T.C.
SİİRT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİİRT VE ANTEP FISTIĞININ FİZYOLOJİK, EKOLOJİK VE SİSTEMATİK AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS

Mustafa Ahmet GÜNEŞ
133104003

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr.Öğr. Üyesi Mehmet Emre EREZ

Nisan-2018
SİİRT

TEZ KABUL VE ONAYI

Mustafa Ahmet GÜNEŞ tarafından hazırlanan "**Siirt ve Antep Fıstığının Fizyolojik, Ekolojik ve Sistematik Açıdan Değerlendirilmesi**" adlı tez çalışması 06.04.2018 tarih ve 2018/10-01 sayılı Yönetim Kurulu Kararı ile 20.04.2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile Siirt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	**İmza**
Başkan Dr. Öğr. Üyesi Süleyman Mesut PINAR	.....
Danışman Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Emre EREZ	.....
Üye Dr. Öğr. Üyesi. Behcet İNAL	.....

Fen Bilimleri Enstitü Müd.
Doç. Dr. Fevzi HANSU

Bu tez çalışması 2015-SİÜFEB-10 numaralı BAP projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Pistacia cinsine ait birçok tür bulunmasına rağmen, Fıstık (*Pistacia vera* L.) türü tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de yetişme alanı geniş olan önemli bir ürün olarak görülmektedir. Çok geniş bir yayılım alanının bulunmasının yanı sıra farklı her ülke kendi bölgesinde yetiştirilen fıstık formlarının üstün özelliklerini ortaya koymaya çalışmaktadırlar.Genel olarak tüm formlar*Pistacia vera* L. türüne ait olmakla birlikte farklı ekolojik faktörler, fıstık bitkisinin meyve ve içerik özelliklerinde değişikliklere neden olmaktadır.

Bu tez çalışmasında Fıstık (*Pistaca vera L.*) türünün Gaziantep ve Siirt bölgelerinde yetiştirilen farklı formları karşılaştırılmaya çalışılmıştır. Bu konuda desteklerini esirgemeyen tez danışmanım Dr.Öğr.Üyesi M. Emre EREZ'E, Laboratuar analizlerinde yardımcı olan Öğretim Görevlisi Dr. Mehmet FİDAN'A, toprak analizlerine yardımcı olan Remzi ERDOĞAN'A, Moleküler analizlerde yardımcı olan Dr.Öğr.Üyesi Behçet İNAL'A teşekkür ederim.

Mustafa Ahmet GÜNEŞ
Siirt/ 2018

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖN SÖZ ..... **v**

İÇİNDEKİLER ..... **vi**

TABLOLAR LİSTESİ ..... **viii**

ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **viii**

KISALTMALAR VE SİMGELERLİSTESİ ..... **ix**

ÖZET ..... **xi**

ABSTRACT ..... **xii**

1. GİRİŞ **1**

2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ **4**

3. MATERYAL METOT **8**

3.1. Fıstık örneklerinin hazırlanması 8

3.2. Bitki Ekstraksiyonlarının Hazırlanması 9

3.3. Analiz Yöntemleri 9

3.3.1. Total Fenolik İçeriği 9

3.3.2.Total flavonoid içeriği 10

3.3.3. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi 10

3.3.4. FRAP analizi 11

3.3.5. Demir şelatlama aktivitesi 11

3.4. Moleküler Analiz 11

3.4.1. Ticari kitle bitkiden genomik DNA izolasyonu 11

3.4.2. CTAB yöntemi ile DNA ekstraksiyonu 12

3.4.3. CTAP yöntemi Karaca protokolu ile DNA ektraksiyonu 13

3.5. DNA Ekstraksiyonların Tespit Edilmesi 14

3.6. PCR Protokolü 14

3.6.1. DNA' nın denatürasyonu 14

3.6.2. Primerlerin bağlanması 14

3.6.3. Denatürasyon (DNA zincirinin açılması) 15
3.3.4. Annealing (primerlerin açılan DNA zincirlerine yapışması) 15
3.3.5. Primer extesion (primer uzaması) 15
3.2. Palinolojik Özelliklerinin Tespit Edilmesi 16
3.2.1. Jelatin gliserin ortamının hazırlanması 16
3.7. Toprak Analizleri 16

4. BULGULAR 18

4.1. Morfolojik özellikler 18
4.2. Palinolojik özellikler 18
4.3. Toprak özellikleri 21
4.4. Antioksidan Özelliklerin Belirlenmesi 23
4.4.1. Fıstık çeşitlerinde bulunan fenolik madde içerikleri 23
4.4.2. Fıstık çeşitlerinde bulunan flavonoid madde içerikleri 24
4.4.3. Fıstık çeşitlerinde bulunan DPPH yüzdeleri 26
4.4.4. Fıstık çeşitlerinde bulunan FRAP aktiviteleri 27
4.4.5. Fıstık çeşitlerinde bulunan demir şelatlama aktiviteleri 28
4.5. Moleküler bulgular 30

5. TARTIŞMA SONUÇ 37

Kaynaklar 41

TABLOLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1. Dünyadaki fıstık Üretimi ve Payı (2015 yılı; tahmini değerler)…… 4
Tablo 1.2. Türkiye'deki fıstık ağaçlarının durumu……. 4
Tablo 4.1. Siirt botan vadisi toprak örneği laboratuvar sonuçları…….. 21
Tablo 4.2. Antep bölgesi toprak örneği laboratuvar sonuçları…… 22
Tablo 4.3. Fıstık numunelerindeki fenolik madde içerikleri…….. 23
Tablo 4.4. Fıstık numunelerindeki flavonoid madde içerikleri……... 25
Tablo 4.5. Fıstık numunelerindeki DPPH aktiviteleri……. 26
Tablo 4.6. Fıstık numunelerindeki FRAP aktiviteleri……. 27
Tablo 4.7. Fıstık numunelerindeki demir şelatlama aktiviteleri…… 29

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil. 3.1. Antep ve Siirt fıstıklarına ait genel görüntüler……..... 8
Şekil 3.3. Fıstık örneklerine ait su ve metanol ekstrelerinin elde edilmesi…… 9
Şekil 4.1. Anter görüntüleri ……..... 18
Şekil 4.2. Siirt fıstığına ait polen görüntüleri……. 19
Şekil 4.3. Antep fıstığına ait polen görüntüleri…….. 20
Şekil 4.4. Gallik asit regresyon eğrisi…… 23
Şekil 4.5. Fıstık numunelerindeki fenolik madde içerikleri……**...** 24
Şekil 4.6. Rutin standart regresyon eğrisi……..... 24
Şekil 4.7. Fıstık numunelerindeki flavonoid madde içerikleri……... 25
Şekil 4.8. Fıstık numunelerindeki DPPH aktiviteleri……. 26
Şekil4.9. $FeSO_4$ standart regresyon eğrisi…… 27
Şekil4.10. FRAP aktivitesi değerleri…… 28
Şekil 4.11. Demir şelatlama aktivitesi değerleri…… 29
Şekil 4.12. DNA görüntüleri……..... 30
Şekil 4.13. ITS bölgeleri PCR görüntüleri……. 30
Şekil 4.14. trn bölgeleri PCR görüntüleri……... 30
Şekil 4.15. Bio-edit program görüntüsü……. 31
Şekil 4.16. ITS Bölgesinin Neighbor Joining Analizi sonucu dendogramı……... 36
Şekil 4.17. trnL-f Bölgesinin NeighborJoining Analizi sonucu dendogramı……... 36

KISALTMALARVE SİMGELERLİSTESİ

Kısaltma	Açıklama
ABTS	: 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit)
AFLP	: Amplified Fragment Lenght Polymorphism,
BSA	: Bovine Serum Albumin
CUPRAC	: Cupric Reducing Antioxidant Capacity
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FCR	: Folin Ciocalteu reaktifi
FRAP	: Ferric Reducing Antioxidant Power
HPLC	: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromotografisi
ITS	: Internal Transcribed Spacer bölgesi
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
PCR	: Polimeraze Chain Reaction , polimeraz zincir reaksiyonu
RNAaz	: Ribonükleaz
RAPD	: Random Amplified Polimorfizm DNA, Rastgele
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
Rpm	: Revolution per minute, Dakikadaki devir sayısı
SSR	: Simple Sequence Repeat, Basit sekans tekrarları polimorfizmi
TEAC	: Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
trlN	: TrnL intron bölgesi
UMN	: University of Minnesota
Tris HCl	: Hidroksimetil aminometan hidroklorid
TE	: Tris EDTA
EB	: Elution Buffer

Simge	Açıklama
µMol	: Mikromol
EtOAc	: Etil asetat
Nm	: Nanometre
Ppm	: Parts per million
Ml	: Mililitre
Mg	: Milligram
µl	: Mikrolitre
mM	: Milimolar
HCL	: Hidroklorik Asit
º C	: Santigrat derece
M	: Molar
NACl	: Sodyum Klorür
LiCl	: Lityum Klorür
NaAc	: Sodyum Asetat
mA	: Miliamper
$MgCl_2$	:Magnezyum Klorür

ÖZET

SİİRT VE ANTEP FISTIĞININ FİZYOLOJİK, EKOLOJİK VE SİSTEMATİK AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Mustafa Ahmet GÜNEŞ

Siirt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Emre EREZ
II. Danışman : Prof. Dr. Musa TÜRKER

Nisan 2018,44 Sayfa

Fıstık formlarının yetiştirildiği her ülke hatta bölge kendilerinin yetiştiriciliğini yaptıkları formların daha üstün özelliklere sahip olduklarını savunmaktadırlar. Bu amaçla araştırıcılar birçok analiz ve tespit gerçekleştirmektedirler.

Bu tez çalışmasında Gaziantep ve Siirt bölgesinde yetiştirilen *Pistacia vera* L.türüne ait formların karşılaştırılmaları amaçlanmıştır. Fıstık yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı bölgelerden toprak, andrekium, yaprak ve meyve örnekleri alınarak analizler yapılmıştır. Ekolojik karşılaştırmalar için toprak örnekleri organik madde, tuz ve pH içerikleri bakımından analiz edilmiştir. Polen örneklerinin karşılaştırılması amacı ile polen taneleri ölçü ve görüntüleri karşılaştırılmıştır. Yaprak, meyve kabuğu ve iç kısımları antioksidant ve içerik özellikleri için su ve metanol ekstreleri kullanılarak mukayese edilmiştir. Bu amaçla DPPH, FRAP ve demir şelatlama özelliklerinin yanı sıra total fenolik ve total flavonid içerikleri elde araştırılmıştır. Son olarak yaparak örneklerinden elde edilen DNA sekansları belirlenerek türler arasındaki filogenetik ilişki belirlenmeye çalışılmıştır.

Ekolojik ve edafik faktörlerin yanı sıra örneklerin alındığı ağaçlara da bağlı olarak birbirlerinden farklı sonuçlar elde edilmiştir. Kullanılan kısım ve bölge özelliklerine bağlı olarak sonuçlar mukayese edilmiştir.Sonuç olarak yapılan analizlere bağlı olarak değerlerin toprak, ulanılan kısım, ve ekstrelere bağlı olarak değiştiği sonucu ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Antioksidant,Fıstık (Pistacia vera), Palinoloji, Moleküler Filogeni.

ABSTRACT

MS THESIS

PHYSIOLOGICAL, ECOLOGICAL AND SYSTEMATIC EVALUATIONS OF SIIRT AND ANTEP PISTACHIO

Mustafa Ahmet GÜNEŞ

The Graduate School of Natural and Applied Science of Siirt University
The Degree of Master of Science InBiology

Supervisior : Dr. Mehmet Emre EREZ
Co-Supervisior : Prof. Dr. Musa TÜRKER

April 2018,44 Pages

Every country, even the region, where Pistacia forms are grown claims that the forms they cultivate have superior characteristics than others. For this purpose, researchers were carry out many analyzes and determinations.

In this thesis study, it is aimed to compare the forms of *Pistacia vera*L. species that cultivated in Gaziantep and Siirt region. Analyzes were carried out by taking samples of soil, andrecium, leaf and fruit from location where the pistacia growing intensely. For ecological comparisons, soil samples were analyzed for organic matter, salt and pH contents. The aim of comparing pollen samples was to compare the measurements and images of pollen grains. Leaf, fruit shell and cores were compared for antioxidant activity and for content properties by using water and methanol extracts. For this purpose, DPPH, FRAP and iron chelating properties as well as total phenolic and total flavonoid contents were determined. Finally, the phylogenetic relationship between the species was determined by determining the DNA sequences obtained from the leaf samples.

In addition to the ecological and edaphic factors, different results were obtained depending on the trees from which the samples were taken. The results were compared according to the part used and the properties of the region. As a result of analyzes, the results show that the values can be changed depending on the soil, using part, and the extractions.

Keywords: Antioxidant,Peanut (Pistacia vera), Palinology, Molecular Phylogeny

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun artması ile birlikte besin değeri ve ekonomik açıdan önemli görülen bitkiler zamanla kültüre alınmaya başlanmıştır.Fıstık (*Pistacia vera L)* Dünyada kültürü yapılan en eski bitkilerden biridir. Fıstık Anadolu'da ilk olarak Etiler döneminde kralsofralarına girmiş, I. yüzyılda Roma ya daha sonra İspanya ve Fransa'ya yayılmıştır. *Pistacia* türlerinin yayılışı ve gen merkezi, Hindistan'ın kuzeyi Afganistan, Tacikistan, Anadolu, Kafkasya, İran ve Türkmenistan olarak tanımlanmaktadır. (Özbek, 1978; Tekin ve ark., 2001).

Yabani antepfıstığı diye bilinen *Pistacia* türleri ülkemizin birçok bölgesinde yayılış göstermektedir. Güneydoğu Anadolu bölgesinde bazı bitki türlerinin yetiştiriciliği sınırlı iken antepfıstığı kendine özgü ekolojik koşulları ve geniş toleransı nedeniyle kurak koşullarda ve diğer bitki türlerinin yetiştiriciliğinin zor olduğu toprak koşullarında dahi kolayca yetişebilmektedir. Bu durum fıstık bitkisi için, bölgenin Dünya'da üretim merkezi durumuna gelmesini sağlamıştır (Özbek, 1978). Ancak geniş tolerans sınırlarına rağmen, her bitki türünde olduğu gibi fıstık türleri de iyi bir gelişim ve verim gösterebilmesi için bazı ekolojik koşullara ihtiyaç duymaktadır.

Fıstık, çoğunlukla taze tüketilmek ile birlikte, şeker, unlu mamuller ve dondurma gibi gıda ürünlerinde kullanılır. Diş ağrısı,kan pıhtılaştırıcı, karaciğer kanseri, apseler gibi folklorik, tıbbi ve gıda dışı kullanımları vardır. (Tous ve Ferguson, 1996). Ayrıca demir hastalıkları ve kolesterol tedavisi ile birlikte, içeriğindeki antioksidan ve resveratrol maddesi sayesinde de anti kanserojen olarak de önerilmektedir. Meyve kabuğu Hindistan'da dericilikte boyama ve tabaklama işlemleri için kullanılırken, reçinesi ise Avrupa ve Ortadoğu'da bir kan pıhtılaştırıcı etken olarak kullanılır.

Antepfıstığı, fenolik bileşiklerin zengin bir kaynağıdır dolayısıyla "benzersiz bir fonksiyonel gıda" olarak düşünülebilir ve son zamanlarda anti oksidan potansiyeli açısından en yüksek ilk 50 gıda ürünü arasına girmiştir.(Halvorsen ve ark. (2006)). Antep fıstığında bulunan fenolik bileşikler (antosiyaninler, flavan-3-ols, protonosiyanidinler, flavonoller, izoflavonlar, flavanonlar, stilbenler ve fenolik asitler) yüksek antioksidan etkileri nedeniyle bilinirler. Çeşitli meyve ve içeceklerin (portakal, yaban mersini, kırmızı şarap) kabuk kısımlarındaki kırmızı renginden sorumlu antosiyaninler, antioksidan, anti-inflamatuar, antikarsinojenik olarak kullanılmaktadır. (Stone ve ark. (2007)).

Günlük diyette antepfıstığının kullanılması, insan sağlığının; kansere,

inflamatuvar hastalıklara, kardiyovasküler patolojilere karşı korunmasına yardımcı olur ve genel olarak,serbest radikaller ile ilişkili patolojik koşulların engellenmesi için şüphesiz yarar sağlayabilir.Öte yandan, antepfıstığı kabuğu gıda, kozmetik ve ilaç endüstrisinde başarıyla kullanılabilir. (Tomaino ve ark. (2010)).

Halk dilinde altın ağaç veya yeşil altın olarak adlandırılan fıstık, *Pistacia* cinsi içerisinde tanımlanır ve yaklaşık olarak 70 cins ve 600'den fazla türü bünyesinde barındıranAnacardiaceae familyasına aittir. *Pistacia* cinsi Dünyada 14'den fazla türle temsil edilirken ülkemizde Flora of Turkey (Yaltırık., 1967 ve Davis et al. 1988)kayıtlarına göre 8 takson (*P. lentiscus* L., *P.atlantica*Desf., *P. eurycarpa* Yaltırık, *P. vera* L., *P. khinjuk* Stocks, *P.x saportae* Burnat ve *P. terebinthus*L.subsp. *terebinthus*.ve*P. terebinthus* subsp. *palaestina*(Boiss.) Engler*)* ile temsil edilmektedir.

