**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ**
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Murat BATMAZ**

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

**BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**ADANA-2019**

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ**
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

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

**Murat BATMAZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

Bu Tez 06/12/2019 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

| | | |
|---|---|---|
| …….. | ……..…….. | ……..……..... |
| Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR | Prof. Dr. Ahsen I. ÖZGÜVEN | Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ |
| DANIŞMAN | ÜYE | 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-2018-11198**

**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 ISSR MARKIRLARI İLE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

**Murat BATMAZ**

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

Danışman : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
Yıl: 2019, Sayfa: 67
Jüri : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
: Prof. Dr. Ahsen Işık ÖZGÜVEN
: Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ

Kültüre alınan en eski tarım ürünlerinden olan nar, insanlık tarihinde önemli bir yere sahiptir. Nar, antik çağlarda tıbbi bitki olarak kullanılmıştır. Günümüzde yapılan araştırmalarda tansiyon dengeleyici, enerji verici, bağışıklık sistemini geliştiren, kanser hücrelerinin çoğalmasını engel olan bir meyve olduğu kanıtlanmıştır. Ülkemizde ve Dünya da giderek önem kazanan narın pazar ihtiyacını karşılamak için çeşitli ıslah yöntemlerine başvurulmuştur. Bu çalışmada, Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü Nar Genetik Koleksiyonunda yer alan 90 nar genotipinin moleküler karakterizasyonu ISSR moleküler markır tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Nar genotiplerinin genetik ilişkileri, 23 ISSR primer kullanılarak incelenmiştir. Tez çalışmasında kullanılan 23 primer arasından 21 primerden amplifikasyon elde edilmiştir. 21 primerin 20'si polimorfik bantlar üretirken, 1 tanesi sadece monomorfik bant üretmiştir. Değerlendirilen 21 primer, 80'ı polimorfik olmak üzere toplam 96 adet bant üretmiştir. ISSR analizleri sonucunda oluşturulan dendrogram incelendiğinde, 90 adet nar genotipinin genetik benzerlik düzeyinin 0.52 ile 1.00 arasında değiştiği görülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** Moleküler markır, genetik ilişki, nar, karakterizasyon

## ABSTRACT

## MSc THESIS

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

**Murat BATMAZ**

**ÇUKUROVA UNIVERSITY**
**INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**
**DEPARTMENT OF HORTICULTURE**

Supervisor : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
Year: 2019, Pages: 67
Jury : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
: Prof. Dr. Ahsen Işık ÖZGÜVEN
: Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ

Pomegranate, which is one of the oldest agricultural products, has an important place in human history. Pomegranate plant was used as medicinal plant in ancient times. In recent studies, has been proven to be a fruit that blood pressure stabilizing, energy-giving, improving the immune system, prevents the proliferation of cancer cells. Various breeding methods have been used in order to meet the market need of the pomegranate plant which is gaining importance in our country and in the world. 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 ISSR molecular marker technique. Genetic relationships of pomegranate genotypes were investigated by using 23 ISSR primers. Amplification was obtained from 21 primers among 23 primers used in the thesis. While 20 of the 21 primers produced polymorphic bands, 1 produced only monomorphic bands. The evaluated 21 primers produced a total of 96 bands, 80 of which were polymorphic. When the dendrogram produced after ISSR analysis was examined, it was seen that the genetic similarity level of 90 pomegranate genotypes ranged between 0.52 and 1.00.



**Key words:** Molecular marker, genetic relationship, pomegranate

## GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Nar, Punicaceae familyasının (Kınagiller) Punica cinsinden çok yıllık bir bitki olup ticari değeri olduğu kadar kültürel hayatta da önemli bir yere sahip olan meyve türüdür. Bu meyvenin ticari türü olan *Punica granatum* L., Ortaçağ'da çekirdekli elma anlamına gelen "Pomuni granatum"dan adını almıştır. Çok yıllık bir bitki olan nar, tropiklerde herdem yeşil, subtropik iklimde ise yaprağını döken bir meyve türü olarak bilinir. Yetiştiriciliğinin yapılacağı bölgelerde yazların uzun ve sıcak, kışların ılık ve yağışlı olması gerekir. Ülkemizde tescil edilmiş elliye yakın nar çeşidi bulunmaktadır. Bu nar çeşitleri tatlıdan ekşiye, küçük meyveliden, büyük meyveliye, kabuk rengi ve meyve rengi bakımından, sert çekirdekliden yumuşak çekirdekliye kadar birçok çeşit içermektedir. Dünya nar üretimi, yaklaşık 3 milyon ton civarındadır. Nar üretimine öncülük eden ülkeler sırasıyla Hindistan, İran ve Türkiye'dir. Türkiye'de nar yetiştiriciliği Akdeniz, Ege ve Güney Doğu Anadolu bölgelerinde yapılmaktadır. Türkiye'de toplam nar üretimi, 537.847 ton olarak belirlenmiştir. Nar bitkisinin genetik ilişkilerinin belirlenmesinde moleküler markırlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Moleküler markırlar, genomda herhangi bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile ilişkili DNA parçasıdır. Moleküler markırlar; genetik markırların, DNA tabanlı tipini oluşturduklarından, DNA markırları olarak da isimlendirilirler. Tez çalışması kapsamında, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Nar Parselinde bulunan 90 farklı nar genotipinin ISSR markırları kullanılarak moleküler karakterizasyonu ve genetik ilişkileri incelenmiştir. Tez çalışmasında, yirmi üç ISSR primeri ile analizler gerçekleştirilmiştir. Bu primerler arasından başarılı bir şekilde amplifikasyon sağlanan 21 tanesi değerlendirmeye alınmıştır. Çalışmada 21 primerden elde edilen bant büyüklükleri 100-1200 bç arasında değişmiştir. Değerlendirilen 21 primer, 80'ı polimorfik olmak üzere toplam 96 adet bant üretmiştir. Primer başına elde edilen toplam bant sayısı 1-9 (ortalama 4.57) arasında, toplam polimorfik bant sayısı ise 0-7 (ortalama 3.71) arasında değişmiştir. En fazla bant UBC812 (9 adet)

primerinde, en az DNA bant profili ise UBC814 (1 adet) primerinde elde edilmiştir. ISSR analizleri sonucunda toplam polimorfizm oranının %77.59 olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan 21 primer arasından 8 primerde (UBC807, UBC820, UBC823, UBC824, UBC25, UBC27, UBC28 ve UBC34) polimorfizm oranı %100 olarak tespit edilmiştir. ISSR analizleri sonucunda oluşturulan dendrogram incelendiğinde 90 adet nar genotipinin genetik benzerlik düzeyinin 0.52 ile 1.00 arasında değiştiği görülmüştür. Tez çalışmasında primerlerin ayrım gücünün yüksek olduğu belirlenmiştir.

**TEŞEKKÜR**

Yüksek lisans tez konumun belirlenmesinde, yürütülmesinde, tezimin tüm aşamalarında desteğini esirgemeyen her zaman yanımda olan bilgisini öğrencilerinden hiçbir zaman esirgemeyen Danışman hocam Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmasında kullanılan bitkisel materyallerin temin edildiği Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Nar Genetik Kaynak Parselinin oluşturulmasında değerli katkıları olan ve tezimin değerlendirilmesinde katkı sağlayan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ahsen Işık ÖZGÜVEN' e,

Tezimin değerlendirilmesinde bilgilerini ve katkılarını esirgemeyen, bana zaman ayıran saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ'ye

Değerli bilgilerini ve zamanlarını benimle paylaşan tezimin laboratuvar aşamasından yazılıp, yorumlanmasına kadar geçen sürede desteklerini esirgemeyen Dr. Dicle DÖNMEZ ve Doç.Dr. Özhan ŞİMŞEK'e

Arazi ve laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım Zir. Yük. Müh. Evren BENGÜL 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; babam Mehmet BATMAZ, annem Nesrin BATMAZ ve abim Diyap BATMAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

**İÇİNDEKİLER** **SAYFA**

ÖZ ..... I
ABSTRACT ..... II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET ..... III
TEŞEKKÜR ..... V
İÇİNDEKİLER ..... VI
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... X
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... XII
KISALTMALAR ..... XIV
1. GİRİŞ ..... 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR ..... 7
3. MATERYAL METOD ..... 15
3.1. Materyal ..... 15
3.1.1. Bitkisel Materyal ..... 15
3.1.2. Çalışmada Yer Alan Bazı Nar Çeşitleri ve Özellikleri ..... 16
3.1.2.1. 07 N 08 (Hicaznar) ..... 16
3.1.2.2. İzmir 26 ..... 16
3.1.2.3. İzmir 1264 ..... 17
3.1.2.4. İzmir 1 ..... 17
3.1.2.5. İzmir 10 ..... 18
3.1.2.6. İzmir 15 ..... 18
3.1.2.7. İzmir 16 ..... 19
3.1.2.8. İzmir 23 ..... 19
3.1.2.9. İzmir 1265 ..... 20
3.1.2.10. 07 N 03 ..... 20
3.1.2.11. 07 N 04 ..... 21
3.1.2.12. 07 N 14 ..... 21
3.1.2.13. 33 N 12 ..... 22

3.1.2.14. Canernar 7 ..... 22
3.1.2.15. Canernar 8 ..... 22
3.1.2.16. Canernar 11 ..... 23
3.1.2.17. Hicrannar 7 ..... 23
3.1.2.18. Hicrannar 8 ..... 23
3.1.2.19. Wonderful ..... 23
3.1.2.20. 07 N 01 ..... 24
3.1.2.21. 01 N 04 ..... 24
3.1.2.22. 33 N 09 ..... 25
3.1.2.23. 33 N 26 ..... 25
3.1.2.24. 33 N 49 ..... 25
3.1.2.25. 33 N 34 ..... 25
3.1.2.26. 31 N 07 ..... 25
3.1.2.27. İzmir 2 ..... 26
3.1.2.28. İzmir 8 ..... 26
3.1.2.29. İzmir 12 ..... 26
3.1.2.30. İzmir 29 ..... 27
3.1.2.31. İzmir 1261 ..... 27
3.1.2.32. İzmir 1267 ..... 28
3.1.2.33. İzmir 1445 ..... 28
3.1.2.34. İzmir 1453 ..... 28
3.1.2.35. İzmir 1465 ..... 29
3.1.2.36. İzmir 1479 ..... 29
3.1.2.37. İzmir 1483 ..... 30
3.1.2.38. İzmir 1499 ..... 30
3.1.2.39. İzmir 1513 ..... 30
3.1.2.40. Esinnar ..... 30
3.2. Metod ..... 30
3.2.1. DNA İzolasyonu ..... 31

3.2.1.1. DNA İzolasyonu İçin Gerekli Solüsyonların Hazırlanması ... 31
3.2.1.2. DNA İzolasyon Aşamaları ... 31
3.2.2. DNA Kalitesi ve Kantitesinin Belirlenmesi ... 33
3.2.3. ISSR Analizleri ... 33
3.2.3.1. Agaroz Jel Elektroforezi ... 35
3.2.4. Sonuçların Değerlendirilmesi ... 36
4. BULGULAR VE TARTIŞMA ... 37
4.1. DNA İzolasyonu ve Spektrofotometrik Ölçümler ... 37
4.2. ISSR Analizleri ... 40
4.2.1. ISSR Markırları Kullanılarak Nar Genotiplerinde Polimorfizmin Değerlendirilmesi ... 40
4.2.2. ISSR Analizleri Sonucunda Elde Edilen Dendrogramın Değerlendirilmesi ... 47
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER ... 53
KAYNAKLAR ... 55
ÖZGEÇMİŞ ... 63
EKLER ... 64

**ÇİZELGELER DİZİNİ** **SAYFA**

Çizelge 1.1. Türkiye'nin son 10 yıllık nar üretim değerleri (ton) ..... 3
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılacak nar genotipleri ..... 15
Çizelge 3.2. DNA izolasyon yönteminde kullanılan tampon çözeltisinin içeriği ..... 31
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan ISSR primeleri ..... 34
Çizelge 3.4. PCR Reaksiyon Koşullarının İçeriği ..... 34
Çizelge 4.1. Tez çalışmasında kullanılan nar genotiplerinden izole edilen DNA'ların kalite ve miktarları ..... 37
Çizelge 4.2. ISSR primerlerinin amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayısı (adet), polimorfik bant sayısı (adet), bant uzunluk aralıkları (bp), polimorfizm oranı (%), PIC değerleri ..... 41

**ŞEKİLLER DİZİNİ** **SAYFA**


Şekil 3.1. İzmir 26 ve Hicaznar (07 N 08) çeşitlerine ait meyve görüntüsü..... 17
Şekil 3.2. İzmir 1 ve 1264 çeşitlerine ait meyve görüntüsü (Yılmaz, 2005) ..... 18
Şekil 3.3. İzmir 10 ve İzmir 15 çeşitlerine ait meyve görüntüsü ..... 19
Şekil 3.4. İzmir 16 ve İzmir 23 çeşitlerine ait meyve görüntüsü ..... 20
Şekil 3.5. İzmir 1265 ve 07 N 03 çeşitlerine ait meyve görüntüsü..... 21
Şekil 3.6. 07 N 04 ve 07 N 14 çeşitlerine ait meyve görüntüsü..... 22
Şekil 3.7. Wonderful çeşidine ait meyve görüntüsü ..... 24
Şekil 3.8. İzmir 2 ve İzmir 8 çeşidine ait meyve görüntüsü ..... 26
Şekil 3.9. İzmir 12 ve İzmir 29 çeşitlerine ait meyve görüntüleri ..... 27
Şekil 3.10. İzmir 1261 çeşidine ait meyve görüntüsü ..... 28
Şekil 3.11. İzmir 1453 ve İzmir 1465 çeşitlerine ait meyve görüntüleri ..... 29
Şekil 3.12. DNA izolasyon aşamalarına ait görüntü..... 33
Şekil 3.13. PCR aşamalarına ait görüntü. ..... 35
Şekil 3.14. Agaroz jel elektroforezi aşamalarına ait görüntü. ..... 36
Şekil 4.1. UBC810 primerine ait agaroz jel görüntüsü (1-24 numaralı örnekler) ..... 42
Şekil 4.2. UBC811 primerine ait agaroz jel görüntüsü (1-24 numaralı örnekler) ..... 43
Şekil 4.3. UBC820 primerine ait agaroz jel görüntüsü (25-48 numaralı örnekler) ..... 43
Şekil 4.4. UBC827 primerine ait agaroz jel görüntüsü (49-72 numaralı örnekler) ..... 44
Şekil 4.5. UBC834 primerine ait agaroz jel görüntüsü (73-90 numaralı örnekler) ..... 44
Şekil 4.6. UBC812 primerine ait agaroz jel görüntüsü (73-90 numaralı örnekler) ..... 45
Şekil 4.7. ISSR analizleri sonucunda elde edilen dendrogram ..... 48

**KISALTMALAR**

| | |
|---|---|
| µl | : Mikrolitre |
| CTAB | : Cetyltrimeyhhylamonium bromide |
| ◦ 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 |
| µg | : 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 | : *Thermus aquaticus* |
| TÜİK: | : Türkiye İstatistik Kurumu |
| µM | : Mikromolar |

# 1. GİRİŞ

Nar, *Punicaceae* familyasının (Kınagiller) *Punica* cinsinden çok yıllık bir bitki olup ticari değeri olduğu kadar kültürel hayatta da önemli bir yere sahip olan meyve türüdür. Bu meyvenin ticari türü olan *Punica granatum L.* Ortaçağ'da çekirdekli elma anlamına gelen "*Pomuni granatum*"dan adını almıştır (Kurt ve Şahin, 2013).

