

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Evren BENGÜL

**BAZI NAR (*Punica granatum L.*) GENOTİPLERİNİN SRAP
MARKIRLARI İLE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ADANA-2019

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI NAR (*Punica granatum L.*) GENOTİPLERİNİN SRAP
MARKIRLARI İLE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Evren BENGÜL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 26/08/2019 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....
Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. N. Yeşim Yalçın MENDİ
ÜYE

.....
Prof. Dr. Coşkun DURGAÇ
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

**Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FLY-2018-11200**

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

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI NAR (*Punica granatum L.*) GENOTİPLERİNİN SRAP MARKIRLARI İLE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Evren BENGÜL

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

Danışman : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
Yıl: 2019, Sayfa:68
Jüri : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
: Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ
: Prof. Dr. Coşkun DURGAÇ

Nar insanlık tarihinin başlangıcından beri kullanılan ekonomik olarak önemli bir bitki türüdür. Meyve olarak tüketilmesinin yanı sıra, antik çağlardan itibaren tıbbi olarak da kullanılmaktadır. Nar suyu ve nar ekstraktları meyve sularında ve meyve şurubu yapımında kullanılmaktadır. Son zamanlarda meyve suyu olarak kullanım popülaritesi giderek artmaktadır. Ülkemiz ve Dünyada son yıllarda giderek önem kazanan yeni nar çeşitlerinin ıslahı çalışmaları pazar ihtiyaçlarına göre devam etmektedir. Bu çalışmada, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Nar Genetik Koleksiyonunda yer alan 90 nar genotipinin moleküler karakterizasyonu SRAP moleküler markır tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Genotiplerin moleküler tanımlanmasında 5 forward (ileri) ve 6 reverse (geri) primerine ait kombinasyonlar kullanılarak nar genotiplerinin genetik ilişkileri araştırılmıştır. Tez çalışmasında kullanılan 30 primer kombinasyonundan 14 primer kombinasyonunun başarılı sonuç verdiği gözlenmiştir. Çalışmada 14 primer kombinasyonundan elde edilen DNA bant büyüklükleri 160-1400 bp arasında değişmiştir. Değerlendirilen 14 primer kombinasyonu, 60'ı polimorfik toplam 73 adet bant üretmiştir. Primer başına elde edilen toplam bant sayısı 2-9 (ortalama 5.2) arasında, toplam polimorfik bant sayısı ise 1-9 (ortalama 4.3) arasında değişmiştir. Çalışmada kullanılan nar genotiplerinin benzerlik oranının %65-100 arasında değiştiği ve coğrafik orijinlerine göre gruplanmadığı dağınık bir dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak nar genotiplerinin birbirinden genetik olarak ayrıldığı ancak ayrımın dar bir genetik çeşitlilikte olduğu gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Nar, SRAP, Genotip tanımlama, Moleküler karakterizasyon

ABSTRACT

MSc THESIS

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SOME POMEGRANATE (*Punica granatum L*) GENOTYPES WITH SRAP MARKERS

Evren BENGÜL

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF HORTICULTURE

Supervisor : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
Year: 2019, Pages: 68
Jury : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
: Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ
: Prof. Dr. Coşkun DURGAÇ

Pomegranate is an economically important plant species used since the beginning of human history. In addition to being consumed as a fruit, it has been used medicinally since ancient times. Pomegranate juice and pomegranate extracts are used in fruit juices and fruit syrup making. Recently, the popularity of use as fruit juice is increasing. Breeding of new pomegranate varieties, which have become increasingly important in our country and in the world in recent years, are continuing according to market needs. In this study, molecular characterization of 90 pomegranate genotypes in the Pomegranate Genetic Collection of Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Cukurova University was carried out by using SRAP molecular marker technique. Genetic relationships of pomegranate genotypes were investigated by using combinations of 5 forward and 6 reverse primers. 14 primer combinations of the 30 SRAP primer combinations were found to be successful. DNA band sizes obtained from 14 primer combinations ranged from 160-1400 bp. The evaluated 14 primer combinations produced a total of 73 bands, 60 of which were polymorphic. The total number of bands obtained per primer ranged from 2 to 9 (mean 5.2), and the total number of polymorphic bands ranged from 1 to 9 (mean 4.3). It was found that the similarity rate of pomegranate genotypes was between 65-100% and they were not grouped according to their geographical origins. As a result, it was observed that pomegranate genotypes were separated from each other genetically, however the distinction was narrow genetic diversity.

Key words: Pomegranate, SRAP, Genotype identification, Molecular characterization

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Nar (*Punica granatum L.*) dünyada geniş bir yayılım gösteren Punicaceae familyasının *Punica* cinsine ait birçok iklim koşulunda tropik ve subtropik bölgelerde yetiştirilen çok yıllık bir bitkidir. Dünya genelinde bilinen 500'den fazla çeşit arasından sadece ticari değere sahip yaklaşık 50 çeşidi bulunmaktadır. Türkiye'de nar yetiştirilen bölgelere bakıldığında en çok üretimin Akdeniz ve Ege bölgelerinde yapılmaktadır. En fazla üretimi 111.041 ton ile Antalya'dır. Dünya geneline bakıldığında yaklaşık olarak 3 milyon tona yakın üretimi gerçekleştirilmektedir. Türkiye'de 2018 yılında ki toplam üretim değeri 537.847 tondur.

Dünya pazarlarına bakıldığında besin ve meyve suyu sanayisi dışında birçok alanda kullanımının artış göstermesi meyve üzerinde dikkatleri üzerine toplamıştır. Narın sadece meyvesi ticari olarak kullanılmamakla birlikte kök, gövde ve çiçeğinin de çok değişik amaçlarda kullanılmaktadır.

Son yıllarda daha kaliteli ve yüksek verimli yeteneğe sahip nar bitkilerinin seleksiyon ıslahı ile birlikte geliştirilmesi geniş ölçüde nar üretim alanlarına yer vermesine ve üretimin artmasına sebep olmuştur.

Nar bitkisinin genetik ilişkilerinin, polimorfizmi gösteren DNA bölgelerinin ve varyasyonlarının belirlenmesinde DNA tabanlı analizler yaygın olarak kullanılmaktadır. Moleküler markır sistemlerinden biri olan sekansla ilişkili amplifiye polimorfizmi (SRAP), doğrudan gen bölgelerini hedef almaktadır. SRAP tekniği moleküler markırlar içerisinde ucuz ve tekrar edebilir olması nedeniyle bitki moleküler çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır.

Çalışmada kullanılan Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Nar Genetik Koleksiyonunda bulunan 90 adet nar (*P. granatum*) genotipi SRAP markır teknikleri kullanılarak genetik ilişkileri moleküler yöntemlerle araştırılmıştır.

Tez kapsamında toplam 90 nar genotipi ve 30 SRAP primer kombinasyonunda çalışan 14 primer kombinasyonu ile genetik ilişkileri araştırılmıştır. Çalışmada 14 primer kombinasyonundan elde edilen bant büyüklükleri 160-1400 bp arasında değişmiştir. En küçük bant uzunluğu 160 bp ile me1em6 kombinasyonunda, en büyük bant uzunluğu ise 1400 bp ile me5em6 kombinasyonunda elde edilmiştir. Değerlendirilen 14 primer kombinasyonu, 60'ı polimorfik toplam 73 adet bant üretmiştir. Primer başına elde edilen toplam bant sayısı 2-9 (ortalama 5.2) arasında, toplam polimorfik bant sayısı ise 1-9 (ortalama 4.3) arasında değişmiştir. En fazla bant me2em6 (9 adet) kombinasyonunda, en az bant ise me2em3 (2 adet) bantı üretmiştir. Primerlerin toplam polimorfizm oranı ise 77.85 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen verilere bakılarak genotipler arasındaki genetik ilişkiler tartışılmıştır. Çalışmada kullanılan nar genotiplerinin benzerlik oranının %65-100 arasında değiştiği ve coğrafik orijinlerine göre gruplanmadığı dağınık bir dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak nar genotiplerinin birbirinden ayrıldığı ancak ayrımın dar bir genetik çeşitlilikte olduğu gözlenmiştir.

Tez çalışmasında kullanılan SRAP markırlarının güvenilir olduğu ve nar ve diğer bitkilerin moleküler karakterizasyonunda kullanılabileceği ortaya konulmuştur.

Tez çalışmasında kullanılan nar genotiplerini daha keskin gruplara ayırmak için kullanılan SRAP primer kombinasyonlarının sayısı arttırılabilir. Bununla beraber farklı markır sistemleri ile elde edilen bulgular genişletilebilir. SRAP markırları güvenilir ve tekrarlanabilir moleküler markır sistemleri arasında yer almaktadır.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konumun belirlenmesi, yürütülmesi, tezimin tüm aşamalarında desteğini esirgemeyen her zaman bana destek olan yönlendirici tüm vasıflarını öğrencileri üzerinden hiçbir zaman eksik etmeyen Danışmanım Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin değerlendirilmesinde bana zaman ayıran ve bilgilerini paylaşan saygıdeğer hocalarım Sayın Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ ve Prof. Dr. Coşkun DURGAÇ' a,

Değerli zamanlarını ve bilgilerini paylaşan tezimin yazımı ve yorumlanması aşamalarında desteklerini esirgemeyen Dr. Özhan ŞİMŞEK ve Dr. Dicle DÖNMEZ' e,

Çalışmalarımı yürüttüğüm Biyoteknoloji Merkezi Akademik ve idari personeline katkılarından dolayı,

Arazi ve laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım Zir. Müh. Murat BATMAZ ve diğer arkadaşlarıma,

Tüm öğrenim hayatım boyunca eğitimime destek olup beni hiçbir zaman hedeflerimden geri bırakmayan, her zaman yanımda olan, benden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen kıymetli ailem; Rahmetli babam Habip BENGÜL, annem Silay BENGÜL ve kardeşlerime teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
KISALTMALAR.....	XII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	7
3. MATERYAL VE METOD.....	15
3.1. Materyal.....	15
3.1.1 Bitkisel Materyal.....	15
3.1.2 Çalışmada Yer Alan Bazı Nar Çeşitlerinin Özellikleri	16
3.1.2.1 İzmir 10	17
3.1.2.2 İzmir 15	8
3.1.2.3 İzmir 16	50
3.1.2.4 İzmir 23	17
3.1.2.5 İzmir 26	18
3.1.2.6 07 N 08 Hicaz.....	18
3.1.2.7 İzmir 1	17
3.1.2.8 İzmir 1264	19
3.1.2.9 İzmir 1265	19
3.1.2.10 07 N 03	20
3.1.2.11 07 N 04	20
3.1.2.12. 07 N 14	20
3.1.2.13. 33 N 12	21

3.1.2.14. Canernar 7	21
3.1.2.15. Canernar 8	21
3.1.2.16. Canernar 11	22
3.1.2.17. Hicrannar 7	22
3.1.2.18. Hicrannar 8	22
3.1.2.19. Wonderful.....	22
3.1.2.20. 07 N 01	23
3.1.2.21. 07 N 04	23
3.1.2.22. 33 N 09	24
3.1.2.23. 33 N 26	24
3.1.2.24. 33 N 49	24
3.1.2.25. 33 N 34	24
3.1.2.26. 31 N 07	24
3.1.2.27. İzmir 2	25
3.1.2.28. İzmir 8	25
3.1.2.29. İzmir 12	25
3.1.2.30. İzmir 29	26
3.1.2.31. İzmir 1261	26
3.1.2.32. İzmir 1267	27
3.1.2.33. İzmir 1445	27
3.1.2.34. İzmir 1453	27
3.1.2.35. İzmir 1465	28
3.1.2.36. İzmir 1479	28
3.1.2.37. İzmir 1483	28
3.1.2.38. İzmir 1499	29
3.1.2.39. İzmir 1513	29
3.1.2.40. Esinnar	29
3.2 Metod.....	29
3.2.1 DNA İzolasyonu.....	29

3.2.1.1 DNA İzolasyonu İçin Gerekli Solüsyonların Hazırlanması ...	30
3.2.1.2 DNA İzolasyon Aşamaları	30
3.2.2 DNA Kalitesi ve Kantitesinin Belirlenmesi	31
3.2.3 SRAP Analizleri.....	32
3.2.3.1 Agaroz Jel Elektroforezi	33
3.2.4 Sonuçların Değerlendirilmesi.....	34
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	35
4.1 DNA İzolasyonu ve Spektrofotometrik Ölçümler.	35
4.1.2. SRAP Analizleri	39
4.1.2.1. Nar Genotiplerinin SRAP tekniği ile karakterizasyonunda Polimorfizmin Değerlendirilmesi	39
4.1.2.2. SRAP Analizleri Sonucu Elde Edilen Dendrogramın Değerlendirilmesi	46
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	55
KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ	64
EKLER.....	68



ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1.1.	Türkiye'nin son 10 yıllık nar üretim değerleri (ton)	2
Çizelge 3.1.	Çalışmada kullanılan nar genotipleri	15
Çizelge 3.2.	DNA izolasyon yönteminde kullanılan tampon çözeltinin içeriği	25
Çizelge 3.3.	PCR koşullarının içeriği.....	28
Çizelge 3.4.	SRAP primerlerine ait bilgiler	28
Çizelge 4.1.	Nar genotiplerine ait DNA Yoğunlukları ve Saflık Dereceleri.....	32
Çizelge 4.2.	SRAP primerlerinin amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayısı (adet), polimorfik bant sayısı (adet), bant uzunluk aralıkları (bp), polimorfizm oranı (%), PIC değerleri	37



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1.	İzmir 10 ve 15 çeşitlerine ait meyve görüntüsü.	38
Şekil 3.2.	İzmir 16 ve 23 çeşitlerine ait meyve görüntüsü.	38
Şekil 3.3.	İzmir 26 ve 07 N 08 Hicaz Narı çeşitlerine ait meyve görüntüsü.	38
Şekil 3.4.	İzmir 1264 ve İzmir 1 çeşitlerine ait meyve görüntüsü.	38
Şekil 3.5.	İzmir 1265 ve 07 N 03 çeşitlerine ait meyve görüntüsü.	38
Şekil 3.6.	07 N 04 ve 07 N 14 çeşitlerine ait meyve görüntüsü.	38
Şekil 3.7.	Wonderful çeşidine ait meyve görüntüsü.	38
Şekil 3.8.	İzmir 2 ve İzmir 8 çeşitlerine ait meyve görüntüsü.	38
Şekil 3.9.	İzmir 12 ve İzmir 29 çeşitlerine ait meyve görüntüsü.	38
Şekil 3.10.	İzmir 1261 çeşidine ait meyve görüntüsü.	38
Şekil 3.11.	İzmir 1453 ve İzmir 1465 çeşitlerine ait meyve görüntüsü.	38
Şekil 3.12.	DNA izolasyon aşamalarına ait görüntü. A: Örneklerin hazırlanması, B: Örneklerin 65 °C’de bekletilmesi, C: Örneklerin santrifüj edilmesi	27
Şekil 3.13.	PCR aşamalarına ait görüntü. A: PCR reaksiyonunun hazırlanması, B: Örneklerin thermal cycle cihazına yerleştirilmesi, C: Elektroforez işlemi için örneklerin boyanması	29
Şekil 3.14.	Agaroz jel elektroforezi aşamalarına ait görüntü. A: Agarozun tartılması, B: Agaroz jelin mikrodalga fırında kaynatılması, C: Örneklerin yüklenmesi	30
Şekil 4.1.	me2em2 SRAP primer kombinasyonuna ait agaroz jel görüntüsü (1-24 arası örnekler).....	38
Şekil 4.2.	me2em2 SRAP primer kombinasyonuna ait agaroz jel görüntüsü (25-48 arası örnekler).....	38

Şekil 4.3.	me2em2 SRAP primer kombinasyonuna ait agaroz jel görüntüsü (49-72 arası örnekler).....	39
Şekil 4.4.	me2em2 SRAP primer kombinasyonuna ait agaroz jel görüntüsü (73-90 arası örnekler).....	39
Şekil 4.5.	me1em6 SRAP primer kombinasyonuna ait agaroz jel görüntüsü (1-24 arası örnekler).....	40
Şekil 4.6.	me1em6 SRAP primer kombinasyonuna ait agaroz jel görüntüsü (49-72 arası örnekler).....	40
Şekil 4.7.	SRAP analizleri sonucu oluşturulan dendrogram.	44

KISALTMALAR

μ l	: Mikrolitre
CTAB	: Cetyltrimethylammonium bromide
$^{\circ}$ C	: derece santigrat
dk	: Dakika
DNA	: Deoxyribonucleic acid
dNTP	: Deoksi-Nüklezid Trifosfat
FAO	: Food and Agriculture Organisation (Gıda ve Tarım Örgütü)
gr	: Gram
ha	: hektar
He	: allel frekansı beklenen
Ho	: gözlenen heterozigotluk
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları)
kg	: kilogram
μ g	: mikro gram
L	: Litre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
Mm	: Milimolar
ng	: Nanogram
NTSYS-pc	: Numerical Taxonomy System
PI	: Tanımlama olasılığı
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
QTL	: Nicel Özellik Lokusu (Quantitative Trait Loci)
RAPD	: Random Amplified Polymorphic DNA (Rastgele Çoğaltılmış : Polimorfik DNA)
RNA	: Ribonükleik asit
rpm	: Revolution per minute

SSR	: Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları)
SRAP	: Dizi İlişkili Çoğaltılmış Polimorfizm (Sequence Related Amplified Polymorphism)
TBE	: Tris Borate-EDTA
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i>
TÜİK:	: Türkiye İstatistik Kurumu
μM	: Mikromolar



1. GİRİŞ

Nar (*Punica granatum* L.) Dicotyledonae (iki çenekliler) sınıfında Punicaceae (nargiller) familyasının *Punica* cinsine ait çok yıllık bir bitkidir. Yeryüzünde büyük çeşitlilik gösteren *Punica* cinsi $2n=2x=16$ kromozom sayısına sahiptir (Kargı, 2011).

Narın anavatanı Güney Kafkasya, İran, Afganistan, Güney Asya, Batı Asya, Anadolu ve Akdeniz arasındaki bölgeleri kapsamaktadır. Ayrıca narın, anavatanların yanında Avrupa ve Afrika'nın Akdeniz sahil bölgelerinde, Çin, Hindistan, Arabistan, Şili, Arjantin, Kaliforniya, Arizona ve Kuzey Meksika'da da yetiştiriciliği yapılmaktadır (Onur, 1983). Nar'da kültür işlemleri Anadolu'da neolitik dönemde başlamıştır (Harlan, 1992).

Arkeolojik çalışmalardan elde edilen bilgilere göre, 5000 yıldan beri nar yetiştiriciliği yapıldığı bildirilmiştir. Bazı kaynaklarda ise Finike ve Mısırlılar tarafından (İ.Ö.2500) önce kültürü yapılan bir bitki olduğu belirtilmiştir. Akdeniz ülkelerinin içerisinde yer alan tropik ve subtropik iklime sahip bölgelerinin önemli meyve grubunda yer alan nar M.Ö. 3000 yıl kadar geriye dayanan, kültür ve yetiştiriciliğine ait birçok geçmişi ile bilinmektedir (Gerçekcioğlu ve ark., 2014; Şimşek ve Kara, 2016).