PistaciaveraL. Sapindales takımına aitolan mahun cevizi, mango, zehirli sarmaşık, meşe gibitürleri barındıran Anacardiaceaefamilyasının bir cinsidir,9 tür ve 5 alt türe ayrılmaktadır

(*Pistacia vera* **L***)* Fıstık bitkisi türünün sistematik olarak sınıflandırılması;

Bölüm : Phanergamae

Alt Bölüm : Angiospermae

Sınıf : Dicotyledoneae

Alt Sınıf : Choripetales

Takım : Sapindales

Familya : Anacardiaceae

Cins*: Pistacia*

Tür: *Pistacia vera L*

Antepfıstığı yetişme alanlarını belirleyen önemli faktörlerden birisi de sıcaklıktır. Yaz aylarında meyvenin gelişmesi ve olgunlaşması için oldukça fazla ve uzun yüksek sıcaklık, kış aylarında ise belli bir süre düşük sıcaklığa ihtiyaç duyarlar. Özbek'e (1978) göre, antepfıstığının yetiştiriciliğinde sıcaklık dört şekilde etkilidir. Bunlar; kış donları, ilkbahar geç donları, kış dinlenmesi ve yaz sıcaklık toplamıdır Özellikle, sıcaklık

toplamının yeterli olmadığı yerlerde meyveler içlerini tamamen dolduramaz, sert kabuk çıtlamaz ve kabuktan kolay ayrılmaz.Ülkemizde yapılan çalışmalarda, toplam sıcaklık ihtiyaçları farklılık göstermekle beraber Güneydoğu Anadolu bölgesinde yaz ayları ortalama sıcaklık 30^{o}C'nin üzerindedir. Bu sıcaklıktaki gün sayısı ise 98–110 gündür. Bu durum fıstık çeşitlerinin besin değerlerini değiştireceği gibi içerdikleri sekonder metabolitler üzerine de etki gösterebilmektedir.

Antep fıstığı karakter olarak kurak şartlarda yetişebilen bir üründür.Kökler toprakta, anacın türüne ve çeşidine bağlı olarak genellikle 5-6m derinliğe gidebilmektedir. İyi bir verim için toprak neminin yeterli olması gereklidir ancak, çiçeklenme periyodunda uzun süre devam eden serin ve yağışlı hava erkek ağaçların çiçek tozlarının yayılmasını olumsuz etkilemektedir

Toprak özellikleri olarak ise, nispeten derin, süzek, tınlı ve kireçli topraklar da daha iyi gelişim gösterirler. Fıstık bitkisinde erkek ve dişi bireyler farklı ağaçlarda bulunur. Ayrıca periyodisite gösteren meyvelerinbaşında geldiğinden yıllara göre verim değerleri farklılıklar göstermektedir. Pomolojik olarak ise uzun (Uzun, Halebi, Sultani), oval (Siirt, Kırmızı) veyuvarlak (Ohadi, Kerman) olmak üzere üç kısma ayrılır.

Fıstık türlerine ait fizyolojik istekler, coğrafik şartlar, kültür durumları, hastalıklar gibi faklı durumlar düşünüldüğünde aynı türe ait bireyler arasında morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal farklıklıların görülmesi beklenen bir durumdur. Aynı bölge içerisinde bile topografik ve edafik farkların verimi ve içeriği etkileyebileceği düşünüldüğünde tür içerisinde bile farklı sonuçlarının elde edilmesi mümkün görülmektedir.

Bu tez çalışmasında, Siirt ve Gaziantep bölgesinde bulunan fıstık ağaçlarından alınan andrekium, meyve ve toprak örneklerinin analizlerilepalinolojik, edafik ve antioksidant özelliklerinin, ayrıca yapraklarından izole edilecek DNA örneklerinin analizi ile de filogenetik olarak karşılaştırılmaları amaçlanmıştır. Antioksidant özellikler için DPPH, FRAP, Demir şelatlama aktiviteleri, içerik olarak total fenolik ve flavonoid miktarları karşılıklı olarak analiz edildi. Filogeni analizi için ITS ve trnl-f bölgeleri kullanıldı.

2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ

Ülkemizde fıstık, Gaziantep, Şanlıurfa, Adıyaman, Kahramanmaraş ve Siirt illerinde bulunmakta ve üretimimizin de yaklaşık %90 bu illerden elde edilmektedir. Antep fıstığı lezzetli ve besin elementlerince çok zengin bir üründür. 100 gram fıstık içi; 600 kalori, %22 protein, %55 yağ ve %15 karbonhidrat içermektedir. Fosfor,potasyum, kalsiyum, vitamin E, vitamin B1, vitamin B2, ve nikotinamit bakımından zengindir.

Türkiye İran, ABD`den sonra dünyada en fazla fıstığı üreten ülke konumundadır.

Tablo 1.1. Dünyadaki fıstık Üretimi ve Payı (2015 yılı; tahmini değerler)

ÜLKELER	ÜRETİM MİKTARI (TON)	PAYI (%)
İRAN	480.000	46,92
ABD	240.000	23,46
TÜRKİYE	144.000	14,08
ÇİN	80.000	7,82
SURİYE	57.000	5,57
DİĞER ÜLKELER	22.000	2,15
GENEL TOPLAM	1.023.000	100

Ülkemizde fazla miktarda yetiştirilen Uzun grubuna giren antepfıstığı çeşitleri yeşil içli ve lezzetli olmalarına rağmen periyodisite eğilimin fazla olması ve çıtlama oranının düşük olması nedeniyle olumsuzluk göstermektedir. Bunun yanında Yuvarlak grubuna giren çeşitlerde çıtlama oranı yüksek ve iri meyveli olmalarına rağmen tat ve aroma yönünden zayıftırlar (Tekin ve ark., 2001; Balta ve ark., 2003).

Tablo 1.2. Türkiye'deki fıstık ağaçlarının durumu

İLLER	Toplu meyvelik alanı (dekar)	Üretim (ton)	İşletme Sayısı	Meyve veren ağaç sayısı	Meyve vermeyen ağaç sayısı	Toplam ağaç sayısı
Gaziantep	1.298.45	17.231	25986	16.389.700	3.561.788	19.951.488
Şanlıurfa	885.071	21.494	1152	12.011.410	3.656.535	15.667.945
Adıyaman	248.538	9.704	5952	3.864.070	1.076.910	4.940.980
Siirt	190.663	15.228	3405	2.942.800	1.344.000	4.286.800
Kahramanmaraş	66.603	2.438	1625	798.250	236.900	1.035.150
Kilis	59.477	2.349	1415	588.823	65.424	654.247
Batman	20.773	692	596	110.880	276.205	387.085
Manisa	10.490	2.045	462	649.880	259.117	908.997
Mardin	10.141	1.213	204	178.862	142.572	321.434
Mersin	4.990	1.232	541	257.109	109.903	367.012

Fıstık bitkisi ile ilgili birçok farklı ülkede olduk çok sayıda çalışma yapılmış ve yayınlanmıştır.

Barreca ve ark. (2016), yılında yayınladıkları yayında, fıstık kabukları üzerine çalışma gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmada fıstık kabukları etanol ve metanol solventleri ile muamele edilmiş, sonuçlara göre ekstraktların antioksidant ve sitoprodektif etkilere sahip oldukları tespit edilmiştir. Atık ürünlerin kullanılması gerektiği belirtilen makalede etken madde olarak genellikle; gallik acid, hydroksibenzoik asid, proto-kateşhuik acid, naringin, eriodictyol glukozid,quercetin ve kateşin maddelerinin bulunduğunu analiz etmişlerdir.

Grace ve ark. (2016)'nın yaptıkları çalışmada fıstık kabukları analiz edilmiştir. İçerik olarak; anacardik asit (3198 mg/100 g), fatty asit (1500 mg/100 g) vephytosterols (192 mg/100 g) olarak tespit etmişlerdir. Yapılan aynı çalışmada fıstık kabuklarından elde edilen ekstraktların inflamatuar etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Rajaei ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada fıstık kabuklarının, yüksek anti oksidan özelliğe sahip oldukları ve gram pozitif ve negatif bakterilere karşı etkili antimikrobiyal etki gösterdikleri rapor edilmiştir.

Fıstık türleri sistematik olarak çok fazla tartışma konusu olmuştur. Hem ekonomik önemi hem de kültür formlarının bulunuşu nedeni ile tartışmalar devam etmektedir. Yi ve ark. 2008 yılında yaptıkları filogeni çalışmasında; fıstığın monofiletik olduğu, Bazı Pistacia türlerinin gerçek soylu türler gibi görünmemektedir ve gelişimsel ve topocoğrafik olarak farklılıklar gösterdiğini ileri sürmüşlerdir. Örneğin *Pistacia saportae*'nin,*P. lentiscus* ve *P. terebinthus*'la melez olduğu gösterilmiştir

Tomaino ve ark. (2010), yılında yaptıkları antioksidan çalışmasında fıstık kabuklarının, iç kısımlarında çok daha yüksek anti oksidan potansiyele sahip olduklaını öne sürmüşlerdir. Fıstık kabuğunda, iç kısmından farklı olarak; epicatechin, quercetin, naringenin, luteolin, kaempferol, cyanidin-3-O-galactoside and cyanidin-3-Oglucoside maddelerine yüksek miktarda rastlanıldığını analiz etmişlerdir. Sonuç olarak, çalışmada kullanılan, Bronte çeşidi fıstıklarının spesifik antioksidan gücü ortaya konulmaya çalışılmış. Ayrıca günlük diyetlerde Antep fıstığının kullanılması, kansere, inflamatuvar hastalıklara, kardiyovasküler patolojilere karşı şüphesiz yarar sağlayabileceği ileri sürülmüştür. Öte yandan, fıstığın kabuk kısımlarının, kozmetik ve ilaç endüstrisinde başarıyla kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Tsantili ve ark, (2010) yaptıkları çalışmada, farklı kökenlerden fıstığı tanelerinin; (Aegina, Pontikis, Bronte, Cerasola, Joley, Kerman, Mumtaz ve Sirora) bazı fiziksel, bileşim ve duyusal özelliklerine göre değişik çeşitlilikteki farklılıklarını incelenmişlerdir.

10 adet fıstıkağırlığının, 15.23 gr (Kerman) ila 9.7 gr (Cerasola) arasında değiştiği, Ham protein içeriğinin%21,87 (Cerasola) ile%18,99arasında değiştiği, ayrıca yağ oranının %57,62 (Joley) ve 49,79 (Joley) arasındaki değiştiğini tespit etmişlerdir. Sonuç olarak üreticilerin, doğal olarak sarımsı kılıf rengiyle büyük boyuttaki fıstıkları tercih ettikleri sonucuna varmışlardır. Ancak Ölçülen tüm fiziksel ve kompozisyon özelliklerinin çoğunun çeşide ve fito-coğrafya özeliklerine bağlı olarak önemli oranda etkilendiği ve değişebileceği sonucuna ulaşmışlardır.

Yine Tsantili ve ark. (2011) yılında yaptıkları çalışmada fıstık tanelerinin kurutulma ve depolama kriterlerinin, fıstığını antioksidan ve besin değerlerini etkileyebileceği sonucu ileri sürülmüştür. Depolama sırasındaki çeşit, zaman, sıcaklık ve paketlemenin Total fenolik, total flavonoid FRAP ve DPPH üzerinde anlamı ve önemli değişiklikler meydan getirdiklerini ortaya koydular.

Goli ve ark. 2005 yılında gerçekleştirdikleri çalışmada, fıstık kabukları farklı solventler ile muamele edilmiştir. Bu çalışmaya göre su ve metanol ekstrelerinde 34-38 mg/g fenolik madde elde edilir iken, etil asetatlı ekstrelerde, 5-8 mg/g fenolik madde tespit edilmiştir. Fıstık bitkisi ile yapılan çalışmalarda, su özütlerinin yüksek fenolik içeriği (32.0-34.0 mg / g) olduğu bulunmuştur, bu nedenle fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için en iyi yöntem, su veya metanol ile özütlenmesi gerektiği ileri sürülmüştür.

Özellikle Güney Doğu Anadolu bölgesinde besin ve ekonomik açıdan değerli olaraküretilen ve tüketilen *Pistacia vera* L. (Antepfıstığı) literatürde verilen içerikmaddeleri bakımından incelendiğinde sahip olduğu birtakım biyolojik aktivitelerisayesinde günlük besinlere ek olarak hastalıklardan korumaya yardımcı (Surh, 2003)ve tedavi edici (Kalkancı ve ark., 2007) olduğuna yönelik bilgiler mevcuttur.

Antepfıstığı tohumunun bileşiminde %53,8 yağ, %20 protein, %15 şeker ve %11,2oranında nişasta bulunmaktadır. Ayrıca fosfat, potasyum, kalsiyum, vitamin E,vitamin B1, vitamin B2, nikotinamit ve resveratrol bakımından zengindir (Gentileve ark., 2007)

Gıda sektöründe oldukça fazla ticari öneme sahip olan *P. vera* L., tohum, dal ve yaprak doku özütlerinin değişik biyolojik aktiviteleri ile ilgili bilimsel verilerliteratürde yer alırken iç zarı yani testası ile ilgili sadece bir bilimsel veriyerastlanmış ve bu veriye göre testasının antioksidan özelliği olduğu bildirilmiştir(Kendirci ve Onoğur., 2011).Ülkemizin önemli ürünlerinden olan *P. vera* L.*'* nın tohum ve testasının

antioksidanaktivite gösterdiği verisi (Sari ve ark., 2010) Antepfıstığının kansere karşıkoruyucu gıdalar arasında yer alabileceği fikrini doğurmuştur.

Birçok çalışmada ultraviyole (UV) radyasyona maruz kalmanın neden olduğu cilt zararına karşı canlı organizmayı korumak için yüksek oranda polifenolik madde (flavonoidler, hidroksisinnamik asit) içeren bitkilerin kullanılabileceğini rapor etmiştir. Martorana ve ark.'ın 2013 yılında gerçekleştirdikleri çalışmada, Bronte fıstıklarının soyulmuş kabuklarından elde edilen ve polifenol bakımından zengin iki ekstraktın kimyasal bileşimi ve antioksidan özellikleri araştırılmıştır. Elde edilen veriler ışığında kabuk kısımlarının yüksek antioksidan özelliğe sahip oldukları ayrıca, topikal kozmetik ve farmasötik formülasyonlarda foto koruyucu bileşenler olarak başarıyla kullanılabileceği önerisini ileri sürmüşlerdir.

Pistacia cinsinin filogenisi ve türleri arasındaki ilişkiler tartışmalıdır ve henüz daha tam olarak anlaşılamamıştır. Talebi ve ark. (2012)yaptıkları çalışmada, 30 primer kombinasyonunu tarayarak; İran, Suriye, Türkiye ve Birleşik Devletlerden alınan 36 fıstık ırkının nitelendirilmesinde diziye bağlı amplifiye polimorfizm (SRAP) tekniğinin uygulanmasını rapor etmektedir. Küme analizi ile yapılan tür bazındaki gruplamalarda *Pistacia vera*'ya en yakın tür *Pistacia atlantica*, ardından *Pistacia khinjuk* olduğu tespit edilmiştir.

Fıstık bitkisi dioik olduğundan, tozlaşma Pistacia türlerinin gelişimini etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Tüm Pistacia türleri birbirlerini tozlaştırabilir veya dölleyebilir. Doğal tozlaşma yeterli olmadığı zaman suni tozlaşmalar yerini almaktadır (İsfendiyaroglu ve ark., 2003). Tarım ve polinizasyon biyolojisi bakımından değerlendirildiğinde, yeterli ve üstün döllenmenin önemi ortaya çıkmaktadır. Ayrıca erkek ağaçlar dişi çiçekler alıcı olmadan önce polen dökme eğilimindedir. Bu durum iki tür sorunun ortaya çıkmasına neden olabilir. Yetersiz tozlaşma durumunda boş fıstıklar oluşumu ve çimlenen tohumların verimi azaldığı için rejenerasyonun gelişmesi sorunu. (İsfendiyaroglu ve Ozeker, 2001).

Fıstık bitkisine ait polen taneleri değişkenlik göstermektedir. Pistacia polen tanelerini sfero veya oblat olarak tanımlarken, Alyafi (1979); Zavada ve Dilcher (1986) küresel bir şekle sahip olduğunu bildirmişlerdir. Belhadj ve ark. 2007 yılında *Pistacia atlantica* polen taneleri ile yaptıkları çalışmada polen tanelerinin şekli ve büyüklüklerinin kuraklık ve yükselti durumlarına göre üç gruba ayırmışlardır.