Narın kültür tarihi oldukça eskilere uzanmaktadır. Çeşitli kaynaklarda yetiştiricilik geçmişinin 5000 yıl öncesine dayandığı belirtilmiştir (Kurt ve Şahin, 2013). Dolayısıyla kültüre alınan en eski tarım ürünlerinden olan nar bitkisi, insanlık tarihinde önemli bir yere sahiptir. Nar tropik ve subtropik iklim bitkisidir. Adaptasyon kabiliyeti yüksek bir bitki olan nar, ılıman iklim bölgelerinde de sınırlı olarak yetişebilmektedir (İkinci ve Kılıç, 2016).

Çok yıllık bir bitki olan nar, tropiklerde herdem yeşil, subtropik iklimde ise yaprağını döken bir meyve türü olarak bilinir. Yetiştiriciliğinin yapılacağı bölgelerde yazların uzun ve sıcak, kışların ılık ve yağışlı olması gerekir. Meyvelerin olgunlaşabilmesi için vejetasyon dönemi içinde yüksek bir sıcaklık toplamı ister. Nar bitkisi çiçeklenmeye Nisan ayında başlar ve çiçeklenme süresi yaklaşık 3 ay sürer. Geç çiçek açması nedeniyle ilkbahar geç donlarından zarar görmezler. Ancak meyveleri geç olgunlaşan çeşitlerde sonbahar erken donlarından zarar görebilmektedir. Yıllık ortalama 500 mm'lik yağış nar yetiştiriciliği için yeterlidir. Narın soğuklama süresi genel olarak 100-150 saat aralığındadır. Nar yetiştiriciliği için en uygun topraklar, derin, drenajı iyi, alüviyal topraklar olmasına karşın, killi, kireçli ve kumlu topraklarda da yetiştiriciliği yapılabilmektedir (Şimşek, 2017).

Nar; bilinen en eski meyve türlerinden olup, anavatanı İran, Güney Asya, Afganistan, Güney Kafkasya, Batı Asya, Akdeniz ve Anadolu arasında kalan alanları kapsamaktadır. Anavatanlarının dışında, Afrika ve Güney Avrupa'nın Akdeniz sahil bölgelerinde, İran, Hindistan, Çin, Şili, Afganistan, Arjantin, Suudi

Arabistan, Arizona, Kaliforniya ve Kuzey Meksika'da yetiştiriciliği yapılmaktadır. Nar çok yıllık bir bitkidir. Kuvvetli bir kök yapısına sahiptir. Sık dallı, birden fazla gövdeli, meyveleri iri, üstten hafif basık, küresel, erkek-dişi ve erdişi çiçek yapısına sahip olan çalı formunda bir bitkidir. Nar yetiştiriciliği yaygın olarak Akdeniz Havzası, Güneybatı Asya ve Güney ve Kuzey Amerika'da yapılmaktadır. İran, Afganistan, Türkiye, Hindistan, ABD (Amerika Birleşik Devletleri), Çin, Tunus, İsrail, Mısır, İspanya, Japonya ve Rusya nar üretiminin yapıldığı başlıca ülkelerdir (Turgut ve Seydim, 2013).

Ülkemizde tescil edilmiş elliye yakın nar çeşidi bulunmaktadır. Bu nar çeşitleri tatlıdan ekşiye, küçük meyveliden, büyük meyveliye, kabuk rengi ve meyve rengi bakımından, sert çekirdekliden yumuşak çekirdekliye kadar bir çok çeşit içermektedir.

Dünya nar üretimi yaklaşık 3 milyon ton civarındadır. Nar üretimine öncülük eden ülkeler sırasıyla Hindistan, İran ve Türkiye'dir. Türkiye de nar üretimi 2009 yılında 170.963 ton iken son 10 yılda sürekli artış göstermiştir. Türkiye'nin son 10 yıllık nar üretim değerleri Çizelge 1.1'de bulunmaktadır. Ülkemizde en fazla nar üretimi Akdeniz bölgesinde olup diğer bölgelerde de nar üretimi yapılabilmektedir (TUİK 2019).

Türkiye'de nar yetiştiriciliği Akdeniz, Ege ve Güney Doğu Anadolu bölgelerinde yapılmaktadır. TUİK 2019 yılı verilerine göre Türkiye'de toplam nar üretimi 537.847 ton olarak belirlenmiştir. En fazla üretim 113.040 ton üretimi ile Antalya ilk sıradadır. Antalya'yı, 81.403 ton ve 72.152 ton ile Muğla ve Mersin takip etmektedir. Ortalama ağaç başına verim 37 kg'dır (TÜİK, 2019).

Çizelge1.1. 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 |

Son yıllarda Akdeniz ve Ege bölgesinde kapama nar bahçelerinin artmasıyla ülkemizdeki nar üretiminin yarıya yakını bu bölgelerden sağlanmaktadır.

Narın insan sağlığına birçok faydası vardır. Tansiyonu olumlu bir şekilde etkiler, kalbi koruyarak düzenli çalışmasına destek olur enerji verir, yorgunluğu giderir, cilde olumlu katkısı vardır, pürüzsüz görünüm sağlar, bağışıklık sistemini geliştirir, hastalıklara karşı korur ve enfeksiyona karşı vücut direncini arttırır (MEB, 2011).

Ayrıca nar meyve ve bitkisinin boya, yağ, ilaç, mürekkep, hayvan yemi, pektin, tanen, sirke gibi ürünlerin üretilmesinde hammadde kaynağı olarak kullanılması nedeni ile kullanışlı bir endüstri bitkisidir.

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).

Moleküler markırlar, genomda herhangi bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile ilişkili DNA parçasıdır. Moleküler markırlar; genetik markırlarin, DNA tabanlı tipini oluşturduklarından, DNA markırları olarak da isimlendirilirler. DNA markırları farklı genotiplere ait genlerin diziliş farklılığını çeşitli şekillerde ortaya koyan markırlardır. Nükleik asit temeline dayalı genetik markırların genom analizlerinde kullanımı ıslahçılar için ihtiyaç duyulan bir alandır. Bu markırlar kullanılarak birbirine morfolojik olarak çok yakın ya da uzak olan kültür çeşitleri bu şekilde tanımlanabilir veya ayrılabilir.

Moleküler marker yöntemleri, DNA molekülündeki polimorfik bölgelerin saptanması prensibine dayanır. Popülasyonda herhangi bir genin veya özelliğin birden fazla formu bulunuyorsa o gen ya da fenotipik özellik polimorfik olarak kabul edilmektedir. Polimorfizm, DNA dizisi, amino asit dizisi, kromozomal yapı ya da fenotipik özellik varyantları gibi birkaç düzeyde görülebilir (Yorgancılar ve ark., 2015).

Bütün bir genomun analiz edilebileceği DNA'yı elde etmek için, herhangi bir kısımdan alınan az miktarda doku parçası yeterli olmaktadır (Botstein ve ark., 1980). Ayrıca; DNA markırları stabil olup, tüm dokularda ortaya çıkabilirler, çevre koşullardan etkilenmezler kodominant ya da dominant özellikte olabilirler ve

kalıtımı basit ilkelere sahiptirler (Williams ve ark., 1990).

Her biri ökaryotik DNA'daki özelliklere dayalı olarak tasarlanan ve kalıtsal olarak izlenebilen moleküler markırlar, günümüzde bitki moleküler biyolojisi alanında yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Moleküler markırların bitki moleküler biyolojisinde kullanıldığı alanlara örnek olarak bitki genom haritalaması, markırlar yardımıyla ıslah, $F_1$ tanımlama, gen klonlama, genetik karakterizasyon, mahkemelik olaylar, GDO analizleri, mutasyon tespiti verilebilir (Brown ve ark., 1996).

Moleküler markırlar hibridizasyona ve PCR temelli olmak üzere ikiye ayrılır. Hibridizasyona dayalı olan moleküler markırlar arasında en yaygın olarak kullanılanı, restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi (RFLP) dir. Polimeraz Zincir Reaksiyonuna (PCR) dayalı olan moleküler markırlar ise, basit dizi tekrarları (SSR), rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD), çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP), basit tekrarlı diziler arası polimorfizm (ISSR), dizi ilişkili çoğaltılmış polimorfizm (SRAP), SCAR, SNP gibi belirleyiciler oluşturmaktadır (Aka- Kaçar, 2001).

RAPD tekniği PCR tabanlı olup ilk kez Williams ve ark., (1990) tarafından geliştirilmiştir. Rastgele nükleotid dizilimine sahip olan tek bir primerin kullanılmasıyla DNA parçaları çoğaltılmakta ve oluşan farklı bant profiline göre DNA polimorfizmi tespit edilmektedir. (Özşensoy ve Kurar, 2012).

AFLP tekniği RFLP tekniğinin etkinliği ile PCR temelli teknikleri birleştiren bir yöntemdir. Restriksiyon enzimleri ile parçalanan 80-500 bç büyüklüğünde elde edilen DNA parçaları adaptörlerle ligasyona maruz bırakılıp en son basamakta PCR ile seçici çoğaltım uygulanır (Filiz ve Koç, 2011).

Mikrosatellitler DNA dizilerinde tekrar edilen en küçük birimleridir ve tekrar motifleri 1-6 bç arasında değişmektedir. Mikrosatellit markırlar az DNA gerektirmesi, kodominant ve kararlı markör sistemi olması, genomda bol ve dağınık bulunması, tekrarlanabilir ve otomasyona uygun olması, yüksek polimorfizm barındırması bilgilendirici bir markör sistemi oluşundan dolayı

popülasyon genetiği ve gen haritalama çalışmalarında etkin olarak kullanılabilmektedir (Filiz ve Koç, 2011).

ISSR tekniğinde, ikili, üçlü, dörtlü ve beşli tekrarlanan nükleotitlere sahip primerler kullanılmakta ve bu primerlerle iki mikrosatallit arası bölge çoğaltılmaktadır. RAPD yöntemine göre çok daha hassas ve tekrarlanabilirliği yüksek olan bir yöntem olarak öne çıkmaktadır (Zietkiewicz ve ark., 1994; Gupta ve ark., 1994). ISSR markırları genetik çeşitliliğin belirlenmesinde, filogenetik çalışmalarda, genom haritalarının oluşturulmasında ve evrim biyolojisinde birçok tarla bitkisinde uygulanabilen etkili bir tekniktir (Reddy ve ark., 2002). ISSR markırlarının kullanımı hızlı, uygulanması kolay ve primerleri daha uzun olduklarından güvenilirlikleri fazladır (Bornet ve Branchard, 2001). Yeterli bilgi sunan ISSR primerlerini kullanmak düşük bir maliyet, zamandan tasarruf ve genetik analizlerde kolaylık sağlamaktadır. ISSR markırları Mendel kalıtımına uygun olarak dominant markırlar vermektedir (Wang ve ark., 1998). RAPD markırlarının düşük üretkenliği, AFLP markırlarının yüksek maliyeti ve primer sentezlenebilmesi için sekans bilgisinin gerektiği SSR markırları, birçok çalışmada önemli kısıtlamalar oluşturmaktadır. ISSR markırları bu kısıtlamaların birçoğunun üstesinden gelinmesinde önemli bir tekniktir (Zietkiewicz ve ark., 1994).

Bu tez çalışması kapsamında, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Nar Parselinde bulunan 90 farklı nar genotipinin ISSR markırları kullanılarak moleküler karakterizasyonu ve genetik ilişkileri incelenmiştir. Bu çalışmada nar ıslah programlarında kullanılmak üzere temel bilgiler elde edilmesi amaçlanmıştır.

# 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bugüne kadar narda genetik çeşitliliği tanımlamak ve değerledirmek amacıyla morfolojik, biyokimyasal ve moleküler markırlar yoğun olarak kullanılmıştır. Bu çalışmalardan moleküler markırlarla ilgili olanlar tarihsel akış içerisinde aşağıda sıralanmıştır.

Sarkhosh ve ark. (2006) yapmış oldukları çalışmada RAPD markırları kullanılarak 21 yumuşak çekirdekli nar genotipinde moleküler analizler yapmışlardır. RAPD analizlerinde toplam olarak 29 primer kullanmışladır. Moleküler analizlere ek olarak 36 meyve özelliğini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda benzerlik oranının 0.13 ve 1.00 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Nar genotipleri arasında polimorfizm oranının düşük olduklarını belirtmişler ve bunu da yumuşak çekirdekli nar genotiplerinin kullanılmasına bağlamışlardır.

Jbir ve ark. (2007), AFLP tekniği kullanılarak 34 nar çeşidinin moleküler karakterizasyonunu yapmışlardır. Çalışma sonucunda elde edilen dendrogramda çeşitlerin coğrafi kökenlerinden ve cinslerinden bağımsız olarak kümelenmiş olduğunu belirtmilerdir.