Dünya nar üretimi yaklaşık 3 milyon ton olup, nar üretiminde Hindistan, İran ve Türkiye ilk üç sırada yer almaktadır. Türkiye toplam nar üretimi 2009 yılında 170.963 ton iken, son 10 yıllık süreçte sürekli artış eğilimi göstermiş ve 2018 yılında 537.847 ton üretim değerine ulaşmıştır. Türkiye'nin son 10 yıllık nar üretim değerleri Çizelge 1.1'de sunulmuştur. Ülkemizin her bölgesinde nar yetiştiriciliği yapılmakta olup, en fazla üretim Akdeniz Bölgesi'ne aittir (TÜİK 2019).

Türkiye'de il bazında bakıldığında en fazla nar üretimi 111.041 ton ile Antalya'da yapılmaktadır. Bunun akabinde Muğla, Mersin, Denizli, Adana, Hatay,

Gaziantep, Aydın, İzmir, Şanlıurfa illerinde de nar tarımı yapılmaktadır (TUİK, 2016).

Çizelge 1.1. Türkiye'nin son 10 yıllık nar üretim değerleri (ton)

Yıllar	Üretim değeri (ton)
2009	170.963
2010	208.502
2011	217.572
2012	315.150
2013	383.085
2014	397.335
2015	445.750
2016	465.200
2017	502.606
2018	537.847

Dünyada önemli meyve türleri arasında yer alan nar subtropik ve tropik bölgelerde yetişebilmesi nedeni ile geniş bir genetik çeşitlilik göstermektedir. Dünya genelinde 500'den fazla çeşidi bilinen narın yaklaşık 50 ticari çeşidi bulunmaktadır (IPGRI, 2001). Nar insanlık tarihinin başlangıcından beri kullanılan ekonomik olarak önemli bir bitki türüdür. Meyve olarak tüketilmesinin yanı sıra, antik çağlardan itibaren tıbbi olarak da kullanılmaktadır. Nar suyu ve nar ekstraktları meyve sularında ve meyve şurubu yapımında kullanılmaktadır. Son zamanlarda meyve suyu olarak kullanım popülaritesi giderek artmaktadır. Nar kabuğu ekstraktları yiyecek endüstrisinde doğal yiyecek bileşenleri olan önemli fenolik, flavonoid ve tannin kaynağı olarak kullanılmaktadır. Nar ayrıca antioksidan içeriği bakımından oldukça zengin olan bir meyve türüdür (Özgen ve ark., 2008).

Narın antialerjik, antimikrobiyal, antiplazmodiyal ve antidiabetik etkileri bulunmaktadır (Duman ve ark.,2009). Nar lignin, sterol ve terpenoid gibi aktif fitokimyasalları tohumlarında, yapraklarında ve kabuklarında bulundurmaktadır. Tohum yağında yağ asitleri ve trigliserid, yapraklarda basit galyol örnekleri

bulunmaktadır. Kullanım sıklığı ve yararlarından dolayı nar üzerinde birçok araştırma yapılmış olup hala geniş çaplı araştırmalar devam etmektedir (Adhami ve ark., 2012).

Dünya pazarlarına giren meyve çeşitlerinde sağlıklı gıda tüketimi bilincinin ortaya çıkması sonucunda gıdalar içerisindeki fonksiyonel komponentlerin değerinin artması ve gıdaların içerdiği bileşenlerin araştırılmasında son derece önemli adımlar atılmıştır. Pazar taleplerindeki bu artış gıdalar üzerindeki değerleri de beraberinde arttırmaktadır. Bu nedenle son yıllarda nar meyvesine olan ilgi artmıştır.

Narın kök, gövde, çiçek ve meyvesi çok değişik amaçlarda kullanılmaktadır. Bunlardan bazıları; ilaç sanayisinde, dondurma yapımında, pasta yapımında, boya sanayisinde, pektin ve sirke yapımında vb. daha birçok kullanım alanları bulunmaktadır.

Son yıllarda seleksiyon ıslahı çalışmalarıyla kaliteli nar çeşitlerinin geliştirilmesi ve geniş ölçüde ticari bahçelerin kurulması Türkiye’de nar üretim ve tüketimi ile iç ve dış pazarda önemli gelişmelere yol açmıştır.

Canlı olarak ifade edilen bütün organizmalar hücrelerden meydana gelmiştir. Hücreler genetik materyal olarak kabul edilen DNA tarafından dizayn edilmektedir. DNA azot (N) içeren bazların (A: adenin, G: guanin, S: sitozin ve T: timin) birleşmesinden oluşan heliks yapılı çift sarmallı uzun bir zincirdir. Her bir DNA dizisinin belirli bir kısmı bir geni karakterize etmektedir. Bu genler ise proteinlerin oluşturulması için kod vermektedirler. Geni karakterize eden belirli kısmın dışında kalan bölgeler ise kodlama yapmayan dizileri oluşturmaktadır. Canlılarda kalıtımı sağlayan genetik birim olan kromozom setler halinde organize olarak genetik materyali oluşturmaktadır. Bir organizmanın kalıtım materyalinde bulunan genetik şifrelerin tamamına genom denir. Son yıllarda moleküler biyolojik tekniklerinin geliştirilmesiyle canlılar arasındaki DNA dizilerinin farklılıklarını ortaya koymak için geliştirilen moleküler markırlar kullanılmaktadır. Moleküler markır, genom içinde yer alan herhangi bir gen bölgesi ya da genom içinde yer alan

DNA parçasının dizilim farklılıkları olarak da tanımlanabilir. Moleküler biyoloji teknikleri kapsamında kullanılan moleküler markırlar fiziksel haritalama, gen keşfi ve etiketleme, bitki ıslahında, genetik çeşitlilik ve genetik mühendisliği gibi birçok alanda kabul gören genom içinde sabit olan kilometre taşlarıdır (Filiz ve Koç., 2011).

DNA temelli markırlar, popülasyon içerisinde bulunan herhangi bir türün farklı bireyleri arasında dizi polimorfizmi gösteren DNA bölgeleri olmasının yanında varyasyon belirlenmesinde de kullanılan önemli bir yöntemdir (Özşensoy ve Kurar., 2012).

Genetik kaynakların yönetiminde genotiplerin tanımlanması ve fenotipik olarak benzer olanların birbirlerinden ayırt edilmesi önem taşımaktadır. Bu anlamda moleküler markırların kullanılması hız ve kolaylık sağlamaktadır. Moleküler markırlar, genetik çeşitliliğin belirlenmesi, ebeveynlerin ortaya konulması, türler arasındaki filogenetik ilişkilerin saptanması çalışmaları için kuvvetli bir araçtır. Genotipler arası genetik yakınlıkları ortaya çıkaran moleküler teknikler taksonomik sistemlerin oluşturulması ve genotiplerin tarihsel değişimlerinin araştırılmasına olanak sunmaktadır. Filogenetik ilişkiler hakkındaki kesin bilgiler genetik kaynak koleksiyonlarının bazı spesifik genler bakımından araştırılması noktasında ışık tutmaktadır (Uzun ve ark., 2009). Genomdaki herhangi bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile ilişkili DNA parçası olarak tanımlanan moleküler markırlar birçok alanda kullanılabilmektedir. Bunlar arasında; genetik varyasyonun araştırılması, türlerin taksonomik tanımlamasının yapılması, filogenetik akrabalıkların bulunması, genetik haritalama ve markörler yardımıyla erken seleksiyon çalışmaları sayılabilir. Ayrıca genom analizlerinde moleküler markörlerin kullanımı ıslahçılar için ihtiyaç duyulan bir alandır. Moleküler markörler, genetik çeşitliliğin belirlenmesi, ebeveynlerin ortaya konulması, farklı bitki türleri arasındaki filogenetik ilişkilerin saptanma çalışmaları için önemli bir araçtır (Barkley ve ark., 2006). Moleküler markırlar, hibridizasyona ve PCR'a dayalı olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Hibridizasyona dayalı olan

moleküler markırlardan en yaygın olarak kullanılan: RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), PCR'a dayalı moleküler markırlar arasında RAPD (Randomly Amplified Polimorphic DNA), SCAR (sequence-characterized amplified regions), ISSR (Inter Simple Sequence Repeat), SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) ve SSR (Simple Sequence Repeat) gibi markır sistemleri bulunmaktadır.

Birçok araştırmacı son zamanlarda bitki moleküler biyolojisi alanlarında genetik çeşitlilik çalışmalarında RAPD, ISSR, AFLP, SSR, SRAP, SNP, SSCP gibi moleküler markırlar kullanmıştır. Biyoteknoloji alanındaki gelişmelere paralel olarak moleküler markır sistemlerinin de geliştirildiği görülmektedir. Moleküler markır sistemlerinden biri olan ve bu tez çalışmasında da kullanılan sekansla ilişkili amplifiye polimorfizmi (SRAP), doğrudan gen bölgelerini hedef almaktadır. Bu nedenle bitkilerde genetik karakterizasyon çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. SRAP markırları 17 veya 18 bp uzunluğundaki ileri (forward) ve ters (reverse) primerlerin kullanılmasıyla elde edilmektedir. Forward primerler 13 veya 14 bp uzunluğundaki çekirdek dizini ve buna 5' sonda eklenmiş CCGG dizini, reverse primerler ise yine aynı uzunluktaki çekirdek dizini ve bu dizine eklenmiş AATT dizini içermektedir. Hem ileri hem de ters primeler 3' sonda üç adet seçici nükleotid içermektedir (Li ve Quiros, 2001; Gülşen ve Mutlu, 2005).

Ülke ekonomisine katkıda bulunan birçok ticari bitki türü ıslah çalışmalarında, gen kaynaklarının karakterizasyonunda, endemik türlerin tanımlanmasında, bitki tür, cins ve tiplerinin belirlenmesinde, bitki genom haritalarında ve moleküler biyolojinin pek çok alanında kullanılan moleküler markırlar, ileri teknolojiler aracılığıyla dünyada hızlı gelişim göstermektedir. Nar içerdiği besin kompozisyonu yönünden her geçen gün tüketilme alışkanlığı artan bir meyvedir. Bu yüzden gerek Ülkemiz gerekse de Dünya'da yeni nar çeşitlerinin ıslah çalışmaları yürütülmektedir. Islah çalışmalarında genetik kaynakların toplanması ve tanımlanması çok önemli bir aşamadır. Genetik kaynakların doğru

bir şekilde tanımlanması ve birbiriyle olan ilişkilerinin ortaya konulması ıslah çalışmalarında daha hızlı ve güvenilir bir şekilde ilerlemeyi sağlamaktadır. Bu sebeple ıslah çalışmalarında kullanılmak üzere genetik zenginliğimizin araştırılması açısından genotiplerin moleküler karakterizasyonu çok büyük önem taşımaktadır.

Bu tez çalışmasında, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Nar Genetik Koleksiyonunda yer alan ve Türkiye'nin farklı bölgelerinden selekte edilmiş ya da diğer ıslah yöntemleri ile elde edilmiş olan 90 farklı nar (*P. granatum* L.) genotipinin moleküler karakterizasyonu ve genetik ilişkileri SRAP markırları kullanılarak araştırılması ve böylece gelecekte bu bitkisel materyalle yürütülecek nar ıslahı çalışmaları için temel bilgilerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Mars ve ark. (1999), otuz nar çeşidinde yapmış oldukları araştırmada genotipler arasındaki genetik ilişkileri tespit etmek amacıyla moleküler çalışmalar gerçekleştirmişlerdir. Moleküler markırlarla yapılan genetik karakterizasyon çalışmalarında PCA ve küme analizi ile yerel nar genetik kaynaklarında fenotipik ve genetik çeşitliği ortaya koymuşlardır.

Yılmaz ve ark. (2006), 40 nar çeşidinin moleküler karakterizasyonu için yapmış oldukları çalışmada RAPD markırlarını kullanmışlardır. 120 RAPD markırı ile tarama çalışması yapılmış, polimorfik bulunan primerlerle DNA analizleri gerçekleştirilmiştir. Polimorfizm oranının ve polimorfik primer sayısının düşük olması nedeniyle farklı markır sistemleri ile karakterizasyonun devam etmesi gerekliliğini bildirmişlerdir.

Yılmaz ve ark. (2009), nar genetik kaynaklarının moleküler karakterizasyonunu SRAP ve RAPD markırları ile gerçekleştirmiş ayrıca, meyvelerin pomolojik özelliklerini incelemişlerdir. Nar genotiplerinde, 24 RAPD primeri ile yapılan moleküler analizde %48 polimorfizm oranı tespit edilmiş, SRAP analizlerinde ise 15 primer kullanılmış ve %20 polimorfizm oranı elde edilmiştir. Pomolojik ve moleküler analizler sonucunda 187 nar genotipinin arasındaki genetik benzerliğin yüksek olduğu gözlenmiştir.

Jbir ve ark. (2007), 34 nar çeşidinin moleküler karakterizasyonunu AFLP tekniği ile yapmışlardır. Çalışma sonucunda elde edilen dendrogram ile çeşitlerin coğrafi kökenlerinden ve cinslerinden bağımsız olarak kümelenmiş olduğu kanıtlanmıştır.

Zamani ve ark. (2007), 24 İran kökenli nar genotipinin genetik ilişkilerini moleküler markırlarla ortaya koymaya çalışmıştır. Bu amaçla, RAPD markırları ile kullanılmıştır. RAPD tekniği nardaki genetik çeşitliliği incelemek için yararlı bir teknik olarak önerilmiştir.

Durgaç ve ark. (2008), yapmış oldukları çalışmada, Türkiye'nin Hatay ilinden altı yerel nar çeşidini RAPD markırları ile karakterize etmişler ve morfolojik olarak 18 meyve özelliğini incelemişlerdir. RAPD analizleri sonucunda toplam 106 tekrarlanabilir bant elde edilmiş ve bunların %22'si polimorfik bulunmuştur.

Masoud ve ark. (2008), on nar çeşidinin RAPD markırları ile varyasyonları incelenmiştir. 215 bant polimorfik bant elde edilmiş (%10.50) ve 1835 bant monomorfik bant tespit etmişlerdir.

Ranade ve ark. (2009), Hindistan'daki nar çeşitleri arasındaki genetik çeşitliliği ve dağılımı RAPD markırları ile incelemişlerdir. RAPD ve Minisatellit DNA yöntemiyle yabani, yarı yabani ve çeşit olmak üzere 64 Hint kökenli nar genotipleri arasında genetik çeşitliliğin belirlenmesi sağlamıştır. Çalışma sonucunda, yabani genotiplerinde oldukça iyi bir çeşitlilik yelpazesi olduğu saptanmıştır. Özellikle yabani genotipleri içeren iyi bir genetik kaynak koleksiyonu tanımlanmıştır. Bu koleksiyondaki genotiplerle yapılacak nar ıslah programlarında yeni çeşitlerin geliştirilebileceği belirtilmiştir. Kullanılan moleküler markır tekniklerinin narın genetik çeşitliliğini incelemek için yararlı olduğu bulunmuştur.

Pirsevedi ve ark. (2010), narda mikrosatellit markırları geliştirerek moleküler karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirmişlerdir. Çalışmalarında toplam 12 SSR primeri geliştirmişlerdir. SSR markırları geliştirme stratejisi olarak 2'li ve 3'lü nükleotid tekrarlarını içeren hibridizasyon problemlerini kullanmışlardır. Hibridizasyon çalışmaları sonrasında dizileme çalışmaları yürütülmüş ve ortaya çıkan DNA profillerine dayalı 12 adet SSR primeri geliştirilmiştir. Moleküler karakterizasyon çalışmalarında ise 60 farklı nar genotipi kullanmışlardır. Locus başına 2-5 arasında değişen ortalama 2.9 polimorfik allel tespit etmişlerdir. Sonuç olarak araştırmacılar geliştirdikleri SSR markırlarını nar genetik çeşitliliği çalışmalarında kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Hasnaoui ve ark. (2010), nar için 11 mikrosatellit markırı (SSR) geliştirmişlerdir. Tunus'ta örneklenen 27 nar çeşidinde çalışılmıştır. Elde edilen

veriler değerlendirildiğinde 1 ve 4 arasında değişen allel sayısı ve 0.037 ile 0.592 arasında değişen heterozigotluk bulunmuştur. SSR markırları ekonomik açıdan önemli meyve türlerinin DNA parmakizi ve soy ağacı analizi ile genetik çeşitlilik, genetik kaynakların değerlendirmesi ile ilgili çalışmalar için çok yararlı olacağı bildirilmiştir.

Curro ve ark. (2010), yapmış oldukları çalışmada nar için yeni mikrosatellit lokusları tespit etmişlerdir. Çalışmalarında mikrosatellit-AFLP tekniğini kullanarak 9 SSR markırı geliştirmişlerdir. Geliştirdikleri 9 SSR markırının kullanılabilirliğini tespit etmek için farklı ülke genetik kaynaklarından toplam 33 farklı nar genotipinde DNA çalışmaları yürütmüşlerdir. Çalışma sonucunda geliştirilen SSR markırlarının daha önce yürütülen çalışmalarda olduğu gibi düşük oranda polimorfik DNA profilleri gösterdiği bildirilmiştir. Belirtilen düşük polimorfizm oranının genotipler arasındaki dar genetik çeşitlilik ile ilgili olabileceğini belirtmişlerdir.

Ebrahimi ve ark. (2010), nar çalışmaları için SSR markır geliştirilmesi konusunda çalışmalar yapmışlardır. Bu çalışma ile nardaki mikrosatellitlerin sayısının fazlalığını ve bunların nar genomu haritalaması ve genotiplemede, moleküler karakterizasyon çalışmalarında potansiyel uygulamasını göstermişlerdir.

Zahoor ve ark. (2010), moleküler markörlerin, özellikle genetik çeşitlilik ve çeşit tanımlama çalışmaları, gen etiketleme, hastalık teşhisi, pedigrisi analizi, melez tespiti, cinsiyet tespiti ve marker destekli seçim alanlarında, meyve ıslahının iyileştirilmesinde çeşitli uygulamalara sahip olduğu belirtilmiştir.

Sarkhosh ve ark. (2011), 21 İran kökenli yumuşak tohumlu nar genotipleri arasındaki genetik ilişkileri incelemek için amplifiye edilmiş parça uzunluk polimorfizmi (AFLP) tekniği kullanılmıştır.

Soriano ve ark. (2011), nar bitkisinde mikrosatellit markırları geliştirmişler ve bu markırlar ile moleküler karakterizasyon çalışmaları yürütmüşlerdir. Çalışmalarında toplam olarak 117 mikrosatellit lokusu geliştirmişler ve bu markırların kullanılabilirliğini 11 farklı nar genotipinde test etmişlerdir. Çalışma

sonucunda primerlerin polimorfizm bilgi içeriklerinin (PIC) 0.09-0.71 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Çalışmada geliştirilen 117 primerin 66'sının polimorfik, 38'inin monomorfik, geriye kalan 13 primerin ise Yazım alanları gerektiği kadar uzatılabilir istenilen amplifikasyonu sağlamadığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak karakterizasyon çalışmalarında az sayıda genotip kullanmış olmalarına rağmen geliştirilen markırların ileride yürütülecek nar genetik çalışmaları için yararlı olabileceğini bildirmişlerdir.

