

**T.C.**  
**SİİRT ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SİİRT FISTIĞINDA (*Pistacia vera* L.) PERİYODİSİTE MEKANİZMASININ  
MOLEKÜLER VE FİTOKİMYASAL SEVİYEDE İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ayşe ASLAN**  
**(163106010)**

**BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Behcet İNAL**

**Ortak Danışman: Doç. Dr. Burcu TUNCER**

**Aralık-2018**  
**SİİRT**

## TEZ KABUL ve ONAYI

Ayşe ASLAN tarafından hazırlanan “Siirt Fıstığında (*Pistacia vera* L.) Periyodisite Mekanizmasının Moleküler ve Fitokimyasal Seviyede İncelenmesi” adlı tez çalışması 20/12/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile Siirt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

### İmza

#### Başkan

Dr. Öğr. Üyesi Yasemin BEKTAŞ

  
.....

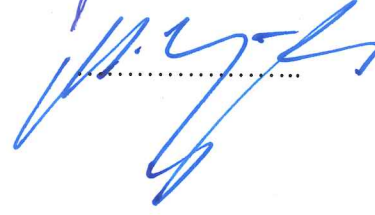
#### Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Behcet İNAL

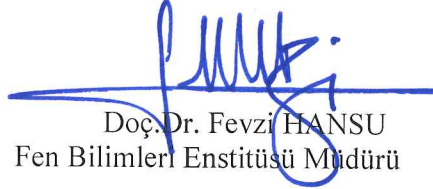
  
.....

#### Üye

Dr. Öğr. Üyesi Mustafa RÜSTEMOĞLU

  
.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

  
Doç. Dr. Fevzi HANSU  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ÖNSÖZ

Ülkemiz zengin bitki çeşitliliğine sahip olmasının yanı sıra birçok bitkininde anavatanı konumundadır. Antep fıstığında bunlardan bir tanesidir. Antep fıstığı besin değeri yüksek ve ekonomik bakımından önemli bir bitkidir. Antep fıstığında ve birçok bitkide görülen periyodisite fizyolojik bir olaydır. Yapılan bu çalışma ile Siirt fıstığında periyodisite mekanizmasının moleküler ve fitokimyasal seviyede incelenmesi amacıyla periyodisite ile ilişkili olabilecek parametrelerin incelenmesi ve elde edilen verilerin literatürdeki boşluğu doldurmaya yönelik bir adım olduğu düşünülmektedir.

Yüksek lisansın her aşamasında bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, desteğini esirgemeyen ve daima motive eden danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Behcet İNAL'a ve ortak danışmanım Doç. Dr. Burcu TUNCER'e teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmaları sırasında bana her türlü desteği sağlayan Oğuzhan ÖZDEMİR, Mesut GÖK ve Ümit ÇALIŞIR hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam kapsamında bana bilgi ve tecrübesiyle katkı sağlayan Doç. Dr. Emre EREZ'e, Dr. Öğr. Üyesi Mesut BUDAK'a ve Arş. Gör. Serdar ALTINTAŞ hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca maddi ve manevi her türlü destekleriyle yanımda olduklarını bildiğim başta ailem olmak üzere arkadaşlarım Tuba BİLGİ, Betül KÜÇÜKASLAN, Serpil ÇELİK, Saniye Yasemin DENİZ'e ve Uğur SEVİNÇ'e en derin teşekkürlerimi sunarım.

Ayşe ASLAN  
Aralık-2018-SİİRT

## İÇİNDEKİLER

ÖN SÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	viii
KISALTMALAR VE SİMGELERLİSTESİ .....	ix
ÖZET .....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ .....	1
1.1. <i>Pistacia vera</i> L.'nin (Antep fıstığı) Tarihçesi.....	1
1.2. Antep Fıstığının Genel Özellikleri.....	2
1.3. Türkiye’de Antep Fıstığı Üretimi .....	4
1.4. Antep Fıstığının Siirt Çeşidi .....	6
1.5. Periyodisite (Alternans) .....	8
1.5.1. Antep fıstığında periyodisite.....	9
1.5.2. Periyodisite’nin ekonomi üzerine etkisi .....	9
1.5.3. Periyodisite üzerinde etkili olan biyokimyasal ve fizyolojik parametreler ..	10
1.5.3.1. Besin maddelerinin etkisi.....	10
1.5.3.2. Karbonhidratların etkisi .....	10
1.5.3.3. Fenolik maddeler .....	11
1.6. Moleküler Parametreler .....	12
1.6.1. MicroRNA (miRNA) .....	12
1.7. Transkripsiyon Faktörleri .....	13
1.8. Periyodisite Mekanizmasını Belirlemede Kullanılan Yöntemler .....	15
1.8.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) .....	15
1.9. ELISA (Enzyme Linked İmmunosorbent Assay) .....	17
1.10. Mikroarray Teknolojisi .....	18
1.11. Yeni Nesil Dizileme Metodu .....	19
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI .....	21
3. MATERYAL VE METOT .....	27
3.1. Materyal .....	27
3.2. Metod .....	27
3.2.1. Bitki besin maddeleri analizleri .....	27
3.2.2. Karbonhidrat analizleri .....	27
3.2.3. Uçucu yağ asidi analizi .....	28
3.2.4. Azot/Protein analizi .....	28

3.2.5. Fenolik organik asit analizi.....	28
3.2.2. Moleküler analizler için yöntem .....	29
3.2.2.1. Total RNA izolasyonu .....	29
3.2.2.2. RNA'nın saflaştırılması .....	30
3.2.2.3. cDNA sentezi.....	30
3.2.2.4. Periyodisite ile ilgili genlerinin qRT-PCR ile miktar ölçümü .....	31
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	33
4.1. Fizyolojik Analizler .....	33
4.1.1. Karbonhidrat analizi .....	33
4.1.2. Fıstıkta periyodisiteye bağlı değişen uçucu yağ asidi analizleri.....	34
4.1.3. Fıstıkta periyodisiteye bağlı değişen fenolik organik asit analizleri.....	41
4.1.4. Fıstıkta periyodisiteye bağlı değişen Azot/Protein analizi .....	44
4.1.5. Fıstıkta periyodisiteye bağlı değişen bitki besin madde analizleri .....	46
4.2. Moleküler Analizler .....	51
4.2.1. Real-Time PCR analizleri .....	51
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	58
5.1. Sonuçlar .....	58
5.2. Öneriler .....	59
6. KAYNAKLAR .....	61
ÖZGEÇMİŞ.....	80

## TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Ülkeler İtibariyle Dünya Antep Fıstığı Üretimi (Ton) .....	3
Tablo 1.2. Türkiye Antep Fıstığı Ağaç Sayısı ve Üretim Miktarı .....	4
Tablo 1.3. İllere Göre Antepfıstığı Üretim İstatistikleri (2016 yılı) .....	5
Tablo 1.4. Antepfıstığı çeşitleri ve yaygın olarak yetiştiği bölgeler.....	6
Tablo 1.5. Siirt çeşidi Antep fıstığı ve içinin bazı özellikleri.....	6
Tablo 1.6. Siirt çeşidi Antep fıstığı üretim miktarı (TÜİK, 2017).....	7
Tablo 1.7. Periyodisite gösteren önemli bazı bitki türleri.....	8
Tablo 3.1. Organik fenolik asit programı .....	29
Tablo 3.2. RNA'dan cDNA sentezinin ilk aşaması .....	30
Tablo 3.3. Genlerin miktar analizi için gRT-PCR karışımı.....	31
Tablo 4.1. Periyodisite gösteren Antep fıstığı Siirt çeşidinin karbonhidrat düzeyleri ...	33
Tablo 4.2. Antep fıstığı Siirt çeşidinin olgun meyve dokusuna ait uçucu yağ asidi analizi .....	35
Tablo 4.3. Antep fıstığı Siirt çeşidinin ham meyve dokusuna ait uçucu yağ asidi analizi .....	37
Tablo 4.4. Antep fıstığı Siirt çeşidinin yok yılı yaprak dokusuna ait uçucu yağ asidi analizi.....	38
Tablo 4.5. Antep fıstığı Siirt çeşidinin yok yılı gövde dokusuna ait uçucu yağ asidi analizi.....	39
Tablo 4.6. Antep fıstığı Siirt çeşidinin var yılı yaprak dokusuna ait uçucu yağ asidi analizi.....	40
Tablo 4.7. Antep fıstığı Siirt çeşidinin var yılı gövde dokusuna ait uçucu yağ asidi analizi.....	41
Tablo 4.8. Antep fıstığı Siirt çeşidinin meyve dokusuna ait fenolik organik asit analizi .....	42

Tablo 4.9. Antep fıstığı Siirt çeşidinin yok yılına ait fenolik organik asit analizi.....	43
Tablo 4.10. Antep fıstığı Siirt çeşidinin var yılına ait fenolik organik asit analizi.....	44
Tablo 4. 11. Antep fıstığı Siirt çeşidinin yok yılı yaprak ve gövde dokularına ait azot/protein analizi .....	45
Tablo 4.12. Antep fıstığı Siirt çeşidinin var yılı yaprak ve gövde dokularına ait azot/protein analizi .....	45
Tablo 4.13. Antep fıstığı Siirt çeşidinin var-yok yılları meyve, yaprak ve gövdeye ait makro elementler .....	47
Tablo 4.14. Antep fıstığı Siirt çeşidinin var-yok yılları meyve, yaprak ve gövdeye ait mikro elementler .....	48
Tablo 4.15. Antep fıstığı Siirt çeşidinin var-yok yılları meyve, yaprak ve gövdeye ait ağır elementler .....	50
Tablo 4.16. Antep fıstığı Siirt çeşidinin var-yok yılları meyve, yaprak ve gövdeye ait diğer elementler .....	51

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4.1. Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki MADSbox geninin ifade seviyesi) .....	52
Şekil 4.2. Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki AP1geninin ifade seviyesi.....	52
Şekil 4.3. Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki NAC geninin ifade seviyesi.....	53
Şekil 4.4. Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki Dreb2a geninin ifade seviyesi.....	54
Şekil 4.5. Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki TFL geninin ifade seviyesi.....	55
Şekil 4.6. Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki WRKY geninin ifade seviyesi.....	56
Şekil 4. 7. Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki bZIP geninin ifade seviyesi.....	57



## **KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ**

<b><u>Kısaltma</u></b>	<b><u>Açıklama</u></b>
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik Asit
<b>RNA</b>	: Ribo Nükleik Asit
<b>ATP</b>	: Adenin Trifosfat
<b>PCR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>RT-PCR</b>	: Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>cDNA</b>	: Komplementer Deoksiribo Nükleik Asit
<b>dATP</b>	: Deoksi Adenin Trifosfat
<b>dCTP</b>	: Deoksi Sitozin Trifosfat
<b>dGTP</b>	: Deoksi Guanin Trifosfat
<b>miRNA</b>	: Mikro Ribo Nükleik Asit
<b>Taq</b>	: Thermus Aquaticus
<b>dTTP</b>	: Deoksi Timin Trifosfat
<b>GA</b>	: Giberellik Asit
<b>GC</b>	: Gaz Kromatografisi
<b>MS</b>	: Kütle Spektrometre
<b>HPLC</b>	: High Performance Liquid Chromatography
<b>AP1</b>	: Apetala1
<b>rRNA</b>	: Ribozomal Ribonükleik Asit
<b>mRNA</b>	: Mesajcı Ribonükleik Asit

<b><u>Simge</u></b>	<b><u>Açıklama</u></b>
<b>g</b>	: Gram
<b>kg</b>	: Kilogram
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>ppm</b>	: Milyonda bir
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>mg</b>	: Miligram
<b>µl</b>	: Mikrolitre
<b>Mm</b>	: Milimolar
<b>° C</b>	: Santigrat
<b>M</b>	: Molar

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS

## SIİRT FISTIĞINDA (*Pistacia vera* L.) PERİYODİSITE MEKANİZMASININ MOLEKÜLER VE FİTOKİMYASAL SEVİYEDE İNCELENMESİ

Ayşe ASLAN

Siirt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üy. Behcet İNAL

Ortak Danışman: Doç. Dr. Burcu TUNCER

2018, 80 Sayfa

*Pistacia* cinsi, Anacardiaceae familyasına ait olup yapılan son çalışmalara göre 9 tür, 5 tane'de alttür içermektedir. Dünyada Antep fıstığı üretimi yaygın olup İran, ABD, Türkiye, Suriye, İtalya ve Yunanistan en fazla üretimin olduğu ülkeler arasında yer almaktadır. Ülkemizde Antep fıstığı yetiştiriciliği 56 ilimizde yapılmaktadır. Ancak Güneydoğu Anadolu Bölgesi üretimin % 94'ünü karşılamaktadır. Antep fıstığı yenilebilir, lezzetli, besin değeri yüksek ve ekonomik bakımından önemli bir bitkidir. Antep fıstığında ve birçok bitki çeşidinde görülen periyodisite, yetiştiricilikte karşılaşılan önemli sorunlar arasında yer almakta ve üretici açısından gelir kaybına neden olmaktadır. Periyodisite bitki çeşitlerinin bir yıl çok ürün vermesi onu takip eden yılda az ya da hiç ürün vermemesi olayına denilmektedir. Günümüzde daha çok periyodisite fizyolojik olarak çalışılmıştır. Bu tez çalışmasında Siirt çeşidi Antep fıstığında periyodisite mekanizmasına etkili olabilecek moleküler ve fitokimyasal parametrelerin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda Siirt fıstığının var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve örnekleri toplanmıştır. Daha sonra bu doku örneklerinde, periyodisite ile ilişkili olduğu düşünülen genler, organik fenolik asitler, şekerler, uçucu yağ asitleri, azot protein içerikleri, bitki besin elementleri gibi birçok fitokimyasal parametrelerin analizleri yapılmıştır. Çalışma sonucunda fıstık ağacının periyodisite ile ilişkili olabilecek bazı genlerin ifade seviyeleri farklılık göstermiştir. Bunun yanında fitokimyasal parametrelerin çoğu var ve yok yıllarında farklılık göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Siirt fıstığı, Fitokimyasal, Gen ifadesi, Periyodisite

## **ABSTRACT**

## **MS THESIS**

# **INVESTIGATION OF THE ALTERNATE BEARING MECHANISM IN THE *Pistacia vera* L. cv. Siirt AT MOLECULAR AND PHYTOCHEMICAL LEVELS**

**Ayşe ASLAN**

**The Graduate School of Natural and Applied Sciences of Siirt University  
The Degree of Master of Science  
Department of Horticulture**

**Supervisor: Asst. Prof. Behcet İNAL**

**Co-Supervisor: Assoc. Prof. Burcu TUNCER**

**2018, 80 Pages**

The genus *Pistacia* belongs to the Anacardiaceae family and includes 9 species and 5 subspecies. Pistachio production in the world is common in Iran, the US, Turkey, Syria, Italy and Greece, where the most production takes place between countries. Pistachio cultivation in our country is made in 56 cities. However, the Southeastern Anatolia Region meets 94 % of the production. Pistachio is edible, delicious, nutritionally high and economically important plant. Periodicity in pistachio and many plant varieties is seen as a major problem encountered in agriculture and causes loss of income for the producer. Alternate bearing is the phenomenon by which trees bear an irregular crop year after year, usually heavy yields which are followed by light ones. Recently, the physiological aspects of periodicity have been studied. In this thesis, it is aimed to investigate the molecular and phytochemical parameters which may be effective on the mechanism of periodicity in Siirt varieties. For this purpose, leave, stem and fruit samples of Siirt cultivars (on and off year) were collected. Then, in these tissue samples, several phytochemical parameters such as organic phenolic acids, sugars, volatile fatty acids, nitrogen protein contents, plant nutrients, which are thought to be related to periodicity, were analyzed. As a result of the study, the expression levels of some genes that may be related to the periodicity of the pistachio showed differences. In addition, most of the phytochemical parameters were different in on and off years.

**Keywords:** Alternate bearing, gene expression, *Pistacia vera* L., phytochemicals

## 1. GİRİŞ

### 1.1. *Pistacia vera* L.'nin (Antep fıstığı) Tarihçesi

Antep fıstığı (*Pistacia vera* L.)'nin kültüre alınması çok eskilere dayanmaktadır. İlk olarak Antep fıstığı, Etiler döneminde Güney Anadolu'da kültüre alındığı ve yine o dönemlerde kral sofralarına girecek kadar değerli ve kaliteli kültür çeşitlerinin varlığı bilinmektedir (Anonim, 2001). M.Ö. 6750 yıllarında arkeologlar, Irak'ın kuzeydoğu bölgesindeki Jarmo bölgesinde fıstığın çok fazla tüketildiğine dair bulgulara rastlamışlardır (Whitehouse,1957).M.Ö. 8.y.y. civarlarında Babil Kralı Meradoch-Boledan'nın bahçesinde fıstık ağaçları ekiliydi. (Brothwell ve Brothwell, 1998). Niconder, M.Ö. 2.y.y.'da İran'ın güneybatısında bir köy olan şu an ki Irak sınırına yakın Susa'da fıstık ağaçları bulmuştur (Joret, 1976). Poseidon'lular, M.S. 1.y.y.'da Suriye'de yetiştirilen fıstık ağaçlarını kayıtlara geçirmiştir ki buda Yunanlı ve Romalı yazarları yanıltarak fıstığın kökeninin Suriye olduğunu düşündürmüştür (Joret, 1976). Hristiyanlığın başlangıç tarihiyle birlikte fıstık ağaçlarının Avrupa'ya gelişi başlamıştır (Moldenke ve Alma, 1952). Filistin'de yetiştirilen fıstık ağaçları, M.S. 1.y.y.'da Anadolu'dan Suriye'ye ve oradan da İtalya ya getirilmiştir. Yine bu zamanlarda Roma imparatoru Vitellius katkısı ile Roma'da tanıtılmıştır. Daha sonra fıstık, İtalya ve Fransa'dan, İspanya'ya ve 1853-1854'te ABD'ye yayılmış oldu.

Başlangıç merkezi orta doğu olan fıstık tarımı doğuya doğru ilerleme gösterdi ve M.S. 10.y.y.'da İpek yolu aracılığı ile İran'dan Çin ve çevresine yayıldı (Lemaister, 1959). İlerleyen zamanlarda Avustralya'da yetiştirilmeye başlandı. Fıstığın adı eski Pers dili olarak bilinen Zendor Aveston'daki "pista-pistak"tan gelmiştir. Araplar, fıstığı Yakub'un fındıkları anlamına gelen Gatoum diye adlandırmışlardır. Dioskurides'e göre fıstık, Latin sözcüğü olan pistachio=sakız, pissa=reçine ve aklomai=iyileştirme kelimelerinden türetilmiştir (Moldenke ve Alma, 1952). Charles Mason 1854 yılında kültür çalışmalarını başlatmak için Kaliforniya, Teksas gibi güney bölgelere tohum dağıtmıştır. Ayrıca Fransa'dan 1875 yılında Sonoma'da dikilmek için fıstık ağacı getirilmiştir. Amerikan hükümeti 1900'lü yıllarda farklı Antep fıstığı türleri ve değişik fıstık türlerinin kültürünü başlatmak amacıyla Kaliforniya Chico'da büyük bir bitki üretim deney istasyonunu kurdu. Böylece 1970 yıllarında Kaliforniya'nın San Joaquin vadisinde Antep fıstığı üretimi başlamıştır (Anonim, 2006a). Ülkemizde ticari Antep fıstığı üretiminin iyileştirilmesine yönelik olarak 1937 yılında 'fıstık istasyonu' adı

altında Antep fıstığı Araştırma Enstitüsü kurulmuştur. Daha sonra Ceylanpınar Tarım İşletmesi Müdürlüğü 1943 yılında ve burada Antep fıstığının üretimi ve plantasyonu ile ilgili çalışmalar yapılmaya başlanmıştır.

## 1.2. Antep Fıstığının Genel Özellikleri

*Pistacia* cinsi, Anacardiaceae familyasına ait olup yapılan son çalışmalara göre 9 tür, 5 tanede alttür içermektedir (Zohary, 1952; Kafkas, 2006; Al-Saghir ve Porter, 2012). Antep fıstığının kültüre alınması çok eskilere dayanmaktadır. İlk olarak Antep fıstığı, Etiler döneminde Güneydoğu Anadolu'da kültüre alınıp, yine o çağlarda kral sofralarda misafirlere ikram edilen ve önemli bir ürün olduğu görülmektedir (Anonim, 2001; Külekçi ve Aksoy, 2011; Anonim, 2015).

Dünyada Antep fıstığı kuzey ve güney yarım kürelerin 30-45<sup>0</sup> paralellerinin uygun mikro klimalarında yetişmektedir. Antep fıstığının iki gen merkezi bulunmaktadır. Bunlardan ilki Anadolu, Kafkasya, İran ve Türkmenistan gibi kısımları kapsayan Yakın Doğu Gen Merkezi, diğeri ise Hindistan'ın Kuzeyi, Afganistan, Tacikistan, Pakistan bölgelerini kapsayan Orta Asya Gen Merkezi'dir (Ayfer, 1990; Tunalıoğlu ve Taşkaya, 2003; Anonim, 2015). Türkiye Yakınoğu gen merkezi içerisinde yer almaktadır. Dünyada Antep fıstığı üretimi yaygın olarak yapılmaktadır. İran, ABD, Türkiye, Suriye, İtalya ve Yunanistan üretimin en fazla olduğu ülkeler arasında yer almaktadır. Ayrıca üretim bu ülkeler arasında sabit bir şekilde artmaktadır (Tunalıoğlu ve Taşkaya, 2003). 2016 yılı itibariyle ülkeler arasında dünya Antep fıstığı üretiminde ABD ilk sırada yer almaktadır. Türkiye ise dalgalı üretim yapısı ile rekoltenin yüksek olduğu sezonlarda ABD ve İran'dan sonra üçüncü sırada yer almaktadır (Url-1) (Tablo 1.1).

**Tablo 1.1.** Ülkeler İtibariyle Dünya Antep Fıstığı Üretimi (Ton) (Url-1)

Sıra	Ülke	2015	2016	Değişim	Pay (2016)
1	ABD	127.000	317.515	150%	47,8%
2	Türkiye	145.000	160.000	10,3%	24,1%
3	İran	210.000	150.000	-28,6%	22,6%
4	Suriye	25.000	20.000	-20%	3,0%
5	Afganistan	5.000	5.000	0%	0,8%
6	Çin Halk Cumhuriyeti	4.2000	4.2000	0%	0,6%
7	Yunanistan	4.000	4.000	0%	0,6%
8	İtalya	2.5000	2.5000	0%	0,4%
9	Avustralya	1.150	1.150	0%	0,2%
	Genel Toplam	523.850	664.365	26,8%	100%

Yenilebilir, lezzetli, besin değeri yüksek ve ayrıca ekonomik bakımdan önemli bir bitki olan Antep fıstığı Türkiye’de ve diğer Ortadoğu ülkelerinde “altın ağacı”, “yeşil altın”, “meyvelerin kralı” veya “kralların meyvesi” olarak tanımlanmaktadır (Ayfer, 1990;).