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

Çin'de 25 nar çeşidi ile yapılan genetik çeşitlilik çalışmasında RAPD markırları kullanılmıştır. Çalışma sonucunda 110 polimorfik bant elde edilmiş, 25 genotipte %71.8 polimorfizm elde edilmiştir. Genetik polimorfizm 0.027 to 0.342 arasında değiştiği belirtilmiştir. Elde edilen filogenetik ağaca göre nar genotiplerin sınıflandırılması zor ve kompleks olduğu bildirilmiştir (Yang ve ark., 2007).

Yuan ve ark. (2007) Çin'de 6 farklı bölgeden toplanmış 85 farklı nar çeşidinde AFLP markır sistemiyle genetik çeşitliliği araştırmışlardır. Yapılan çalışmada ortalama %73.26'lık yüksek bir polimorfizm oranı olduğu ortaya

konulmuştur. Ayrıca popülasyon ve tür seviyesindeki çeşitlilik ayrı ayrı incelenmiş ve tür seviyesinde popülasyona göre daha fazla genetik çeşitliliğin olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada narın Çin'de yüksek bir genetik çeşitliliğe sahip olduğu tespit edilmiştir.

Masoud ve ark. (2008), RAPD markırlarını kullanarak on nar çeşidinin varyasyonları incelenmiştir. Polimorfik bant sayısı 215 olarak saptanmıştır (%10.50) ve 1835 monomorfik bant tespit etmişlerdir.

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.

Pirseyedi ve ark. (2010) nar bitkisinde 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 problarını 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. Lokus başına 2-5 arasında değişen ortalama 2.9 polimorfik allel tespit etmişlerdir. Sonuç olarak araştırıcılar geliştirdikleri SSR markırlarını nar genetik çeşitliliği çalışmalarında kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

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 kullanışlılığını 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.

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

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 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.

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.

Lihua ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada, RAPD tekniğini kullanarak Çin'de 7 ilden toplanan 46 nar genotipleri arasındaki genetik ilişkileri incelemişlerdir.

Norouzi ve ark. (2012) narda kloroplast mikrosattellit 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 mikrosattellit markırlarının genetik çeşitlilik araştırmaları için etkili bir yöntem olduğu vurgulanmıştır.

Ülkemizde Çoruh vadisinde yetişen narlarda yapılan genetik çeşitlilik çalışmasında 19 nar genotipinin moleküler tanımlanmasında RAPD markırları kullanılmıştır. 47 RAPD primeri ile yapılan çalışmada 9 primer toplam 63 polimorfik bant üretmiş ve polimorfizm oranı %49.2 olarak belirtlenmiştir. Benzerlik indeksi sonuçlarına göre benzerlikler 0.920-0.556 arasında değişmiştir. Morfolojik verilerle genetik veriler birbirleri ile uyumlu bulunmamıştır. Sonuç olarak, moleküler verilerin DNA seviyesinde en güvenilir sonuçları sağladığı belirtilmiştir (Orhan ve ark., 2014).

Jbir ve ark. (2014) Fas'ın üç farklı coğrafi bölgesinden topladıkları 27 nar genotipinin genetik çeşitliliğini 61 ISSR markırı kullanarak araştırmışlardır. Polimorfizm oranı %87.14 olarak belirlenmiştir. Cluster analizleri sonucunda genotipler iki alt kümeye

ayrılmıştır ve genotiplerin coğrafi orijinleri ile herhangi bir ilişki gözlenmemiştir. Çalışma sonunda elde edilen bulgular ISSR markırlarının nar genotiplerinin genetik çeşitliliğini araştırmak için yararlı bir araç olabileceği saptanmıştır.

Nafees ve ark. (2015), SSR markırları kullanılarak 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.

Attanayake ve ark. (2017), Sri Lanka adasındaki narların genetik çeşitliliğini ve popülasyon yapısını araştırmak için ISSR markırlarını kullanmışlardır. Çalışmada 120 nar genotipinin genetik çeşitliliği 20 ISSR primeri ile araştırılmıştır. Toplam 107 lokus amplifiye olmuş ve polimorfizm bilgi içeriği (PIC) 0.3 olarak belirlenmiştir. Kümeleme analizi sonucunda genotipler birkaç alt kümeyi içeren iki ana gruba ayrılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen bulgular, ISSR markırlarının narın genetik çeşitliliğinin belirlenmesinde güçlü bir araç olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Giancaspro ve ark. (2017), selekte edilen nar genotiplerinin genetik çeşitliliğini SSR markırları kullanarak araştırmışlardır. Yapılan analizler sonucunda, nar genotipleri, hem coğrafi kökeni hem de meyve suyu tatlılığı, kabuk ve tane rengi gibi pomolojik özelliklere göre gruplanmıştır. Çalışma sonucunda, SSR analizleri ile morfolojik tanımlama ve coğrafi orijine göre tutarlı sonuçlar elde edilmiştir.

Hajiyeva ve ark. (2018) Azerbaycan orijinli 85 nar genotipinin moleküler karakterizasyonunu 14 ISSR markırı kullanarak araştırmışlardır. Çalışma sonucunda toplam 102 PCR fragmenti elde edilmiş ve 80 tanesi polimorfik bant vermiştir. Polimorfizm oranı %75.5 olarak belirlenmiş ve nar genotipleri arasında yüksek genetik çeşitlilik saptanmıştır. Genetik benzerlik indeksi 0.032 ile 0.94 arasında bulunmuştur.

Singh ve ark. (2018) Hindistan'ın Uttarakhand ve Himachal Pradesh bölgelerinden toplanan 68 nar genotipinin genetik çeşitliliğini belirlemek amacıyla 43 ISSR markırı kullanmışlardır. Çalışmada kullanılan tüm primerler polimorfik bantlar vermiştir ve benzerlik oranı %39 olarak belirlenmiştir. Kümeleme analizi sonucunda kullanılan 68 genotipin iki ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir.

Sood ve ark. (2018), 25 RAPD markırı kullanarak yaptıkları çalışmada Hindistan'ın Himaçal Pradeş eyaletinde 6 farklı lokasyonlardan topladıkları 24

yabani nar genotipinin moleküler karakterizasyonunu çalışmışlardır. Çalışmada kullanılan 25 primerden 19'u polimorfik bant üretmiştir. Toplam 142 bant amplifiye olduğu ve elde edilen bantlardan 116'sının polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Benzerlik matriksi Dice ve Jaccard katsayısı kullanılarak yapılmıştır. Benzerlik matriksi 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.

Şimşek ve ark. (2018), yeni nesil dizileme teknolojileri kullanılarak narda mikrosatellit bölgelerinin tespit edilmesini amaçlamışlardır. 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.

Zarei ve Sahraroo (2018), 16 SSR primer çifti kullanarak İran'ın Fars ilinde 5 farklı bölgeden topladıkları 50 nar genotpinin moleküler karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Kullanılan tüm SSR primerleri polimorfik bantlar üretmiş ve toplam 48 bant elde edilmiştir. Polimorfik bilgi içeriği (PIC) 0.18 ile 0.58 arasında değişmiş ve ortalama 0.41olarak belirlenmiştir. SSR verileri kullanılarak gerçekleştirilen kümeleme analizleri sonucunda, genotipler büyük ölçüde coğrafi kökenlerine göre gruplanmıştır.

Çalışkan ve ark. (2018) Türkiye'den 78 nar genotipini kullanarak yapmış oldukları çalışmada SSR markırlarını kullanmışlardır. Altı mikrosatellit markırı

kullanılarak yapılan çalışmada 41 allel karakterize edilmiş, 4,6 allel/lokus elde edilmiştir. Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) 0,366 olarak bulunmuştur. Araştırıcılar narda genetik polimorfizmin yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda 30 genotip arasında 5 sinonim olabileceği belirtilmiştir. SSR markırlarının nar ıslah programlarında öneminden bahsedilmiş ve temel bir çalışma olduğuna değinilmiştir.

# 3. MATERYAL METOD

## 3.1. Materyal

### 3.1.1. Bitkisel Materyal

Tez çalışmasında, bitkisel materyal olarak Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Nar Parselinde bulunan 90 nar genotipi kullanılmıştır. Çalışmada kullanılacak nar genotipleri Çizelge 3.1'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılacak 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 |

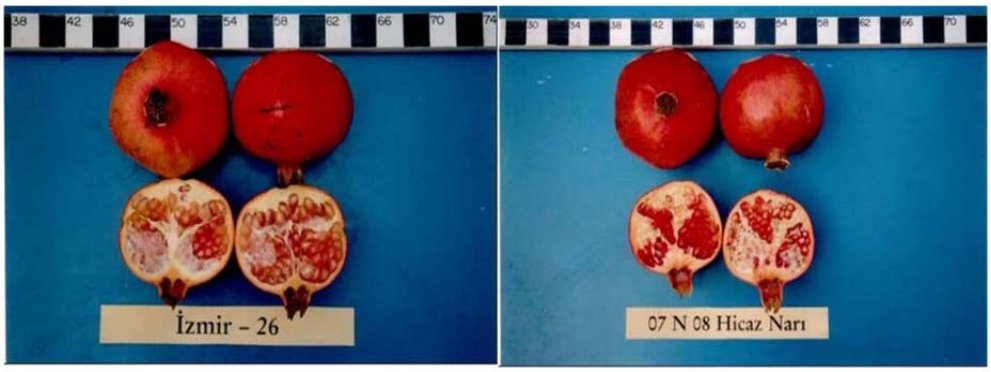
### 3.1.2. Çalışmada Yer Alan Bazı Nar Çeşitleri ve Özellikleri

#### 3.1.2.1. 07 N 08 (Hicaznar)

Antalya iline bağlı bir köyde kurulmuş olan kapalı bahçede selekte edilmiş çeşittir. Nar çeşitleri genel olarak tatlı, ekşi ve mayhoş olarak tat açısından farklılıklar göstermektedir. Hicaznar çeşidi mayhoş nar çeşitleri arasında yer almaktadır. Geç olgunlaşan ve dip sürgünü verme eğilimi yüksek olan bir çeşittir. Meyve ağırlığı ortalama 350 gr'dır. Tohumları sert bir yapıya sahiptir. Ticari olarak en fazla tercih edilen çeşidimizdir (Onur, 1982 ve 1988; Yılmaz, 2015).

#### 3.1.2.2. İzmir 26

Meyve verimliliği yüksek ve meyve şekli yuvarlaktır. Kabuk rengi açık pembe, dane rengi pembedir. Tohumları yumuşak yapıya sahiptir. Tatlı nar grubu arasında bulunan bir çeşittir (Yılmaz, 2015). Hicaznar (07 N 08) ve İzmir 26 nar çeşitlerine ait görüntüler Şekil 3.1'de sunulmuştur.




Şekil 3.1. İzmir 26 ve Hicaznar (07 N 08) çeşitlerine ait meyve görüntüsü (Yılmaz, 2005)

### 3.1.2.3. İzmir 1264

Diğer çeşitlere nazaran iri meyveleri ile Hicaznar çeşidine benzemektedir. Meyve rengi kırmızı dane rengi bordodur. Sert tohumlular grubuna girer. Orta verimli bir çeşittir ve meyveleri diğer çeşitlere göre daha basık ve yuvarlaktır. Mayhoş ve geççi bir çeşittir (Yılmaz ve İmrak, 2015).

### 3.1.2.4. İzmir 1

Meyve verimliliği yüksek bir çeşit olup meyve şekli yuvarlak ve orta iriliktedir. Kabuk rengi açık pembe, dane rengi pembedir. Yumuşak bir tohum yapısına sahiptir. Tatlı nar grubu arasında yer alır (Yılmaz ve İmrak, 2015). İzmir 1264 ve İzmir 1 çeşitlerine ait meyve görüntüleri Şekil 3.2'de sunulmuştur.




Şekil 3.2. İzmir 1 ve 1264 çeşitlerine ait meyve görüntüsü (Yılmaz, 2005)

### 3.1.2.5. İzmir 10

Nar meyveleri genellikle küresel yapıda ve iridir ancak İzmir 10 çeşidinin meyvesi köşeli yuvarlaktır. 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).

### 3.1.2.6. 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 çekirdeklidir (Yılmaz, 2015). İzmir 10 ve 15 çeşitlerine ait meyve görüntüleri Şekil 3.3'de sunulmuştur.




Şekil 3.3. İzmir 10 ve İzmir 15 çeşitlerine ait meyve görüntüsü (Yılmaz, 2005)

### 3.1.2.7. 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).

### 3.1.2.8. İzmir 23

Meyve şekli yuvarlak olan nar grubu arasındadır. Çeşidin kabuk rengi şeker pembe, dane rengi kırmızıdır. Meyve verimi orta dereceli bir çeşittir. Tohumları yumuşak yapıya sahiptir (Yılmaz, 2015). İzmir 16 ve 23 çeşitlerine ait meyve görüntüleri Şekil 3.4'de sunulmuştur.




Şekil 3.4. İzmir 16 ve İzmir 23 çeşitlerine ait meyve görüntüsü (Yılmaz, 2005)

### 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 edilmiş bir genotiptir. 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

**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 Hicaznar 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

**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**

Batı Akdeniz Araştırma Enstitüsünde melezleme ıslahı ile elde edilmiş bir çeşittir. Meyve kabuk rengi pembe-kırmızı ve meyve dane rengi pembe-kırmızıdır. Mayhoş nar çeşitleri arasında ve çekirdekleri yumuşak yapıdadır (Yılmaz ve İmrak, 2015).