Nicole ve ark. (2011), nar meyvesi kabuğu transkriptomundan 115 SSR markırı tespit edilmiş ve moleküler karakterizasyon ve diğer moleküler çalışmalar için 77 SSR markırı geliştirmişlerdir.

Ercişli ve ark. (2011), Çoruh Vadisi'nden selekte edilen 19 nar genotipini AFLP markırları ile tanımlamışlardır.

Hasnaoui ve ark (2012), yapmış oldukları çalışmada nar bitkisi için 4 yeni polimorfik SSR markırı geliştirmişlerdir. Farklı tekrar motifleri içeren nükleotidler ile mikrosatellit kütüphanesi oluşturarak ilgili markırları geliştirmişlerdir. Geliştirdikleri bu 4 SSR markırı ile daha önceki yıllarda geliştirdikleri 11 SSR markırını kullanarak 33 nar genotipinde moleküler karakterizasyon çalışmaları yapmışlardır. Çalışmalarında bir genotipi İtalya, diğer 32 genotipi de Tunus'tan temin etmişlerdir. Daha önceki çalışmalara benzer olarak dar bir genetik çeşitlilik tespit etmişlerdir. Bu çalışma kapsamında geliştirdikleri markırların MAS ve QTL çalışmalarında kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Norouzi ve ark. (2012), narda kloroplast mikrosatellit markırlarını kullanarak İran'da narın genetik çeşitliliğini araştırmışlardır. 51 çeşitte yapılan çalışmada 25 lokusta 16'sının polimorfik olduğu belirlenmiş ve polimorfizm oranının 0,02-0,39 arasında değiştiği tespit edilerek kloroplast mikrosatellit markırlarının genetik çeşitlilik araştırmaları için etkili bir yöntem olduğu vurgulanmıştır.

Parvaresh ve ark. (2012), yapmış oldukları araştırmada, İran, Japonya, Türkmenistan, Rusya, İtalya ve ABD'den gelen 75 nar genotipleri arasında genetik

çeşitlilik ve filogenetik analizi incelemek için mikrosatellit markırları kullanmışlardır. 25 SSR primerinin 10'unda 12 polimorfik lokus tespit edilmiş ve 38 allel ortalama 3.1667 allel/primer bulunmuştur. Polimorfik bilgi içeriği (PIC) ortalaması ise 0.358 olarak hesaplamışlardır. Bu hesaplamaların sonucunda, Rus çeşitlerinin çoğu İran genotipleri ile kümelenmiş ve bazı Amerikan genotipleri, Türkmenistan'ın çeşitleri ile gruplandırılmıştır. Ayrıca bilinmeyen bazı genotipler, Türkmenistan ve İran çeşitleri ile yakın akrabalık ilişkileri olduğunu göstermişlerdir.

Lihua ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada, Çin'de 7 ilden toplanan 46 nar genotipleri arasındaki genetik ilişkileri incelemek için rastgele çoğaltılmış mikrosatellit polimorfizmi tekniği kullanmışlardır.

Rania ve ark. (2012), 32 Tunus narını karakterize etmek için spesifik mikrosatellitler (SSR'ler) kullanmışlardır. 13 SSR primeri kullanılarak toplam 40 allel tespit edilmişlerdir. Sonuç olarak, veriler yüksek bir polimorfizm seviyesinin, Tunus nar genetik kaynaklarını DNA düzeyinde karakterize ettiğini kanıtlamışlardır.

Raina ve ark. (2013), nar genotiplerinde genetik çeşitliliği 47 SSR markırı kullanılarak değerlendirmişlerdir. Genotip başına toplam 105 allel ile ortalama 3.154 allel/lokus amplifiye etmişlerdir. SSR belirteçleri, önemli bir varyasyonu ortaya çıkarmış ve nar germplazmasında genotipleri alellik profili için doğru genetik bilgi sağladığını göstermişlerdir.

Ajal ve ark. (2014), Fas'ın üç coğrafi bölgesinden gelen 27 Fas kökenli nar çeşidinin genetik çeşitliliği 61 Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) işaretleyicisi kullanılarak taramışlardır.

Ophir ve ark. (2014), yürüttükleri çalışmada, fenotip olarak farklılık gösteren iki farklı nar genotipinde detaylı bir dizileme çalışması yapmışlardır. Bu çalışmada yeni nesil dizileme teknikleri ile RNA dizileme çalışmaları yürütmüşlerdir. RNA dizileme çalışmalarında yaprak kök, çiçek ve meyve örneklerini kullanmışlar ve çıkan sekanslarda de nova analizleri ile transkriptomları

karşılaştırmışlardır. Analizlerde 454-GS-FLX Titanium teknolojisini kullanmışlardır. Analiz sonucunda 7155 SSR ve 6500 SNP belirlemişlerdir. Elde ettikleri bu SNP'ler arasından 450 tanesini 105 farklı nar genotipinin genetik çeşitliliğini araştırmak amacı ile kullanmışlardır.

Nafees ve ark. (2015), Pakistan nar genetik kaynaklarının morfolojik ve moleküler karakterizasyonunu ve filogenetik ilişkilerini araştırmışlardır. Çalışmada, 42 nar genotipinin meyvelerinin 13 morfolojik özelliği 29 SSR markırı kullanılarak tahmin edilmiştir. Meyve uzunluğu (mm), meyve çapı (mm), taç uzunluğu (mm), gövde kalınlığı (mm), tane ve tohum boyutlarının (mm) Temel Bileşen Analizi (PCA), ilk altı ana bileşende toplam morfolojik çeşitliliğin %93.9'unu açıklamıştır. Meyve ağırlığı ve boyutlarının, tüm genotiplerde birbirinden oldukça farklı olduğu tespit edilmiştir.

Giancaspro ve ark. (2017), selekte edilen ve kültüvasyonu yapılan nar genotiplerinin genetik çeşitliliğini SSR markırları kullanarak araştırmışlardır. Genel genetik çeşitlilik analizi sonucunda, nar germplazması, hem coğrafi kökenli / difüzyon hem de meyve suyu tatlılığı, kabuk ve tane rengi gibi pomolojik özelliklere göre kümeler halinde gruplanmıştır. Ayrıca, farklı coğrafi bölgelerdeki nar genotiplerinin, aynı menşe içindeki genotiplere kıyasla daha benzer olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, SSR analizleri ile morfolojik tanımlama (meyve suyu tadı ve kabuk / tane rengi) ya da coğrafi orijin / difüzyon sınıflamasına göre tutarlı sonuçlar elde edilmiştir. Bu durumun, antik çağlardan beri Güney İtalya, İspanya ve Kuzey Afrika gibi Akdeniz bölgelerine kadar yoğun olan germplazm akımını doğrular nitelikte olduğu belirlenmiştir.

Sood ve ark. (2018), Hindistan'ın Himaçal Pradeş eyaletinde 6 farklı lokasyonlardan topladıkları 24 yabani nar genotipinin moleküler karakterizasyonunu 25 RAPD markırı kullanarak araştırmışlardır. Çalışmada kullanılan 25 primerden 19'u polimorfik bant üretmiştir. Toplamda 142 bant amplifiye olduğu ve elde edilen bantlardan 116'sının polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Amplifiye olan fragmentlerin büyüklüğü 178-3895 bp arasında

değişmiştir ve toplam polimorfik bantların yüzdesi 70 olarak belirlenmiştir. Çalışmada benzerlik matrisi Dice ve Jaccard katsayısı kullanılarak yapılmıştır. Benzerlik matrisi 0.42 -0.91 (Jaccard) ve 0.60-0.92 (Dice) arasında değişmiştir. En düşük benzerlik değeri Rajgarh-3 ve Kandaghat-2 genotipleri arasında, en yüksek benzerlik değeri Badiyal-2 ve Shoghi-4 genotipleri arasında tespit edilmiştir. Dendrogram UPGMA metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Rajgarh-3 dışında tüm genotipler birlikte gruplanmıştır.

Sonawane ve ark. (2018), 19 nar genotipinin genetik ilişkilerini 16 SSR markır çifti kullanarak araştırılmışlardır. Çalışmada kullanılan 16 SSR markırı ile 16'sı polimorfik olmak üzere toplam 32 fragment elde edilmiştir. SSR analizlerine göre benzerlik katsayısı 0.80-1.00 arasında değişmiştir.

Zarei ve Sahraroo (2018), İran'ın Fars ilinde 5 farklı bölgeden topladıkları 50 nar genotipinin moleküler karakterizasyonunu 16 SSR primer çifti kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Kullanılan tüm SSR primerleri polimorfik bantlar üretmiş ve toplamda 48 fragment elde edilmiştir. 16 SSR lokusunda ortalama beklenen ve gözlenen heterozigotluk sırasıyla 0.33 ve 0.48 olarak tespit edilmiştir. Polimorfik bilgi içeriği (PIC) 0.18 ile 0.58 arasında değişmiştir ve ortalama 0.41 olarak belirlenmiştir. SSR verileri kullanılarak gerçekleştirilen kümeleme analizleri sonucunda, genotipler büyük ölçüde coğrafi kökenlerine göre gruplanmıştır.

Şimşek ve ark. (2018), yeni nesil dizileme teknolojileri kullanılarak narda mikrosatellit bölgelerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla RNA-seq çalışmaları yürütülmüştür. RNA-seq analizlerinde Hicaznar ve 33N26 çeşitleri kullanılmıştır. Biyoinformatik çalışmalar sonucunda DNA üzerinde mikrosatellit bölgelerin tanımlanması sağlanmıştır. Çalışma sonunda yaklaşık 19,000 mikrosatellit belirlenmiştir. Bu bölgeler arasından rastgele seçilen 20 SSR (Basit Dizi Tekrarları) primeri çifti 40 farklı nar genotipinde test edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda 20 SSR primer çiftinden de başarılı bir şekilde amplifikasyon sağlandığı, bunlardan 5 tanesinin polimorfik sonuçlar verdiği tespit edilmiştir.

Polimorfizmin düşük olmasının sebebini nar genotipleri arasındaki dar genetik çeşitlilikten kaynaklandığını bildirmişlerdir.



3. MATERYAL METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Bitkisel Materyal

Tez çalışmasında bitkisel materyal olarak Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Nar Genetik Koleksiyonu'nda yer alan 90 nar genotipi kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan nar genotipleri Çizelge 3.1'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan nar genotipleri

No	Genotip	No	Genotip	No	Genotip
1	İzmir-1499	31	33 N 12	61	Canernar 4
2	İzmir-1267	32	07 N 08 (Hicaznar)	62	Naznar
3	İzmir-1445	33	31 N 07	63	Hicrannar 5
4	İzmir-1479	34	33 N 49	64	17/180
5	İzmir-8	35	01 N 04	65	17/174
6	İzmir-1465	36	33 N 26	66	20/108
7	İzmir-1483	37	07 N 04	67	19/121
8	İzmir-1261	38	33 N 09	68	18/19
9	İzmir-1	39	Gazipaşa	69	19/66
10	İzmir -12	40	07 N 15	70	17/67
11	İzmir-26	41	33 N 53	71	Hicrannar 1
12	İzmir-1265	42	Canernar 7	72	Canernar 5
13	İzmir-1513	43	Antalyanar 12	73	Canernar 2
14	İzmir-1453	44	Canernar 8	74	Onurnar 2
15	İzmir-2	45	Antalyanar 14	75	20/17
16	İzmir-1264	46	19/147	76	Canernar 1
17	İzmir-23	47	Hicrannar 7	77	19/61
18	İzmir-29	48	19/81	78	17/123
19	İzmir-15	49	18/20	79	20/35
20	İzmir-10	50	Canernar 11	80	Esinnar 1

Çizelge 3.1. (Devamı)

21	İzmir-16	51	16/108	81	Canernar 9
22	Türkmen	52	Canernar 3	82	Hicrannar 3
23	Kadirli	53	Onurnar 5	83	Hicrannar 8
24	Wonderful	54	Canernar 10	84	Canernar 13
25	07 N 13	55	20/138	85	Hicrannar 2
26	07 N 03	56	Onurnar 3	86	19/71
27	07 N 01	57	17/64	87	Canernar 12
28	31 N 06	58	Onurnar 1	88	Onurnar 4
29	07 N 14	59	Canernar 6	89	18/131
30	33 N 34	60	20/147	90	18/100

3.1.2. Çalışmada Yer Alan Bazı Nar Çeşitlerinin Özellikleri

3.1.2.1. İzmir 10

Nar meyveleri genellikle küresel yapıda ve iridir. Ancak İzmir 10 çeşidinin meyvesi köşeli yuvarlak olmakla beraber kabuk rengi pembe, dane rengi kırmızıdır. Kaliteli nar çeşitlerinde önemli bir kriter yendiği zaman tohumlarının ağızda fark edilmemesidir. İzmir 10 çeşidinin tohum yapısı sert bir yapıya sahiptir (Yılmaz, 2015).

3.1.2.2. İzmir 15

Meyve verimi orta verimlilikte bir çeşittir. Meyvenin şekli köşeli yuvarlaktır. İzmir 15 çeşidinin kabuk rengi şeker pembe ve dane rengi de pembedir. Tohumları yumuşak çekirdekli (Yılmaz, 2015). İzmir 10 ve 15 çeşitlerine ait meyve görüntüleri Şekil 3.1’de sunulmuştur.



Şekil 3.1. İzmir 10 ve 15 çeşitlerine ait meyve görüntüsü (Yılmaz, 2005)

3.1.2.3. İzmir 16

Ağacın meyve verimliliği fazladır. Meyvesi köşeli yuvarlak yapıya sahiptir. Çeşidin kabuk rengi kırmızı ve dane rengi de kırmızıdır. Tohum yapısı sert bir yapıya sahiptir (Yılmaz, 2015).

3.1.2.4. İzmir 23

Meyve verimi orta verimlilikte bir çeşittir. Meyve şekli yuvarlaktır. Çeşidin kabuk rengi şeker pembe, dane rengi kırmızıdır. Tohumları yumuşak yapıya sahiptir (Yılmaz, 2015). İzmir 16 ve 23 çeşitlerine ait meyve görüntüleri Şekil 3.2’de sunulmuştur.



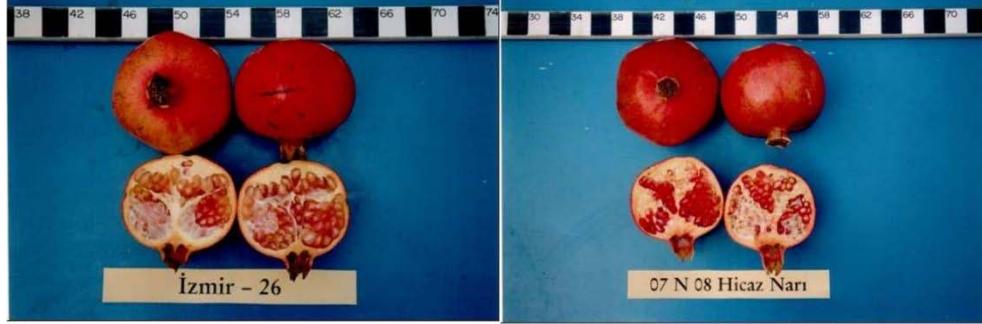
Şekil 3.2. İzmir 16 ve 23 çeşitlerine ait meyve görüntüsü (Yılmaz, 2005)

3.1.2.5. İzmir 26

Ağacın meyve verimliliği fazladır. Meyve şekli yuvarlaktır. Kabuk rengi şeker pembe, dane rengi pembedir. Tatlı narlar arasında tohumları yumuşak yapıya sahiptir (Yılmaz, 2015).

3.1.2.6. 07 N 08 (Hicaznar)

Deniz kıyısına yakın bir mesafede 6x6 m mesafede Antalya iline bağlı bir ova köyünde kurulmuş bir kapama bahçesinde selekte edilmiş bir çeşittir. Genel olarak nar çeşitleri ekşi, tatlı ve mayhoş olarak tatları çok farklılık göstermektedir. 07 N 08 çeşidi ise mayhoş narlar arasında yer almaktadır. Çeşitler arasında dip sürgünü verme eğilimi oldukça fazladır. Geç olgunlaşan çeşitler arasında ve geççi bir çeşittir. Tohum yapısı sert bir yapıya sahiptir. Ortalama meyve ağırlığı 350 g'dır (Onur, 1982 ve 1988; Yılmaz, 2015). İzmir 26 ve 07 N 08 Hicaz Narı çeşitlerine ait meyve görüntüleri Şekil 3.3'de sunulmuştur.



Şekil 3.3. İzmir 26 ve 07 N 08 Hicaz Narı çeşitlerine ait meyve görüntüsü (Yılmaz, 2005)

3.1.2.7. İzmir 1

Ağacın meyve verimliliği fazladır. Meyve şekli yuvarlak olup orta iriliktir. Kabuk rengi şeker pembe, dane rengi pembedir. Tatlı narlar arasında yer alır. Tohumları yumuşak yapıya sahiptir (Yılmaz ve İmrak, 2015).

3.1.2.8. İzmir 1264

Meyve verimi orta verimlilikte bir çeşittir. Meyvesi diğer çeşitlere göre basık ve yuvarlaktır. Kabuk rengi kırmızı, dane rengi bordodur. Diğer çeşitlere nazaran iri meyveleri ile ticari olarak en fazla tercih edilen Hicaz nar çeşidine daha çok benzemektedir. Tohum yapısı serttir. Mayhoş narlar arasında ve geççi bir çeşittir (Yılmaz ve İmrak, 2015). İzmir 1264 ve İzmir 1 çeşitlerine ait meyve görüntüleri Şekil 3.4’de sunulmuştur.



Şekil 3.4. İzmir 1264 ve İzmir 1 çeşitlerine ait meyve görüntüsü (Yılmaz, 2007)

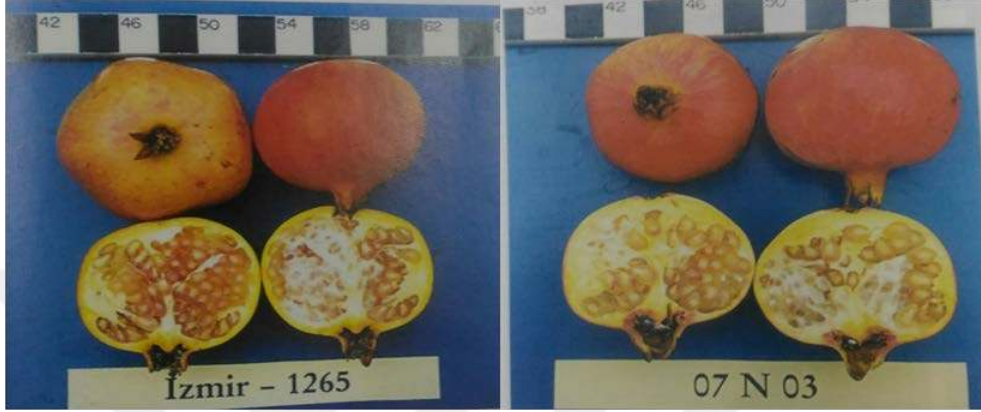
3.1.2.9. İzmir 1265

Nar çeşitleri arasında orta verimli ve bodur ağaç yapısına sahiptir. Meyve şekli yuvarlaktır. Kabuk rengi pembe, dane rengi pembedir. Tatlı narlar arasında yer alır. Tohum yapısı yumuşak yapıya sahip olmakla birlikte orta irilikte meyve yapısına sahiptir (Yılmaz ve İmrak, 2015).