3. MATERYAL METOT

3.1. Fıstık örneklerinin hazırlanması

Fıstık örnekleri Siirt (Botan, Tillo, Gökçebağ) ve Gaziantep (Belkıs, Turlu) illerinden belirlenen lokalitelerden, uygun zaman ve yeteri miktarda toplandı. Elde edilen örnekler yaprak, meyve kabuğu ve meyve içi olacak şekilde üç farklı kısımlara ayrıldı. Örnekler temizlenerek gölgede kurumaya bırakıldı. Elde edilen kısımlar;

1. Siirt Yaprak
2. Gaziantep Yaprak
3. Siirt kabuk
4. Gaziantep kabuk
5. Siirt iç
6. Gaziantep iç

olmak üzere 6 kısıma ayrılarak ile çalışmaya başlanıldı.

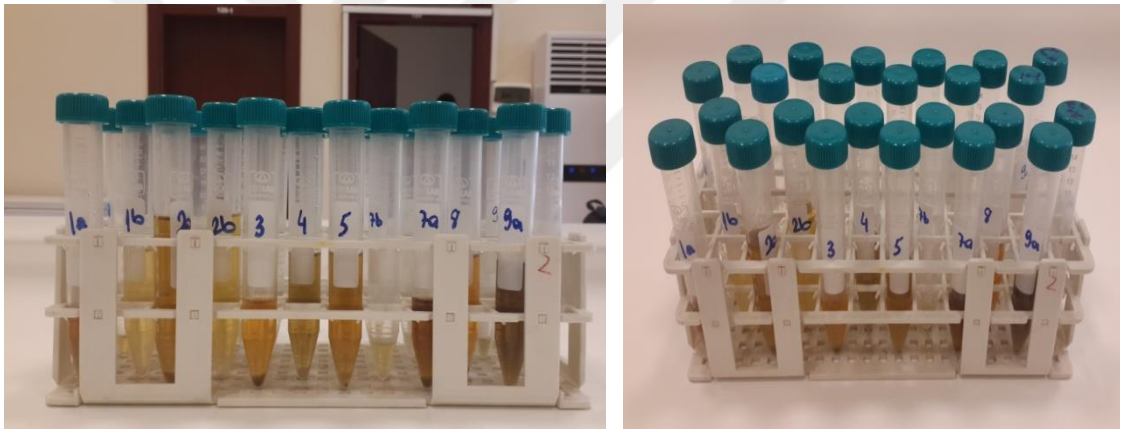
Şekil. 3.1. Antep ve Siirt fıstıklarına ait genel görüntüler

Gölgede kurutulan ve farklı kısımlarına ayrılan bitki kısımları laboratuvar öğütücüsü ile parçalandı. Parçacıklar elekten (0,5 mm) geçirilerek tüm kısımların aynı büyüklükte olmaları sağlandı. Bitki materyalleri uygun kap ve şişelerde ekstraksiyon aşamalarına kadar buzdolabında muhafaza edildi.

3.2. Bitki Ekstraksiyonlarının Hazırlanması

Öğütülen bitkiler için saf su ve metanol (%80) solventleri kullanıldı. Fıstık kısımlarından 5'er gr alındı. Üzerlerine 50 ml saf su ve %80'lik metanol eklendi. Örnekler; 5 dakika boyunca laboratuar öğütücüsünde fiziksel olarak, daha sonra 5 dakikada doku parçalayıcıda (sonikatör) mekanik olarak homojenize edildi. Etrafları folyo ile kapatılarak,12 saat boyunca oda sıcaklığında çalkalayıcıda çalkalandı. Süre sonunda numuneler alınarak 7.500 rpm hızda santrifüj edildi. Santrifüj sonunda elde edilen supernatantlar toplanarak metanol kısımları uçuruldu.

Elde edilen ham ekstraktların ağırlık değerleri hesaplanarak tüm numuneler 10 mg/ml olacak şekilde yine kendi çözgenleri ile sulandırıldı. Analiz işlemlerine kadar numuneler + 4 ° C'de saklandı.



Şekil 3.3.Fıstık örneklerine ait su ve metanol ekstrelerinin elde edilmesi

3.3. Analiz Yöntemleri

Çalışmada elde edilen ekstraksiyonların etki değerlerinin anlaşılması ve lokasyon değerlerinin (Siirt-Gaziantep) karşılaştırılması amacı ile; total fenolik, total flavonoid, DPPH, FRAP ve demir şelatlama, aktiviteleri analiz edildi. Analizler; literatür ve çalışma bitkisine uygun olarak modifiye edilerek uygulandı.

3.3.1. Total Fenolik İçeriği

Fenolik madde içeriği için ekstraktlarının FCR reaktifi ve Na_2CO_3 ile verdiği reaksiyonu sonucu elde edilen yeşil rengin elde edilmesi esasına dayanmaktadır.

Elde edilen 6 farklı ekstraktın hazırlanan her bir konsantrasyon için ayrı ayrı tüplere 1'er ml numune konuldu. Üzerlerine 1'er ml FCR (Folin-Ciocalteu) reaktifi ilave edildi. 3 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 1 ml doygun Na_2CO_3 (%7) ilave edildi. Bu aşamada köpürme ve yeşil renk oluşumu beklendi. Daha sonra 90 dakika oda sıcaklığında karanlıkta inkübasyona bırakıldı. 725 nm dalga boyunda absorbansı alındı.

Kör; 1 ml çözücü+ 1 mL FCR +1 mL %7'lik Na_2CO_3

Standart ise gallik asitin farklı konsantrasyonları ile (0.05-1 mg/mL) çözeltileri ile hazırlandı. Slinkard ve Singleton (1977), Su ve ark.. (2007)

3.3.2.Total flavonoid içeriği

Flavonoid içeriği $NaNO_2$'lı ekstraktların $AlCl_3$ ile verdiği reaksiyonun 510 nm dalga boyunda okunması sonucu yapılan çalışma esasına dayanır.

1 ml Ekstrakt (Hazırlanan her konsantrasyon için ayrı) üzerine 400 µl %80 metanol eklendi. Daha sonra 30 µl %5 $NaNO_2$ ilave edilip ile 6 dakika bekletildi. Süre sonunda 30 µl %10 $AlCl_3$.6H2O eklenip İyice çalkalanarak, 6 dakika daha bekletildi. Son olarak 400 µl NaOH (1M) eklendi ve 15 dakika beklendi. Elde edilen pembemsi renk 510 nm dalga boyunda okundu

Kör: % 80 metanol + 30 µl % 5 $NaNO_2$+30 µl % 10 $AlCl_3$.6H2O+ 400 µl NaOH(1 M)

Regresyon; Rutin'in farklı konsantrasyonları (0,1-1 mg/ml) göre yapıldı. (Park ve ark. (2008))

3.3.3. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi

DPPH çözeltisi, 517 nm'de maksimum absorbans gösteren koyu mor bir renk oluşturur. Bu DPPH çözeltisine antioksidan madde veya maddeler içeren bir solüsyon eklendiğinde bu koyu mor renk zamanla rengini kaybetmeye başlar. Renk değişimi antioksidan maddelerin DPPH radikalini baskılamasının kolorimetrik belirteci olarak kabul edilir. Değişim yüzde (%) olarak ifade edilir.

Hazırlanan her bir konsantrasyon için ayrı ayrı tüplere 1'er ml bitki ekstraktları konuldu. Üzerine 4 ml DPPH (0.001 M DPPH, saf metanolde çözünmüş) çözeltisi eklendikten sonra iyice karıştırıldı. Daha sonra 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Spektrofotometrede 517 nm'de absorbansları ölçüldü.

Kontrol için 4 mL DPPH üzerine 1 mL metanol konuldu,

DPPH aktivitesi (% inhibisyon) = ($A_K - A_1$) / $A_K \times 100$

(A_K: KontrolAbsorbansı, A_1: Numune Absorbansı) Blois (2002)

3.3.4. FRAP analizi

Antioksidan aktivitesini gerçekleştirmek için Müler ve arkadaşlarının (2011)'de yaptığı protokol modifiye ederek FRAP yöntemi gerçekleştirildi.

Buna göre taze hazırlanan FRAP çözeltisi için; Sodyum asetat (300 mM, PH 3.6),40 mM HCL ile hazırlanmış 10 mM TPTZ (2,4,6- Tris (2-pyridyl)-s- triazin) ve20 mM ferric klorid çözeltisi, 10:1:1 oranında karıştırıldı. Konsantrasyonu belirgin örnekten 100 µl alınıp 3 mL FRAP solisyonu eklendi. Birer dakika aralıklarla karıştırıldı, daha sonra 37˚C'de 4 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda 593 nm dalga boyunda absorbans okumaları gerçekleştirildi.

Kalibrasyon körü ferrosülfat ile hazırlandı. Sonuçlar kurutulmuş ağırlığın her gramına karşılık gelen mM $FeS0_4^{-2}$ olarak ifade edildi.

3.3.5. Demir şelatlama aktivitesi

Demir iyonlarının indikatörü olan ferrozin demir iyonları ilekompleks oluşturarak solüsyonun magenta rengini almasına sebep olmaktadır. Renk değişimi 562 nm'de maksimum absorbans vermekte olup, metal şelatlamanın belirteci olarak kullanılmaktadır (Dinis ve ark.,1994).

1 ml Ekstrakt (Hazırlanan her konsantrasyon için ayrı) üzerine 0.05 mL'lik 2mM'lık $FeCl_2$ solüsyonuna eklendi. Elde edilen karışıma daha sonra 5 mM'lık 0.2 mL ferrozineilave edildi.Toplam hacim kullanılan çözücü (Metanol veya Aseton/Etanol/Su) ile 5 mL'ye tamamlandı ve 10 dk. oda sıcaklığında beklendi.

Renk değişimi 562 nm'de absorbans değerler okundu.

Kontrol için ;200 µL ferrozin (5 mM) üzerine 50 µL FeCl2 (2 mM) ve 3.75 mL çözücü. Kör için; 0.05 mL FeCl2 + 4 mL çözücü.

3.4. Moleküler Analiz

3.4.1. Ticari kit ile bitkiden genomik DNA izolasyonu

Yaklaşık olarak 100 mg taze doku tartılarak havan içinde sıvı azot ile toz haline gelinceye kadar ezildi. Kit protokolüne göre; numunelere 350 µl Lizis A tamponu

eklendi, 20-30 saniye vortekslendi. Daha sonra Lizis B tamponundan 50 µl, RNAaz' dan 20 µl tüpün içine aktarıldı. Karışım 65 º C'de karıştırıldı. Zaman zaman vortekslemek suretiyle 10 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı. Üzerlerine 130 µl presipitasyon solusyonu eklenerek karıştırıldı.

Buz üzerinde 5 dakika inkübasyona alındı. Daha sonra 14.000 rpm' de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Süpernatant toplanarak steril bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılarak üzerine 400 µl bitki genomik DNA bağlanma solüsyonu ve 400 µl %96'lık etanol eklenip iyice karıştırıldı. Bu karışım daha sonra kolona aktarıldı ve 8000 rpm de 1 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj sonunda kolondan aşağı süzülen sıvı atıldı ve kolon üzerinde kalan karışımı süzmek için tekrar 8.000 rpm' de 1 dakika boyunca santrifüj edildi. Daha sonra yıkama tamponu I'den 500 µl alınarak kolona transfer edildi. 1000 rpm de 1 dakika boyunca santrifüj edildi. Kolondan süzülen sıvı atıldıktan sonra yıkama tamponu II'den 500 µl alınarak kolonun üzerine transfer edildikten sonra 14.000 rpm de 3 dakika boyunca santrifüj edildi. Kolondan süzülen sıvı atıldıktan sonra kolona bağlanmış olan genomik DNA' yı toplamak için kolon 1,5 ml' lik temiz bir santrifüj tüpüne yerleştikten sonra üzerine 100 µl Eluasyon çözeltisi kolonun tam ortasına gelecek şekilde eklendi.

Toplanmış DNA veya pürifiye edilmiş Genomik DNA saklamak üzere -20 ºC' de derin dondurucuya konuldu.

3.4.2. CTAB yöntemi ile DNA ekstraksiyonu

0.200 mg bitki örneği tartılarak ependorflara konuldu ve ependorflara numaralar verildi. Üzerlerine 55 º C' de 30 dakika sıcak su banyosunda bekletilen CTAP çözeltisinden 650 µl eklenerek 5 dakika aralıklarla vortekslendi. Ayrıca her bir örnek 30 saniye sonikatöre tabi tutuldu. Sonikatör işleminden sonra tekrar vortekslendi. Süre sonunda örnekler 12.000 rpm de 5 dakika santrifüje tabii tutuldu. Santrifüjden sonra süpernatant (üst fazı) temiz bir şekilde alınarak yeni ependorflara aktarıldı. Daha sonra üzerine 200 µl kloroform /izoamil alkol (24:1) eklenerek yağ asitlerinin ayrılması için iyice karıştırıldı. 13.000 rpm de 1 dakika santrifüj edilerek süpernatantın üst kısmı alınarak temiz ependorflara aktarıldı.

Üst fazı alınan ependorfların her birinin üzerine 5 M'lık 60 µl amonyum asetat eklendi. DNA pelletleri 500 µl saf alkolle temizlendi. Ependorflar 5 dakika buzun içine konuldu. Daha sonra 13.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Alkol kısmı dökülerek dipteki DNA % 70'lik alkolle tekrar yıkandı. Örnekler 13.000 rpm' de 1 dakika santrifüj

edildi. Alkol kısmından arındırılarak kurutulan DNA pelletlerinin üzerine 50 µL TE tamponu eklendi ve çözündü. Numuneler PCR çalışmasının gerçekleştirilmesi için + 4 º C'de saklandı.

CTAP Çözeltisi; 2 gr. CTAP (Hekzadistel trimetil amonyum bromid), 10 ml 1M Tris-HCl (pH: 8), 4 ml EDTA (0.5 M), 28 ml NaCl (5 M), 1 g PVPP (Polivinil polipirilidon) ve 40 ml su.

3.4.3. CTAP yöntemi Karaca protokolu ile DNA ektraksiyonu

Örneklerden DNA ekstraksiyonu aşağıda özetlendiği şekilde gerçekleştirildi. DNA ekstraksiyonu Karaca ve ark. (2005)'e göre gerçekleştirildi.

1) Her bir bitkiden 2-3 yaprak alınıp havan yardımıyla bu örnekler sıvı azot ile toz haline gelene kadar iyi bir şekilde ezildi. Her bir örnek için her havana 100 mg PVPP önceden eklendi.
2) Toz haline getirilen örneklerin her birinden 1 gr alınarak ependorflara konuldu ve üzerlerine 2.500 µL EB çözeltisi eklendi. 3-5 dakika vortekslendikten sonra 7.800 rpm de 10 dakika boyunca santrifüj edildi.
3) Tüplerdeki süpernatant (üst faz) dikkatlice döküldü ve alttaki pellet (kalıntı) 1.500 µL LB çözeltisinde vortekslenerek çözündü. Üzerine 1.500 µL LiCL eklenerek tekrar vortekslenerek iyi bir şekilde karışması sağlandı.
4) Her bir tüpe daha 300 µL %20'lik SLS (Sodium lauryl sarcosinate) çözeltisi eklendi ve tüpler parafilmlenerek 65 ºC'ye ayarlanmış su banyosunda 40 dakika süreyle bekletildi. Ancak her 20 dakikada bir 3-5 dakika vortekslendi ve en son su banyosundan çıkartıldıktan sonra tekrar vortekslenerek karıştırıldı.
5) Su banyosundan alınan her bir örnek üzerine 4 ml 1:24 oranında CIS (Kloroform/ izoamil Alkol) eklendi ve 10 dakika bir sürede oda sıcaklığında (24 º C) bekletildi.
6) Tüpler 7.800 rpm de 10 dakika santrifüjlenerek 3 faz oluşturulmuş ve en üst fazdan (süpernatant) alınabildiği kadar yeni bir tüpe alındı.
7) Her bir tüpten alınan süpernatant miktarı kadar üzerine CIS eklenerek (600 µl) 10 dakika boyunca oda sıcaklığında sallanarak bekletildi.
8) Oda sıcaklığında bekletilmiş olan tüpler daha sonra 10.000 rpm de 10 dakika boyunca santrifüje tabii tutuldu.
9) Üst faz temiz bir tüpe alındı ve 3 ml izoproponal (2- proponal) eklendi.
10) Her bir tüpe ilk alınan hacmin 1/ 20 si kadar 5M NaCl eklenmiş ve 5 dakika bir süreyle oda sıcaklığında bekletildikten sonra 5.000 rpm de 5 dakika santrifüj edilmiş ve üst faz dikkatlice uzaklaştırılmıştır.

11) DNA pelleti üzerine 390 µl TE çözeltisi ve 10 µl RNaz(10 µg) eklenmiş ve vortekslenerek 30 dakika bir süreyle 37 º C de bekletildi.
12) Bu sürenin sonunda 40 µl 3M sodyum asetat (NaAc) eklenmiş ve bu karışıma da 1 ml etanol eklendikten sonra karıştırılmış ve 5.000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi.
13) Süpernatant dikkatlice döküldü ve tüpler temiz bir havlu üzerinde ters çevrilerek etanol kalıntısı uzaklaştırıldıktan sonra DNA pelleti 0.2 mL pH:8 TE' de çözüldü.
14) Örnekler kullanılmak üzere +4 º C veya derin dondurucuda bekletildi.