**3.1.2.15. Canernar 8**

Batı Akdeniz Araştırma Enstitüsü'nde melezleme ıslahı ile elde edilmiş bir çeşittir. 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

Batı Akdeniz Araştırma Enstitüsü'nde melezleme ıslahı ile elde edilmiş bir çeşittir. 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

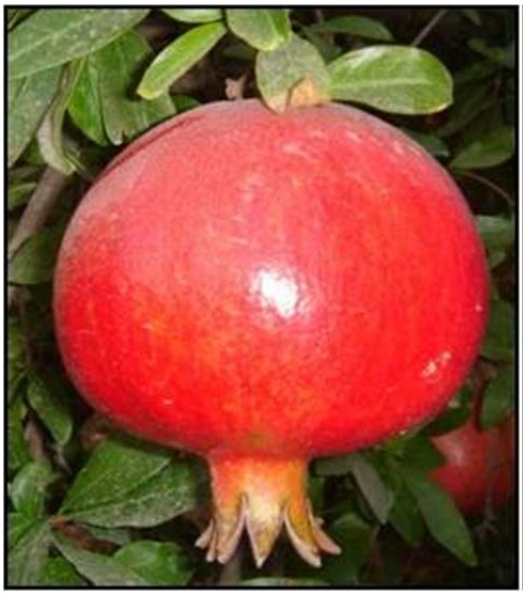
Batı Akdeniz Araştırma Enstitüsü'nde melezleme ıslahı ile elde edilmiş bir çeşittir. Meyvesinin kabuk rengi kırmızı ve meyve dane rengi de kırmızıdır. Tatlı nar çeşitleri arasında ve çekirdekleri yumuşak yapıdadır (Yılmaz ve İmrak, 2015).

### 3.1.2.18. Hicrannar 8

Batı Akdeniz Araştırma Enstitüsü'nde melezleme ıslahı ile elde edilmiş bir çeşittir. 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 yer alır ve çekirdeği yumuşak yapıdadır (Yılmaz, 2007).

**3.1.2.21. 01 N 04**

Adana'nın 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 yer almaktadır. Yumuşak çekirdek yapısına sahiptir. Yüksek verimlilikte bir çeşittir (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 alır. Yüksek meyve verimliliğine sahip 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 yer alır. 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**

Yüksek verime sahip bir meyve çeşididir. Orta kuvvette gelişim gösteren bir ağaç yapısına sahiptir. 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**

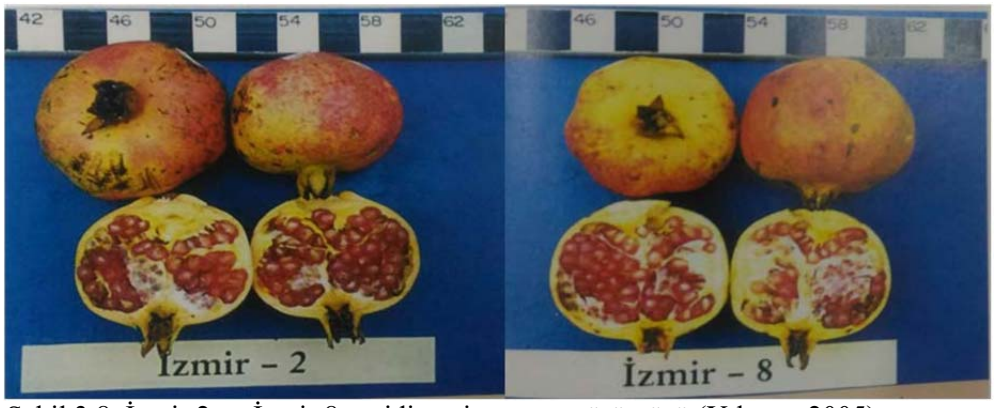
Hatay-Dörtyol yöresinden selekte edilmiş bir çeşittir. Kuvvetli gelişim gösteren ağaç yapısına sahiptir. Meyve kabuk rengi sarı zemin üzerinde %30 kırmızı ve dane rengi koyu pembedir. Mayhoş nar grubunda olup yüksek verimliliğe sahip bir çeşittir (Yılmaz, 2007).

### 3.1.2.27. İzmir 2

Meyve şekli yuvarlak olup küçük iriliktedir. Balıkesir-Ayvalık'tan Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından 1967 yılında selekte edilmiştir. Meyve kabuk rengi ve dane rengi pembedir. Orta kuvvetli bir ağaç yapısına sahiptir. Tatlı nar çeşitleri arasında yer alır. Çekirdeği sert yapıya sahiptir ve yüksek verimlilikte bir çeşittir (Yılmaz, 2007).

### 3.1.2.28. İzmir 8

İzmir-Pınarbaşı'ndan selekte edilmiş bir çeşittir. Meyve şekli köşeli yuvarlak olup küçük iriliktedir. Meyve dane rengi kırmızı ve kabuk rengi pembedir. Tatlı nar grubu arasında, sert çekirdeğe sahip ve yüksek verimlilikte bir çeşittir (Yılmaz, 2007). İzmir 2 ve 8 çeşitlerine ait meyve görüntüleri Şekil 3.8'de sunulmuştur.




Şekil 3.8. İzmir 2 ve İzmir 8 çeşidine ait meyve görüntüsü (Yılmaz, 2005)

### 3.1.2.29. İzmir 12

İzmir-Doğanlar'da bulunan bahçe içerisinden selekte edilmiştir. Orta kuvvette gelişim gösteren bir ağaç yapısına sahiptir. Meyve kabuk rengi ve dane rengi pembedir. Tatlı nar grubu arasında yer alır ve sert çekirdekli bir yapıya sahiptir. Yüksek verimlilikte bir çeşittir (Yılmaz, 2007).

### 3.1.2.30. İzmir 29

Balıkesir'in Edremit yöresinden selekte edilmiştir. Orta kuvvette gelişim gösteren bir çeşittir. Meyveleri küçük irilikte ve köşeli yuvarlak şekile sahiptir. Meyve kabuk rengi ve dane rengi pembedir. Tatlı nar grubu arasında olup yumuşak çekirdeğe sahip ve 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 görüntüleri (Yılmaz, 2005)

### 3.1.2.31. İzmir 1261

Muğla'nın Fethiye yöresinden selekte edilmiş bir çeşittir. Zayıf gelişim gösteren ağaç yapısına sahiptir. Meyve şekli yuvarlak ve köşelidir. Meyve dane rengi açık pembe ve kabuk rengi koyu pembedir. Orta verimlilikte, yumuşak bir çekirdeğe sahip ve tatlı nar grubu arasında yer alan bir çeşittir. (Yılmaz, 2007). 1261 çeşidine ait meyve görüntüleri Şekil 3.10'da sunulmuştur.




Şekil 3.10. İzmir 1261 çeşidine ait meyve görüntüsü (Yılmaz, 2005)

### 3.1.2.32. İzmir 1267

Muğla'nın Bodrum yöresinden selekte edilmiş bir çeşittir. Zayıf gelişim gösteren ağaç yapısına sahiptir. Dane rengi pembe ve kabuk rengi bordo olup meyveleri yuvarlak şekillidir. Yumuşak yapılı çekirdeğe sahiptir. Tatlı nar grubu arasında yer alan bir çeşittir (Yılmaz, 2007).

### 3.1.2.33. İzmir 1445

İzmir'in Gümüldür yöresinden selekte edilmiş bir çeşittir. Zayıf gelişim gösteren ağaç yapısına sahiptir. Meyveleri küçük irilikte olup köşeli yuvarlak şekillidir. Kabuk rengi ve dane rengi pembedir. Tatlı nar grubu arasında yer alır ve yumuşak çekirdeğe sahiptir. Verimliliği orta dereceli bir çeşittir (Yılmaz, 2007).

### 3.1.2.34. İzmir 1453

İzmir'in Seferhisar yöresinden selekte edilmiş bir çeşittir. Zayıf gelişim gösteren ağaç yapısına sahiptir. Meyve dane ve kabuk rengi açık kırmızıdır.

Meyve iriliği küçük olup şekil bakımından basık ve yuvarlaktır. Yumuşak çekirdekli bir meyvedir. Tatlı nar grubu arasında yer alır (Yılmaz, 2007).

### 3.1.2.35. İzmir 1465

İzmir 1465 çeşidi Balıkesir'in Edremit yöresinden selekte edilmiş bir çeşittir. Zayıf gelişen ağaç yapısına sahipttir. Meyve küçük irilikte olup şekli bakımından köşeli ve yuvarlak. Meyve'nin dane ve kabuki rengi kırmızıdır. Tatlı nar grubu arasında olup yumuşak çekirdeğe sahip ve 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 görüntüleri (Yılmaz, 2005)

### 3.1.2.36. İzmir 1479

İzmir'in Ödemiş yöresinden selekte edilmiş bir çeşittir. Orta kuvvetli gelişim gösteren bir ağaç yapısına sahiptir. Dane rengi ve kabuki rengi kırmızıdır. Tatlı nar grubu arasında ve yumuşak çekirdeğe sahip bir çeşittir (Yılmaz, 2007).

### 3.1.2.37. İzmir 1483

Orta kuvvetli gelişim gösteren ağaç yapısına sahip bir çeşittir. İzmir'in Ödemiş yöresinden selekte edilmiştir. Tatlı nar grubu arasında yer almaktadır. Orta verimlilikte ve yumuşak çekirdekli bir meyvedir. Dane rengi pembe ve meyve kabuk rengi kırmızıdır. (Yılmaz, 2007).

### 3.1.2.38. İzmir 1499

Denizli-Buldan bölgesinden selekte edilmiş bir çeşittir. Kuvvetli gelişim gösteren ağaç yapısına sahiptir. Dane rengi bordo ve kabuk rengi kırmızıdır. Mayhoş nar grubu arasındadır ve çekirdek yapısı sert bir çeşittir (Yılmaz, 2007).

### 3.1.2.39. İzmir 1513

Aydın-Nazilli bölgesinde selekte edilmiş, orta kuvvetli gelişim gösteren çeşittir. Dane rengi bordo ve kabuk rengi kırmızıdır. Sert çekirdekli meyve grubu arasına girer ve ekşi nar çeşitidir (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 Ekim 2018 tarihinde alınmıştır. Alınan yaprak örnekleri, -196 °C'de sıvı azota daldırılıp –80°C'de muhafaza edilmiştir. Genetik ilişkilerin belirlenmesi amacıyla ISSR markırları kullanılmıştır. ISSR analizleri, Çukurova Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarında yürütülmüştür.

### 3.2.1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için bitkisel materyallere ait genç yapraklar saf su altında yıkanarak, alüminyum folyo ile sarılıp, ardından örnekler sıvı azot içerisine batırılmıştır. Her genotipe ait örnekler porselen havan içerisinde sıvı azot ile öğütülmüş, 0.1 g olacak şekilde 2 ml'lik santrifüj tüplerine yerleştirilmiştir.

#### 3.2.1.1. DNA İzolasyonu İçin Gerekli Solüsyonların Hazırlanması

Bu çalışmada, MiniPrep DNA izolasyon yöntemi kullanılmıştır. DNA izolasyonu aşamasında kullanılan tampon çözeltinin içeriği Çizelge 3.2'de gösterilmiştir. İzolasyon sırasında ekstraksiyon tampon çözeltiler dışında kloroform:izoamilalkol (24:1 oranında), Tris-EDTA (Tris 1 M pH:8, EDTA: 0.5 M pH:8), RNase A (10 mg/ml) solüsyonu, 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 |

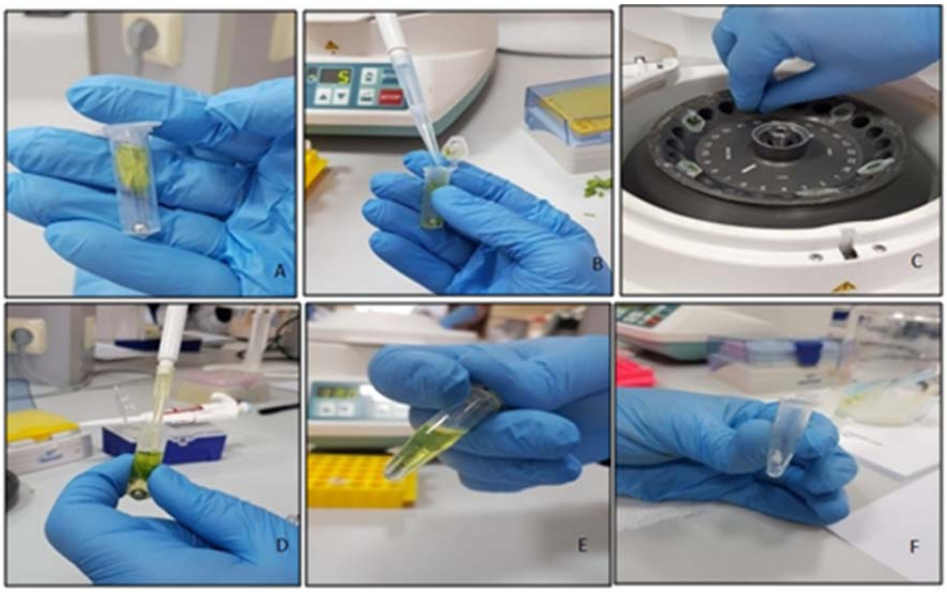
#### 3.2.1.2. DNA İzolasyon Aşamaları

Hazırlanan ekstraksiyon solüsyonundan her tüpe 396µl ve 4µl β-merkaptoetanol 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.
- 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: Örneklere CTAB eklenmesi, C: Örneklerin santrifüj edilmesi D: Süpernatant kısımın alınması, E: İzopropanol eklenmesi, F: DNA'nın çökeltilmesi.