3.1.2.10. 07 N 03

Antalya’ da seleksiyon ile elde edilmiştir. Meyvenin kabuk rengi açık pembe, daneleri ise beyaz renkli yapıya sahip bir çeşittir. Mayhoş narlar arasında

çekirdekleri sert yapıdadır (Yılmaz ve İmrak, 2015). İzmir 1265 ve 07 N 03 çeşitlerine ait meyve görüntüleri Şekil 3.5’de sunulmuştur.



Şekil 3.5. İzmir 1265 ve 07 N 03 çeşitlerine ait meyve görüntüsü (Yılmaz, 2007)

3.1.2.11. 07 N 04

Antalya’ da seleksiyon ile elde edilmiştir. Çeşidin kabuk rengi kırmızı, dane rengi açık pembedir. Tatlı nar grupları arasında çekirdekleri sert yapıya sahiptir (Yılmaz ve İmrak, 2015).

3.1.2.12. 07 N 14

Ticari olarak en çok kullanılan Hicaz nar çeşidine çok benzemektedir. Ülkemizde Antalya iline bağlı Alanya ilçesinde selekte edilmiş bir çeşittir. Meyvesinin kabuk rengi diğer çeşitlere göre daha koyu kırmızı olmakla beraber dane rengi bordoya yakın kırmızıdır. Mayhoş narlar arasında çekirdekleri sert yapıdadır (Yılmaz ve İmrak, 2015). 07 N 04 ve 07 N 14 çeşitlerine ait meyve görüntüleri Şekil 3.6’da sunulmuştur.



Şekil 3.6. 07 N 04 ve 07 N 14 çeşitlerine ait meyve görüntüsü (Yılmaz, 2007)

3.1.2.13. 33 N 12

Ülkemizin Akdeniz bölgesinde yer alan Mersin ilinin Erdemli ilçesinde selekte edilerek elde edilmiş bir çeşittir. Meyvesinin kabuk rengi pembe-kırmızı ve dane rengi ise pembedir. Mayhoş narlar arasında çekirdekleri sert yapıdadır (Yılmaz ve İmrak, 2015).

3.1.2.14. Canernar 7

Melezleme yapılarak elde edilmiş bir çeşittir. Batı Akdeniz Araştırma Enstitüsünde melezlenmiştir. Meyvesinin kabuk rengi pembe-kırmızı ve meyve dane rengi de pembe-kırmızıdır. Mayhoş nar çeşitleri arasında ve çekirdekleri yumuşak yapıdadır (Yılmaz ve İmrak, 2015).

3.1.2.15. Canernar 8

Melezleme yapılarak elde edilmiş bir çeşittir. Batı Akdeniz Araştırma Enstitüsünde melezlenmiştir. Meyvesinin kabuk rengi kırmızı ve meyve dane rengi de kırmızıdır. Mayhoş nar çeşitleri arasında ve çekirdekleri yumuşak yapıdadır (Yılmaz ve İmrak, 2015).

3.1.2.16. Canernar 11

Melezleme yapılarak elde edilmiş bir çeşittir. Batı Akdeniz Araştırma Enstitüsünde melezlenmiştir. Meyvesinin kabuk rengi kırmızı ve meyve dane rengi de kırmızıdır. Mayhoş nar çeşitleri arasında ve çekirdekleri yumuşak yapıdadır (Yılmaz ve İmrak, 2015).

3.1.2.17. Hicrannar 7

Melezleme yapılarak elde edilmiş bir çeşittir. Batı Akdeniz Araştırma Enstitüsünde melezlenmiştir. Meyvesinin kabuk rengi kırmızı ve meyve dane rengi de kırmızıdır. Tatlı nar çeşitleri arasında ve çekirdekleri yumuşak yapıdadır (Yılmaz ve İmrak, 2015).

3.1.2.18. Hicrannar 8

Melezleme yapılarak elde edilmiş bir çeşittir. Batı Akdeniz Araştırma Enstitüsünde melezlenmiştir. Meyvesinin kabuk rengi kırmızı ve meyve dane rengi de kırmızıdır. Tatlı nar çeşitleri arasında ve çekirdekleri yumuşak yapıdadır (Yılmaz ve İmrak, 2015).

3.1.2.19. Wonderful

Meyvesinin kabuk rengi kırmızı ve meyve dane rengi de kırmızıdır. Mayhoş nar çeşitleri arasında yer almaktadır. Meyve büyüklüğü ortalama narların biraz üzerindedir (Anonymous, 2019b). Wonderful çeşidinene ait meyve görüntüleri Şekil 3.7’de sunulmuştur.



Şekil 3.7. Wonderful çeşidine ait meyve görüntüsü (Anonymous, 2019c)

3.1.2. 20.07 N 01

Antalya iline bağlı Alanya ilçesinden 1983 yılında Alata Bahçe kültürleri Araştırma Enstitüsü tarafından selekte edilmiştir. Meyvesinin kabuk rengi zemin yeşilimsi sarı olmakla beraber % 25 oranında kırmızı ve dane rengi pembedir. Tatlı nar çeşitleri arasında ve çekirdekleri yumuşak yapıdadır (Yılmaz, 2007).

3.1.2.21. 01 N 04

Adana- Ceyhan yöresinden 1983 yılında Alata Bahçe kültürleri Araştırma Enstitüsü tarafından selekte edilmiştir. Meyvesinin kabuk rengi yeşilimsi sarı zemin üzerinde %25 oranında pembe ve dane rengi beyaz- açık pembedir. Tatlı nar çeşitleri arasında yumuşak çekirdeğe sahip yüksek verimlilikte bir bitkidir (Yılmaz, 2007).

3.1.2.22. 33 N 09

Mersin iline bağlı Silifke ilçesinden Alata Bahçe kültürleri Araştırma Enstitüsü tarafından selekte edilmiştir. Meyvenin kabuk rengi yeşilimsi sarı zemin

üzerinde % 30 kırmızı ve dane rengi kırmızıdır. Mayhoş nar çeşitleri arasında yer almaktadır. Meyve verimi yüksek verimlilikte bir çeşittir (Yılmaz, 2007).

3.1.2.23. 33 N 26

Meyve verimi orta verimlilikte bir çeşittir. Meyvenin kabuk rengi sarı zemin üzerinde %30 oranında kırmızı ve dane rengi koyu pembedir. Tatlı nar çeşitleri arasında yumuşak çekirdeğe sahip yüksek verimlilikte bir bitkidir. Mersin-Anamur yöresinden selekte edilmiştir (Yılmaz, 2007).

3.1.2.24. 33 N 49

Mersin ilinden selekte edilmiştir. Meyvenin kabuk rengi sarı zemin üzerinde % 20 oranında pembe ve dane rengi kırmızıdır. Tatlı-mayhoş nar çeşitleri arasında orta sert çekirdeğe sahip yüksek verimlilikte bir bitkidir (Yılmaz, 2007).

3.1.2.25. 33 N 34

Ağacı orta kuvvette gelişim göstermektedir. Meyve verimi yüksek verimlilikte bir çeşittir. Meyvenin kabuk rengi sarı yeşil zemin üzerinde % 40 oranında kırmızı ve dane rengi kırmızıdır. Mayhoş nar çeşitleri arasında yer almaktadır. Mersin-Tarsus yöresinden selekte edilmiştir (Yılmaz, 2007).

3.1.2.26. 31 N 07

Ağacı kuvvetli gelişim göstermektedir. Hatay-Dörtyol yöresinden selekte edilmiştir. Meyve kabuk rengi sarı zemin üzerinde %30 kırmızı ve dane rengi koyu pembedir. Mayhoş nar çeşitleri arasında yüksek verimliliğe sahip bitkidir (Yılmaz, 2007).

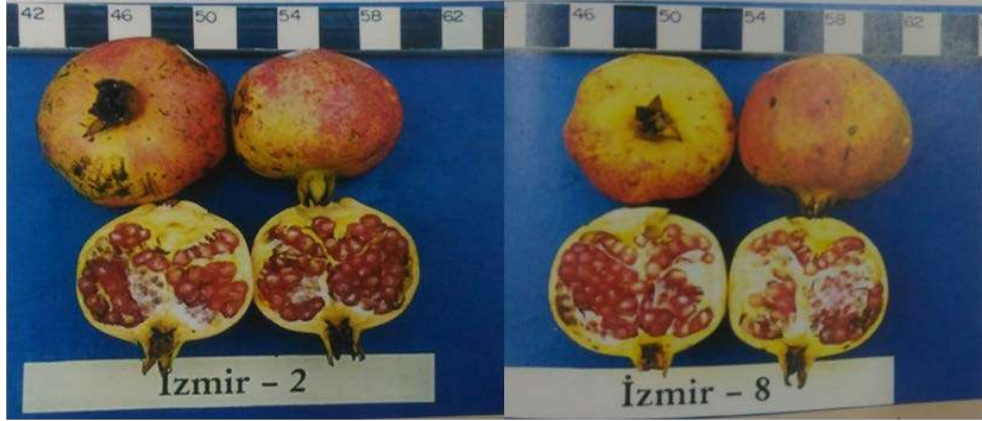
3.1.2.27. İzmir 2

Meyve şekli yuvarlak olup küçük iriliktir. Balıkesir-Ayvalık' tan Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından 1967 yılında selekte edilmiştir. Meyve

kabuk rengi pembe ve meyve dane rengi pembedir. Ağacı orta kuvvette gelişim gösterir. Tatlı nar çeşitleri arasında sert çekirdeğe sahip yüksek verimlilikte bir bitkidir (Yılmaz, 2007).

3.1.2.28. İzmir 8

Meyve şekli köşeli yuvarlak olup küçük iriliktir. İzmir-Pınarbaşı'ndan selekte edilmiştir. Meyve kabuk rengi pembe ve meyve dane rengi kırmızıdır. Tatlı nar çeşitleri arasında sert çekirdeğe sahip yüksek verimlilikte bir bitkidir (Yılmaz, 2007). İzmir 2 ve 8 çeşitlerine ait meyve görüntüleri Şekil 3.8'de sunulmuştur.



Şekil 3.8. İzmir 2 ve İzmir 8 çeşitlerine ait meyve görüntüsü (Yılmaz, 2007)

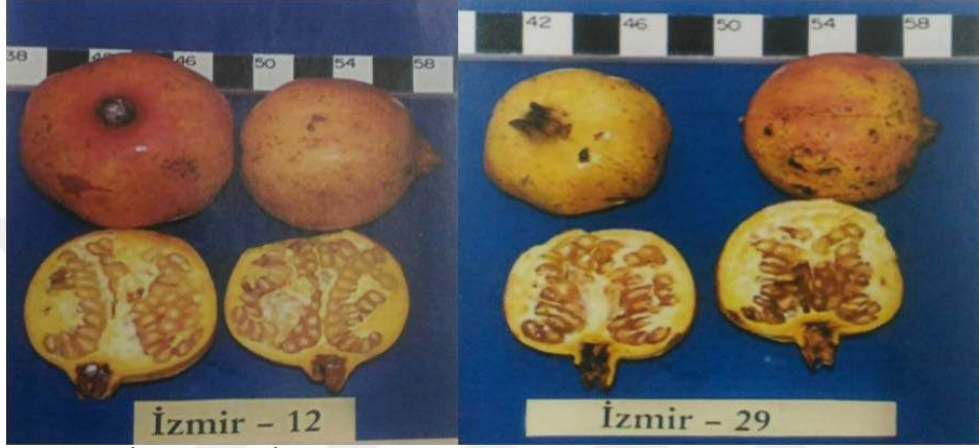
3.1.2.29. İzmir 12

Ağacı orta kuvvette gelişim göstermektedir. İzmir-Doğanlar'dan bulunan bahçe içerisinde selekte edilmiştir. Meyve kabuk rengi pembe ve meyve dane rengi pembedir. Tatlı nar çeşitleri arasında sert çekirdeğe sahip yüksek verimlilikte bir bitkidir (Yılmaz, 2007).

3.1.2.30. İzmir 29

Ağacı orta kuvvette gelişim göstermektedir. Balıkesir-Edremit yöresinden selekte edilmiştir. Meyve şekli köşeli yuvarlak olup küçük iriliktir. Meyve kabuk

rengi pembe ve dane rengi pembedir. Tatlı nar çeşitleri arasında yumuşak çekirdeğe sahip yüksek verimlilikte bir bitkidir (Yılmaz, 2007). İzmir 12 ve 29 çeşitlerine ait meyve görüntüleri Şekil 3.9’da sunulmuştur.



Şekil 3.9. İzmir 12 ve İzmir 29 çeşitlerine ait meyve görüntüsü (Yılmaz, 2007)

3.1.2.31. İzmir 1261

Ağacı zayıf gelişim göstermektedir. Muğla-Fethiye yöresinden selekte edilmiştir. Meyve şekli köşeli yuvarlaktır. Meyve kabuk rengi koyu pembe ve dane rengi açık pembedir. Tatlı nar çeşitleri arasında yumuşak çekirdeğe sahip orta verimlilikte bir bitkidir (Yılmaz, 2007). 1261 çeşidine ait meyve görüntüleri Şekil 3.10’da sunulmuştur.



Şekil 3.10.İzmir 1261 çeşidine ait meyve görüntüsü (Yılmaz, 2007)

3.1.2.32. İzmir 1267

Ağacı zayıf gelişim göstermektedir. Muğla-Bodrum yöresinden selekte edilmiştir. Meyve kabuk rengi bordo ve dane rengi pembedir. Meyve şekli yuvarlaktır. Tatlı nar çeşitleri arasında yumuşak çekirdeğe sahip verimlilikte bir bitkidir (Yılmaz, 2007).

3.1.2.33. İzmir 1445

Ağacı zayıf gelişim göstermektedir. İzmir-Gümüldür yöresinden selekte edilmiştir. Meyve şekli köşeli yuvarlak olup küçük iriliktir. Meyve kabuk rengi pembe ve dane rengi pembedir. Tatlı nar çeşitleri arasında yumuşak çekirdeğe sahip orta verimlilikte bir bitkidir (Yılmaz, 2007).

3.1.2.34. İzmir 1453

Ağacı zayıf gelişim göstermektedir. İzmir-Seferhisar yöresinden selekte edilmiştir. Meyve şekli basık yuvarlak olup küçük iriliktir. Meyve kabuk rengi açık kırmızı ve dane rengi açık kırmızıdır. Tatlı nar çeşitleri arasında yumuşak çekirdeğe sahiptir (Yılmaz, 2007).

3.1.2.35. İzmir 1465

Ağacı zayıf gelişim göstermektedir. Balıkesir-Edremit yöresinden selekte edilmiştir. Meyve şekli köşeli yuvarlak olup küçük iriliktir. Meyve kabuk rengi kırmızı ve dane rengi kırmızıdır. Tatlı nar çeşitleri arasında yumuşak çekirdeğe sahip orta verimlilikte bir bitkidir (Yılmaz, 2007). İzmir 1453 ve 1465 çeşitlerine ait meyve görüntüleri Şekil 3.11’de sunulmuştur.



Şekil 3.11. İzmir 1453 ve İzmir 1465 çeşitlerine ait meyve görüntüsü (Yılmaz, 2007)

3.1.2.36. İzmir 1479

Ağacı orta kuvvette gelişim göstermektedir. İzmir-Ödemiş yöresinden selekte edilmiştir. Meyve kabuk rengi kırmızı ve dane rengi kırmızıdır. Tatlı nar çeşitleri arasında yumuşak çekirdeğe sahiptir (Yılmaz, 2007).

3.1.2.37. İzmir 1483

İzmir-Ödemiş yöresinden selekte edilmiştir. Ağacı orta kuvvette gelişim göstermektedir. Meyve kabuk rengi kırmızı ve dane rengi pembedir. Tatlı nar çeşitleri arasında yumuşak çekirdeğe sahip orta verimlilikte bir bitkidir (Yılmaz, 2007).

3.1.2.38. İzmir 1499

Ağacı kuvvetli gelişim göstermektedir. Denizli-Buldan yöresinden selekte edilmiştir. Meyve kabuk rengi koyu kırmızı ve dane rengi bordodur. Mayhoş nar çeşitleri arasında ve çekirdekleri sert yapıdadır (Yılmaz, 2007).

3.1.2.39. İzmir 1513

Ağacı orta kuvvette gelişim göstermektedir. Aydın-Nazilli yöresinden selekte edilmiştir. Meyve kabuk rengi kırmızı ve dane rengi bordodur. Ekşi nar çeşitleri arasında ve sert çekirdek yapısına sahiptir (Yılmaz, 2007).

3.1.2.40. Esinnar

Ağacı orta verimlidir. Meyve kabuk rengi koyu kırmızı ve dane rengi koyu kırmızıdır. Tatlı nar çeşitleri arasında yer alır (Anonymous, 2019b).

3.2. Metod

Tez çalışması kapsamında kullanılan nar genotiplerinden yaprak örnekleri 1 Ekim 2018 tarihinde alınmıştır. Alınan yaprak örnekleri -196 °C'de sıvı azota daldırılıp -80°C'de muhafaza edilmiştir. Genetik ilişkilerin belirlenmesi amacıyla SRAP markırları kullanılmıştır. SRAP analizleri Çukurova Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarında yürütülmüştür.

3.2.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için alınan bitkisel materyallere ait yapraklar 2 ml'lik santrifüj tüplerine yerleştirilmiş ve sıvı azota daldırılarak doku parçalayıcı cihazı ile öğütülmüştür.

3.2.1.1. DNA İzolasyonu İçin Gerekli Solüsyonların Hazırlanması

Çalışmada MiniPrep DNA izolasyon yöntemi kullanılmıştır (Şimşek ve ark, 2008). DNA izolasyonu aşamasında kullanılan tampon çözeltinin içeriği Çizelge 3.2’de sunulmuştur. İzolasyon sırasında ekstraksiyon tampon çözeltiler dışında kloroform:izoamilalkol (24:1 oranında), Tris-EDTA (Tris 1 M pH:8, EDTA: 0.5 M pH:8), izopropanol ve etil alkol (%99) kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. DNA izolasyon yönteminde kullanılan tampon çözeltisinin içeriği

Solüsyon	Konsantrasyon
CTAB	%2,0
NaCl (5 M)	1,4 M
EDTA (0,5 M) Ph 8,0	0,2 M
TRIS-HCl (1 M) pH 8,0	0,1 M

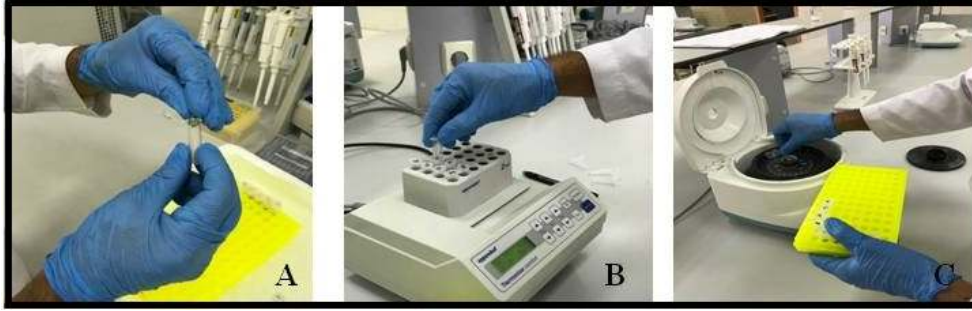
3.2.1.2. DNA İzolasyon Aşamaları

Hazırlanan ekstraksiyon solüsyonundan her tüpe 396µl ve 4µl β-merkaptotanol eklenmiştir.