Antep fıstığı çoğu bitki türlerinin aksine tamamen kuru koşullarda, sulama yapılmadan taşlık, kayalık alanlarda ve fakir topraklarda bile yetişebilen lezzet ve besin değeri yüksek bir bitki olarak tanımlanmaktadır (Ayfer, 1990; Tilkat, 2006). Ayrıca kış ayları sıcaklık ortalaması 7.0–7.4<sup>0</sup>C, yaz ayları sıcaklık ortalaması 25<sup>0</sup>C ve 800–1000 saat soğuklama süresi isteyen bir meyve olup bu gibi bölgelerde ekonomik anlamda istenilen düzeyde ürün verebilmektedir (Ayfer, 1990; Tekin ve ark.,2001; Tunahioğlu ve Taşkaya, 2003). Gıda ve ekonomi sektöründe önemli bir yere sahip olan Antep fıstığı yüksek besin içeriğine sahip bir bitkidir (Külekçi ve Aksoy, 2011). Badem, Fındık ve Yerfıstığı gibi yağlı meyvelerle karşılaştırıldığında Antep fıstığı, % 15.6 karbonhidrat, % 22.6 protein ve 3250 kalori ile birinci, % 54.5 yağ oranı bakımından fındıktan sonra ikinci sırada yer almaktadır (Anonim, 2009). Bazı meyvelerde olduğu gibi Antep

fıstığında da periyodisite (düzensiz meyve verme) görülmektedir. Periyodisite gösteren Antep fıstığı üretimi yapılan ülkelerde ürün yılı aynı yıllara denk gelmediğinden ihracat ve ithalat'da yıllara göre değişmektedir (Tunalıoğlu ve Taşkaya, 2003).

### 1.3. Türkiye'de Antep Fıstığı Üretimi

Dünya üzerinde ülkemiz, Antep fıstığının ekonomik anlamda üretildiği ülkeler arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Ülkemizde *Pistacia* cinsine ait yaklaşık 66 milyon yabancı ağaç bulunmaktadır (Kuru ve Özsabuncuoğlu, 1990). TÜİK verilerine göre Türkiye'de bulunan Antep fıstığı var yılı - yok yılı ağaç sayısı ve üretim miktarı Tablo 1.2'de gösterilmektedir (TÜİK, 2017).

**Tablo 1.2.** Türkiye Antep Fıstığı Ağaç Sayısı ve Üretim Miktarı (TÜİK, 2017)

Yıllar	Ağaç Sayısı		Üretim (Ton)
	Meyve Veren	Meyve Vermeyen	
2002	26.200	15.800	35.000
2011	30.868	10.419	112.000
2012	37.150	12.428	150.000
2013	38.116	12.006	88.600
2014	39.330	11.153	80.000
2015	40.597	11.633	144.000
2016	42.570	17.193	170.000
2017	47.766	19.460	78.000

Ülkemizde Antep fıstığı yetiştiriciliği 56 ilimizde yapılmaktadır. Ancak Şanlıurfa, Gaziantep, Adıyaman, Siirt, Kahramanmaraş, Mardin ve Diyarbakır Antep fıstığı üretimi bakımından ilk sıralarda yer almaktadır. Güneydoğu Anadolu Bölgesi üretimimizin % 94'ünü karşılamaktadır. Ayrıca Güneydoğu Anadolu Bölgesi kendine özgü ekolojik özellikleri sebebiyle Antep fıstığının başarılı bir şekilde yetişmesine ve



yaygınlaşmasına öncülük etmiştir (Ak ve Açar, 2001; Tunalıoğlu ve Taşkaya, 2003; Özden-Tokatlı, 2005).

Üretim miktarı açısından Gaziantep, 75.298 ton üretim miktarı ile toplam miktarın % 44'ünü, Şanlıurfa 48.106 ton ile % 28'ini oluşturmaktadır (Anonim, 2017) (Tablo 1.3).

**Tablo 1.3.** İllere Göre Antepfıstığı Üretim İstatistikleri (2016 yılı) (Anonim, 2017)

Şehir	Üretim Alanı (ha)	Ağaç Sayısı (adet)		Ağaç Başına Ortalama Verim (kg)	Üretim Miktarı (Ton)
		Meyve Veren	Meyve Vermeyen		
Gaziantep	133.538	17.181.970	4.800.775	4	75.298
Şanlıurfa	112.989	13.811.910	7.310.206	3	48.106
Adıyaman	26.130	4.452.832	2.097.760	4	18.758
Siirt	19.895	2.809.000	1.163.5000	2	6.713
Kahramanmaraş	6.660	798.250	266.900	8	6.124
Diğer	14.220	3.516.042	1.553.671	2	15.001
Türkiye	313.432	42.570.004	17.192.812	4	170.000

Yaygın olarak Türkiye’de “Siirt”, “Uzun”, “Kırmızı”, “Ohadi” ve “Halebi”Antep fıstığı çeşitlerinin yetiştiriciliği yapılmakta olup Tablo 1.4’de çeşitleri ve yaygın olarak yetiştiği bölgeler gösterilmektedir (Kendirici, 2008; Akyüz, 2012) (Tablo1.4).

**Tablo 1.4.** Antepfıstığı çeşitleri ve yaygın olarak yetiştiği bölgeler (Kendirci, 2008; Akyüz, 2012)

	<b>Uzun</b>	<b>Kırmızı</b>	<b>Siirt</b>	<b>Ohadi</b>	<b>Halebi</b>
Yaygın olarak yetiştiği bölge	Gaziantep	Gaziantep	Siirt	Şanlıurfa	Gaziantep ve çevresi
	Şanlıurfa	Şanlıurfa	Şanlıurfa	Gaziantep	
	Adıyaman	Adıyaman			
	Kahramanmaraş	Kahramanmaraş			

Antep fıstığı yetiştiriciliği ülkemizde çok eski zamanlardan beri yapılmasına rağmen üretim istenilen seviyede artmamıştır. Antep fıstığının kuru koşullarda ve çoğunlukla kıraç, taşlık ve meyilli arazilerde yetişmesi üretimin artmamasına neden olmaktadır. Bunun yanı sıra Antep fıstığı çeşitlerimizin periyodisite göstermesi üretim seviyesini düşürmektedir. Antep fıstığı yetiştiriciliği yapan ülkeler arasında sadece İran ve ABD’de, tamamı sulu koşullarda ve verimli taban arazilerde yetiştiricilik yapılmaktadır (Tekin ve ark., 2001; Özden ve Tokatlı, 2005; Tilkat, 2006). Ülkemiz Antep fıstığı yetiştiriciliğinin sadece % 37.5 sulu koşullarda, geri kalan % 62.5’i ise kuru şartlar altında yapılmaktadır (Polat ve ark., 2001; Tilkat, 2006).

#### **1.4. Antep Fıstığının Siirt Çeşidi**

Siirt çeşidi çıtlama oranı yüksek, kemik kabuğu açık renkli ayrıca gösterişli ve meyve iriliği bakımından istenilen büyüklükte olması sebebiyle iyi pazar bulabilmektedir. Şekil olarak yuvarlak olan Siirt çeşidi genellikle çerezlik olarak tüketilmektedir. GAP bölgesi için ve yeni kurulacak bahçelere tavsiye edilen ürünlerin başında gelmektedir (Anonim, 1993).

Siirt çeşidi Antep fıstığı ve içinin bazı fiziksel özellikleri Tablo 1.5’de gösterilmektedir (Polat ve Ülger, 2001) (Tablo 1.5).

**Tablo 1.5.** Siirt çeşidi Antep fıstığı ve içinin bazı özellikleri (Polat ve Ülger, 2001)

	<b>Uzunluk (mm)</b>	<b>Genişlik (mm)</b>	<b>Kalınlık (mm)</b>	<b>Ağırlık (g)</b>	<b>Çıtlama Oranı (N)</b>
<b>Meyve</b>	22,13	12,28	11,81	1,40	221,66
<b>İç</b>	17,03	8,73	8,73	0,54	-

Siirt çeşidi oransal periyodisite gösterip bir yıl tam onu takip eden yıl ise yarım olmak üzere hemen her yıl ürün verebilmektedir. Sulu şartlar altındaki dönümden 262 kg meyve alınabilmektedir. Ancak Siirt çeşidi daha çok kuru şartlar altında yetiştirilmektedir. Buna göre dekar başına verim; sulu koşullarda Siirt, Uzun çeşitlerinde sırasıyla 262 ve 179 kg elde edilirken; Kuru koşullarda ise, Siirt ve Uzun çeşitlerinde sırasıyla 103 ve 59 kg olarak elde edilmiştir (Url-2).

Siirt çeşidi Antep fıstığının yıllara göre alanı ve üretim miktarı Tablo 1.6'da gösterilmektedir. 2013 ve 2016 yıllarında üretim miktarının düşmesi periyodisiteden kaynaklanmaktadır. 2014 yılında ise zirai don zararından dolayı üretim düşmüştür (Tablo 1.6) (TÜİK, 2017).

**Tablo 1.6.** Siirt çeşidi Antep fıstığı üretim miktarı (TÜİK, 2017)

Ürün Adı	Siirt Fıstığı	
	Yıl	Alan (Da)
2002	45.543	2.000
2003	69.522	2.245
2004	79.852	2.952
2005	98.652	3.540
2006	112.569	4.153
2007	132.698	5.214
2008	162.478	6.841
2009	182.475	7.797
2010	205.417	8.521
2011	209.471	9.664
2012	230.100	10.696
2013	234.000	8.800
2014	250.000	6.000
2015	255.000	12.000
2016	260.000	8.000
2017	270.000	14.000

### 1.5. Periyodisite (Alternans)

Zeytin, elma, armut, fıstık, fındık ve mandarinler gibi birçok meyvede görülen fizyolojik bir olaydır (Özbek, 1978; Monselise ve Goldschmidt, 1982). Periyodisite veya alternans bazı meyve çeşitlerinin bir yıl çok ürün vermesi onu takip eden yılda az ya da hiç ürün vermemesi olayına denilmektedir. Fazla ürün veren yıl var yılı, az ya da hiç ürün vermeyen yıl yok yılı olarak tanımlanmaktadır. Periyodisite bir ağaçta farklı etkide gösterebilmektedir. Yani bir ağaç üzerinde her bir dalda var yılı veya yok yılı şeklinde de olabilmektedir. Bir yıl çok meyve verip ertesi yıl hiç meyve vermemesine mutlak periyodisite, az meyve vermesine de kısmi (oransal) periyodisite denilmektedir. Bu yüzden bazı meyve türleri mutlak periyodisite gösterirken bazıları oransal periyodisite göstermektedirler (Özbek, 1978; Buban ve Faust, 1982; Ulger ve ark., 2004; Turhan, 2011). Periyodisite gösteren önemli bitki türleri Tablo 1.7’de gösterilmektedir (Yanık, 2013).

**Tablo 1.7.** Periyodisite gösteren önemli bazı bitki türleri (Yanık, 2013)

<b>Familiya</b>	<b>Tür</b>	<b>Türkçe Adı</b>
<b>Anacardiaceae</b>	<i>Mangifera indica</i>	Mango
	<i>Pistacia vera</i>	Antep fıstığı
<b>Corylaceae</b>	<i>Corylus avellana</i>	Fındık
<b>Ericaceae</b>	<i>Vaccinium macrocarpon</i>	-
<b>Juglandaceae</b>	<i>Carya illinoensis</i>	Pıkan
<b>Lauraceae</b>	<i>Persea antericana</i>	Avokado
<b>Oleaceae</b>	<i>Olea europaea</i>	Zeytin
<b>Rosaceae</b>	<i>Malus sylvestris</i>	Elma
<b>Rubiaceae</b>	<i>Coffea arabica</i>	Kahve
<b>Rutaceae</b>	<i>Citrus sinensis</i>	Portakal

Meyve kalitesi ve bahçe verimi üzerinde olumsuz etki yaratan periyodisite, çok iyi bilinen bir konudur. Periyodisite gösteren bir ağaçtaki toplam meyve miktarı var ve yok yılları arasında yüksek bir farklılık göstermektedir. Bu farklılık iki katı veya daha fazla olabilmektedir. Verim yılında çok fazla üründen dolayı istenilen büyüklük ve renk sağlanamazken, verimsiz geçen yılda ise iri meyvelerden ötürü fizyolojik bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Bu olumsuzluk her iki yılda da ürünleri pazarlanamaz duruma

getirmektedir (Jonkers, 1979; Bukovac ve ark., 2006). Ayrıca periyodisite aşırı soğuk kış aylarında ve sıcak iklimlerde şiddetlenebilmektedir (Kailis ve Harris, 2000).

Düzensiz meyve verme olarak adlandırılan periyodisite'nin fizyolojik ve biyokimyasal mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır (Dag ve ark.,2009). Periyodisite; meyve büyümesi ve olgunlaşması, meyve tutumu, çiçek tomurcuğu uyarımı ve farklılaşması gibi süreçleri etkilemektedir. Bunun yanında periyodisite oluşumuna içsel ve dışsal faktörlerin neden olduğu düşünülmektedir. İçsel faktörler: hormonlar, karbonhidratlar, mineral besin maddeleri, dışsal faktörler ise sıcaklık, su ve alınabilir besin maddesi olarak tanımlanmaktadır (Monselise ve Goldschmidt, 1982). Yapılan pek çok çalışmada tohum tarafından taşınan bazı hormonların çiçek tomurcuğununbüyüme ve gelişmesini engellediği öne sürülmektedir (Lavee, 2007).

Diğer çalışmalar ise bu konuda; besinsel rekabetten dolayı olgunlaşmakta olan tohumların, çiçek tomurcuğu uyarımını engellediği veya yaprak, meyve ve meyve gözü arasında besin kullanma yarışında güçlü karbonhidrat tüketicisi olan meyvenin baskın gelmesi sonucu vejetatif gelişmenin durduğu ve diğer yapıların (meyve gözü ve yapraklar) yeterli beslenemedikleri için dökülerek periyodisite'nin ortaya çıktığı yönündedir (Crane ve Nelson, 1971; Krueger ve ark., 2005; Therios, 2009).

### **1.5.1. Antep fıstığında periyodisite**

Antep fıstığında görülen periyodisitede diğer meyve türlerinden farklı olarak her yıl çok fazla miktarda çiçek tomurcuğu oluşmaktadır. Fakat bu çiçek tomurcuqları var yılında dökülmektedir. Bu sebepten dolayı Antep fıstığında görülen periyodisite çiçek tomurcuqlarının oluşmaması değil de, çiçek tomurcuqlarının dökülüp ağaçta durmamaları sonucunda meydana gelmektedir (Crane ve Nelson, 1971; Ak ve Kaska, 1992; Spann ve ark., 2008).

### **1.5.2. Periyodisite'nin ekonomi üzerine etkisi**

Birçok meyve türünde görülen periyodisite, yetiştiricilikte karşılaşılan önemli sorunlar arasında yer almakta ve üretici açısından gelir kaybına neden olmaktadır. Periyodisite gösteren bir ağaçta verim yılında, meyvesi fazla olduğundan meyve kalitesi düşük olup meyveler renksiz, tatsız ve küçük olmaktadır. Aynı şekilde yok yılında da fizyolojik bozukluklar artmaktadır. Bu nedenle verimin bol olduğu yıllarda fiyatlar aşırı derecede düşmekte, verimin az olduğu yıllarda ise fiyatlar yükselerek dış bağlantıların

sekteye uğraması sonucu yetersiz ürün ve yetersiz istihdam ortaya çıkmaktadır (Jonkers, 1979; Lavee, 2007).

### **1.5.3. Periyodisite üzerinde etkili olan biyokimyasal ve fizyolojik parametreler**

#### **1.5.3.1. Besin maddelerinin etkisi**

Besin maddeleri çeşitli bitkilerde yıllar arasında içerik olarak önemli farklılıklar göstermektedir. Ayrıca besin elementlerinin eksikliği çeşitli fizyolojik bozukluklara sebep olmaktadır. Yapılan bir çalışmada besin elementleri bitki gelişimi boyunca incelenmiş ve azot, fosfor, çinko, mangan içeriklerin gelişim döneminde yüksek, daha sonra azaldığını; kalsiyum, potasyum, magnezyum, sodyum, bakır, bor gibi elementlerin ise başlarda az, daha sonra fazla olduğunu saptamışlardır (Tekin ve ark., 1990). Yapılan başka bir çalışmada var yılının ilk baharında yaprak ve meyvelerdeki toplam yıllık makro besin maddesinin yüksek olduğu, yok yılında ise tohum gelişimi sırasında azaldığı görülmüştür (Picchioni ve ark., 1997).

#### **1.5.3.2. Karbonhidratların etkisi**

Çoğu araştırmacıya göre güçlü bir karbonhidrat tüketicisi olan meyvenin ortaya çıkardığı rekabetten dolayı vejetatif gelişmenin durması sonucu periyodisite'nin ortaya çıktığı yönündedir (Krueger ve ark., 2005; Therios, 2009). Periyodisite oluşumunda etkisi olan karbonhidratların, mannitol taşıma hızının 'yok' yılında meyveden toprağa gidildikçe miktarının azalması sebebiyle yapraklardaki mannitol'un azalması ve 'yok' yılında glikoz, fruktoz ve mannitol dönüşümünün düzensizliği olmak üzere iki hipotez vardır (Nejad ve Niroomand, 2007).

Çözülebilir şekerler ile ilgili yapılan çalışmalar var ve yok yıllarında önemli farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur. Yaprak ve meyve gibi yapılarda gözlenen bu farklılık glikoz, fruktoz ve mannitol arasında değişkenlik göstermektedir. Var yılında glikoz ve fruktozun azaldığı, mannitolun ise artması gözlemlenmiştir (Nejad ve Niroomand, 2007). Ancak glikozun diğerlerine göre fazla olduğu görülmüştür (Marsilio ve ark., 2001). Yapraklardaki fruktoz ise glikoz ve mannitol'a göre daha azdır. Mannitol var yılında fazla iken yok yılında azdır. Meyve dokusunda ise şeker miktarı meyve oluşmasından 90 gün sonra artmaya başlar ancak sonrasında azalmaktadır. Yani şeker miktarının artması var yılındaki meyvenin renk değişimi esnasında gerçekleşmektedir.

Oysa var yılındaki toplam şeker miktarı yok yılına göre daha azdır. Bunun sebebi yok yılında meyvenin olmamasından kaynaklanmaktadır (Nejad ve Niroomand, 2007).

### **1.5.3.3. Fenolik maddeler**

Fenolik maddeler, bitkisel kaynaklı besinlerde yaygın bir şekilde bulunan ve bitkiler üzerinde çeşitli rolleri olan madde grubudur. Bitkilerin daha çok meyve, sebze, tohum, çiçek, yaprak, dal ve gövdelerinde bulunmaktadırlar (Cerutti, 1985; Cemeroğlu ve Jale, 1986; Chkikvishvili ve Gogiyo, 1995). Fenolik maddelerin yapılarında bir veya daha fazla hidroksil grubu bulunmaktadır (Shahidi ve Nacz, 1995). Fenolik maddeler meyve ve sebzelerde tat, renk, koku, acılık gibi özellikleri sağlamaktadır (Nacz ve Shahidi, 2006). Fenolik maddeler fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Cemeroğlu, 2004; Anonim, 2006b; Güngör, 2007; Zor, 2007).

#### **Fenolik asitler**

Fenolik asitlerde kendi aralarında hidroksibenzoik ve hidroksisinamik asit olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. C6-C1 fenilmetan yapısında olan hidroksibenzoik asitler gıdalarda glikozit şeklinde bulunmaktadırlar. En yaygın olanları gallik asit, p-hidroksibenzoik asit ve vanilik asitlerdir. C6-CC3 fenil propan yapısında olan hidroksisinamik asitler glikoz ile basit ester şeklinde bulunmaktadırlar. En yaygın olanları p-kumarik asit, kafeik asit, klorenjenik asit ve ferulik asitlerdir (Mattila ve Kumpalainen, 2002; Balasundram ve ark., 2006; Saldamlı, 2007). Yapılan çalışmalarda fenolik asitlerin hastalıklara karşı koruyucu, anti-allerjik, anti-mikrobiyal, antioksidan, anti-trombotik gibi birçok etkisi olduğu bulunmuştur. Fenolik asitlerin bu tür etkilerinin olmasının sebebi antioksidan özellik göstermeleri tespit edilmiştir (Balasundram ve ark., 2006). Fenolik asit analizlerinde daha çok sıvı kromatografi-kütle spektrometresi (LC-MS) (Perez-Magarino, 1999), gaz kromatografi-kütle spektrometresi (GC-MS) (Fiamegos ve ark., 2004), ince tabaka kromatografisi (TLC) (Schmidlein ve Hermann, 1975), kapiler elektroforez (CE) (Cartoni ve ark., 1995) ayrıca ters faz sıvı kromatografisi (RP-HPLC) kullanılan yöntemlerdir (Escarpa ve Gonzalez, 2000; Tsao ve Deng, 2004; Robbins ve Bean, 2004).

#### **Gallik asit**

Molekül formülü 3,4,5-trihidroksibenzoik asit olan gallik asit kullanım alanı geniş fenolik bir asittir. Ayrıca güçlü bir antioksidandır. Antioksidanlar, vücuttaki

zararlı bileşikleri zararsız ve etkisiz hale getirmektedirler. Gallik asit'in beyin lipid peroksidasyonu redüklediği ve antikanserojenik bir bileşik olduğu rapor edilmektedir. En önemli kullanım alanlarından biri de deri ve kozmetik üretiminde kullanılan bazı bileşiklerin eldesinde kullanılmaktadır (Sarıkaya, 2005).

### **Kafeik asit**

Kafeik asit sinamik asit grubu içerisinde yer almaktadır. Molekül formülü 3,4-hidroksisinamik asittir. Sarı kristalize şeklinde bulunan doğal bir fenolik asittir. Suda ve alkolde kolayca çözünebilme özelliğine sahiptir. Birçok bitkide bulunmaktadır. Bir başka özelliği nitrit'i nitrik asit'e indirgemektir (Akkan, 2008).

### **Ferulik asit**

Molekül formülü 3-metoksi, 4-hidroksisinamik asittir. Sebze ve meyvelerde yaygın bir şekilde rastlanan, özellikle tohumlarda ve yapraklarda bulunan fenolik bir asittir. Hem serbest hem de bazı bileşiklere bağlı olarak bulunmaktadır (Taner, 2007). Ferrulik asit hidroksisinamik asit türevlerinden olup sarı renkte bir tozdur. Ferrulik asit kahve, elma, yer fıstığı, portakal gibi birçok bitkide bulunur ancak daha çok yulaf ve buğday gibi tahıllarda bulunmaktadır (Çanakçı, 2010). Antioksidan özellikleri ile yaşlanma, halsizlik, deri kanseri, grip ve soğuk algınlığı gibi birçok hastalıklara karşı koruyucu olarak görev yapmaktadır (Berker, 2005; Taner, 2007). Ferulik asit lipid peroksidasyonunu indirgeyici özelliği ile gıda katkısı olarak da kullanılmaktadır (Taner, 2007).