### 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. ISSR Analizleri

Bitkisel materyallere ait DNA'lar ve sentetik olarak tasarlanan 23 adet ISSR primeri (Çizelge 3.3) ile PCR reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. ISSR primerleri, Genişel (2013) tarafından 100 primer arasından %100 polimorfizm oranıyla belirlenmiş primerlerdir. ISSR analizleri, Genişel (2013)'in belirttiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan PCR protokol ve PCR döngü koşulları aşağıda belirtilmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan ISSR primeleri (Genişel, 2013)

| Primer adı | DNA dizilimi ( 5'-3' ) | Primer adı | DNA dizilimi ( 5'-3' ) |
|---|---|---|---|
| UBC 807 | AGA GAG AGA GAG AGA GT | UBC 825 | ACA CAC ACA CAC ACA CT |
| UBC 808 | AGA GAG AGA GAG AGA GC | UBC 827 | ACA CAC ACA CAC ACA CG |
| UBC 810 | GAG AGA GAG AGA GAG AT | UBC 828 | TGT GTG TGT GTG TGT GA |
| UBC 811 | GAG AGA GAG AGA GAG AC | UBC 834 | AGA GAG AGA GAG AGA GT |
| UBC 812 | GAG AGA GAG AGA GAG AC | UBC 835 | AGA GAG AGA GAG AGA GC |
| UBC 813 | CTC TCT CTC TCT CTC TT | UBC 843 | CTC TCT CTC TCT CTC TA |
| UBC 814 | CTC TCT CTC TCT CTC TA | UBC 845 | CTC TCT CTC TCT CTC TG |
| UBC 815 | CTC TCT CTC TCT CTC TG | UBC 850 | GTG TGT GTG TGT GTG TC |
| UBC 816 | CAC ACA CAC ACA CAC AT | | |
| UBC 818 | CAC ACA CAC ACA CAC AG | | |
| UBC 820 | GTG TGT GTG TGT GTG TC | | |
| UBC 823 | GTG TGT GTG TGT GTG TC | | |
| UBC 824 | TCT CTC TCT CTC TCT CG | | |

**PCR Reaksiyon Koşulları:** Toplam hacim: 25 µl olacak şekilde Çizelge 3.4'te verilen koşullarda reaksiyon gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.4. PCR Reaksiyon Koşullarının İçeriği

| Kullanılan Kimyasallar | Konsantrasyon | Her örnek için kullanılan miktar (µl) |
|---|---|---|
| 10X Buffer | 10X | 2.5 |
| $MgCl_2$ | 50 mM | 1.5 |
| dNTP | 2.5 mM | 2 |
| ISSR Primer | 10 µM | 1 |
| DNA Taq Polimeraz | 5 U/µl | 0.2 |
| DNA | 50 ng/µl | 2 |
| $ddH_2O$ | - | 15.8 |
| Toplam Hacim | - | 25 |

**PCR Döngü Programı**

95 °C 3dk ön “denaturation”

95 °C 45 sn DNA’nın çift iplikçiğinin ayrılması “denaturation”

55 °C 1* dk primer bağlanması “annealing”

72 °C 45 sn yeni iplikçiğin yazılımı “extension”

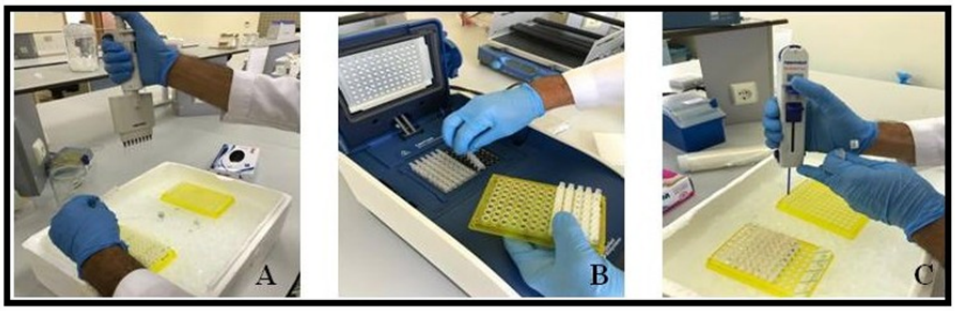
35 döngü,

72 °C 7 dk son yazılım

4°C ∞

*: Herprimer için ayrı belirlenmiştir.

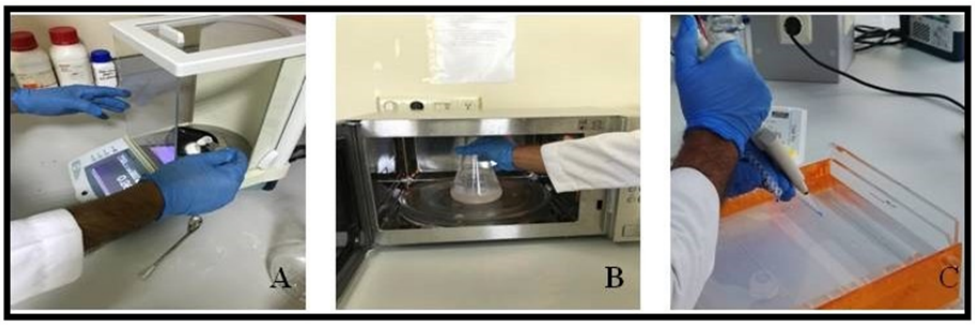
PCR aşamalarına ait görüntüler Şekil 3.13’de sunulmuştur.




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

### 3.2.3.1. Agaroz Jel Elektroforezi

PCR aşamasından sonra PCR ürünleri %2’lik agaroz jel içerisinde 90 volt elektrik akımı altında 3 saat süreyle koşulmuştur. PCR ürünlerinin 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 mikrodalgada kaynatılması, C: PCR ürünlerinin yüklenmesi

### 3.2.4. Sonuçların Değerlendirilmesi

ISSR 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 matriksini ne ölçüde temsil ettiği Mantel Matriks Benzerlik testi (Mantel's Matrix Correspondence Test) ile test edilmiştir (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 genotipinin genetik ilişkileri ISSR markırları kullanılarak araştırılmıştır.

## 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 kalite ve miktarları Nanodrop-ND 1000 spektrofotometresi ile ölçülmüştür (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Tez çalışmasında kullanılan nar genotiplerinden izole edilen DNA'ların kalite ve miktarları

| No | Genotip | Miktar (ng/ul) | Kalite (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 |

Çizelge 4.1. devamı

| | | | |
|---|---|---|---|
| 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 |

Çizelge 4.1. devamı

| | | | |
|---|---|---|---|
| 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 |

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 1.8-2.0 civarında olması 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 kalite oranları 1.61-2.15 arasında değişmiştir.

## 4.2. ISSR Analizleri

### 4.2.1. ISSR Markırları Kullanılarak Nar Genotiplerinde Polimorfizmin Değerlendirilmesi

Tez çalışmasında, 90 adet nar genotipinin genetik ilişkilerini belirlemek amacıyla ISSR markırları kullanılmıştır. Yirmi üç ISSR primeri ile analizler gerçekleştirilmiştir. Bu primerler arasından başarılı bir şekilde amplifikasyon sağlanan 21 tanesi 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 primer için elde edilen toplam bant sayısı (adet), polimorfik bant sayısı (adet) bant uzunluk aralıkları (bç), polimorfizm oranı (%) ve PIC değerleri Çizelge 4.2'de sunulmuştur.

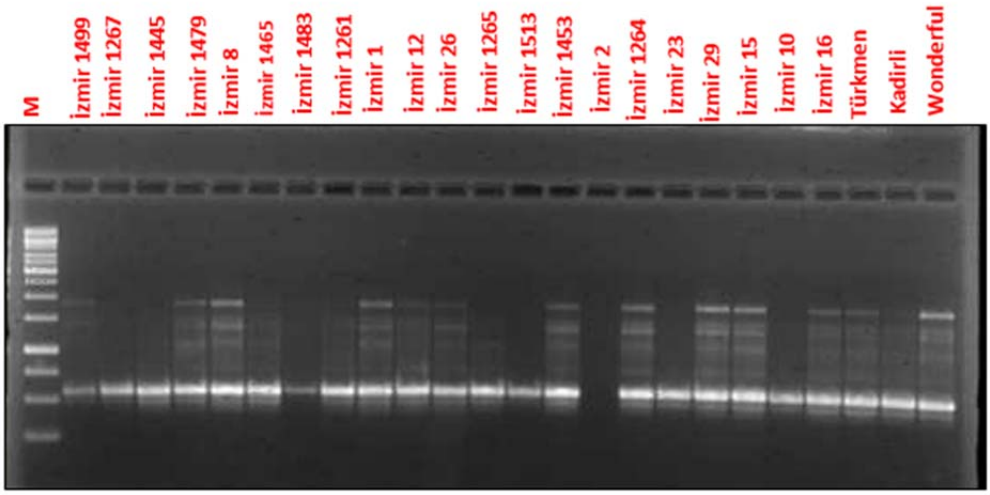
Çizelge 4.2. ISSR primerlerinin amplifikasyonu sonucu elde edilen toplam bant sayısı (adet), polimorfik bant sayısı (adet), bant uzunluk aralıkları (bp), polimorfizm oranı (%), PIC değerleri

| Primer | Toplam Bant Sayısı (Adet) | Polimorfik Bant Sayısı (Adet) | Bant Uzunluk Aralıkları (bç) | Polimorfizm Oranı (%) | PIC Değeri |
|---|---|---|---|---|---|
| UBC807 | 7 | 7 | 100-560 | 100.00 | 0.44 |
| UBC808 | 2 | 1 | 410-430 | 50.00 | 0.15 |
| UBC810 | 4 | 3 | 200-580 | 75.00 | 0.29 |
| UBC811 | 6 | 4 | 180-600 | 66.67 | 0.38 |
| UBC812 | 9 | 7 | 120-1200 | 77.78 | 0.61 |
| UBC813 | 3 | 2 | 400-600 | 66.67 | 0.74 |
| UBC814 | 1 | 0 | 700 | 0.00 | 0.00 |
| UBC815 | 5 | 4 | 200-700 | 80.00 | 0.49 |
| UBC816 | 4 | 2 | 250-420 | 50.00 | 0.01 |
| UBC818 | 4 | 3 | 200-600 | 75.00 | 0.90 |
| UBC820 | 5 | 5 | 230-580 | 100.00 | 0.43 |
| UBC823 | 4 | 4 | 300-1000 | 100.00 | 0.69 |
| UBC824 | 4 | 4 | 300-600 | 100.00 | 0.23 |
| UBC825 | 6 | 6 | 120-900 | 100.00 | 0.67 |
| UBC827 | 6 | 6 | 280-560 | 100.00 | 0.31 |
| UBC828 | 5 | 5 | 100-520 | 100.00 | 0.43 |
| UBC834 | 6 | 6 | 100-520 | 100.00 | 0.37 |
| UBC835 | 5 | 4 | 100-420 | 80.00 | 0.08 |
| UBC843 | 3 | 2 | 280-700 | 66.67 | 0.32 |
| UBC845 | 4 | 3 | 200-490 | 75.00 | 0.48 |
| UBC850 | 3 | 2 | 300-580 | 66.67 | 0.38 |
| Toplam | 96 | 80 | - | - | |
| Ortalama | 4.57 | 3.71 | - | 77.59 | |

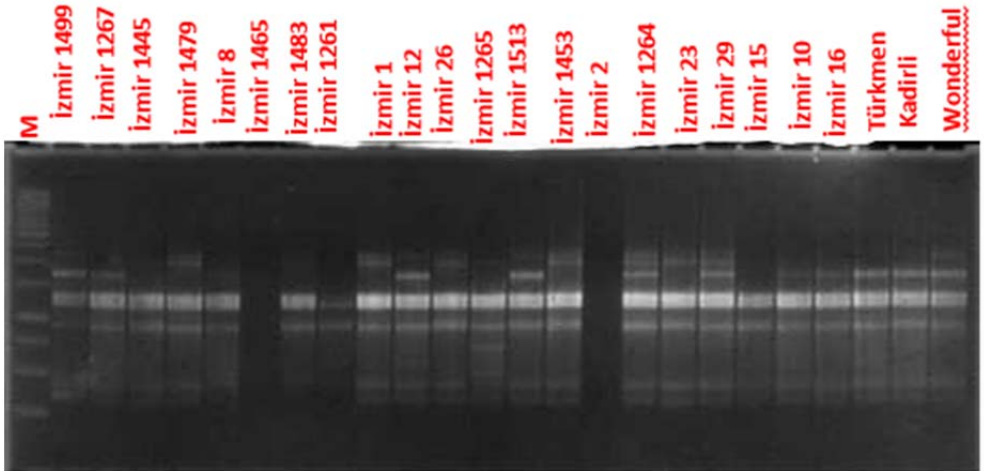
Tez çalışmasında kullanılan 23 primer arasından 21 primerden 20'si polimorfik bantlar üretirken, 1 tanesi sadece monomorfik bant üretmiştir. Çalışmada 21 primerden elde edilen bant büyüklükleri, 100-1200 bç arasında değişmiştir. Değerlendirilen 21 primer, 80'ı polimorfik olmak üzere toplam 96 adet bant üretmiştir. Primer başına elde edilen toplam bant sayısı 1-9 (ortalama 4.57) arasında,

toplam polimorfik bant sayısı ise 0-7 (ortalama 3.71) arasında değişmiştir. En fazla bant UBC812 (9 adet) primerinde, en az DNA bant profili ise UBC814 (1 adet) primerinden elde edilmiştir. ISSR analizleri sonucunda toplam polimorfizm oranının, %77.59 olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan 21 primer arasından 8 primerde (UBC807, UBC820, UBC823, UBC824, UBC25, UBC27, UBC28 ve UBC34) polimorfizm oranı %100 olarak tespit edilmiştir. ISSR primerlerine ait PIC değerleri incelendiğinde, en yüksek değerin 0.90 ile UBC818 olduğu belirlenmiştir.

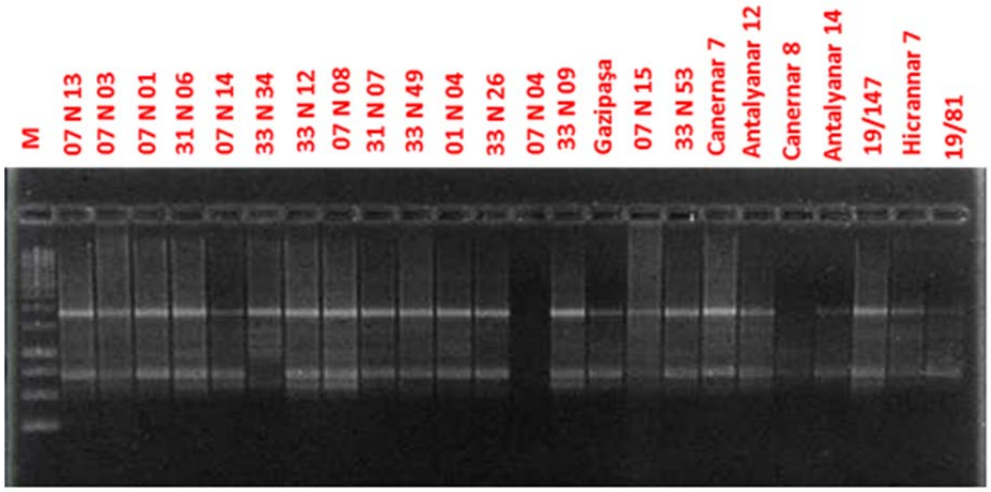
Tez çalışmasında kullanılan ISSR primerlerine ait jel görüntüleri, Şekil 4.1-4.6'da sunulmuştur.



