit edilmiştir. En yüksek (1.52) ayırma gücü değeri UBC 834 no'lu primerden elde edilmiş olup, en düşük (0.71) ayırma gücü değeri ise UBC 853 no'lu primerden elde edilmiştir.

SRAP analizlerinde A ve B fidan üreticisinden alınan Kaman-1 genotiplerine ait verilerin değerlendirilmesi sonucunda elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), ayırma gücü (AG) ve primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) değerleri **Çizelge 4.3** ve **Çizelge 4.4**'de verilmiştir.

A firmasından alınan Kaman-1 fidanlarına 10 adet SRAP primer çiftinin uygulanması sonucunda toplam 88 bant elde edilmiş olup, 40 tanesinin polimorfik olduğu görülmüştür. Polimorfizm oranı ise %44.9 olarak tespit edilmiştir. En yüksek

polimorfizm oranı (%77.8) Me10-Em12 no'lu primer çiftinden elde edilirken, en düşük polimorfizm oranı (%20) Me3-Em10 no'lu primer çiftinden elde edilmiştir. Primer başına ortalama 4 polimorfik bant elde edilmiştir. B firmasından alınan Kaman-1 fidanlarında ise toplam 89 bant elde edilmiş ve 43 tanesinin polimorfik olduğu görülmüştür. Polimorfizm oranı ise %47.7 olarak belirlenmiştir. En düşük polimorfizm oranı (%20) Me3-Em10 no'lu primer çiftinden elde edilirken, en yüksek polimorfizm oranı (%66.7) Me1-Em10 ve Me3-Em13 no'lu primer çiftlerinden elde edilmiştir. Primer başına ise ortalama 4.3 polimorfik bant elde edilmiştir.

Çizelge 4.3. SRAP primer çiftlerinin FidancıA'dan alınan Kaman-1 (FÜA-K1) genotiplerinde PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve ayırma gücü (AG) değerleri.

Primer	TBS	PBS	PO (%)	PBİ	AG
Me1-Em10	7	3	42.86	0.97	0.36
Me2-Em1	12	5	41.67	0.78	0.79
Me3-Em1	10	5	50.00	0.45	1.35
Me3-Em2	12	6	50.00	0.67	1.00
Me3-Em3	9	3	33.33	0.97	0.30
Me3-Em4	9	2	22.22	0.73	0.82
Me6-Em9	9	4	44.44	0.76	0.82
Me3-Em10	5	1	20.00	0.47	1.45
Me3-Em13	6	4	66.67	0.81	0.77
Me10-Em12	9	7	77.78	0.58	1.22
Toplam	88	40	-	7.19	8.89
Ortalama	8.80	4	44.90	0.72	0.89

A firmasından alınan Kaman-1 genotiplerinde toplam 40 polimorfik bant oluşmuş olup, en yüksek polimorfizm oranı (%77.8) Me10-Em12 primer çiftinden elde edilirken, en düşük polimorfizm oranı (% 22.2) Me3-Em4 primer çiftinden elde edilmiştir. En fazla polimorfik bant üreten primer çifti Me10-Em12 olarak tespit edilirken, Me3-Em10 primer çifti ise yalnızca bir tane polimorfik bant vermiştir. Tüm primer çiftlerinin ortalama polimorfizm oranı ise %44.9 olarak belirlenmiştir. Ortalama polimorfizm bilgi içeriği değeri 0.72 olarak belirlenmiş olup, en yüksek (0.97) polimorfizm bilgi içeriği değeri Me3-Em3 no'lu primer çiftinden, en düşük (0.45) polimorfizm bilgi içeriği değeri ise Me3-Em1 no'lu primer çiftinden elde edilmiştir. Primerlerin ayırma güçleri (AG) incelendiğinde; toplam ayırma gücü

değeri 8.89 olarak bulunmuş olup, en yüksek (1.44) ayırma gücü değeri Me3-Em10 no'lu primer çiftinden elde edilirken, en düşük (0.30) ayırma gücü değeri Me3-Em3 no'lu primer çiftinden elde edilmiştir.

Çizelge 4.4. SRAP primer çiftlerinin FidancıB'den alınan Kaman-1 (FÜB-K1) genotiplerinde PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve ayırma gücü (AG) değerleri.

Primer	TBS	PBS	PO (%)	PBİ	AG
Me1-Em10	9	6	66.67	0.84	0.59
Me2-Em1	12	6	50.00	0.71	1.00
Me3-Em1	10	5	50.00	0.51	1.33
Me3-Em2	10	5	50.00	0.52	1.33
Me3-Em3	10	4	40.00	0.94	0.44
Me3-Em4	9	2	22.22	0.45	1.44
Me6-Em9	9	5	55.56	0.67	1.11
Me3-Em10	5	1	20.00	0.56	1.33
Me3-Em13	6	4	66.67	0.71	1.06
Me10-Em12	9	5	55.56	0.47	1.33
Toplam	89	43	-	6.37	10.99
Ortalama	8.90	4.30	47.67	0.64	1.10

B firmasından alınan Kaman-1 genotiplerinden ise toplam 89 bant elde edilmiş olup, bunların 43 tanesinin polimorfik olduğu görülmüş dolayısıyla ortalama polimorfizm oranı % 47.7 olarak belirlenmiştir. En fazla bant üreten primer çifti (12 adet) Me2-Em1 olurken, polimorfik bant bakımından en az bant üreten primer çifti (1 adet) ve en düşük polimorfizm (%20) oranına sahip primer çifti yine Me3-Em10 olmuştur.

Ortalama polimorfizm bilgi içeriği değeri 0.64 olarak belirlenmiştir. En yüksek (0.94) polimorfizm bilgi içeriği değeri Me3-Em3 no'lu primer çiftinden elde edilirken, en düşük (0.45) polimorfizm bilgi içeriği Me3-Em4 no'lu primer çiftinden elde edilmiştir. SRAP primer çiftlerinin ayırma güçleri incelendiğinde, toplam ayırma gücü değeri 10.99 olarak bulunmuştur. En yüksek (1.44) ayırma gücü değeri Me3-Em4 no'lu primer çiftinden elde edilmiş olup, en düşük (0.44) ayırma gücü değeri ise Me3-Em3 no'lu primerden elde edilmiştir.

A fidan üreticisinden alınan 10 adet çöğüre uygulanan ISSR analizleri sonucunda çöğürler birbirlerinden ve Kaman-1 genotipinden genetik olarak farklı

bulunmuştur. A fidancısından alınan çöğürlere uygulanan ISSR, SRAP ve her iki yöntemden (ISSR+SRAP) elde edilen verilerin birlikte değerlendirmesi sonucu ortaya çıkan genetik benzerlik indeksleri **Çizelge 4.5**, **Çizelge 4.6** ve **Çizelge 4.7**'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. FidancıA'dan alınan Kaman-1 genotipinin çöğürlerinde ISSR analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
A2	0.85	-								
A3	0.78	0.73	-							
A4	0.84	0.82	0.82	-						
A5	0.76	0.72	0.78	0.77	-					
A6	0.74	0.74	0.76	0.79	0.83	-				
A7	0.78	0.76	0.74	0.77	0.75	0.76	-			
A8	0.78	0.77	0.78	0.86	0.78	0.74	0.76	-		
A9	0.75	0.76	0.81	0.81	0.81	0.85	0.77	0.80	-	
A10	0.79	0.79	0.75	0.80	0.78	0.78	0.75	0.79	0.78	-
Kaman-1	0.84	0.78	0.78	0.81	0.79	0.78	0.78	0.82	0.77	0.78

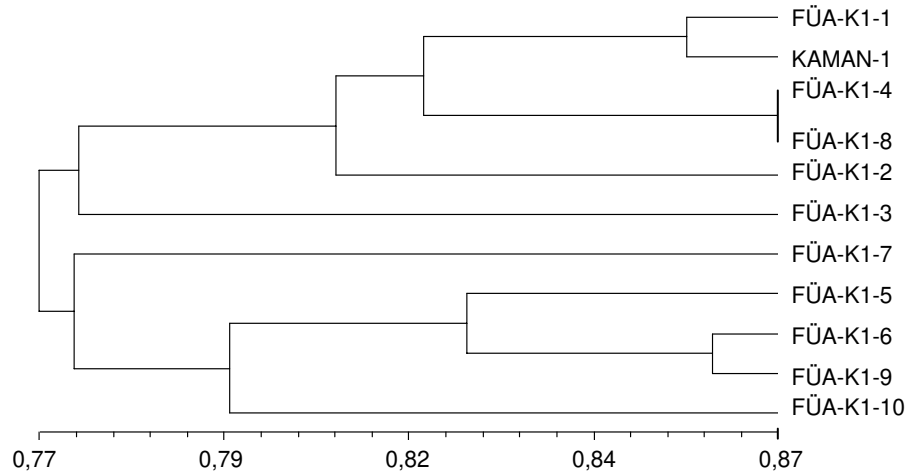
Çizelge 4.6. FidancıA'dan alınan Kaman-1 genotipinin çöğürlerinde SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
A2	0.78	-								
A3	0.76	0.72	-							
A4	0.82	0.83	0.78	-						
A5	0.73	0.84	0.79	0.83	-					
A6	0.75	0.81	0.84	0.82	0.91	-				
A7	0.79	0.77	0.83	0.86	0.82	0.81	-			
A8	0.74	0.75	0.85	0.79	0.80	0.77	0.83	-		
A9	0.79	0.80	0.80	0.79	0.80	0.77	0.78	0.81	-	
A10	0.74	0.77	0.80	0.81	0.77	0.74	0.77	0.85	0.82	-
Kaman-1	0.77	0.80	0.85	0.84	0.82	0.79	0.86	0.86	0.86	0.85

Genetik benzerlik indeksleri 0.72 ile 0.86 arasında değişmiştir. UPMGA analizleri sonuçlarına göre genotipler 2 ana gruba ayrılmıştır. Birinci grupta Kaman-1 genotipi ile birlikte 6 genotip bulunurken ikinci grupta 5 genotip yer almıştır. Kaman-1'e en yakın genotip FÜA-K1-1 olurken, dendrogramda birbirine en yakın iki çöğürün FÜA-K1-4 ile FÜA-K1-8'in (0.86) olduğu belirlenmiştir. En uzak iki çöğür ise FÜA-K1-2 ile FÜA-K1-5 (0.72) olmuştur (**Şekil 4.3**).

Çizelge 4.7. FidancıA'dan alınan Kaman-1 genotipinin çöğürlerinde ISSR ve SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
A2	0.82	-								
A3	0.77	0.72	-							
A4	0.83	0.83	0.80	-						
A5	0.75	0.77	0.78	0.80	-					
A6	0.74	0.77	0.79	0.81	0.87	-				
A7	0.78	0.77	0.78	0.81	0.78	0.78	-			
A8	0.76	0.76	0.81	0.83	0.79	0.75	0.79	-		
A9	0.77	0.78	0.81	0.80	0.80	0.81	0.78	0.80	-	
A10	0.76	0.78	0.77	0.80	0.77	0.76	0.76	0.82	0.80	-
Kaman-1	0.81	0.79	0.81	0.83	0.81	0.78	0.81	0.84	0.81	0.81

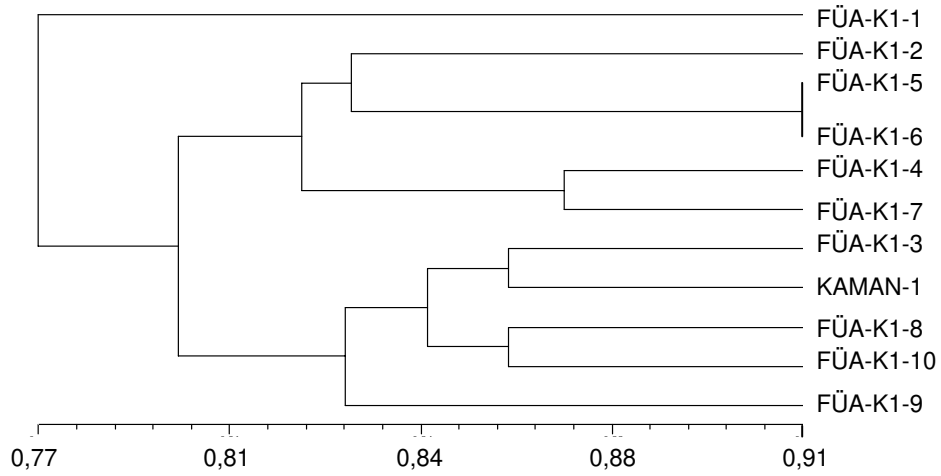


Şekil 4.3. A fidan üreticisinden alınan çöğürlere ISSR tekniğinin uygulanması sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.

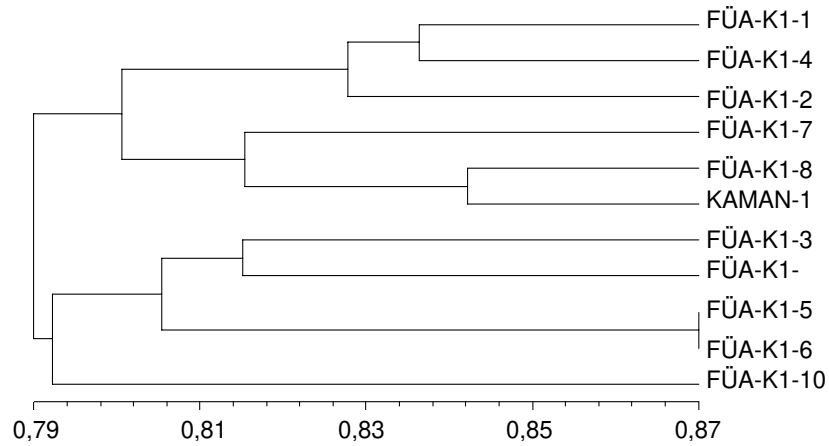
A fidan üreticisinden alınan 10 adet çöğüre uygulanan SRAP tekniği ile elde edilen verilerden yapılan UPMGA analizleri sonuçlarına göre genel olarak 2 ana gruba ayrılmıştır. Birinci grupta 5 genotip bulunurken ikinci grupta Kaman-1 genotipi dahil olmak üzere yine 5 genotip yer almıştır. FÜA-K1-1 no'lu genotip ise bu iki grubun dışında yer almıştır. Birbirine en yakın çöğürler FÜA-K1-5 ile FÜA-K1-6 (0.91) bulunurken, FÜA-K1-2 ile FÜA-K1-3 (0.72) no'lu çöğürler birbirine en uzak olarak belirlenmiştir. Kaman-1 genotipine en yakın çöğür ise FÜA-K1-8 olmuştur (Şekil 4.4).

A fidan üreticisinden alınan 10 adet fidan çöğürüne uygulanan SRAP ve ISSR tekniklerinden elde edilen verilerin birlikte değerlendirildiği UPMGA

analizleri sonuçlarına göre, çöğürler genel olarak 2 ana gruba ayrılmıştır. Birinci grupta Kaman-1 genotipi dahil olmak üzere 6 genotip bulunurken, ikinci grupta ise 5 genotip yer almıştır. Kaman-1 genotipine en yakın çöğür FÜA-K1-4 (0.84) olmuştur. Birbirine en yakın çöğürler FÜA-K1-1 ile FÜA-K1-4 (0.83) bulunurken, FÜA-K1-2 ile FÜA-K1-3 (0.72) no'lu çöğürlerin birbirlerine en uzak oldukları belirlenmiştir (Şekil 4.5).



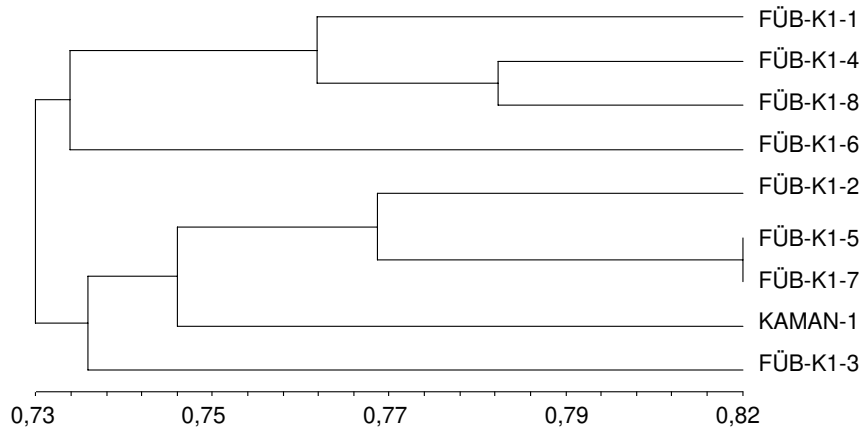
Şekil 4.4. A fidan üreticisinden alınan çöğürlere SRAP tekniğinin uygulanması sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.



Şekil 4.5. A fidan üreticisinden alınan çöğürlere ISSR ve SRAP tekniklerinden elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.

B fidan üreticisinden alınan 8 adet çöğüre uygulanan ISSR analizleri sonucunda genetik benzerlik indeksleri 0.69 ile 0.81 arasında değişmiştir. UPMGA

analizleri sonuçlarına göre, genotipler 2 ana gruba ayrılmıştır. Birinci grupta 4 genotip bulunurken, ikinci grupta Kaman-1 genotipi ile birlikte 5 çöğür yer almıştır. Kaman-1 genotipine en yakını (0.76) FÜB-K1-5 çöğürü olurken, FÜB-K1-1 çöğürü ise en uzak (0.70) genotip olarak belirlenmiştir. Gruplarda en yakın çöğürler FÜB-K1-5 ile FÜB-K1-7 (0.81) olurken en uzak çöğürler FÜB-K1-3 ile FÜB-K1-6 (0.69) olmuştur. UPMGA analizleri sonucunda elde edilen soyağacı **Şekil 4.6**'de verilmiştir.