### **p-Kumarik asit**

Molekül formülü C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub> olup sinamik asit türevlerindedir. Orto, para ve meta olmak üzere üç tane izomeri bulunmaktadır. p-Kumarik asit'in antioksidan özelliği bulunmaktadır (Berker, 2005). Fazla alındığı zaman toksik etki yaratmaktadır. DNA'da oksidatif bozulmaya sebep olduğu, tümör hücrelerini yok etme özelliği ve mide kanserine karşı yararlı olduğu rapor edilmiştir (Akkan, 2008).

## **1.6. Moleküler Parametreler**

### **1.6.1. MicroRNA (miRNA)**

RNA'lar iki gruba ayrılmaktadır. mRNA, proteine dönüştürülenler grubunda yer alırken tRNA, rRNA ve küçük RNA'lar proteine dönüştürülmeyenler grubunda yer almaktadır. miRNA'lar küçük RNA'ların bir çeşididir (Buckingham, 2003). İlk



miRNA'nın keşfi Lee ve arkadaşları tarafından 1993 yılında bulunmuştur. Lee ve arkadaşları *Caenorhabditis elegans* isimli yuvarlak solucanda hiçbir protein kodlaması yapmayan ancak 22 nükleotid uzunluğunda bir RNA'yı transkribe eden ve lin-4 olarak adlandırdıkları geni tanımlamışlardır. İlerleyen yıllarda Reinhart ve arkadaşları tarafından *Caenorhabditis elegans*'ın yetişkin döneminde rastlanan ve bu yüzden gelişimi düzenleyen başka bir miRNA olan let-7'yi tanımlamışlardır. Bu genin çeşitli türlerde korunmuş olduğu bildirilmiştir. İlk miRNA lin-4 olarak adlandırılmış daha sonra 2001 yılında miRNA terimi kullanılmaya başlanmıştır. İlerleyen zamanlarda çoğu organizmalarda miRNA rapor edilmiştir (Reinhart ve ark., 2000; Lagos-Quintana ve ark., 2001; Ambros ve ark., 2003; Saydam ve ark., 2011).

Yapılan keşiflerden sonra miRNA'nın varlığı insan, hayvan ve bitki türleri ile tek hücreli canlılarda saptanmış (Bartel, 2004) ve miRNA'lar, mRNA'ları baskılayan 20-23 nükleotid uzunluğunda kodlama yapmayan tek iplikli küçük RNA molekülleri olarak tanımlanmıştır (Lagos-Quintana ve ark., 2001; Kidner ve Martienssen, 2005; Eldem ve Unver, 2013; Undi ve ark., 2013). Ayrıca miRNA'lar mRNA'lar ile bağlanıp faaliyetlerini çoğaltıp ya da azaltabilirler (Fire ve ark., 1998; Unver ve Budak, 2009). miRNA'ların oluşma mekanizması: miRNA'dan primer miRNA (pri-miRNA)'ların transkripsiyonu, ardından çekirdek'te pri-miRNA'lar prekürsör miRNA (pre-miRNA)'lara dönüşmesi ve son olarak sitoplazma içinde miRNA'ların oluşması olmak üzere üç adımda gerçekleşmektedir (Saydam ve ark., 2011). Yanık (2013), çalışmasında zeytin bitkisinde periyodisite ile ilişkili miRNA'ların karakterizasyonunu belirlemek amacıyla küçük RNA (sRNA) kütüphanelerin klonlanması ve yüksek verimli dizileme yöntemi ile zeytine ait yaprak ve meyve örneklerinde miRNA'lar bulunmuş ve ifade seviyeleri ölçülmüştür. Çalışma sonucunda miRNA'ların, ham meyve, olgun meyve, var kasım yaprak, yok kasım yaprak, var temmuz yaprak, yok temmuz yaprak örneklerinin her birisinde yaklaşık 15 milyon dizi okuması yapılmıştır. Zeytin bitkisinde 22 miRNA familyasına ait toplam 135 korunmuş miRNA tanımlanmıştır.

### **1.7. Transkripsiyon Faktörleri**

Transkripsiyon faktörleri ökaryotlarda DNA üzerinde belli bir gen bölgesine bağlanan ve genlerin transkripsiyonunda işlevi olan düzenleyici proteinlerdir (Latcman, 1997). Bu faktörlerin çoğunu MYB, bZIP, WRKY faktörleri oluşturmaktadır. Bitkilerde çok sayıda transkripsiyon faktörleri bulunmaktadır (Singh ve ark., 2002; Wang ve ark.,

2003; Vinocur ve Altman, 2005; Hirayama ve Shinozak, 2010). Transkripsiyon faktörleri DNA'daki kalıtsal bilginin tanımlanmasında görev almaktadır. Ayrıca DNA bağlanma proteinleri olarak da isimlendirilir (Latchman, 1997). Bu faktörler DNA'ya bağlanıp gen transkripsiyonunda RNA polimeraz yardımıyla bir aktivatör ya da bir reseptör olarak görev yapmaktadır (Latcman, 1997).

Transkripsiyon faktörlerinin çeşitli rolleri bulunmaktadır. Genel olarak yapılan gen klonlama çalışmalarında bitki türlerinde meyve gelişimi ve olgunlaşmasında görev aldığı rapor edilmiştir (Pnueli ve ark., 1994; Itkin ve ark., 2009; Vrebalov ve ark., 2009; Gimenez ve ark., 2010; Bemer ve ark., 2012). Meyve gelişimi ve olgunlaşmasında ki etkisi RNA dizilimi (RNA-seq) tekniği ile belirlenmiştir (Kumar ve ark., 2014). Yapılan başka bir çalışmada pamuk bitkisi hücre duvarının yenilenmesi esnasında görev yapan bazı transkripsiyon faktörleri (NAC, MYB, WRKY)'leri gözlemlenmiştir (Yang ve ark., 2008). Ayrıca NAC, bitkilerin yaşam boyunca bir çok evresinde görev aldıkları için çok yönlü proteinlerdir (Nuruzzaman ve ark., 2010).Yapılan başka bir prinç çalışması sonucunda WRKY geninin tohum gelişimi, çimlenme, yaşlanma gibi gelişimsel süreçlerde ve streslere verilen yanıtlarda rol aldığı sonucuna varılmıştır (Ross ve ark., 2007). Bunu yanı sıra MYB faktörünün flavonoid biyosentezinde bulunan genleri düzenlemede etkili olduğu saptanmıştır (Lea ve ark., 2007). Bir diğer transkripsiyon faktörü DREB, dehidrasyona duyarlı proteindir (Singh ve ark., 2002; Bahatnagar-Mathur ve ark., 2008). bZIP (bazık lösün fermuarı), ilk defa sıçan karaciğeri hücresine ait bir çekirdek proteininde rastlanmıştır. Otuz beş amino asitlik bir dizi olan bZIP, bağlanma domeni olup protein-protein dimerinin oluşumunu sağlayan lösün fermuarına bitişiktir (Klug ve Cummings, 2003). bZIP transkripsiyon faktörü bitkilerde yaprak ve tohum oluşumu, biyotik ve abiyotik stres yanıtlarında, gelişimsel ve fizyolojik süreçlerinde görev almaktadır (Meshi ve Iwabuchi, 1995; Warren, 2002). Terminal Flower (TFL), çiçeklenme süresini kontrol eden transkrpsiyon faktörüdür (Shannon ve Meeks-Wagner, 1991; Alvarez ve ark.,1992). TFL'nin çiçeklenme zamanının olumsuz regülatörü olduğu düşünülmektedir (Simon ve ark., 1996). Arabidopsis çiçek homeotik geni *APETALAI* (*API*), çiçek meristeminin kimliğini, sepal ve petal gelişimi belirlemek için yerel olarak etki eden bir transkripsiyon faktörüdür (Gustafson-Brown ve ark., 1994).

## 1.8. Periyodisite Mekanizmasını Belirlemede Kullanılan Yöntemler

### 1.8.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

PCR, ilk olarak Kary Mulis tarafından 1985 yılında geliştirilmiştir (McPherson ve Moller, 2001). Polimeraz Zincir Reaksiyonu, moleküler çalışmalarda kullanılan, bir DNA ya da RNA dizisinin istenilen bir bölgeyi primerler kullanılarak ve polimeraz enzimi yardımıyla çoğaltılması temeline dayanan in vitro bir tekniktir (Türkyılmaz ve Esendal, 2002; Lopez ve ark., 2003; Sevindik ve Abacı, 2013). Bu teknik sayesinde laboratuvar çalışmalarında büyük bir artış görülmüş ve sonuçlar ise kesinlik kazanmıştır (Yıldırım ve ark., 2011). PCR'in spesifik, hassas, hızlı ve kullanışlı olması bu tekniği çeşitli mikroorganizma türlerinin tespiti için tercih edilen teknik haline getirmiştir (Gonzalez ve ark., 2000). Ayrıca PCR tekniği, biyoteknoloji, moleküler teknolojiler, toprak mikrobiyolojisi, sistematik ekoloji, tıp, bakteri, virüs ve mantar gibi canlıların neden olduğu hastalıkların tespit edilmesinde kullanılan yaygın bir yöntem olmaktadır (Bridge ve Arora, 1998; Louie ve ark., 2008). PCR, ayrılma (denatürasyon), bağlanma (annealing) ve uzama (ekstensiyon) olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır. Bu aşamalar döngü şeklinde 30-45 defa tekrar edilmektedir. Böylece DNA 2<sup>n</sup> sayıda geometrik olarak artmaktadır (Sambrook ve Russell, 1989; Sambrook ve Russell, 2006; Temizkan ve Arda, 2008).

**1. Ayrılma (Denatürasyon):** İlk aşama denatürasyon olup 90-95<sup>0</sup>C sıcaklık uygulamasıyla çift zincirli hedef DNA'daki hidrojen bağları kırılıp zincirler birbirinden ayrılır ve tek zincirli DNA'ya dönüşür. Bu aşama 15 saniye ile birkaç dakika arasında gerçekleşmektedir.

**2. Bağlanma (Annealing):** Bu aşama primer bağlanması veya primer eşleşmesi olup bu aşamada primer olarak kullanılan iki oligonükleotid hedef DNA'daki diziler ile eşleşmekte ve hibritleşme olayı gerçekleşmektedir. Bunun için sıcaklığın 55-65<sup>0</sup>C arasında olması gerekmektedir. Bu aşama 1-2 dakika sürmektedir.

**3. Uzama (Ekstensiyon):** Son aşama primer uzaması olup Taq DNA polimeraz enzimi ile primerlerin 3'OH uçlarına nükleotid eklenmesi ve DNA zincirinin uzamasıdır. Bu aşamadaki optimum süre 1-3 dakika ve optimum sıcaklık olarak 72<sup>0</sup>C yeterli olmaktadır (McPherson ve Moller, 2001).

Sonuç olarak elde edilen PCR ürünleri agaroz jel elektroforezinde koşturular daha sonra fleurosan bir boya olan etidyum bromür (EtBr) ile boyanıp görüntüleme cihazında görüntülenir.

### **PCR'ın Temel Bileşenleri**

**Kalıp DNA:** kalıp olarak DNA veya RNA kullanılabilir.

**Polimerazlar:** DNA polimeraz enzimleri kalıp DNA'ya veya RNA'ya komplementer iplik oluşturur. PCR çalışmalarında genellikle *Thermus aquaticus* bakterilerinden elde edilen Taq DNA polimeraz enzimi kullanılmaktadır. Bu enzimin optimum çalışma sıcaklığı 70-80°C arasındadır.

**Primerler:** Polimeraz enzimlerin sentezlenmesi için gerekli DNA parçalarıdır.

**dNTP (Deoksiribonükleozidtrifosfat) karışımı:** dATP, dGTP, dTTP ve dCTP bazlarını içeren karışımdır.

**MgCl<sub>2</sub>:** optimum MgCl<sub>2</sub> miktarı 1mM-5mM seviyede sonuç vermektedir. Düşük Mg<sup>+2</sup> zayıf ürün oluşumuna, yüksek Mg<sup>+2</sup> ise spesifik olmayan ürün oluşumuna neden olmaktadır (Sambrook ve Russell, 2006).

### **Real Time PCR**

Real Time PCR, floresan işaretli prob ve boyaların kullanıldığı, DNA veya mRNA amplifikasyonunu sağlayan ve elde edilen ürünlerin tek bir tüpte tayin eden güncel bir yöntemdir (Gibson ve ark., 1996; Klein, 2002). Real Time PCR'da ürünlerin tayini gerçek zamanlı yapılmaktadır. Yani agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmesine ihtiyaç duyulmadan ürünlerin tayini reaksiyon sırasında yapılmaktadır (Güngör, 2006). Real Time PCR 'homojen PCR', 'kinetik PCR', 'kantitatif Real-time PCR' gibi çeşitli isimlerle de adlandırılmaktadır (Günel, 2007). Real-time PCR sayesinde birçok çalışmada mikroorganizma bulaşma riskinin az olduğu ve DNA-RNA örneklerin sayısal olarak kısa sürede analiz edilebilmesi olanağı sağlanmaktadır (Bustin, 2000). Ayrıca patojen belirleme, mutasyon analizi, gen ekspresyonunun belirlenmesi, kromozom bozukluklarının tespiti gibi birçok çalışmalarda Real-time PCR kullanılmaktadır (Kubista ve ark., 2006).

Real-time PCR'ın en önemli avantajı floresan problemlerin kullanılmasıyla çoğaltma işleminin görünür olmasıdır. Çoğalan ürünlerin, başlangıç miktarı ile kıyaslama yapılarak amplifikasyon eğrilerinden artışı izlenebilir (Maas ve ark., 2003).

Kullanılan proplar sayesinde kesin sonuç olasılığı artmaktadır (Wilhelm ve Pingoud, 2003). Bu yüzden prob seçimi RT-PCR'in önemli bileşenidir. 'SYBR-Green I' en fazla kullanılan boya çeşididir (Günel, 2007). SYBR-Green I floresan boya çift zincirli DNA'ya bağlanabilen en basit boyadır. Ancak çift zincirli DNA'da floresan ışımaya yapabilir. Bunun dışında floresan ışımaya yapan 'TaqMan probe' veya 'hidroliz prob', 'moleküler boncuk yöntemi' ve 'hibridizasyon problemlerini içeren problemler' olmak üzere üç adet işaretli prob bulunmaktadır (Günel, 2007).

Real-time PCR'da amplifiye edilen DNA'nın istenilen hedef bölge olduğunu saptamak için erime eğrisi analizi yapılmaktadır. Temperature Melting (T<sub>m</sub>) yani erime sıcaklığı, DNA'nın bir kısmının tek zincirli haline geldiği belirli sıcaklığa verilen isimdir. RT-PCR bileşenlerinden biri negatif kontrol'dür. Bu negatif kontrol, çalışılan genetik materyal dışında her malzemeyi (distile su, enzim, master mix, vb.) bulunduran kontrol bileşendir. Negatif kontrol, olası bir bulaşma durumunu kontrol eder. Pozitif sonuçlar vermesi çalışmada kontaminasyon olduğunu göstermektedir. RT-PCR'in bir önemli bileşeni Pozitif kontrol'dür. Pozitif kontrol, çalışmanın yönteminde ya da kullanılan malzemelerinde bir eksiğin olup olmadığını ortaya çıkarmaktadır. Pozitif kontrolün, pozitif sonuç vermesi beklenmektedir. Çünkü aksi bir sonuç verirse, çalışmanın yanlış olduğu ve doğru sonuçlar vermediği anlaşılmaktadır (Maas ve ark., 2003). Gerçek zamanlı PCR'in kullanıcılar tarafından çok fazla tercih edilmesinin nedeni hassas, verimli, hızlı ve üretken olmasıdır (Günel, 2007).

### **1.9. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)**

Genel olarak antijen-antikor reaksiyonlarını gösterebilmek için enzim kullanılan tüm yöntemlere enzyme immunoassay=EIA (enzim immunotest) adı verilmektedir (Babacan, 1996). ELISA'da heterojen EIA'nın bir çeşidi olmaktadır. Heterojen EIA, bağlı olan ve olmayan reaktifleri birbirinden yıkama yöntemi ile fiziksel bir şekilde ayırmaktadır (Roitt ve ark., 1998). ELISA, antijen-antikor kompleksine dayanan enzime bağlı immüno-kimyasal bir yöntemdir (Kamber, 1993; Lopez ve ark., 2003). Bu yöntem ilk kez Clark ve Adams tarafından 1977'de bilime tanıtılmışlardır. ELISA daha çok bitki virüsünün tespiti için kullanılmaktadır (Clark ve Adams, 1977). ELISA basit, ucuz, güvenilirliği, spesifikliğı nedeniyle çokça tercih edilmektedir (Naidu ve Hughes, 2003; Batool ve ark., 2011).

ELISA, katı faz üzerinde antijenin bazı gruplarına enzim işaretli antikorların bağlanmasını ve substrat yardımıyla enzim aktivitesini fotokolonimetre ile ölçülmesini sağlamaktadır (Kamber, 1993). Katı faz olarak genellikle mikrotitrasyon plastikler kullanılmaktadır (Hendry ve Hermann, 1984; Abbas ve ark., 1997). ELISA’da kullanılan enzimler substratları renkli ürünlere çeviren enzimlerdir. Bunlar; peroksidaz, alkalen fosfataz ve beta-galaktozidaz gibi çeşitli enzimlerdir (Coligan ve ark., 1994; Babacan, 1996). ELISA testinin iki yöntemi vardır. Bunlar; 1) Direct ELISA, antijen varlığını belirlemek için kullanılan yöntemdir. 2) Indirect ELISA, antikor varlığını belirlemek için kullanılan yöntemdir (Qing ve ark., 2003). IgG ve IgM immünoglobünlere, hedef hücreleri enfekte eden hücre dışı virüsleri nötr hale getirme yeteneğine sahiptirler. Enfeksiyonu olan bir hastanın serumunda enfeksiyon başlarında IgM, iyileşme döneminde IgG immünoglobünlere özgü antikorlar bulunmaktadır (Özbal, 2000). IgM immünoglobüni enfeksiyonun ilk günlerinde görülüp yüksek miktarda sentezlenir ve kısa ömürlüdür. IgG immünoglobüni ise enfeksiyonun ilerleyen günlerinde görülüp yüksek miktarda üretilir ve uzun ömürlüdür. IgM ELISA (+) sonuç, örnek üründe virüs enfeksiyonunun olduğunu göstermektedir. IgG ELISA(+) sonuç, enfeksiyonu geçirmiş olduğunu ve virüse karşı bağışıklık kazandığını göstermektedir (Özbal, 2000).

### 1.10. Mikroarray Teknolojisi

DNA, protein vb. yapıların mikroskop lam benzeri cam veya plastik bir katı yüzey üzerine düzenli bir şekilde sabitlenmesi ile elde edilen mikroarraylerin (çip) kullanıldığı metoda mikroarray teknolojisi denilmektedir. Bu çip üzerinde binlerce kuyucuk bulunmaktadır. Bunların her birine prob denilmektedir. Problar cDNA veya oligonükleotid dizileri şeklinde sabitlenmiş ve gen, organizma, mutasyon veya intergenik bölge için spesifik olarak tasarlanmıştır (Bilitewski, 2009). Gen ifadesi profilinin analizlerinde büyük bir yayılım gösteren mikroarray teknolojisi farklı nükleik asitlerin hibridizasyonunu temel almaktadır. Ayrıca mikroarray teknolojisi strese cevap sırasında ilgili yeni genlerin belirlenmesini sağlamaktadır. DNA’ya bağlanan florasan sinyallerin oranı ve yoğunluğu ile gen ifadesindeki değişim ölçülmektedir. İki tip mikroarray bulunmaktadır.

**cDNA mikroarray:** Bu tip mikroarray’lar PCR ile amplifiye edilen cDNA ürünlerine ait 300-500 bazlık problemlerin cam slaytlar üzerine sabitlenmesi şeklinde

hazırlanmaktadır. cDNA mikroarray'ların en büyük avantajı ucuz olmasıdır. Birçok bitki çalışmalarında cDNA mikroarray tercih edilmektedir.

**Oligonükleotid mikroarray:** GeneChip teknolojisi olarak da adlandırılan bu tip mikroarray 20-80 merlik oligolardan veya peptid nükleik asitlerden ışığa duyarlı bir tabaka veya çip immobilizasyonunu takiben geleneksel sentezle in situ olarak oluşturulmaktadır (Weiler ve ark., 1997). Oligonükleotid mikroarray'ların en büyük avantajı DNA dizi bankalarından direk olarak sentezlenebilir olmasıdır. Dezavantajı ise pahalı olmasıdır.

Mikroarray teknolojileri ile bir genomdaki kodlanmış ve kodlanmayan gen bölgelerinde meydana gelen değişiklikler belirlenebilmektedir (Eldem ve Unver, 2013). Ayrıca gen profil ifadelerinin tespit edilmesinde kullanılmaktadır (Nishimura ve ark., 2003). İnsan da zeka geriliğinin genom profili (De Vries ve ark., 2005), ülseratif kolit(UC) ve Crohn hastalığındaki (CD) doku gen profili (Yoltaş ve Karaboz, 2010) ve birçok bitkilerin gen profillerinin belirlenmesinde bu teknoloji kullanılmaktadır (Aharoni ve ark., 2002; Wang ve ark., 2003). Başka bir kullanım alanı ise miRNA ekspresyon profilinin belirlenmesidir (Eldem ve Unver, 2013). Bitkilerde miRNA-mikroarray tekniği, stres koşulları altında miRNA'da meydana gelen değişiklikleri saptamada (Eldem ve Unver, 2013) ve organlardaki miRNA'ların tespit edilmesi (Amiteye ve ark., 2011) gibi amaçlarla kullanılmaktadır.

### **1.11. Yeni Nesil Dizileme Metodu**

Dizileme çalışmalarında ilk nesil dizileme metodu olan Sanger tekniği kullanılmaktaydı. Sanger tekniğinde uzun DNA parçalarının dizilemesi yapılmaktadır. Bunun için önce uzun DNA, küçük parçalara ayrılır ve bu parçalara uygun plazmitler tek tek dizilenir. Bir araya getirilen diziler ile uzun DNA dizisi elde edilmektedir (Üstek, 2011). Ancak zaman ilerledikçe aynı alanda yeni teknolojiler ile büyük bir yol katedilmiştir. Bunlar ikinci nesil dizileme olarak da bilinen yeni nesil dizileme sistemleridir. Roche 454 genome analyzer, Illumina Genome Analyzer, Applied BioSystem SOLID, Complete Genomics, Helios, GS FLX 454, Pacific Biosciences ve IonTorrent sistemleri günümüzde kullanılan yeni nesil dizileme sistemleridir (Ronaghive ark., 1999; Türктаş ve ark., 2014). Bu tekniklerden DNA dizilerinin dizilenmesi yönünden en fazla tercih edilen 'prodizileme' olarak bilinen GS FLX 454 teknolojisidir (Ronaghi ve ark., 1999).