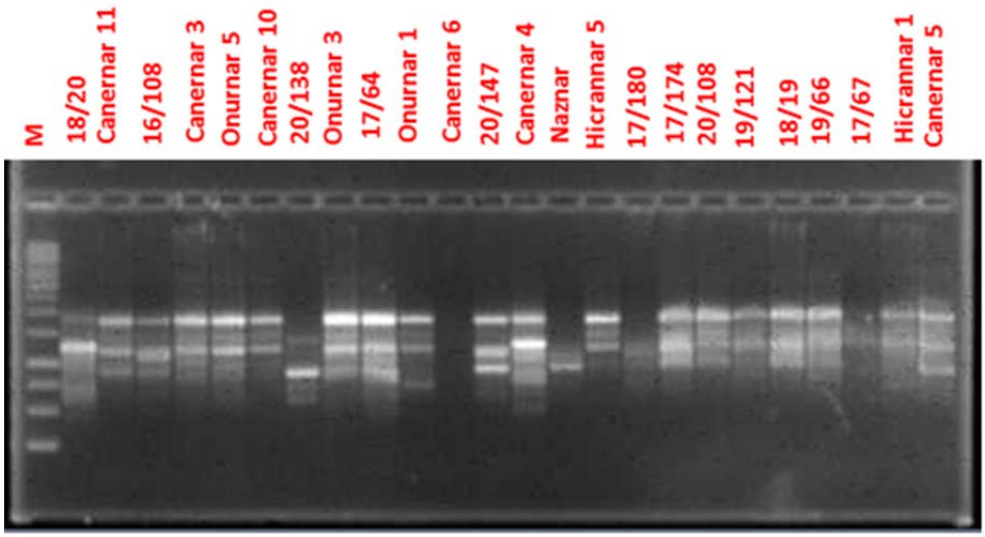

Şekil 4.1. UBC810 primerine ait agaroz jel görüntüsü (1-24 numaralı örnekler)



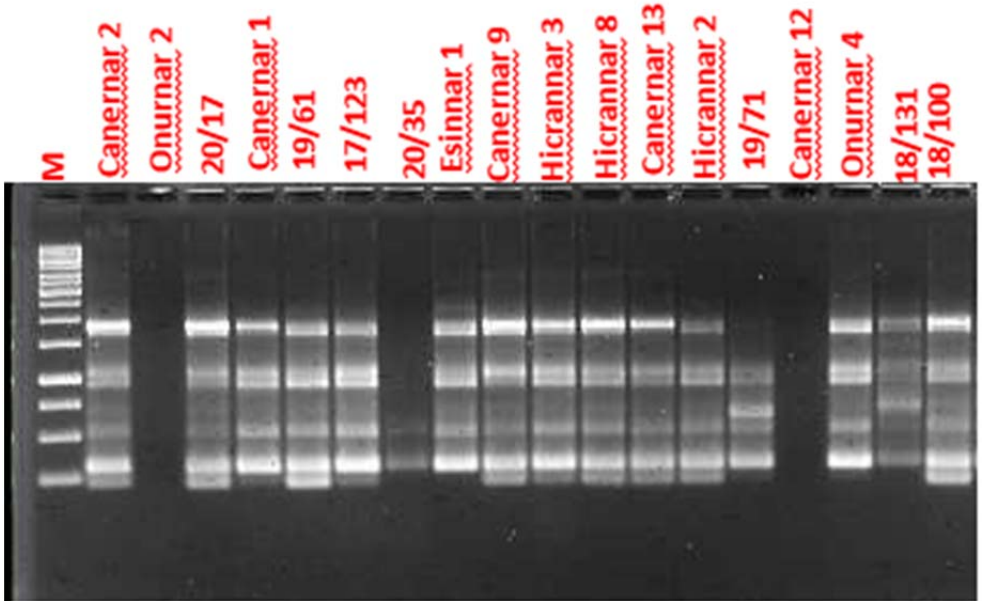

Şekil 4.2. UBC811 primerine ait agaroz jel görüntüsü (1-24 numaralı örnekler)



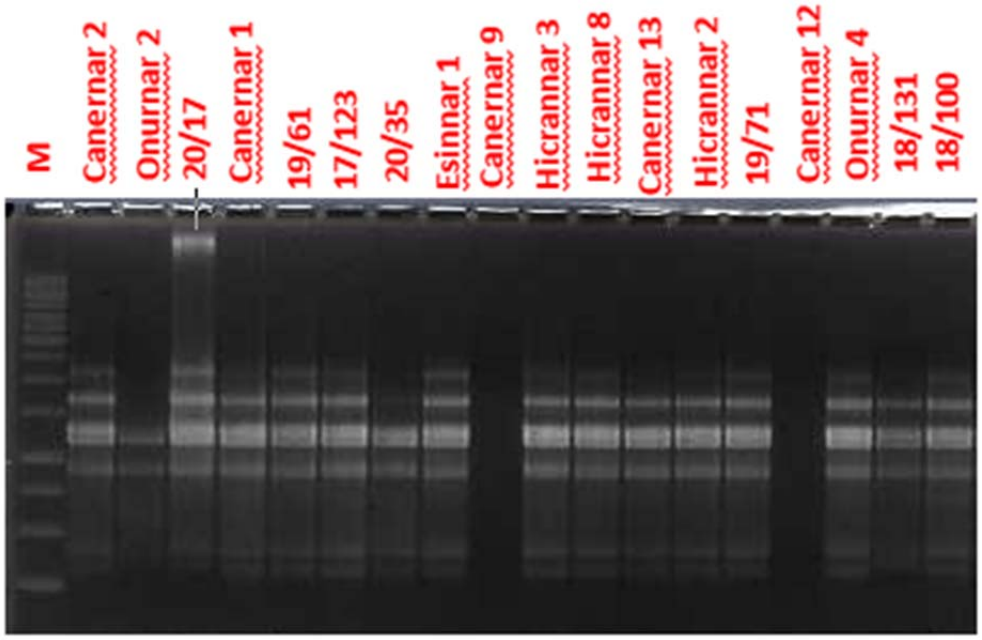

Şekil 4.3. UBC820 primerine ait agaroz jel görüntüsü (25-48 numaralı örnekler)




Şekil 4.4. UBC827 primerine ait agaroz jel görüntüsü (49-72 numaralı örnekler)




Şekil 4.5. UBC834 primerine ait agaroz jel görüntüsü (73-90 numaralı örnekler)




Şekil 4.6. UBC812 primerine ait agaroz jel görüntüsü (73-90 numaralı örnekler)

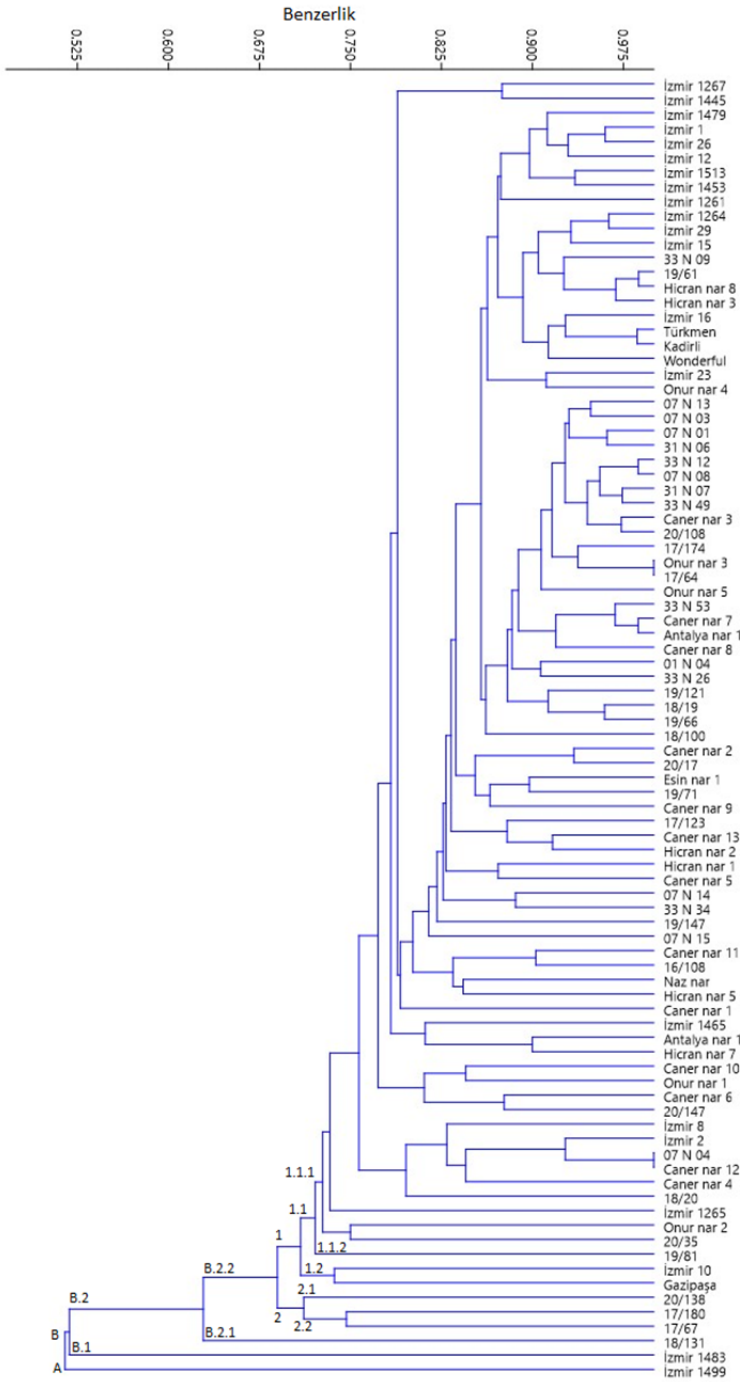
ISSR markırları yabani türlerin yanı sıra bitki çeşitlerinin ayırt edilmesinde de kullanılmış ve çeşitli DNA markır çalışmalarında faydalı bir araç olarak tanıtılmıştır. ISSR analizleri ile tekrarlanabilir ve bilgilendirici veriler elde edilmektedir. Noormohammadi ve ark. (2012) yapmış oldukları çalışmada, RAPD, ISSR ve SSR olmak üzere üç moleküler markır kullanarak 36 İran nar genotipinin genetik çeşitliliğini değerlendirmişlerdir. Çalışmada, moleküler verilere dayanarak etkili aleller (Ne), Nei genetik çeşitlilik (H), Shannon indeksi (I) ve polimorfik bilgi içeriği (PIC) 'den oluşan genetik parametreler hesaplanmıştır. Çalışmada, 10 ISSR primeri kullanılmıştır. Kullanılan 10 ISSR primerinin 6'sı ile, incelenen 36 nar genotipinde 106 tekrarlanabilir amplikon elde edilmiştir. Elde edilen ISSR bantlarının sayısı 5-22 arasında değişmiştir. Elde edilen parçaların büyüklüğü 200 ila 3000 bç arasında değişmiştir. ISSR markırlarından elde edilen ortalama polimorfizm yüzdesi % 45.42 olarak belirlenmiştir. Elde edilen PIC değerleri ise, 0.272-0.494 arasında değişmiştir. Talebi ve ark. (2011), 24 İran nar genotipinde

genetik varyasyonun karşılaştırılması için RAPD ve ISSR markırlarını kullanmışlardır. RAPD primerleri ile 29'u polimorfik (%22.14) olmak üzere 131 DNA fragmenti ve ISSR primerleri ile 64'ü polimorfik (%37) olmak üzere 173 amplifikasyon ürünü elde edilmiştir. Ortalama PIC değeri, RAPD için 0.128 ve ISSR için 0.163 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar, ISSR markırlarının RAPD markırlarına göre, çok daha iyi tekrarlanabilir bantlar ürettiğini ve genotiplerin gruplandırılmasında daha verimli olduklarını göstermiştir. İkili benzerlik endeksi değerleri, RAPD için 0.353-1.0 (ortalama 0.604), ISSR için 0.291-0.930 (ortalama 0.674) arasında değişmiştir. Jbir ve ark. (2014), Fas'ın üç coğrafi bölgesinden 27 Faslı nar genotipinin genetik çeşitliliğini, 61 ISSR markırı kullanarak araştırmışlardır. Sekiz test edilmiş ISSR primerleri, 61'i polimorfik (%87,14) olmak üzere toplam 70 bant üretmiştir. Araştırıcılar elde ettikleri sonuçlara dayanarak, nar grupları içinde ve arasında ciddi bir gen akışı olduğunu ve ISSR markırlarının moleküler polimorfizmini tespit etmek ve nar genotiplerinin genetik çeşitliliğini incelemek için yararlı bir araç olabileceğini belirtmişlerdir. Narzary ve ark. (2010) ISSR markırları kullanarak Hint narının doğal popülasyonları arasındaki genetik çeşitliliği araştırmışlardır. İki bölgeden sekiz popülasyonu temsil eden kırk dokuz genotip ISSR markırları kullanılarak analiz edilmiştir. On yedi ISSR primeri ile 268 polimorfik bant elde edilmiş ve polimorfizm oarnı %87.01 polimorfizm olarak belirlenmiştir. Popülasyonların genetik uzaklıkları 0.05-0.45 (ortalama 0.25) arasında değişmiştir. Zhao ve ark. (2011), 47 nar çeşidinin genetik ilişkisini analiz etmek için ISSR markırlarını kullanmışlardır. PCR için 6 polimorfik primer kullanılmış ve 109'u polimorfik olmak üzere toplam 120 bant elde edilmiştir. Polimorfik oranı %90.83 olarak belirlenmiştir. Attanayake ve ark. (2017) 20 Sri Lanka nar genotipinin genetik çeşitliliğini 20 ISSR primeri kullanarak araştırmışlardır. Toplam 107 lokus aplifiye olmuş ve PIC değerinin 0.3 olduğu belirlenmiştir. Tez çalışmasında kullanılan 21 primer, 80'ı polimorfik olmak üzere toplam 96 adet bant üretmiştir. Primer başına elde edilen toplam bant sayısı 1-9 (ortalama 4.57) arasında, toplam polimorfik bant

sayısı ise 0-7 (ortalama 3.71) arasında değişmiştir. Polimorfizm oranı %77.59 olarak belirlenmiştir. Nar genotiplerinin genetik ilişkilerinin belirlenmesinde farklı markır sistemleri kullanılmış ve farklı oranlarda polimorfizm elde edilmiştir. Ercişli ve ark. (2011), RAPD markırlarını kullanarak %91, AFLP markırları ile %73, Madadi ve ark. (2017), ISSR markırları ile %83.23, Yuan ve ark. (2007), AFLP markırları ile %73.26, Moslemi ve ark. (2010), AFLP markırları ile %54.13, Durgaç ve ark (2008), RAPD markırları ile %22 polimorfizm elde etmişlerdir. Tez çalışmasında elde edilen %77.59 polimorfizm oranı, daha önce yürütülmüş moleküler çalışmalar ile kıyaslandığında, yüksek polimorfizm içeren çalışmalar arasında yer almaktadır.