Şekil 4.6. B fidan üreticisinden alınan çöğürlere ISSR tekniğinin uygulanması sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.

B fidan üreticisinden alınan 8 adet çöğüre uygulanan ISSR analizleri sonucunda çöğürler birbirlerinden ve Kaman-1 genotipinden DNA seviyesinde farklı bulunmuş olup, çöğürlere test edilen ISSR, SRAP ve her iki yöntemden (ISSR+SRAP) elde edilen verilerin birlikte değerlendirmesi sonucu ortaya çıkan genetik benzerlik indeksleri **Çizelge 4.8**, **Çizelge 4.9** ve **Çizelge 4.10**'da verilmiştir.

Çizelge 4.8. FidancıB'den alınan Kaman-1 genotipinin çöğürlerinde ISSR analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

	A11	A12	A13	A14	A15	A16	A17	A18
A12	0.71	-						
A13	0.69	0.72	-					
A14	0.75	0.71	0.73	-				
A15	0.76	0.75	0.73	0.74	-			
A16	0.72	0.75	0.69	0.71	0.74	-		
A17	0.73	0.78	0.77	0.75	0.81	0.73	-	
A18	0.76	0.70	0.68	0.78	0.75	0.76	0.72	-
Kaman-1	0.70	0.75	0.71	0.73	0.76	0.73	0.72	0.73

Çizelge 4.9. FidancıB’den alınan Kaman-1 genotipinin çöğürlerinde SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard’a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

	A11	A12	A13	A14	A15	A16	A17	A18
A12	0.77	-						
A13	0.80	0.76	-					
A14	0.78	0.74	0.79	-				
A15	0.84	0.77	0.73	0.78	-			
A16	0.80	0.80	0.78	0.74	0.77	-		
A17	0.70	0.77	0.75	0.71	0.76	0.82	-	
A18	0.73	0.77	0.73	0.69	0.77	0.77	0.79	-
Kaman-1	0.85	0.76	0.78	0.79	0.80	0.76	0.75	0.75

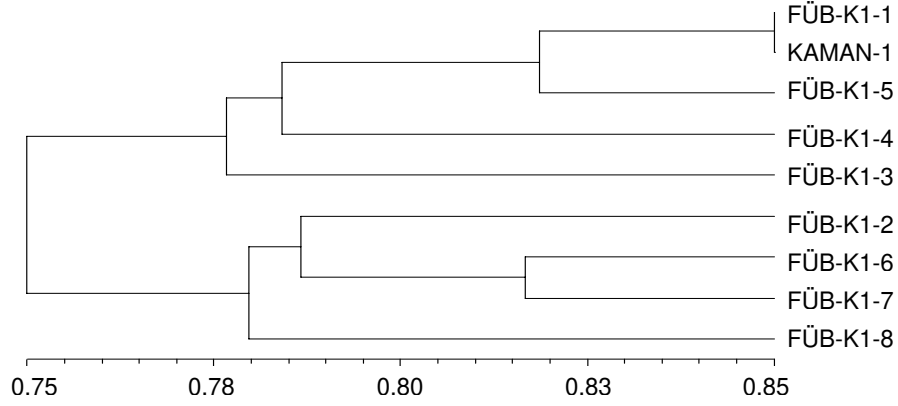
Çizelge 4.10. FidancıB’den alınan Kaman-1 genotipinin çöğürlerinde ISSR ve SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard’a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

	A11	A12	A13	A14	A15	A16	A17	A18
A12	0.74	-						
A13	0.74	0.74	-					
A14	0.77	0.72	0.76	-				
A15	0.79	0.76	0.73	0.76	-			
A16	0.75	0.77	0.73	0.72	0.75	-		
A17	0.72	0.78	0.76	0.73	0.79	0.77	-	
A18	0.75	0.73	0.71	0.74	0.76	0.77	0.75	-
Kaman-1	0.77	0.75	0.75	0.76	0.78	0.75	0.73	0.74

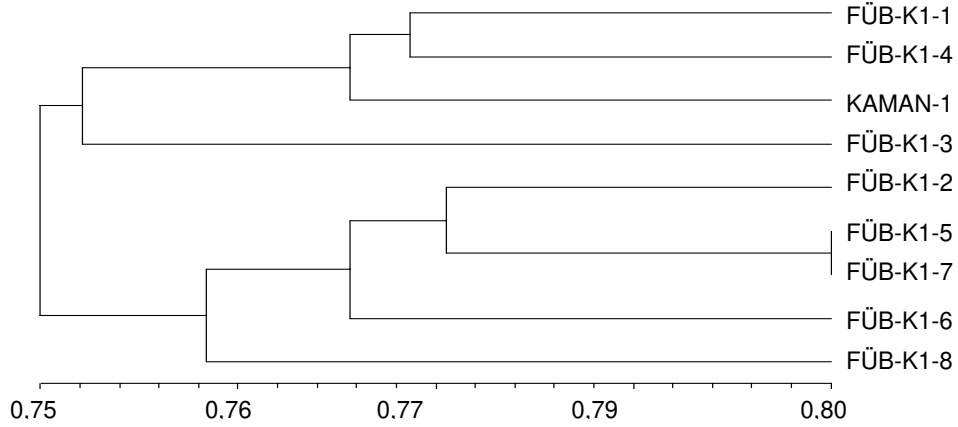
B fidan üreticisinden alınan 8 adet çöğüre uygulanan SRAP tekniği ile elde edilen verilerden yapılan UPMGA analizleri sonuçlarına göre 2 ana grup oluşmuştur. Birinci grupta Kaman-1 genotipi dahil olmak üzere 5 genotip bulunurken, ikinci grupta ise 4 genotip yer almıştır. Birbirine en yakın çöğürler FÜB-K1-1 ile FÜB-K1-5 (0.84) bulunurken, FÜB-K1-4 ile FÜB-K1-8 (0.69) no’lu çöğürler birbirine en uzak olarak belirlenmiştir (**Şekil 4.7**). Kaman-1 genotipine en yakın çöğür ise FÜB-K1-1 (0.85) olmuştur.

B fidan üreticisinden alınan 8 adet çöğüre uygulanan ISSR ve SRAP tekniği ile elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi ile yapılan UPMGA analizleri sonuçlarına göre 2 grup ortaya çıkmıştır. Birinci grupta 4 genotip bulunurken ikinci grupta Kaman-1 genotipi dahil olmak üzere 5 genotip yer almıştır. Kaman-1 genotipine en yakın çöğür (0.78) FÜB-K1-5 olurken, FÜB-K1-7 no’lu çöğür ise en uzak olarak saptanmıştır. Birbirine en yakın çöğürler FÜB-K1-5 ile FÜB-K1-7 (0.79)

bulunurken, FÜB-K1-3 ile FÜB-K1-8 (0.71) no'lu çöğürler birbirine en uzak olarak belirlenmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.7. B fidan üreticisinden alınan çöğürlere SRAP tekniğinin uygulanması sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.



Şekil 4.8. B fidan üreticisinden alınan çöğürlere ISSR ve SRAP tekniklerden elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.

A ve B firmasından alınan Kaman-1 ve Kaman 5 genotiplerine ait ISSR analizlerinde toplam 391 bant elde edilmiş olup bunların 199 tanesinin polimorfik olduğu görülmüştür. Polimorfizm oranı ortalama %48.8 olarak bulunmuştur. Polimorfizm bilgi içerikleri (PBİ) ortalaması 0.67 olarak tespit edilirken, ayırma gücü (AG) toplamaları ortalama 15.29 olarak saptanmıştır.

Potter ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada; 8 ISSR primerinin 48 ceviz çeşidinde amplifikasyonu sonucu 54 bant elde edilmiş ve bunların 31 tanesinin (%57) polimorfik olduğu belirlenmiştir. **Doğan (2006)** tarafından yapılan çalışmada

ise 25 ISSR primerinin 62 ceviz çeşidine amplifikasyonu sonucunda toplam 181 adet bant elde edilmiş bunlardan 129 adedinin polimorfik olduğu görülmüştür. Polimorfizm oranı %71.27 bulunurken, ayırma gücü değeri (AG) toplamı ise 27.69 olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen ISSR verileri **Potter ve ark. (2002)** ve **Doğan'ın (2006)** çalışma sonuçlarına göre daha düşük bulunmuştur. Bu durum seçilen genotiplerin birbirine daha yakın akraba olmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca bu çalışmada elde edilen ayırma gücü değeri **Doğan ve ark. (2006)** elde ettikleri sonuçlardan 2 kat daha düşük bulunmuştur. Bu durum Kaman cevizlerinin kendi aralarındaki varyasyonunun daha düşük olduğunu göstermektedir.

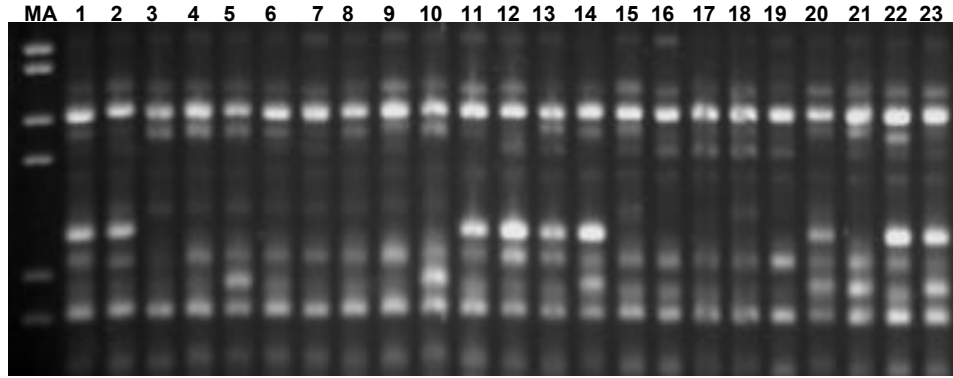
Ayrıca SRAP moleküler markör tekniği cevizde ilk defa uygulanması bakımından Kaman-1 çöğürlerinin DNA seviyesinde ayırt edilmesinde etkili bir yöntem olmuştur. Bu sonuç da cevizde SRAP tekniğinin genetik olarak birbirlerine benzer genotiplerin ayırt edilmesinde kullanılabileceğini göstermektedir.

Elde edilen bu sonuçlara göre, iki farklı fidan üreticisinden alınan Kaman-1'in tohumundan çıkmış çöğürlerde yapılan ISSR ve SRAP analizleri sonucunda Kaman-1 tohumundan çıkmış bireylerde geniş bir varyasyonun olduğu ve aşılama bu şekilde kurulacak bahçelerden elde edilecek meyvelerde de geniş bir varyasyon olacağı açıktır. Sonuç olarak Kaman-1 genotipi ile ceviz bahçesi kurulması istenildiğinde mutlaka aşılı fidanla kurulması zorunludur. Bu durum da Kaman-1 genotipinin apomiktik meyve üretmediğini göstermektedir.

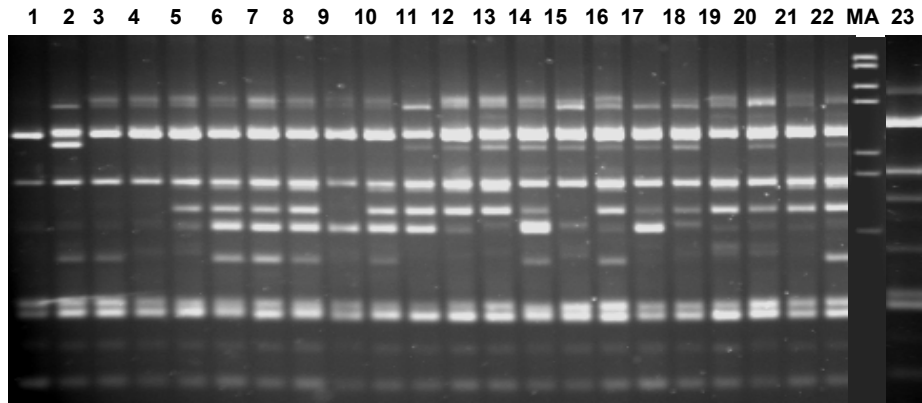
4.1.2. Kaman-5

Doğan ve ark. (2006) tarafından daha önce yapılmış olan çalışmada belirlenen polimorfik primerlerden 15 tanesi FidancıA ve FidancıB'den alınan 22 Kaman-5 çöğürüne uygulanmış olup, UBC 826 no'lu primerin ürettiği olduğu bantlar **Şekil 4.9'**de verilmiştir.

Şekil 4.9'a bakıldığında UBC 826 no'lu primerin 23 adet Kaman-5 ceviz genotipi ile yapılan PCR amplifikasyonu sonucu oluşan 8 adet banttan 4'ünün polimorfik olduğu ve bu polimorfik bantların büyüklüklerinin 550–1200 bp arasında değiştiği görülmektedir.



Şekil 4.9. FidancıA ve FidancıB'den alınan 22 adet Kaman-5 çöğüründe UBC 814 no'lu ISSR primerinin amplifikasyonu. Sırası ile çeşit ve genotiplerin isim listesi: **1.** FÜA-K5-1, **2.** FÜA-K5-2, **3.** FÜA-K5-3, **4.** FÜA-K5-4, **5.** FÜA-K5-5, **6.** FÜA-K5-6, **7.** FÜA-K5-7, **8.** FÜA-K5-8, **9.** FÜA-K5-9, **10.** FÜA-K5-10, **11.** FÜB-K5-1, **12.** FÜB-K5-2, **13.** FÜB-K5-3, **14.** FÜB-K5-4, **15.** FÜB-K5-5, **16.** FÜB-K5-6, **17.** FÜB-K5-7, **18.** FÜB-K5-8, **19.** FÜB-K5-9, **20.** FÜB-K5-10, **21.** FÜB-K5-11, **22.** FÜB-K5-12, **23.** Kaman-5. **MA:** moleküler ağırlık.



Şekil 4.10. FidancıA ve FidancıB'den alınan 22 adet Kaman-5 çöğüründe SRAP Me2-Em4 primer çiftinin amplifikasyonu. Sırası ile çeşit ve genotiplerin isim listesi: **1.** FÜA-K5-1, **2.** FÜA-K5-2, **3.** FÜA-K5-3, **4.** FÜA-K5-4, **5.** FÜA-K5-5, **6.** FÜA-K5-6, **7.** FÜA-K5-7, **8.** FÜA-K5-8, **9.** FÜA-K5-9, **10.** FÜA-K5-10, **11.** FÜB-K5-1, **12.** FÜB-K5-2, **13.** FÜB-K5-3, **14.** FÜB-K5-4, **15.** FÜB-K5-5, **16.** FÜB-K5-6, **17.** FÜB-K5-7, **18.** FÜB-K5-8, **19.** FÜB-K5-9, **20.** FÜB-K5-10, **21.** FÜB-K5-11, **22.** FÜB-K5-12, **23.** Kaman-5. **MA:** moleküler ağırlık.

SRAP tekniğinde ise yapılan taramalar sonucunda en polimorfik olduğu belirlenen 10 primer çifti FidancıA ve FidancıB'den alınan 22 adet Kaman-5

genotipine uygulanmış ve bu genotipler arasındaki genetik ilişki ortaya çıkarılmıştır. Me2-Em4 primer çiftinin Kaman-1 genotipindeki amplifikasyonu sonucu elde edilen ürünlerin jel görüntüsü **Şekil 4.10**'de verilmiştir.

Şekil 4.10'da Me2-Em4 primer çiftinin 23 adet Kaman-5 ceviz genotipi ile yapılan PCR amplifikasyonu sonucu oluşan toplam 12 adet banttın 6'sının polimorfik olduğu ve bu polimorfik bantların büyüklüklerinin 100–1000 bp arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir.

ISSR ve SRAP analizlerinde kullanılan ve FidancıA ve FidancıB'den alınan çöğürlere uygulanan primerlerin toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), ayırma gücü (AG) ve primerlerin polimorfizm bilgi içeriği (PBI) değerleri **Çizelge 4.11** ve **Çizelge 4.12**'de verilmiştir.

Çizelge 4.11. ISSR primerlerinin FidancıA'dan alınan Kaman-5 (FÜA-K5) çöğürlerinde PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBI) ve ayırma gücü (AG) değerleri.

No	Primer	TBS	PBS	PO	PBI	AG
1	UBC 808	8	5	62.50	0.61	1.13
2	UBC 810	8	3	37.50	0.64	1.09
3	UBC 811	4	3	75.00	0.27	1.70
4	UBC 814	9	4	44.44	0.65	1.00
5	UBC 815	4	2	50.00	0.66	0.91
6	UBC 823	4	0	0.00	0.00	0.00
7	UBC 826	12	8	66.67	0.75	0.82
8	UBC 829	4	2	50.00	0.59	1.27
9	UBC 834	6	2	33.33	0.44	1.45
10	UBC 846	6	4	66.67	0.81	0.73
11	UBC 853	4	1	25.00	0.99	0.18
12	UBC 854	4	1	25.00	0.71	1.09
13	UBC 855	5	3	60.00	0.86	0.67
14	UBC 856	4	2	50.00	0.33	1.64
15	UBC 858	4	1	25.00	0.79	0.91
Toplam		86	41	-	9.12	14.58
Ortalama		5.73	2.73	44.74	0.61	0.97

A firmasından alınan Kaman-5 fidanlarına 15 adet ISSR primerinin uygulanması sonucunda toplam 86 bant elde edilmiş olup, 41 tanesinin polimorfik olduğu görülmüştür. Polimorfizm oranı ise %44.7 olarak tespit edilmiştir. UBC 823

no'lu primer polimorfik bant vermemiştir. En yüksek polimorfizm oranı (%75) UBC 811 no'lu primerden elde edilmiştir. Primer başına ortalama 2.7 polimorfik bant elde edilmiştir. Primerlerin ortalama polimorfizm bilgi içeriği değeri 0.61 olarak belirlenmiş olup, en yüksek (0.99) polimorfizm bilgi içeriği değeri UBC 853 no'lu primerden, en düşük (0) polimorfizm bilgi içeriği değeri ise UBC 823 no'lu primerden elde edilmiştir. Ayırma güçleri (AG) bakımından; primerlerin toplam ayırma gücü değeri 14.58 olarak bulunmuştur. En yüksek (1.70) ayırma gücü değeri UBC 811 no'lu primerden elde edilirken, en düşük (0.18) ayırma gücü değeri ise UBC 853 no'lu primerden elde edilmiştir.