Prodizileme basit ve kullanışlı olması sebebiyle önceki Sanger dizilemenin yerini almıştır. Prodizileme, dizilemesi yapılacak olan DNA'nın tek sarmalı üzerinde komplementerinin sentezlenmesi temeline dayanmaktadır. Bunun için çift zincirli DNA önce 400-800 bç'lik fragmanlara ayrılır. Daha sonra emülsiyon tabanlı klonal (em-PZR) ile DNA fragmanlarının çoğalması sağlanır (Url-3). Bu işlem sonucunda çıkarılmış olan yaklaşık 10 milyon kopya DNA fragmanları, dizileme metodu ile yaklaşık 3.6 milyon kuyu bulunduran bir plaka üzerinde dizilenir. Kemilüminesans enziminin oluşturduğu ışık sinyali sayesinde sabitlenen tek sarmallı kalıp DNA üzerine tamamlayıcı nükleotidlerin bağlanması sağlanmaktadır. Tamamlayıcı nükleotidlerin sıralanması sırasında DNA polimeraz pirofosfat (PPi) açığa çıkmaktadır. PPi, sülfirilaz enzimi ile ATP'ye dönüştürülür. Daha sonra ATP, lüsiferaz enzimi ile lüsiferini oksilüsiferine dönüştürür. Ve son olarak oksilüsiferinin yarattığı ışık sayesinde aynı dizi üzerindeki homopolimerler tespit edilir. Bilgisayar program yardımıyla ortaya çıkan ışık CCD kamera ile kaydedilip dizi verilerine dönüştürülür.



## 2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Cücü-Açıklalın (1998)'de yaptığı bir çalışmada periyodisite gösteren Kinnowmandarini ağaçlarının var ve yok yıllarındaki karbonhidrat ve bitki besin elementlerinin mevsimsel değişimi ve arasındaki farkları belirlemek, periyodisite ile olan ilişkilerini saptamak amacıyla Kinnow mandarini ağaçlarından 12 ay boyunca alınan yaprak örneklerini incelemiştir. Araştırma sonucunda, var ve yok yıllarına ait karbonhidrat ve bitki besin elementleri arasında bazı aylar dışında % 5 oranında önemli farklılıklar bulmuştur. Mevsimsel değişimi arasında nişasta ve suda çözünebilir şekerlerin tersine bir ilişki saptamıştır. Suda çözülebilir şekerler var yılında yok yılına göre daha düşük miktarda iken nişastanın var yılında yok yılına göre daha yüksek miktarda olduğunu saptamıştır. Bitki besin elementlerinin ise aylara göre farklı seviyede olduklarını gözlemlemiştir.

Kotoda ve ark. (2002)'de yaptıkları bir çalışmada Arabidopsis APETALA1 (AP1) ve Antirrhinum SQUAMOSA'nın homoloğu sayılan bir elma geni olan MmMADS5 geninin, çiçeklenmeyi nasıl etkilediği ve transgenik elma üretiminde etkili olup olmadığını araştırmak için Agrobacterium tumefaciens EMA101 kullanarak Arabidopsis içine aktarmışlardır. Bu çalışma sonrası MmMADS5 geninin fonksiyonunun AP1 genine benzer olduğu öne sürmüşlerdir. Elmadaki çiçek tomurcuğu oluşum mekanizması Arabidopsis'tekinden farklı olsa da, MmMADS5 geni, elmanın çiçek tomurcuğu oluşumunda rol oynayabilir sonucuna varılmıştır.

Varol ve Tanrisever (2004)'de yaptığı bir çalışmada Ayvalık, Domat, Gemlik ve Memecik gibi farklı derecelerde periyodisite gösteren zeytin çeşitlerinin yapraklarında var ve yok yıllarına ait proteinlerin yıllık değişikliklerini ele almıştır. Araştırma sonucunda zeytin ağaçlarında protein seviyesi en yüksek tam çiçeklenme ve küçük meyve döneminde, en düşük protein seviye ise morfolojik ayırım periyodunda tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada kullanılan zeytin yapraklarında on çeşit protein tespit etmiştir. Bunların 36 ve 5S kDa proteinlerin periyodisite ile ilişkili olabileceği tahmin etmiştir.

Baktır ve ark. (2004)'de alternatif zeytin ağaçlarında hormonların mevsimsel olarak değişimini incelemek amacıyla üç adet zeytin çeşidinin (Gemlik, Memecik ve Tavşan yüreği), birbirini takip eden iki yıl boyunca yaprak, düğüm, sürgün ucu ve meyve örneklerinden alınan hormon konsantrasyonlarındaki değişiklikleri aylık olarak

izlemişlerdir. Daha sonra Absisik asit (ABA), Giberellik asit (GA), indol asetik asit (IAA) ve kinetin benzeri sitokinlerin konsantrasyonları belirlenmiştir ve bu hormonların ‘açık’ ve ‘kapalı’ yıllarda çiçek tomurcuğu oluşumu ile ilişkisi incelenmiştir. Sonuç olarak zeytin ağaçlarının çeşitli dokularında ‘açık’ ve ‘kapalı’ ekim yılları arasında ABA, IAA, GA sitokinleri açısından önemli farklılıklar görülmüştür. Ayrıca GA ve ABA hormonlarının, çiçek gelişiminin ve alternatif yatağın kilit bir düzenleyicisi olduğunun kanıtına varılmıştır.

Çetinkaya (2004), mutlak periyodisite gösteren Uzun, oransal periyodisite gösteren Siirt ve Ohadi Antep fıstığı çeşitleri üzerine çalışmıştır. Araştırmayı 25 yaşındaki ağaçlarda yapmıştır. Çalışma hem sulanan hem de sulanmayan koşullarda gerçekleştirmiştir. Sonuçta verim yılında yapraklarda N, P, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu ve Mn diğer yıllara göre daha yüksek seviyede, K ise daha düşük seviyede saptamıştır. Meyvelerde ise verim yılında P ve Mn yüksek, N, Mg, Fe, Zn ve Cu düşük seviyede saptamıştır. Yapraklarda ve meyvelerde karbonhidratlar verim yılında düşük seviyede saptamıştır. Meyve gözlerinde verim yılında IAA ve GA<sub>3</sub> miktarları artarken, ABA miktarını diğer yıllara göre daha düşük bulmuştur. Meyve gözü ile N arasında bir ilişki bulunmazken, yapraklardaki şeker ve meyve gözlerindeki ABA seviyesi ile negatif, meyve gözlerindeki IAA ve GA<sub>3</sub>, seviyeleri arasında pozitif ilişkiler bulmuştur. ABA seviyesi ile GA<sub>3</sub> ve IAA seviyesi arasında ise negatif korelasyon bulmuştur.

Ulger ve ark. (2004)’de zeytininin indüksiyon, inisiyasyon ve farklılaşma evreleri sırasında hormonların, şekerlerin ve mineral besinlerin düzeylerini belirlemek amacıyla 2000 ve 2001 yıllarındaki ‘Memecik’ zeytininden yaprak, düğüm ve meyve örnekleri almışlardır. Ve bu örneklerin şeker, hormon ve mineral besinlerin düzeylerindeki değişikliklere bakılmıştır. Sonuç olarak glikoz her iki yılda en yüksek değerlere sahip olduğu, bunu sırasıyla sükröz ve fruktoz takip etmiştir. En yüksek mineral elementler Ca ve Fe olarak bulunmuştur. Mineral besinler ve karbonhidratlar çiçek başlangıcını indüklemek için doğrudan bir etkiye sahip olabileceğini göstermiştir. Diğer taraftan GA, ABA ve bazı sitokinlerin düzeylerinin yüksek konsantrasyonları indüksiyon ve inme speriyotları sırasında zeytinde çiçek oluşumu üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu görülmüştür.

Ertürk ve ark. (2015)’de yaptıkları bir çalışmada Kırmızı, Siirt ve Ohadi Antep fıstığı çeşitleri olmak üzere her çeşit Antepfıstığından 3 adet meyveli ve 3 adet meyvesiz yani periyodisite gösteren ağaçlar kullanmıştır. 16-31 Temmuz tarihleri

arasında meyveli ve meyvesiz ağaçlardan yaprak örnekleri almıştır. Ayrıca her ağaçtan salkım saplarından da örnekler almıştır. Alınan örneklerin analizlerini yapmıştır. Elde edilen verilere göre, genel olarak meyveli ağaçların besin değerleri meyvesiz ağaçlardan daha çok olduğu ve meyve kısımlarının besin dağılımının birbirinden farklı olduğu saptanmıştır.

Al-Shdiefat ve Qrunfleh (2008)'de yaptıkları zeytinde periyodisite ilişkili endojen hormon içerikleri isimli çalışmada: 15 yıllık Nabali Nuhasan zeytin ağaçlarında ABA, IAA, GA ve sitokininlerin iki yıl boyunca yan tomurcuklardan örnek olarak içerikleri belirlemeye çalışmışlardır. Sonuç olarak Nabali Nuhasan zeytin türünün periyodisite için uygun bir tür olduğu kanıtlanmıştır. Çalışmada ABA'nın yok yılında var yılına göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. GA 'nın ise var yılı ve yok yılında neredeyse aynı olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak vegetatif ve üreme organlarındaki endojen hormonlar ilişkilerinin birbirini tamamladığı görülmüştür.

Yavuz (2008) yılında yaptığı çalışmada aşırı derecede periyodisite gösteren zeytin çeşitlerinden elde edilen yağ miktarı meyvedeki yağ oranı anlamında olmasa da bir zeytin ağacından elde edilen meyve miktarını etkilediği sonucuna varmıştır. Bu nedenle periyodisiteye karşı hassas olan çeşitlerden elde edilen yağ miktarı yıllar bazında düşünüldüğünde düşük olmaktadır ve bu özellikle ticari açıdan kayıp olarak değerlendirilmektedir.

Amiri (2009), fıstıkda periyodisiteyi engellemek için azot miktarının fizyolojik etkisi isimli çalışmasında İran bölgesinde 2003-2006 yılları arasında 4 yıl boyunca azot miktarları ölçülmüştür. Çalışma sonucunda var yılında bitkinin azot ihtiyacının yok yılına göre daha fazla olduğu bulunmuştur.

Kalenderoğlu (2010), çalışmasında Gemlik zeytin çeşidinde Dal eğme + Üre, Dal eğme +KNO<sub>3</sub> (Potasyum Nitrat), Dal eğme + MgSO<sub>4</sub> ve Dal eğme + Üre + KNO<sub>3</sub> + MgSO<sub>4</sub> yaprakdan uygulanmasının ağaçların meyve verim ve kalite üzerine etkisini amaçlamıştır. Bu amaç doğrultusunda birinci uygulama sonbaharda (Aralık) olup yaprak gübresi uygulaması % 0,5 dozlarında yapmıştır. Diğer uygulamaları ise Şubat ve Nisan aylarında olmak üzere ikişer ay arayla yapmıştır. Daha sonra meyvelerde pomolojik incelemeler ve yapraklardaki bitki besin madde analizlerini yapmıştır. Sonuç olarak meyvelerde % yağ miktarları tespit edilmiştir. Ayrıca elde edilen veriler

periyodisite yılında alındığı için önemsiz gibi gözükmektedir. Ürünün bol olduğu yılda yapılacak uygulamaların ise etkili olabileceği düşünülmektedir.

Nakagawa ve ark. (2012)'de yaptıkları bir çalışmada mango ağaçlarında periyodisiteyi araştırmak için Giberellin metabolizma genleri ve Flowering locus T-like (FT) genlerinin izole edilmesi ve ekspresyon analizleri yapılmıştır. Çalışmada 250 ppm Giberellin 3 (GA<sub>3</sub>) uygulaması sonucunda FT genini var ve yok yılındaki ağaçlarda tamamen inhibe edildiği görülmüştür. Bu bağlamda FT geninin mango ağaçlarında çiçeklenme için önemli bir faktör olduğu bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada var yılındaki ağaçlarda yok yılına göre daha az nişasta miktarına rastlanmıştır.

Shalom ve ark. (2012)'de yaptıkları bir çalışmada portakal ağaçlarında var yılı ve yok yılına ait örneklerde global gen ekspresyonu yöntemiyle çiçeklenmeyi kontrol eden genlerin ifadesindeki değişimleri çalışmışlardır. Çalışma sonucunda yok yılında ise SPL homologlarının fazla eksprese olduğu bulunmuştur. Bu SPL genlerinin portakal ağaçlarında fidanların gençlikten yetişkinliğe geçme aşamasını kontrol ettiği bilinmektedir. Bu SPL geni miR 156 tarafından kontrol edilmektedir. Ayrıca bazı metabolik ve düzenleyici süreçlerin var yılı ve yok yılı tomurcuklarından alınan örneklerde değişim gösterdiği bulunmuştur.

Suakar (2012) yılında yaptığı bir çalışmada zeytin periyodisitesi ile ilişkili olan aday genlerin tespiti amacıyla cDNA kütüphaneleri oluşturmuştur. Var-yok yıllarının Temmuz-Kasım aylarına ait yaprakları ve Ekim meyve örneklerini kullanmıştır. Her bir kütüphaneden rastgele 100 koloni seçerek insert nükleotid dizileri ve homoloji analizleri yapmıştır. Her meyveye ve gelişme dönemine ait cDNA molekülleri ve aday gen bulmuştur. Ayrıca elde edilen dehidrin geninin 118 nükleotitlik intron bölgesi ve 699 nükleotitlik aday promotör bölgesi tespit etmiştir. 28 kDa 'luk proteinin LDH ile donmayı geciktirme aktivitesi ve mRNA'sının Temmuz ve Kasım ayı 'var-yok' yılları yapraklarında ve zeytinin bazı organlarında ekspresyon profilini belirlemiştir. Real-time PCR ile dehidrin geninin tek kopyalı olma ihtimalinin yüksek olduğunu bulmuştur. Sonuçta 27 zeytin çeşidinde polimorfizm analizi yapmıştır ancak çeşit ayrımında kullanılacak kadar polimorfik olmadığını ve zeytin dehidrin geninin Y2SK2 segmentine sahip olduğunu bulmuştur.

Atay (2013)'de yaptığı bir çalışmada GA4+7, etefon ve Pro-Ca gibi bitki büyüme düzenleyicilerini 2010 ile 2012 olmak üzere üç yıl süreyle Golden Delicious

elmasında uygulamıştır. Pro-Ca ve Etefon uygulamalarının genel olarak çiçeklenme üzerine olan etkileri önemsiz bulunmuştur. Ağaç başı verim değerlerine göre periyodisite eğilim indeksi; kontrol ve Pro-Ca uygulanan ağaçlarda fazla, etefon uygulananlarda orta, GA4+7 uygulananlarda ise düşük (0,41) bulunmuştur. Vegetatif gelişiminde Pro-Ca uygulaması en etkili olmuştur ve sürgün uzunluğunu % 40-43 oranında azalttığı saptanmıştır.

Dündar ve ark. (2013)'de yaptıkları bir çalışmada Ayvalık zeytin çeşidinde periyodisite ile ilgili cDNA'ların izolasyonu ve ekspresyon analizlerini belirlemiştir. Çalışma sonucunda P450 mono oksijenaz geninin ifadesini var yılında yok yılına göre 5 kat daha fazla bulunmuştur. Aynı zamanda iki tane dehidrin genin de ifadesinin var yılında daha fazla olduğu görülmüştür. UDP-glikoz emiperazın homolog genleri asil-CoA bağlama proteini, trioz fosfat izomeraz ve nükleer ankor proteinlerinin meyvede önemli ölçüde fazla bulunmuştur. Ancak embriyo bağlanma proteinleri sadece var yılının yapraklarında görülmüştür.

Yanık (2013)'de yaptığı tez çalışmasında, zeytin bitkisinin var ve yok yıllarının Temmuz-Kasım aylarına ait yaprak ve meyve örneklerini toplamıştır. Periyodisitede rol oynayan miRNA'ların analizini yapmıştır. miRNA'ları belirlemek için küçük RNA (sRNA) kütüphanelerinin klonlanması ve yüksek verimli dizileme tekniği ile zeytin yaprak-meyve örneklerine ait miRNA'ları bulmuş ve ifade düzeyi farklılıklarını ölçmüştür. Çalışmada 18-30 nükleotid uzunluğundaki miRNA'ların, 6sRNA kütüphanesinin her birisinde yaklaşık 15 milyon dizi okuması yapmıştır. Zeytin bitkisinde 22 miRNA familyasına ait toplam 135 korunmuş miRNA tanımlamıştır. Ayrıca 38 yeni miRNA tespit etmiş ve sonuçta zeytinde miRNA'ların periyodisite ile ilişkili olduğunu saptamıştır.

Yi-Yun (2015)'de gerçekleştirdiği tez çalışmasında zeytin ağacında periyodisite olgusunun birçok yönde değerlendirmiştir. Bunlardan bir tanesi OEFT geninin inhibe edilmesi sonucunda çiçeklenme gelişiminin durduğu lateral tomurcukların gelişmediği çiçeklemenin olumsuz etkilendiği bulunmuştur.

Guitton ve ark. (2016)'da yaptıkları bir çalışmada elma ağaçlarında periyodisiteyi anlamak için var yılı ve yok yılında transkriplerin farklı ekspresyon seviyeleri analiz edilmiştir. Çalışmada birçok anahtar düzenleyici genler özellikle

Tempranillo (TEM), Floral Transition at Meristem (FTM1) ve Squamosa Promoter Binding protein-like (SPL) genlerinin farklı ifade oldukları bulunmuştur.



### **3. MATERYAL VE METOT**

#### **3.1. Materyal**

Bu çalışma, Siirt yöresinde bulunan Antep fıstığının 'Siirt' çeşidi üzerinde planlanmıştır. Araştırma materyali Siirt Gökçebağ köyünde bulunan münferit fıstık bahçelerinden işaretlenmiş fıstık ağaçlarından sağlanmıştır. Yok yılı için örnekler 2015, var yılı için ise 2016 yılında toplanmıştır. Özellikle moleküler analizler için alınan örnekler, kuru buz ortamında alınmış ve deney aşamasına kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır. Analizler yaprak, gövde ve meyve dokuları baz alınarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada fizyolojik parametrelerin analizleri Siirt Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarının alt yapısı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Siirt fıstığında var-yok yıllarına ait doku örnekleri alınarak, şekerler (glikoz, fruktoz, sükroz, maltoz), uçucu yağ asidi profili, fenolik organik asit, azot/protein analizleri, bitki besin maddeleri ve gen ifade analizleri yapılmıştır.

#### **3.2. Metod**

##### **3.2.1. Bitki besin maddeleri analizleri**

Bitki besin elementlerinin analizi için yaprak, gövde ve meyve örnekleri önce çeşme suyu, sonra % 0.1'lik deterjan daha sonra yeniden çeşme suyunda temizlenmiştir ve son olarak distile su ile iyice yıkanmıştır. Yıkanan örnekler  $65-70^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat sabit ağırlığa ulaşmaya kadar kurutulduktan sonra havanda öğütülmüştür. Bu şekilde hazırlanan örneklerdeki N miktarı Dumaş yöntemiyle N-protein analiz cihazında, P, Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Mn ve K düzeyleri ise ICP-MS (indüktif olarak eşleşmiş plazma-kütle spektroskopisi) yöntemine göre saptanmıştır.

##### **3.2.2. Karbonhidrat analizleri**

Fıstık bitkisinde alınan örneklerde şeker (glikoz, fruktoz, sakkaroz, maltoz) miktarının tayini HPLC ile TSE13359 yöntemine göre yapılmıştır. Kurutulmuş fıstık örnekleri havanda öğütülüp un haline getirilmiştir. Un haline getirilmiş fıstıktan 2,5 gram alınarak falkon tüpüne konulup üzerine 7,5mL % 25'lik (75:25 H<sub>2</sub>O:CH<sub>3</sub>OH) metanol çözücüsü eklenmiştir. Daha sonra 200 rpm de, 40 °C'de 45 dakika çalkalanmıştır. Daha sonra 6000 rpm'de 5 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüjlenen örneğin

süpernatant kısmından alınıp 0,25'lik mikro filtreden geçirilerek vialere alındı ve HPLC cihazına verilmiştir

### **HPLC koşulları**

Analitik kolon: 250mmX4,6 mm ID, hipersilgoldamino

Akış hızı: 1,3 mL/dk

Hareketli Faz: Asetonitril su karışımı (ACN:H<sub>2</sub>O) 82:18

Kolon sıcaklığı: 30 °C ± 1 °C

Enjeksiyon hacmi: 20 µL

### **3.2.3. Uçucuyağ asidi analizi**

Bu çalışmada her bir numuneden 5'er gram alınıp havanda öğütülmüştür. Öğütülen numuneler 50 mL'lik falkon tüpüne konularak üzerine 45 mL petrol eter eklenmiştir. Çalkalayıcı su banyosunda 200 rpm 50°C'de bir saat çalkalanırdaha sonra 5000 rpm'de 5 dk ultra santrifüjlenmiştir. Santrifüjlenen numune 16 mL'lik tüplere alınarak yağların yağ asidi bileşenlerini ve miktarlarını belirlemek için önce 1M KOH (metanol ile çözülmüş) çözücüsü ile türevlendirme işlemi yapılmıştır daha sonra 0,22'lik filtreden şırınga yardımı ile vialere alınmış ve GC-MS cihazına verilmiştir.

### **3.2.4. Azot/Protein analizi**

N/Proteini yapılacak olan yaprak ve gövde numuneleri ilk olarak *IKA A11 Basic* model blender ile öğütülüp toz haline getirilerek 65°C'de 48 saat *BINDER* marka etüvde kurutulmuştur. Kuru ve toz haline getirilen numunelerin analizine başlamadan Thermo Cookbook'tan analizi yapılacak numune kategorisine göre Aspartik asit standardı kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilmiştir ve belirtilen miktarlarda numuneler tartılarak analizi yapılmıştır.

### **3.2.5. Fenolik organik asit analizi**

5 gram kabuklu fıstık meyvesindenalınıp 50 mL'lik falkon tüpüne konulmuştur, üzerine Su: MeOH (95:5) çözeltilisinden 50 mL ye tamamlanırdaha sonra 200 rpm'de 40° C'de sıcaklıkta 25 dakika çalkalanmıştır. Sonra 6000 rpm'de 15 dakika santrifüj



edilen numune 0,22'lik filtre yardımıyla vialer alınarak HPLC analizi için cihaza verilmiştir.

### **Organik asitler için kromatografi koşulları;**

Analitik kolon: Thermo 250mmX4,6 mm x 5 um ID, hipersil gold

Akış hızı: 0,75 mL/dk

Çözücü A: 98:2 (su: Formik Asit) Çözücü B: 78:20:2 (su: Asetonitril: Formik Asit)

Kolon sıcaklığı: 38 °C ± 1 °C

Enjeksiyon hacmi: 20 µL

Standart Stok (100)

Gallik Asit: 30 ppm (280nm)

Klorojenik Asit: 60 ppm (280nm)

Kafeik Asit: 20 ppm (320nm)

4-Hidroksi Benzoik Asit: 40 ppm (280nm)

Vanilik Asit: 20 ppm (280nm)

### **HPLC Koşulları**

Kolon Sıcaklığı: 28 °C

UV: 280 ve 320 nm

Akış hızı: 0,750 (ml/dk)

Program:Tablo 3.1'de olduğu gibidir.