EB (extraksiyon tamponunun)'nin hazırlanması; 0,35 M sorbitol, 100 mM Tris HCl, 5 mM EDTA, %2 Tween 20, %1 Triton X, %1 BME (Beta merkaptoetanol).

LB (extraksiyon tamponunun)'nin hazırlanması; 200 mM Tris HCl, 50 Mm EDTA %2 Triton X, %1 BME (Beta merkaptoetanol), %2 PVPP.

3.5. DNA Ekstraksiyonların Tespit Edilmesi

Üç farklı protokol yöntemi ile izole edilen DNA örnekleri agaroz-jel ile tespit edilmeye çalışıldı. Bunun için %1'lik TBE çözeltisiyle hazırlanan agaroz mikrodalgada ısıtılarak soğumaya bırakıldı. Elektroforez tankına dökülmeden önce içerisine 6 µl etidyum bromid çözeltisi eklendi. Çözelti tanka dökülerek soğumaya bırakıldı.10 µl DNA örneği 4 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak taraklara yerleştirildi. 80 volt 100 mA elektrik akımı örneklere uygulandı. Örneklerin DNA içeriklerinin durumu BIO RAD marka Gel Doc EZ Imager model görüntüleme sistemi ile görüldü.

3.6. PCR Protokolü

3.6.1. DNA' nın denatürasyonu

92-95 °C' de çift iplikçikli yapı denatüre olup, tek iplikçikli hale geçer. 1-5 dakika yeterlidir.

3.6.2. Primerlerin bağlanması

Primerler sentetik olarak hazırlanan 15-30 bazlık oligonükleotidlerdir .Rastgele seçilirler ve kendine komplamanter bölgeyi bulup tutunurlar ve DNA sentezinin ilerlemesine basamak olurlar. 30-35 °C sıcaklıkta primerler komplamenteri olan denatüre tek iplikçikli DNA nın 3ˈ ucuna tutunur ve 3ˈ-5ˈ boyunca bağlanır. Bağlanma süresinin

bitiminde 70-72 ºC sıcaklıkta Taq polimeraz enzimi vasıtasıyla ortamdaki dNTP ler kullanılarak genomik DNA' nın kopyaları elde edilir.

3.6.3. Denatürasyon (DNA zincirinin açılması)

Kalıp DNA (template DNA), 92-95 °C'de 1-2 dakika tutularak çift sarmal yapıdaki DNA iplikçikleri birbirlerinden ayrılmaktadır. DNA zincirini ayırmak için, bazı durumlarda 5-10 dakika ön ısıtma yapmak gerekebilir.

6.3.4. Annealing (primerlerin açılan DNA zincirlerine yapışması) Reaksiyon sıcaklığının, 37-65 °C'ye düşürülerek oligonükleotid primerlerinin açılan DNA zincirlerinin kendi baz dizilerine karşılık gelen bölgeye yapışması işlemidir. Bu işlem, üretilecek baz uzunluğuna bağlı olarak 30-60 saniyede gerçekleşmektedir.

6.3.5. Primer extesion (primer uzaması)DNA zincirleri üzerine yapışan primerlerin DNA polimeraz enzimi (Taq DNA polymerase) vasıtasıyla uzatılmasıdır. Taq DNA polymerase 72 °C sıcaklıkta daha iyi çalıştığı için genel olarak tüm çoğaltma işlemleri bu sıcaklıkta yapılmaktadır (Erlich ve ark. 1991). PCR sonucunda elde edilen ürün, çoğaltılması hedeflenen DNA parçası ile iki primerin toplam uzunluğu kadardır (Hadidi ve ark., 1995). Üç basamaktan (denaturation, annealing, primer extension) oluşan işlem, bir PCR devrini temsil eder. Bu işlem, genel olarak 25 ile 40 defa tekrar edilerek başlangıçtaki DNA dizisinden milyonlarca yeni DNA parçacığı çoğaltılır. PCR sonucunda elde edilen DNA parçacıkları agaroz veya poliakrilamit jellerde yürütüldükten sonra, ethidium bromide (EtBr) veya gümüş nitrat (GN) ile boyanarak gözlemlenir.

Araştırmada elde edilen genomik DNA 'ların kullanılabilirliğini belirlemek amacıyla

Forward ITS 5A TCCTCCGCTTATTGATATGC
Reverse ITS 4 CCTTATCATTTAGAGGAAGGAG
trnLf ATTTGAACTGGTGACACGAG
trnLe GGTTCAAGTCCCTCTATCCC

primerleri kullanıldı. Elde edilen genomik DNA parçalarının çoğaltılması için PCR uygulamasına geçildi.
PCR makinesinin kullanıldığı çalışmada PCR protokolu için;

- 2µl genomik DNA,
- 6 µl $MgCl_2$,
- 1 µl primer,
- 1.8 µl dNTP,
- 0.4 µl Taq polimeraz olacak şekilde süpermix hazırlandı.

  PCR programı için ise;
- 95 °C'de 3 dakika,
- 94 °C'de 1 dakika
- 52 °C'de 45 saniye
- 72 °C'de 2 dakika olarak toplam
- 35 döngüde yürütüldü.

3.2. Palinolojik Özelliklerinin Tespit Edilmesi

Çalışmada kullanılan fıstık çiçeklerinden elde edilen polen örnekleri jelatin gliserin ortamına aktarılarak boyanması sağlandı.

3.2.1. Jelatin gliserin ortamının hazırlanması

1gr jelatin, 6 ml su içinde yumuşaması için 1 saat tutuldu. Üzerine 7 ml gliserin ilave edilerek 50 °C' lik su banyosunda 10-15 dakika yavaşça karıştırıldı. Karışıma dezanfektan olarak bir parça timol kristali eklendi. Hazırlanan gliserin jelatin ortamına spatül ucuyla polenlerin boyanmasını sağlayacak olan safranin az miktarda eklendi.

Polen görüntülerinin elde edilmesi için toplanılan fıstık çiçekleri üzerindeki tekalar saat camının üzerine konularak %70' lik alkolle yıkandı. Tekaların içindeki polenleri çıkarmak için iğne uçları kullanıldı. Elde edilen polenler daha sonra lam üzerine alınarak bir parça gliserin jelatin konularak lamelle kapatıldı. CX 31 model Olympus marka mikroskop ve 100 x 'lik objektif ile polen görüntüleri alındı.

3.7. Toprak Analizleri

Farklı lokasyonlardan alınan toprak örnekleri Siirt Sanayi Ticaret Odası'na ait toprak analiz laboratuvarında analiz edildi. Metot ve analizler için;

1. **Toprak Tekstürü;** Deneme alanı topraklarının kum, kil ve silt fraksiyonları Bouyoucous (1951) tarafından bildirildiği şekilde hidrometre yöntemine göre belirlenmiş

2. **Toprak Reaksiyonu;** Jackson (1962)'in belirttiği gibi pH değerleri saf su ile 1.2.5 oranında sulandırılarak belirlenmiştir.
3. **Kireç;** Hızalan ve Ünal (1966) tarafından belirtildiği gibi, Scheibler kalsimetresi kullanılarak saptanmıştır.
4. **Tuz İçeriği;** Richards (1954)' ün bildirdiği şekilde saturasyon çamurunda elektriksel iletkenlik, elektriki kondaktivite aleti ile ölçülerek eriyebilir tuz içeriği hesaplanmıştır.
5. **Organik Madde;** Modifiye edilmiş Walkley-Black yöntemine göre belirlenmiştir (Walkey, 1947).
6. **Azot;** Kjeldahl yöntemine göre belirlenmiştir (Kacar, 1994).
7. **Kullanılabilir Fosfor;** Sodyum bikarbonat yöntemine göre belirlenmiştir (Olsen ve ark., 1954).
8. **Değişebilir Potasyum, Kalsiyum ve Magnezyum;** Thomas (1982)'e göre1 N Amonyum asetat ile çalkalanarak Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresinde belirlenmiştir.
9. **Toprakta Ekstrakte Edilebilir Mikro Besinler;** Toprak örnekleri DTPA ile ekstrakte edilerek Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresinde belirlenmiştir (Kacar, 1994).

4. BULGULAR

4.1. Morfolojik özellikler

Siirt fıstığı diğer fıstık çeşitlerine göre daha iri taneli oluşu, aroma ve tadındaki farklılıklarından dolayı Antep fıstığı çeşidine göre piyasada çoğunlukla taze çerez olarak tüketilmektedir. Antep fıstığı ise daha çok tatlı ve dondurma gibi gıda ürünlerinde tercih edilmektedir.

Morfolojik olarak Antep fıtığı meyvelerinin daha küçük olduğu, Antepfıstığıkabuklu meyvesininbüyüklüğünü belirten uzunluğun 16,47 - 22,6 mm ve ağırlığının0,61–1,23 g değerleri arasında bulunduğu tespit edilmiştir. Siirt fıstığı kabuklu meyvesinin uzunluğu 19,9–23,9 mm ve ağırlığı 0,9-1.77 gr arasında değişiklik göstermektedir.

4.2. Palinolojik özellikler

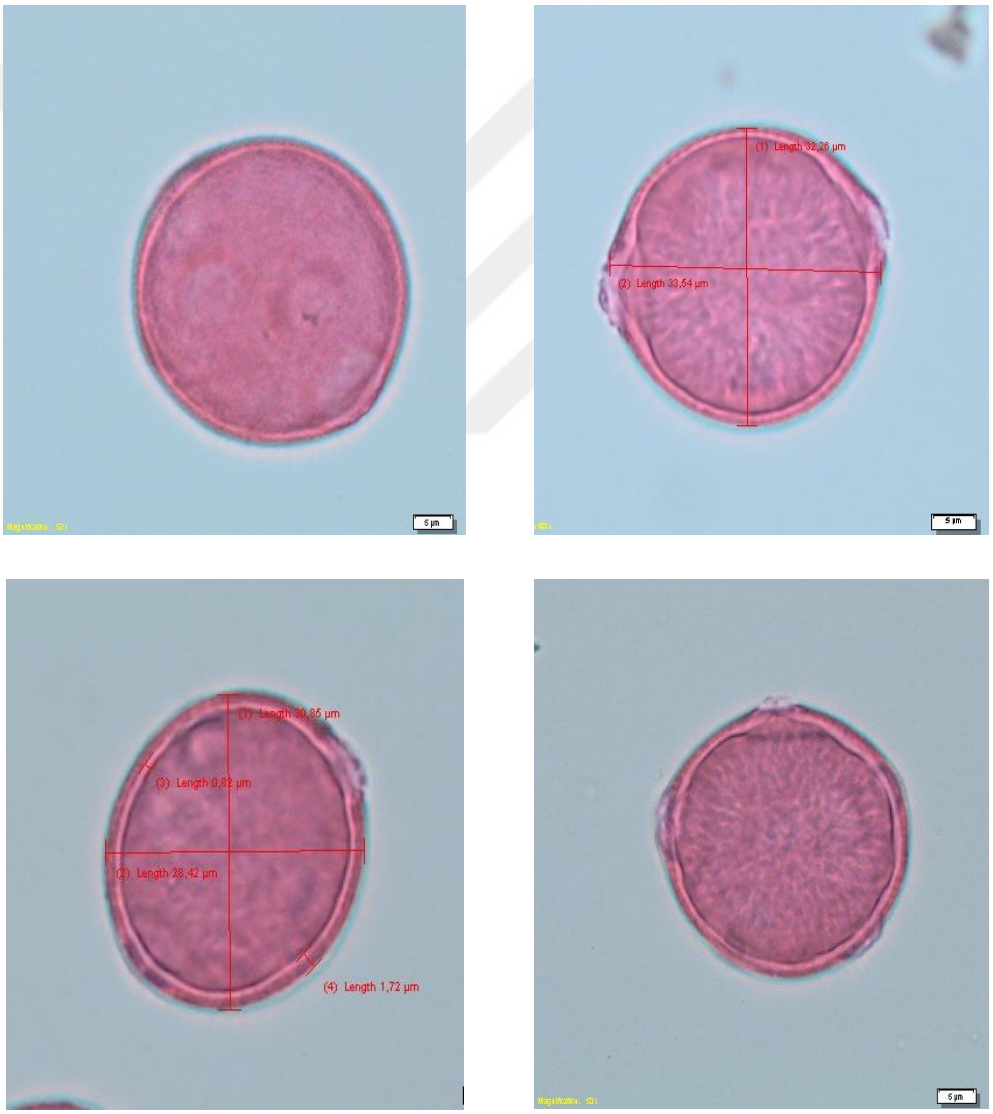
Tez çalışmasında Antep ve Siirt fıstık ağaçlarında bulunan erkek bireylerden örneklemeler yapılmıştır. Her bir örneğe ait 20farklı polen görüntüsü ışık mikroskobu altında incelenerek ölçüm değerleri tespit edilmiştir.

Şekil 4.1. Anter görüntüleri

Tez çalışması palinolojik olarak değerlendirildiğinde, çalışılan çeşitlere ait polen görüntülerinin birbirleri ile benzerlik gösterdikleri belirlenmiştir. Polen görüntülerinin çeşit ayırım ve tanımlanmasında kullanılmasının uygun olmadığı tespit edilmiştir.

Fıstık çeşitlerine ait polen görüntülerinin uzunluk değerleri mikroskop kamerasına bağlı olarak çalışan Stream Start programı ile otomatik olarak hesaplanmıştır. Bu amaçla polen tanelerinin exin ve çap uzunluk değerleri mikrometre birimi cinsinden ölçülmüştür. Ölçümler için 20 farklı polen tanesinden elde edilen görüntülerin ortalamaları değerleri hesaplanmıştır. Siirt ve Antep bölgelerinin erkek bireylerinden alınan örneklerin morfolojik olarak aynı olgunluğa sahip oldukları dönemin seçilmesine dikkat edilmiştir.

Siirt bölgesine ait fıstık çeşitlerindeki exin uzunluk ölçülerinin 0,72-1,46 µm arasında değiştiği, polen tanelerinin çap uzunluklarının ise 28,17-35,73 µm arasında farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. (Şekil 4.2)

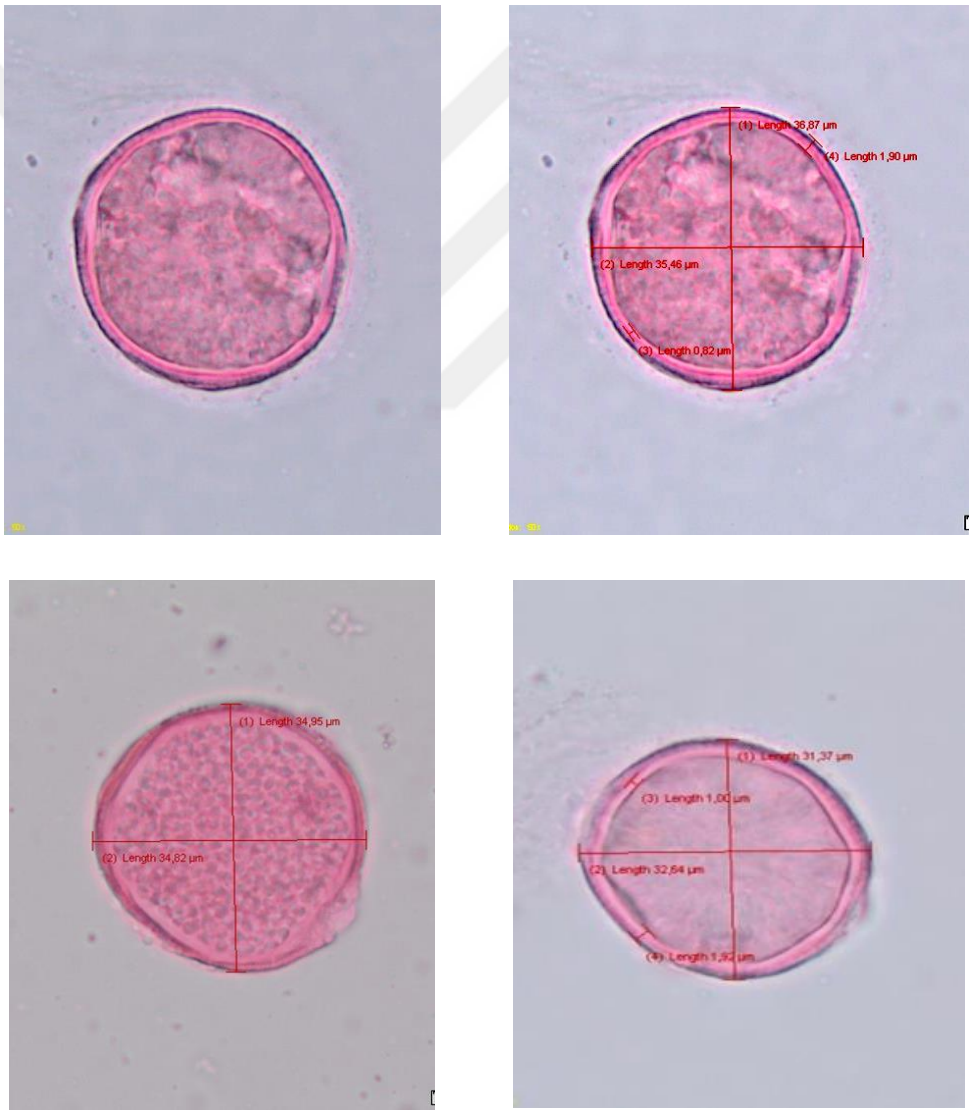


Şekil 4.2. Siirt fıstığına ait polen görüntüleri

Antep bölgesinden alına polen özelliklerinde ise polenlerin exin uzunluğunun 0,82-1,90 µm arasında değiştiği, çap uzunluğunu ise 28,25-35,92 µm arasında değerler gösterdiği ölçülmüştür.