Çizelge 4.12. ISSR primerlerinin FidancıB'den alınan Kaman-5 (FÜB-K5) çöğürlerinde PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBI) ve ayırma gücü (AG) değerleri.

No	Primer	TBS	PBS	PO	PBI	AG
1	UBC 808	9	6	66.67	0.64	1.03
2	UBC 810	10	4	40.00	0.62	1.15
3	UBC 811	5	3	60.00	0.69	0.92
4	UBC 814	9	4	44.44	0.59	1.19
5	UBC 815	4	2	50.00	0.85	0.62
6	UBC 823	4	1	25.00	0.14	1.85
7	UBC 826	12	9	75.00	0.63	1.18
8	UBC 829	4	2	50.00	0.85	0.62
9	UBC 834	7	3	42.86	0.64	1.18
10	UBC 846	6	4	66.67	0.86	0.69
11	UBC 853	4	1	25.00	0.91	0.62
12	UBC 854	5	2	40.00	0.67	1.15
13	UBC 855	5	4	80.00	0.67	1.12
14	UBC 856	4	3	75.00	0.52	1.38
15	UBC 858	4	1	25.00	0.52	1.38
Toplam		92	49	-	10.28	15.60
Ortalama		6.13	3.27	51.04	0.68	1.04

B firmasından alınan Kaman-5 çöğürlerinde ise toplam 92 bant elde edilmiş ve 49 tanesinin polimorfik olduğu belirlenmiş olup, ortalama polimorfizm oranı ise %51 olarak hesaplanmıştır. En düşük polimorfizm oranı (%25) UBC 823, UBC 853 ve UBC 858 no'lu primerlerden elde edilirken, en yüksek polimorfizm oranı (%80)

UBC 855 no'lu primerden elde edilmiştir. Primer başına ise ortalama 3.2 polimorfik bant düşmüştür.

Primerlerin ortalama polimorfizm bilgi içeriği değeri 0.68 olarak belirlenmiştir. En yüksek (0.91) polimorfizm bilgi içeriği değeri UBC 853 no'lu primerden elde edilirken, en düşük (0.14) polimorfizm bilgi içeriği ise UBC 823 no'lu primerden elde edilmiştir. Primerlerin toplam ayırma gücü değeri 15.60 olarak hesaplanmıştır. En yüksek (1.85) ayırma gücü değeri UBC 823 no'lu primerden elde edilirken, en düşük (0.62) ayırma gücü değeri ise, UBC 815, UBC 829 ve UBC 853 no'lu primerlerden elde edilmiştir.

SRAP analizlerinde kullanılan ve FidancıA ve FidancıB'den alınan çöğürlere uygulanan primerlerin toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), ayırma gücü (AG) ve primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) değerleri **Çizelge 4.13** ve **Çizelge 4.14**'de verilmiştir.

Polimorfik olduğu tespit edilen 10 adet SRAP primer çiftinin A firmasından alınan Kaman-5 çöğürlerine uygulanması sonucunda toplam 87 banttan 37 tanesinin polimorfik olduğu ve ortalama polimorfizm oranının %41.9 olduğu belirlenmiştir. En yüksek polimorfizm oranı (%62.5) Me3-Em10 no'lu primer çiftinden elde edilirken, en düşük polimorfizm (%16.7) Me3-Em2 no'lu primer çiftinden elde edilmiştir. Primer çiftleri ortalama 8.7 bant üretmiştir.

Çizelge 4.13. SRAP primer çiftlerinin FidancıA'dan alınan Kaman-5 (FÜA-K5) çöğürlerinde PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBI) ve ayırma gücü (AG) değerleri.

Primer	TBS	PBS	PO (%)	PBI	AG
Me2-Em4	11	5	45.45	0.61	1.13
Me3-Em2	9	4	44.44	0.39	1.55
Me3-Em4	12	4	33.33	0.56	1.27
Me3-Em5	6	1	16.67	0.47	1.45
Me3-Em17	8	3	37.50	0.51	1.39
Me3-Em20	8	3	37.50	0.64	1.09
Me6-Em7	7	4	57.14	0.45	1.41
Me9-Em6	8	5	62.50	0.63	1.09
Me10-Em8	10	6	60.00	0.60	1.12
Me10-Em9	8	2	25.00	0.76	0.91
Toplam	87	37	-	5.62	12.42
Ortalama	8.7	3.7	41.95	0.56	1.24

Çizelge 4.14. SRAP primer çiftlerinin FidancıB'den alınan Kaman-5 (FÜB-K5) çöğürlerinin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBI) ve ayırma gücü (AG) değerleri.

Primer	TBS	PBS	PO (%)	PBI	AG
Me2-Em4	11	4	36.36	0.44	1.42
Me3-Em2	9	3	33.33	0.51	1.33
Me3-Em4	11	4	36.36	0.46	1.46
Me3-Em5	6	2	33.33	0.50	1.31
Me3-Em17	9	4	44.44	0.61	1.19
Me3-Em20	8	4	50.00	0.63	1.12
Me6-Em7	8	5	62.50	0.67	0.98
Me9-Em6	8	5	62.50	0.62	1.11
Me10-Em8	10	6	60.00	0.52	1.33
Me10-Em9	9	3	33.33	0.66	0.97
Toplam	89	40	-	5.63	12.24
Ortalama	8.90	4	45.22	0.56	1.22

A firmasından alınan Kaman-5 genotiplerinde ortalama polimorfizm bilgi içeriği değeri 0.56 olarak belirlenmiştir. En yüksek (0.76) polimorfizm bilgi içeriği değeri Me10-Em9 no'lu primer çiftinden elde edilirken, en düşük (0.39) polimorfizm bilgi içeriği değeri ise Me3-Em2 no'lu primer çiftinden elde edilmiştir. Ayırma güçleri (AG) bakımından primer çiftleri karşılaştırıldığında; toplam ayırma gücü değeri 12.42 olarak belirlenmiş olup, en yüksek (1.55) ayırma gücü değeri Me3-Em2 no'lu primer çiftinden elde edilirken, en düşük (0.91) ayırma gücü değeri Me10-Em9 no'lu primer çiftinden elde edilmiştir.

B firmasından alınan Kaman-5 çöğürlerinde toplam 89 bant elde edilmiş ve 40 tanesinin polimorfik olduğu belirlenmiştir. Polimorfizm oranı ise %45.2 olarak hesaplanmıştır. En düşük polimorfizm oranı (%33.3) Me2-Em1, Me3-Em2, Me10 Em12 no'lu primer çiftlerinden elde edilirken, en yüksek polimorfizm oranı (%62.5) Me6-Em9 ve Me3 Em10 no'lu primer çiftlerinden elde edilmiştir. Primerler ise ortalama 8.9 bant üretmiştir.

SRAP primer çiftlerinin ortalama polimorfizm bilgi içeriği değeri 0.56 olarak bulunmuştur. En yüksek (0.67) polimorfizm bilgi içeriği değeri Me6-Em7 no'lu primer çiftinden elde edilirken, en düşük (0.44) polimorfizm bilgi içeriği Me2-Em4 no'lu primer çiftinden elde edilmiştir. Primer çiftlerinin toplam ayırma gücü değeri 12.24 olarak bulunmuştur. En yüksek (1.46) ayırma gücü değeri Me3-Em4 no'lu

primer çiftinden elde edilmiş olup, en düşük (0.97) ayırma gücü değeri ise Me10-Em9 no'lu primerden elde edilmiştir.

A fidancısından alınan çöğürlerde test edilen ISSR, SRAP ve her iki yöntemden (ISSR+SRAP) elde edilen verilerin birlikte değerlendirmesi sonucu ortaya çıkan genetik benzerlik katsayıları **Çizelge 4.15**, **Çizelge 4.16** ve **Çizelge 4.17**'de verilmiştir.

Çizelge 4.15. FidancıA'dan alınan Kaman-5 genotipinin çöğürlerinde ISSR analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10
B2	0.71	-								
B3	0.77	0.68	-							
B4	0.83	0.68	0.79	-						
B5	0.85	0.66	0.78	0.89	-					
B6	0.80	0.67	0.77	0.85	0.84	-				
B7	0.78	0.76	0.75	0.82	0.77	0.80	-			
B8	0.84	0.69	0.75	0.89	0.82	0.78	0.84	-		
B9	0.78	0.81	0.69	0.79	0.76	0.80	0.87	0.80	-	
B10	0.76	0.72	0.80	0.83	0.85	0.86	0.76	0.76	0.76	-
Kaman-5	0.84	0.70	0.81	0.81	0.82	0.86	0.84	0.79	0.83	0.77

Çizelge 4.16. FidancıA'dan alınan Kaman-5 genotipinin çöğürlerinde SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

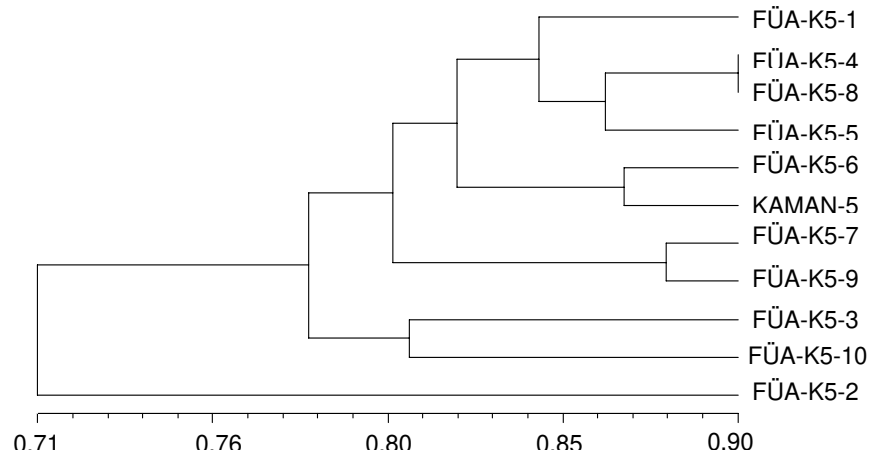
	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10
B2	0.79	-								
B3	0.84	0.79	-							
B4	0.83	0.80	0.85	-						
B5	0.84	0.75	0.87	0.88	-					
B6	0.77	0.79	0.80	0.74	0.80	-				
B7	0.74	0.85	0.83	0.80	0.81	0.85	-			
B8	0.76	0.78	0.74	0.77	0.81	0.93	0.82	-		
B9	0.83	0.74	0.83	0.80	0.86	0.79	0.80	0.80	-	
B10	0.83	0.79	0.86	0.85	0.91	0.86	0.83	0.82	0.83	-
Kaman-5	0.81	0.74	0.81	0.82	0.88	0.83	0.78	0.84	0.80	0.87

A fidan üreticisinden alınan 10 adet Kaman-5 fidan çöğürüne uygulanan ISSR analizi sonucunda çöğürler birbirlerinden ve Kaman-5 genotipinden genel olarak farklı bulunmuştur. Genetik benzerlik indeksleri 0.66 ile 0.89 arasında değişmiştir. UPMGA analizleri sonuçlarına göre genotipler 2 ana gruba ayrılmıştır.

Birinci grupta Kaman-5 genotipi ile birlikte 8 genotip bulunurken ikinci grupta 2 genotip yer almıştır. FÜA-K5-2 genotipi bu grupların dışında yer almıştır. Gruplarda en yakın çöğürler FÜA-K5-4 ile FÜA-K5-8 (0.89) olurken en uzak çöğürler FÜA-K5-2 ile FÜA-K5-5 (0.66) olmuştur. Kaman-5 genotipine en yakın çöğür FÜA-K5-6 (0.86) olurken, en uzak çöğür FÜA-K5-2 (0.70) olmuştur. UPMGA analizleri sonucunda elde edilen soyağacı Şekil 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4.17. FidancıA’da alınan Kaman-5 genotipinin çöğürlerinde ISSR ve SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard’a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

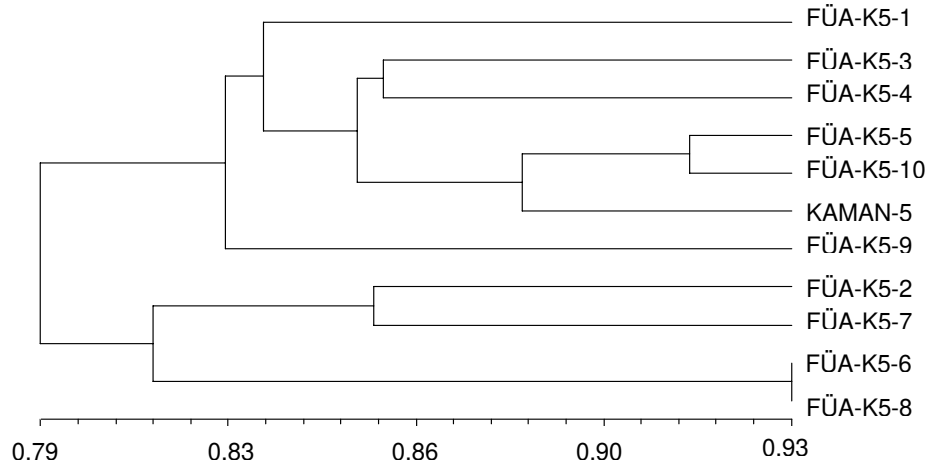
	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10
B2	0.75	-								
B3	0.81	0.74	-							
B4	0.83	0.74	0.82	-						
B5	0.84	0.71	0.83	0.88	-					
B6	0.79	0.73	0.78	0.79	0.82	-				
B7	0.76	0.81	0.79	0.81	0.79	0.83	-			
B8	0.80	0.74	0.74	0.82	0.82	0.86	0.83	-		
B9	0.80	0.77	0.76	0.79	0.81	0.79	0.83	0.80	-	
B10	0.80	0.75	0.84	0.84	0.88	0.86	0.80	0.80	0.79	-
Kaman-5	0.82	0.72	0.81	0.81	0.86	0.85	0.81	0.82	0.81	0.82



Şekil 4.11. A fidan üreticisinden alınan Kaman-5 çöğürlerine ISSR tekniğinin uygulanması sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.

A fidan üreticisinden alınan 10 adet Kaman-5 fidan çöğürüne uygulanan SRAP analizi sonucunda yine çöğürler birbirlerinden ayrılabilmiş ve Kaman-5 genotipinden DNA seviyesinde farklı bulunmuştur. Genetik benzerlik katsayıları

0.74 ile 0.93 arasında değişmiştir. UPMGA analizleri sonuçlarına göre genotipler 2 ana gruba ayrılmıştır. Birinci grupta Kaman-5 genotipi ile birlikte 7 genotip bulunurken, ikinci grupta 4 genotip yer almıştır. Gruplarda en yakın çöğürler FÜA-K5-6 ile FÜA-K5-8 (0.93) olurken, en uzak çöğürler FÜA-K5-1 ile FÜA-K5-7, FÜA-K5-3 ile FÜA-K5-8, FÜA-K5-4 ile FÜA-K5-6 (0.74) olmuştur. Kaman-5 genotipine en yakın çöğür FÜA-K5-5 (0.88) olurken, en uzak çöğür FÜA-K5-2 (0.74) bulunmuştur. UPMGA analizleri sonucunda elde edilen soyağacı **Şekil 4.12**'de verilmiştir.

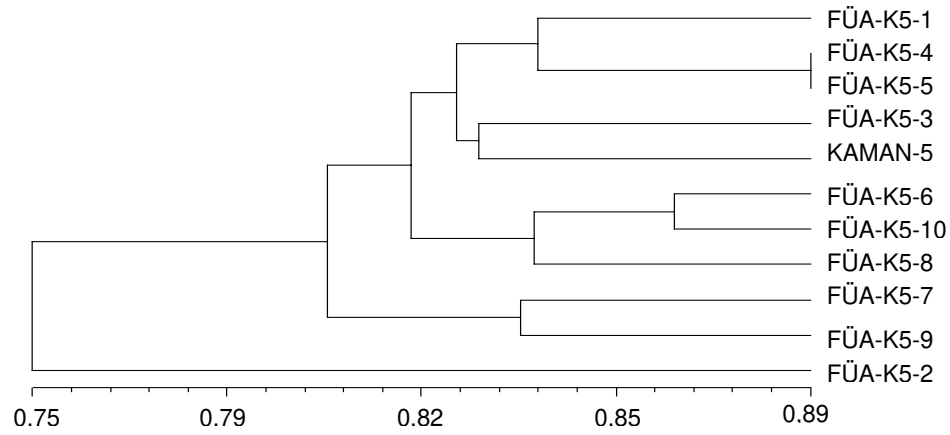


Şekil 4.12. A fidan üreticisinden alınan Kaman-5 çöğürlerine SRAP tekniğinin uygulanması sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.

