

Ceviz (*Juglans regia* L.) Çeşitlerinin RAPD Tekniği İle Genetik Tanımlanması

Veli Erdoğan¹, Ahmet Aygün²

¹Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Dışkapı, 06110, Ankara

²Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, 52200, Ordu

e-posta: verdogan@agri.ankara.edu.tr

Özet

Bu çalışmada RAPD markörleri ile 26 adet ceviz çeşit ve seleksiyonunun karakterizasyonu yapılmış ve aralarındaki genetik ilişkiler belirlenmiştir. DNA saflık değerleri 260/280: 1.87 ve 260/230: 2.0 olarak tespit edilmiştir. DNA miktarı ortalama 44.6 ng/μl olup 12.3-84.1 ng/μl arasında değişmiştir. 44 Operon primeri tekrarlanabilir ve net 301 adet polimorfik bant üretmiştir. Primerler 2-17 adet arasında ortalama 6.85 bant oluşturmıştır. 18 çeşitte tek bant, 8 çeşitte ise 2-3 bant kombinasyonu ile çeşit tanımlaması yapılmıştır. Genotipler arasındaki Dice genetik benzerlik indisi 0.42 ile 0.94 arasında değişmiştir. Birbirine en yakın genotipler Kaplan-86 ve Y1 olurken en farklı genotipler 65/7 ve Hartley bulunmuştur. UPGMA dendrogramı, genotipleri 3 farklı grup altında toplamıştır. DNA kalitesi olduğu ve reaksiyon koşulları optimize edildiği sürece RAPD tekniğinin güvenilir sonuçlar verdiği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Ceviz, RAPD, genetik ilişkiler, UPGMA, Dice benzerlik indisi

Genetic Characterization of Walnut (*Juglans regia* L.) Cultivars by RAPD's

Abstract

In this study, 26 walnut cultivars and selections were characterized and genetic relationships among them were determined by RAPD markers. DNA purity indicators were 260/280: 1.87 and 260/230: 2.0. DNA quantity was between 12.3 and 84.1ng/μl (44.6ng/μl in average). 44 Operon primers produced 301 reproducible and clear polymorphic bands. Number of bands per primer was between 2 and 17 (6.85 in average). 18 genotypes were characterized by a unique RAPD band while 8 genotypes were characterized by combination of 2-3 bands. The Dice genetic coefficient was between 0.42 and 0.94. The results showed that Kaplan-86 and Y1 were the most closely related while 65/7 and Hartley were the most distantly related genotypes. UPGMA Dendrogram clustered the genotypes into three groups. It was clear that the RAPDs were reliable as long as the DNA quality was good and amplification conditions were optimized.

Keywords: Walnut, RAPD, genetic relationships, UPGMA, Dice similarity coefficient

Giriş

Meyve türlerinin ıslahında kullanılan genetik materyalin ismine doğru olması ve aralarındaki genetik ilişkilerin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal tanımlamalar ya gençlik kısırlığı nedeniyle uzun zaman sonra yapılabilmekte ya da çevre koşullarından etkilenmektedir (Wünsch ve Hormoza, 2002). Moleküler markörler içerisinde önceleri yoğun bir şekilde kullanılan izoenzimler (Solar ve ark., 1994; Fornari ve ark., 1999) polimorfizm oranının düşük olması ve çevre koşullarından etkilenmesi nedeniyle terk edilmiştir. Daha sonra geliştirilen DNA markörleri ise hızlı sonuç vermekte, çevre koşullarından etkilenmemekte ve özellikle patent hakkının eldesinde ve korunmasında ya da çeşidin kullanım izninin korunmasında daha etkin kontrol sağlayabilmektedir. Günümüzde 20'den fazla markör sisteminin geliştirildiği görülmektedir. Ceviz ıslahında pek çok markör sistemi

kullanılabilmekte de (Wani ve ark., 2010), en yaygın olarak RFLPs (Fjellstrom ve Parfitt, 1995) ile PCR temelli RAPDs, (Nicese ve ark., 1998; Yan-Min ve ark., 2000; Francesca ve ark., 2010), AFLPs (Kafkas ve ark., 2005; Bayazit ve ark., 2007), SSRs (Dangle ve ark., 2005; Karimi ve ark., 2010) ve ISSRs (Potter ve ark., 2002; Polegioni ve ark., 2003) markörleri kullanılmaktadır.