**Tablo 3.1.** Organik fenolik asit programı

Dakika	Akış Hızı (mL/dk)	Çözücü A %	Çözücü B %
1	0,750	75	25
5	0,750	50	50
10	0,750	25	75
12	0,750	0	100

## **3.2.2. Moleküler analizler için yöntem**

### **3.2.2.1. Total RNA izolasyonu**

Siirt çeşidinde var-yok yılına ait yaprak, gövde ve meyve örneklerinden toplam Ribonükleik asit (RNA) izolasyonu, TRIzol (Invitrogen) kimyasalı kullanılarak yapılmıştır. Kısaca 100 mg bitki örnekleri, sıvı azot ile parçalanarak 1 mL TRIzol reaktifi içeren 2 mL'lik steril tüplerde homojenize edilmiştir. Homojenize edilen

örnekler 5 dk oda ısısında bekletilerek nükleoprotein komplekslerinin tamamen ayrışması sağlanmıştır. 1 mL TRIzol reaktifi için tüplerin içine 0,2 mL kloroform ilave edilmiştir. Tüpler 15 sn boyunca elle kuvvetlice çalkalanıp 2-3 dk oda ısısında bekletildikten sonra 15.000 rpm’de 20 dk 4 °C’de santrifüj edilmiştir. Üstteki sıvı faz yeni bir tüpe aktarılıp izopropil alkolle karıştırılarak RNA’nın çökmesi sağlanmıştır. Homojenizasyon esnasında kullanılan TRIzol reaktifinin yarısı kadar izopropil alkol ilave edilmiştir. Örnekler oda ısısında 10 dk bekletildikten sonra 15.000 rpm’de 10 dk 4 °C’de santrifüj edilmiştir. RNA çökeltisi, kullanılan her 1 mL TRIzol reaktifi için % 75’lik etanol ile yıkanmıştır. Örnekler vorteks ile karıştırıldıktan sonra 10.000 rpm’de 5 dk 4°C’de santrifüj edilmiştir. RNA çökeltisi 5-10 dk kurumaya bırakıldıktan sonra 30 µl steril deiyonize su (ddH<sub>2</sub>O) ile çözülüp 10 dk 55-60 °C’de bekletilmiştir.

### 3.2.2.2. RNA’nın saflaştırılması

RNA izolasyonları tamamlandıktan sonra RNA örneklerinden 10 µg alınarak 10 ünite RNase ihtiva etmeyen Turbo DNase I (Ambion, Inc., TX, USA) ile 20 µl’lik reaksiyon hacminde toplanılmıştır ve 37 °C’de 30 dk bekletilmiştir. 65 °C’de 10 dk ek inkübasyon ile toplam RNA örnekleri DNA’dan arındırılmıştır. RNA’ların kalitesi ve miktarı NanoDrop ölçümü ve jel elektroforezi ile belirlenmiştir.

### 3.2.2.3. cDNA sentezi

Belirtilen transkripsiyon faktörlerin var-yok yıllarına ait dokulardaki ifade seviyelerine bakmak için qRT-PCR kullanılmıştır. Bu amaçla öncelikle cDNA üretimi yapılmıştır. Dokulara ait total RNA’lar temizlendikten sonra cDNA için Tablo 3.1’de gösterilen bileşenlerin ilave edilmesiyle oluşan karışım, 65°C’de 5 dk bekletilip hemen buza alınmıştır.

**Tablo 3.2.** RNA’dan cDNA sentezinin ilk aşaması

Bileşenler	1X
50 pmol/µl Oligo dT (20) primeri	1µl
Toplam RNA	1µg-5µg
10 mM dNTP	1µl
ddH <sub>2</sub> O	-
Toplam hacim	12µl

Daha sonra tüpün içerisine 2 µl 0,1 M DTT, 1 µl RNaz out ilave edilmiştir. 42 °C’de 2 dk bekletildikten sonra 1 µl (200 U/µl) Superscript III reverse transkriptaz enzimi ilave edilmiştir. 1,5 saat 50°C’de reaksiyon gerçekleştirilmiş ve 70°C’de 15 dk bekletilerek reaksiyon sonlandırılmıştır.

#### 3.2.2.4. Periyodisite ile ilgili genlerinin qRT-PCR ile miktar ölçümü

Biyoinformatik yöntemlerle saptanan hedef genler (WRKY, DREB2a, MADSbox, AP1, TFL, bZIP ve NAC) için tasarlanan ileri (F) ve geri (R) primerleri ile yapılmıştır. Primerler, hedef genin en fazla 200 baz çifti uzunluğunda bir bölgeyi çoğaltacak şekilde tasarlanmıştır. Her bir hedef genin miktar analizi için özgün karışımlar hazırlanmıştır (Tablo 3.3). 8 farklı kütüphane için izole edildikten sonra temizlenen toplam RNA’lardan sentezlenen cDNA’ların 1/20 seyreltmelerinden 2 µl olacak şekilde 3 tekrarlı olarak kullanılmıştır. 18S rRNA geni baz alınarak her bir kütüphanedeki cDNA yoğunluğu eşitlendikten sonra deneye başlanmıştır.

**Tablo 3.3.** Genlerin miktar analizi için qRT-PCR karışımı

Bileşenler	1X
2X SYBR master karışım	10
100 pmol ileri primer	0.1
100 pmol geri primer	0.1
ddH <sub>2</sub> O	7.8
Toplam hacim	18µl

Genlerin qRT-PCR deneylerinde her farklı gene ait primer için en uygun bağlanma sıcaklığı belirlenmiştir. İlgili gen bölgesini çoğaltmak için bağlanma sıcaklığı örnek olarak 56 °C gösterilmiştir. Erime (melting) eğrisi analizi için ise örnekler 95 °C’de denatüre edilip 65 °C’de bekletilmiştir. Floresan sinyalleri 530 nm’de 65 °C’den 95 °C’ye kadar her bir saniyede, 0,5 °C derece artış’a karşı alınmıştır. Sonuçlar Pico-real (Thermo) Software yazılımı aracılığı ile analiz edilmiştir.

**Tablo 3.4.** qRT-PCR programı

<b>Reaksiyon aşaması</b>	<b>Sıcaklık</b>	<b>Süre</b>
Ön ısıtma (parçalama)	95 °C	5 dk
Çoğalma	95°C	5sn
	56 °C	10 sn
	72 °C	1 sn



## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Fizyolojik Analizler

#### 4.1.1. Karbonhidrat analizi

Antep fıstığında periyodisite mekanizmasında karbonhidrat etkisini görmek için var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde örnekleri alınmıştır. Ayrıca meyve olgunlaşması sürecinde şekerlerin etkisini görmek için ham ve olgun meyve örnekleri analiz edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre; bitkinin yaprak ve gövde kısmında var yılında şeker miktarının yok yılına oranla azalma gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca yaprak kısmında yok yılına göre var yılında fruktoz ve sukroz oranında önemli bir azalma görülürken glukoz ve maltoz oranında önemli bir artış görülmüştür. Gövde kısmında ise yok yılına göre var yılında çalışılan şeker çeşitlerinin tümünde azalma görülmüştür (Tablo 4.1). Toplam şeker kıyaslandığında yok yılının var yılına oranla daha fazla şeker bulundurduğu görülmüştür.

**Tablo 4.1.** Periyodisite gösteren Antep fıstığı Siirt çeşidinin karbonhidrat düzeyleri (g/kg)

Örnekler	Fruktoz	Glukoz	Sukroz	Maltoz	Toplam şeker
<b>Olgun meyve</b>	12,34	13,04	0,86	1,55	27,79
<b>Ham meyve</b>	2,34	3,14	5,97	0,61	12,06
<b>Yok yılı gövde</b>	12,50	14,62	1,22	2,33	30,67
<b>Yok yılı yaprak</b>	20,65	15,91	0,44	1,08	38,08
<b>Var yılı yaprak</b>	19,92	17,79	0,09	2,83	40,63
<b>Var yılı gövde</b>	12,00	12,12	0,06	1,81	25,99

Ham ve Olgun meyve karşılaştırıldığında, meyveden yüksek şekerin früktoz ve glikoz özellikli olduğu belirlenmiştir. Toplam şeker miktarının ham meyveye oranla olgun meyvede daha fazla olduğu görülmüştür. Tekin (1992)'de yaptığı bir çalışmada, olgun dönemde meyvenin hızlıca gelişmesi ve olgunluğa erişmesi, çekirdek ve üreme içgüdüsünün meyve tomurcukları yarışmasında, karbonhidrat yarışını meyvelerin üstün gelerek kazanması sonucu meyve gözlerinin döküldüğünü bildirmiştir. Ayrıca sükröz diğer dokulara oranla ham meyvede fazla bulunması göze çarpmıştır (Tablo 4.1). Çünkü yapraklarda sentezlenen toplam şeker meyveye aktarılmıştır. Var yılının yok yılına göre daha az toplam şeker bulundurması Çetinkaya (2004)'de yaptığı fıstık-karbonhidrat analizi ile benzerlik göstermiştir.

#### **4.1.2. Fıstıkta periyodisiteye bağlı değişen uçucu yağ asidi analizleri**

Yapılan pek çok yağ analiz çalışmalarında çeşitli kromatografik yöntemler kullanılmaktadır. Önceleri yağ analizi çalışmaları ince tabaka şeklinde olan kâğıt kromatografileri ile yapılırdı. Daha sonraları yöntemlerin gelişmesiyle yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ve gaz kromatografisi (GC) gibi yöntemler daha fazla kullanılmaya başlandı.

Antep fıstığının Siirt çeşidinin var ve yok yıllarına ait meyve, yaprak ve gövde dokularından örnekler alınmıştır. Ele alınan tüm örneklerin yağ asiti tanımlanmış ve bunlar GC-MS cihazında okutularak cihaz kütüphanesinin belirlediği alıkonma zamanları (RT) ile oransal (%) dağılımı belirlenmiştir. Bunlar Tablo 4.2, Tablo 4.3, Tablo 4.4, Tablo 4.5, Tablo 4.6 ve Tablo 4.7'de verilmiştir.

Fıstık için elde bu sonuçlar örnek hazırlama sırasında türevlendirme işlemi yapıldıktan sonra cihazda analiz edilmiştir. Uçucu yağ asitlerin meyve olgunlaşmasındaki etkilerini görmek için ise ham ve olgun meyve örnekleri analiz edilmiştir. Ham meyve var yılının haziran ayında olgun meyve ise var yılının ağustos ayında alınıp analizleri yapılmıştır.

Olgun meyveye ait uçucu yağ asidi analizi sonucu Tablo 4.2'de verilmiştir. Olgun meyveye ait uçucu yağ asidializiyaklaşık yetmiş dokuz dakika sürmüştür. Bu zaman içerisinde yedi farklı alıkonma zamanında pik vermiştir. 78,90. dakikada pik veren 15,15'-bi-1,4,7,10,13- Pentaosa cyclo hexadecane yağ asidi en yüksek alıkonma zamanına sahiptir. Oysa alan olarak bakıldığında %16,34 bir değer ile ortalama alana sahip olduğu görülmüştür. En küçük alıkonma zamanına sahipise, 1R-a-Pinene yağ

asidi 7,49. dakikada pik verip % 51,79 en fazla alanı kapsadığı göze çarpmıştır. Kılıç (2014)'de yaptığı bir çalışmada kurutulmuş taksonların toprak üstü dokularının uçucu yağ kompozisyonunu ve ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen tohum yağ asitlerini GC-MS yöntemi ile araştırmış ve daha sonra kümeleme analizleri yapmıştır. Çalışma sonucunda a-Pinene'nin uçucu yağ olduğu ayrıca çalışılan bitkinin major bileşeni olduğu bulunmuştur. a-Pinene uçucu yağları oluşturan bileşiktir ve bitkilerin yaprak, meyve ve kabuk kısımlarından elde edilmektedir. En önemli özelliği kuvvetli kokulu olmasıdır.

Tablo 4.2'de 9,65. dakikada pik veren 2-a-Pinene'nin % 3,23'lük değeri ile en az alana sahip olduğu görülmüştür. Böylece a-pinene iki defa pik verip farklı alanlarda değerler göstermiştir. Olgun meyvede a-pinene dışında camphene, asetik asit, fenol, cyclohexene gibi yağ asitleri de bulunmuştur (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2.** Antep fıstığı Siirt çeşidinin olgun meyve dokusuna ait uçucu yağ asidi analizi

RT	SI	RSI	Bileşik İsmi	Alan %	Moleküler Formül
7.49	981	990	1R-a-Pinene	51.79	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
8.57	972	985	Camphene	4.05	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
9.65	967	994	2-a-Pinene	3.23	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
12.33	974	976	Cyclohexene, 1-	12.11	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
24.64	974	983	Acetic acid 1,7,7- trimethyl- bicyclo (2.2.1) Hept-2-YL Ester	5.73	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>
52.38	943	956	Phenol, 2,4- bis(1,1- dimethylethyl)- (CAS)	6.75	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O
78.90	832	875	15,15'-bi- 1,4,7,10,13- Pentaoxa cyclo hexadecane	16.34	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>10</sub>

Ham meyveye ait uçucu yağ asidi analiz sonucu Tablo 4.3’de verilmiştir. Ham meyvede alıkonma süreleri ile birlikte aşağıdaki yağ asitleri ortaya çıkmıştır (Tablo 4.3). Ham meyve analizi ise yaklaşık 85 dakika sürmüştür ve on iki pik vermiştir. Ancak on bir farklı yağ asidi bileşiği olduğu görülmüştür. Çünkü 15,15’-bi-1,4,7,10,13- pentaoksa cyclohexa decane yağ asidi farklı alıkonma sürelerinde iki defa tekrarlanmıştır. Ayrıca aynı alıkonma sürelerinde farklı yağ asidi bileşenleri’de pik vermiştir (Tablo 4.3).

Torun (2013)’de yaptığı zeytinyağı yağ asidi analiz çalışmasında pikler aynı alıkonma süresinde pik vermiştir. Böyle durumlarda yağ asidi bileşenlerinin miktarı doğru sonuç vermeyebilir. Tablo 4.3’de yüzde alanları hemen hemen birbirine yakın olduğu görülmüştür. Oysa 81,27.dakikada pik veren Hexadecanoic acid, 1-(hydroxymethyl)- 1,2-ethanediyl ester yağ asidi % 54,20 ile en fazla alanı kapsamaktadır. Tablo 4.3’deki Cyclohexene,1-methyl-4-(1-methylethenyl)-(CAS) yağ asidi, Phenol,2,4-bis(1,1-dimethylethyl) yağ asidi ve 15,15’-bi-1,4,7,10,13- pentaoksa cyclohexa decaneyağ asidi hem olgun meyve hem de ham meyve dokularında ortak olarak bulunmuştur. Tablo 4.2’de görüldüğü gibi pikler Tablo 4.3’e göre daha iyi ayrılmıştır. Çünkü Tablo 4.3’de ayrılmayan pikler olduğu görülmüştür.

Olgun meyve ve ham meyve dokularında periyodisite etkisinden dolayı aynı yılın farklı aylarında yağ asitlerinin bileşenlerinde farklılık gözlenmiştir. Ayton ve ark. (2007) ve Skevin ve ark. (2003), zeytinde yağ asidi bileşenlerindeki değişikliğin olgunluk ilerlemesinden kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.



**Tablo 4.3.** Antep fıstığı Siirt çeşidinin ham meyve dokusuna ait uçucu yağ asidi analizi

RT	SI	RSI	Bileşik isim	Alan %	Moleküler Formül
12.33	954	964	Cyclohexene,1-methyl-4-(1-methylethenyl)-(CAS)	4.19	C10H16
52.35	902	926	Phenol,2,4-bis(1,1-dimethylethyl)	5.32	C14H22O
55.65	868	897	9-Tetradecanenol,(Z)	5.63	C14H26O
55.65	876	905	Cis-1,2-cyclododecanediol	5.63	C12H24O2
57.78	869	880	17-octadecynoic acid	6.79	C18H32O2
57.78	857	863	Ethanol,2-(9-octadecenyl)- (Z) (CAS)	6.79	C20H40O2
60.78	859	884	1,2-15,16-diepoxy hexadecane	9.25	C16H30O2
68.02	782	859	3-(1,3-dihydroxyisopropyl)-1,5,8,11,14,17-hexaoxacyclononad, Ecane	3.39	C16H32O8
68.02	788	831	(1,1'-bicyclopropyl)-2-octanoic acid, 2'-hexyl-methylester (CAS)	3.39	C21H38O2
68.32	804	846	15,15'-bi-1,4,7,10,13-pentaoxa cyclohexa decane	5.76	C22H42O10
81.27	725	725	Hexadecanoic acid, 1-(hydroxymethyl)-1,2-ethanediylester	54.20	C35H68O5
84.83	832	885	15,15'-bi-1,4,7,10,13-pentaoxacyclo hexadecane	5.48	C22H42O10

Daha önceleri Antep fıstığında yağ asidi analizleri yapılmıştır. Çınar (2012)'de Antep fıstığı çeşitlerinin yağ asitlerini incelemiş ve sonuçta her iki yıla ait (var yılı-yok yılı) birçok yağ asidi olduğunu belirlemiştir. Periyodisite olgusunun anlaşılmasında, var ve yok yıllarında bitkide meydana gelen fizyolojik biyokimyasal ve moleküler değişimler önemli etmenlerdir. Yok yılında meyve olmadığından yağ asidi analizi yaprak ve gövde dokularından yapılmıştır. Bu şekilde yok yılına ait uçucu yağ asidi analizleri yok yılı yaprak ve yok yılı gövde örnekleri kullanılarak yapılmıştır.

Antep fıstığı Siirt çeşidinin yok yılı yaprak dokusuna ait uçucu yağ asidi analizi Tablo 4.4'de olduğu gibi verilmiştir. Yok yılı yaprak analizi incelendiğinde yaklaşık 85 dakika sürdüğü görülmüştür. Bu zaman içerisinde dokuz farklı alıkonma süresinde pik elde edilmiştir. Ancak dört çeşit yağ asidi bulunmuştur. Çünkü (2S,2'S)-2,2'-

bis(1,4,7,10,13- pentaoxacyclopentadecane) yağ asidi iki farklı zaman süresinde ve 15,15'-bi-1,4,7,10,13-pentaoxacyclohexadecane yağ asidi ise beş farklı zaman süresinde pik verdiği için bu yağ asitlerinin yok yılı yaprak örnekleri için önemli bileşikler olduğu tahmin edilmiştir (Tablo 4.4).

Yine Tablo 4.4'de 82,37. dakikada pik veren 15,15'-bi-1,4,7,10,13-pentaoxacyclohexadecane yağ asidi % 28,01 ile en fazla alana sahip olan yağ asidi olarak öne çıkmıştır. Aynı yağ asidi 84,43. dakikada pik vererek % 4,12 ile en küçük alana sahip olmuştur. Yağ asitlerinin çeşit, lokasyon ve çevresel faktörlere bağlı olarak gösterdiği değişimler daha önce yapılmış bazı çalışmalarda ortaya çıkarılmıştır (Baydar ve Turgut 1999).

**Tablo 4.4.** Antep fıstığı Siirt çeşidinin yok yılı yaprak dokusuna ait uçucu yağ asiti analizi

RT	SI	RSI	Bileşik isim	Area%	Moleküler Formül
52.37	939	952	Phenol,2,4-bis(1,1-dimethylethyl)	13.28	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O
68.16	853	906	2-Hexadecen-1-ol,3,7,11,15-tetramethyl,(R-(R,R-(E)))-(CAS)	20.74	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O
75.50	802	860	(2S,2'S)-2,2'-bis(1,4,7,10,13-pentaoxacyclopentadecane)	5.52	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>10</sub>
78.20	759	820	(2S,2'S)-2,2'-bis(1,4,7,10,13-pentaoxacyclopentadecane)	6.89	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>10</sub>
81.39	780	842	15,15'-bi-1,4,7,10,13-pentaoxacyclohexadecane	11.35	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>10</sub>
82.37	784	868	15,15'-Bİ-1,4,7,10,13-penta Oxacyclohexadecane	28.01	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>10</sub>
83.74	817	883	15,15'-Bİ-1,4,7,10,13-penta Oxacyclohexadecane	5.26	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>10</sub>
84.43	842	906	15,15'-Bİ-1,4,7,10,13-penta Oxacyclohexadecane	4.12	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>10</sub>
84.85	829	893	15,15'-Bİ-1,4,7,10,13-penta Oxacyclohexadecane	4.84	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>10</sub>

Tablo 4.5’de yok yılı gövde dokusuna ait uçucu yağ asidi analiz sonucu verilmiştir. Yok yılı gövde analizi yaklaşık 84 dakika sürmüştür ve aşağıdaki yağ asitleri ortaya çıkmıştır (Tablo 4.5). Yok yılı gövde dokusu yok yılı yaprak dokusuna göre daha fazla uçucu yağ asidi çeşidi bulundurmıştır. 3-oxo-a-ionone yağ asiti 81,35. dakikada pik vermiş olup, % 50,36 ile en fazla alan kapsayan bileşik olmuştur. % 1,25 ile en küçük alana sahip yağ asidi ise 8,56. dakikada pik veren Camphene bileşiği olmuştur (Tablo 4.5).

Phenol,2,4-bis(1,1-dimethylethyl) ve 15,15’-bi-1,4,7,10,13-pentaoxacyclohexadecane yağ asitleri yok yılı yaprak ve yok yılı gövdede ortak bulunan bileşikler olmuştur. Ayrıca pik olarak Tablo 4.4 Tablo 4.5’e göre daha iyi bir şekilde ayrılmıştır.

**Tablo 4.5.** Antep fıstığı Siirt çeşidinin yok yılı gövde dokusuna ait uçucu yağ asiti analizi

RT	SI	RSI	Bileşik Formül	Area%	Moleküler Formül
7.49	966	987	1R-a-Pinene	21.35	C10H16
8.56	909	965	Camphene	1.25	C10H16
12.33	968	974	Cyclohexene,1-methyl-4-(1-methylethenyl)	6.75	C10H16
13.81	867	902	Delta.3-Carene	1.38	C10H16
15.04	857	892	1,5,5-Trimethyl-6-methylene-cyclohexene	1.62	C10H16
24.64	951	976	Aceticacid1,7,7-trimethyl-bicyclo(2.2.1)hept-2-YLester	2.83	C12H20O2
52.36	939	953	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethyl ethyl)- (CAS)	6.62	C14H22O
52.36	945	950	Phenol, bis(1,1-dimethyl ethyl)- (CAS)	6.62	C14H22O
81.35	747	792	3-oxo-a-ionone	50.36	C13H18O2
83.61	781	882	15,15’-bi-1,4,7,10,13-pentaoxa cyclohexadecane	7.86	C22H42O10

Var yılına ait uçucu yağ asidi analizi de yok yılı şeklindeki gibi yaprak ve gövde dokularından alınan örnekler ile yapılmıştır. Analiz sonuçları yok yılı yaprak ve yok yılı gövde şeklinde sınıflandırılıp Tablo 4.6 ve Tablo 4.7’de verilmiştir. Var yılı yaprak analizi yaklaşık 87 dakika sürmüştür ve on beş defa pik vermiştir. Görüldüğü üzere pikler düzenli bir şekilde ayrılmamıştır. Çünkü aynı alıkonma süresinde pikler vermiştir. Bu şekilde olan yağ asitleri % oranlarının aynı olduğu görülmüştür (Tablo 4.6). Tablo 4.6’da 81,27. dakikada pik veren 15,15’-bi-1,4,7,10,13-pentaoxa cyclo hexadecane ve Benzenesulfonamide, N-(butyl amino) carbonyl)-4-methyl yağ asitleri % 24,18 ile en büyük alana sahip oldukları görülmüştür. % 4,25 ile en küçük alana sahip yağ asitleri 83,57. dakikada pik veren Octaethylene glycol monododecyl ether ve 15,15’-bi-1,4,7,10,13-pentaoxa cyclo hexadecane bileşikler olmuştur.