- Bir pipet aracılığıyla tüpler homojenlik sağlanana kadar karıştırılmıştır. Daha sonra tüpler 65°C’de 20 dakika bekletilip ve iki defa karıştırılmıştır.
- Her tüpe 400µl kloroform:izoamilalkol eklenmiş ve 15 dakika karıştırıcı yardımıyla karıştırılmıştır.
- Tüpler 5 dakika 13 000 devirde santrifüj edilmiştir. Bekleme sırasında her örnek için yeni temiz bir santrifüj tüpü hazırlanıp etiketlenmiş ve her birinin içine 400 µl soğuk (-20°C) izopropanol eklenmiştir.
- Santrifüj tamamlandığında tüplerin üst kısmındaki sıvı kısım steril pipet aracılığıyla 400 mikrolitre soğuk (-20°C) izopropanol içeren santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Tüpler dikkatli bir şekilde karıştırılarak 1 saat süreyle -20°C’de bekletilmiştir.
- Bir saatin ardından tüpler 5 dakika 13 000 devirde santrifüj edilmiştir.
- Süpernatant dikkatli bir şekilde dökülmüş, pelletin kuruması için tüpler ters bırakılıp bekletilmiştir.

- Kuruyan Pellet 100 µl TE (Tris-EDTA) içerisinde çözülmüştür
- Her tüpe 500 µl soğuk EtOH (%100) (buzluktan çıkmış) eklenmiş ve tüpler dikkatli bir şekilde karıştırılarak 1 saat süreyle -20°C’de bekletilmiştir.
- 5 dakika 13 000 devirde santrifüj edilmiştir.
- Süpernatant dikkatli bir şekilde dökülmüş ve pelletin kuruması için tüpler ters çevirilmiştir (yaklaşık 10 dakika).
- Pellet 100 µl TE (Tris-EDTA) içerisinde çözülmüştür.
- Örnekler -20°C’de saklanmıştır.

DNA izolasyonu aşamasına ait görüntüler Şekil 3.12’de sunulmuştur.



Şekil 3.12. DNA izolasyon aşamalarına ait görüntü. A: Örneklerin hazırlanması, B: Örneklerin 65 °C’de bekletilmesi, C: Örneklerin santrifüj edilmesi

3.2.2. DNA Kalitesi ve Kantitesinin Belirlenmesi

İzolasyonu gerçekleştirilen DNA’ların kalitesi ve miktarları spektrofotometre ile (NanoDrop ND 100) ölçümler yapılarak belirlenmiştir.

3.2.3. SRAP Analizleri

Bitkisel materyallere ait DNA’lar ve SRAP primerleri ile PCR reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan PCR protokol ve PCR döngü koşulları aşağıda belirtilmiştir.

PCR Reaksiyon Koşulları;

Toplam hacim: 25 µl olacak şekilde Çizelge 3.3’de verilen koşullarda reaksiyon gerçekleştirilmiştir.

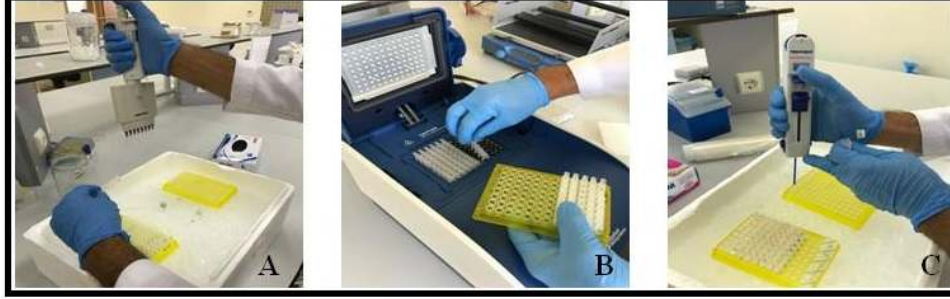
Çizelge 3.3. PCR koşullarının içeriği

Kullanılan Kimyasallar	Her örnek için kullanılan miktar (µl)
ddH ₂ O	3,00
PCR Master Mix 2X	15,625
MgCl ₂	1,25
Primer (Forward)	1,25
Primer (Reverse)	1,25
DNA (5ng)	2,5
Tag DNA polimeraz	0,125
Toplam Hacim	25

Tez çalışmasında 5 forward ve 6 reverse primeri kullanılarak oluşturulan 30 primer kombinasyonu kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan SRAP primerlerine ait bilgiler Çizelge 3.4’da sunulmuştur. PCR aşamalarına ait görüntü Şekil 3.13’de sunulmuştur.

Çizelge 3.4. SRAP primerlerine ait bilgiler

No	İleri (Forward) primer	No	Geri (Reverse) primer
1	TGAGTCCAAACCGGATA	1	GACTGCGTACGAATTAAT
2	TGAGTCCAAACCGGAGC	2	GACTGCGTACGAATTTGC
3	TGAGTCCAAACCGGAAT	3	GACTGCGTACGAATTGAC
4	TGAGTCCAAACCGGACC	4	GACTGCGTACGAATTTGA
5	TGAGTCCAAACCGGAAG	5	GACTGCGTACGAATTAAC
		6	GACTGCGTACGAATTGCA



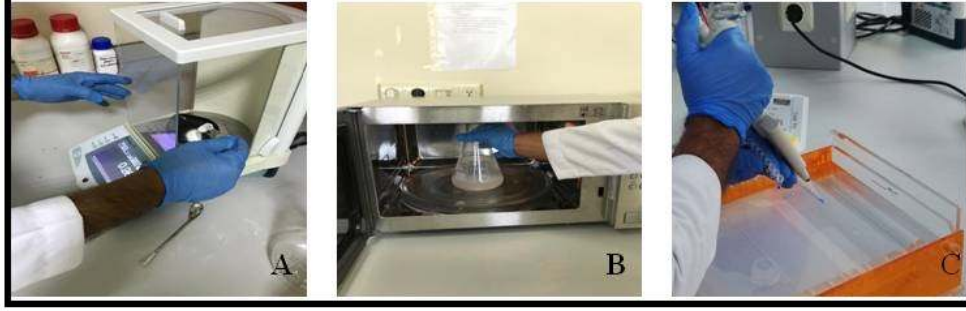
Şekil 3.13. PCR aşamalarına ait görüntü. A: PCR reaksiyonunun hazırlanması, B: Örneklerin thermal cycle cihazına yerleştirilmesi, C: Elektroforez işlemi için örneklerin boyanması

PCR Döngü Programı

94 °C	5 dk	} 5 döngü
94 °C	1 dk	
35 °C	1 dk	
72 °C	2 dk	
94 °C	1 dk	} 35 döngü
50 °C	1 dk	
72 °C	2 dk	
72 °C	5 dk	
4 °C	∞	

3.2.3.1. Agaroz Jel Elektroforezi

PCR aşamasından sonra PCR ürünleri %2.5'lik agaroz jel içerisinde 90 volt elektrik akımı altında 3.5 saat süreyle kosulmuştur. PCR ürünleri elektroforez işleminden sonra %0.1'lik etidium bromide ile boyanarak UV ışık altında görüntüleri alınmıştır. Agaroz jel elektroforezi aşamalarına ait görüntü Şekil 3.14'te gösterilmiştir.



Şekil 3.14. Agaroz jel elektroforezi aşamalarına ait görüntü. A: Agarozun tartılması, B: Agaroz jelin mikrodalga fırında kaynatılması, C: Örneklerin yüklenmesi

3.2.4. Sonuçların Değerlendirilmesi

SRAP analizleri sonucunda elde edilen jel görüntülerinde bant varlığı durumunda (1), yokluğu durumunda (0) değerleri verilerek elde edilen değerler Hammer ve ark (2001) tarafından geliştirilen PAST (paleontological statistics software package for education and data analysis) adlı bilgisayar paket programı kullanılarak analiz edilmiş ve dendrogram oluşturulmuştur.

Benzerlik indeksinden yararlanılarak UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average) metodu ile kümeleme (Cluster) analizleri yapılmış ve dendrogram elde edilmiştir. Dendrogramın benzerlik matrisini ne ölçüde temsil ettiği Mantel Matris Benzerlik testi (Mantel's Matrix Correspondence Test) ile testlenmiştir (Mantel, 1967). Bu test sonucunda kofenetik korelasyon katsayısı (Cophenetic Correlation Coefficient), r , değeri elde edilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Tez çalışmasında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Nar Genetik Koleksiyonunda yer alan toplam 90 adet nar (*P. granatum*) genotipinin genetik ilişkileri SRAP markör tekniği kullanılarak araştırılmış ve incelenmiştir.

4.1. DNA İzolasyonu ve Spektrofotometrik Ölçümler

Moleküler çalışmalar için Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Nar Genetik Koleksiyonunda bulunan 90 nar genotipine ait genç yaprak örnekleri toplanmış ve sıvı azota (-196 °C) daldırılıp, dondurulmuştur. Yaprak örnekleri DNA izolasyon sürecine kadar -80°C’de muhafaza edilmiştir. Nar genotiplerinden genomik DNA, MiniPrep DNA izolasyon yöntemine (Şimşek ve ark., 2008) göre izole edilmiştir. İzole edilen DNA’ların miktar ve kalite ölçümleri Nanodrop-ND 1000 spektrofotometresinde ölçülmüştür. DNA miktarlarının saflık dereceleri ve yoğunluk miktarları saptanmış, Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1.Nar genotiplerine ait DNA Yoğunlukları ve Saflık Dereceleri

No	Genotip	Yoğunluk (ng/ul)	Saflık (A260/A280)
1	İzmir-1499	99.84	2.08
2	İzmir-1267	111.47	1.76
3	İzmir-1445	215.99	1.65
4	İzmir-1479	49.12	1.73
5	İzmir-8	163.4	1.93
6	İzmir-1465	157.95	1.71
7	İzmir-1483	1234.39	1.95
8	İzmir-1261	167.96	1.76
9	İzmir-1	178.55	1.87
10	İzmir -12	226.09	1.73
11	İzmir-26	163.32	1.69
12	İzmir-1265	151.73	1.62
13	İzmir-1513	283.38	1.80
14	İzmir-1453	222.91	1.82
15	İzmir-2	2033.84	1.73
16	İzmir-1264	74.23	1.78
17	İzmir-23	360.1	1.94
18	İzmir-29	70.01	1.70
19	İzmir-15	216.51	1.80
20	İzmir-10	61.39	1.56
21	İzmir-16	91.12	1.78
22	Türkmen	441.56	1.63
23	Kadirli	192.03	1.47
24	Wonderful	21.34	1.65
25	07 N 13	506.91	1.82
26	07 N 03	77.46	1.73
27	07 N 01	168.41	1.70
28	31 N 06	339.09	1.79
29	07 N 14	998.14	1.92
30	33 N 34	60.71	1.75
31	33 N 12	28.72	1.92

32	07 N 08 (Hicaznar)	1109.66	1.76
33	31 N 07	112.06	1.69
34	33 N 49	110.93	1.62
35	01 N 04	173.16	1.63
36	33 N 26	191.07	1.78
37	07 N 04	255.56	1.65
38	33 N 09	136.54	1.61
39	Gazipaşa	61.15	1.68
40	07 N 15	362.29	1.80
41	33 N 53	219.48	1.81
42	Canernar 7	175.8	1.62
43	Antalyanar 12	213.25	1.69
44	Canernar 8	156.11	1.80
45	Antalyanar 14	260.76	2.02
46	19/147	148.02	1.61
47	Hicrannar 7	233.92	1.70
48	19/81	285.16	1.71
49	18/20	480.33	1.64
50	Canernar 11	339.21	1.92
51	16/108	277.07	1.81
52	Canernar 3	556.84	2.02
53	Onurnar 5	92.23	1.74
54	Canernar 10	144.52	1.62
55	20/138	105.63	1.87
56	Onurnar 3	366.41	1.75
57	17/64	213.72	1.67
58	Onurnar 1	264.5	1.79
59	Canernar 6	522.74	1.80
60	20/147	302.13	1.86
61	Canernar 4	1225.67	1.63
62	Naznar	208.72	1.80
63	Hicrannar 5	113.36	1.75
64	17/180	276.54	1.74

65	17/174	128.29	1.79
66	20/108	103.04	1.63
67	19/121	356.83	2.00
68	18/19	285.52	1.64
69	19/66	214.94	1.67
70	17/67	270.69	1.65
71	Hicrannar 1	1074.19	2.04
72	Canernar 5	190.14	1.80
73	Canernar 2	290.6	1.67
74	Onurnar 2	164.44	2.15
75	20/17	436.36	1.60
76	Canernar 1	179.46	1.60
77	19/61	237.42	1.68
78	17/123	510.32	1.67
79	20/35	73.14	1.75
80	Esinnar 1	278.42	1.96
81	Canernar 9	1256.01	1.73
82	Hicrannar 3	310.33	1.71
83	Hicrannar 8	229.73	1.61
84	Canernar 13	215.14	1.83
85	Hicrannar 2	90.17	1.64
86	19/71	373.65	1.71
87	Canernar 12	955.89	1.72
88	Onurnar 4	108.23	1.66
89	18/131	325.88	1.95
90	18/100	68.32	1.61

Tez kapsamında DNA analizleri için kullanılan bitkisel materyallerden DNA izolasyonları gerçekleştirilmiş ve DNA'ların miktar ve kalitelerine NanoDrop spektrofotometre aracılığıyla bakılmıştır. Bitki moleküler biyoloji çalışmalarında başlangıç aşaması olan DNA izolasyonu son derece kritik bir öneme sahiptir. Başarılı bir DNA izolasyonu sonucunda yürütülecek olan çalışmanın tamamı

başarılı bir şekilde sürdürülebilmektedir. PCR uygulamalarında DNA'nın miktar ve özellikle saflığı amplifikasyon açısından daha da önem kazanmaktadır (Ergül, 2000). Bitki moleküler biyoloji çalışmalarında iyi bir DNA izolasyonu başarıyı önemli ölçüde etkilemektedir. Çalışmada kullanılan nar genotiplerine ait DNA'lar incelendiğinde, DNA miktarları yeterli bulunmuştur. DNA'lar kalite bakımından değerlendirildiğinde, kaliteli DNA'larda saflığın A260/A280 oranının yaklaşık 2,0 civarında bulunması beklenmektedir. Elde edilen değerin 2,0'den yüksek olması; örneğin RNA, kloroform ya da fenol ile kirli olduğunu ve 1,6 değerinden düşük olması ise örnek içerisinde proteinler ya da fenolik (polifenol) bileşikler bulunduğunun göstergesidir (Hoisington, 1992). Tez çalışması kapsamında izolasyonları gerçekleştirilen DNA'ların saflık oranları 1,61-2,15 arasında değişmiştir.

4.1.2. SRAP Analizleri

4.1.2.1. Nar Genotiplerinin SRAP Tekniği ile Karakterizasyonunda Polimorfizmin Değerlendirilmesi

Tez çalışmasında 90 adet nar genotipinin genetik ilişkilerini belirlemek amacıyla SRAP markır tekniği kullanılmıştır. Beş adet forward (ileri) ve altı adet reverse (geri) primerlerinin farklı kombinasyonları denenmiş ve toplam 30 primer kombinasyonu ile çalışma yürütülmüştür. Bu primer kombinasyonlarından başarılı bir şekilde amplifikasyon sağlanan 14 primer kombinasyonu değerlendirmeye alınmıştır. Jel görüntüleme işleminden sonra DNA bantlarının belirgin olanları dikkate alınmış, bant varlığında (1), bant yokluğunda (0) ve amplifikasyon yokluğunda (9) rakamı verilerek değerlendirme yapılmıştır. Bu değerlendirme sonucunda her bir primer çifti için elde edilen toplam bant sayısı (adet), polimorfik bant sayısı (adet) bant uzunluk aralıkları (bp), polimorfizm oranı (%) ve PIC değerleri Çizelge 4.2'de sunulmuştur.

Tez çalışmasında kullanılan 30 primer kombinasyonundan 14 primer kombinasyonunun başarılı sonuç verdiği gözlenmiştir. Çalışmada 14 primer kombinasyonundan elde edilen bant büyüklükleri 160-1400 bp arasında değişmiştir. En küçük bant uzunluğu 160 bp ile me1em6 kombinasyonunda, en büyük bant uzunluğu ise 1400 bp ile me5em6 kombinasyonunda elde edilmiştir. Değerlendirilen 14 primer kombinasyonu, 60'ı polimorfik toplam 73 adet bant üretmiştir.

Primer başına elde edilen toplam bant sayısı 2-9 (ortalama 5.2) arasında, toplam polimorfik bant sayısı ise 1-9 (ortalama 4.3) arasında değişmiştir. En fazla bant me2em6 (9 adet) kombinasyonunda, en az DNA bant profili ise me2em3 (2 adet) primer kombinasyonundan elde edilmiştir.

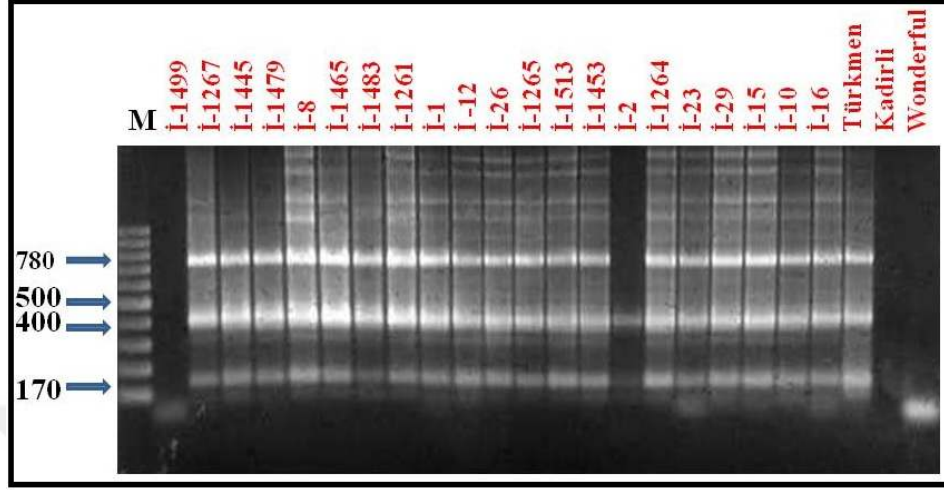
SRAP analizleri sonucunda toplam polimorfizm oranının 77.85 olduğu tespit edilmiştir. Polimorfizm oranı en yüksek primer kombinasyonları %100 ile me1em3, me1em6, me2em4, me2em6 iken, en düşük oran (33.30) ise me2em2 primer kombinasyonuna aittir.