Ülkemiz, son yıllarda yaygınlaşan kapama ceviz bahçelerine rağmen hala büyük bir çoğur popülasyonuna ve genetik zenginliğe sahiptir. Bunlar içinde verimli ve kaliteli pek çok tip seçilmiş, bir kısmı tescil edilmiş ve üretime sunulmuştur. Ancak birçok çeşidin ve seçilmiş tipin birbirinden farklılığı ve aralarındaki genetik ilişkiler konusunda sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır.

Bu çalışma, RAPD moleküler markörleri ile bazı ceviz çeşit ve seleksiyonları arasındaki genetik ilişkilerin belirlenmesi ve genotiplerin

kesin ayırmalarının yapılması amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Materyal ve Yöntem

Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü koleksiyon bahçesinde bulunan toplam 26 ceviz genotipi kullanılmıştır (Çizelge 1). Genomik DNA, modifiye edilmiş CTAB ekstraksiyon yöntemine göre ekstrakte edilmiştir (Doyle ve Doyle, 1990; Oliveira ve ark., 1999). Kısaca; sıvı azot içinde öğütölen 250 mg yaprak örneği ekstraksiyon çözeltisinde inkübe (60°C) edilmiş, kloroform; izoamil alkol (24:1) ile ekstrakte edilmiş, RNase A uygulaması (37°C) yapılmış, ikinci kloroform: izoamil alkol ekstraksiyonu sonrasında DNA izopropil alkol ile çöktürölmüş ve sodyumasetat-etilalkol ile yıkanmıştır. Spektrofotometre ölçümleri ile (Nanodrop) DNA'nın saflığı belirlenmiş ve TD-360 Fluorometre ile DNA konsantrasyonu 10ng/µl'ye ayarlanmıştır.

Amplifikasyonlar 20 µl'lik hacimde (1.25 ünite Taq DNA Polimeraz (Fermentas), 1X buffer (Fermentas), 2.5 mM MgCl₂, 0.2 mM her bir dNTP, 0.4 µM primer, 12 ng genomik DNA) gerçekleştirilmiştir. Toplam 50 adet 10-mer Operon primeri (OPA, OPB, OPO, OPY) kullanılmıştır. Whatman Biometra Thermal Cycler'daki PCR döngüsü, ön denaturasyon (94°C/ 90sn); 40 döngü halinde denaturasyon (94°C/ 30sn), bağlanma (36°C/ 30sn), uzama (72°C/ 30sn); ve son uzama (72°C/ 10 dk) programından oluşmuştur (Oliveira ve ark., 1999). PCR ürünleri %1.5 agaroz jel üzerinde koşturulmuş, ethidium bromid ile boyanmış, UV ışık üzerinde görüntölenmiş ve video image sistemi (Syngene) ile dijital olarak kaydedilmiştir. Açık, net ve tekrarlanabilen bantlar (1) veya (0) şeklinde kaydedilmiştir. Filogenetik analizler NTSYSpc, (Numerical Taxonomy System, version 2.02g) programında yapılmış, Dice genetik benzerlik indisi (Dice Genetic Similarity Coefficient) hesaplanmış ve cluster analizi yapılarak UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average) dendogramı elde edilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Nanodrop spektrofotometrede ölçölen OD₂₆₀/OD₂₈₀= 1.87 ve OD₂₆₀/OD₂₃₀= 1.99 değerleri DNA örneklerinin protein, fenol ve RNase gibi maddelerle ile kontamine olmadığını ve PCR çalışmaları için yeterince saf olduğunu göstermiştir. Francesca ve ark. (2010) da DNA saflığı için benzer değerler vermektedir.