**Tablo 4.6.** Antep fıstığı Siirt çeşidinin var yılı yaprak dokusuna ait uçucu yağ asidi analizi

RT	SI	RSI	Bileşik isim	Alan %	Moleküler formül
52.35	919	939	phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)	7.46	C14H22O
68.15	800	827	tetradecanoic acid, 2-hydroxy	15.39	C14H28O3
68.97	828	831	tetraneurin-a-diol	21.90	C15H20O5
78.88	843	888	15,15’-bi-1,4,7,10,13-pentaoxa cyclo hexadecane	8.46	C22H42O10
78.88	867	889	octaethylene glycol monododecyl ether	8.46	C28H58O9
81.27	749	789	15,15’-bi-1,4,7,10,13-pentaoxa cyclo hexadecane	24.18	C22H42O10
81.27	721	757	benzenesulfonamide, N-(butyl amino) carbonyl)-4-methyl	24.18	C12H18N2O3S
83.57	849	893	15,15’-bi-1,4,7,10,13-pentaoxa cyclo hexadecane	4.25	C22H42O10
83.57	841	856	octaethylene glycol monododecyl ether	4.25	C28H58O9
84.47	828	883	15,15’-bi-1,4,7,10,13-pentaoxa cyclo hexadecane	7.64	C22H42O10
84.47	812	837	octaethylene glycol monododecyl ether	7.64	C28H58O9
84.43	834	883	15,15’-bi-	5.20	C22H42O10

**Tablo 4.6'nın devamı**

			1,4,7,10,13-pentaoxacyclohexadecane		
84.43	863	883	octaethylene glycol monododecyl ether	5.20	C28H58O9
86.67	857	909	15,15'-bi-1,4,7,10,13-pentaoxa cyclohexadecane	5.52	C22H42O10
86.67	861	882	octaethylene glycol monododecyl ether	5.52	C28H58O9

Tablo 4.7'de görüldüğü gibi var yılı gövde dokusunda tek bir çeşit yağ asiti ortaya çıkmıştır. Bu yağ asiti 7,48. dakikada pik veren ve % 42,00 alana sahip 1R-a-pinene bileşiği olmuştur. Çünkü gövde dokusundaki yağ asitleri var yılında oluşan meyve dokularına geçmiştir.

**Tablo 4.7.** Antep fıstığı Siirt çeşidinin var yılı gövde dokusuna ait uçucu yağ asiti analizi

RT	SI	RSI	Bileşik isim	Alan %	Moleküler formül
7.48	982	991	1R-a-pinene	42.00	C16H16

#### 4.1.3. Fıstıkta periyodisiteye bağlı değişen fenolik organik asit analizleri

Fıstık ve fıstık çeşitlerinde bulunan fenolik bileşiklerin içerikleri birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Tür, olgunluk dönemi, doku farklılıkları ve iklim koşulları gibi faktörler olabilmektedir. Ayrıca toprağın fiziksel ve kimyasal özellikleri ve uygulanan kültürel işlemlere göre fıstığın içermiş olduğu fenolik bileşiklerin miktarlarını etkilediği belirlenmiştir (Arozarena ve ark., 2002; Ojeda ve ark., 2002). Antep fıstığının Siirt çeşidine ait doku örneklerinin fenolik madde içerikleri HPLC yöntemiyle belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.8, Tablo 4.9 ve Tablo 4.10'da verilmiştir.

Daha önceki çalışmalara göre fenolik bileşiklerin var yılı ve yok yılına göre miktarlarında değişiklik meydana geldiği bilinmektedir. Bu nedenle var ve yok yıllarındaki fenolik bileşikleri saptamak amacıyla fıstığın meyve, yaprak ve gövde dokularından örnekler alınıp analiz yapılmıştır. Tablo 4.8, Tablo 4.9 ve Tablo 4.10'dan

da anlaşılacağı gibi üretim aşamalarından alınan fıstık örneklerinde gallik asit, klorojenik asit, hidroksi-benzoik asit, vanilik asit, kafeik asit ve trans-ferrulik asit olmak üzere toplam 6 adet fenolik bileşik tanımlanmıştır. Tablolara bakıldığında tüm dokularda hakim olan fenolik bileşik trans-ferrulik asit iken bunu sırasıyla gallik, hidroksi-benzoik, klorojenik, vanilik ve kafeik asit izlemiştir.

**Tablo 4.8.** Antep fıstığı Siirt çeşidinin meyve dokusuna ait fenolik organik asit analizi (%)

Örnekler	Fenolik Organik asit				
	Gallik Asit	Klorojenik Asit	4-Hidroksi-Benzoik Asit	Vanilik Asit	Trans-Ferrulik Asit
<b>Olgun meyve</b>	0,97	0,27	0,45	0,21	4,65
<b>Ham meyve</b>	0,83	0,15	0,06	0,02	2,86

Tablo 4.8 incelendiğinde gallik, klorojenik, 4-hidroksi benzoik, vanilik ve trans ferrulik asitlerin olgun meyve ve ham meyvede ortak bileşikler olduğu tespit edilmiştir. Ancak tablodaki fenolik bileşiklerin değişkenleri olgun meyvede ağırlıklı olduğu görülürken her biri ham meyvede azalış göstermiştir. En fazla azalış trans-ferrulik asit'te olmuştur.

Nadernejad ve ark. (2013)'de araştırmalarında üç farklı Antep fıstığı çeşidinin fenolik bileşiklerini çalışmışlardır. Araştırmalarında, örneklerin fenolik bileşikleri yaprak, meyve, kabuk ve çiçek ayrı ayrı şekilde incelenmiştir. Çalışma sonucunda dokular arasında fenol içerikleri bakımından aralarında bir korelasyon olmadığı ancak olgunlaşma süreci başladığında fenolik bileşiklerin azaldığı belirlenmiştir. Bu çalışma meyve örneği fenolik analizimizi destekler niteliktedir.

**Tablo 4.9.** Antep fıstığı Siirt çeşidinin yok yılına ait fenolik organik asit analizi(%)

Örnekler	Fenolik organik asit				
	Gallik Asit	Klorojenik Asit	4-Hidroksi-BenzoikAsit	VanilikAsit	Trans-FerrulikAsit
<b>Yok yılı yaprak</b>	2,06	0,03	0,29	-	4,94
<b>Yok yılı gövde</b>	0,73	0,15	0,18	0,07	24,49

Tablo 4.9’da fenolik bileşikler yok yılına ait yaprak ve gövde olarak sınıflandırılmıştır. Yok yılı gövdede gallik asit, klorojenik asit, 4-hidroksi benzoik asit, vanilik asit ve trans ferrulik asit bulunmasına rağmen yok yılı yaprakta bunların dışında vanilik asit’in bulunmayışı göze çarpmıştır. Ayrıca gallik asit ve 4-hidroksi benzoik asit yok yılı gövdede azalış gösterirken klorojenik asit ve trans ferrulik asit önemli bir artış göstermiştir. Toplam fenol içerikleri yok yılı gövde % 25,62 ile yok yılı yaprağa (% 7,32) oranla daha fazla olduğu görülmüştür.

Fenolik bileşiklerin antioksidan özelliğine sahip olduğu bilinmektedir (Balasundram ve ark., 2006). Hatamnia ve ark. (2014)’de beş farklı bölgeden aldıkları fıstık çeşitlerinin antioksidan aktivitelerini ve fenolik bileşik içeriklerini araştırmışlardır. Sonuç olarak çeşitlerin tümünün antioksidan ve fenolik bileşik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca HPLC yöntemiyle bulunan fenolik bileşikler; askorbik asit, gallik asit, rutin, kafeik asit, p-hidroksi benzoik asit, vanilik asit, p-kumarik asit, siringik asit, ferrulik asit ve sinapik asittir.

Saitta ve ark. (2014)’de Antep fıstıklarının fenolik bileşenleri üzerine yaptıkları bir çalışmada, gallik asit, 4-hidroksi benzoik asit ve protokateşuik asit bileşiklerini önemli fenolik bileşikler olarak belirlemişlerdir.

**Tablo 4.10.** Antep fıstığı Siirt çeşidinin var yılına ait fenolik organik asit analizi (%)

Örnekler	Fenolik organik asit					
	Gallik Asit	Klorojenik Asit	4-Hidroksi Benzoik Asit	Kafeik Asit	Vanilik Asit	Trans-Ferrulik Asit
<b>Var yılı yaprak</b>	2,04	0,04	0,41	0,00	-	4,15
<b>Var yılı gövde</b>	1,20	0,00	0,62	-	0,04	2,61

Tablo 4.10’da var yılına ait yaprak ve gövde örneklerindeki fenolik bileşikler sınıflandırılmıştır. Var yılı yaprakta en fazla sırasıyla trans-ferrulik asit, gallik asit, 4-hidroksi benzoik asit ve klorojenik asit bulunurken kafeik asit ve vanilik asitin bulunmadığı görülmüştür. Var yılı gövdede ise sırasıyla trans-ferrulik asit, gallik asit, 4-hidroksi benzoik asit ve vanilik asit bulunurken klorojenik asit ve kafeik asitin bulunmadığı görülmüştür. Her iki dokuda (var yılı yaprak-var yılı gövde) kafeik asitin bulunmayışı göze çarpmıştır.

Tomaino ve ark. (2010)’da Bronte çeşidi Antep fıstığı ile iç zarında HPLC cihazı ile yapılan fenolik bileşikler analizinde gallik asit, kateşin, eriodiktiol-7-O-glikozit, naringenin-7-O-neohesperidozit, kuersetin-3-O-rutinozit ve eriodiktiol bileşiklerini saptanmıştır.

Fabani ve ark. (2013)’de Antep fıstığı Kerman çeşidinin farklı yaşlardaki ağaçlarından alınan örnekler ile fenolik bileşiklerini ve toplam fenolü araştırmışlardır. Araştırma sonunda toplam fenol bileşiminde bir farklılık olmadığını ve gallik asit ile (+)-kateşinin ana fenolik bileşikler olduğunu tespit etmişlerdir.

Yok yılına ait örneklerdeki fenolik bileşiklerin var yılına oranla daha fazla olduğu görülmüştür. Yok yılında tüm fenolik bileşikler meyve dışındaki diğer dokularda (yaprak, gövde) toplanmıştır. Daha sonra bu yapılarıdaki fenolik bileşikler var yılında oluşan meyvelere geçmiştir.

#### **4.1.4. Fıstıkta periyodisiteye bağlı değişen Azot/Protein analizi**

Antep fıstığının % protein miktarı azot (N) değeri ile 6,25 katsayısıyla çarpılarak bulunmuştur. Tablo 4.11’de yok yılına ait yaprak ve gövdenin azot ve protein içerikleri verilmiştir.



**Tablo 4.11.** Antep fıstığı Siirt çeşidinin yok yılı yaprak ve gövde dokularına ait azot/protein analizi (%)

<b>Örnekler</b>	<b>Azot</b>	<b>Protein</b>
<b>Yok yılı yaprak</b>	1,347	8,420
<b>Yok yılı gövde</b>	1,101	6,886

Yok yılında azot içeriği yaprakta % 1,347 iken gövdede % 1,101 bulunmuştur. Protein içerikleri ise yaprakta % 8,420 iken gövdede % 6,886 bulunmuştur. Böylece yok yılında yaprak dokusunun hem azot hem protein bakımından daha zengin olduğu görülmüştür (Tablo 4.11). Tablo 4.12’de var yılına ait yaprak ve gövdenin azot ve protein içerikleri verilmiştir.

**Tablo 4.12.** Antep fıstığı Siirt çeşidinin var yılı yaprak ve gövde dokularına ait azot/protein analizi (%)

<b>Örnekler</b>	<b>Azot</b>	<b>Protein</b>
<b>Var yılı yaprak</b>	1,856	11,606
<b>Var yılı gövde</b>	1,596	9,979

Var yılı yaprakta azot içeriği % 1,856 iken gövdede % 1, 596 bulunmuştur. Protein içerikleri ise yaprakta % 11,606 iken gövdede % 9,979 bulunmuştur. Anlaşılacağı üzere var yılı da yok yılında olduğu gibi azot ve protein içeriği bakımından zengin doku yaprak olmuştur (Tablo 4.12).

Tekin ve ark. (1985)’de Antep fıstığı yaprak çalışmasında azot içeriğinin % 1,2-2,7 sınır değerleri arasında olduğunu belirtmiştir. Bu sonuçlar çalışmamıza ait azot bulgularının sınır değerleri arasında olduğunu göstermiştir.

Periyodisite yönünden değerlendirdiğimizde azot ve protein yıllar ve dokular arasında önemli bir değişiklik göstermiştir. Toplam azot yok yılında % 2,448 iken var yılında % 3,452 olduğu görülmüştür. Toplam protein ise yok yılında % 15, 306 iken var

yılında % 21, 585 olduğu görülmüştür. Böylece azot ve protein var yılında daha fazla bulunmuştur.

Crane ve Nelson (1971) ve Crane ve Al-Shalan (1974) yaptıkları çalışmalarda, meyve veren ve vermeyen Antep fıstığı dallarındaki azot miktarını ve mevsimsel dağılımını araştırmışlardır. Çalışma sonunda azot oranında verim ve dinlenme yılında farklılık olmadığını ancak azotun nisan ve mayıs ayında en yüksek düzeyde temmuzda ise en düşük düzeyde olduğunu saptamışlardır. Bu da bizim bulgulara ters düşmüştür. Bunun nedenlerinden bir tanesi bizim çalışma ile bu yapılmış çalışmanın gerçekleştiği ekolojik ortamların farklı olmasıdır. Çünkü azot mineral hücre içinde sabit miktarda olmayıp bulunduğu ortama kadar miktarı'nda değişebilmektedir. Çetiner (2015)'de yaptığı bir çalışmada bazı Antep fıstığı çeşitlerinin yapraklarındaki besin elementlerinin içeriklerini araştırmıştır. Azot'un yapraklardaki genel ortalaması 1,703 g/kg değerinde olduğunu belirtmiştir. Araştırma sonunda Antep fıstığı Siirt çeşidinin azot içeriği 1,747 g/kg ile ortalamanın üstünde olduğu saptanmıştır. Bu da bizim yok yılı yaprak azot bulgumuz genel ortalamanın altında olduğunu, var yılı yaprak azot bulgumuzun genel ortalamanın üstünde olduğunu göstermiştir.

Shokraii (1977)'de İran'da Ohadi Antep fıstığı çeşidinin kimyasal yapısını incelemiştir. Çalışma sonucunda protein içeriğini 20,8 oranında bulmuştur. Anonim (2010), Antep fıstığında protein % 20,27 oranında belirtilmiştir. Ak ve Kaska (1998)'de yaptığı bir çalışmada Antep fıstığı çeşitlerinin protein içeriklerini çalışmıştır. Çalışma sonucunda Siirt çeşidi Antep fıstığının % 21,85 oranında protein içerdiği saptanmıştır. Bu da bizim protein bulguları ile benzeşmektedir. Ayrıca Okay (2002)'de yaptığı bir çalışmada ise Siirt çeşidinde toplam proteinin % 24, 6 olarak bulmuştur. Çınar (2012)'de yaptığı bir çalışmada Antep fıstığı çeşitlerinin mineral madde, vitamin ve yağ asitleri üzerine yaptığı çalışmasında Siirt çeşidinde 2010 yılında protein içeriği % 14,99 ile % 0,061 belirlenmiştir. 2011 yılında ise % 17,63 ile 0,420 olarak belirlenmiştir.

#### **4.1.5. Fıstıkta periyodisiteye bağlı değişen bitki besin madde analizleri**

Antep fıstığı meyvesinin oluşması için bitkinin yeterince beslenmesi gereklidir. Periyodisite fıstığın yeterli ve düzenli bir şekilde beslenememesi sonucudur. Antep fıstığı Siirt çeşidinin yaprak, gövde ve meyve dokuları makro, mikro, ağır ve diğer elementler yönünden incelenmiş ve elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

**Tablo 4.13.** Antep fıstığı Siirt çeşidinin var-yok yılları meyve, yaprak ve gövdeye ait makro elementler

Örnekler	Makro Elementler (%)				
	Mg	P	K	Ca	Na
Olgun meyve	0,01	0,00	0,33	0,61	0,00
Ham meyve	0,01	0,01	0,87	0,01	0,00
Yok yılı yaprak	0,09	0,00	0,21	1,04	0,00
Yok yılı gövde	0,01	0,00	0,43	0,49	0,00
Var yılı yaprak	0,03	0,02	0,77	0,17	0,00
Var yılı gövde	0,01	0,00	0,79	0,59	0,00

(Korelasyon katsayıları (R2); Mg: 0,999; P: 0,997; K: 0,998; Ca: 0,988; Na: 0,987)

Tablo 4.13’de makro elementlerin var ve yok yılına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki içerikleri verilmiştir. Tablo’da Sodyum (Na) ve Fosfor (P) eksikliği göze çarpmıştır. Magnezyum (Mg)’nin yok yılı yaprakta daha fazla olduğu, meyve olgunlaşma sürecinde değişmediği görülmüştür.

Çınar (2012)’ de yaptığı bir çalışmada, Antep fıstığı çeşitlerinin mineral madde, yağ asitleri ve vitamin içeriklerini incelemiştir. Elde edilen sonuçlara göre Antep fıstığı çeşitlerinin Na içerikleri ölçülemeyecek kadar düşük seviyede olduklarını bildirmiştir. Bu da bizim Na bulgusu ile benzerlik göstermiştir. Fıstık yapraklarındaki fosfor eksikliği yaprağın kahverengileşmesi, ileriki safhalarda yaprağın kurumasına neden olabilmektedir. Böyle ağaçlarda meyve gözü dökülmekte ve bir sonraki yılda meyve gözü oluşumu azalmakta veya hiç olmamaktadır.

Potasyum (K) ve Kalsiyum (Ca)’nın diğer makro elementlere oranla dokularda daha fazla oldukları görülmüştür. K var yılında yüksek, yok yılında az görülmüştür. Ca ise yok yılında yüksek, var yılında az görülmüştür. Meyve olgunlaşmasındaki etkisine bakılınca gittikçe olgunlaşan meyvede Ca artan bir eğilim göstermiştir (Tablo 4.13). Çetinkaya (2004), çalışmasında Antep fıstığı çeşitleri arasında en fazla Ca düzeyine sahip çeşidin Siirt çeşidi olduğu sonucuna varmıştır. Bu durumun Siirt çeşidinin daha büyük yaprağa sahip ve kireçli topraklara daha iyi adapte olmasından kaynaklandığını belirtmiştir.

Çetinkaya (2004), yaptığı bir çalışmada Antep fıstığı çeşitlerinin yapraklarındaki potasyum düzeyini araştırmıştır. Araştırma sonucunda Siirt çeşidinde % 0,649 potasyum bulunmuştur. Ayrıca var yılında potasyum az, yok yılında fazla bulunmuştur. Bu da bizim bulgulara ters düşmüştür. Bunun nedeni, kullanılan çeşitlerin ve çalışmanın yürütüldüğü iklimin farklı olmasında kaynaklanabilir. Nitekim bizde var yılında potasyum fazla, yok yılında az bulunmuştur. Ayrıca yapraklarda bulunan K düzeyi yeterli seviyede olmuştur. Çünkü Aydeniz (1990), yaptığı çalışmada % 0,32 ile % 1,54 miktarları arasındaki K yapraklar için yeterli olduğunu bildirmiştir.

**Tablo 4.14.** Antep fıstığı Siirt çeşidinin var-yok yılları meyve, yaprak ve gövdeye ait mikro elementler

Örnekler	Mikro Elementler (ppm)					
	Mn	Be	Fe	Cu	Zn	Se
Olgun meyve	9,40	0,00	69,16	1,07	2,71	13,92
Ham meyve	1,29	0,00	13,77	1,41	1,22	2,25
Yok yılı yaprak	10,64	0,00	114,55	2,04	2,80	19,42
Yok yılı gövde	4,94	0,00	42,52	0,87	2,16	6,72
Var yılı yaprak	3,14	0,00	27,98	1,63	2,06	3,95
Var yılı gövde	4,58	0,00	42,25	1,58	3,73	7,41

( R2; Mn: 0,965; Be: 0,998; Fe: 0,995; Cu ve Zn: 0,996; Se: 0,995)

Tablo 4.14’de mikro elementlerin var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki içerikleri verilmiştir. Be (Berilyum) dışında diğer mikro elementler yıllar ve dokular arasında farklılık göstermiştir. Siirt çeşidinde Be eksikliği görülür iken Demir (Fe) fazlalığı göze çarpmıştır. Fe elementinin fazla oluşu Siirt fıstığının düşük pH’lı topraklarda yetişmesinden kaynaklanabilir. Aydemir (1980)’ de rapor ettiğine göre, Fe eksikliğinin kireçli topraklarda çok, asitli topraklarda az görüldüğünü bildirmiştir.

Fe elementinin yaprakta 43 ppm’den daha az seviyede bulunması kloroza neden olurken, 80 ppm ve daha fazla seviyede bulunması ise meyve tomurcuğu dökümünde azalmaya neden olmaktadır (Tekin ve ark.,1990). Bizim var yılı yaprak 43 ppm’den az, yok yılı yaprak 80 ppm’den fazla olduğu görülmüştür. Ayrıca yapraklardan elde edilen

Fe miktarları bazı araştışıcılar tarafından belirlenen sınırlar olmuştur. Aydeniz (1990), 90-170 ppm'in Antep fıstığı için yeterli olduğunu söylemiştir. Bu da bizim yok yılı yaprak dokumuzun 114,55 ile sınırlar arasında olduğu, ancak var yılı yaprağın ise 27,98 ile sınırların altında olduğu grlmştir.

Mangan (Mn), Fe ve Selenyum (Se) elementleri yok yılında fazla görülür iken Bakır (Cu) ve inko (Zn) ise var yılında daha fazla grlmştir. Ancak element fazlalığı yok yılında yaprak dokusunda, var yılında ise gövdede birikmiştir (Tablo 4.14).

Analiz sonucunda Cu diğer elementlere göre düşük miktarda çıkmıştır. Fe'nin fazla olması Cu'nun az olmasına sebep olmuştur. zbek (1981)'e göre Cu fazlalığı Fe eksikliğine sebep olmaktadır.