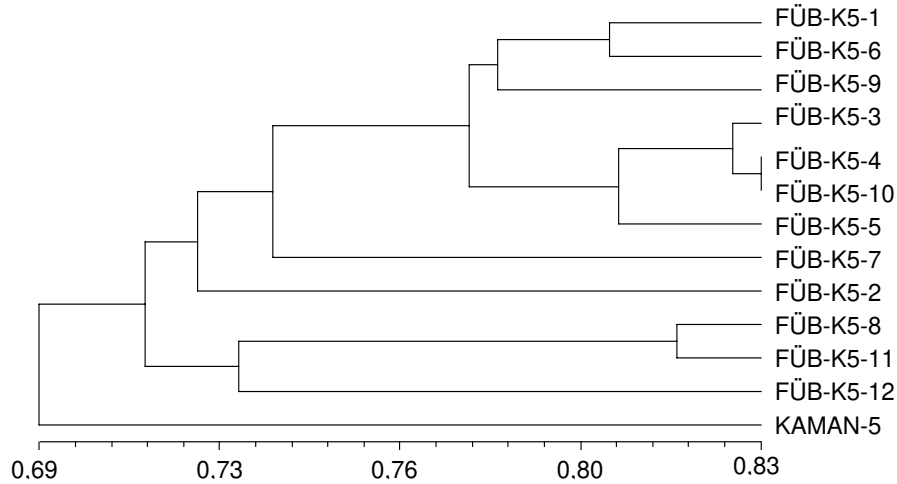
A fidan üreticisinden alınan 10 adet Kaman-5 fidan çöğürüne uygulanan SRAP ve ISSR tekniklerinden elde edilen veriler birlikte değerlendirilmiş olup yapılan UPMGA analizleri sonuçlarına göre genel olarak yine 2 ana grup oluşmuştur. Birinci grupta Kaman-5 genotipi dahil olmak üzere 8 genotip bulunurken, ikinci grupta 2 genotip yer almıştır. FÜA-K5-2 no'lu genotip bu grupların dışında yer almıştır. Kaman-5 genotipine en yakın çöğür FÜA-K5-5 (0.86) olmuştur. Birbirine en yakın çöğürler FÜA-K5-4 ile FÜA-K5-5 (0.88) olurken, FÜA-K1-2 ile FÜA-K1-5 (0.71) birbirlerine en uzak çöğürler olarak belirlenmiştir (**Şekil 4.13**).

B fidan üreticisinden alınan 12 adet Kaman-5 çöğürlerine uygulanan ISSR analizleri sonucunda kendi aralarında ve Kaman-5 genotipinden genel olarak farklı bulunmuştur. Genetik benzerlik indeksleri 0.66 ile 0.83 arasında değişmiştir.

UPMGA analizleri sonuçlarına göre genotipler 2 ana gruba ayrılmıştır. Birinci grupta 9 genotip bulunurken ikinci grupta 3 genotip yer almıştır. Kaman-5 genotipi ise bu grupların dışında yer almıştır. Birbirlerine genetik olarak en yakın çöğürler FÜB-K5-4 ile FÜB-K5-10 (0.83) olurken, en uzak çöğürler FÜB-K5-2 ile FÜB-K5-11 (0.66) olmuştur. UPMGA analizleri sonucunda elde edilen soyağacı Şekil 4.14’da verilmiştir.



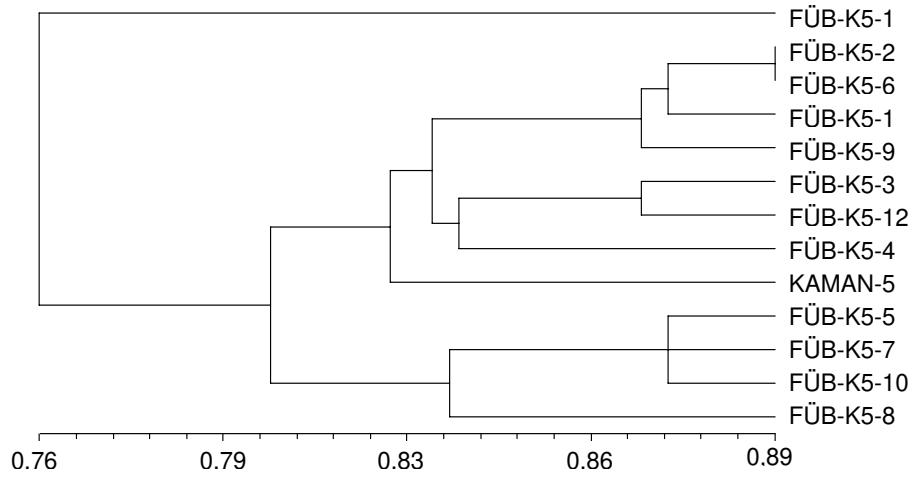
Şekil 4.13. A fidan üreticisinden alınan Kaman-5 çöğürlerine uygulanan ISSR ve SRAP teknikleri sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.



Şekil 4.14. B fidan üreticisinden alınan Kaman-5 çöğürlerine ISSR tekniğinin uygulanması sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.

B fidan üreticisinden alınan 12 adet Kaman-5 fidan çöğürüne uygulanan SRAP tekniği ile elde edilen veriler ile yapılan UPMGA analizleri sonuçlarına göre

yine 2 ana grup oluşmuştur. Birinci grupta Kaman-5 genotipi dahil olmak üzere 8 genotip bulunurken, ikinci grupta 4 genotip yer almıştır. FÜB-K5-1 no'lu genotip bu grupların dışında yer almıştır. Kaman-5 genotipine en yakın çöğür FÜB-K5-6 (0.87) olmuştur. Birbirine en yakın çöğürler FÜB-K5-2 ile FÜB-K5-6 (0.88) bulunurken, FÜB-K5-1 ile FÜB-K5-3 (0.71) no'lu çöğürler ise birbirine en uzak olarak belirlenmiştir (**Şekil 4.15**).



Şekil 4.15. B fidan üreticisinden alınan Kaman-5 çöğürlerine SRAP tekniğinin uygulanması sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.

B fidancısından alınan çöğürlere test edilen ISSR, SRAP ve her iki yöntemden (ISSR+SRAP) elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi sonucu ortaya çıkan genetik benzerlik indeksleri **Çizelge 4.18**, **Çizelge 4.19** ve **Çizelge 4.20**'de verilmiştir.

B fidan üreticisinden alınan 12 adet Kaman-5 çöğürlerine uygulanan ISSR ve SRAP tekniklerinden ortaya çıkan sonuçların birlikte değerlendirilmesi sonucu elde edilen dendogramda 2 ana grup oluşmuştur. Birinci grupta 8 genotip bulunurken ikinci grupta 4 genotip yer almıştır. Kaman-5 genotipi ise bu genotiplerin dışında yer almıştır. Birbirine en yakın çöğürler FÜB-K5-5 ile FÜB-K5-10 (0.83) bulunurken, FÜB-K5-7 ile FÜB-K5-12 (0.71) no'lu çöğürlerin birbirine en uzak oldukları belirlenmiştir (**Şekil 4.16**). Kaman-5 genotipine en yakın çöğür FÜB-K5-2 (0.78) no'lu çöğür iken, en uzak çöğür ise (0.71) FÜB-K5-8 olmuştur.

Çizelge 4.18. FidancıB'den alınan Kaman-5 genotipinin çöğürlerinde ISSR analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	B21	B22
B12	0.72	-										
B13	0.76	0.75	-									
B14	0.82	0.71	0.82	-								
B15	0.72	0.70	0.79	0.81	-							
B16	0.80	0.73	0.80	0.76	0.75	-						
B17	0.73	0.71	0.76	0.74	0.75	0.74	-					
B18	0.75	0.68	0.75	0.68	0.69	0.73	0.79	-				
B19	0.77	0.76	0.80	0.80	0.77	0.78	0.67	0.73	-			
B20	0.76	0.67	0.83	0.83	0.80	0.77	0.75	0.74	0.76	-		
B21	0.73	0.66	0.68	0.69	0.70	0.69	0.69	0.81	0.73	0.70	-	
B22	0.68	0.70	0.75	0.71	0.70	0.73	0.64	0.70	0.78	0.74	0.76	
Kaman-5	0.71	0.69	0.73	0.74	0.73	0.67	0.70	0.64	0.69	0.73	0.65	0.60

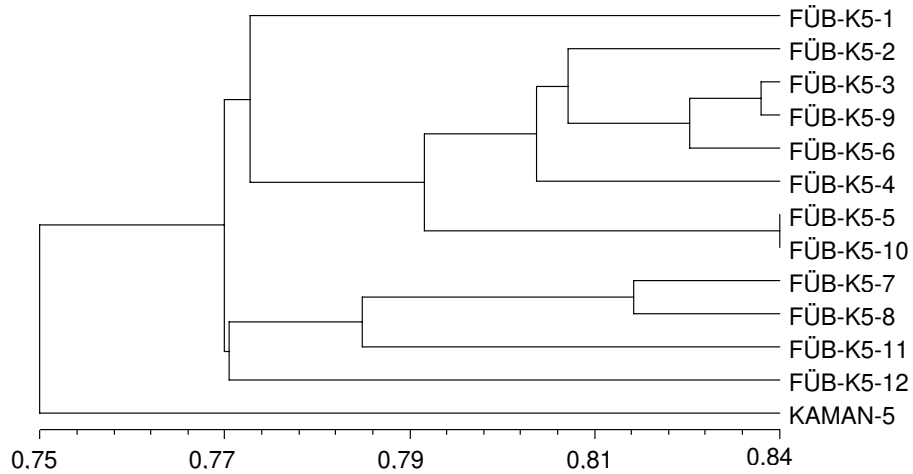
Çizelge 4.19. FidancıB'den alınan Kaman-5 genotipinin çöğürlerinde SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	B21	B22
B12	0.82	-										
B13	0.71	0.85	-									
B14	0.75	0.82	0.85	-								
B15	0.77	0.80	0.80	0.80	-							
B16	0.81	0.88	0.84	0.84	0.81	-						
B17	0.75	0.80	0.80	0.78	0.87	0.82	-					
B18	0.73	0.80	0.82	0.78	0.86	0.83	0.82	-				
B19	0.78	0.85	0.85	0.82	0.82	0.86	0.80	0.82	-			
B20	0.75	0.82	0.80	0.80	0.87	0.79	0.85	0.80	0.85	-		
B21	0.73	0.85	0.82	0.78	0.77	0.88	0.80	0.82	0.87	0.80	-	
B22	0.77	0.84	0.86	0.80	0.79	0.85	0.77	0.81	0.80	0.80	0.79	
Kaman-5	0.72	0.86	0.79	0.77	0.72	0.87	0.75	0.77	0.79	0.77	0.81	0.83

A ve B Firmalarından alınan Kaman-1 ve Kaman-5 genotiplerine yapılan SRAP analizleri sonucunda SRAP primer çiftlerinden toplam 353 bant elde edilmiş olup bunların 160 tanesinin polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Polimorfizm oranı % 45.32 olarak tespit edilmiştir. SRAP tekniği cevizlerde ilk defa kullanılmış olup Kaman-5 çöğürlerinin birbirlerinden genetik olarak ayırt edilmesinde oldukça başarılı olmuştur.

Çizelge 4.20. FidancıB’den alınan Kaman-5 genotipinin çöğürlerinde ISSR ve SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard’a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	B21	B22
B12	0.77	-										
B13	0.74	0.80	-									
B14	0.78	0.77	0.83	-								
B15	0.74	0.75	0.79	0.80	-							
B16	0.80	0.81	0.82	0.80	0.78	-						
B17	0.74	0.76	0.78	0.76	0.81	0.78	-					
B18	0.74	0.74	0.78	0.73	0.78	0.79	0.80	-				
B19	0.77	0.81	0.82	0.81	0.80	0.82	0.74	0.78	-			
B20	0.75	0.75	0.81	0.81	0.83	0.78	0.80	0.77	0.81	-		
B21	0.73	0.76	0.75	0.73	0.74	0.79	0.75	0.81	0.80	0.75	-	
B22	0.73	0.78	0.81	0.75	0.75	0.80	0.71	0.76	0.79	0.77	0.78	
Kaman-5	0.72	0.78	0.76	0.75	0.72	0.77	0.72	0.71	0.75	0.75	0.73	0.72



Şekil 4.16. B fidan üreticisinden alınan Kaman-5 çöğürlerine ISSR ve SRAP tekniklerinin sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.

Bu çalışmada elde edilen ISSR verileri **Potter ve ark. (2002)** ile **Doğan’ın (2006)** çalışma sonuçlarına göre daha düşük bulunmuştur. Bu durum bu çalışmada kullanılan genotiplerin birbirine daha yakın akraba olmasından yani varyasyonun daha düşük olmasından kaynaklanmaktadır.

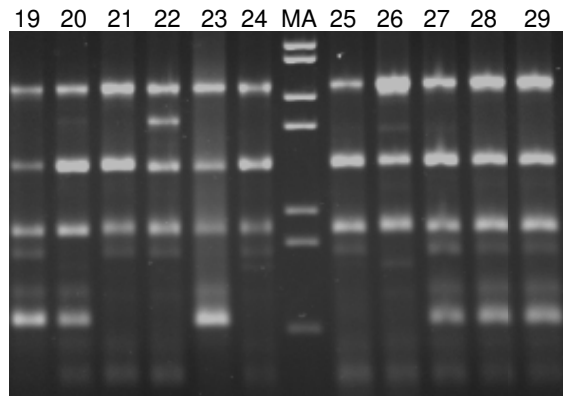
İki farklı fidancıdan alınan Kaman-5 çöğürlerinde yapılan ISSR ve SRAP analizleri sonucunda Kaman-5 tohumundan çıkmış bireylerde geniş bir varyasyonun olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle aşılama, tohumdan çıkmış çöğürlerle kurulacak

bahçelerden elde edilecek meyvelerde de geniş bir varyasyon olacaktır. Sonuç olarak, Kaman-5 genotipi ile ceviz bahçesi kurulması istenildiğinde mutlaka aşılı fidanların kullanılması zorunludur. Elde edilen tüm bu sonuçlar Kaman-5 genotipinin apomiktik meyve üretmediğini açıkça göstermektedir.

4.2. Cevizlerde Apomiksisin Tohumdan Çıkmış ve Meyve Vermeye Başlamış Ağaçlarda Belirlenmesi

4.2.1. Kaman-1

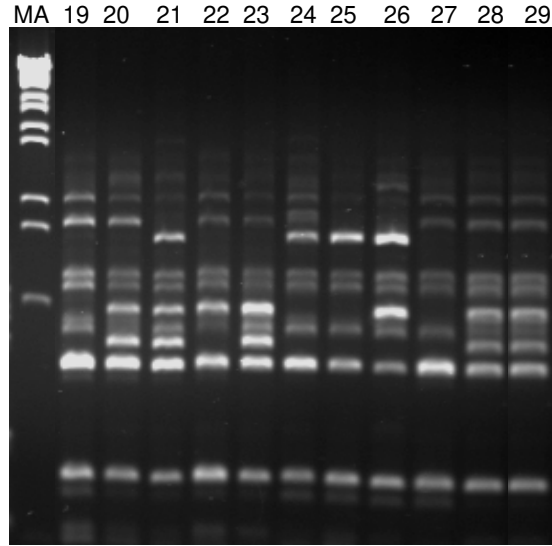
Daha önce **Doğan (2006)** tarafından polimorfik olduğu belirlenen 15 adet ISSR primeri tohumdan çıkmış ve meyve vermeye başlamış Kaman-1 ağaçlarında uygulanmış olup, UBC 853 no'lu primerin ürettiği bantlar **Şekil 4.17'**de verilmiştir.



Şekil 4.17. Tohumdan çıkmış 10 adet Kaman-1 ceviz çöğür ağacında UBC 853 no'lu ISSR primerinin amplifikasyon ürünleri. Sırası ile çeşit ve genotiplerin isim listesi: **19.** Tohum-K1-1, **20.** Tohum-K1-2, **21.** Tohum-K1-3, **22.** Tohum-K1-4, **23.** Tohum-K1-5, **24.** Tohum-K1-6, **25.** Tohum-K1-7, **26.** Tohum-K1-8, **27.** Tohum-K1-9, **28.** Tohum-K1-10 ve **29.** Kaman-1. **MA:** moleküler ağırlık.

Şekil 4.17 incelendiğinde, UBC 853 no'lu primerin tohumdan çıkmış 10 adet Kaman-1 ceviz genotipinde yapılan PCR amplifikasyonu sonucunda elde edilen toplam 7 adet bandın 4'ünün polimorfik olduğu ve bu polimorfik bantların büyüklüklerinin 600–1400 bp arasında değiştiği belirlenmiştir.

SRAP tekniğinde ise yapılan taramalar sonucunda en polimorfik olduğu belirlenen 10 primer çifti tohumdan çıkmış Kaman-1 genotiplerine uygulanmıştır. Örnek olarak Me3-Em9 primer çiftinin Kaman-1 genotiplerindeki amplifikasyonu sonucu elde edilen ürünlerin gösterildiği jel görüntüsü **Şekil 4.18**'de verilmiştir.