Sambrook ve ark. (1989) başarılı amplifikasyonlar için DNA örneklerinde 260/280 oranının 1.8-2.0 arasında ve 260/230 oranının 1.8< olması gerektiğini belirtmektedir. Agaroz jelde koşturulan DNA örnekleri tek ve büyük bir bant oluşturmuş ve genomik DNA'larda herhangi bir parçalanma görölmemiştir. Ekstrakte edilen DNA miktarı genotiplere göre 12.3-84.1 ng/µl arasında değişmiş ve ortalama 44.6ng/µl olmuştur.

PCR reaksiyonlarında OPA6, OPA7 ve OPA12 primerleri amplifikasyon vermemiştir. OPA13, OPA16 ve OPA17 primerleri yalnızca monomorfik bantlar üretmiştir. 44 adet primer açık, okunabilir ve tekrarlanabilir toplam 301 adet polimorfik bant vermiştir (Şekil 1). Ertürk ve Dalkılıç (2011) 37adet primerin 340 adet, Francesca ve ark. (2010), 24 adet primerin 311 adet tekrarlanabilir ve polimorfik bant verdiğini bildirmiştir. Primerlerin ürettiği bant sayısı 2 (OPA-11) ile 17 (OPB-02) adet arasında değişmiş ortalama 6.85 olmuştur. Polimeraz enzim farklılığı (Fermentas ve Promega) reaksiyonları etkilememiş ve aynı bantlar elde edilmiştir.

Genotiplerin tanımlanmasında RAPD bantları başarılı olmuştur. Gültekin, Kaman-1, Kaplan-86, KxŞ, Şen-1, Şen-2, Tokat-1, Topak, Uyar, Yavuz, Y1, Y3, Y4, 65/4, 65/7, Pedro, Hartley ve Serr çeşide/tipe özel tek bir RAPD bandı ile tanımlanmıştır. AG, Bayrak, Bilecik, Maraş-18, Şebın, Y2, 77H/1 ve Midland ise birden fazla (2-3) RAPD bant kombinasyonu ile tanımlanmıştır. Nicese ve ark. (1998)'da 19 ceviz genotipini çeşide özel RAPD bantları ile tanımladıklarını belirtmiştir.

Ceviz genotipleri arasındaki Dice genetik benzerlik indisi ile ifade edilen genetik yakınlık 0.42 ile 0.94 arasında değişmiştir (Çizelge 2). Geniş benzerlik indisi aralığı, ceviz genotiplerinin farklı çok farklı bölgelerden gelmesinden ve genetik zenginliğin yüksek olmasından kaynaklanmıştır. En yüksek (%94) benzerlik indisi Kaplan-86 ve Y1 çeşitleri arasında bulunmuştur. Her iki çeşit de Yalova-İstanbul orijindir. Oysa yüksek yakınlık (%93.6) gösteren Y3 ve Şen-1 çeşitlerinin sırasıyla Yalova ve Erzincan orijinli olması dikkat çekmektedir. En düşük (%42) benzerlik indisi 65/7 seleksiyonu ve Hartley çeşidi arasında belirlenmiştir. 65/7 Van orijinli iken Hartley ABD orijinli olup ıslah çalışması sonucunda geliştirilmiştir.