SRAP primer kombinasyonlarına ait PIC değerleri incelendiğinde en yüksek değerin 0.81 ile em2me6 primer kombinasyonunda olduğu, en düşük değerin ise 0.03 em2me2 primer kombinasyonunda olduğu tespit edilmiştir.

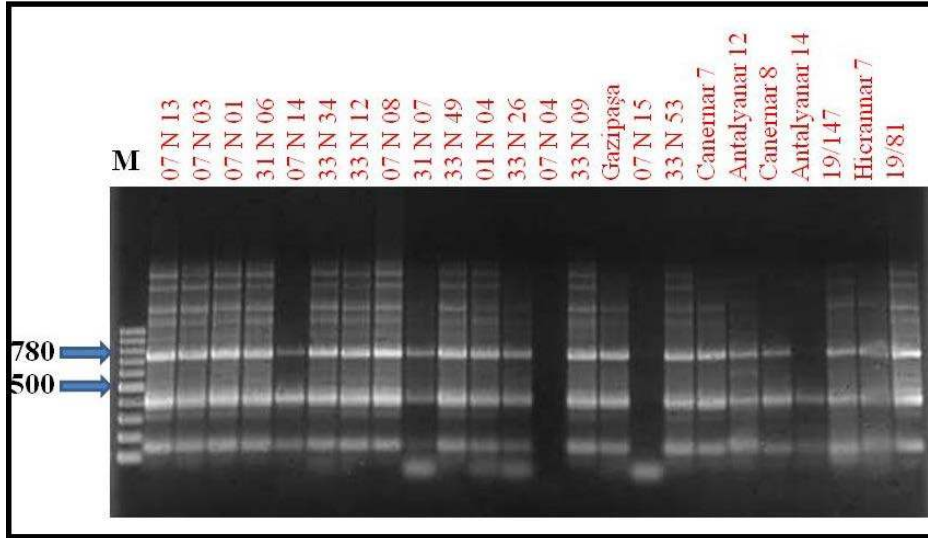
Çizelge 4.2. SRAP primerlerinin amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayısı (adet), polimorfik bant sayısı (adet), bant uzunluk aralıkları (bp), polimorfizm oranı (%), PIC değerleri

Primer Çifti	Toplam Bant Sayısı (adet)	Polimorfik Bant Sayısı (adet)	Bant Uzunluk Aralıkları (bp)	Polimorfizm Oranı (%)	PIC Değeri
me1em3	4	4	200-800	100	0.05
me1em5	6	4	200-1130	66.7	0.63
me1em6	6	6	160-900	100	0.09
me2em1	4	2	400-1200	50	0.28
me2em2	3	1	170-800	33.3	0.03
me2em3	2	1	480-720	50	0.27
me2em4	6	6	170-1200	100	0.66
me2em6	9	9	170-1300	100	0.81
me3em1	5	4	400-1260	80	0.41
me3em2	5	4	280-1120	80	0.25
me3em3	5	4	170-1020	80	0.51
me3em6	6	5	200-1300	83.3	0.07
me4em1	6	5	220-1380	83.3	0.41
me5em6	6	5	420-1400	83.3	0.38
Toplam	73	60	-	-	
Ortalama	5.2	4.3	-	77.85	

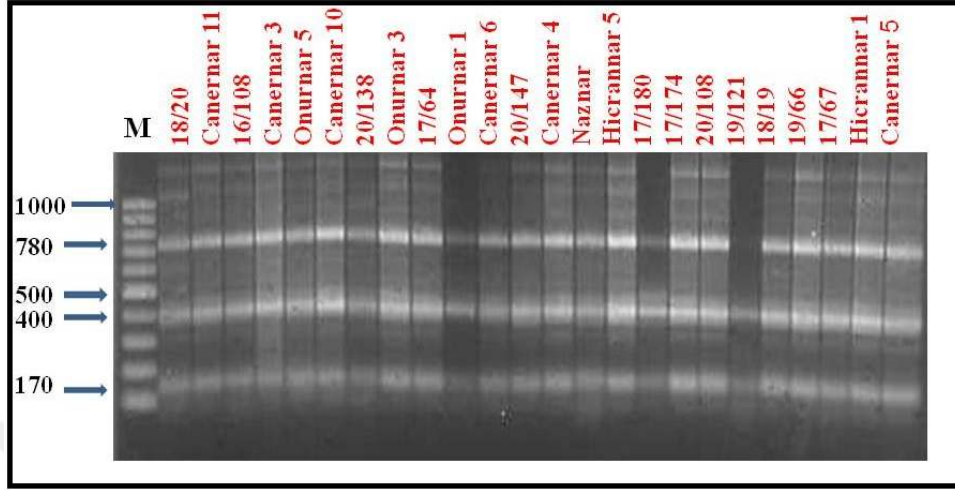
Çalışmada kullanılan SRAP primer kombinasyonlarından me2em2 (1-90 arası örnekler), me1em6 (1-24, 49-72 arası örnekler) ait jel görüntüleri Şekil 4.1-4.6'da sunulmuştur.



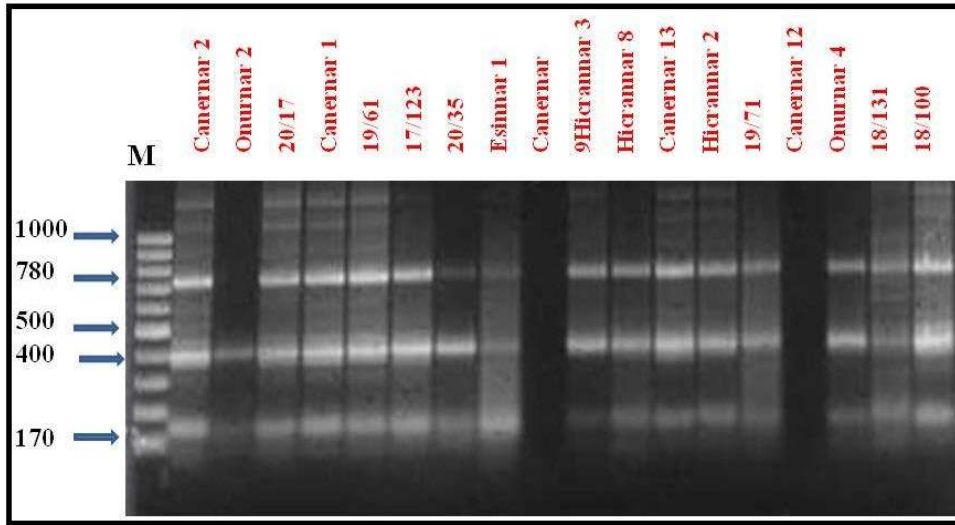
Şekil 4.1. me2em2 SRAP primer kombinasyonuna ait agaroz jel görüntüsü (1-24 arası örnekler)



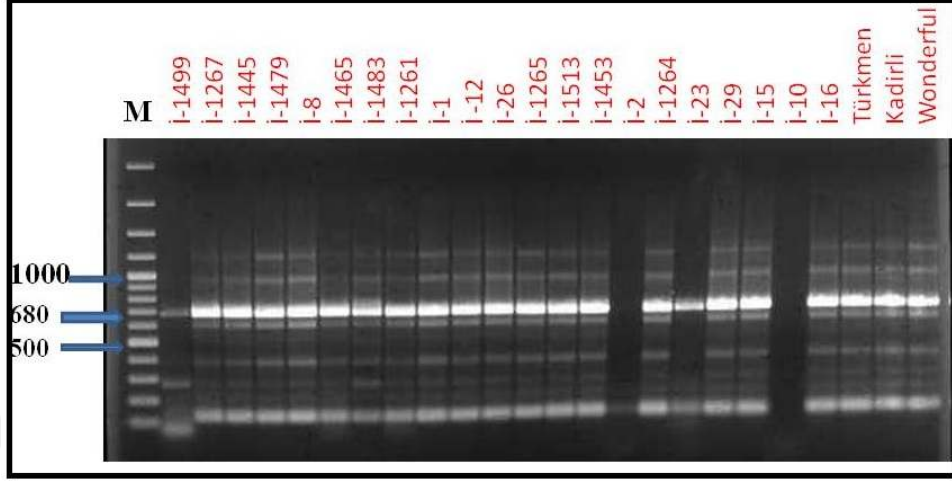
Şekil 4.2. me2em2 SRAP primer kombinasyonuna ait agaroz jel görüntüsü (25-48 arası örnekler)



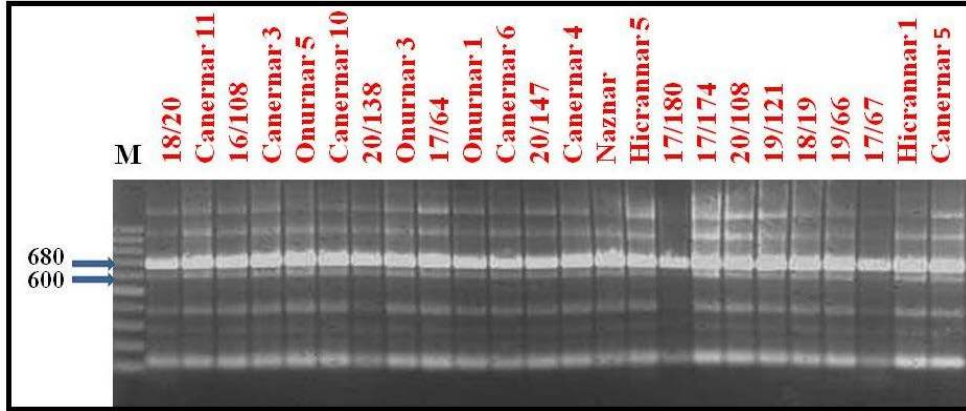
Şekil 4.3. me2em2 SRAP primer kombinasyonuna ait agaroz jel görüntüsü (49-72 arası örnekler)



Şekil 4.4. me2em2 SRAP primer kombinasyonuna ait agaroz jel görüntüsü (73-90 arası örnekler)



Şekil 4.5. me1em6 SRAP primer kombinasyonuna ait agaroz jel görüntüsü (1-24 arası örnekler)



Şekil 4.6. me1em6 SRAP primer kombinasyonuna ait agaroz jel görüntüsü (49-72 arası örnekler)

Moleküler markörler arasında kolay uygulanabilen, tekrarlanabilen aynı zamanda ucuz ve etkili bir markör sistemi olan SRAP'ın (Li ve Quiros, 2001) çok sayıda polimorfik bant verebilen bir moleküler markör sistemi olduğu Guo ve Luo (2006) tarafından bildirilmiştir. Araştırmada kullanılan 30 SRAP primer kombinasyonunun çalışan 14 SRAP primer kombinasyonundan elde edilen toplam

bant (73) ve toplam polimorfik bant sayısının (60) araştırmacıların tespitiyle uyumlu bulunduğu görülmektedir.

Hatay ilinden 6 yerel nar çeşidinin morfolojik ve moleküler karakterizasyonunda RAPD markör tekniklerini kullanan Durgaç ve ark. (2008), RAPD analizleri sonucunda 106 tekrarlanabilir bant ürettiğini ve bu bantların %22'sinin polimorfik olduğunu bildirmişlerdir. Narda yürütülen bir diğer RAPD çalışmasında ise Masoud ve ark. (2008) tarafından 10 nar çeşidinin RAPD markörleri ile varyasyonları incelenmiş 215 adet polimorfik bant elde edilmiş (%10.50) ve 1835 adet bant monomorfik bant olarak tespit etmişlerdir. Hasnaoui ve ark. (2012), 27 adet nar çeşitinde 11 SSR lokusu analiz sonucunda, sadece 8 adet lokusun polimorfik olduğunu ve elde edilen veriler değerlendirildiğinde 1 ile 4 arasında değişen allel sayısını tespit etmişlerdir. Bu verilerin ardından narın oldukça dar bir genetik arka planı olduğu bildirilmiştir. Çalışmada gözlenen ve beklenen heterozigotluğun sırasıyla 0.037 ile 0.592 ve 0.036 ile 0.491 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Düşük heterozigotluk seviyesinin, nar bitkilerinin asexual yayılımının bir sonucu olabileceğini belirtmişlerdir. Narda yürütülen bir diğer çalışmada ise Lihua ve ark. (2012), Çin'deki 7 farklı ilden toplanan 46 nar genotipi arasındaki genetik ilişkilerini incelemek için rastgele çoğaltılmış mikrosatellit polimorfizmi (RAMP) tekniğini kullanmışlar ve 127 adet bant arasından 113 (%88.90) adet polimorfik bantların yüksek polimorfizm gösteren primerlerin 14 çifti tarafından amplifiye edildiğini tespit etmişlerdir. Parvaresh ve ark. (2012) yaptıkları araştırmada çeşitli ülkelerden alınan 75 nar genotipi arasındaki genetik çeşitlilik ve filogenetik analizlerini incelemek için mikro uydu işaretleyicileri kullandıklarını belirtmişlerdir. Çalışmalarında 25 primer çifti kullanmışlardır. 25 primer çiftinden on tanesinin 12 polimorfik lokus gösterdiğini bildirmişlerdir. Locus başına ortama 3.1667 allel ile 38 allel ortaya koyduğunu belirtmişlerdir. Polimorfik bilgi içeriğinin (PIC) ortalamasını 0.35 olarak hesaplamışlardır. Genotipleri farklı ülkelerden gelen genotiplerle karşılaştırıldığında, İran genotiplerinin en yüksek genetik çeşitliliğe sahip olduğunu

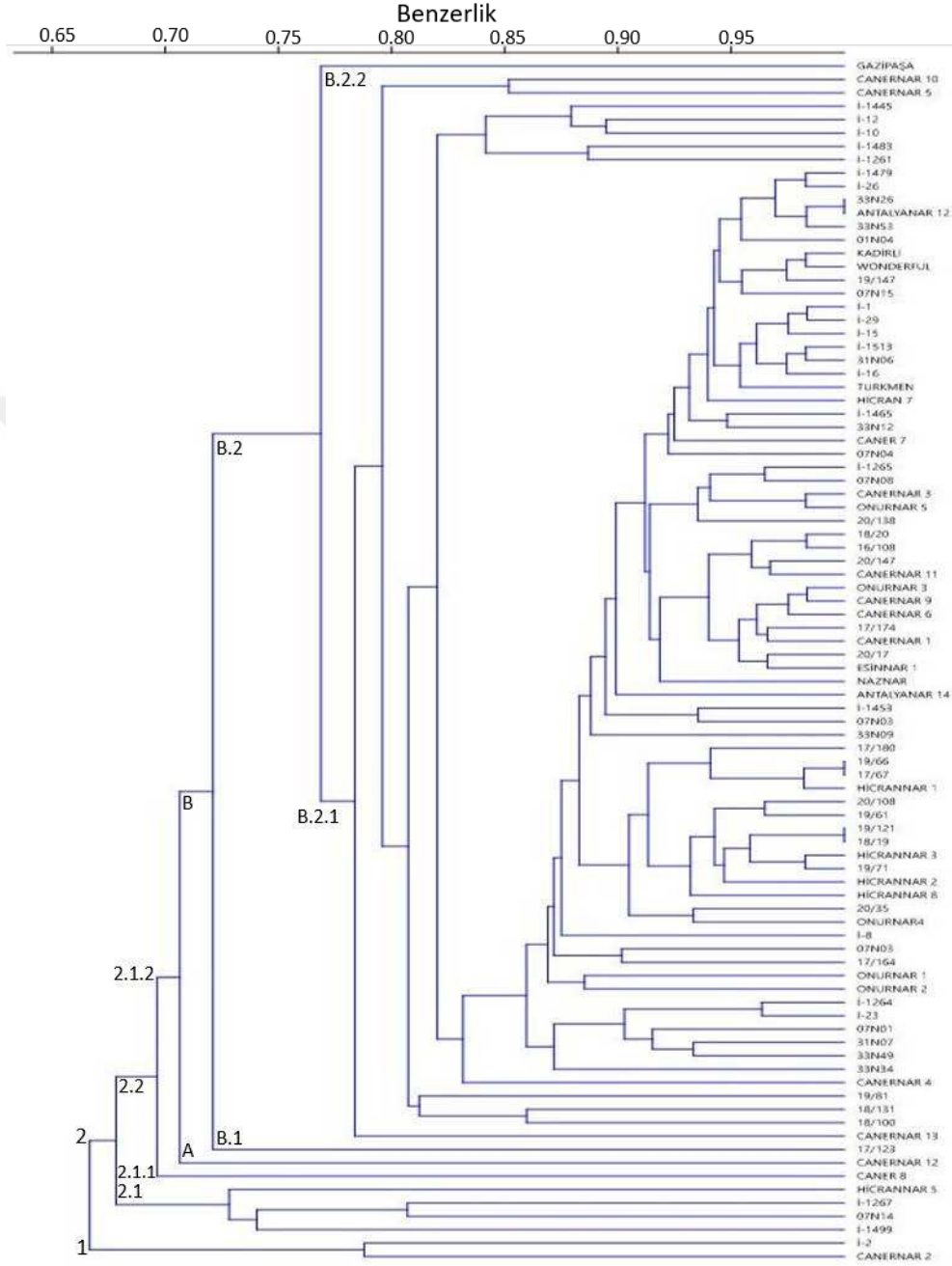
bildirmişlerdir. Aja ve ark. (2014), 27 Fas nar genotipi arasındaki genetik çeşitliliği ISSR markörleriyle değerlendirmiş ve 61 Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) işaretleyicisi kullanılarak 61 adedi polimorfik toplam 70 bant ve %87.14 oranında polimorfizm elde etmişlerdir. Sood ve ark. (2018), Hindistan'da 6 farklı lokasyondan topladıkları 24 yabancı nar genotipinin moleküler karakterizasyonunu, 25 RAPD markırı kullanarak araştırmışlar ve 25 primerden 19'da polimorfik DNA bant profili elde etmişlerdir. Toplam 142 DNA profilinden 116'sının polimorfik olduğu bildirilmiştir. Toplam polimorfik bantların yüzdesi 70 olarak belirlenmiştir. Toplam 90 adet nar genotipinin moleküler karakterizasyonu amacıyla 30 SRAP primer kombinasyonu kullanılarak yürütülen bu tez çalışmasında, 14 primer kombinasyonunun başarılı sonuç vermesi ile elde edilen polimorfizm oranı (%77.85) daha önce narda yürütülmüş bazı moleküler çalışmalardan (RAMP (%88.90, Lihua ve ark. 2012; ISSR %87.14, Aja ve ark. 2014) daha düşük ve bazılarından ise (RAPD %22, Durgaç ve ark. 2008; %10.50, Masoud ve ark. 2008) daha yüksek olarak bulunmuştur.

4.1.2.2. SRAP Analizleri Sonucu Elde Edilen Dendrogramın Değerlendirilmesi

Benzerlik indeksinden yararlanılarak UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average) metodu ile kümeleme (Cluster) analizleri yapılmış ve dendrogram (Şekil 4.7) elde edilmiştir. Dendrogramın benzerlik matrisini ne ölçüde temsil ettiği Mantel Matris Benzerlik testi (Mantel's Matrix Correspondence Test) ile testlenmiştir (Mantel, 1967). Bu test sonucunda kofenetik korelasyon katsayısı (Cophenetic Correlation Coefficient), r , değeri elde edilmiştir. Analizler sonucu elde edilen r değeri, 0.90 olarak tespit edilmiştir. Mantel testi sonucunda elde edilen değer; benzerlik indeksi ve dendrogramın SRAP verileri ile yüksek oranda uyduğunu göstermektedir.