Zn değerleri ise var yılında çok, yok yılında az olmuştur. Bu durum etinkaya (2004)'nin değerleri ile uyum göstermiştir.

Vemmos (1999)'deki çalışmasına göre, Aegenes eşidi Antep fıstığının var ve yok yıllarındaki yaprak dokusunda bulunan besin elementlerini incelemiştir. İnceleme sonucunda var yılı yapraklarındaki Ca, Mg, Mn ve Zn'nin tüm periyot boyunca yükselirken K'nin düştüğünü bildirmişlerdir.

Kazankaya ve ark. (2008)' de yaptıkları bir çalışmada, Siirt ilinden alınan Antep fıstıkları'nın mineral elementlerin içeriklerini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda Antep fıstığı meyvelerinin % 0,168-0,441 P, % 0,348-1,084 K, % 0,189-2,819 Ca, % 0,762-2,445 Mg, 11,14-330,36 ppm Fe, 2,36-4,82 ppm Mn, 4,23-31,49 ppm Zn ve 0,43-22,71 ppm Cu seviyelerinde mineral element içerdiklerini saptamışlardır.

**Tablo 4.15.** Antep fıstığı Siirt çeşidinin var-yok yılları meyve, yaprak ve gövdeye ait ağır elementler

Örnekler	Ağır Elementler (ppm)							
	Cr	Co	Ni	As	Cd	Sn	Sb	Pb
Olgun meyve	4,93	0,06	9,88	4,47	0,01	0,07	0,07	0,30
Ham meyve	1,73	0,01	4,06	0,72	0,00	0,06	0,01	0,23
Yok yılı yaprak	2,29	0,10	4,31	6,27	0,00	0,06	0,05	0,34
Yok yılı gövde	11,39	0,07	28,69	2,16	0,02	0,07	0,03	0,31
Var yılı yaprak	1,64	0,02	4,06	1,29	0,00	0,06	0,03	0,55
Var yılı gövde	4,27	0,06	10,47	2,37	0,01	0,09	0,08	0,65

(R2; Cr: 0,949; Co: 0,965; Ni: 0,995; As, Cd ve Sn: 0,998; Sb: 0,997; Pb: 0,978)

Tablo 4.15’de ağır elementlerin var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki içerikleri verilmiştir. Fıstık analizinde sekiz farklı ağır element bulunmuştur. Bunlardan Kadmiyum (Cd) elementi yok denecek kadar düşük seviyede görülmüştür. Geriye kalan elementler ise yıl ve dokular arasında farklılık göstermiştir. Krom (Cr), Kobalt (Co), Nikel (Ni) ve Arsenik (As) elementleri yok yılında fazla görülür iken Kalay (Sn), Antimon (Sb) ve Kurşun (Pb) elementleri var yılında fazla görülmüştür. Ham meyvede miktarları az olan tüm ağır elementlerin olgun meyvede miktarları artmıştır.

Fıstık besin elementleri makro, mikro ve ağır element olarak sınıflandırılarak analiz edip sonuçlar verilmiştir. Bunun dışında kalan diğer elementlerin analiz sonuçları aşağıdaki tablo 4.16’da verilmiştir.

**Tablo 4.16.** Antep fıstığı Siirt çeşidinin var-yok yılları meyve, yaprak ve gövdeye ait diğer elementler

Örnekler	Diğer Elementler (ppm)					
	Li	Ti	V	Sr	Mo	TI
Olgun meyve	0,06	7,46	4,40	10,97	3,58	0,00
Ham meyve	0,02	0,76	2,14	1,06	1,17	0,00
Yok yılı yaprak	0,08	11,64	3,15	11,85	1,02	0,00
Yok yılı gövde	0,03	3,95	2,46	6,55	10,14	0,00
Var yılı yaprak	0,04	1,96	2,47	2,71	0,99	0,00
Var yılı gövde	0,04	3,72	2,61	6,63	3,72	0,00

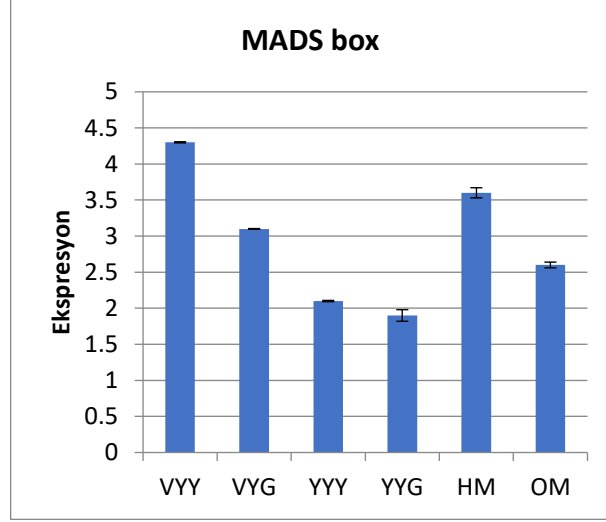
(R2; Li: 0,998; Ti: 0,990; V: 0,986; Sr: 0,987; Mo: 0,998; TI: 0,966)

Tablo 4.16’da diğer elementlerin var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki içerikleri verilmiştir. Bunlar Lityum (Li), Titanyum (Ti), Vanadyum (V), Stronsiyum (Sr), Molibden (Mo) ve Talyum (TI) elementleridir. Tablo’da TI elementinin eksikliği göze çarpmıştır. TI elementinin eksikliği fıstık için önemli bir kayıp olmayabilir. Yıldız (2004)’in raporuna göre, TI elementi bitkiler için gerekli bir besin elementi olmadığını belirtmiştir.

## 4.2. Moleküler Analizler

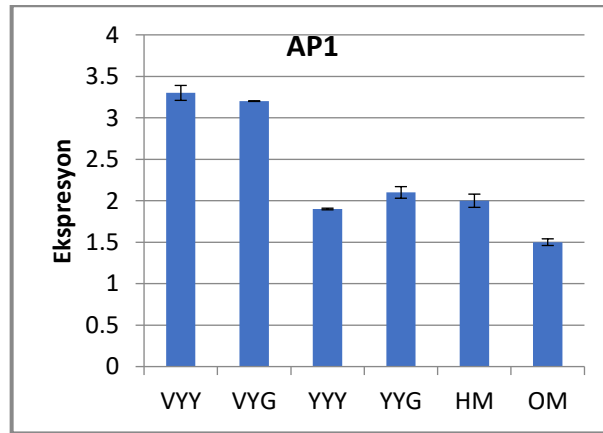
### 4.2.1. Real-Time PCR Analizleri

Fıstık bitkisinde 6 farklı örnekte periyodisite ile alakalı transkripsiyon faktör genlerin tespiti ve bu genlerin ileri (F) ve geri (P) primerleri tasarlanarak RT-PCR ile ifade düzeyleri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6 ve Şekil4.7).



**Şekil 4.1.** Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki MADSbox geninin ifade seviyesi (VYY: var yılı yaprak, VYG: var yılı gövde, YYY: yok yılı yaprak, YYG: yok yılı gövde, HM: ham meyve, OM: olgun meyve)

MADSbox geninin meyve çatlaması ve doku farklılaşmasında etkili olduğu, daha sonra *Arabidopsis* bitkisinde karakterize edilen bu genin olgunlaşma sürecinde etkili olduğu ortaya konulmuştur (Pnueli ve ark., 1994; Itkin ve ark., 2009; Vrebalov ve ark., 2009; Gimenez ve ark., 2010; Bemer ve ark., 2012). Yapılan RT-PCR analizi sonucunda MADSbox genin ifade seviyeleri yoğun olarak sırasıyla VYY, HM, VYG, OM, YYY, YYG örneklerinde tespit edilmiştir (Şekil 4.1). Ayrıca var yılına ait yaprak ve gövde dokularında MADSbox genin seviyesi yok yılına göre toplamda daha fazla olduğu görülmüştür.

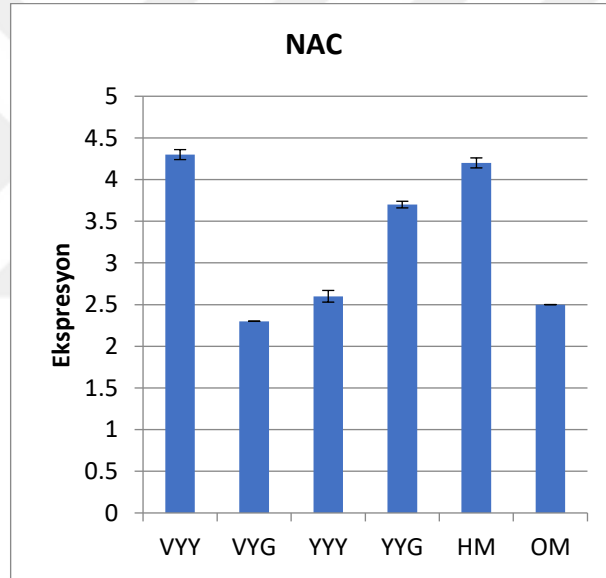


**Şekil 4.2.** Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki AP1geninin ifade seviyesi (VYY: var yılı yaprak, VYG: var yılı gövde, YYY: yok yılı yaprak, YYG: yok yılı gövde, HM: ham meyve, OM: olgun meyve)



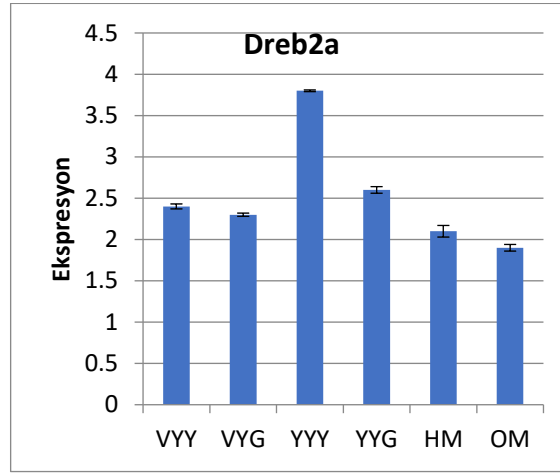
AP1 geninin ifade seviyeleri Şekil 4.2’de verilmiştir. RT-PCR analizi sonucunda AP1 geni yoğun olarak sırasıyla VYY, VYG, YYG, HM, YYY, OM örneklerinde tespit edilmiştir. MADSbox geninde olduğu gibi AP1 geni de var yılına ait yaprak ve gövde dokularında ifade seviyeleri yok yılı yaprak ve gövde dokularına göre daha fazla olduğu görülmüştür (Şekil 4.2). Sun ve ark., (2014)’de yaptıkları çalışmada AP1 geninin çiçeklenme ile ilişkili olduğunu tespit etmiştir. Buda var yılında meyve oluşumu için gerekli olan çiçeklenme sürecini bir nevi doğrular vaziyettedir.

MADSbox ve AP1 genlerinin meyve olgunlaşmasındaki etkilerine bakılırsa, ham meyvede MADSbox ve AP1 genlerinin ifade seviyeleri yükselirken meyve olgunlaştıkça gen ifade seviyesinin de giderek düştüğü görülmüştür.



**Şekil 4.3.** Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki NAC geninin ifade seviyesi (VYY: var yılı yaprak, VYG: var yılı gövde, YYY: yok yılı yaprak, YYG: yok yılı gövde, HM: ham meyve, OM: olgun meyve)

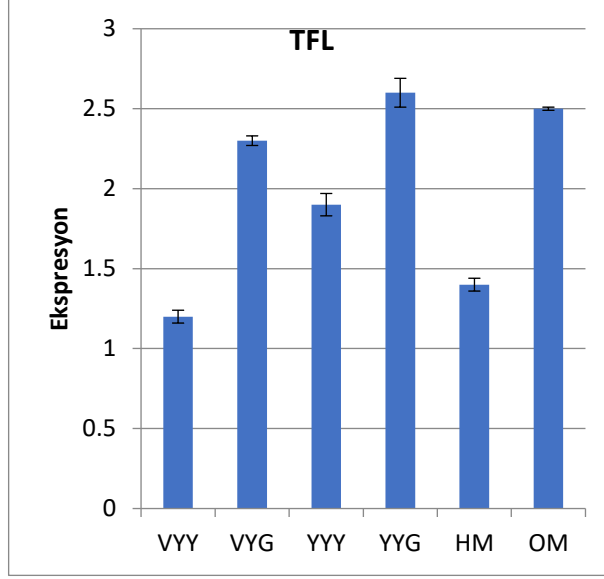
NAC geninin ifade seviyeleri Şekil 4.3’te verilmiştir. NAC geni genellikle kuraklık gibi abiyotik stres koşullarında bitkilerde toleransı sağlayan önemli genlerdir. Yapılan RT-PCR analizi sonucunda NAC geni yoğun olarak VYY, HM, YYG, YYY, OM, VYG örneklerinde tespit edilmiştir. Yapılmış bir çalışmada NAC genin ifade seviyesi artırıldığında bitkide karbonhidrat, osmolit ve prolin miktarında bir artış olduğu gözlemlenmiştir. NAC geni farklı seviyelerde pik vermiş olsa da toplamda var ve yok yıllarında hemen hemen eşit miktarda bulunmuştur (Hong ve ark., 2016).



**Şekil 4.4.** Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki Dreb2a geninin ifade seviyesi (VYY: var yılı yaprak, VYG: var yılı gövde, YYY: yok yılı yaprak, YYG: yok yılı gövde, HM: ham meyve, OM: olgun meyve)

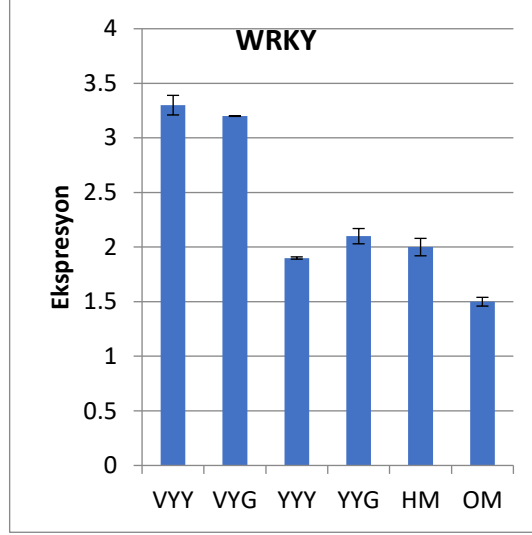
Dreb2a geninin ifade seviyeleri Şekil 4.4'te verilmiştir. Yapılan RT-PCR analizi sonucunda Dreb2a geni yoğun olarak YYY, YYG, VYY, VYG, HM, OM örneklerinde tespit edilmiştir. Dreb2a geni yok yılına ait yaprak ve gövde dokularında ifade seviyeleri var yılı yaprak ve gövde dokularına göre daha fazla olduğu görülmüştür. Dreb2a geni NAC geni gibi kuraklık gibi abiyotik stres koşullarında bitkilerde toleransı sağlamaktadır. Ayrıca Dreb2a genlerinin bitkide IAA hormonunu düzlediği bulunmuştur. Başka bir çalışmada yok yılında IAA seviyesinin arttığı gözlemlenmiştir. Bizim çalışmada IAA'ı regüle eden DREB2a gen ifade seviyesinin yok yılı yaprak dokusunda pik yaptığı bulunmuştur (Shani ve ark.,2017).

Dolayısı ile genelde abiyotik streslerde etkili olan NAC ve Dreb2a genlerinin fıstık periyodisite sürecinde etkili olduğu bulunmuştur. NAC geninde ham meyve ile olgun meyve arasında üç katı bir fark görülür iken (Şekil 4.3), Dreb2a geninde ham meyve ile olgun meyve arasında pek fark olmadığı görülmüştür (Şekil 4.4).



**Şekil 4.5.** Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki TFL geninin ifade seviyesi (VYY: var yılı yaprak, VYG: var yılı gövde, YYY: yok yılı yaprak, YYG: yok yılı gövde, HM: ham meyve, OM: olgun meyve)

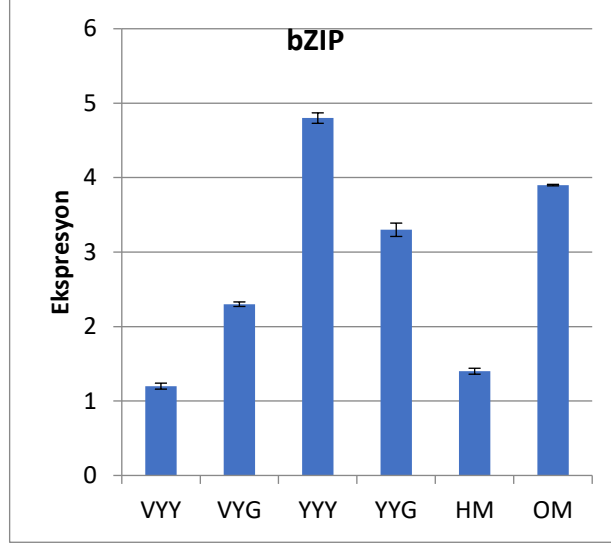
TFL geninin ifade seviyeleri Şekil 4.5'te verilmiştir. Yapılan RT-PCR analizi sonucunda TFL geni yoğun olarak sırasıyla YYG, OM, VYG, YYY, HM, VYY örneklerinde tespit edilmiştir. TFL geninin fıstık periyodisitesi üzerine olan etkisine bakıldığında, MADS-box ve AP1 genlerinin tersi bir ifade profili sergilemiştir. Yani TFL geni var yılında yaprak ve gövde dokularında yok yılına göre nisbeten daha az ifade olmuştur. Meyve olgunlaşma sürecindeki etkisine de bakıldığında ham meyve dokusunda olgun meyve dokusuna göre daha az ifade edilmiştir. Daha önce armutta yapılmış bir çalışmada da çiçeklenme sürecinde TFL1 genin ifade seviyesinin düştüğü bulunmuştur. Buda elde ettiğimiz sonuçları bir anlamda destekler niteliktedir.



**Şekil 4.6.** Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki WRKY geninin ifade seviyesi (VYY: var yılı yaprak, VYG: var yılı gövde, YYY: yok yılı yaprak, YYG: yok yılı gövde, HM: ham meyve, OM: olgun meyve)

Bitkilerde gelişimsel ve fizyolojik süreçleri düzenleyen WRKY geninin ifade seviyeleri Şekil 4.6'da verilmiştir. Ross (2007)'de yaptığı pirinç çalışmasında WRKY geninin tohum gelişimi, çimlenme, yaşlanma gibi gelişimsel süreçlerde ve streslere verilen yanıtlarda rol aldığı sonucuna varmıştır. Yapılan RT-PCR analizi sonucunda WRKY geni yoğun olarak sırasıyla VYY, VYG, YYG, HM, YYY, OM örneklerinde tespit edilmiştir. Periyodisite sürecindeki etkisi ise var yılına ait yaprak ve gövde dokularında ifade seviyeleri yok yılı yaprak ve gövde dokularına göre toplamda daha fazla olduğu görülmüştür. Ayrıca ham meyvede ifade seviyesi fazla olurken meyve olgunlaştıkça ifade seviyesinde azalma olmuştur (Şekil 4.6).

WRKY ve NAC genlerinin yaprak senesenslerinin düzenlenmesinde rol oynadıkları *Arabidopsis*'te yapılan çalışma sonucu rapor edilmiştir (Balazadeh ve ark., 2008; Huang ve ark., 2015; Zhao ve ark., 2016).



**Şekil 4. 7.** Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki bZIP geninin ifade seviyesi (VYY: var yılı yaprak, VYG: var yılı gövde, YYY: yok yılı yaprak, YYG: yok yılı gövde, HM: ham meyve, OM: olgun meyve)

Bitkilerde yaprak ve tohum oluşumunu düzenleyen bZIP geninin ifade seviyeleri Şekil 4.7’de verilmiştir. Yapılan RT-PCR analizi sonucunda yoğun olarak YYY, OM, YYG, VYG, HM, VYY örneklerinde tespit edilmiştir. Yok yılına ait yaprak ve gövde dokularında ifade seviyeleri var yılına göre toplamda daha fazla olduğu görülmüştür (Şekil 4.7).

Yener (2011)’ de yaptığı çalışmada ayvalık zeytin çeşidinden var ve yok yılına ait yaprak, sürgün, çiçek, tomurcuk ve meyve dokularının gen analizlerini yapmıştır. Çalışma sonucunda bZIP geninin ham meyveye oranla olgun meyvede daha fazla ifade edildiğini saptamıştır. Ayrıca var yılı yaprak ve gövde dokularına oranla yok yılı yaprak ve gövde dokularında bZIP geninin daha fazla ifade edildiği sonucuna varmıştır. Buda bizim bZIP bulgularımız ile benzerlik göstermiştir.

Zhiwei ve ark. (2009), mısırdaki dokusal gen analizinde bZIP geninin en yüksek ifade seviyesinin yaprakta görüldüğü sonucuna varmışlardır. Aynı şekilde bu çalışmada bizim bZIP geninin en yüksek ifade seviyesinin yaprakta bulunması ile benzerlik göstermiştir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

### 5.1. Sonuçlar

Bu çalışmada Siirt çeşidi antep fıstığında periyodisite'nin fitokimyasal ve moleküler mekanizmasını belirlemek amacıyla Siirt çeşidinin yaprak, gövde ve meyve dokuları kullanılmıştır. Bu dokular var ve yok yıllarına ait fıstık ağaçlarından alınmıştır. Alınan doku örneklerinin periyodisite ile ilişkiliparametrelerinin analizleri yapılmıştır. Fizyolojik çalışmalar için HPLC, GC ve MS yöntemleri kullanılarak şeker, uçucu yağ asit, fenolik organik asit, azot/protein ve bitki besin element içerikleri analiz edilmiştir. Moleküler çalışmalar için Real-Time PCR yöntemi kullanılarak periyodisitede etkisi olan genler araştırılmıştır.

Buna göre var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki şeker analizi sonucunda yoğun olarak sırasıyla fruktoz, glukoz, maltoz ve sükroz tespit edilmiştir. Periyodisite açısından bakıldığında toplam şeker miktarı var yılına oranla yok yılında daha fazla görülmüştür. Şekerlerin meyve içerisindeki etkisi ise ham meyvede azalan toplam şeker meyve olgunlaştıkça tekrar artmıştır.

Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki uçucu yağ asidi analizi sonucunda birçok uçucu yağ asidi çeşidi tespit edilmiştir. Yok yılında var yılına oranla daha fazla çeşitte uçucu yağ asidi bulunmuştur. Meyve dokusundaki içerikleri ise ham meyvede fazla çeşitte bulunan yağ asidi meyve olgunlaştıkça azalmıştır.

Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki fenolik organik asit analizi sonucunda tüm dokularda gallik asit, 4-hidroksi-benzoik asit ve trans-ferrulik asit ortak bulunmuştur. Ancak klorojenik asit var yılı gövde dışında diğer dokularda, vanilik asit ise hem yok yılı yaprak hem de var yılı yaprak dışında diğer dokularda bulunmuştur. Periyodisite açısından değerlendirildiğinde var yılına oranla yok yılında daha fazla fenolik organik asit tespit edilmiştir. Ham meyvede ise az olan organik fenolik asit meyve olgunlaştıkça miktarı artmıştır.