Ceviz genotipleri UPGMA dendogramı üzerinde 3 ana grupta toplanmıştır (Şekil 2). Birinci grupta Topak, Bayrak ve Gültekin yer almıştır. Topak ve Bayrak Bolu'dan seçilmiş tiplerdir ve birbirleri ile %77 oranında yakınlık göstermektedir. Gültekin ise Kırşehir orijinlidir ve bu iki çeşit ile olan genetik yakınlığı dikkat çekmektedir. Genotiplerin büyük çoğunluğu ikinci grupta yer almıştır. Erzincan bölgesinden seçilmiş olan Şen-1 ve Şen-2 ile İzmit orijinli Y3 birlikte gruplanmıştır. Yabancı çeşitlerin tamamı da bu grup içinde yer almıştır. Ancak Serr çeşidi beklenilmeyen bir şekilde orijini Denizli olan AG tipi ile aynı alt grup içinde yer almıştır ve yüksek sayılabilecek benzerlik (%77.8) göstermiştir. Yine, Kaplan-86 x Şebin melezi olan KxŞ'nin ebeveynlerinden daha çok Bilecik (%79.6) ve 77H/1 (%72.8) ile benzer bulunması Şebin yerine başka bir çeşidin kontrol dışı baba ebeveyn olabileceğine işaret etmektedir. Üçüncü grupta Kaman-1, Y2 ve Uyar yer almıştır. Sırasıyla Kırşehir, Yalova ve Yozgat orijinli olan bu genotiplerin birbirine benzer olması dikkat çekmektedir. Marmara bölgesinin çeşitleri olan Y1, Y2, Y3 ve Y4'ün birbirlerinden çok diğer çeşit ya da seleksiyonlarla daha yakın bulunması da dikkat çekmektedir. Orijini Van olan 65/7 bütün ceviz çeşit ve seleksiyonlarına yaklaşık %52 benzerlik oranı ile en uzak genotip olmuştur. Bunu %66 benzerlik oranı Tokat-1 izlemiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar ceviz türünde RADP markörlerini kullanan diğer araştırmacıların sonuçları ile benzerlik göstermektedir (Nicese ve ark., 1998; Yan-Min ve ark., 2000; Francesca ve ark., 2010; Ertürk ve Dalkılıç, 2011).

RAPD diğer moleküler markörlere göre nispeten daha ucuz ve uygulaması kolay bir markördür. Sonuçlarımız, DNA kaliteli olduğu ve reaksiyon koşulları optimize edildiği sürece RAPD analizlerinin güvenilir sonuçlar verdiğini göstermiştir.

Teşekkür

Bitkisel Materyali sağlayan Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'ne ve çalışmayı destekleyen (2002-60 nolu proje) Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü'ne şükranlarımızı sunarız.

Kaynaklar

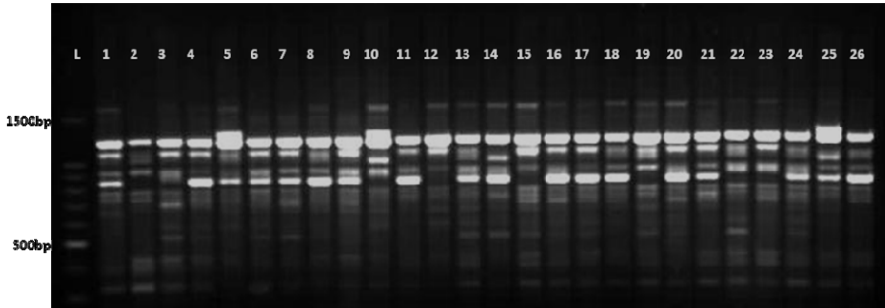
Bayazit, S., Kazan, K., Golbitti, S., Cevik, V., Ayanoglu, H., Ergul, A., 2007. AFLP analysis of genetic diversity in low chill requirement walnut (*Juglans regia* L.) genotypes from Hatay, Turkey. *Sci. Hort.* 111: 394-398.