SRAP analizleri sonucunda oluşturulan dendrogram incelendiğinde 90 adet nar genotipinin genetik benzerlik düzeyinin 0.65 ile 1.00 arasında değiştiği görülmüştür. Dendrogram iki ana kola ayrılmıştır. Bu kollar dendrogram üzerinde

1 ve 2 şeklinde kodlanmıştır. 1 olarak kodlanmış ana kol içerisinde İ-2 ve Canernar-2 genotipleri yer alırken, 2 numaralı ana kolda ise tez çalışmasında kullanılan diğer tüm nar genotipleri kümelenmiştir. 1 ve 2 nolu ana kolun birbirine benzerlik oranı %65 olarak tespit edilmiştir. 2 numaralı ana kol dendrogram üzerinde 2.1 ve 2.2 olarak adlandırılmış, iki alt kola ayrılmıştır. 2.1 alt kolu içerisinde Hicrannar-5, İ-1267, 07 N 14, İ-1499 genotipleri, yer almıştır. 2.2 alt kolu içerisinde ise tez çalışmasında kullanılan diğer nar genotiplerinin tamamı yer almıştır. 2.1 ve 2.2 alt kollarının birbirine benzerlik oranı yaklaşık olarak %67 olarak tespit edilmiştir. 2.2 alt kolu tekrar iki gruba bölünmüştür. Bu iki grup dendrogram üzerinde 2.1.1 ve 2.1.2 olarak adlandırılmıştır. 2.1.1 grubunda yalnızca Canernar-8 genotipi yer alırken, kalan diğer tüm nar genotipleri 2.1.2 grubunda kümelenmiştir. 2.1.2 grubu dendrogram üzerinde A ve B olarak gösterilmiş, 2 alt gruba ayrılmıştır. A alt grubu içerisinde yalnızca Canernar-12 genotipinin yer aldığı gözlenmiştir. Diğer nar genotiplerinin de B grubunda kümelendiği gözlenmiştir. A ve B alt gruplarının birbirine olan genetik yakınlığı yaklaşık %70 olarak belirlenmiştir. B grubu tekrar 2 kola ayrılmış ve bu kollar dendrogram üzerinde B1 ve B2 olarak gösterilmiştir. B1 kolu içerisinde yalnızca 17/123 genotipi yer alırken, diğer kalan nar genotiplerinin B2 kolu içerisinde kümelenmiştir. B1 ve B2 kollarının benzerlik oranı yaklaşık %71 olarak hesaplanmıştır. B2 kolu dendrogram üzerinde B.2.1 ve B.2.2 olarak adlandırılmış 2 alt kola ayrılmıştır. B.2.2 alt kolunda yalnızca Gazipaşa genotipi yer alırken, diğer nar genotiplerinin B.2.1 alt kolunda yer aldığı tespit edilmiştir. B.2.1 alt kolu kendi içerisinde tekrar çok sayıda alt gruba ayrılmıştır. Dendrogram incelendiğinde SRAP analizlerine dayalı olarak 33 N 26- Antalyanar-12, 19/66- 17/67, 19/121- 18/19 genotipleri arasında herhangi bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.7. SRAP analizleri sonucu oluşturulan dendrogram

Tez çalışmasında, kullanılan nar genotipleri incelendiğinde farklı bölgelerden selekte edilmiş, kendileme ve melezleme çalışmaları sonucunda elde edilmiş çeşit ve genotiplerden oluştuğu görülmektedir. Ülkemiz nar yetiştiriciliğinde önemli bir yere sahip olan Hicaznar çeşidi çalışma içerisinde yer almıştır. Akdeniz, Ege ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde nar bahçesi tesisinde öncelikle Hicaznar çeşidi tercih edilmektedir. Hicaznar 1983 yılında Antalya iline bağlı bir ova köyünde, deniz kıyısında kurulan kapama bir bahçeden selekte edilmiştir. Tez çalışması sonucunda Hicaznar (07N08) çeşidi İ-1265 çeşidi ile yaklaşık olarak %96 oranında benzerlik göstermektedir. İ-1265 Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından 1978 yılında Bodrum/Muğla yöresinden seleksiyon ile elde edilmiştir (Yılmaz, 2007). Tez çalışmasında yer alan diğer önemli bir çeşit ise Wonderful nar çeşididir. Bu çeşit son yıllarda Dünya’da ve Ülkemizde yetiştiriciliği yaygınlaşan bir çeşit olmuştur. Wonderful çeşidinin genel özellikleri incelendiğinde Hicaznar ile birçok ortak yönü olduğu gözlenmektedir. Hicaznar ve Wonderful çeşitlerinin ortak özelliklerine bakıldığında; yüksek adaptasyon yetenekleri, geççi hasat tarihleri, iri meyve oluşturmaları, kırmızı tane rengi, yüksek verim ve uzun süre depolanabilmeleri ortak özellikleridir. Wonderful çeşidinin Hicaznara göre daha az mayhoş, kolay tanelenebilme özelliğine sahip olması Hicaznarın dezavantajıdır (Anonymous, 2019a). SRAP analizleri sonucu oluşturulan dendrogramda Wonderful çeşidinin Türkiye’den selekte edilen genotipler ile iç içe olduğu belirlenmiştir. Wonderful çeşidine en yakın benzerlik (%97) gösteren genotipin ise Kadirli olduğu gözlenmiştir. Çalışmada Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından selekte edilmiş ve İzmir olarak adlandırılmış ve farklı numaralar verilmiş 21 genotip kullanılmıştır. SRAP analizleri sonucuna göre İzmir çeşitlerinin dendrogram üzerinde farklı gruplarda yer aldığı gözlenmiştir. İzmir çeşitlerinin tamamının ismi olmasına rağmen bu çeşitlerin orjinleri farklılık göstermektedir. İzmir-1513 Nazilli/Aydın yöresinden, İzmir-1499 Buldan/Denizli yöresinden, İzmir-29 ve İzmir-1465 Edremit/Balıkesir yöresinden, İzmir-1265 ve İzmir-1267 Bodrum/Muğla yöresinden, İzmir-1264 Marmaris/Muğla yöresinden,

İzmir-1261 Fethiye/Muğla yöresinden, İzmir-1, İzmir-2, İzmir-15 ve İzmir-16 Ayvalık/Balıkesir yöresinden, İzmir-10 Gemlik/Bursa yörelerinden, diğerleri ise İzmir ve ilçelerinden selekte edilmiştir (Yılmaz, 2007). İzmir çeşitleri gerek orjinleri, gerekse de bir takım özellikleri bakımından farklılıklar göstermektedir. Bu yönüyle İzmir çeşitleri arasındaki gözlenen küçük varyasyonun anlamlı olduğu ortaya çıkmaktadır. Lihua ve ark. (2012), Çin’ deki 7 farklı ilden toplanan 46 nar genotip arasındaki genetik ilişkileri incelemek için rastgele çoğaltılmış mikrosatellit polimorfizmi (RAMP) tekniğini kullanmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre Çin’de nar germplazmı arasında önemli bir genetik çeşitlilik olduğunu bildirilmiştir. 46 nar çeşidi, UPGMA yöntemi ile beş grupta kümelenebilir. Kümelenebilir sonuçları, moleküler sınıflandırmanın, morfolojik / agronomik sınıflandırma veya coğrafi orijin ile tutarlı olmadığını tespit etmişlerdir. Tez çalışmasında da SRAP analizlerine dayalı olarak yürütülen çalışma sonucunda elde edilen dendrogram değerlendirildiğinde, nar genotiplerinin coğrafi orjinlerine göre ayrılmadıkları tespit edilmiştir. Tez çalışmasında, Hicrannar ve Canernar serisine ait genotiplerde kullanılmıştır. Onur ve ark. (1999) tarafından yapılan melezleme ıslahı çalışmasıyla elde edilmiştir. Çalışmada 3 standart çeşidi (Hicaz, Fellah, Ernar) kendilenerek ve aralarında melezlenerek 9 kombinasyon oluşturulmuştur. Toplam 4079 melez birey üzerinde yaklaşık 900 adedinden meyve alınmış ve 47 melez amaca uygun bulunarak çoğaltılıp değerlendirme parseline dikilmiştir. Bunlardan 10’u tatlı (Hicrannar serisi ve Naznar), 14’ü mayhoş (Canernar serisi, Kaşkanar, Öztürknar ve Esinnar), 5’i ekşi (Onurnar serisi) olarak adlandırılmıştır. Tez çalışmasında Canernar serisinden 13 farklı genotip, Hicrannar genotipinden 6 farklı genotip, Onurnar serisinden 5 genotip, Naznar ve Esinnar serisinden 1’er genotip kullanılmıştır. Dendrogram üzerinde genotipler incelendiğinde aynı seriye ait genotiplerin farklı şekillerde kümelendikleri ancak kümeler arasındaki genetik çeşitliliğin oldukça dar olduğu tespit edilmiştir. Tez çalışmasında ayrıca Alata Bahçe Kùltürleri Enstitüsü tarafından Adana, Mersin, Antalya ve Hatay illerinden selekte edilmiş farklı genotipler kullanılmıştır.

Genotiplere ait kodlar selekte edildikleri ilin trafik plaka kodlarına göre verilmiştir. SRAP analizleri sonucunda daha önceki çalışmalarda da belirtildiği gibi coğrafik orjinli bir ayırım olmamış ve bu genotiplerin dağınık şekilde ancak dar bir genetik çeşitlilik ile kümelandıkları tespit edilmiştir. Durgaç ve ark. (2008) Hatay'dan selekte ettikleri nar genotiplerinde RAPD analizleri sonucunda 106 tekrarlanabilir bant ürettiğini ve bu bantların %22'sinin polimorfik olduğunu bildirmişlerdir. Sonuçlar değerlendirildiğinde "Tatlı nar" ile "Şerife" nin çok yakından ilişkili olduğunu ve "incekabuk" çeşidinin diğer çeşitlerden farklı olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmanın polimorfizm oranı incelendiğinde oldukça düşük olduğu gözlenmektedir. Tez çalışmasında ise SRAP analizleri sonucunda elde edilen polimorfizm oranının %77.85 olduğu tespit edilmiştir. Farklı moleküler markırlar aynı DNA örneklerinde bile farklı sonuçlar verebilmektedir. Moleküler markırlar DNA'nın farklı bölgelerine ulaşmakta ve örnekler arasında bu bölgeler açısından bir farklılık olup olmadığı bilgisini vermektedirler. RAPD markırları DNA üzerinde rastgele bölgelere erişip bu bölgelerdeki polimorfizm bilgisini vermektedir. RAPD-PCR analizlerinde genelde 10 bazdan oluşan tek bir primer kullanılmaktadır. Bu durumda primerin DNA'nın birden fazla bölgesine yapışmasını sağlamaktadır. Böylece RAPD tekniğinin tekrarlanabilirliği ve güvenilirliği sorgulanmaktadır. Tez çalışmasında da kullanılan SRAP markırları ise açık okuma bölgelerini (ORF) hedef alan PCR temelli bir markır sistemidir. SRAP-PCR analizlerinde bir çift primer kullanılmaktadır. Forward primerler 17 nükleotitten, reverse primerler ise 18 nükleotitten oluşmaktadır. Bu primer çeşitlerinde 5' ucunda 14 nükleotitten meydana gelen çekirdek dizinin (core sequence) spesifik olmayan 10-11 bazlık kısmına doldurma diziler (filler sequence), bu diziyi takiben forward primerler için CCGG dizisi, reverse primerler için ise AATT dizisi gelmektedir. Çekirdek diziyi takiben çeşitlenmeyi sağlayan 3' ucunda üç seçici nükleotidden meydana gelen dizilerin bulunduğu primerler tasarlanmıştır. Ön ve ters primerlerin doldurma dizilerinde en azından 10-11 nükleotid çeşidi birbirinden farklıdır. CCGG açısından zengin olan forward

primerler genelde ekzonları, AATT bakımından zengin olan reverse primerler ise genelde intron ve promotorları hedef almaktadır (Li ve Quiros, 2001). SRAP markırları belirtilen bu özelliklerinden dolayı RAPD markırlarına göre çok daha fazla avantaja sahiptir. Tez çalışmasında RAPD markırlarına göre daha yüksek polimorfizm oranının sebeplerinden biri markırın özelliğinden kaynaklanmaktadır.

Parvaresh ve ark. (2012) yaptıkları araştırmada çeşitli ülkelerden alınan 75 nar genotipi arasındaki genetik çeşitlilik ve filogenetik analizlerini incelemek için SSR markırlarını kullandıklarını belirtmişlerdir. Genotiplerin farklı ülkelerden gelen genotiplerle karşılaştırılması sonucunda, İran genotiplerinin en yüksek genetik çeşitliliğe sahip olduğu bildirilmiştir. Moleküler varyans analizi sonucunda gruplandırılan çeşitlerin arasında yüksek düzeyde genetik çeşitlilik olduğunu bildirmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre, Rus katılımlarının çoğu İran genotipleriyle kümelenmiş ve Amerikan genotiplerinin bazıları Türkmenistan genotipleri ile gruplandırılmıştır. Ayrıca orjini bilinmeyen genotiplerin, Türkmenistan ve İran genotipleri ile yakın ilişki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Araştırma sonucunda genotipler arasında ortak ataların varlığı ortaya konulmuş ve muhtemelen narın Orta Asya'dan, özellikle İran'ın bazı bölgelerinde ve Türkmenistan gibi komşu bölgelerden dünyanın diğer bölgelerine yayıldığı hipotezini doğrular niteliğinde sonuç bildirmişlerdir. Çalışmada belirtildiği gibi nar bitkisinin genetik temeline bakıldığında yüksek genetik çeşitliliğe sahip bölgelerin narın ortak atalarını barındırdığı ve bu ülkelere komşu olan diğer ülkeler aracılığı ile dünya üzerinde yayıldığı ve bunun sonucu olarak ülkeler arası nar genotiplerinin birbirine yakın kümelenmiş olduğu nar genotiplerinin geniş bir dağılım gösterdiğini doğrulamaktadır. Ajal ve ark. (2014), 27 Fas nar genotipi arasındaki genetik çeşitlilik, ISSR markörleriyle değerlendirmiştir. Elde edilen verilere göre nar genotipleri iki ana kümede toplanmış ve çeşitlerin coğrafi kökenleriyle hiçbir ilişki göstermediği tespit edilmiştir. Tüm veriler, ISSR markörlerinin polimorfizmi tespit etmek ve nar genotiplerinin genetik çeşitliliği belirlemede etkili bir yöntem olabileceğini bildirmiştir. Tez çalışmasında da benzer

olarak kullanılan genotiplerin coğrafik kökenlerinden bağımsız bir şekilde kümelandikleri tespit edilmiştir. Bunun en büyük sebebinin nar konusunda yürütülen ıslah çalışmalarında ortak ebeveynlerin kullanılmış olması ve farklı bir bölgeden diğer bir bölgeye taşınan nar genotiplerinin yeni yerinden ilk orijini bilinmeden selekte edilmiş olmasıdır. Çeşit genotiplenmesi ve tanımlamasında 32 Tunus narının moleküler karakterizasyonunda SSR markır tekniklerini kullanan Rania ve ark. (2012), 13 SSR primeri kullanarak toplam 40 allel tespit etmişlerdir. Elde edilen verilere göre yüksek seviyede bir polimorfizmin, Tunus'un nar germplazmını DNA seviyesinde karakterize ettiğini kanıtladıklarını bildirmişlerdir. Elde edilen veriler ele alındığında ortak bir genetik temeli, fenotipik farklılıklarına rağmen, Tunus nar çeşitlerinin karakterize edebileceğini ve çoklu odak genotiplerine dayanarak bir çeşitin tanımlama anahtarı oluşturulmuş ve çeşitler arasında açıkça ayırt edilmesine izin verilen bir sistem olarak değerlendirilmesine neden olmuştur. Şimşek ve ark. (2018) yeni nesil dizileme teknolojilerini kullanarak narda mikrosatellit bölgelerini RNA-seq analizleri ile belirlemişlerdir. Çalışmalarında, Hicaznar ve 33N26 çeşitlerini kullanmışlardır. Biyoinformatik çalışmalar sonucunda yaklaşık 19,000 mikrosatellit bölgesi tespit etmişler ve bu bölgeler arasından rastgele seçilen 20 SSR primer çifti 40 farklı nar genotipinde test edilmiştir. Sonuç olarak 20 SSR primer çiftinden de başarılı bir şekilde amplifikasyon sağlandığını ancak bunlardan 5 tanesinin polimorfik sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Primerlerin polimorfizm oranının düşük olmasının sebebini ise nar genotiplerinin dar bir genetik çeşitliliğe sahip olmalarından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Tez çalışmasında ise primerlerin ayırım gücünün yüksek olduğu belirlenmiştir. Ancak nar genotiplerinin yüksek seviyede bir genetik çeşitliliğe sahip olmaması benzerlik oranlarının düşük bir seviyede kalmasına neden olmuştur.

Nar son yıllarda ekonomik açıdan önemli meyve grupları arasında fonksiyonel bir yiyecek ve beslenme kaynağı olarak yaygınlaşarak popülaritesi artmaktadır. Bu sebeple nar ıslahı çalışmaları da Ülkemizde birçok kuruluş

tarafından yürütölmektedir. Bitki ıslahı çalışmalarında hiç şüphesiz en önemli basamak bitki genetik kaynaklarının toplanması ve tanımlanmasıdır. Islah çalışmalarında ıslah materyallerinin genetik karakterizasyonu, yetiştiricilerin ideal ebeveyn çeşidinin seçiminde yardımcı olacaktır. Tez çalışmasında kullanılan SRAP markırlarının nar genotiplerinin tanımlanmasında başarılı olduğu tespit edilmiştir.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Nar, Punicaceae familyasına ait ekonomik önemi gün geçtikçe artan meyve türlerinden birisidir. Dünyada ve ülkemizde insanlar sağlıklı ve kaliteli beslenme alışkanlıkları kazanma konusunda gün geçtikçe daha önemli adımlar atmaktadır. Özellikle antioksidan içeriği bakımından oldukça zengin olan nar, Türkiye’de hemen hemen her bölgede yetiştirilmekle birlikte, en fazla ticari üretimi Akdeniz bölgesinde yapılmaktadır. Dünya üretimleri ve pazarları ele alındığında geniş bir ekonomiye hakimiyeti söz konusudur.

Dünya üzerinde yerimizi korumamız açısından bitki genetik kaynaklarımızın korunması büyük önem taşımaktadır. Tez çalışması sonucunda elde edilen genetik bilgi, nar genetik kaynaklarının etkin korunmasına ve sürdürülebilir kullanımlarına yardımcı olacaktır.