Şekil 4.18. Tohumdan çıkmış 10 adet Kaman-1 ceviz çöğür ağacında SRAP Me3-Em1 primer çiftinin amplifikasyonu. Sırası ile çeşit ve genotiplerin isim listesi: **19.** Tohum-K1-1, **20.** Tohum-K1-2, **21.** Tohum-K1-3, **22.** Tohum-K1-4, **23.** Tohum-K1-5, **24.** Tohum-K1-6, **25.** Tohum-K1-7, **26.** Tohum-K1-8, **27.** Tohum-K1-9, **28.** Tohum-K1-10 ve **29.** Kaman-1. **MA:** moleküler ağırlık.

Şekil 4.18 incelendiğinde Me3-Em1 primer çiftinin tohumdan çıkmış ve meyveye başlamış 10 adet Kaman-1 ceviz genotipinde yapılan analizler sonucunda toplam 10 adet bant elde edilmiş ve bu bantların yarısı polimorfizm göstermiş olup polimorfik bantların büyüklüklerinin 300–1000 bp arasında değişim göstermiştir.

Tohumdan çıkmış ve meyveye başlamış Kaman-1 cevizi çöğürlerine 15 adet ISSR primerinin uygulanması ile elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), ayırma gücü (AG) ve primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri (PBİ) değerleri **Çizelge 4.21**'de verilmiştir.

Tohumdan çıkmış Kaman-1 ağaçlarına 15 adet ISSR primerinin uygulanması sonucunda toplam 109 bant elde edilmiş olup, 58 tanesi (%51.8) polimorfizm göstermiştir. Primer başına ortalama 3.9 polimorfik bant düşmüştür. En yüksek

polimorfizm oranı (%87.5) UBC 826 no'lu primerden elde edilirken, en düşük polimorfizm (%25) UBC 858 no'lu primerden elde edilmiştir.

Çizelge 4.21. ISSR primerlerinin tohumdan çıkmış Kaman-1 (Tohum-K1) ağaçlarında PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBI) ve primerin ayırma gücü (AG) değerleri.

No	Primer	TBS	PBS	PO	PBI	AG
1	UBC 808	10	6	60.00	0.74	0.88
2	UBC 810	7	3	42.86	0.53	1.33
3	UBC 811	9	6	66.67	0.80	0.70
4	UBC 814	8	4	50.00	0.71	1.00
5	UBC 815	9	6	66.67	0.68	0.97
6	UBC 823	7	3	42.86	0.45	1.45
7	UBC 826	8	7	87.50	0.72	0.94
8	UBC 829	8	4	50.00	0.85	0.64
9	UBC 834	8	3	37.50	0.50	1.21
10	UBC 846	7	3	42.86	0.60	1.15
11	UBC 853	5	3	60.00	0.75	0.85
12	UBC 854	5	2	40.00	0.79	0.73
13	UBC 855	9	4	44.44	0.73	0.95
14	UBC 856	5	3	60.00	0.57	1.27
15	UBC 858	4	1	25.00	0.59	1.27
Toplam		109	58	-	10.02	15.35
Ortalama		7.27	3.87	51.76	0.67	1.02

Çalışmada polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) ve ayırma güçleri de (AG) değerlendirilmiş olup, tohumdan çıkmış Kaman-1 ağaçlarında ortalama polimorfizm bilgi içeriği değeri 0.67 olarak saptanmıştır. En yüksek (0.85) polimorfizm bilgi içeriği değeri UBC 829 no'lu primerden elde edilirken , en düşük (0.45) ise UBC 823 no'lu primerden elde edilmiştir. Primerlerin toplam ayırma gücü değeri 15.35 olarak bulunmuştur, En yüksek (1.45) ayırma gücü değeri UBC 823 no'lu primerden elde edilirken, en düşük (0.64) ayırma gücü değeri UBC 829 no'lu primerden elde edilmiştir.

Tohumdan çıkmış Kaman-1 cevizi genotiplerine polimorfik olduğu belirlenen 10 adet SRAP primer çifti de uygulanmıştır. Elde edilen amplifikasyon ürünleri aynı şekilde en belirgin bantlar dikkate alınarak var (1) ve yok (0) şeklinde değerlendirilmiştir. Verilerin değerlendirilmesi sonucunda elde edilen toplam bant

sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), ayırma gücü (AG) ve primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri (PBİ) değerleri aşağıdaki Çizelge 4.22’de verilmiştir.

Çizelge 4.22. SRAP primerlerinin tohumdan çıkmış Kaman-1 (Tohum-K1) ağaçlarında PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBİ) ve primerin ayırma gücü (AG) değerleri.

Primer	TBS	PBS	PO (%)	PBİ	AG
Me1-Em10	9	5	55.56	0.93	0.47
Me2-Em1	11	5	45.45	0.64	1.05
Me3-Em1	10	4	40.00	0.67	1.09
Me3-Em2	12	6	50.00	0.70	1.00
Me3-Em3	7	1	14.29	0.97	0.36
Me3-Em4	9	3	33.33	0.51	1.39
Me6-Em9	10	6	60.00	0.71	0.91
Me3-Em10	5	1	20.00	0.79	0.91
Me3-Em13	5	4	80.00	0.51	1.36
Me10-Em12	9	6	66.67	0.67	1.03
Toplam	87	41	-	7.10	9.59
Ortalama	8.70	4.10	46.53	0.71	0.96

Polimorfik olduğu tespit edilen 10 adet SRAP primer çiftinin tohumdan yetişen Kaman-1 genotiplerine uygulanması sonucunda toplam 87 bant elde edilmiş olup, 41 tanesinin (%46.5) polimorfizm gösterdiği tespit edilmiştir. En yüksek polimorfizm oranı (%8) Me3-Em13 no’lu primer çiftinden elde edilirken, en düşük polimorfizm (%14.3) Me3-Em3 no’lu primer çiftinden elde edilmiştir. Primer çiftleri ortalama 8.7 bant üretmiştir.

Ortalama polimorfizm bilgi içeriği değeri 0.71 olarak belirlenmiş olup, en yüksek (0.97) polimorfizm bilgi içeriği değeri Me3-Em3 no’lu primer çiftinden, en düşük (0.51) polimorfizm bilgi içeriği değeri ise Me3-Em4 no’lu primer çiftinden elde edilmiştir. Toplam ayırma gücü değeri 9.59 olarak belirlenmiş olup, en yüksek (1.39) ayırma gücü değeri Me3-Em4 no’lu primer çiftinden elde edilirken, en düşük (0.36) ayırma gücü değeri Me3-Em3 no’lu primer çiftinden elde edilmiştir.

Tohumdan yetişmiş ve meyve vermeye başlamış 10 adet ağaçta uygulanan ISSR tekniğinden elde edilen veriler ile oluşturulan soyağacında iki ana grup oluşmuştur. Birinci grupta Kaman-1 genotipi dahil olmak üzere 6 genotip

bulunurken, ikinci grupta 5 genotip yer almıştır. Tohumdan çıkmış ağaçlara test edilen ISSR, SRAP ve her iki yöntemden (ISSR+SRAP) elde edilen verilerin birlikte değerlendirmesi sonucu ortaya çıkan genetik benzerlik indeksleri **Çizelge 4.23**, **Çizelge 4.24** ve **Çizelge 4.25**'de verilmiştir.

Çizelge 4.23 Verime başlamış Kaman-1 ağaçlarında ISSR analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

	A19	A20	A21	A22	A23	A24	A25	A26	A27	A28
A20	0.73	-								
A21	0.80	0.78	-							
A22	0.78	0.74	0.83	-						
A23	0.71	0.79	0.78	0.72	-					
A24	0.70	0.72	0.73	0.71	0.66	-				
A25	0.73	0.75	0.76	0.70	0.71	0.75	-			
A26	0.73	0.68	0.72	0.70	0.69	0.68	0.80	-		
A27	0.77	0.69	0.78	0.76	0.71	0.77	0.79	0.76	-	
A28	0.77	0.73	0.74	0.77	0.72	0.73	0.79	0.78	0.92	-
Kaman-1	0.76	0.78	0.84	0.79	0.86	0.68	0.76	0.76	0.78	0.78

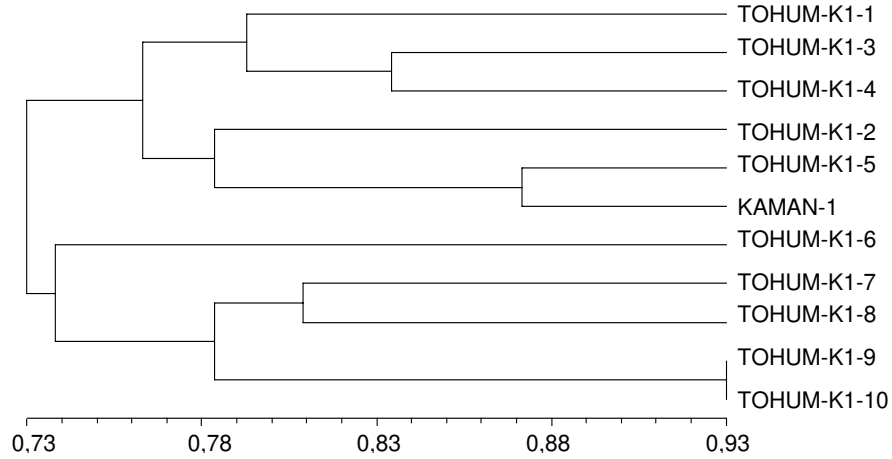
Çizelge 4.24. Verime başlamış Kaman-1 ağaçlarında SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

	A19	A20	A21	A22	A23	A24	A25	A26	A27	A28
A20	0.81	-								
A21	0.77	0.82	-							
A22	0.84	0.77	0.71	-						
A23	0.72	0.80	0.72	0.75	-					
A24	0.72	0.82	0.79	0.69	0.74	-				
A25	0.74	0.74	0.76	0.70	0.75	0.75	-			
A26	0.73	0.81	0.82	0.76	0.75	0.79	0.81	-		
A27	0.78	0.81	0.75	0.79	0.70	0.79	0.72	0.74	-	
A28	0.78	0.72	0.69	0.79	0.75	0.70	0.82	0.71	0.79	-
Kaman-1	0.86	0.83	0.80	0.84	0.80	0.71	0.79	0.78	0.78	0.84

Çizelge 4.25. Verime başlamış Kaman-1 ağaçlarında ISSR ve SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

	A19	A20	A21	A22	A23	A24	A25	A26	A27	A28
A20	0.76	-								
A21	0.79	0.80	-							
A22	0.80	0.75	0.77	-						
A23	0.71	0.79	0.75	0.73	-					
A24	0.71	0.76	0.76	0.70	0.69	-				
A25	0.73	0.75	0.76	0.70	0.73	0.75	-			
A26	0.73	0.73	0.77	0.73	0.71	0.73	0.81	-		
A27	0.77	0.75	0.77	0.77	0.70	0.78	0.76	0.75	-	
A28	0.77	0.72	0.72	0.78	0.73	0.72	0.80	0.75	0.86	-
Kaman-1	0.80	0.81	0.82	0.81	0.83	0.69	0.77	0.77	0.78	0.81

Kaman-1 genotipine en yakın çöğür ağaç Tohum-K1-5 (0.86) iken, en uzak çöğür ağaç ise Tohum-K1-6 (0.68) olarak saptanmıştır. Birbirine en yakın ağaçlar Tohum-K1-9 ile Tohum-K1-10 (0.92) bulunurken, Tohum-K1-5 ile Tohum-K1-6 (0.66) no'lu ağaçlar birbirine en uzak olarak belirlenmiştir (Şekil 4.19).

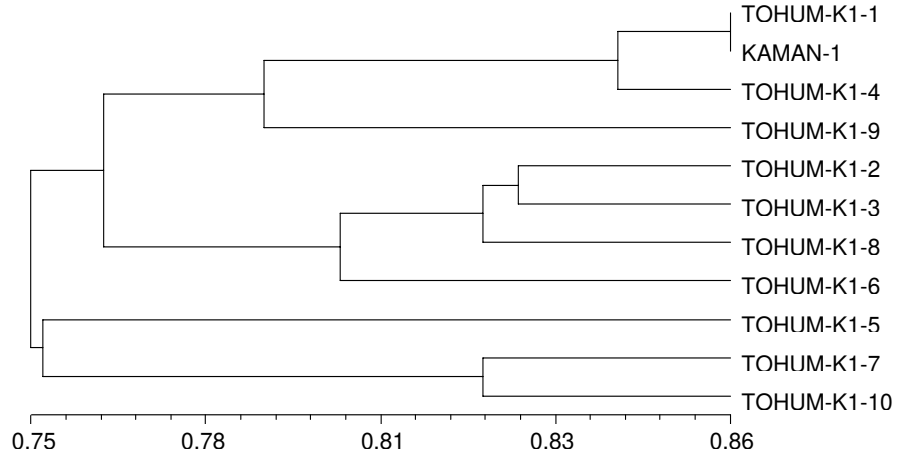


Şekil 4.19. Tohumdan çıkmış ağaçlara ISSR tekniğinin uygulanması ve elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.

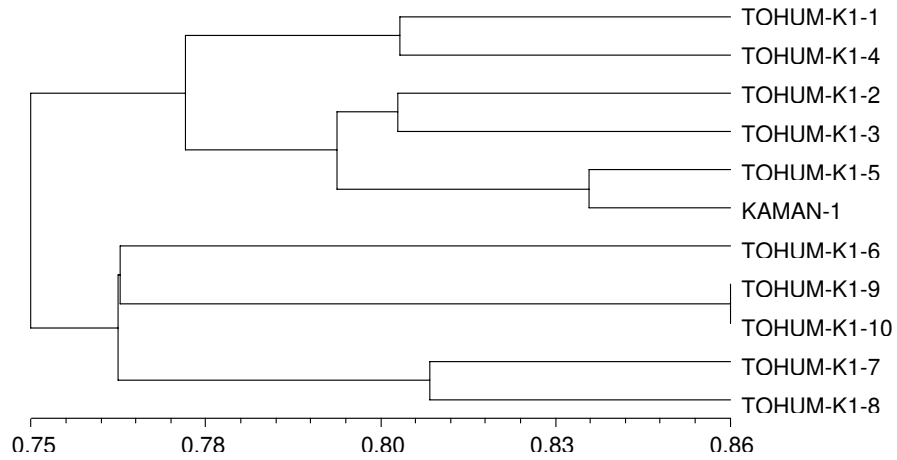
Tohumdan elde edilmiş ve meyve vermeye başlamış 10 adet ağaca uygulanan SRAP tekniğinden elde edilen veriler sonucunda oluşan dendrogramda iki ana grup oluşmuştur. Birinci grupta Kaman-1 genotipi dahil olmak üzere 8 genotip bulunurken, ikinci grupta 3 genotip yer almıştır. Kaman-1 genotipine en yakın çöğür ağaç Tohum-K1-1 (0.86) olurken, en uzak çöğür ağaç ise Tohum-K1-6 (0.71) olmuştur. Birbirine en yakın çöğür ağaçlar Tohum-K1-1 ile Tohum-K1-4 (0.84) bulunurken, Tohum-K1-4 ile Tohum-K1-6 (0.69) no'lu çöğür ağaçların birbirine en uzak oldukları belirlenmiştir (Şekil 4.20).

Tohumdan elde edilmiş ve meyve vermeye başlamış 10 adet ağaca uygulanan ISSR ve SRAP tekniklerinden elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi sonucu elde edilen soyağacında iki ana grup oluşmuştur. Birinci grupta Kaman-1 genotipi dahil olmak üzere 6 genotip yer alırken ikinci grupta ise 5 genotipin bulunduğu görülmüştür. Kaman-1 genotipine en yakın çöğür ağaç Tohum-K1-5 (0.83) bulunmuştur. Kaman-1 genotipine en uzak çöğür ağacın ise Tohum-K1-4 (0.69) olduğu tespit edilmiştir. Birbirine en yakın çöğür ağaçlar Tohum-K1-9 ile Tohum-

K1-10 (0.86) bulunurken, Tohum-K1-5 ile Tohum-K1-6 (0.69) no'lu çöğür ağaçların ise birbirlerine en uzak oldukları belirlenmiştir (Şekil 4.21).



Şekil 4.20. Tohumdan elde edilmiş ağaçlara SRAP tekniğinin uygulanması ve elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.



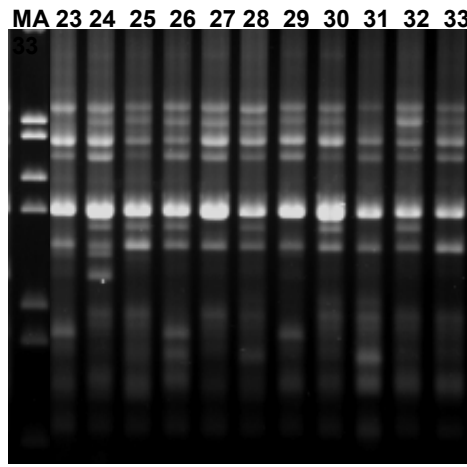
Şekil 4.21. Tohumdan elde edilmiş ağaçlara ISSR ve SRAP tekniklerinin birlikte uygulanması ve elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.

Kaman-1 tohumundan çıkmış ve meyve vermeye başlamış Kaman-1 ağaçlarının DNA seviyesinde karşılaştırılması sonucu bu çöğür ağaçların genetik olarak birbirlerinden farklı oldukları belirlenmiştir. Böylece bir önceki bölümde Kaman-1 çöğürleri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen sonuçlar

bulgular ile benzer sonuçlar elde edilmiş olup, Kaman-1 genotipinin apomiktik meyve vermediği sonucu ortaya çıkmıştır.