- Dangle, G.S., Woeste, K.E., Aradhya, M.K., Koehmstedt, A., Simon, C., Potter, D., Leslie, C.A., McGranahan, G.H., 2005. Characterization of fourteen microsatellite markers for genetic analysis and cultivar identification of walnut. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 130: 348-354.
- Doyle, J.J., Doyle, L.H., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12(1):13-15.
- Ertürk, U., Dalkılıç, Z., 2011. Determination of genetic relationship among some walnut (*Juglans regia* L.) genotypes and their early-bearing progenies using RAPD markers. *Rom. Biotech. Lett.* 16(1): 5944-5952.
- Fjellstrom, R.G., Parfitt, D.E., 1995. Phylogenetic analysis and evolution of the genus *Juglans* (Juglandaceae) as determined from nuclear genome RFLPs. *Plant Syst. Evol.* 197: 19-32.
- Fornari, B., Canata, F., Spada, M., Malvolti, M.E., 1999. Allozyme analysis of genetic diversity differentiation in European and Asiatic walnut (*Juglans regia* L.) populations. *For. Genet.* 6: 115-12.
- Francesca, P.I., Damfil, D., Raica, P., Petricele, I.V., Sisea, C., Vas, C., Botos, B., Bodea, M., Botu, M., 2010. Assessment of the genetic variability among some *Juglans* cultivars from the Romanian National Collection at S.C.D. P. Vâlcea using RAPD markers. *Rom. Biotech. Lett.*, 15: 41-49.
- Kafkas, S., Ozkan, H., Sutyemez, M., 2005. DNA polymorphism and assessment of genetic relationships in walnut genotypes based on AFLP and SAMPL markers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 130: 585-590.
- Karimi, R., Ershadi, A., Vahdati, K., Woeste, K., 2010. Molecular characterization of Persian walnut populations in Iran with microsatellite markers. *HortScience* 45(9):1403-1406.
- Nicese, F.P., Hormoza, J.J., McGranahan, G.H., 1998. Molecular characterization and genetic relatedness among walnut (*Juglans regia* L.) genotypes based on RAPD markers. *Euphytica* 101: 199-206.
- Oliveira, C.M., Mota, M., Monte-Corvo, L., Goulao, L., Silva, D.M., 1999. Molecular typing of *Pyrus* on RAPD markers. *Sci. Hort.* 79: 163-174.
- Polegioni, P., Bartoli, S., Cannata, F., Malvolti, M.E., 2003. Genetic differentiation of four Italian walnut (*Juglans regia* L.) varieties by inter simple sequence repeat (ISSR). *J. Genet. Breed.* 57: 231-240.
- Potter, D., Gao, F.Y., Baggett, S., McKenna, J.R., McGranahan, G.H., 2002. Inter simple sequence repeat markers for fingerprinting and

- determining genetic relationships of walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 127: 75-81.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T. 1989. Molecular Cloning. A laboratory Manual. 2.nd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Pres, USA.
- Solar, A., Smole, J., Stampar, F., 1994. Characterization of isoenzyme variation in walnut (*Juglans regia* L.). Euphytica 77: 105-112.
- Wani, N., Bhat, M.A., Ahmad, M.F., Akther, S., Razvi, S.M., Mir, M.R., Rashid, R., Bhat, K.A., 2010. Molecular markers and their application in walnut improvement. Int. J. Cur. Res. 3: 006-011.
- Wünsch, A., Hormoza, J.I., 2002. Cultivar identification and genetic fingerprinting of temperate fruit tree species using DNA markers. Euphytica 125: 59-67.
- Yan-Min, W., Ying, L., Feng-Xiang, D., Sheng-Ke, X., 2000. Study on different ecological types of Chinese walnut (*Juglans regia*) using RAPD markers. J. Beij For Univ 22: 23-27.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan yerli ve yabancı ceviz genotipleri ve orijinleri

Çeşit/Tip	Orijin	Çeşit/Tip	Orijin
Y1	İstanbul	Bayrak	Bolu
Y3	İzmit	Topak	Bolu
Y2	Yalova	Kaman-1	Kırşehir
Y4	Yalova	Gültekin	Kırşehir
77-H-1	Yalova	Yavuz	Kırşehir
Kaplan-86	Yalova	AG	Denizli
KxŞ	Kaplan-86xŞebin	Maraş-18	K.Maraş
Şebin	Şebinkarahisar	65/4	Van
Bilecik	Bilecik	65/7	Van
Şen-1	Erzincan	Hartley	ABD
Şen-2	Erzincan	Midland	ABD
Tokat-1	Tokat	Pedro	ABD
Uyar	Yozgat	Serr	ABD