### 4.2.2. ISSR Analizleri Sonucunda 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; Ek-1) elde edilmiştir. Dendrogramın benzerlik matriksini ne ölçüde temsil ettiği, Mantel Matriks 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, 0.92 olarak tespit edilmiştir. Mantel testi sonucunda elde edilen değer; benzerlik indeksi ve dendrogramın ISSR verileri ile yüksek oranda uyuştuğunu göstermektedir.




Şekil 4.7. ISSR analizleri sonucunda elde edilen dendrogram

ISSR analizleri sonuncunda oluşturulan dendrogram incelendiğinde, 90 adet nar genotipinin genetik benzerlik düzeyinin 0.52 ile 1.00 arasında değiştiği görülmüştür. Dendrogram iki ana kola ayrılmıştır. Bu kollar dendrogram üzerinde A ve B olarak kodlanmıştır. A olarak kodlanmış ana kol içerisinde İzmir 1499 yer alırken, B olarak kodlanmış ana kolda ise tez çalışmasında kullanılan diğer tüm genotipler kümelenmiştir. A ve B kodlu kolların benzerlik oranı %52 olarak belirlenmiştir. B kodlu ana kol dendrogram üzerinde, B.1 ve B.2 olarak adlandırılmış iki alt kola ayrılmıştır. B.1 alt kolu içerinde İzmir 1483 genotipi yer almış, B.2 alt kolu içerisinde ise tez çalışmasında kullanılan diğer nar genotiplerinin tamamı yer almıştır. B.1 ve B.2 alt kollarının benzerlik oranı yaklaşık %54 olarak tespit edilmiştir. B.2 alt kolu, B.2.1 ve B.2.2 olmak üzere tekrar iki gruba ayrılmıştır. B.2.1 grubunda 18/131 genotipi yer alırken, kalan tüm nar genotipleri B.2.2 grubunda kümelenmiştir. B.2.2 grubu, 1 ve 2 olmak üzere yeniden alt gruba ayrılmıştır. 2 olarak kodlanmış grup içerisinde 20/138, 17/180 ve 17/67 genotipleri yer alırken, diğer nar genotipleri, 1 olarak kodlanmış grup içerisinde yer almıştır. 1 ve 2 olarak kodlanmış grupların birbirine olan yakınlığı, yaklaşık %70 olarak belirlenmiştir. ISSR analizleri sonucunda elde edilen dendrogram incelendiğinde, Onurnar 3 ile 17/64 ve 07N04 ile Canernar 12 genotipleri arasında herhangi bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir.

Tez çalışmasında kullanılan 90 nar genotipi arasındaki ilişkinin grafiksel bir gösterimini elde etmek için PAST programı kullanılarak Temel Koordinat Analizi (PCO) yapılmıştır (Ek-2).

İlk olarak İran'da ortaya çıktığı düşünülen narın yaygın olarak Akdeniz Ülkeleri ve Kafkasya'da yetiştiriciliği yapılmaktadır. Akdeniz Ülkeleri arasında yer alan Ülkemizde nar, Akdeniz, Ege ve Güneydoğu Bölgeleri'nde yetiştirilmektedir. Akdeniz Bölgesi'nin sahil ve geçit yörelerinde üretimi yaygın olarak yapılan ve pazar açısından özellikle aranan nar çeşitleri 07 N 08 (Hicaznar), 33 N 16 (Silifke Aşısı)'dır. Hicaznar geççi mayhoş narlar arasında en küçük meyvelere sahip sert çekirdekli çeşittir. Verimlilik açısından çok yüksek değerlere sahiptir. Tez

çalışmasında kullanılan nar genotipleri Ülkemizin farklı bölgelerinden selekte edilmiş, kendileme ve melezleme çalışmaları sonucunda elde edilmiş çeşit ve genotiplerden oluşmuştur. Tez çalışmasında yer alan Hicaznar, 33 N 12 genotipi ile aynı grupta yer almıştır.

Bengül (2019), tez çalışması ile benzer olarak Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Nar Koleksiyon Bahçesinde bulunan 90 adet nar genotipinin genetik ilişkilerini SRAP markırlarını kullanarak araştırmıştır. Çalışmada SRAP analizleri sonucunda elde edilen dendrogram incelendiğinde, İzmir 2 ve Canernar 2 genotipleri, diğer tüm nar genotiplerinden ayrılmış, 33 N 26-Antalyanar-12, 19/66- 17/67, 19/121- 18/19 genotipleri arasında herhangi bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir. Çalışmada, Hicaznar İzmir 1265 ile yüksek oranda benzerlik göstermiştir. Aynı nar genotiplerinin ISSR markırları kullanılarak genetik çeşitliliğinin araştırıldığı bu tez çalışmasında ise İzmir 1499 genotipi diğer tüm nar genotiplerinden ayrılmış, Onurnar 3 ile 17/64 ve 07N04 ile Canernar 12 genotipleri arasında herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir. 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 vermektedir. Bu nedenle aynı nar genotipleri ile yürütülen bu iki çalışmadan genotiplerin benzerlik oranlarında farklılık bulunmuştur. ISSR markır sistemi, birbirine ters yönlü ve yakın olan mikrosatellit bölgelerin (100-3000 bp) amplifikasyonu esasına dayanır. Dominant bir markır tipidir. Ancak, homozigot ve heterozigot arasındaki farklılığın anlaşılmasını kolaylaştıracak bazı durumlarda, ko-dominat markırlar olarak görülürler. Ghobadi ve ark. (2005), İran narlarının 24 üyesi arasındaki filogenetik ilişkileri incelemek için ISSR markırlarını kullanmışlardır. Çalışmada 6 ISSR primeri kullanılmış ve 64 polimorfik bant elde edilmiştir. UPGMA analizleri sonucunda, %65 benzerlik düzeyinde genotipler beş gruba ayrılmıştır (19 genotip bir bağımsız grupta ve geri kalanlar 4 grupta yer almıştır). İncelenen nar genotiplerinin morfolojide farklı olmasına rağmen, aralarındaki genetik mesafelerin

nispeten küçük olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçların RAPD markır sistemi ile karşılaştırılması, ISSR markırlarının tekrarlanabilir daha iyi bant ve genotiplerin gruplanmasında yüksek verimlilik sağladığını göstermiştir. ISSR markırları tarafından ortaya konan bu nar genotipleri arasındaki ilişkiler, genellikle RAPD markırları ile yapılan önceki taksonomik sınıflandırmalarla uyum içinde bulunmamıştır. Bu, narın yalnızca morfolojik karakterler temelinde ayrılmasının yeterli olmadığını ve moleküler yöntemlerin kullanılmasının gerekli olduğunu göstermektedir. Ülkemizde nar genotiplerinin genetik ilişkilerinin RAPD markırları ile araştırıldığı çalışmalarda düşükten yükseğe değişen oranlarda polimorfizm elde 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 %22 olarak belirlenmiştir. Ercişli ve ark. (2011), Çoruh Vadisi'nin farklı yerlerinden topladıkları 23 adet yabani nar genotipinin genetik ilişkilerini belirlemek için RAPD primerlerini kullanmışlardır. Moleküler karakterizasyon için 86 RAPD primeri kullanılmış, bunlardan 12 tanesi güvenilir polimorfik bantlar vermiştir. Bu primerler, %91'i polimorfik olan 145 RAPD bandı üretmiştir. Bant büyüklüğü, 250 ila 2400 bç arasında değişmiştir. Dendrogramda genotipler beş ana kümeye ayrılmıştır. Örnekler arasında en yüksek genetik benzerlik 0.24 ve en düşük 0.08 olarak tespit edilmiştir. Tez çalışmasında ise ISSR analizleri sonucunda elde edilen polimorfizm oranının %77.59 olduğu tespit edilmiştir. Şimşek ve ark. (2018) yeni nesil dizileme teknolojilerini kullanarak narda mikrosatellit bölgelerini RNA-seq analizleri ile belirlemişlerdir. Çalışmalarında, Hicaznar ve 33N26 çeşitlerini kullanmışlardır. Biyoinformatik çalışmaları 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 ayrım gücünün yüksek olduğu belirlenmiştir. Ancak nar genotiplerinin yüksek seviyede bir genetik çeşitliliğe sahip olmaması, benzerlik oranlarının düşük bir seviyede kalmasına neden olmuştur

# 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez çalışması 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 ISSR markırları ile araştırılmıştır. DNA izolasyonunda CTAB Miniprep DNA ekstraksiyon yöntemi kullanılmış ve çalışılan nar genotiplerine ait DNA'lar incelendiğinde, DNA miktarları ve kalitesi, moleküler çalışmaları yürütmek için yeterli bulunmuştur. Tez çalışması kapsamında, izolasyonları gerçekleştirilen DNA'ların kalite oranları 1.61-2.15 arasında değişirken en fazla DNA miktarı İzmir-2 genotipinde (2033.84 ng/ul) en az DNA ise Wonderful çeşidinde (21.34 ng/ul) elde edilmiştir. Tez çalışmasında kullanılan 23 primer arasından 21 primerden 20'si polimorfik bantlar üretirken, 1 tanesi sadece monomorfik bant üretmiştir. Çalışmada 21 primerden elde edilen bant büyüklükleri 100-1200 bç arasında değişmiştir. Değerlendirilen 21 primer, 80'ı polimorfik olmak üzere toplam 96 adet bant üretmiştir. Primer başına elde edilen toplam bant sayısı 1-9 (ortalama 4.57) arasında, toplam polimorfik bant sayısı ise 0-7 (ortalama 3.71) arasında değişmiştir. ISSR analizleri sonucunda toplam polimorfizm oranının %77.59 olduğu tespit edilmiştir. ISSR primerlerine ait PIC değerleri incelendiğinde, en yüksek değerin 0.90 ile UBC818 olduğu belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan nar genotiplerinin benzerlik oranının %52-100 arasında değiştiği tespit edilmiştir. ISSR analizleri sonuncunda oluşturulan dendrogram iki ana kola ayrılmıştır. Bu kollar dendrogram üzerinde, A ve B olarak kodlanmıştır. A olarak kodlanmış ana kol içerisinde İzmir 1499 yer alırken, B olarak kodlanmış ana kolda ise tez çalışmasında kullanılan diğer tüm genotipler kümelenmiştir. Nar genotiplerinin coğrafik orijinlerine göre gruplanmadığı, dağınık bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir.

Tez çalışmasında kullanılan nar genotiplerini daha keskin gruplara ayırmak için kullanılan ISSR primerlerinin sayısı arttırılabilir. Bununla beraber farklı markır

sistemleri ile elde edilen bulgular genişletilebilir. 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. 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


Attanayake, S. R. M. R., Kumari, S. A. S. M., Weerakkody, W. A. P., Ranil, R. H. G., Damania, A. B., & Bandaranayake, P. C. G. 2017),Molecular diversity and genetic relationships among Sri Lankan pomegranate Punica granatum landraces assessed with inter simple sequence repeat (ISSR) regions. Nordic Journal of Botany, 35(4), 385-394.

Anonymous, 2019c. https://ziraatyapma.blogspot.com 23.11.2019. Erişildi.

Bornet, B., Branchard, M., "Nonanchored Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting" 2001 Plant Molecular Biology Reporter.

Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., & Davis, R. W., (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American journal of human genetics, 32(3), 314.

Brown, S.M., Hopkins, M.S., Mitchell, S.E., Senior, M.L., Wang, T.Y., Duncan, R.R., Gonzales-Candelas, F., Kresovich, S., 1996 "Multiple methods for the identification of polymorphic simple sequence repeats (SSRs) in sorghum [Sorghum bicolor (L.) Moench]" Theoretical and Applied Genetics.

Caliskan, O., Bayazit, S ., Oktem, M., Ergul, A., 2017. Evaluation of the genetic diversity of pomegranate accessions from Turkey using new microsatellite markers Turk J Agric For 41: 142-153 doi:10.3906/tar-1606-124.

Curro, S., Caruso, M., Distefano, G., Gentile, A., La Malfa, S., 2010 'new mıcrosatellıte locı for pomegranate, punıca granatum (lythraceae)' AJB Primer Notes & Protocols in the Plant Sciences.

Durgaç, C., Özgen, M., Simsek, Ö., Kaçar, Y. A., Kiyga, Y., Çelebi, S., Serçe, S. (2008). Molecular and pomological diversity among pomegranate (Punica granatum L.) cultivars in Eastern Mediterranean region of Turkey. African journal of biotechnology, 7(9).

Ebrahimi, S., Sayed-Tabatabaei, B.E., Sharifnabi, B., 2010. Microsatellite isolation and characterization in pomegranate (Punica granatumL.). Iranian Journal of Biotechnology, Vol. 8, No. 3.

Ercisli, S., Kafkas, E., Orhan, E., Kafkas, S., Dogan, Y., & Esitken, A. (2011). Genetic characterization of pomegranate (Punica granatum L.) genotypes by AFLP markers. Biological research, 44(4), 345-350.