4.2.2. Kaman-5

Tohumdan çıkmış ve meyve vermeye başlamış 10 adet Kaman-5 ağacında daha önce **Doğan (2006)** tarafından polimorfik olduğu belirlenen 15 ISSR primeri uygulanmış olup, UBC 826 no'lu primerden bir görünüm **Şekil 4.22**'de verilmiştir.



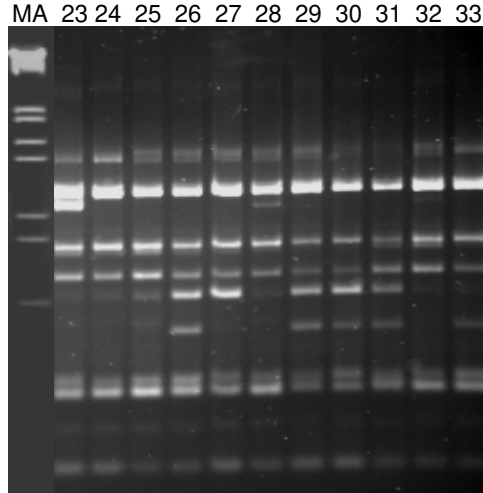
Şekil 4.22. Tohumdan çıkmış 10 adet Kaman-5 ceviz çöğür ağacında UBC 826 no'lu ISSR primerinin amplifikasyonu. Sırası ile çeşit ve genotiplerin isim listesi: **23.** Tohum-K5-1, **24.** Tohum-K5-2, **25.** Tohum-K5-3, **26.** Tohum-K5-4, **27.** Tohum-K5-5, **28.** Tohum-K5-6, **29.** Tohum-K5-7, **30.** Tohum-K5-8, **31.** Tohum-K5-9, **32.** Tohum-K5-10 ve **33.** Kaman-5 . **MA:** moleküler ağırlık.

Şekil 4.22 incelendiğinde, UBC 826 no'lu primerinin tohumdan çıkmış 10 adet Kaman-5 ceviz genotipi ile yapılan PCR amplifikasyonu sonucu oluşan toplam 7 adet bandın 3'ünün polimorfik olduğu ve bu polimorfik bantların büyüklüklerinin 900–1900 bp arasında değiştiği belirlenmiştir.

SRAP tekniğinde ise yine daha önce yapılan taramalar sonucunda en polimorfik olduğu belirlenen 10 primer çifti tohumdan çıkmış ve meyve vermeye başlamış ağaçlarda uygulanmıştır. Örnek olarak Me2-Em4 primer çiftinin jel görüntüsü **Şekil 4.23**'de verilmiştir.

Şekil 4.23 incelendiğinde, Me2-Em4 primer çiftinin tohumdan çıkmış ve meyve vermeye başlamış 10 adet Kaman-5 ceviz genotipi ile yapılan PCR

amplifikasyonu sonucu ortaya çıkan toplam 9 adet bandın 4'ünün polimorfik olduğu ve bu polimorfik bantların büyüklüklerinin 300–1350 bp arasında değişiklik gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 4.23. Tohumdan çıkmış 10 adet Kaman-5 ceviz çöğür ağacında SRAP Me2-Em4 primer çiftinin amplifikasyonu. Sırası ile çeşit ve genotiplerin isim listesi (23. Tohum-K5-1, 24. Tohum-K5-2, 25. Tohum-K5-3, 26. Tohum-K5-4, 27. Tohum-K5-5, 28. Tohum-K5-6, 29. Tohum-K5-7, 30. Tohum-K5-8, 31. Tohum-K5-9, 32. Tohum-K5-10 ve 33. Kaman-5) MA: moleküler ağırlık.

ISSR analizlerinde kullanılan primerlerden elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), ayırma gücü (AG) ve primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) değerleri **Çizelge 4.26**'da verilmiştir.

Tohumdan çıkan ve meyve vermeye başlamış Kaman-5 genotiplerinde kullanılan ISSR primerleri toplam 87 bant vermiş olup 43 tanesinin (%47.2) polimorfizm gösterdiği belirlenmiştir. En düşük polimorfizm oranı (%25) UBC 854 no'lu primerden elde edilirken, en yüksek polimorfizm oranı (%80) UBC 811 ve UBC 855 no'lu primerlerden elde edilmiştir. Primer başına ise ortalama 2.8 polimorfik bant düşmüştür.

Primerlerin ortalama polimorfizm bilgi içeriği değeri 0.64 olarak belirlenmiştir. En yüksek (0.88) polimorfizm bilgi içeriği değeri UBC 815 ve UBC 846 no'lu primerlerden elde edilirken, en düşük (0.32) polimorfizm bilgi içeriği UBC 856 no'lu primerden elde edilmiştir. Primerlerin toplam ayırma gücü değeri 14.11

olarak hesaplanmıştır. En yüksek (1.64) ayırma gücü değeri UBC 856 no'lu primerden elde edilmiş olup, en düşük (0.64) ayırma gücü değeri ise, UBC 815 ve UBC 846 no'lu primerlerden elde edilmiştir.

Çizelge 4.26. ISSR primerlerinin tohumdan çıkmış Kaman-5 (Tohum-K5) ağaçlarında PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBI) ve primerin ayırma gücü (AG) değerleri.

No	Primer	TBS	PBS	PO (%)	PBI	AG
1	UBC 808	8	5	62.50	0.56	1.27
2	UBC 810	10	5	50.00	0.69	0.98
3	UBC 811	5	4	80.00	0.56	1.23
4	UBC 814	9	4	44.44	0.69	1.00
5	UBC 815	4	2	50.00	0.88	0.64
6	UBC 823	4	0	0.00	0.00	0.00
7	UBC 826	11	6	54.55	0.74	0.85
8	UBC 829	4	2	50.00	0.46	1.45
9	UBC 834	7	2	28.57	0.81	0.82
10	UBC 846	6	4	66.67	0.88	0.64
11	UBC 853	3	1	33.33	0.79	0.91
12	UBC 854	4	1	25.00	0.87	0.73
13	UBC 855	5	4	80.00	0.72	0.86
14	UBC 856	4	2	50.00	0.32	1.64
15	UBC 858	3	1	33.33	0.70	1.09
Toplam		87	43	-	9.67	14.11
Ortalama		5.8	2.87	47.23	0.64	0.94

SRAP analizlerinde kullanılan primerlerden elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), ayırma gücü (AG) ve primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) değerleri **Çizelge 4.27'**de verilmiştir.

Tohumdan çıkmış ve meyve vermeye başlamış Kaman-5 ağaçlarında kullanılan SRAP primer çiftlerinden toplam 90 bant elde edilmiş ve 39 tanesinin (%44.7) polimorfizm gösterdiği belirlenmiştir. En düşük polimorfizm oranı (%25) Me1-Em10 ve Me10 Em12 no'lu primer çiftlerinden elde edilirken, en yüksek polimorfizm oranı (%62.5) Me6-Em9 ve Me3 Em10 no'lu primer çiftlerinden elde edilmiştir.

Ortalama polimorfizm bilgi içeriği değeri 0.63 olarak bulunmuştur. En yüksek (0.92) polimorfizm bilgi içeriği değeri Me2-Em4 no'lu primer çiftinden elde

edilirken, en düşük (0.23) polimorfizm bilgi içeriği Me3-Em5 no'lu primer çiftinden elde edilmiştir. SRAP primer çiftlerinin toplam ayırma gücü değeri 10.90 olarak belirlenmiştir. En yüksek (1.76) ayırma gücü değeri Me3-Em5 no'lu primer çiftinden elde edilmiş olup, en düşük (0.48) ise Me2-Em4 no'lu primerden elde edilmiştir.

Çizelge 4.27. SRAP primerlerinin tohumdan çıkmış Kaman-5 (Tohum-K5) ağaçlarında PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayıları (TBS), polimorfik bant sayıları (PBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBI) ve primerin ayırma gücü (AG) değerleri.

Primer	TB	PB	PO (%)	PBI	AG
Me2-Em4	12	3	25.00	0.92	0.48
Me3-Em2	9	3	33.33	0.63	1.21
Me3-Em4	12	4	33.33	0.56	1.27
Me3-Em5	6	3	50.00	0.23	1.76
Me3-Em17	9	5	55.56	0.67	0.98
Me3-Em20	8	4	50.00	0.55	1.14
Me6-Em7	8	5	62.50	0.63	1.05
Me9-Em6	8	5	62.50	0.67	1.09
Me10-Em8	10	5	50.00	0.74	0.91
Me10-Em9	8	2	25.00	0.75	1.00
Toplam	90	39	-	6.34	10.90
Ortalama	9	3.9	44.72	0.63	1.09

Tohumdan çıkmış Kaman-5 ağaçlarına test edilen ISSR, SRAP ve her iki yöntemden (ISSR+SRAP) elde edilen verilerin birlikte değerlendirmesi sonucu ortaya çıkan genetik benzerlik indeksleri **Çizelge 4.28**, **Çizelge 4.29** ve **Çizelge 4.30**'da verilmiştir.

Çizelge 4.28. Verime başlamış Kaman-5 ağaçlarında ISSR analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

	B23	B24	B25	B26	B27	B28	B29	B30	B31	B32
B24	0,78	-								
B25	0,72	0,75	-							
B26	0,75	0,75	0,86	-						
B27	0,75	0,76	0,79	0,80	-					
B28	0,71	0,74	0,75	0,78	0,78	-				
B29	0,74	0,70	0,78	0,76	0,78	0,72	-			
B30	0,70	0,72	0,76	0,76	0,85	0,77	0,73	-		
B31	0,72	0,68	0,84	0,79	0,80	0,75	0,81	0,74	-	
B32	0,76	0,78	0,87	0,88	0,78	0,76	0,79	0,77	0,80	-
Kaman-5	0,74	0,74	0,83	0,83	0,86	0,77	0,80	0,80	0,81	0,89

Çizelge 4.29. Verime başlamış Kaman-5 ağaçlarında SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

	B23	B24	B25	B26	B27	B28	B29	B30	B31	B32
B24	0,78	-								
B25	0,80	0,79	-							
B26	0,78	0,78	0,82	-						
B27	0,74	0,83	0,81	0,80	-					
B28	0,76	0,72	0,79	0,90	0,75	-				
B29	0,75	0,75	0,82	0,77	0,80	0,74	-			
B30	0,74	0,86	0,83	0,83	0,89	0,77	0,78	-		
B31	0,79	0,79	0,86	0,88	0,77	0,89	0,76	0,80	-	
B32	0,79	0,79	0,84	0,83	0,84	0,84	0,72	0,82	0,87	-
Kaman-5	0,80	0,83	0,90	0,82	0,81	0,81	0,75	0,85	0,86	0,86

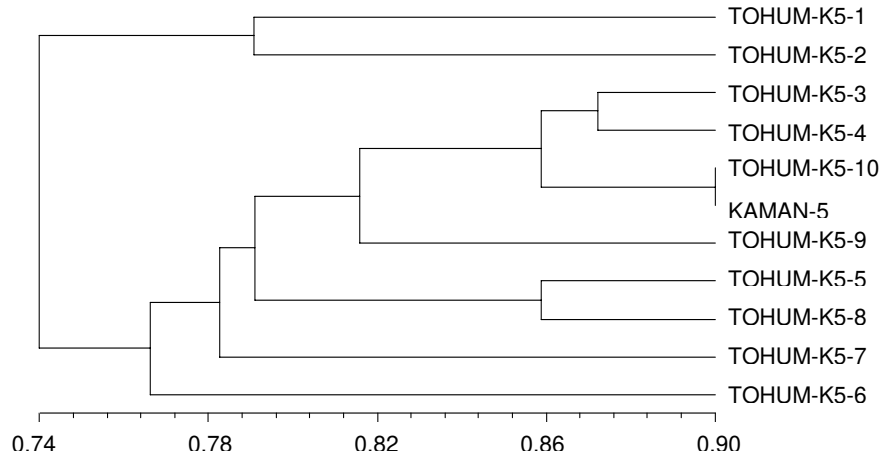
Çizelge 4.30. Verime başlamış Kaman-5 ağaçlarında ISSR ve SRAP analizleri sonucu elde edilen ve Jaccard'a göre hesaplanan genetik benzerlik indeksleri.

	B23	B24	B25	B26	B27	B28	B29	B30	B31	B32
B24	0,78	-								
B25	0,76	0,77	-							
B26	0,76	0,77	0,84	-						
B27	0,74	0,79	0,80	0,80	-					
B28	0,74	0,73	0,77	0,84	0,76	-				
B29	0,74	0,72	0,80	0,76	0,79	0,73	-			
B30	0,72	0,79	0,80	0,80	0,87	0,77	0,75	-		
B31	0,76	0,74	0,85	0,84	0,78	0,82	0,78	0,77	-	
B32	0,77	0,79	0,85	0,85	0,81	0,80	0,75	0,80	0,84	-
Kaman-5	0,77	0,79	0,86	0,83	0,83	0,79	0,77	0,83	0,83	0,87

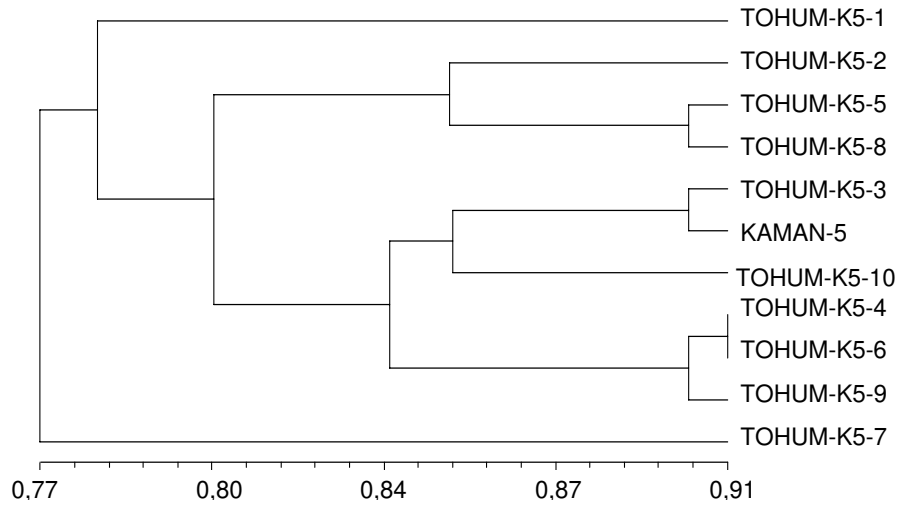
Tohumdan yetişmiş ve meyve vermeye başlamış 10 adet Kaman-5 ağacında uygulanan ISSR tekniği verilerinin analizi sonucunda elde edilen dendrogramda 2 ana grup oluşmuştur. Birinci grupta 2 genotip bulunurken, ikinci grupta Kaman-5 ile birlikte 9 genotip yer almıştır. Kaman-5 genotipine en yakın çöğür ağaç Tohum-K5-10 (0.89) olmuştur. Kaman-5 genotipine en uzak çöğür ağaç ise Tohum-K5-1 (0.74) olmuştur. DNA seviyesinde birbirine en yakın çöğür ağaçlar Tohum-K5-4 ile Tohum-K5-10 (0.88) olurken, Tohum-K5-2 ile Tohum-K5-7 (0.70) no'lu çöğür ağaçlarının birbirine en uzak oldukları belirlenmiştir (**Şekil 4.24**).

Tohumdan elde edilmiş ve meyve vermeye başlamış Kaman-5 ağaçlarına uygulanan SRAP tekniğinden elde edilen verilerden elde edilen soyağacında Tohum-K5-7 no'lu genotip ana grubun dışında yer almıştır. Kaman-5 genotipine en yakın

çöğür ağacı Tohum-K5-3 (0.90) olmuştur. Kaman-5 genotipine en uzak çöğür ağacı ise Tohum-K5-7 (0.75) olduğu belirlenmiştir. Birbirine en yakın çöğür ağaçlar Tohum-K5-6 ile Tohum-K5-8 (0.89) olurken, Tohum-K5-7 ile Tohum-K5-10 (0.72) no'lu çöğür ağaçlarının ise birbirine en uzak oldukları belirlenmiştir. (Şekil 4.25).



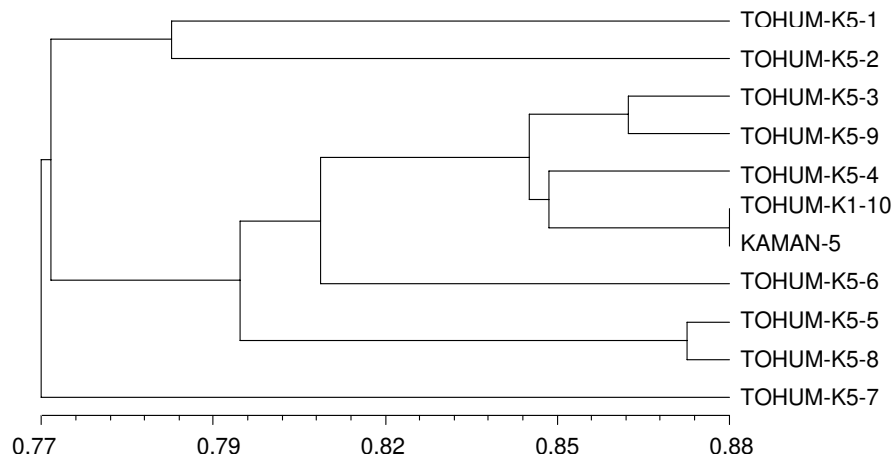
Şekil 4.24. Tohumda elde edilmiş çöğür ağaçlarına ISSR tekniğinin uygulanması ve elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.



Şekil 4.25. Tohumdan elde edilmiş çöğür ağaçlarına SRAP tekniğinin uygulanması ve elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucu UPMGA analizi ile elde edilen soyağacı.