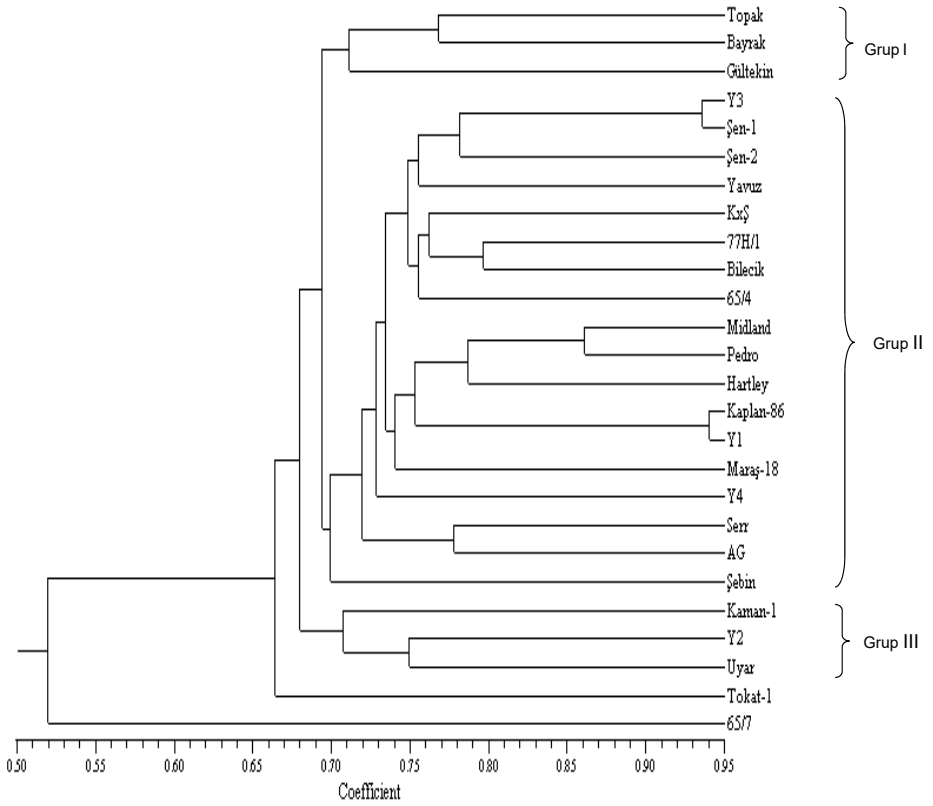


Şekil 1. Ceviz genotiplerinin %1.5 agaroz jel üzerindeki OPA-2 primerine ait RAPD bant profili.

Genotipler; 1) Topak, 2) Bayrak, 3) Kaman-1, 4) Y2, 5) Uyar, 6) Gültekin, 7) Y3, 8) Şen-2, 9) Midland, 10) Kaplan-86, 11) Şen-1, 12) Yavuz, 13) Serr, 14) AG, 15) KxŞ, 16) Tokat-1, 17) 65/4, 18) 77-H-1, 19) Pedro, 20) Hartley, 21) Şebin, 22) Bilecik, 23) Y1, 24) Y4, 25) 65/7, 26) Maraş-18. L: Ladder 100bp (Promega).