Yapılan polen analiz ve literatür araştırmalarında fıstık polenlerinin hem Antep hem de Siirt bölgelerinde ölçüm açısından anlamlı farklılıkların olmadığı, ölçüm ve morfolojik özelliklerin birbirlerine benzerlik gösterdikleri tespit edildi.

Yapılan literatür araştırmalarında polen tanelerinin; polen şeklinin oblong-spheroidal, ornamentasyonunun, perforat ornamentasyon, apertür şeklinin ise poliporat şeklinde olduğu tespit edildi.



Şekil 4.3. Antep fıstığına ait polen görüntüleri

4.3. Toprak özellikleri

Siirt ili Botan bölgesinden alınan toprak örnekleri için yapılan analizler incelendiğinde; bünyesinin killi-tınlı olduğu, pH değerinin 7,78, tuzluluk değerinin 0,80 ve kireç değerinin ise 22,33 olduğu hesaplandı. Ayrıca organik madde değerinin 2,18 ve toprak bünyesinin organik madde açısından yeterli olduğu belirlendi. (Tablo 4.1)

Tablo 4.1. Siirt botan vadisi toprak örneği laboratuvar sonuçları

Analiz adı	Sonuç	Yorum	Uygunluk aralığı	Toprak tahlili	Birim
Bünye	60	KİLLİ TINLI	–	% İŞBA	%
Ph	7,78	HAFİF ALKALİ	6,5-7,5	SATURASSYON	
Ec(tuz)	0,80	TUZSUZ	0-2	SATURASYON	mS /cm
$Caco_3$	22,33	FAZLA KİREÇLİ	1-15	% KİREÇ	%
Organik M.	2,18	YETERLİ	2-4	%	%
Fosfor	6,35	YETERLİ	8-25	P	Ppm
Kalsiyum	1527	YETERSİZ	1150-3500	Ca	Ppm
Potasyum	112,4	YETERLİ	109-289	K	Ppm
Magnezyum	161,2	YETERLİ	159-480	Mg	Ppm
Bor	0,885	YETERSİZ	1-2,4	B	Ppm
Bakır	0,277	YETERLİ	0,2 ve üstü	Cu	Ppm
Demir	1,96	YETERSİZ	2,5-4,5	Fe	Ppm
Mangan	17,90	YETERLİ	14-50	Mn	Ppm
Çinko	0,771	YETERLİ	0,7-2,4	Zn	Ppm

İkinci bölge olarak Antep Turlu bölgesinden toprak numunesi alındı. Yapılan toprak analizinde toprağın hafifi alkali (Ph:7,73), tuzsuz (0,58) ve bünyesinin kili ve tınlı yapıya sahip olduğu tespit edildi. Ayrıca organik madde yönünden fazla (4,33) ancak demir ve çinko değerleri (2,05 ve 0,608) dışında yeterli mineral madde içeriğine sahip olduğu belirlendi (Tablo 4.2).

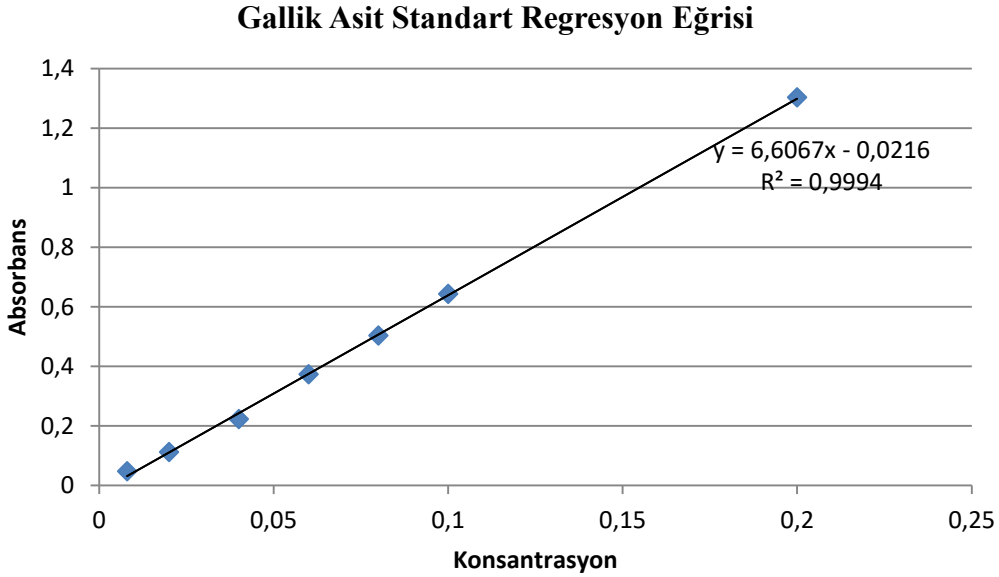
Tablo 4.2. Antep turlu toprak örneği laboratuvar sonuçları

Analiz adı	Sonuç	Yorum	Uygunluk aralığı	Toprak tahlili	Birim
Bünye	59	KİLLİ TINLI	–	% İŞBA	%
Ph	7,73	HAFİF ALKALİ	6,5-7,5	SATURASSYON	
Ec(tuz)	0,58	TUZSUZ	0-2	SATURASYON	mS /cm
$Caco_3$	37,65	FAZLA KİREÇLİ	1-15	% KİREÇ	%
Organik M.	4,33	FAZLA	2-4	%	%
Fosfor	4,15	YETERLİ	8-25	P	Ppm
Kalsiyum	1883	YETERLİ	1150-3500	Ca	Ppm
Potasyum	109,2	YETERLİ	109-289	K	Ppm
Magnezyum	173	YETERLİ	159-480	Mg	Ppm
Bor	1,12	YETERLİ	1-2,4	B	Ppm
Bakır	0,215	YETERLİ	0,2 ve üstü	Cu	Ppm
Demir	2,05	YETERSİZ	2,5-4,5	Fe	Ppm
Mangan	1477	YETERLİ	14-50	Mn	Ppm
Çinko	0,608	YETERSİZ	0,7-2,4	Zn	Ppm

4.4. Antioksidan Özelliklerin Belirlenmesi

4.4.1. Fıstık çeşitlerinde bulunan fenolik madde içerikleri

Fıstık çeşitlerinde fenolik madde içeriği metanol ve su ekstratlarına göre hesaplandı. Hesaplama için gallik asit standart olarak kullanıldı. 0.01-0.2 mg/ml konsantrasyonlar ile gallik asit regresyon eğrisi oluşturuldu.



Şekil 4.4. Gallik asit regresyon eğrisi

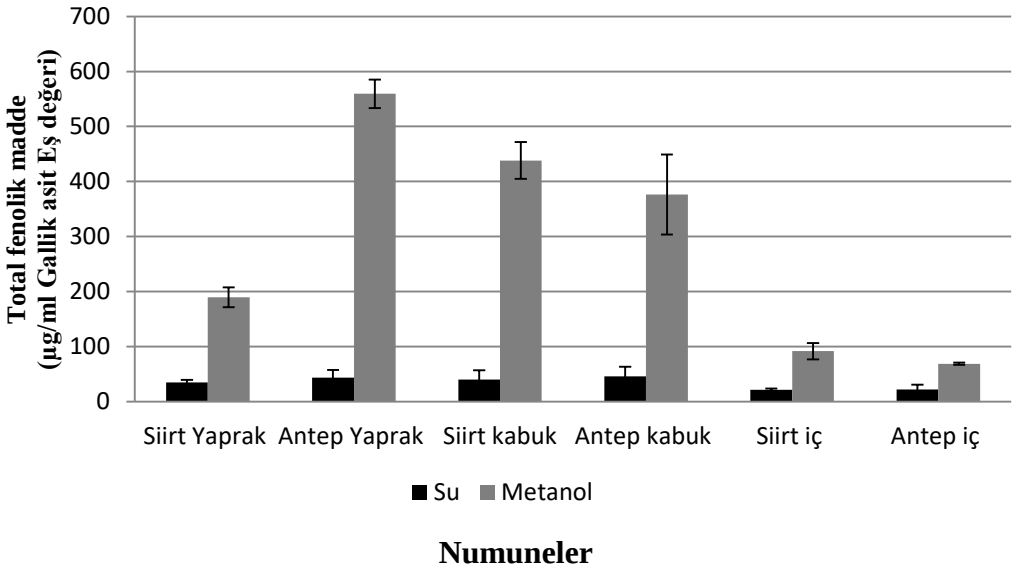
Elde edilen verilere göre metanol ekstraktlarının su ekstraktlarına göre oldukça yüksek fenolik madde içeriğine sahip olduğu tespit edildi. Solvent türündeki bu değişim beklenen sonuç olarak görülmektedir.

Su numunelerinde en yüksek değerin Antep kabuk ve yaprak (45,91-43,62) örneklerinde, metanol numunelerinde ise en yüksek değerin ise yine Antep yaprak (559,34) örneğinde olduğu ancak Siirt kabuk örneklerinde de (438,24) fenolik madde içeriğinin oldukça yüksek olduğu tespit edildi. (Tablo 4.3)

Tablo 4.3. Fıstık numunelerindeki fenolik madde içerikleri

Fenolik madde (µg/ml)	Su	Metanol
1. Siirt Yaprak	34,99	189,47
2. Antep Yaprak	43,62	559,34
3. Siirt kabuk	40,03	438,24
4. Antep kabuk	45,91	376,43
5. Siirt iç	21,17	91,58
6. Antep iç	21,78	68,62

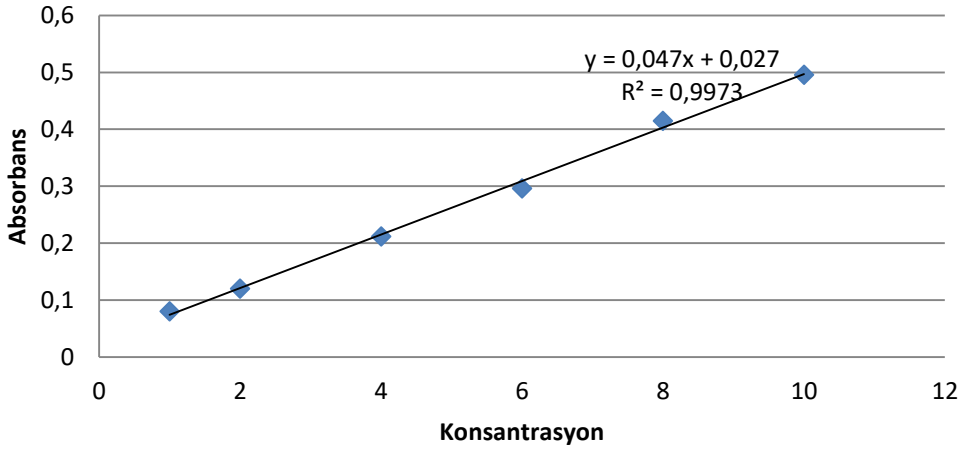
Elde edilen değerler grafik üzerinde incelendiğinde fıstık iç kısımlarının en düşük fenolik madde içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Genel olarak kabuk kısımlarının diğer kısımlara göre daha yüksek fenolik madde içeriğine sahip oldukları tespit edilmiştir. Bu durum kabuk ve yaprak kısımlarındaki metabolik faaliyetlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Şekil4.5).



Şekil. 4.5. Fıstık numunelerindeki fenolik madde içerikleri

4.4.2. Fıstık çeşitlerinde bulunan flavonoid madde içerikleri

Fıstık çeşitlerinde bulunan flavonoid madde içeriği metanol ve su ekstratlarına göre hesaplandı. Hesaplama için rutin standart olarak kullanıldı. 0,1-1 mg/ml konsantrasyonlar ile rutin regresyon eğrisi oluşturuldu.



Şekil 4.6. Rutin standart regresyon eğrisi

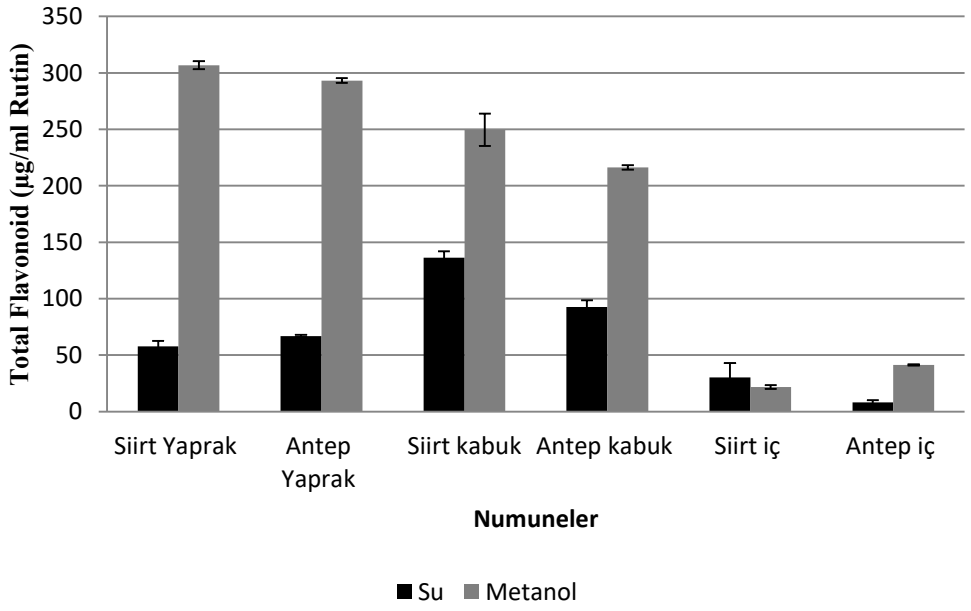
Elde edilen flavonoid değerlerine göre metanol ekstraktları su ekstraklarına oranla çok daha yüksek flavonoid madde elde edilmesine neden olduğu görüldü. Tek farklı sonucun Siirt meyve içi su ekstraktında elde edildiği tespit edildi.

Su ekstraktındaki en yüksek değerin kabuk kısmında (136,35 µg/ml), en düşük değerin ise 8,14 µg/ml değeri ile Antep iç kısmında elde edildiği görüldü. Metanol ekstraktında ise en yüksek flavonoid değerinin Siirt çeşidi yaprak kısmında (306,79 µg/ml), en düşük değerin ise Siirt çeşidi iç kısımda (21,72µg/ml) bulunduğu hesaplandı. (Tablo 4.4)

Tablo 4.4. Fıstık numunelerindeki flavonoid madde içerikleri

Flavonoid madde (µg/ml)	**Su**	**Metanol**
Siirt Yaprak	57,92	306,79
Antep Yaprak	66,97	293,21
Siirt kabuk	136,35	249,47
Antep kabuk	92,61	216,29
Siirt iç	30,32	21,72
Antep iç	8,14	41,33

Elde edilen flavonoid değerlerinin grafik üzerinde değerlendirilmesinde ise Siirt ve Antep çeşitlerine ait değerlerin birbirlerine oldukça yakın oldukları, flavonoid değerlerinin genel olarak sırasıyla yaprak>kabuk>iç şeklinde sıralandıkları tespit edilmiştir(Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Fıstık numunelerindeki flavonoid madde içerikleri

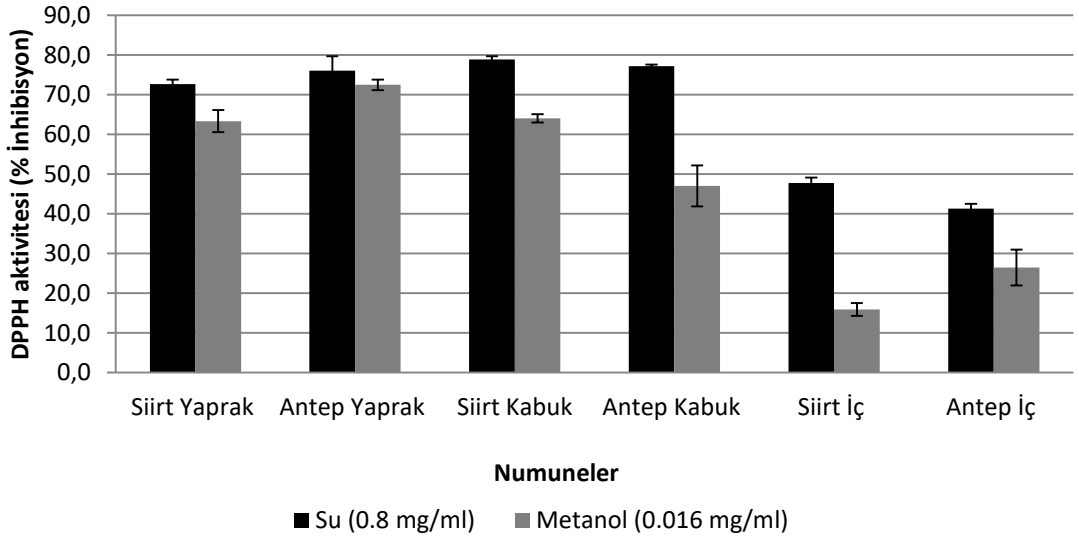
4.4.3. Fıstık çeşitlerinde bulunan DPPH yüzdeleri

Fıstık çeşitlerinde DPPH içeriği metanol ve su ekstratlarına göre hesaplandı. Yapılan ön denemelerde metanol ekstraktının, su ekstratına oranla çok daha etkili olduğu fark edildi. Bu nedenle metanol için 0.016 mg/ml, su için ise 0.8 mg/ml olacak şekilde konsantrasyonlar belirlendi. Çünkü her bir kısıma ait değerlerin yüzde dilimi içerisine girmesi istendi ki kısımlar birbirleri ile karşılaştırabilinsin.