Tohumdan çıkmış Kaman-5 çöğürlerine uygulanan ISSR ve SRAP teknikleri birlikte de değerlendirilmiş olup elde edilen UPMGA analizleri sonuçlarına göre 2

ana grup oluşmuştur. Tohum-K5-7 no'lu çöğür ağacı bu grupların dışında yer almıştır. Birinci grupta 2 genotip yer alırken, ikinci grupta Kaman-5 ile birlikte 8 genotipin bulunduğu görülmüştür. Kaman-5 genotipine en yakın çöğür ağacı Tohum-K5-10 (0.87) olmuştur. Kaman-5 genotipine en uzak çöğür ağaçların ise Tohum-K5-1 ve Tohum-K5-7'in (0.77) oldukları belirlenmiştir. Birbirine en yakın çöğür ağaçları Tohum-K5-5 ile Tohum-K5-8 (0.87) bulunulurken, Tohum-K5-1 ile Tohum-K5-8 (0.72) no'lu ağaçlar ise birbirine en uzak çöğür ağaçları olmuştur (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. Tohumdan elde edilmiş çöğür ağaçlarına ISSR ve SRAP tekniklerinin birlikte uygulanması ve elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi sonucu UPMGA analiziyle elde edilen soyağacı.

Kaman-5 genotipinin tohumundan çıkmış ve meyve vermeye başlamış ağaçların DNA seviyesinde karşılaştırılması sonucunda bunların genetik olarak birbirlerinden farklı oldukları belirlenmiştir. Böylece fidancılardan alınan çöğürlerden elde edilen bulgularla benzer sonuçlar elde edilmiş olup, Kaman-5 genotipinin apomiktik meyve vermediği ve Kaman-5 çeşidi ile yeni kurulacak bahçelerde aşılı fidanların kullanılmasının gerektiği sonucu ortaya çıkmıştır.

4.3. ISSR ve SRAP Yöntemlerinin Polimorfizm ve Ayırma Gücü Bakımından Karşılaştırılması

A ve B firmalarından alınan Kaman-1 ve Kaman-5 fidanlarında ISSR ve SRAP teknikleri polimorfizm ve ayırma gücü bakımından karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.31).

Çizelge 4.31. ISSR ve SRAP primerlerinden elde edilen toplam bant sayıları (TBS), primer başına düşen toplam bant sayısı (PBDTBS), polimorfik bant sayıları (PBS), primer başına düşen polimorfik bant sayısı (PBDPBS), polimorfizm oranı (PO), polimorfizm bilgi içeriği (PBI) ve primerin ayırma gücü (AG) değerleri.

	TBS	PBDTBS	PBS	PBDPBS	PO	PBI	AG
ISSR	391	6.51	199	3.31	48.80	0.67	1.02
SRAP	353	8.82	160	4.00	44.93	0.62	1.11

ISSR tekniğinden toplam 391 bant elde edilmiş, bu bantların 199 tanesinin polimorfik olduğu belirlenmiştir. SRAP tekniğinden ise toplam 353 tane bant elde edilmiş ve bunlardan 160 tanesinin polimorfik olduğu saptanmıştır. İncelenen bu özelliklere göre ISSR tekniğinde 15 primer ve SRAP tekniğinde 10 primer çiftinin kullanıldığı göz önüne alındığında SRAP tekniği, toplam ve polimorfik bant sayısı bakımından ISSR tekniğine göre daha iyi sonuç vermiştir.

Polimorfizm oranlarını incelediğimizde ISSR tekniğinin ortalama %48.8’lik, SRAP tekniğinin ise ortalama %44.9’lük polimorfizm oranına sahip olduğu belirlenmiştir. Polimorfizm bilgi içeriği açısından ISSR tekniğinden ortalama 0.67’lik, SRAP tekniğinden ise ortalama 0.62’lik bir değer elde edilmiştir. Elde edilen bu bulgulara göre ISSR tekniğinin SRAP tekniğine göre biraz daha polimorfik bir teknik olduğu ortaya çıkmıştır.

ISSR ve SRAP teknikleri primerlerin ayırma gücü bakımından karşılaştırıldığında ise, ISSR tekniğinin ortalama 1.02, SRAP tekniğinin ise ortalama 1.11 ayırma gücüne sahip olduğu saptanmıştır. İncelenen bu özelliğe göre, SRAP tekniğinde kullanılan primer çiftlerinin, ISSR tekniğinde kullanılan primerlere göre birbirine yakın akraba olan ceviz genotiplerini biraz daha kolay ayırabildiği belirlenmiştir.

4.4. ISSR ve SRAP Yöntemlerinden Elde Edilen Benzerlik İndeksleri Arasındaki Korelasyon

ISSR ve SRAP tekniklerinden elde edilen benzerlik katsayıları arasındaki korelasyon Mantel kofenetik korelasyon testi (**Mantel, 1967**) yapılarak hesaplanmıştır. Elde edilen korelasyon katsayıları **Çizelge 4.32**’de verilmiştir.

Çizelge 4.32. ISSR ve SRAP yöntemlerinden elde edilen genetik benzerlikler arasında yapılan Mantel kofenetik korelasyon testi sonuçları.

	FidancıA	FidancıB	Verime Başlamış Ağaçlar
Kaman-1	0.125	0.175	0.324
Kaman-5	0.218	0.065	0.440
Genel ortalama	0.22		

Elde edilen veriler incelendiğinde, gerek Kaman-1 ve gerekse Kaman-5’de FidancıA ve FidancıB’den alınan çöğürlerde ve tohumdan çıkmış ve meyve vermeye başlamış ağaçlarda korelasyon katsayıları oldukça düşük bulunmuştur.

Budak ve ark. (2004) çimde yaptıkları çalışmada SRAP ile ISSR arasındaki korelasyon katsayısını çok düşük (0.10) elde ettiklerini ve SRAP yönteminin çim çeşitlerini ayırmada en yüksek polimorfizm gösteren yöntem olduğu bildirmişlerdir.

Guo ve Luo (2005), Trabzon hurmasında yaptıkları çalışmada SRAP yöntemi ile hurma genotiplerini kolaylıkla ayırabildiklerini, polimorfizm oranının yüksek (%80) ve yöntemin çok güçlü olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada da saptanan korelasyon katsayıları **Budak ve ark. (2004)** yaptıkları çalışma ile uyumlu olup çok düşük (0.22) bulunmuştur. Çünkü ISSR tekniği SSR’lar arasında kalan tekrarlı bölgeleri çoğaltırken, SRAP tekniği ise çoğunlukla gen bölgelerini çoğaltmaktadır.

4.5. Apomiksisin Belirlenmesi İle İlgili Moleküler Çalışmaların Genel Değerlendirmesi

Apomiksisin moleküler çalışmalarla belirlenmesi, iki farklı fidancıdan Kaman-1 ve Kaman-5 olarak apomiktik olduğu iddia edilerek satılan fidanlarda ve verime başlamış Kaman-1 ve Kaman-5 tohumlarından çıkmış ağaçlarda ISSR ve SRAP yöntemleri kullanılarak yapılmıştır. Uygulanan her iki yöntemde de bitkiler hem birbirinden hem de ana çeşitten genetik olarak farklı bulunmuştur. Ayrıca, **Kafkas ve ark. (2007)** tarafından tamamlanan bir TÜBİTAK projesi kapsamında Kaman-1 ve Kaman-5 ağaçlarının çiçeklerinde yapılan izolasyon çalışmasından da hiç meyve elde edilememiştir. Sonuçta, apomiktik olarak satılan aşısız fidanların apomiktik olmadıkları bu araştırma sonucunda ortaya çıkmıştır.

Her iki yöntemden de elde edilen genetik benzerlik katsayılarına bakıldığında ise, Jaccard'a göre hesaplanan katsayıların 0.60 ile 0.93 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen verilerin genel özeti **Çizelge 4.33** ve **Çizelge 4.34**'de verilmiştir.

FidancıA'dan satın alınan Kaman-1 ve Kaman-5 genotiplerine ait aşısız fidanlarda polimorfizm oranı daha düşük bulunurken, genetik benzerlik katsayıları daha yüksek olmuştur. Polimorfizm oranları beklentinin üzerinde bulunurken, genetik benzerlik katsayıları ise beklentinin altında bulunmuştur. Çünkü aynı ana bitkiden elde edilen tohumlardan çıkmış yavru bitkilerin ana bitkiye genetik olarak daha fazla yakın olması beklenmekteydi. Nitekim bazı bitkilerde bu durum açık bir şekilde görülmektedir ve bu bitkilerin ana çeşide olan genetik benzerlik katsayısı yüksektir. Ancak bazı bitkiler ana bitkiden genetik olarak çok uzak bulunmuştur. Bu durum da satılan aşısız fidanların tohum kaynağının sadece tek bir bitki değil başka tohum kaynaklarıyla birlikte karışık olabileme ihtimalinin olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.33. Kaman-1 ve Kaman-5 genotiplerinde apomiksisin belirlenmesi ile ilgili yapılan moleküler çalışmaların genel özeti.

		TBS	PBS	%P	Genetik Benzerlik ¹	Genetik Benzerlik ²
	Kaman-1					
FidancıA	ISSR	6.9	3.3	47.3	0.79	0.79
	SRAP	8.8	4.0	44.9	0.78	0.83
	Ort.	7.9	3.7	46.1	0.79	0.81
FidancıB	ISSR	7.3	3.9	52.3	0.79	0.73
	SRAP	8.9	4.3	47.7	0.73	0.78
	Ort.	8.1	4.1	50.0	0.76	0.75
Verime Başlamış Ağaçlar	ISSR	7.3	3.9	51.8	0.75	0.78
	SRAP	8.7	4.1	46.5	0.77	0.80
	Ort.	8.0	4.0	49.2	0.76	0.79
Genel Ortalama		8.0	3.9	48.4	0.77	0.78
	Kaman-5					
FidancıA	ISSR	5.7	2.7	44.7	0.77	0.81
	SRAP	8.7	3.7	42.0	0.81	0.82
	Ort.	7.2	3.2	43.3	0.79	0.81
FidancıB	ISSR	6.1	3.3	51.0	0.75	0.69
	SRAP	8.9	4.0	45.2	0.81	0.79
	Ort.	7.5	3.7	48.1	0.78	0.74
Verime Başlamış Ağaçlar	ISSR	5.8	2.9	47.2	0.77	0.81
	SRAP	9.0	3.9	44.7	0.80	0.83
	Ort.	7.4	3.4	46.0	0.78	0.82
Genel Ortalama		7.4	3.4	45.8	0.78	0.79

¹Analizi yapılan tüm bitkiler arasındaki genetik benzerlik

²Yavru bitkilerin ana genotipe olan genetik benzerliği

Çizelge 4.34. Apomiksisin belirlenmesi ile ilgili yapılan moleküler çalışmalar kapsamında ISSR ve SRAP yöntemlerinin karşılaştırılması.

		TBS	PBS	%P	Genetik Benzerlik ¹	Genetik Benzerlik ²
ISSR	Kaman-1	7.2	3.7	50.5	0.78	0.77
	Kaman-5	5.9	3.0	47.6	0.76	0.77
	Ort.	6.6	3.4	49.1	0.77	0.77
SRAP	Kaman-1	8.8	4.1	46.4	0.76	0.80
	Kaman-5	8.9	3.9	44.0	0.81	0.81
	Ort.	8.9	4.0	45.2	0.79	0.81

Kırşehir'in Kaman ilçesinde yılda tahminen 80.000-100.000 adet aşısız ceviz fidanı satışı yapılmaktadır. Bu da yaklaşık 5-6.000 da ceviz bahçesinin her yıl aşısız fidanlarla kurulduğunu göstermektedir. Ayrıca bu aşısız fidanlar apomiktik özellikte olduğu düşünülerek yüksek fiyatla (5-10 YTL) satılmaktadır. Satın alan üreticiler durumu ancak bahçenin kurulmasından 5-10 yıl sonra ağaçların geç meyveye yatması ve hasat edilen meyvelerin yeknesak olmaması nedenleriyle anlayabilmektedirler. Aşısız ceviz fidanı satışı bu ilçede yaklaşık 15 yıldır devam etmektedir. Bu durum gerek üreticiler açısından ve gerekse ülke ekonomisi açısından büyük kayıptır ve bu şekilde cevizde dünya ihracatında pay sahibi olabilmemiz mümkün değildir. Çünkü pazar, diğer meyve türlerinde olduğu gibi, özellikleri belli bir örnek meyve talep etmektedir.

Ayrıca bu araştırma sonucunda cevizde ISSR ve SRAP yöntemlerini karşılaştırma olanağı da ortaya çıkmıştır: SRAP yönteminden daha fazla toplam ve polimorfik bant elde edilirken, ISSR tekniğinde polimorfizm oranı daha yüksek olmuştur. Her iki yöntemden elde edilen genetik benzerlik katsayılarına bakıldığında, değerlerin SRAP'ta ISSR'a göre biraz daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum da ISSR yönteminin SRAP tekniğine göre birbirine yakın ceviz genotiplerini biraz daha iyi ayırdığını ortaya çıkarmaktadır. Böylece SRAP tekniği cevizde ilk defa başarıyla adapte edilmiş, uygulanmış ve bundan sonraki cevizde yapılacak moleküler çalışmalarda da uygulanabileceği gösterilmiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu araştırmada SRAP ve ISSR moleküler markör teknikleri kullanılarak analiz edilen 62 adet Kaman ceviz çöğürleri (29 adet Kaman-1 ve 33 adet Kaman5) arasındaki genetik ilişkiler ortaya çıkarılmıştır. SRAP tekniği cevizde ilk defa uygulanmış olup, Kaman ceviz genotiplerinde SRAP tekniğinde kullanılacak en uygun (polimorfik) primerler belirlenmiştir. Ayrıca çalışmada her iki yöntemden elde edilen veriler ayrı ayrı değerlendirilerek yöntemler karşılaştırılmıştır.

Elde edilen sonuçlar kısaca aşağıda özetlenmiştir:

1. ISSR analizleri sonucunda elde edilen verilere göre; Kaman-1 genotiplerinde UBC 808 no'lu primerin toplam (29) ve polimorfik (18) bant açısından en fazla bantı sağlayan primer olduğu saptanmıştır. UBC 858 no'lu primerinin ise en az (12) polimorfik bant üreten ve en düşük polimorfizm oranına sahip (%25) primer olduğu belirlenmiştir. Kaman-5 genotipinde ise UBC 826 no'lu primerin toplam (35) ve polimorfik (23) bant açısından en fazla bantı ürettiği, UBC 823 no'lu primerin ise en düşük polimorfik bant sayısına (1) ve polimorfizm oranına sahip (%8.3) olduğu belirlenmiştir. Kaman-1 çöğürlerinde en yüksek polimorfizm oranına (%82.1) sahip olan primer UBC 826 olurken, Kaman-5 çöğürlerinde ise UBC 855 no'lu primer en yüksek polimorfizm oranına (73.3) sahip olmuştur. Kaman-1 çöğürlerinde UBC 829 no'lu primer en yüksek (2.51) polimorfizm bilgi içeriğine ve en düşük (2.03) ayırma gücü değerine sahip olurken, UBC 823 no'lu primerin ise en düşük (1.55) polimorfizm bilgi içeriği değerine ve en yüksek ayırma gücü değerine (3.70) sahip olduğu belirlenmiştir. Kaman-5 çöğürlerinde ise UBC 854 no'lu primer en yüksek (2.74) polimorfizm bilgi içeriği değerine sahip olurken, UBC 823 no'lu primer ise en düşük (0.14) değeri vermiştir. UBC 856 no'lu primer en yüksek (4.66) ayırma gücü değerine sahip olurken, UBC 853 no'lu primer ise en düşük (1.71) ayırma gücü değerine sahip olmuştur.

2. SRAP analizleri sonucunda Kaman-1 çöğürlerinde Me3-Em2 primer çifti en fazla bantı (34) verirken, Kaman-5 çöğürlerinde ise Me3-Em4 primer çifti en fazla bant sayısını (35) vermiştir. Kaman-1 çöğürlerinde en fazla polimorfik bant üreten (12) Me10-Em12 primer çifti olurken, Me3-Em10 primer çifti en düşük

polimorfik bantı üretmiştir. Kaman-5 çöğürlerinde ise Me10-Em8 primer çifti en fazla polimorfik bant sayısını verirken, en az polimorfik bant sayısını (6) Me3-Em5 primer çifti vermiştir. Kaman-1 genotiplerinde Me3-Em13 primer çifti en fazla polimorfizm oranına (%71.1) sahip olurken, Me3-Em10 primer çifti en düşük polimorfizm oranına (%20) sahip olmuştur. Kaman-5 çöğürlerinde ise Me9-Em6 primer çifti en yüksek (%62.9) polimorfizm oranını verirken, Me10-Em9 primer çifti en düşük polimorfizm oranını (%27.8) vermiştir. Polimorfizm bilgi içeriği bakımından Kaman-1 çöğürlerinde Me3-Em3 primer çifti en yüksek (2.88) değeri verirken, Me3-Em1 primer çifti en düşük (1.63) değeri vermiştir. Kaman-5 çöğürlerinde ise Me10-Em9 primer çifti en yüksek (2.17) polimorfizm bilgi içeriğine sahip olurken, Me3-Em5 primer çifti ise en düşük (1.20) polimorfizm bilgi içeriğine sahip olmuştur. Ayırma gücü değerlerine bakıldığında Kaman-1 çöğürlerinde Me3-Em1 primer çifti en yüksek (3.77) değere sahip olurken, Me1-Em10 primer çifti en düşük (1.43) değeri vermiştir. Kaman-5 çöğürlerinde ise Me3-Em5 primer çifti en yüksek ayırma gücü değerine (4.52) sahip olurken, Me10-Em9 primer çiftinin en düşük (2.88) ayırma gücü değerine sahip olduğu görülmüştür.