Çizelge 2. Ceviz genotipleri arasındaki Dice genetik benzerlik indisi (Dice Similarity coefficient). 1: Topak, 2: Bayrak, 3: Kaman-1, 4: Y2, 5: Uyar, 6: Gültekin, 7: Y3, 8: Şen-2, 9: Midland, 10: Kaplan-86, 11: Şen-1, 12: Yavuz, 13: Serr, 14: AG, 15: KxŞ, 16: Tokat-1, 17: 65/4, 18: 77-H-1, 19: Pedro, 20: Hartley, 21: Şebim, 22: Bilecik, 23: Y1, 24: Y4, 25: 65/7, 26: Maraş-18.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
1-	1.000																									
2-	0.768	1.000																								
3-	0.688	0.676	1.000																							
4-	0.724	0.727	0.719	1.000																						
5-	0.700	0.692	0.696	0.749	1.000																					
6-	0.690	0.733	0.678	0.658	0.612	1.000																				
7-	0.692	0.701	0.681	0.693	0.671	0.703	1.000																			
8-	0.699	0.715	0.738	0.693	0.677	0.748	0.776	1.000																		
9-	0.678	0.723	0.677	0.732	0.647	0.731	0.771	0.756	1.000																	
10-	0.751	0.743	0.729	0.722	0.701	0.727	0.744	0.775	0.782	1.000																
11-	0.708	0.725	0.723	0.704	0.695	0.715	0.936	0.788	0.754	0.767	1.000															
12-	0.678	0.686	0.684	0.722	0.720	0.708	0.763	0.741	0.742	0.738	0.763	1.000														
13-	0.593	0.658	0.625	0.632	0.601	0.692	0.705	0.736	0.779	0.716	0.675	0.691	1.000													
14-	0.658	0.718	0.703	0.684	0.675	0.688	0.725	0.758	0.774	0.761	0.748	0.722	0.778	1.000												
15-	0.697	0.689	0.660	0.641	0.662	0.678	0.784	0.713	0.708	0.728	0.748	0.716	0.675	0.699	1.000											
16-	0.660	0.664	0.676	0.662	0.671	0.667	0.696	0.710	0.641	0.675	0.727	0.673	0.613	0.667	0.676	1.000										
17-	0.664	0.673	0.653	0.685	0.658	0.698	0.765	0.745	0.739	0.728	0.723	0.750	0.715	0.714	0.757	0.632	1.000									
18-	0.671	0.704	0.658	0.677	0.686	0.701	0.755	0.727	0.759	0.748	0.755	0.737	0.703	0.708	0.728	0.647	0.746	1.000								
19-	0.658	0.700	0.673	0.691	0.650	0.734	0.767	0.764	0.860	0.767	0.756	0.757	0.769	0.758	0.735	0.637	0.741	0.792	1.000							
20-	0.611	0.640	0.624	0.618	0.625	0.669	0.722	0.705	0.795	0.752	0.703	0.721	0.692	0.710	0.684	0.639	0.667	0.727	0.778	1.000						
21-	0.649	0.646	0.625	0.706	0.655	0.699	0.716	0.709	0.706	0.719	0.700	0.712	0.669	0.653	0.713	0.604	0.702	0.696	0.713	0.689	1.000					
22-	0.696	0.716	0.688	0.694	0.664	0.743	0.783	0.738	0.752	0.753	0.778	0.761	0.707	0.739	0.796	0.717	0.763	0.796	0.784	0.738	0.725	1.000				
23-	0.724	0.705	0.722	0.708	0.699	0.682	0.720	0.733	0.759	0.940	0.737	0.713	0.691	0.724	0.696	0.654	0.709	0.724	0.743	0.714	0.685	0.722	1.000			
24-	0.741	0.701	0.680	0.705	0.682	0.697	0.716	0.730	0.732	0.758	0.734	0.753	0.663	0.730	0.705	0.662	0.727	0.720	0.728	0.684	0.692	0.750	0.733	1.000		
25-	0.591	0.564	0.530	0.570	0.576	0.476	0.497	0.555	0.495	0.540	0.539	0.531	0.465	0.540	0.449	0.514	0.527	0.513	0.496	0.420	0.476	0.502	0.527	0.586	1.000	
26-	0.717	0.671	0.675	0.688	0.664	0.680	0.726	0.708	0.748	0.737	0.750	0.718	0.690	0.701	0.695	0.664	0.707	0.737	0.769	0.720	0.690	0.741	0.730	0.727	0.504	1.000



Şekil 2. Ceviz genotipleri için 44 primerin oluşturduğu 301 adet polimorfik bant kullanılarak elde edilen UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average) dendogramı.