Tablo 4.5. Fıstık numunelerindeki DPPH aktiviteleri

DPPH (% İnhibisyon)	**Su (0.8 mg/ml)**	**Metanol (0.016 mg/ml)**
Siirt Yaprak	72,64	63,31
Antep Yaprak	76,07	72,48
Siirt Kabuk	78,84	64,04
Antep Kabuk	77,16	46,99
Siirt İç	47,71	15,89
Antep İç	41,28	26,44

Elde edilen değerlere göre metanol ekstrelerinin su ekstrelerinde 50 kat daha iyi aktivite gösterdikleri görülmektedir.

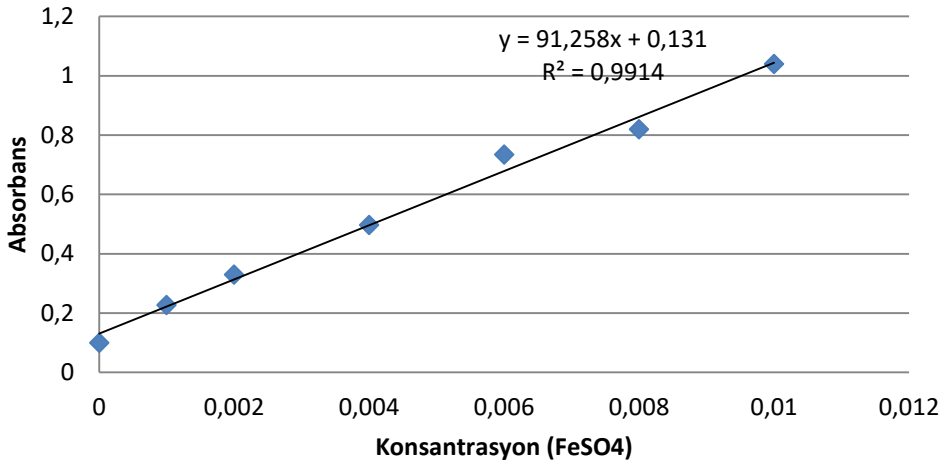


Şekil 4.8. Fıstık numunelerindeki DPPH aktiviteleri

Su ekstrelerindeki en yüksek DPPH inhibisyon aktivitesinin Siirt kabuk ekstrelerinde olduğu (%78,84), en düşük DPPH aktivitesinin (41,28) ise Antep iç kısımlarına ait olduğu hesaplandı. Antep yaprak ekstrelerinin metanol özütü ise en yüksek DPPH aktivitesi (%72,48) gösterdi.

4.4.4. Fıstık çeşitlerinde bulunan FRAP aktiviteleri

Fıstık çeşitleri ve kısımlarına ait FRAP aktivite değerleri $FeSO_4$ aktivitesine göre değerlendirildi. Regresyon eğrisi için 0.1-1 mg/ml konsantrasyonlar kullanıldı.



Şekil. 4.9. $FeSO_4$ standart regresyon eğrisi

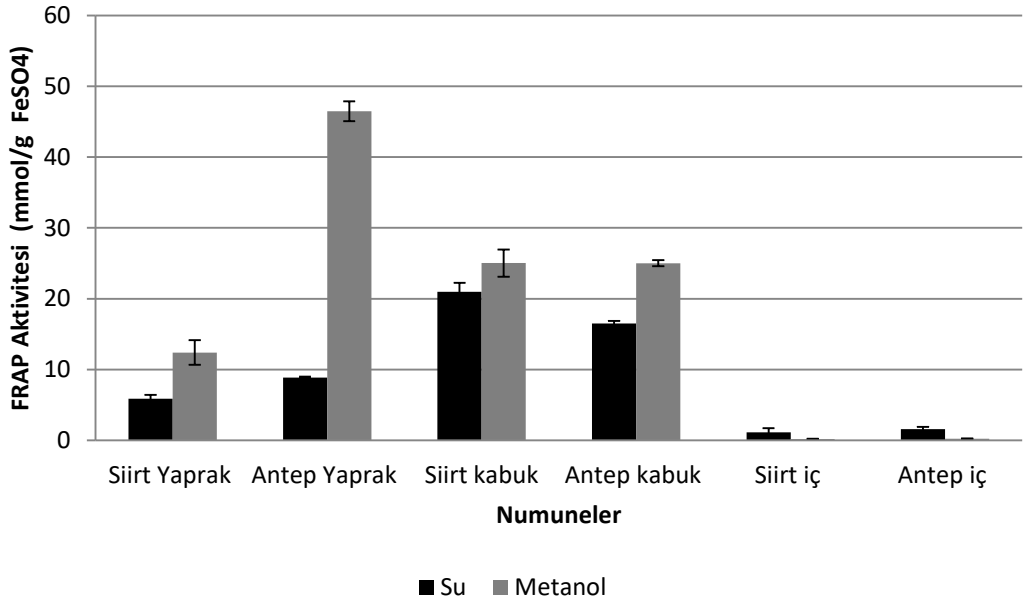
FRAP aktiviteleri incelendiğinde su ekstrelerine ait en yüksek indirgeme kapasitesisin, kabuk kısımlarına ait ekstrelerde olduğu görülmektedir. FRAP aktivitesi için su ekstreleri analiz edildiğinde aktivite sıralamasının Kabuk> Yaprak>İç şeklinde sıralandığı görülür. Yaprak kısımlarının 5-8 mM aktive gösterdiği, iç kısımların ise ancak 1-1,5 mM aktivite gösterebildikleri tespit edildi.

FRAP aktivitesi için metanol ekstreleri incelendiğinde, su değerlerine göre çok daha yüksek aktivite elde edilmiştir. Ancak Antep yaprak kısmının 46,49 mM gibi yüksek bir aktive gösterdiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte fıstık çeşitlerinin iç kısımlarının çok düşük aktivitelerde kaldığı görülmektedir(Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Fıstık numunelerindeki FRAP aktiviteleri

FRAP aktivitesi mM $FeSO_4$	Su	Metanol
Siirt Yaprak	5,86	12,40
Antep Yaprak	8,86	46,49
Siirt kabuk	20,99	25,04
Antep kabuk	16,49	25,02
Siirt iç	1,13	0,16
Antep iç	1,58	0,22

FRAP aktiviteleri grafik üzerinde incelendiğinde iç kısımlarının en düşük aktivitelere sahip oldukları belirgin şekilde fark edilmektedir. En iyi aktivitenin kabuk kısımlarında olduğu analiz sonuçlarında, Antep yaprak kısmı sıra dışı şekilde yüksek aktivite göstermekte olduğu tespit edildi. (Şekil 4.10).



Şekil. 4.10. FRAP aktivitesi değerleri

4.4.5. Fıstık çeşitlerinde bulunan demir şelatlama aktiviteleri

Demir şelatlama aktiviteleri 1 mg/ml değerleri üzerinden hesaplandı. $FeCl_2$ indirgeme yüzdesine göre değerler hesaplandı.

Demir şelatlama aktivitesi FRAP aktivitesi benzeri bir prensibe sahiptir. Anacak aktivatör olarak farklı reaktifler kullanılmaktadır. Bu nedenle yüzde hesabı olarak yapılan analiz sonuçları FRAP analizinden farklı şekilde değerlendirilmektedir.

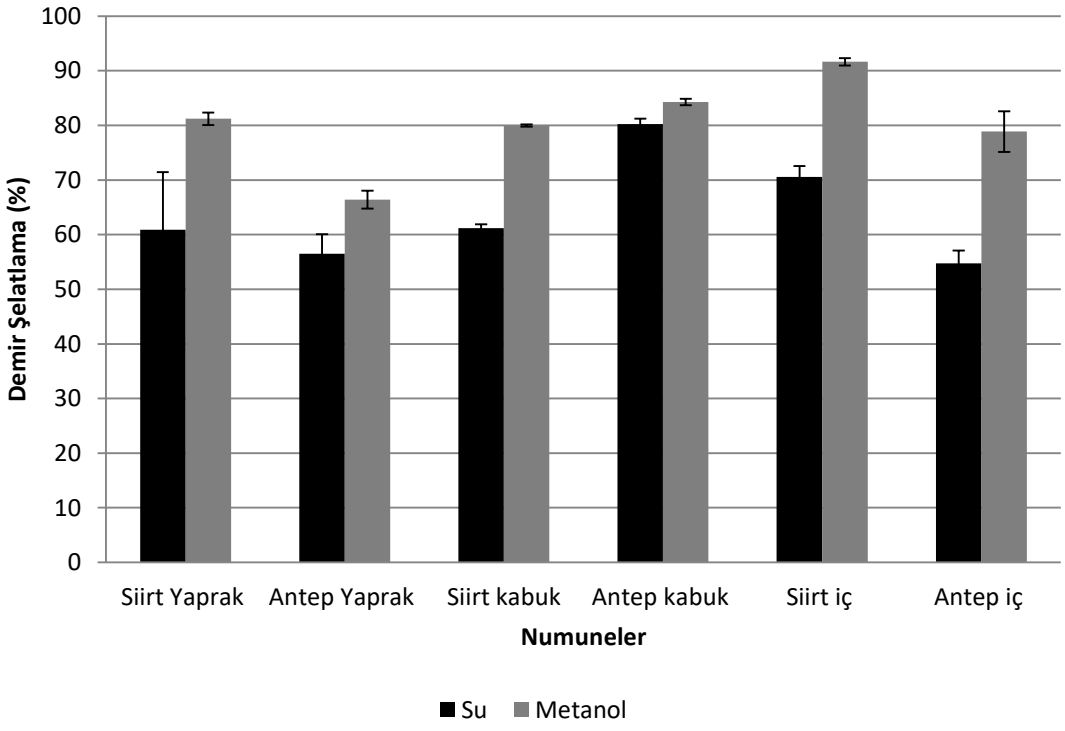
Demir şelatlama aktivitesi için iç kısımlarında yüksek aktivite gösterdikleri fark edildi. Su ekstrelerine ait en yüksek demir şelatlama yüzdesinin Antep kabuk kısımlarında görüldüğü (%80,21), en düşük yüzdenini ise Antep iç kısmına ait olduğu (%54,74) hesaplandı.

Metanol ekstreleri için ise diğer değerlerden farklı olarak Siirt iç kısmının en yüksek yüzde şelatlama aktivitesine sahip olduğu görülmektedir. Siirt iç kısmının %91,64 şelatlama etkisi gösterirken, Antep yaprak kısmının ise %66,39 değerde kaldığı görüldü. Kısım ve lokasyonlara göre belirgin bir sıralamanın yapılmasının mümkün olmadığı fark edildi(Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Fıstık numunelerindeki demir şelatlama aktiviteleri

Demir şelatlama (%)	**Su (1 g/ml)**	**Metanol (1 g/ml)**
Siirt Yaprak	60,93	81,22
Antep Yaprak	56,52	66,39
Siirt kabuk	61,20	79,99
Antep kabuk	80,21	84,28
Siirt iç	70,57	91,64
Antep iç	54,74	78,87

Demir şelatlama aktivitesinin kısım ve lokasyonlara bağlı olarak elde edilen grafik değerleri incelendiğinde, FRAP değerlerinden farklı olarak en değerlerin iç kısımlara ait metanol ekstrelerinde olduğu fark edildi. Daha önce yapılan analiz çalışmalarında su ve metanol ekstreleri arasında oldukça belirgin farklar elde edilir iken, demir şelatlama aktivitesinde bu farkın oldukça azaldığı tespit edildi. Demir şelatlama analizinde bölge veya kısımlara ait bir önceliğin yapılmasının mümkün olmadığı belirlendi. Ayrıca 1 mg/ml konsantrasyonda çalışılmış olmasına rağmen elde edilen tüm değerlerin %50'nin üzerinde olduğu fark edildi (Şekil 4.11).

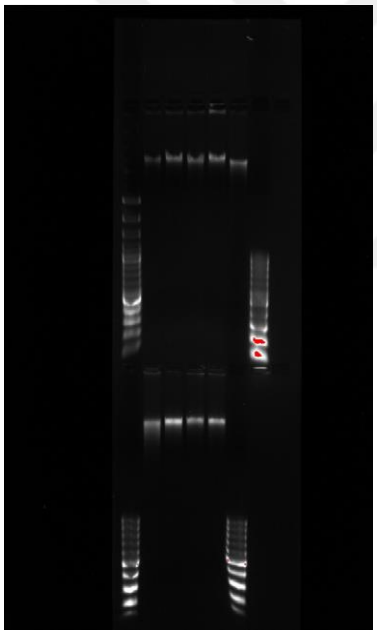


Şekil. 4.11. Demir şelatlama aktivitesi değerleri

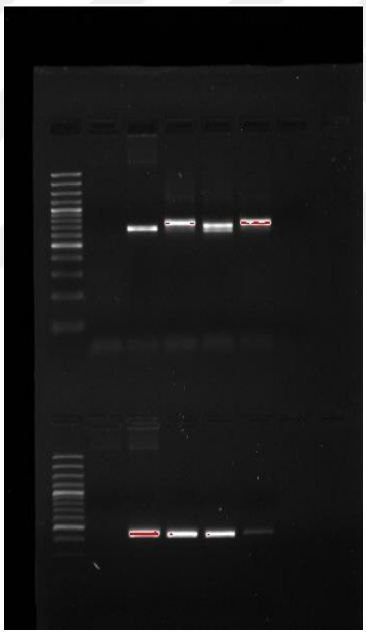
4.6. Moleküler bulgular

Türkiye'de Gaziantep ve Siirt illerinde yayılış gösteren *Pistacia* cinsine ait çeşitlerin oluşturduğu taksonlarının moleküler sistematik analizi yapıldı.

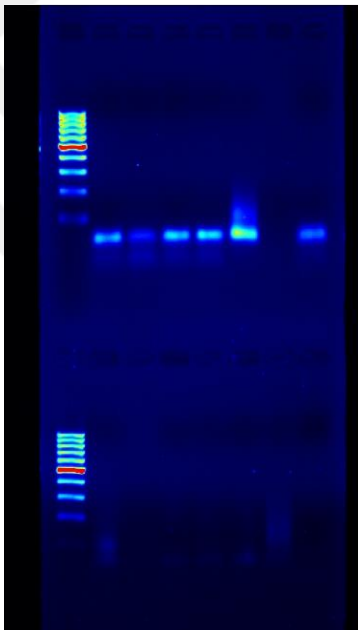
Çalışmada çekirdek DNA'sının (nrDNA) ITS (Internal Transcribed Spacer) bölgesi ve kloroplast DNA'sının trnL-F kullanılmıştır. Bu amaç için Siirt ilinden "Gökçebağ" ve "Siirt Botan" olarak bilinen iki çeşit, Gaziantep bölgesinden de "Antep Turlu" ve "Antep Belkıs" çeşitlerinden genomik DNA'ların izolasyonuları yapıldı. ITS bölgeleri için ITS 5 ve ITS 4 primerler ve trn bölgeleri için ise trnL-e ve trnL-F primerleri kullanılarak PCR ile çoğaltıldı. DNA dizileme reaksiyonları sonucu elde edilen DNA dizilerinin işlenmesinde Bioedit programı kullanıldı. DNA dizilerinin hizalanmasında CLUSTAL W programı ve filogenetik analiz için ise MEGA 6.0 programı kullanıldı.