Ercisli, S., Gadze, J., Agar, G., Yildirim, N., & Hizarci, Y. (2011). Genetic relationships among wild pomegranate (Punica granatum) genotypes from Coruh Valley in Turkey. Genet Mol Res, 10(1), 459-464.

Filiz, E., Koç, İ., 2011 "Bitki Biyoteknolojisinde Moleküler Markörler" GOÜ, Ziraat Fakültesi Dergisi, 2011, 28(2), 207-214.

Genişel, H., 2013. "Türkiye florası'ndaki acı çiğdem (Colchicum L.) yeni tür adaylarının karakterizasyonunda ISSR markörlerin kullanımı", (Yüksek Lisans Tezi, Tez no: 337113), İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Ghobadi, S., Khoushkhoui, M., & Tabatabaei, B. (2005). Phylogenetic relationships among some Iranian pomegranate accessions revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers.

Gupta, M., Chyi, Y.S., Romero Severson, J., Owen, J.L.,1994 "Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats" Theoretical and Applied Genetics.

Hajiyeva, S.V., Akparov, Z.I., Hasanov, N.A., Mustafayeva, Z.P., Hajiyev, E.S., Mammadov, A.T., Izzatullayeva, V.I., Babayeva, S.M., Sharifova, S.S., Mammadov, A.M., Abbasov, M.A., 2018 "ISSR Analysis of Variability of Cultivated Form and Varieties of Pomegranate (Punica granatum L.) from Azerbaijan" Russian Journal of Genetics.

Hasnaoui, N., Mars, M., Chibani, J., and Trifi, M., 2012. Molecular Polymorphisms in Tunisian Pomegranate (Punica granatum L.) as Revealed by RAPD Fingerprints. Diversity, 2(1);107-114.

İkinci, A., Kiliç, M.E., 2016 Siverek (Şanlıurfa) Yöresinde Yetiştirilen Yerel Nar (Punica granatum L.) Genotiplerinin Bazı Pomolojik ve Kimyasal Özellikleri.

Jaccard, P. (1908). Nouvelles recherches sur la distribution florale. Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat., 44, 223-270.

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.

Jbir, R., Melgarejo, P., Hernández, F., Haddioui, A., & Hannachi, 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.

Kacar Aka, Y., 2001 "Türkiye'de Yetiştirilen Önemli Kiraz (Prunus avium L.) ve Vişne (Prunus cerasus L.) Çeşit ve Tiplerinin DNA Parmakizi Yöntemi ile Sınıflandırılması" Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana. Kullanımları." Journal of Cell and Molecular Biology 10(2):11-19.

Kurt, H., Şahin, G., 2013. "Bir Ziraat Coğrafyası Çalışması: Türkiye'de Nar (Punica Granatum L.) Tarımı", Marmara Coğrafya Dergisi Sayı: 27, Ocak - 2013, S. 551-574.

Lihua, Z., Mingyangb 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.

Madadi, M., Zamani, Z., & Fatahi, R. (2017). Assessment of Genetic Variation within Commercial Iranian Pomegranate (Punica granatum L.) Cultivars, Using ISSR and SSR Markers. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology, 5(6), 622-628.

Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer research, 27(2 Part 1), 209-220.

Masoud, S., Saneghi, A., Shahreiyari, Z., Noormohammadi, Z., Farahanei, F., and Zeyaoddin, S., Ardakanei, S. T., 2008. RAPD and Cytogenetic study of some pomegranate (Punica granatum L.) cultivars. 61:1, 68-73.

Milli Eğitim Bakanliği Bahçecilik Nar yetiştiriciliği, 2011 Ankara

Moslemi, M., Zahravi, M., & Khaniki, G. B. (2010). Genetic diversity and population genetic structure of pomegranate (Punica granatum L.) in Iran using AFLP markers. Scientia horticulturae, 126(4), 441-447.

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.

Narzary, D., Rana, T. S., & Ranade, S. A. (2010). Genetic diversity in inter-simple sequence repeat profiles across natural populations of Indian pomegranate (Punica granatum L.). Plant biology, 12(5), 806-813.

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.

Noormohammadi, Z., Fasihee, A., Homaee-Rashidpoor, S., Sheidai, M., Baraki, S. G., Mazooji, A., & Tabatabaee-Ardakani, S. Z. (2012). Genetic variation among Iranian pomegranates ('Punica granatum'L.) using RAPD, ISSR and SSR markers. Australian Journal of Crop Science, 6(2), 268.

Norouzı, M., Sayed-Tabatabaeı, B.E., and Talebı, M., 2012. Chloroplast Microsatellite Diversity and Population Genetic Structure of Iranian Pomegranate (Punica granatum L.) genotypes. Scientia horticulturae, 137;114-120.

Orhan, E., Ercisli, S., Esitken, A., Sengul, M., 2014 Molecular and morphological characterization of pomegranate (Punica granatum L.) genotypes sampled from Coruh Valley in Turkey. Genetics and Molecular Research 13(3):6375-6382.

Öz Aydın, S., Köçkar, F. 2008. Farklı genomik dna izolasyon yöntemlerinin satureja (labiatae) türlerinde uygulanması BAÜ, FBE Dergisi Cilt:10 (1): 52-60.

Özşensoy, Y., Kurar, E., 2012 "Markör Sistemleri ve Genetik Karakterizasyon Çalışmalarında

Pirseyedi, S.M., Valizadehghan, S., Mardi, M., Ghaffari, M.R., Mahmoodi, P., Zahravi, M., Zeinalabedini, M., and Nekoui, S.M.K., 2010. Isolation and Characterization of Novel Microsatellite Markers in pomegranate (Punica granatum L.). International Journal of Molecular Sciences, 11;2010 – 2016.

Reddy, P. M., Sarla, N., Siddiq, E. A., "Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding" 2002 Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

Rohlf, F. J. (1998). On applications of geometric morphometrics to studies of ontogeny and phylogeny. Systematic Biology, 47(1), 147-158.

Sarkhosh, A., Zamani, Z., Fatahi, R., Ebadi, A., 2006. "RAPD markers reveal polymorphism among some Iranian pomegranate (Punica granatum L.) genotypes", Scientia Horticulturae 111 (2006) 24–29.

Singh, B., Gaikwad, A. B., Chandra, R., Archak, S. 2018. DNA Profiling of pomegranate (Punica granatum L.) field genebank Semi-Feral collection by using ISSR markers. Indian Journal of Plant Genetic Resources, 31(2), 191-193.

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.

Soriano, J.M., Zuriaga, E., Rubio, P., Llácer, G., Infante, R., and Badenes, M.L., 2011. Development And Characterization of Microsatellite Markers in Pomegranate (Punica granatum L.). Molecular Breeding, 27(1);119-128.

Şimşek, M., 2017. A General Overview Of Pomegranate (Punica granatum L.) Production Potential, Effects To Health, Problems And Solution Proposals Of Turkey. Middle East J. of Science (2017) 3(1):51-58.

Şimşek, 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.

Tuik, 2019. İstatistikler / Tarım / Bitkisel. www.tüik.gov.tr.

Talebi, B. M., Bahar, M., Sharifnabi, B., & Yamchi, A. (2011). Evaluation of genetic diversity among Iranian pomegranate (Punica granatum L.) cultivars, using ISSR and RAPD markers.

Turgut, D.Y., Seydim, C.A., 2013. Akdeniz Bölgesi'nde Yetistirilen Bazı Nar (Punica granatum, L.) Çesit ve Genotiplerinin Fenolik Bilesenleri ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi.

Wang, G., Mahalingam, R., Knap, H.T., 1998 "(C-A) and (G-A) anchored simple sequence repeats (ASSRs) generated polymorphism in soybean, Glycine max (L.) Merr." Theoretical and Applied Genetics.

Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., & Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic acids research, 18(22), 6531-6535.

Yang, R.P., Long, W.H., Zhang, H., Xu, B., Li, W.X., 2007. RAPD analysis of 25 Punica granatum germplasm resources collected in Yunnan province. J. Fruit Sci. 24, 226–229.

Yuan, Z., Yin, Y., Qu, J., Zhu, L., & Li, Y. (2007). Population genetic diversity in Chinese pomegranate (Punica granatum L.) cultivars revealed by fluorescent-AFLP markers. Journal of Genetics and Genomics, 34(12), 1061-1071.

Yilmaz, C., 2007. Nar. Hasad yayıncılık, İstanbul, 190s.

Yilmaz, C., İmrak, B., 2015. Nar yetiştiriciliği- Kıbrıs ekolojik çalışmalarında değişik nar çeşitlerinin adaptasyonu. TAGEP Proje No.: 5.2.2.3.

Yilmaz, C., Özgüven, A. I., Gülşen, O., Canan, İ., ve Yilma Z, M., 2009 Türkiye'de Bulunan Bazı Nar Çeşit ve Tiplerinin Muhafazası ve Moleküler Olarak Tanımlanması. TÜBİTAK Sonuç Raporu.

Yorgancilar, M., Yakişir, E., Erkoyuncu Tanur, M., Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı, ahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi, Journal of Bahri Dagdas Crop Research 4 (2):1-12, 2015.

Yuan, Z., Yin, Y., Qu, J., Zhu, L., Li, Y., 2007. "Population Genetic Diversity in Chinese Pomegranate (Punica granatum L.) Cultivars Revealed by Fluorescent-AFLP Markers", Journal of Genetics and Genomics (Formerly Acta Genetica Sinica) December 2007, 34(12): 1061-1071.

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.

Zarei, 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.

Zhao, L., Li, M., Wang, X., & Liu, H. (2011). Genetic diversity and genetic relationship of pomegranate (Punica grantum) germplasm evaluated by ISSR markers. Journal of Fruit Science, 28(1), 66-71.

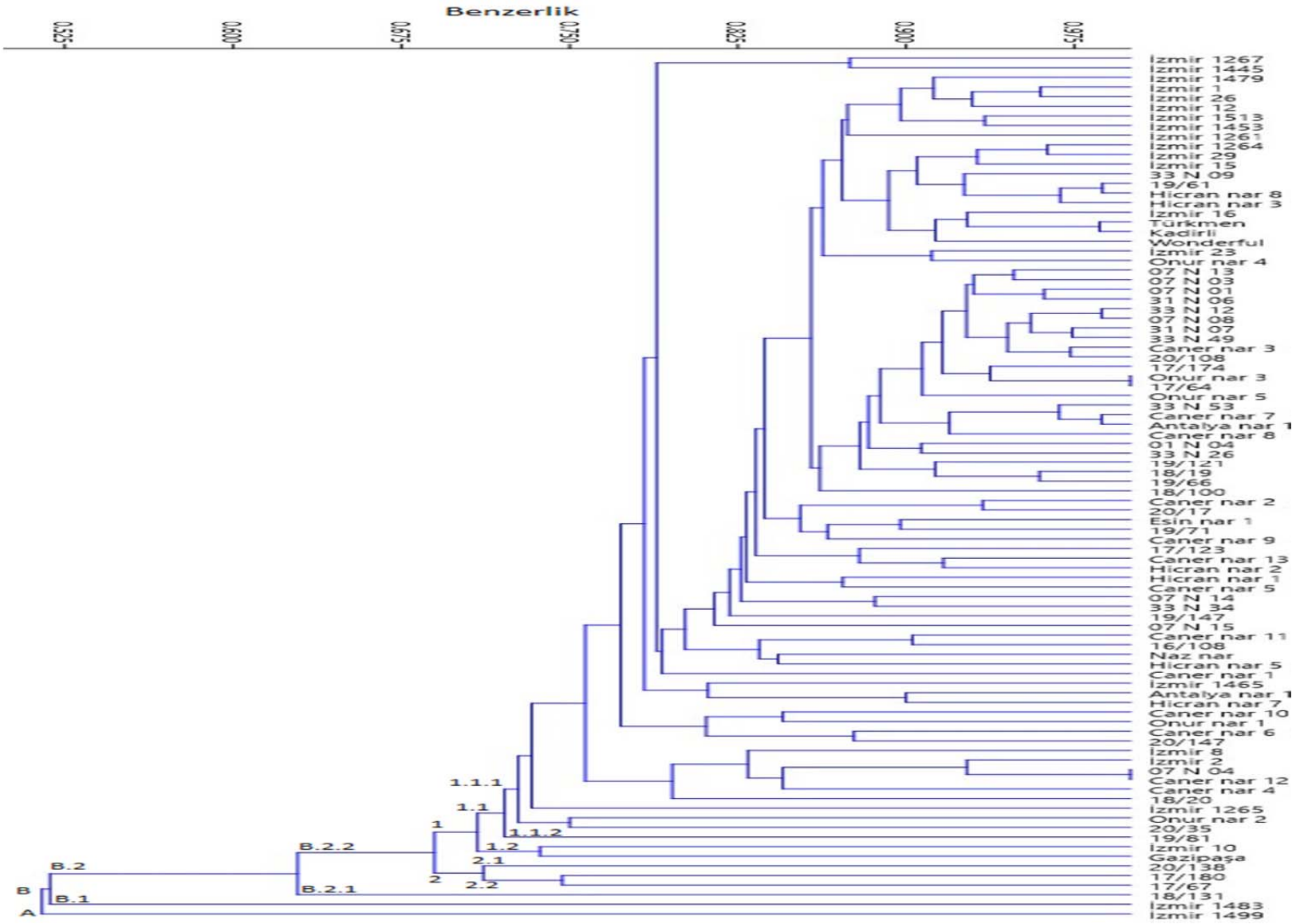
Zietkiewicz, E., Rafalski , A., Labuda, D., "Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification" Genomics. 1994 Mar 15;20(2):176-83.

## ÖZGEÇMİŞ

26/08/1993 yılında Adana'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Adana Anafartalar okulunda tamamladı. 2013 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'e başladı. 2017 yılında mezun oldu. 2017 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde yüksek lisans eğitimine başladı. Eylül 2017'den bu yana yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.

# EKLER

**EK 1.** ISSR analizleri sonucunda elde edilen dendrogram



**Ek-2.** Temel Koordinatlar Analizi sonucunda elde edilen grafik