3. ISSR analizleri sonucunda Kaman-1 genotipine en yakın genotip (0.86) Tohum-K1-5 olurken, en uzak (0.68) Tohum-K1-6 genotipi olmuştur. Kaman-5'e en yakın genotip (0.89) Tohum-K5-10 olurken, FÜB-K5-12 genotipin ise en uzak (0.60) genotip olduğu belirlenmiştir. Kaman-1 genotipleri içinde birbirlerine en yakın genotipler Tohum-K1-9 ile Tohum-K1-10 (0.92) olarak bulunurken, Tohum-K1-5 ile Tohum-K1-6 genotipleri ise birbirine en uzak (0.66) olarak tespit edilmiştir. Kaman-5 genotiplerinde ise FÜA-K5-4 ile FÜA-K5-5 genotipleri birbirine en yakın (0.89) olarak bulunurken FÜB-K5-7 ile FÜB-K5-12 genotipleri ise birbirine en uzak (0.64) olarak belirlenmiştir.

4. SRAP analizleri sonucunda Tohum-K1-1 genotipi Kaman-1 genotipine en yakın olarak (0.86) bulunurken, Tohum-K1-6 en uzak (0.71) genotip olarak saptanmıştır. Kaman-5 genotipine en yakın genotip ise Tohum-K5-3 olarak bulunmuş olup, FÜB-K5-1 ve FÜB-K5-5 genotipleri en uzak olarak (0.72) belirlenmiştir. Kaman-1 çöğürlerinde birbirine en yakın genotipler FÜA-K1-5 ile FÜA-K1-6 (0.87) olurken, FÜB-K1-4 ile FÜB-K1-8 genotipleri birbirine en uzak

(0.69) olarak belirlenmiştir. Kaman-5 genotiplerinde ise FÜA-K5-6 ile FÜA-K5-8 genotipleri birbirine en yakın (0.93) iki genotip olurken, FÜB-K5-1 ile FÜB-K5-3 Genotiplerinin birbirine en uzak (0.71) genotip olduğu saptanmıştır.

5. Yapılan moleküler analizler sonucunda Kırşehir'in Kaman ilçesinde apomiktik oldukları iddia edilerek aşısız olarak satışı yapılan ceviz fidanlarının apomiktik olmadıkları ortaya çıkmıştır.

6. Bu çalışmada SRAP tekniği cevizde ilk defa kullanılmıştır. SRAP yöntemi ISSR ile karşılaştırıldığında, ISSR tekniğinde polimorfizm oranı daha yüksek bulunurken, SRAP yönteminden ise daha fazla toplam ve polimorfik bant elde edilmiştir. Her iki yöntemden elde edilen genetik benzerlik katsayılarına bakıldığında, değerlerin SRAP'ta ISSR'a göre biraz daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum da ISSR yönteminin SRAP tekniğine göre birbirine yakın ceviz genotiplerini biraz daha iyi ayırdığını ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca her iki yöntemden elde edilen genetik benzerlik katsayıları arasındaki korelasyon oldukça düşük bulunmuştur, bunun nedeni ise ISSR tekniğinin SSR'lar arasında kalan tekrarlı bölgeleri çoğaltırken, SRAP tekniğinin çoğunlukla gen bölgelerini çoğaltmasına bağlanabilmektedir.

Dünyada cevizin gen merkezlerinden biriside ülkemiz olmasına karşın ülkemizde cevizde yapılan moleküler çalışmalar sınırlıdır. Morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal yöntemler çok uzun zaman almakta ve çevresel faktörlerden çok fazla etkilenmektedir. Bu nedenle, her ceviz yetiştiren ve genetik kaynağa sahip olan ülkenin yapması gerektiği gibi ülkemizin de kendi ceviz gen kaynaklarını DNA düzeyinde tanımlaması ve yetiştiricilikte karşılaşılan bazı sorunları da DNA analizleri ile çözümlemesi gerekmektedir. Bu durum ülkemiz ceviz yetiştiriciliği için oldukça önemlidir. Çünkü aynı çeşit ülkemizin farklı illerinde veya öteki ülkelerde farklı isimlerle de anılabilmektedir.

Bunun ötesinde Kırşehir'in Kaman ilçesinde olduğu gibi apomiktik tohum ürettiği iddia edilerek Kaman-1 ve Kaman-5 çöğürleri ile binlerce ha. ceviz bahçesi kurulmuştur. Ancak kurulan bahçelerde ağaçların geç meyveye yatması ve ağaçlardan elde edilen meyvelerde geniş varyasyonların görülmesi DNA seviyesinde böyle bir çalışmanın yapılma zorunluluğunu ortaya çıkarmıştır.

Bundan sonra cevizde yapılacak moleküler çalışmalarda (1) uygulanabilirliklerinin kolay olması (2) uygulama maliyetlerinin öteki bazı markör tekniklerine göre düşük olması ve (3) güvenilirliklerinin yüksek olması nedenleriyle ISSR ve SRAP teknikleri mutlaka tercih edilmelidir.

Kaman-1 ve Kaman-5 ceviz genotiplerinin apomiktik meyve üretmedikleri ve bunların çöğürleri ile kurulacak bahçelerden homojen meyve alınamayacağının ve bu tür meyvelerin dış pazar şansının düşük olduğunun en kısa sürede basın yoluyla ülkemizdeki ceviz üreticilerine duyurulması gereklidir.

KAYNAKLAR

- AGAFONOV, A. V., SUKHAVERA, N. B., BATURIN , S. O. and STRUZHAKINA , O. A., 2004.** Identification of apomixis in Kentucky Bluegrass (*Poa pratensis* L.) using SDS-PAGE of endosperm storage proteins. *Biology Bulletin*, 31(1): 42-48.
- AKÇA, Y. , 2005.** Türkiye ceviz yetiştiriciliğine genel bakış . [http:// www.ceviz.gen.tr/ yazi 1. htm](http://www.ceviz.gen.tr/yazi1.htm) .
- ALY, M.A.M., FJELLSTROM , R.G. , MCGRANAHAN, G. H. and PARFITT, D.E., 1992.** Origin of walnut somatic embryos determined by RFLP and isozyme analysis. *Hortscience*, 27 (1) : 61-63.
- BUDAK, H., SHEARMAN, R.C., PARMAKSIZ, I. and DWEIKAT, I., 2004.** Comparative analysis of seeded and vegetative biotype buffalograsses based on phylogenetic relationship using ISSRs, SSRs, RAPDs, and SRAPs. *Theor Appl Genet* 109:280–288
- BUDAK, H., SHEARMAN, R.C., GULSEN, O. and DWEIKAT, I., 2005.** Understanding ploidy complex and geographic origin of the *Buchloe dactyloides* genome using cytoplasmic and nuclear marker systems. *Theor Appl Genet* 111: 1545–1552
- DANGL, GERALD., WOESTE, K., ARADHYA, M., KOEHMSTEDT, A., SIMON, C., POTTER, D., LESLIE, C.A. and MCGRANAHAN, G., 2005.** Characterization of 14 mikrosatellite markers for genetic Analysis and cultivar identification of walnut. *J. AMER Soc. Hort. Sci.* 130(3):348-354
- DARRIGUES , A., DAUB , J., McCORD , K., RASMUSSEN C. and ROUSE , J., 2003.** Genetic analysis of apomixis. www.public.iastate.edu/~mbhattac/bhattacharyya/Genetics.pdf
- DOĞAN, Y., 2006.** Characterization Of Some Walnut Cultivars And Genotypes (*Juglans Regia* L.) Via Moleculer Marker Techniques
- DOYLE, J.J. and DOYLE, J.L., 1987.** A Rapid Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19: 11-15.
- FAO, 2005.** FAO web page. (<http://www.fao.org>).

- FERRIOL, M., PICO, B. and NUEZ, F., 2003.** Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers. *Theor Appl Genet* 107:271–282
- FJELLSTROM, R.G. and PARFITT, D.E., 1994.** RFLP inheritance and linkage in walnut. *Theor. Appl. Genet.*, 89: 665-670.
- FJELLSTROM, R.G., PARFITT, D.E. and McGRANAHAN, G.H., 1994.** Genetic relationships and characterization of Persian walnut (*J. regia* L.) cultivars using restriction fragment length polymorphisms (RFLPs). *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119(4): 833-839 .
- FORONI, I., RAO, R., WOESTE, K. and 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
- GRIMANELLI, D., LEBLANC, O., ESPINOSA, E., PEROTTI, E., GONZALEZ de LEON, D., and SAVIDAN Y., 1998.,** Mapping diplosporous apomixis in tetraploid *Tripsacum* : one gene or several genes? *Heredity*, 80: 33-39.
- GUO, DA-LONG. and LUO, ZHENG-RONG., 2005.** Genetic relationships of some PCNA persimmons (*Diospyros kaki* Thunb.) from China and Japan revealed by SRAP analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution* 00: 1–7
- GUSTINE , D., L., SHERWOOD , R. T. and HUFF , D. R., 1997.** Apospory – linked molecular markers in buffelgrass. *Crop Sci.* 37: 947-951.
- KAFKAS, S., OZKAN, H. and SUTYEMEZ, M., 2005b.** DNA polymorphisim and Assessment of Genetic Relationships in Walnut Genotypes Based on AFLP and SAMPL Markers. *j. AMER Soc. Hort. Sci.* 130(4):585-590.
- KAFKAS, S., ÖZKAN, H., AK, B.E., AÇAR, İ., ATLI, H.S. and KOYUNCU, S., 2006.** Detecting DNA Polymorphism and Genetic Diversity in a Wide Pistachio Germplasm: Comparison of AFLP, ISSR and RAPD Markers, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 13(4): 522-529.
- KAFKAS, S., SUTYEMEZ, M., AKÇA, Y., TUREMİŞ, N. ve ETİ, S., 2007.** Moleküler markör tekniklerini kullanarak Türkiye’deki ceviz (*Juglans regia*

L.) gen kaynaklarının karakterizasyonu ve apomiksisin belirlenmesi. (Yayımlanmamış).

- LEBLANC, O., GRIMENNALLI, D., GONZALEZ de LEON, D. and SAVIDAN Y., 1995.** Detection of the apomictic mode of reproduction in maize- *Tripsacum* hybrids using maize RFLP markers. Theor. Appl. Genet. 90: 1198-1203.
- LI, G., and C. F. QUIROS, 2001.** Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP) a new marker system based on a simple, PCR reaction: its application to mapping, and gene tagging in Brassica. Theor. Appl. Genet. 103:455-461.
- LIN, Z., HE, D., ZHANG, X., NIE, Y., GUO, X., FENG2, C. and STEWART, J. MCD., 2005.** Linkage map construction and mapping QTL for cotton fibre quality using SRAP, SSR and RAPD
- LOIKO, R.E., 1990.** Apomixis of walnut. Acta Horticulturae, 284: 233-236.
- MALVOLI, M.E., SPADA, M., BERITOGNOLO, I. and CANNATA F., 1997.** Differentiation of walnut hybrids (*Juglans nigra* L. x *Juglans regia* L.) through RAPD markers. Acta Horticulturae, 462: 43-52
- MANNING , W. E., 1978.** The classification within the *Juglandaceae*. Ann. Mo. Bot. Gard. 65: 1058-1087.
- MANTEL, N., 1967.** The Detection of Disease Clustering and Generalized Regression Approach. Cancer Res., 27: 209–220.
- MIGNOUNA H.D., ABANG M.M. and FAGBEMI SA., 2003.** A comparative assays (AFLP, RAPD and SSR) for white yam (*Dioscorea rotundata*) germplasm characterisation. Annals of Applied Biology, 142(3):269-276.
- NAGAOKA and OGIHARA, 1997.** Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphism in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. Theor. Appl. Genet., 94: 597-602.
- NASSAR, N.M.A., VIEIRA, M.A., VIEIRA, C. and GRATTAPAGLIA, D., 1998.** A molecular and embryonic study of apomixis in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Euphytica, 102: 9-13.

- NICESE, F. P., HORMAZA , J.I. and MCGRANAHAN, G.H., 1998.** Molecular characterization and genetic relatedness among walnut (*Juglans regia* L.) genotypes based on RAPD markers. *Euphytica*, 101: 199-206.
- NUTH, 1933.** Stukken betreffende het plan voor de aanleg van een verbindingsweg van Hoensbroek over Naunhof naar
- OZIAS-AKINS, P., LUBBERS, E.L., HANNA, W.W. and McNAY, W., 1993.** Transmission of the apomictic mode of reproduction in *Pennisetium* :co-inheritance of the trait and molecular markers. *Theor. Appl. Genet.*, 85: 632-638.
- OZIAS-AKINS, P., ROCHE, D. and HANNA, W.W., 1998.** Tight clustering and hemizygosity of apomixis-linked molecular markers in *Pennisetium squamulatum* implies genetic control of apospory by a divergent locus that may have no allelic form in sexual genotypes. *Proc. Nat . Acad. Sci.* 95: 5127-5132.
- PEJIC, I., AJMONE-MARSAN, P., MORGANTE, M., KOZUMPLICK, V., CASTIGLIONI, P., TARAMINO, G. and MOTTO, M., 1998.** Comparative analysis of genetic similarity among maize inbred lines detected by RFLPs, RAPDs, SSRs, and AFLPs. *Theoretical and Applied Genetics*, 97, 1248-55.
- PESSINO, SILVINA C., EVANS, CLIVE., ORTIZ, JUAN PABO, A., ARMSTEAD, IAN., DO VALLE, CACILDA B. and HAYWARD, MICHAEL D., 1998.** A genetic map of the apospory-region in *Brachiaria* hybrids: identification of two markers closely associated with the trait. *Hereditas* 128: 153-158
- POTTER, D., GAO, F., AIELLO, G., LESLIE, C. and McGRANAHAN, G., 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.
- PREVOST, A. and WILKINSON, M. J., 1999.** A New System of ComprasingPCR Primers Applied to ISSR Fingerprinting of Potato Accessions. *Theoretical and Applied Genetics*, 98: 107–112.

- RANA, M.K. and BHAT K.V., 2004.** A comparison of AFLP and RAPD markers for genetic diversity and cultivar identification in cotton. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 13(1): 19-24.
- RICHARDS, A.J., 2003.** Apomixis in flowering plants : an overview . *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 358: 1085-1093.
- ROHLF, F.J., 2004.** NTSYSp: Numerical taxonomy and multivariate analysis system Version 2.1, Exeter Software, Setauket, New York
- SARTORIUS, R., 1990.** Anatomische, histologische und cytologische Untersuchungen zur Samenentwicklung bei der Walnuss (*Juglans regia* L.) unter besonderer Berücksichtigung der Apomixis. Dissertation, Universitaet Hohenheim, Doktora Tezi, 123 s.
- SARTORIUS, R. and STÖSSER, 1997.** On the apomictic seed development in the walnut (*Juglans regia* L.). *Acta Horticulturae*, 442: 225-229.
- SHANDERL, H., 1964,** Microbiologia da cortiça. *Boletim da Junta Nacional da Cortiça* 305: 51-55.
- SMITH, J.S.C., CHIN, E.C.L., SHU, H., SMITH, O.S., WALL, S.J., SENIOR, M.L., MITCHEL, S.E., KRESORICH, S. and TIEGLE, J., 1997.** An Evaloution of The Utility of SSR Loci as Molecular Marker in Maize (*Zea mays*): Comparisons with Data from RFLP and Pedigree. *Theoretical and Applied Genetics*, 95: 163–173.
- SPILLANE, C., STEIMER, A. and GROSSNIKLAUS, U., 2001.** Apomixis in agriculture: the quest for clonal seeds. *Sex Plant Reprod.* 14: 179-187.
- SPIELMAN, M., VINKENOOG, R. and SCOTT , R. J., 2003.** Genetic mechanisms of apomixis . *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 358: 1095-1103.
- ŞEN, S.M., 1986.** Ceviz yetiştiriciliği. Eser Matbaası, Samsun, 229 s
- VALDIVIESSO, T., 1990.** Apomixis in Portuguese walnut varieties. *Acta Horticulturae*, 284: 279-283.
- WOESTE, K., MCGRANAHAN, G.H. and BERNATZKY, R., 1996.** Randomly amplified polymorphic DNA loci from a walnut backcross [(*Juglans hindsii* x *Juglans regia*) x *Juglans regia*] . *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 121(3): 358- 361.

- WOESTE, K., BURNS, R., RHODES, O. and MICHLER, C., 2002.** Thirty polymorphic nuclear microsatellite loci from black walnut. *The Journal of Heredity*, 93(1): 58-60.
- ZENG, Q.W., ZHANG , D.X., GAO Z.Z., XING F.-W., 2003.** Facultative apomixis in an endangered dioecious species, *Woonyoungia septentrionalis* (Magnoliaceae). *Acta Botanica Sinica* 45(11): 1270-1273.
- ZIETKIEWICZ, EWA, RAFALSKI ANTONI and DAMIAN LABUDA, 1994.** Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)- Anchored polymerase chain reaction amplification . *Genomics*. 20(2): 176-183.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Mersinin Tarsus ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Tarsus’da tamamladım. 1999 yılında Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde lisansımı yapmaya hak kazandım. 2004 yılında lisansımı tamamlayarak, Biyoloji Öğretmeni olarak mezun oldum. Aynı yıl bahar döneminde Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitimime başladım.