Şekil 4.12. DNA görüntüleri

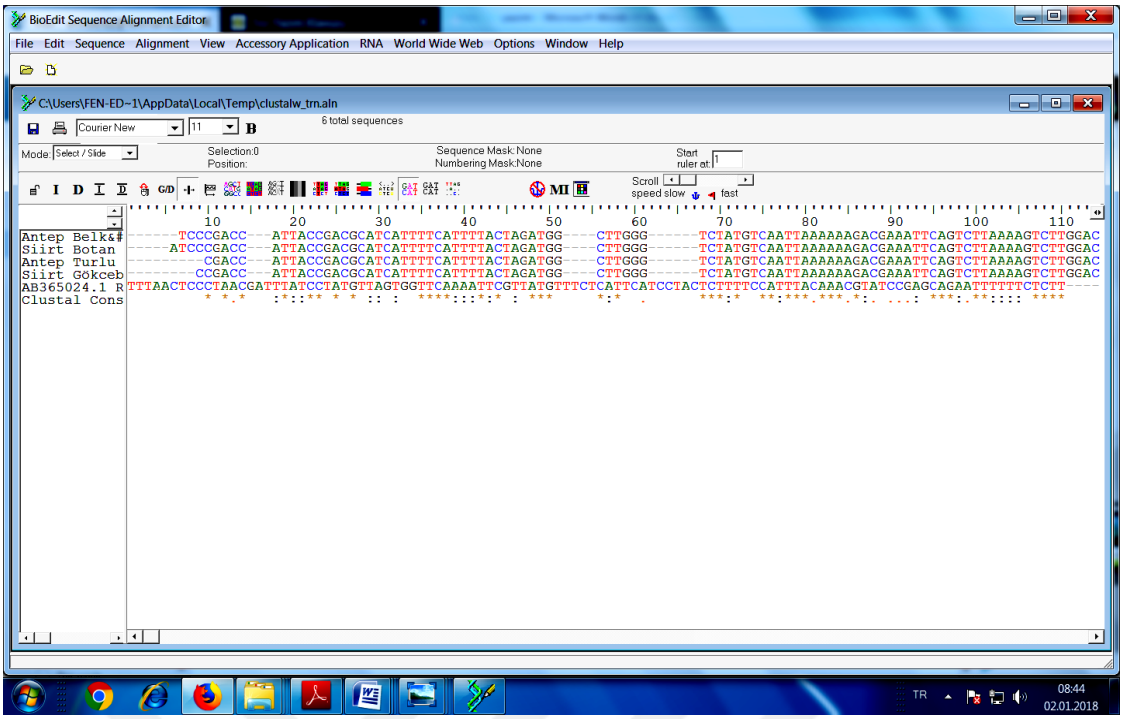


Şekil 4.13. ITS bölgeleri PCR görüntüleri



Şekil 4.14. trn bölgeleri PCR görüntüleri

Fıstık çeşitlerine ait DNA analizleri ve PCR işlemleri uygun metotlar ve optimizasyonlar ile sorunsuz şekilde tamamlandı. Elde edilen PCR ürünlerinin sekanslama sonuçları İONTEK firması tarafından gerçekleştirildi. İki yönlü okumanın yapıldığı analizlerde elde edilen sekansların öncelikle blastlama uygulamaları yapılarak doğrulukları analiz edildi.



Şekil 4.15. Bioedit program görüntüsü

ITS ve trnL bölgelerinin çoğaltılması ile birlikte Antep ve Siirt bölgelerinden alınan örneklerin karşılaştırılması gerçekleştirildi. Dış grup olarak Pistacia türüne en yakın grupta bulunan *Rhus* cinsinin şeçilmesine karar verildi. ITS bölgeleri için Rhus typhina türü şeçilirken, trnL bölgesi için ise *Rhus chinensis* bitkisinin seçilmesine karar verildi.

İontek firmasından elde edilen sekanslama sonuçları;

ITS bölgeleri için elde edilen sekanslar;

1. >Antep_Turlu

CTTGCCGAGCAGAACGACCCGCGAACCTGTCATCACATCGGGGGCCTGCGG
GCTCGTGCCCGTGTGCCTCCACCCGTGCTTCGTCGGGTGTCGGTCGTATGCT
TCTGATGCGATTGCCCCGTCGTTGCGCATTAACGAACCCCGGCGCGAATTGC
GCCAAGGACTTAACGAGAGAGCTCGCTCCCGTCGCCCCGGACACGGTGCGC
GTGCGGGATGGGTAGCCTTCTTTCATTATCAATAACGACTCTCGGCAACGGA
TATCTCGGCTCTCCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTG
AATTGCAGAATCCCGTAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCCAA
GCCTTTAGGCCGAGGGCACTCTGCCTGGGTGTCACGCATCGTTGCCCCCCGC
CCAAAATCTTGCGATCTTGCGGGGTGGGCGGAAAATGGCCTCCCGTGTGCC
TGCGCCCGCGGTTGGCCCAAATCCGAGTTCTCGGTGACGCTTCCCGCGACAA
TCGGTGGCGTTCGAAACAGAACCTAGTGATCCTGTCGTGCGGTTGCGTTCTA
CTGTCTACGGACTCTTTGACCCTCGAGAGCAAGCGAAAGCGCGCTCGCATC
GCGACCCCAGGTCAGGCGGGATTACCCGCTGAGTTTAAGCATATCAATAAG

2. >Siirt_Gökçebağ

CGGTCATACGCTTGTGCGTGCAGCTGCCCCGTCGTGTGTGCATTAACGAACC
CCAAAGCAAATGCTGCCAAGGAAATTTTAACGAGAGCTCACTCCCGTTGCC
CCAGACACGGTGCGCGTGCGGGATGCGTGGCCTTCTTTCATTATCAATAACA
ACTCTCGGCAATGGATATATCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAACGAA
ATGCGATACTTGGTGTGAATTGTAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAA
CGCAAGTTACGCCCCAAGCCTTTAGGCTGAGGGTACGTCTGCTTGGGTGTCA
CGCATCGTTGCCCCCCCCCGACCCCTCCCAAATCCTATGATCTTGTGGCAAT
TGGTGAAAAATGGCCTCCCGTGTGCTTGCGCCTGCGGTTGGCCCAAATCTGA
GTTCCCAGTGACGCTTCCTGCGACAATCGATGGTGTTTGAAACAGAACCTAG
TAATCTTGTCGTGCGGTTGCGTTCTCCTGTCTATGGACTCTTTGACCCTCGAG

AGCAAGCGAAAGCACGCTCGCATTGCGACCCCAGGTTAGGCGGGATTACCC
GTTGAGTTTAAGCATATCA

3. Dış grup >EF682848.1_Rhus typhina

GTTTCNGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAAACCTGCCTAGCAG
AACGACCCGCGAACCTGTCTTAACATCGGGGGCCTGCGGGACTCGTGCCCG
TGTGCTCCCACCCGTGCTGCGTTGGGCGTCGGCTGTACGTTTCTACGTGCGT
CCGCTCCCTCGCCGCGCATTAACGAACCCCGGCGCGAATTGCGCCAAGGAA
ATCTTAACGAGAGAGCTCGCTCCCGTCGCCCCGGTCACGGTGTGCGTGTGG
GATGCGTGGCCTTCTTTCATTATCTATAACGACTCTCGGCAACGGATATCTC
GGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATT
GCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCTAAGCC
ACTAGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTCACGCATCGTTGCCCCCCCCA
AATCCTATGATCTTGCGGCGGTGGGCGGAAAATGGCCTCCCGTGTGCTTGTG
CCCGCGGTTGGCCCAAATAAGAGTTCTCGGTGACGCTTCCCGCGACAATCG
GTGGTGTTTGAAACAGAACCTAGTGATCCTGTCGTGCGGTCGTGTTCTACCG
TCCACGGACTCGTCGACCCTCGAGAGTGTGCTAATGCGCGCTCGCATCGCG
ACCC

trnL bölgeleri için elde edilen sekanslar;

1. >Antep_Turlu

CGACCATTACCGACGCATCATTTTCATTTTACTAGATGGCTTGGGTCTATGT

CAATTAAAAAAGACGAAATTCAGTCTTAAAAGTCTTGGACGGGGAATTGCA

TTTCTTGAATATTCAAAAAGAAGACTTTGTCAGTTTCAGTATGAGCAATGAT

ATGGATTGTGAATCATTCACATGTAGATTCCTTGCTCAAAAGTGTTCATTTG

TACGTGTCTCCTATATACCACACGACTTGTGTGTGATAAGAGAAAAAATTCT

GCTCGGATACGTTTGTAAATGGAAAAGAGTAGGATGAATAAGAAACATAAC

GAATTTGGAACCACTAACATAGGATAAATCGTTAGGGAGTTAAATGGGCC

TTTTTTGGGGGATTTGGGGATAGAGG

2. >Antep_Belkıs

TCCCGACCATTACCGACGCATCATTTTCATTTTACTAGATGGCTTGGGTCTAT

GTCAATTAAAAAAGACGAAATTCAGTCTTAAAAGTCTTGGACGGGGAATTG

CATTTCTTGAATATTCAAAAAGAAGACTTTGTCAGTTTCAGTATGAGCAATG

ATATGGATTGTGAATCATTCACATGTAGATTCCTTGCTCAAAAGTGTTCATT

TGTACGTGTCTCCTATATACCACACGACTTGTGTGTGATAAGAGAAAAAATT

CTGCTCGGATACGTTTGTAAATGGAAAAGAGTAGGATGAATAAGAAACATA

ACGAATTTGGAACCACTAACATAGGATAAATCGTTAGGGAGTTAAATGG

GCCTTTTTTGGGGGATTTGGGGATAGAGGA

3. >Siirt_Botan

ATCCCGACCATTACCGACGCATCATTTTCATTTTACTAGATGGCTTGGGTCT

ATGTCAATTAAAAAAGACGAAATTCAGTCTTAAAAGTCTTGGACGGGGAAT

TGCATTTCTTGAATATTCAAAAAGAAGACTTTGTCAGTTTCAGTATGAGCAA

TGATATGGATTGTGAATCATTCACATGTAGATTCCTTGCTCAAAAGTGTTCA

TTTGTACGTGTCTCCTATATACCACACGACTTGTGTGTGATAAGAGAAAAAA

TTCTGCTCGGATACGTTTGTAAATGGAAAAGAGTAGGATGAATAAGAAACA

TAACGAATTTGGAACCACTAACATAGGATAAATCGTTAGGGAGTTAAATG

GGCCTTTTTTGGGGGATTTGGGGATAGAGG

4. >Siirt_Gökcebağ

CCGACCATTACCGACGCATCATTTTCATTTTACTAGATGGCTTGGGTCTATG

TCAATTAAAAAAGACGAAATTCAGTCTTAAAAGTCTTGGACGGGGAATTGC

ATTTCTTGAATATTCAAAAAGAAGACTTTGTCAGTTTCAGTATGAGCAATGA

TATGGATTGTGAATCATTCACATGTAGATTCCTTGCTCAAAAGTGTTCATTT

GTACGTGTCTCCTATATACCACACGACTTGTGTGTGATAAGAGAAAAAATTC

TGCTCGGATACGTTTGTAAATGGAAAAGAGTAGGATGAATAAGAAACATAA

CGAATTTGGAACCACTAACATAGGATAAATCGTTAGGGAGTTAAATGGGC

CTTTTTTGGGGGATTTGGGGATA

5. Dış Grup >AB365024.1_Rhus chinensis

TTTAACTCCCTAACGATTTATCCTATGTTAGTGGTTCAAAATTCGTTATGTTT

CTCATTCATCCTACTCTTTTCCATTTACAAACGTATCCGAGCAGAATTTTTTC

TCTTATCACACCCAAGTCGTGTGGTATATAGGATACACGTACAAATGAACA

CTTTTGAGCAAGGAATCTCCATGTGAATGATTCACAATCCATATCATTGCTC

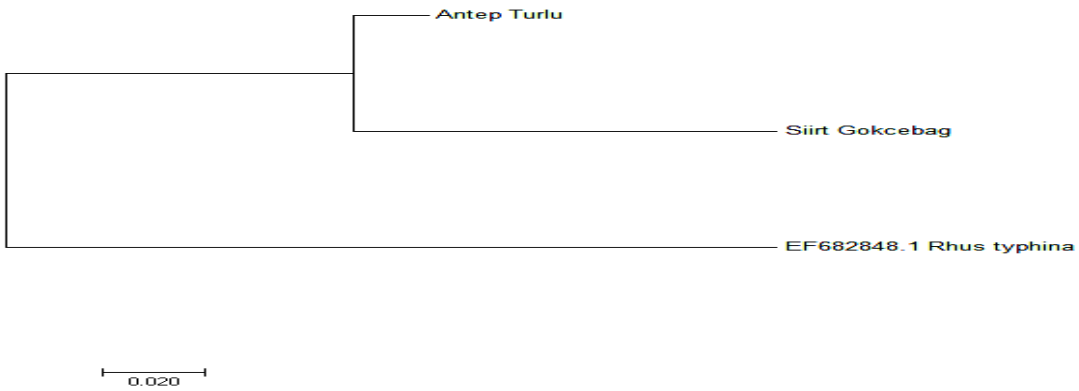
ATACTGAAACTGACAAAGTCTGCTTCTCATTTTTGAATATTCAAGAAATGAA

ATTCCCCGTCCAAGACTTTTAAGACTGAATTTCGTCTTTTTTATTTTTTAATT

GACATAGACCCAAGTCATCTAGTAAAATGAAAATGATGCGTCGGTAATGGT

CGGGATAGCTCAGCTGGTAGAGCAGAGGACTGAAAATCCTCGTGTCACC

Çalışmaya göre, ITS bölgesinin analizi ile oluşturulan ağacın(Şekil 4.16), trnL-F bölgelerine göre oluşturulan ağaçtan (Şekil 4.17)sistematik açıdan, morfolojik verilerle karşılaştırınca nerede ise aynı sonuçları verdiği ortaya çıkmıştır. Fakat her iki bölge de derin filogenetik ilişkileri çözmekte yetersiz kalmıştır. Sonuç olarak, dış grup olarak kullanılan taksonun yüksek düzeyde bootstrap değerleriyle iç gruptan ayrıldığı ve iç grubun monofiletik olduğu görülmüştür. Ayrıca ITS bölgesi için “Antep Belkıs” ve “Siirt Botan” taksonlarına ait ITS bölgesi dizilemesi elde edilemediğinden dolayı ağaç Antep Turlu ve Siirt Gökçebağ taksonları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.16. ITS Bölgesinin Neighbor Joining Analizi Sonucu oluşturulmuş dendogram

Fıstık genotiplerinin genetik ilişkilerinin belirlenmesinde kullanılmış olan ITS bölgesinde olduğu gibi trnL-F bölgesi için de Mesafe temelli bir yöntem olan Neighbor joining metodu kullanılmıştır. Bu metot, dizi hizalanması sonucunda elde edilen evrimsel mesafeleri kullanarak her bir takson çifti arasındaki mesafelerin oluşturulmasını sağlamaktadır. Ayrıca bu metod, veri matrisindeki söz konusu mesafe skorları kullanılarak tüm taksonlar için bir filogenetik ağaç oluşturulabilir. Aşağıdaki dendogramdada görüldüğü üzere Antep ve Siirt bölgesinden toplanan fıstık çeşitlerinde belirgin bir genetik farklılığın olmadığı bulunmuştur (Şekil 2).

Şekil 4.17. trnL-F Bölgesinin NeighborJoining Analizi Sonucu oluşturulmuş dendogram

5. TARTIŞMA SONUÇ

Tez çalışmasında elde edilen verilerin analizine geçilmeden önce Siirt ve Antep bölgelerinin çevresel şartları ve değişimleri, toprak yapısı üzerinde durulması gerekmektedir. Siirt ili topraklarının topoğrafik koşullarınedeniylegerek işlemeli tarıma uygun çok az alanların olduğu,gerekse de toprak erozyonunun potansiyeltehdidi altında olduğu ve düz eğimli arazilerdışında kalan il arazi varlığının çok büyük bir kısmınınözel önlemlere ihtiyaç duyduğu belirlenmiştir. Siirt İlinde genel olarak karasal iklim hüküm sürmekte olup, kışları sert yazları ise sıcak ve kurak geçmektedir. Haziran ve Ekim ayları arasında pek yağış görülmemekle birlikte Güneydoğu Anadolu Projesinin faaliyete girmesiyle iklim özelliklerinde değişiklikler başlamıştır. Bu dönemden sonra ilkbaharda daha fazla yağış görülmüş, nem miktarı %40'ın üzerine çıkmıştır. Bu durum fıstık çeşidinin fizyoloji ve morfoloji üzerinde etkili olmakla birlikte hastalıkların çeşitliliği ve yayılımı üzerine etki göstereceği beklenmektedir.