Bu araştırma kapsamında, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Nar Genetik Koleksiyonunda bulunan ve Türkiye’nin farklı bölgelerinden selekte edilmiş veya diğer ıslah metodlarıyla elde edilmiş 90 farklı nar genotipinin genetik ilişkileri SRAP markırları ile araştırılmıştır. Tez kapsamında toplam 90 nar genotipi ve 30 SRAP primer kombinasyonu kullanılarak çalışılmıştır. Bu primer kombinasyonları arasında kaliteli amplifikasyon veren 14 primer kombinasyonu değerlendirmeye alınmıştır. Çalışmada 14 primer kombinasyonundan elde edilen DNA bant büyüklükleri 160-1400 bp arasında değişmiştir. En küçük bant uzunluğu 160 bp ile me1em6 kombinasyonunda, en büyük bant uzunluğu ise 1400 bp ile me5em6 kombinasyonunda elde edilmiştir. Değerlendirilen 14 primer kombinasyonu, 60’ı polimorfik toplam 73 adet bant üretmiştir. Primer başına elde edilen toplam bant sayısı 2-9 (ortalama 5.2 bant/primer) arasında, toplam polimorfik bant sayısı ise 1-9 (ortalama 4.3) arasında değişmiştir. En fazla DNA bant profili me2em6 (9 adet bant/primer) kombinasyonunda, en az DNA bant profili ise me2em3 (2 adet) kombinasyonundan elde edilmiştir. Primerlerin toplam polimorfizm oranı ise 77.85

olarak tespit edilmiştir. Tez sonuçları ile beraber Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Nar Genetik Kolesiyonunda yer alan bitkilerin genetik ilişkileri ortaya koyulmuştur. Çalışmada kullanılan nar genotiplerinin benzerlik oranının %65-100 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Nar genotiplerinin coğrafik orijinlerine göre gruplanmadığı dağınık bir dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak nar genotiplerinin birbirinden ayrıldığı ancak ayrımın dar bir genetik çeşitlilikte olduğu gözlenmiştir. Tez çalışmasında kullanılan SRAP markırlarının güvenilir olduğu ve nar ve diğer bitkilerin moleküler karakterizasyonunda kullanılabileceği ortaya konulmuştur.

Tez çalışmasında kullanılan nar genotiplerini daha keskin gruplara ayırmak için kullanılan SRAP primer kombinasyonlarının sayısı arttırılabilir. Bununla beraber farklı markır sistemleri ile elde edilen bulgular genişletilebilir. SRAP markırları güvenilir ve tekrarlanabilir moleküler markır sistemleri arasında yer almaktadır. Ancak SSR ve SNP gibi moleküler markır sistemleri ile elde edilen polimorfizm oranı arttırılabilir ve daha sağlıklı sonuçların elde edilmesi mümkün olabilir. Klasik moleküler markır teknikleri ile beraber son yıllarda DNA dizileme sürecinde de çığır açan gelişmeler yaşanmıştır. Yeni nesil dizileme teknolojisi 2005 yılında ilk olarak 454 pirodizileme teknolojisinin kullanımı ile ticari olarak erişilebilir duruma gelmiştir. O zamandan beri birkaç farklı dizileme metodu geliştirilmiştir. 454 GS20 pirodizileme (Roche Applied Science), Solexa 1G (Illumina, Inc.), SOLiD (Applied Biosystems), Heliscope (Helicos, Inc.) ve İon Torrent olmak üzere yeni nesil dizi analiz teknolojilerine ticari olarak ulaşılabilir (Dönmez ve ark., 2015). Özellikle nar gibi klasik markır sistemleri ile dar genetik çeşitlilik sonucu veren bitki gruplarında yeni nesil dizileme teknolojileri kullanılabilir ve detaylı biyoinformatik analizler ile çok daha geniş bilgiler elde edilebilir.

KAYNAKLAR

- ADHAMI, V. M., LALL, R. K., MUKHTAR, H., SIDDIQUI, I. A., SYED, D. N., 2012. "Oral infusion of pomegranate fruit extract inhibits prostrate carcinogenesis in the TRAMP model", *Carcinogenesis*, 33, 644–651.
- AJAL, E.A., JBİR, R., MELGAREJO P., HERNÁNDEZ, F., HADDİOUİ, F., HANNACHİ, A.S., 2014. Efficiency of Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers for the assessment of Genetic diversity of Moroccan pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *Biochemical Systematics and Ecology* 56: 24-31.
- ANONYMOUS, 2019a. <http://www.aksun.com.tr/tr/meyve/14/nar.html> 08.08.2019. Erişildi.
- ANONYMOUS, 2019b. <https://www.narcicegi.gen.tr/nar-cesitleri.html> 08.08.2019. Erişildi.
- ANONYMOUS, 2019c. <https://ziraatyapma.blogspot.com> 28.08.2019. Erişildi.
- BARKLEY, NA., ROOSE ML., KRUEGER, RR., FEDERİCİ, CT., 2006. Assessing genetic diversity and population structure in a *Citrus* germplasm collection utilizing Simple Sequence Repeat Markers (SSR). *Theoretical and Applied Genetics* 112: 1519-1531.
- CURRO, S., CARUSO, M., DISTEFANO, G., GENTILE, A and La Malfa, S., 2010. New microsatellite loci for pomegranate, *Punica granatum* (*Lythraceae*). *American Journal of Botany*, 97: 58-60.
- DÖNMEZ, D., ŞİMŞEK, Ö., ve AKA KAÇAR, Y., 2015. Yeni nesil DNA dizileme teknolojileri ve bitkilerde kullanımı. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 8(1), 30-37.
- DUMAN, A. D., OZGEN, M., DAYISOYLU, K. S., ERBİL, N., DURGAC, C., 2009. Antimicrobial Activity of Six Pomegranate (*Punica granatum* L.) Varieties and Their Relation to Some of Their Pomological and Phytonutrient Characteristics. *Molecules*, 14(5): 1808- 1817

- DURGAÇ, C., ÖZGEN, M., ŞİMŞEK, Ö., AKA KAÇAR, Y., KIYGA, Y., ÇELEBİ, S., GÜNDÜZ, K., and SERÇE, S., 2008. Molecular and pomological diversity among pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars in Eastern Mediterranean region of Turkey. African Journal of Biotechnology Vol. 7 (9), pp. 1294-1301.
- EBRAHIMI, S., SAYED-TABATABAEI, B.E., SHARIFNABI, B., 2010. Microsatellite isolation and characterization in pomegranate (*Punica granatum* L.). Iranian Journal of Biotechnology, Vol. 8, No. 3.
- ERCİSLİ, S., KAFKAS, E., ORHAN, E., KAFKAS, S., DOĞAN, Y. and ESİTKEN, A., 2011. Genetic characterization of pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes by AFLP marker. BiolRes 44: 345-350.
- ERGÜL, 2000. Asmalarda (*Vitis vinifera* L. cvs.) genomik DNA Parmak İzi Analizi ile Moleküler Karakterizasyon. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara. S. 86.
- FİLİZ E., KOÇ İ., 2011. Bitki Biyoteknolojisinde Moleküler Markörler. GOÜ, Ziraat Fakültesi Dergisi, 2011, 28(2), 207-214.
- GERÇEKÇİOĞLU, R., BİLGİNER, Ş., SOYLU, A., 2014. Genel Meyvecilik (Meyve Yetiştiriciliğinin Esasları). NOBEL Akademik Yayıncılık, Geliştirilmiş 4. Basım, İstanbul, 498 sf.
- GIANCASPRO, A., MAZZEO, A., GIOVE, L. S., ZITO, D., MARCOTULI, I., GALLOTTA, A., COLASUONNO, P., NIGRO, D., BLANCO, A., ARADHYA, M., GADALETA, A., FERRARA, G., 2017. Exploiting DNA-based molecular tools to assess genetic diversity in pomegranate (*Punica granatum* L.) selections and cultivars. Vol. 72 Issue 5, p292-305.14p.
- GUO, D.L., LUO, Z.R., 2006. Genetic Relationships of Some PCNA Persimmons (*Diospyros kaki* Thunb.) from China and Japan Revealed by SRAP Analysis. Genetic. Resour. Crop. Evol., 53: 1603-1797.
- GÜLŞEN, O., MUTLU, N., 2005. Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markılar ve Kullanım Alanları. Alatarım dergisi, 4 (2): 27-37

- HAMMER, Ø., HARPER, D. A., and RYAN, P. D., 2001. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia electronica*, 4(1), 9.
- HARLAN, J. R., 1992. ‘‘Crops and Man, 2nd Edn’’, American Society of Agronomy and Crop Science Society of America, Madison, WI, p. 295.
- HASNAOUI, N., BUONAMICI, A., SEBASTIANI, F., MARS, M., ZHANG, D., VENDRAMIN, G.G., 2012. Molecular genetic diversity of *Punica granatum* L. (pomegranate) as revealed by microsatellite DNA markers (SSR). *Gene* 493:105–112.
- _____, 2010. Development and characterization of SSR markers for pomegranate (*Punica granatum* L.) using an enriched library. Vol: 2, pp 283–285
- HOISINGTON, D., 1992. Laboratory protocols. CIMMYT Applied Molecular Genetics Lab. Mexico, D.F. CIMMYT.
- IPGRI, 2001. <http://ipgrbg.com/en/ipgr/> Erişim tarihi: 20.05.2019.
- JBIR, R., HASNAOUI, N., MARS, M., MARRAKCHI, M., TRIFI, M., 2007. Characterization of Tunisian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars using amplified fragment length polymorphism analysis. *Scientia Horticulturae* 115:231–237
- KARGI, S., 2011. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Subtropik Ders Notu (Yayınlanmamış).
- LI, G., QUIROS, C.F., 2001. Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP), A New Marker System Based on a simple PCR: Its Application to Mapping and Gene Tagging in Brassica. *Theor. Appl. Genet*, 103: 455–461
- LIHUA, Z., MINGYANG, L., GUANGZEC, C., TIANCHUNC, P., CHENGHAIA, S., 2012. Assessment of the genetic diversity and genetic relationships of pomegranate (*Punica granatum* L.) in China using RAMP markers. *Scientia Horticulturae* 151 (2013): 63–67.

- MARS, M., MARRAKCHI, M., 1999. Diversity of pomegranate (*Punica granatum*L.) germplasm in Tunisia. *Genetic Resources and Crop Evolution* 46: 461–467, 1999.
- MANTEL, N., 1967. The Detection of Disease Clustering and a Generalized Regression Approach. *Cancer Res.*, 27:175-178.
- MASOUD, S., SANEGHI, A., SHAHREIYARI, Z., NOORMOHAMMADI, Z., FARAHANEI, F., and ZEYAODDİN, S., ARDAKANEI, S. T., 2008. RAPD and Cytogenetic study of some pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. 61:1, 68-73.
- NAFEES, M., JASKANI, J. M., AHMED, S., AWAN, S. F., 2015. Morpho-Molecular Characterization and Phylogenetic Relationship in Pomegranate Germplasm of Pakistan. *Pak. J. Agri. Sci.*, Vol. 52(1), 97-106.
- NICOLE, N., THERESE, M., NATHANIEL, J., MEYER, C., DAWEI and TIAN, L., 2011. Exploring the Transcriptome Landscape of Pomegranate Fruit Peel for Natural Product Biosynthetic Gene and SSR Marker Discovery. *Journal of Integrative Plant Biology*, 53 (10): 800–813.
- NOROUZI, M., TALEBI, M., SAYED-TABATABAEI, B. E., 2012. Chloroplast microsatellite diversity and population genetic structure of Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes. *Scientia Horticulturae*, 137, 114-120.
- ONUR, C. 1982. Akdeniz Bölgesi Narlarının Seleksiyonu. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi s.121(Yayınlanmamış).
- , 1983. Akdeniz Bölgesi Narlarının Seleksiyonu, Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma
- , 1988. Nar Özel Sayısı. *Derim Dergisi*, Cilt 5, Sayı 4, 192 s.
- ONUR, C., TIBET, H., IŞIK, E. A., 1999. Melezleme Yoluyla Nar (*Punica granatum* L.) Çeşit Islahı. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 14-17 Eylül 1999 Ankara, s. 58-61.

- OPHIR, R., SHERMAN, A., RUBINSTEIN, M., ESHED, R., SCHWAGER, M. S., HAREL-BEJA, R., and HOLLAND, D., 2014. Single-nucleotide polymorphism markers from de-novo assembly of the pomegranate transcriptome reveal germplasm genetic diversity. *PLoS One*, 9(2), e88998.
- OZGEN, M., DURGAC, C., SERCE, S., KAYA, C., 2008. Chemical and Antioxidant Properties of Pomegranate Cultivars Grown in Mediterranean Region of Turkey. *Food Chemistry*, 111: 703-706.
- ÖZŞENSOY, Y., KURAR, E., 2012. Markör Sistemleri ve Genetik Karakterizasyon Çalışmalarında Kullanımları. *Journal of Cell and Molecular Biology* 10(2):11-19.
- PARVARESH, M., TALEBI, M., BADRALDİN-EBRAHIM SAYED-TABATABAEI., 2012. Molecular diversity and genetic relationship of pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes using microsatellite markers. *Scientia Horticulturae* 138: 244–252.
- PIRSEYEDI, M. S., VALIZADEHGHAN, S., MARDI, M., GHAFARI, R. M., MAHMOODI, P., ZAHRAVI, M., ZEINALABEDINI, M., NEKOU, K. M. S., 2010. Isolation and Characterization of Novel Microsatellite Markers in Pomegranate (*Punica granatum* L), 11(5), 2010-2016; <https://doi.org/10.3390/ijms11052010>
- RAINA, D., DHILLON, W. S., and GILL, P. P. S., 2013. Molecular marker-based characterization and genetic diversity of pomegranate genotypes. *Indian J Hortic*, 70, 469-474.
- RANADE, S. A., RANA T. S., and NARZARY D., 2009. SPAR profiles and genetic diversity amongst pomegranate (*Punica granatum*L.) genotypes. *Physiol. Mol. Biol. Plants*, 15(1).
- RANIA, J., SALWA Z., NAJIB H., AMAL B. D., MESSAOUD M., AMEL S. H., 2012. Microsatellite polymorphism in Tunisian pomegranates (*Punica granatum* L.): Cultivar genotyping and identification. *Biochemical Systematics and Ecology* 44: 27–35.

- SARKHOSH A., ZAMANI Z., FATAHI R., HASSANI M. E., WIEDOW C., BUCK E., GARDINER S. E., 2011. Genetic diversity of Iranian soft-seed pomegranate genotypes as revealed by fluorescent-AFLP markers. *Physiol Mol Biol Plants* 17(3):305–311.
- SOOD, R., PANDEY, H., THAKUR, D., NATH, A., 2018. Molecular characterization to assess genetic diversity in wild pomegranate of H.P International journal of chemical studies 6(2) 1102-1107.
- SONAWANE, M. S., SUPE, V. S., CHIMOTE, V.P., 2018. Molecular characterization of Bhagawa like genotypes of pomegranate (*Punica granatum* L.) vol. 19 Issue 2, p/217-226. 10.p.
- SORIANO, JM., ZURIAGA, E., RUBIO, P., LLÁCER, G., INFANTE, R., and BADENES, ML., 2011. Development and characterization of microsatellite markers in pomegranate (*Punica granatum* L.). *Molecular Breeding*, 27(1): 119-128.
- ŞİMŞEK, M., KARA, A., 2016. Diyarbakır Meyvecilik Potansiyelini Genel Bir Bakış. Uluslararası Diyarbakır Sempozyumu, 2- 5 Kasım 2016, Diyarbakır.
- ŞİMŞEK, Ö., KANAT, F., SERÇE, S., ve KAÇAR, Y. A., 2008. Bazı meyve türlerinde dna izolasyon yöntemlerinin etkinliğinin karşılaştırılması. *Derim*, 25(1), 59-69.
- ŞİMŞEK, Ö, DÖNMEZ, D, İMRAK, B, IŞIK ÖZGÜVEN, A, AKA -KAÇAR, Y. 2018. Narda (*Punica granatum* L.) Yeni Nesil Dizileme Teknolojisi Kullanılarak SSR Markırlarının Geliştirilmesi. *International Journal of Agricultural and Wildlife Sciences*, 4 (2), 161-167
- TUİK, 2016. İstatistikler / Tarım / Bitkisel. www.tuik.gov.tr.
- TUİK, 2019. İstatistikler / Tarım / Bitkisel. www.tuik.gov.tr.

- UZUN, A., YESİLOGLU, T., AKA-KACAR, Y., TUZCU, O., GULSEN, O., 2009. Genetic Diversity and Relationships within citrus and Related Genera Based on Sequence Related Amplified Polymorphism Markers (SRAPS). *Scientia Horticulturae*, 121(3), 306-312.
- YILMAZ, C., 2005. Narda derim öncesi meyve çatlamasının anatomisi ve fizyolojisi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi s.250.
- YILMAZ, C., 2007. Nar. Hasad yayıncılık, İstanbul, 190s.
- YILMAZ, C., ÖZGÜVEN, A. I., GÜLŞEN, O., CANAN, İ., ve YILMAZ, M., 2009. Türkiye’de Bulunan Bazı Nar Çeşit ve Tiplerinin Muhafazası ve Moleküler Olarak Tanımlanması. TÜBİTAK Sonuç Raporu.
- YILMAZ, C., İMRAK, B., 2015. Nar yetiştiriciliği- Kıbrıs ekolojik çalışmalarında değişik nar çeşitlerinin adaptasyonu. TAGEP Proje No.: 5.2.2.3
- YILMAZ, M., AKA-KAÇAR, Y., YALÇIN-MENDİ, Y. VE IŞIK-ÖZGÜVEN, A., 2006. “Molecular characterization of the some pomegranate cultivars by RAPD markers”, *I. International Symposium on Pomegranate and Mediterranean Fruits*, Adana, 2006 (poster).
- ZAHOR, A., WASAKHA, S., RIZWAN, JAVID A., WASEEM, A., MOHAMMAD, Y., 2010. The role of Molecular Markers in Improvement of Fruit Crops. Bhat, Z. A. et al / *Not Sci Biol* 2 (2) 2010, 22-30.
- ZAMANI, Z., SARKHOSH, A., FATAHI, R., EBADI, A., 2007. Genetic relationships among pomegranate genotypes studied by fruit characteristics and RAPD markers. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 82(1) 11–18.
- ZAREİ, A., SAHRAROO, A., 2018. Molecular characterization of pomegranate (*Punica granatum* L.) accessions from Fars Province of Iran using microsatellite markers. Vol. 59 Issue 2, pp239-249.



ÖZGEÇMİŞ

23/03/1987 yılında Adana’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Adana Anafartalar okulunda tamamladı. 2008 yılında Ege Üniversitesinde lisans öğrenimine başladı. 2013 yılında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Zooloji Ağırlıklı Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 2013-2015 yılları arasında İzmir Kent Hastanesi laboratuvarında Biyolog olarak çalıştı. 2015 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü’nde lisans eğitime başlayıp 2019 yılında Ziraat Mühendisi olarak mezun oldu. Aynı yıllar içerisinde Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi İşletme lisans bölümünden mezun oldu. 2017 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü’nde yüksek lisans eğitime başladı. Şubat 2017’den bu yana yüksek lisans eğitime devam etmektedir.





EK-1. SRAP analizleri sonucu oluşturulan dendrogram