Gaziantep ilinin genel özellikleri incelendiğinde, iklim konumu sebebiyle Gaziantep'te Akdeniz iklimi ve Karasal iklimin bir karışımı görülmektedir. Özellikle Haziran, Temmuz, Ağustos ve Eylül aylarında oldukça sıcak, Aralık, Ocak ve Şubat aylarında ise çok soğuktur. Gaziantep'te ölçülen en yüksek sıcaklık 42 °C, en düşük sıcaklık ise -13 °C'dir. Haziran-Eylül arasında Gaziantep, en az yağışı alır. En çok yağışı ise Aralık-Şubat arasında alır. Mevsim değişirken gündüz ve gece arasında çok büyük bir sıcaklık farkı vardır. Denize kıyısı olmaması sebebiyle kentte nem oranı çok düşüktür. Bu yüzden hava çok sert değildir. Bitki örtüsü olarak, Gaziantep ilinin çok büyük bir bölümü Güneydoğu Anadolu step alanı içinde kalmaktadır. İlin Kuzeybatı kesimi ise Akdeniz bitki örtüsü ile Güneydoğu Anadolu step örtüsü arasında bir geçit alanı durumundadır. Gaziantep platosu ile güneydeki sınır bölgeleri Kırmızı-Kahverengi çok kireçli ve killi topraklarla kaplıdır. Yörede bazalt ve kalkerler üzerinde oluşan bu topraklar 30-100 cm derinliktedir ama her yerde çıplak alanlarda doğal bitki örtüsü step bitkileridir. İl merkezinden batıya ve kuzeybatıya doğru gelindiğinde, Akdeniz bölgesi alanına geçiş başlar bu nedenle zeytinlikler ve Antep fıstığı ile örtülü alanlarında küçük meşe ormanlarına da rastlanır. Zeytin ve Antep fıstığı ağaçları ile örtülü 500-600 metre yükseltide uzanan kalker platolardır.

Görüldüğü üzere Siirt ve Antep illeri farklı ekolojik ve topoğrafik özelliklere sahiptir. Bu durumun bitki gelişimi ve adaptasyonu üzerine farklı etkiler göstermesi beklenen bir durumdur. İklim ve edafik faktörler meyve boyu, yaprak rengi ve sekonder

metabolit içeriklerini dahi etkileyebileceği bilinmektedir. Siirt ve Antep fıstıkları arasındaki morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal farklılıkların genel olarak, bu ekolojik faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Morfolojik olarak Siirt ve Antep fıstık çeşitleri karşılaştırıldığında, üreticiler tarafından morfolojik özelliklerine bakılarak tanımlandığı tespit edilmiştir.

Ülkemizde fıstıklar, pomolojik olarak üç gruba ayrılmaktadır. Bu gruplar, Uzun antepfıstığı grubu (Uzun, Halebi, Sultani, Ketengömleği), oval antepfıstığı grubu (Siirt, Kırmızı) ve yuvarlak antepfıstığı grubu (Ohadi, Kerman) olarak tanımlanır. Siirt bölgesinde, fıtık ağaçlarının gelişimi, Pistacia khinjuk (Buttum) ağaçlarına aşılanması yolu ile de geliştirilmektedir. Zirai olarak çeşit olarak tanımlanan Antep ve Siirt fıstıkları morfolojik, pomolojik, periodisite ve besin değerleri gibi birçok özellik açısından farklı değerlere sahiptir. Çeşitlerin verim ve adaptasyon açısından, birbirlerine göre üstün ve zayıf özellikleri oldukları bilinmektedir. Bu tez çalışmasında çeşitlerin biyolojik aktiviteleri ve filogeni özellikleri karşılaştırılmaya çalışılmıştır.

Tez çalışması palinolojik özellikler açısından değerlendirildiğinde, çalışılan çeşitlere ait polen görüntülerinin birbirleri ile benzerlik gösterdikleri belirlenmiştir. Siirt ve Antep çeşitlerinde polen çaplarının 28-35 µm arasında değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durumun örnek alınan ağacın fenolojik durumu ve örneğin alınma zamanına bağlı değiştiği düşünülmektedir. Elde edilen benzer sonuçlar, polen görüntülerinin çeşit ayırım ve tanımlanmasında kullanılmasının uygun olmadığı sonucunu ortaya çıkarmıştır.

Fıstık çeşitlerinin toprak analizleri incelendiğinde, Siirt Botan bölgesine ait toprak örneğinin; bünyesinin killi; tınlı olduğu görülmektedir. Ayrıca PH değeri bakımından toprakların hafif alkali oldukları tespit edilmiştir. Toprak örnekleri tuz içeriği açısından tuzsuz ancak fazla kireçli ve bağ topraklarından alındığından dolayı organik madde açısından yeterli ve/veya fazla oldukları görülmektedir. Son olarak toprak örnekleri mineral madde açısından değerlendirildiğinde, demir ve bor elementi açısından yetersiz oldukları tespit edilmiştir. Antep bölgesine ait toprak örneğinin ise bünyesinin yine killi; tınlı ve hafif alkali olduğu tespit edilmiştir. Tuzsuz organik madde açısından yeterli olduğu tespit edilmiştir. İnorganik madde açısından demir ve çinko değerlerinin yetersiz olduğu belirlenmiştir. Toprak özelliklerindeki farklılıkların; örnek alınan lokalite, toprak anakayası gübreleme gibi etkilerden dolayı meydana geldiği düşünülmektedir.

Tez çalışması fenolik ve flavonoid maddeler açısından değerlendirildiğinde metanol ekstraktında elde edilen değerlerin, su ekstraktına göre daha yüksek değerlere

sahip olduğu tespit edilmiştir. Metanol özellikleri düşünüldüğünde bu durum beklenen sonuçlar vermektedir. Fenolik madde içeriği açısından en yüksek değerlerin sıralamasının kabuk>yaprak>iç şeklinde sıralandığı görülmektedir. Flavonoid değerleri incelendiğinde fenolik madde ile benzer sonuçlar elde edildiği tespit edilmiştir. Ancak su ekstraktı ile hazırlanan Siirt kabuk kısımlarının diğer numunelere göre belirgin şekilde farklı ve yüksek değer gösterdiği hesaplanmıştır. Bu durum kabuk ve yaprak kısımlarındaki sekonder metabolit faaliyetlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Fıstık numunelerindeki numuneler DPPH aktivitesi açısından değerlendirildiğinde, su numunelerinin 0,8 mg/ml de gösterdiği etkiyi metanol ekstraktlarının 0,016 mg/ml de gösterdikleri tespit edilmiştir. Fenolik ve flavonoid içeriği yüksek olan kabuk kısımları en yüksek inhibisyon etkisi göstermiştir. Sekonder metabolit içeriği düşünüldüğünde elde edilen % inhibisyon verileri beklenen sonuçlar olarak görülmektedir.

FRAP demir indirgeyici güç aktivitesi incelendiğinde kabuk kısımlarının yaprak kısımlarına ortalama 4 kat, iç kısımlardan, ise 20 kat daha yüksek aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. FRAP aktivitesinde genel durumun aksine su ekstraktı ile hazırlanan numunelerin metanol ekstraktına oranla daha yüksek aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu durum suyun FRAP aktivitesinde etkili olacak maddelerin çözünmesinde daha etkili olduğu sonucunu ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca antioksidan aktivitelerde çeşitlerin farklı kısımlarının çözücü çeşidine bağlı olarak, farklı aktiviteler gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Fıstık çeşitleri moleküler açıdan değerlendirildiğinde, elde edilen dendogramın genel olarak sunduğu görüntünün, genotiplerin akrabalık ilişkilerinin büyük oranda coğrafik bölgelere bağlı olmadığı ayrı bölgelerde yetişmelerine rağmen birbirlerine yakın bir akrabalık ilişkileri olduğu görülmüştür. Bu sonucu destekleyecek şekilde toplanan bu genotiplerin klasik taksonomi sınıflandırması yani morfolojik karakterlerine bağlı olarak sonucunda da hepsinin aslında *Pistacia vera*L. türüne ait olduğu tespit edilmiştir.

Ayrıca genotiplerin toplandığı bölgelerde coğrafik olarak türleşmeye neden olabilecek bir coğrafi izolasyon durumunun olmadığı tahmin edilmektedir. Bu bağlamda aynı türlerin farklı genetik ilişki göstermelerinin bir nedeni olarak da tür içi polimorfizmin de etkili olduğu söylenebilir.

Yapılan bu tez çalışmasında Siirt ve Antep fıstıklarının yetiştirildikleri bölgelerin ekolojik durumlarına bağlı olarak farklı morfolojik ve biyokimyasal özellikler gösterdikleri tespit edilmiştir. Yapılan çalışma ile birlikte fıstık meyvelerinin dış

kabuklarının yüksek antioksidan ve sekonder metabolit içeriğe sahip oldukları tespit edilmiştir. Yapılacak olan çalışmalar ile birlikte meyve dış kabuğunun; gübre, gıda koruyucusu veya biyolojik mücadeleler için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

Alyafi, J.,1979. Approches syste´matiques et e´cologiques du genre Pistacia dans la re´gion me´diterrane´enne. *The`s. Marseille*: Fac. Sci.Techn. St-Jerome, Univ. Aix-Marseille III.

Barreca D., Laganà G., Leuzzi U., Smeriglio A., Trombetta D., Bellocco E., 2016. Evaluation of the nutraceutical, antioxidant and cytoprotective properties of ripe pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) hulls. *Food Chemistry*, (196), 493–502.

Belhadj S., Arezki D., Laure C., Charles G., Thierry A., Thierry O., Thierry G., 2007 Pollen morphology and fertility of wild Atlas pistachio (Pistacia atlantica Desf., Anacardiaceae). Grana, 46:3, 148-156.

Blois, M.S. 2002. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, Nature, (26): 1199-1200.

Bouyoucous, G. D., 1951. A Recablibration of the Hydrometer Method for Making Mechanical Analysis of the Soil. *Agronomy J.,(*43) 434- 438.

Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C. ve Almeida, M.L.M. 1994.Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salycilate and 5-aminosalycilate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers, *Archives of Biochemistry and Biophysics,* (315): 161-169.

Gentile C., Tesoriere L., Butera D., Fazzari M., Monastero M., Allegra M., Livrea M.A., 2007.Antioxidant activity of Sicilian pistachio (*Pistacia vera* L. var. Bronte) nut extract and its bioactive components. *J Agric Food Chem.* 55(3):643-648.

Goli A,H., Barzegar M., Ali Sahari M., 2005. Antioxidant activity and total phenolic compoundsof pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*,(92), 521–525.

Grace M. H., Esposito D., Michael A. T., Xiong J., Yousef G., Komarnytsky S.,Lila M. A.,2016. Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory propertiesof Pistachio hull extracts. *Food Chemistry*,(210), 85–95.

Hızalan, E., Ünal, E., 1966. Topraklarda Önemli Analizler. Ank. Üniv. Zir. Fak. Yayın no: 278. http://ebkae.gov.tr/, anonim, 2007.

İsfendiyaroğlu M., 2003. Effects of some physical and biochemical factors on the rooting of mastic tree (Pistacia lentiscusvar. Chia Duham.) cuttings. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*,(40), 25-32.

İsfendiyaroğlu, M., E. Özeker., 2001. The RelationBetweenPhenolicCompoundsand Seed Dormancyin Pistaciaspp.*Options Méditterranéennes, Series Chaiers*, (56):227–232.

Jackson, M.L., 1962. *Soil Chemical Analysis*. Prentice Hall Inc. Engle Wood Cliff - New Jersey.

Kacar, B., 1994. Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri: III. Toprak Analizleri, A.Ü.Z.F. Eğt. Araşt. ve Gel. Vakfı Yayın No: 3, Ankara.

Kalkancı N, Yaman A., Bağcı C., Tarakçıoğlu M., Davutoğlu V., Aksoy M., 2007. Antepfıstığının kan kolesterol seviyesi üzerine etkileri. *Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü Md. Yayın* no: 33.

Karaca Mehmet, Ayşe Gül ince, Safinaz Y. Elmasulu, A. Naci Onus, Kenan Turgut 2005. Coisolation of genomic and organelle DNAs from 15 genera and 31 species of plants. Analytical Biochemistry,(343): 353–355.

Kendirci P., Onoğur T., A., 2011. Investigation of Volatile Compounds andCharacterization of Flavor Profiles of FreshPistachio Nuts (*Pistacia vera* L.). *International Journal of Food Properties*. (14):319–330.

Martorana M., Arcoraci T., Rizza L., Cristani M., Bonina F.P., Saija A., Trombetta D., Tomaino A., 2013. In vitro antioxidant and in vivo photoprotective effect of pistachio (Pistacia vera L., variety Bronte) seed and skin extracts**.***Fitoterapia.*(85):41-48.

Müller, S. Gnoyke, A.M. Popken, V. Böhm., 2010. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT Food Sci. Technol*., 43 (6) : 992–999.

Olsen, S. R., Cole, V., Watanabe, F. S., Dean, L.A., 1954. Estimations of Available Phosphorus in Soils by Extractions with Sodium Bicarbonate. U.S. Dept. Of Agric. Cric. 939- 941.

ÖzbekS,.1978. Özel Meyvecilik. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Adana. Yayın No:128,486 s

Park Y-S, Jung S-T, Kang S-G, Heo BK, Arancibia-Avila P, Toledo F, Drzewiecki J, Namiesnik J, Gorinstein S., 2008. Antioxidants and proteins in ethylene-treated kiwifruits. Food Chem. 193-206.

Richards, L.A., 1954. Diagnosis and Improvement of Saline and Alkaline Soils. Handbook 60. U.S. Dept. of Agriculture.

Sari I., Baltacı Y., Bagci C., davutoglu V. Erel O., Celik H., Ozer O., Aksoy N., Aksoy M., 2010. Effcet of pistachio diet on lipid parameters, endothelial function, inflammation, and oxidative status: e prospective study. *Nutrition* 26 (4): 399-404.

Su, L., Yin, J. J., Charles, D., Zhou, K., Moore, J., Yu, L. L., 2007. Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavening properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. *Food Chemistry,* (100): 990-997.

Surh, Y.J., 2003. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nature Reviews Cancer*, (3), 768- 780.

Talebi M., Kazemi M., Sayed-Tabatabaei B. E., 2012. Molecular diversity and phylogenetic relationships of Pistacia vera, Pistacia atlantica subsp. mutica and Pistacia khinjuk using SRAP markers. Biochemical Systematics and Ecology. (44), 179-185.

Thomas, G.W., 1982. Exchangeable Cations. P. 159- 165. Chemical and Microbiological Properties. Agronomy Monography. No: 9, A.S.A.-S.S.S.A., Madison, Winconsin. USA.

Tomaino A., Martorana M., Arcoraci T., Monteleone D.,Giovinazzo C., Saija A., 2010. Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio(*Pistacia vera* L., variety Bronte) seeds and skins. *Biochimie*(92), 1115-1122.

Tsantili E., Konstantinidis K., Christopoulos M.V., Roussos P.A., 2011. Total phenolics and flavonoids and total antioxidant capacity in pistachio(*Pistachia vera* L.) nuts in relation to cultivars and storage conditions. *Scientia Horticulturae,* (129), 694-701.

Tsantili E., Takidelli C., Christopoulosa M.V., Lambrineab E., Rouskasc D., Roussosa P.A., 2010. Physical, compositional and sensory differences in nuts among pistachio(*Pistachia vera* L.) varieties. *Scientia Horticulturae,* (125), 562-568.

Walkey, A., 1947. A Critical Examination of a Rapid Method for Determining Organic Carbon in Soils: Effect of Varations in Digestion Conditions and Inorganic Soil Constiuents. *Soil Science,* (63) : 251-263.

Zavada, M. S. & Dilcher, D. L.,1986. Comparative polen morphology and its relationship to phylogeny of pollen in theHamamelidae. *Ann. Mo. Bot. Gard.*, (73): 348–381.

Tekin H., Arpacı S., Atlı H. S., Açar İ., Karadağ S., Yükçeken Y., YamanA., 2001.Antepfıstığı Yetiştiriciliği (Kitap). Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü,Gaziantep, Yayın No: 13, 132. s.

Tous, J. and L. Ferguson., 1996. Mediterranean Fruits. In: Progress in New Crops, Janick, J. (Ed.). ASHS Press, Arlington, VA., pp: 416-430.

Halvorsen B.L., M.H. Carlsen, K.M. Phillips, S.K. Bøhn, K. Holte, D.R. Jacobs Jr., R. Blomhoff. Content of redox-active compounds (i.e., antioxidants) in food consumed in the United StatesAm. J. Clin. Nutr., 84 2006, pp. 95-135

Stone S. Zafra-, T. Yasmin, M. Bagchi, A. Chatterjee, J.A. Vinson, D. Bagchi., 2007.Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention.Mol. Nutr. Food Res., 51, pp. 675-683

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Mustafa Ahmet GÜNEŞ
Doğum Yeri ve Tarihi:09.09.1979/Gaziantep.
Telefon : 0 545 921 02 88
E-posta : gunes27000@gmail.com

EĞİTİM

Derece		**Adı, İlçe, İl**	**Bitirme Yılı**
Lise	:	**Şehit Şahin Lisesi**	**2007**
Üniversite	:	**Van YYU üniversitesi**	**2012**
Yüksek Lisans	:	**Siirt üniversitesi**	**2018**
Doktora	:		

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	**Kurum**	**Görevi**
2011	**MEB**	**Öğretmen**