Azot/protein içeriği var ve yok yıllarına ait yaprak ve gövde dokuları baz alınarak analiz yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre var yılına ait yaprak ve gövde dokularında bulunan azot ve protein miktarı yok yılına oranla daha fazla bulunmuştur. Ayrıca her iki yılda yaprak dokusu gövde dokusuna oranla hem azot hem de protein açısından daha zengin olduğu tespit edilmiştir.

Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki besin elementleri analizi sonucunda genel olarak mikro ve ağır elementlerin varlığı makro elementlerine oranla daha fazla tespit edilmiştir. Bu durumda Siirt çeşidi antep fıstığının mikro ve ağır elementlerine daha fazla gereksinim duyduğu sonucuna varabiliriz. Besin elementleri de diğer parametrelerde olduğu gibi dokular ve yıllar arasında farklılık göstermiştir.

Var ve yok yıllarına ait yaprak, gövde ve meyve dokularındaki periyodisite ile alakalı gen ifade seviyelerine bakılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre MADSbox, AP1 ve WRKY genlerinin ifade seviyeleri var yılında fazla görülürken, Dreb2a, bZIP ve TFL genlerinin ifade seviyeleri yok yılında fazla görülmüştür. NAC geninin ifade seviyesi ise var ve yok yıllarında hemen hemen eşit olduğu görülmüştür.

Tez çalışmasından elde edilen sonuçlar, var yılı ve yok yılı araştırmaları diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında bazı tez sonuçları ile uyumluluk sağlar iken bazıları ile ters düştüğü görülmüştür. Bu durum kullanılan kimyasal materyaller ve ekolojik farklılıklara bağlanabileceği gibi kullanılan metoda göre de farklılık gösterebilmektedir.

## **5.2. Öneriler**

Periyodisite olgusu fıstık dahil birçok zirai üründe görülen bir doğal süreçtir. Bu süreç çoğu zaman verim kaybına neden olmaktadır. Zirai ürünlerdeki bu biyolojik olgununun oluşmasında etki eden; moleküler, fizyolojik, biyokimyasal, ekolojik ve agronomik etkilerin araştırılması ve bir sonuca bağlanması önemlidir. Günümüze kadar fıstık ile beraber diğer bitkilerde de periyodisite olgusunu açıklamaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen periyodisite mekanizmasının tam olarak aydınlanmasında bu çalışmalar yetersiz kalmıştır. Bu tez kapsamında Antep fıstığının Siirt çeşidine ait var yılı ve yok yılı yaprak, gövde ve meyve örneklerinde periyodisite ile ilişkili olduğunu düşünülürken çeşitli moleküler yollarda yer alan genler, organik fenolik asitler, şekerler, uçucu yağ asitleri, azot protein içerikleri, bitki besin elementleri gibi birçok fitokimyasal parametreler açısından değerlendirilmiştir. Yapılan analizler sonucu fıstık ağacında periyodisite ile ilişkili olabilecek bazı genlerin ifade seviyeleri farklılık göstermiştir. Bunun yanında var-yok yılı örnekler de çeşitli seviyelerde fitokimyasal parametrelerin birikimi olmuştur. Ancak yapılan bu tarz çalışmaların daha da genişletilmesi, yüksek hacimli moleküler tekniklerin uygulanması, iklim verilerin

düzenli tutulup kontrol edilmesi söz konusu periyodisite mekanizmasının daha da aydınlatılmasında yardımcı olacaktır. Böylece mekanizması çözülmüş bu olgunun verime yansması olumlu düzeyde olacak ve toplumun sosyo-ekonomik seviyesinde bir iyileşme yapacağı 'da beklenmektedir.





## 6. KAYNAKLAR

- Abbas, K.A., Lichtman, A.H., Pober, J.S., 1997. Quantitation of antigen, In: Cellular and Molecular Immunology, 3rd edition, *Philadelphia: WB Saunders Company*, 59-60.
- Aharoni, A., Keizer, L. C., Van Den Broeck, H. C., Blanco-Portales, R., Munoz-Blanco, J., Bois, G., O'Connell, A. P., 2002. Novel insight into vascular, stress, and auxin-dependent and-independent gene expression programs in strawberry, a non-climacteric fruit,*Plant Physiology*,129(3), 1019-1031.
- Ak, B.E. and Kaşka, N. 1998. Effects of pollen of different Pistacia spp. on the protein and oil content in pistachio nut . In. X GREMPA Seminar = Xeme *Colloque du GREMPA*, p. 197-201, Zaragoza, CIHEAM-IAMZ.
- Ak, B.E. and Acar, I., 2001. Pistachio production and cultivated varieties grown in Turkey, International Workshop on Pistachio: Towards a Comprehensive Documentation of Distribution and Use of Its Genetic Diversity in the CWANA Region, *Report of the IPGRI workshop*, 14-17 December 1998, Irbid, Jordan, p:27-34.
- Ak, B.E. and Kaşka, N., 1992. Antep fıstığı yetiştiriciliğinde sık dikimin verime etkisi üzerinde bir araştırma, *Türkiye 1. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi*, 13-16 Ekim, İzmir, s. 63-66.
- Akkan, A.C., 2008. Bazı fenolik asit bileşiklerinin kapiler elektroforez yöntemi ile tayini, Yüksek Lisans Tezi, *Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Eskişehir, s. 7-8.
- Akyüz, M.A., 2012. Antep fıstığında Siirt x Bağyolu F1 populasyonu kullanılarak SSR markörleri ile genetik haritalama, Yüksek Lisans Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana.
- Al-Saghir, M.G. and Porter, D.M., 2012. Taxonomic Revision of the Genus Pistacia L. (Anacardiaceae), *American Journal of Plant Sciences*, 3:12-32.
- Al-Shdiefat, S. M. and Qrunfleh, M. M., 2008. Alternate bearing of the olive (*Olea europaea* L.) as related to endogenous hormonal content, *Int J Agric Sci*, 4(1), 11-25.

- Alvarez, J., Guli, C.L., Yu, X.-H., Smyth, D.R., 1992. Terminal flower: a gene affecting inflorescence development in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Journal*. 2: 103–116. B
- Ambros, V., Bartel, B., Bartel, D.P., Burge, C.B., Carrington, J.C., Chen, X., Dreyfuss, G., Eddy, S.R., Griffiths-Jones, S., Marshall, M., Matzke, M., Ruvkun, G., Tuschl, T., 2003. A uniform system for microRNA annotation, *RNA*, 9(3), 277-279.
- Amiri, M.E., 2009. Physiological influence of N in preventing of alternate bearing of pistachio (*Pistacia vera* cv. Kalleh-ghuchi), *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 7, 301-305.
- Amiteye, S., Corral, J., Vogel, H., Sharbel, T., 2011. Analysis of conserved microRNAs in floral tissues of sexual and apomictic *Boechera* species, *BMC Genomics*, 12(1), 500.
- Anonim, 1993. Antepfıstığı çeşit kataloğu, *T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü, Mesleki Yayınlar Serisi*. No 361,20, Ankara, 64s.
- Anonim, 2001. Antep fıstığı Yetiştiriciliği, *Antep fıstığı Araştırma Enstitüsü Yayınları*, Gaziantep, 13,1-132.
- Anonim, 2006a. <http://www.vegparadise.com/highestperch35.html>.
- Anonim, 2006b. Bitkilerde doğal renk maddeleri ve fenolik bileşikler, *Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi*, Ankara.
- Anonim, 2009. Antep fıstığı ve Faydaları, <http://www.sifalibitkiler.us/> (Erişim Tarihi: 22.10.2011).
- Anonim, 2015. [mitos.tagem.gov.tr/browse/279/681.doc](http://mitos.tagem.gov.tr/browse/279/681.doc) (Erişim tarihi: 30.06.2015).
- Anonim, 2017. <https://siirt.tarim.gov.tr/Lists/SolMenu/Attachments/23/2013-2017%20Faaliyet%20Raporu.pfd>
- Arozarena, I., Ayestar´an, B., Cantalejo, M.A., Navarro, M., Vera, M., Abril, I., Casp, A., 2002. Anthocyanin composition of tempranillo, garnacha and cabernet sauvignon grapes from high and low quality vineyards over two years, *European Food Research and Technology*, 214(4), 303-309.

- Atay, A.N., 2013. Bazı bitki büyüme düzenleyicilerinin golden delicious elmasında çiçeklenme düzensizliği, verim ve vegetatif gelişime etkileri, Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Aydemir, O., 1980. Bitkilerde demir noksanlığının gübrelere düzeltilmesi, Atarürk Üniversitesi, *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11, 3-4.
- Aydeniz, A., 1990. Fıstıkta verimliliğe gübrelemenin katkısı, *Türkiye 1. Antep Fıstığı Sempozyumu*, 108-119.
- Ayfer, M., 1990. Antep fıstığının dünü, bugünü ve geleceği, *Türkiye 1. Antep fıstığı Sempozyumu-Bildiriler*, Gaziantep, 14-23.
- Ayton, J., Mailer, R. J., Haigh, A., Tronson, D., Conlan, D., 2007. Quality and oxidative stability of Australian olive oil according to harvest date and irrigation, *Journal of Food Lipids*, 14(2), 138–156.
- Babacan F., 1996. İnfeksiyon hastalıklarının immünoserolojisi, Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M ed. İnfeksiyon Hastalıkları, *Nobel Tıp Kitabevleri*, 98-9.
- Bahatnagar-Mathur, P., Vadez, V., Sharma, K., 2008. Transgenic approaches for abiotic stres tolerance in plants: retrospect and prospects, *Plant Cell Reports*, 27(3), 411-424.
- Baktır, I., Ulger, S., Kaynak, L., Himelrick, D.G., 2004. Relationship of seasonal changes in endogenous plant hormones and alternate bearing of olive trees, *Hort. Science*, 39(5), 987-990.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants andagri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence and potential uses, *Food Chemistry*, 99(1), 191-203.
- Balazadeh, S., Riaño-Pachón, D.M., Mueller-Roeber, B., 2008. Transcription factors regulating leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Biology (Stuttgart)*, 10 (S1), 63-75.
- Bartel, B. and Bartel, D.P., 2003. MicroRNAs: at the root of plant development? *Plant Physiology*, 132(2), 709-717.
- Bartel, D.P., 2004. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function, *Cell*, 116(2), 281-297.

- Batool, A., Khan, M. A., Farooq, J., Mughal, S. M., Iftikhar, Y., 2011. ELISA-based screening of potato germplasm against potato leaf roll virus, *Journal of Agriculture Research*, 49(1), 57-63.
- Baydar, H. ve Turgut, İ., 1999. Yağlı tohumlu bitkilerde yağ asitleri kompozisyonunun bazı morfolojik ve fizyolojik özelliklere ve ekolojik bölgelere göre değişimi, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 23(1), 81- 86.
- Bemer, M., Karlova, R., Ballester, A. R., Tikunov, Y. M., Bovy, A. G., Wolters-Arts, M., de Maagd, R. A., 2012. The tomato FRUITFULL homologs TDR4/FUL1 and MBP7/FUL2 regulate ethylene-independent aspects of fruit ripening, *The Plant Cell*, 24(11), 4437-4451.
- Berker, K.I., 2005. Çeşitli kromojen ligandlar varlığında fenolik antioksidanların demir (III) indirgeme kapasiteleri yoluyla toplam miktar tayini, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, s. 11-12.
- Bhatnagar-Mathur, Pooja. Vadez, V., Sharma, Kiran., 2008. Transgenic Approaches for Abiotic Stress Tolerance in Plants: Retrospect and Prospects, *Plant Cell Reports*, 27, 411–424.
- Bilitewski, U., 2009. DNA microarrays: an introduction to the technology, In *Microchip Methods in Diagnostics*, Humana Press, (pp. 1-14).
- Bridge, P.D. and Arora, D.K., 1998. Interpretation of PCR methods for species definition, *Applications of PCR in Mycology*, 63-84.
- Brothwell, D. R. and Brothwell, P. 1998. Food in antiquity: a survey of the diet of early peoples, *JHU Press*, (Vol. 66).
- Buban, T. and Faust, M., 1982. Flower bud induction in apple trees: internal control and differentiation, *Horticultural Reviews*, 4, 174-203.
- Buckingham, S., 2003. The major world of microRNAs, Understanding the RNA issuance, *Nature*, USA, p. 1-3.
- Bukovac, M.J., Sabbatini, P., Schwallier, P.G., 2006. Modifying alternate bearing of spur-type ‘Delicious’ apple with ethephon, *Horticultural Science*, 41(7), 1606-1611.

- Bustin, S.A., 2000. Absolute quantification of mRNA using realtime reverse transcription polymerase chain reaction assays, *Journal of Molecular Endocrinology*, 25(2), 169-193.
- Cartoni, G., Cocciol, F., Jasionowska, R., 1995. Capillary electrophoretic separation of phenolic acids, *Journal of Chromatography A*, 709(1), 209-214.
- Cemeroğlu, B. ve Jale, A.C.A.R., 1986. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, *Gıda Teknolojisi Derneği*, Yayın No: 6, Ankara.
- Cemeroğlu, B., 2004. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1.cilt, *Gıda Tekonojisi Derneği Yayınları*, No: 35, Ankara, 77-88.
- Cerutti, P.A., 1985. Prooxidant states and tumor promotion, *Science*, 227(4685), 375-381.
- Chkikvishvili, I.D. and Gogiyo, N.N., 1995. Flavonoids of mandarin fruit wastes and their fungistatic effect on the fungus phoma tracheiphila, *Applied Biochemistry and Microbiology*, 31 (3), 292-296.
- Clark, M. F. and Adams, A. N., 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses, *Journal of General Virology*, 34(3), 475-483.
- Coligan, J.E., Kruisbeek, A.M., Margulies, D.H., Shevach, E.M., Strober, W., 1994. Antibody, Detection and Preparation, In: *Current Protocols in Immunology*, Vol 1, New York: *John Wiley & Sons*.
- Crane, J. C. and Al-Shalan, I. M., 1974. Physical and chemical changes associated with growth of the pistachio nut, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 99 (1), 87-89.
- Cücü-Açıkalm, 1998. Kinnow Mandarininde Karbonhidratların ve Bitki Besin Elementlerinin Mevsimsel Dağılımı, Yüksek Lisans Tezi, *Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı.
- Crane, J. C. and Nelson, M. M., 1971. The unusual mechanism of alternate bearing in the Pistachio, *Horticultural Science*, 6 (5), 489-490.

- Çanakçı, S., 2010. Arpa (*Hordeum vulgare* L. cv.) tohumlarının çimlenmesi, çeşitli büyüme parametreleri ve pigment miktarları üzerine salisilik asit ve ferulik asit'in etkileri, *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 22 (1), 61-65.
- Çetiner, İ., 2015. Akçakale (Şanlıurfa) ilçesinde yetiştirilen değişik Antep fıstığı çeşit ve tiplerinde bazı bitki besin maddelerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Şanlıurfa.
- Çetinkaya, H., 2004. Mutlak ve oransal periyodisite gösteren bazı Antep fıstığı çeşitlerinde periyodisite ile içsel hormonlar, karbonhidrat ve bitki besin maddeleri düzeyleri arasındaki ilişkiler, Doktora Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana.
- Çınar, B., 2012. Türk Antep fıstığı çeşitlerinin vitamin, mineral madde, yağ ve yağ asitleri bileşimi üzerinde araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.
- Dag, A., Bustan, A., Avni, A., Lavee, S., Riov, 2009. Fruit thinning using NAA shows potential for reducing biennial bearing of 'Barnea' and 'Picual' oil olive trees, *Crop and Pasture Science*, 60(12), 1124-1130.
- De Vries, B. B., Pfundt, R., Leisink, M., Koolen, D. A., Vissers, L. E., Janssen, I. M., Van Reijmersdal S., Nillesen W.M., Huys E., De Leeuw N., Smeets D., Sistermans E.A., Feuth T., Van Ravenswaaij-Arts C.M.A., Van Kessel A.D., Schoenmakers E.F., Brunner H.G., Veltman J.A., 2005. Diagnostic Genome Profiling in Mental Retardation, *The American Journal of Human Genetics*, 77(4), 606-16.
- Dündar, E., Suakar, O., Unver, T., Dagdelen, A., 2013. Isolation and expression analysis of cDNAs that are associated with alternate bearing *Olea europaea* L., Cv. Ayvalık. *BMC Genomics*, 14(219).
- Eldem, V.O.S. and Unver, T., 2013. Plant microRNAs: New players in functional genomics, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 37(1), 1-21.
- Ertürk, Y. E., Geçer, M. K., Gülsoy, E., Yalçın, S., 2015. Antepfıstığı üretimi ve pazarlaması, *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(2), 43-62.

- Escarpa, A. and Gonzalez, M.C., 2000. Evaluation of high-performance liquid chromatography for determination of phenolic compounds in pear horticultural cultivars, *Chromatographia*, 51(1-2), 37-43.
- Fabani, MP, Luna, L., Baroni, MV, Monferran, MV, Ighani, M., Tapia, A., Feresin, GE., 2013. Arjantinli çeşitlerden Antep fıstığı (*Pistacia vera* var Kerman), İnsan sağlığını iyileştirme potansiyeline sahip doğal bir ürün, *Fonksiyonel Gıdalar Dergisi*, 5 (3), 1347-1356.
- Fiamegos, Y.C., Nanos, C.G., Vervoort, J., Stalikas, C.D., 2004. Analytical procedure for the in-vial derivatization-extraction for phenolic acids and flavonoids in methanolic and aqueous plant extracts followed by gas chromatography with mass-selective detection, *Journal of Chromatography A*, 1041(1-2), 11-18.
- Fire, A.X.S., Montgomery, M.K., Kostas, S.A., Driver, S.E. and Mello, C.C., 1998. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*, *Nature*, 391(6669), 806.
- Gibson, U. E., Heid, C. A., Williams, P. M., 1996. A novel method for real time quantitative RT-PCR, *Genome Research*, 6(10), 995-1001.
- Gimenez, E., Pineda, B., Capel, J., Anton, M.T., Atares, A., Perez-Martin, F., Garcia-Sogo, B., Angosto, T., Moreno, V., Lozano, R., 2010. Functional analysis of the Arlequin mutant corroborates the essential role of the Arlequin/TAGL1 gene during reproductive development of tomato, *PLoS One*, 5(12), e4427.
- Gonzalez, I., Garcia, T., Antolin, A., Hernandez, P. E., Martin, R., 2000. Development of a combined PCR-culture technique for the rapid detection of *Arcobacter* spp. in chicken meat, *Letters in Applied Microbiolog*, 30(3), 207-212.
- Gustafson-Brown, C., Savidge, B., Yanofsky, M. F., 1994. Regulation of the Arabidopsis floral homeotic gene APETALA1, *Cell*, 76(1), 131-143.
- Guitton, B., Kelner, J.J., Celton, J.M., Sabau, X., Renou, J.P., Chagne, D., Costes, E., 2016. Analysis of transcripts differentially expressed between fruited and deflowered "Gala" adult trees: a contribution to biennial bearing understanding in apple, *BMC Plant Biol*, 16(55).
- Günel, T., 2007. Gen anlatımının kantitatif analizi, *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 27(5), 763-767.

- Güngör, N., 2007. Dut pekmezinin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri ile antioksidan aktivitesi üzerine depolamanın etkisi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Güngör, O., 2006. Mikotoksin Üreten Fungusları PCR ile Saptama Yöntemleri, *Diploma Çalışması*, İzmir.
- Hatamnia, A. A., Abbaspour, N., Darvishzadeh, R., 2014. Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits, *Food Chemistry*, 145, 306-311.
- Hendry, R.M. and Hermann, J.E., 1984. Immobilization of antibodies on nylon for use in enzyme-linked immunoassay, *Journal of immunological methods*, 67, 21.
- Hirayama, T. and Shinozak, K., 2010. Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future, *The Plant Journal*, 61(6), 1041-1052.
- Hong, Y., Zhang, H., Huang, L., Li, D., Song, F., 2016. Overexpression of a stress-responsive NAC transcription factor gene ONAC022 improves drought and salt tolerance in rice, *Frontiers in Plant Science*, 7, 4.
- Huang, C.K., Lo, P.C., Huang, L.F., Wu, S.J., Yeh, C.H., Lu, C.A., 2015. A single-repeat MYB transcription repressor, MYBH, participates in regulation of leaf senescence in *Arabidopsis*, *Plant Molecular Biology*, 88(3), 269-286.
- Itkin, M., Seybold, H., Breitel, D., Rogachev, I., Meir, S., Aharoni, A., 2009. Tomato *Agamous-like1* is a component of the fruit ripening regulatory network, *The Plant Journal*, 60(6), 1081-1095.
- Jonkers, H., 1979. Biennial bearing in apple and pear: a literature survey, *Scientia Horticulturae*, 11(4), 303-317.
- Joret, C., 1976. Les plantes dans l'antiquité et au moyen âge; histoire, usages et symbolisme, Slatkine Reprints, Geneve, Reprinted from the book first published in 1897-1904.
- Kafkas, S., 2006. Phylogenetic analysis of the genus *Pistacia* by AFLP markers, *Plant Systems and Evolution*, 262 (1-2), 113-124.
- Kailis, S. and Harris, D., 2000. Table olives; a national and international approach to quality, The University of Western Australia, *The Olive Press, The Official Journal of the Australian Olive Association*, Spring, Nedlands.



- Kalenderoğlu, H., 2010. Gemlik zeytin çeşidinde dal eğme ile birlikte yaprakdan azot, potasyum ve magnezyum uygulamalarının meyve verimi ve kalite üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Kazankaya, A., Tüfenkçi, S., Balta, M. F., & Karadag, S., 2008. Nutrient contents and nut properties of pistachio (*Pistacia vera* L.) Varieties, *Asian Journal of Chemistry*, 20(3), 2344.
- Kotoda, N., Wada, M., Kusaba, S., Kano-Murakami, Y., Masuda, T., Soejima, J., 2002. Overexpression of MdMADS5, an APETALA1-like gene of apple, causes early flowering in transgenic *Arabidopsis*, *Plant Science*, 162, 679-687.
- Kamber, U., 1993. Fermente Türk sucuklarında et orijininin ELISA ile belirlenmesi, Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.
- Kendirci, P., 2008. Ülkemizde Yetiştirilen Bazı Antepfıstığı Çeşitlerinin Lezzet Özelliklerinin Belirlenmesi ve Kavurma İşleminin Bu Özelliklere Etkisinin İncelenmesi, Doktora Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir.
- Kılıç, Ö., 2014. Essential oil composition of two *Sideritis* L. taxa from Turkey: A chemotaxonomic approach, *Asian Journal of Chemistry*, 26(8), 2466.
- Kidner, C.A. and Martienssen, R.A., 2005. The developmental role of microRNA in plants, *Current Opinion in Plant Biology*, 8(1), 38-44.
- Klein, D., 2002. Quantification using real-time PCR technology: applications and limitations, *Trends in Molecular Medicine*, 8(6), 257-260.
- Klug, W. S., & Cummings, M. R. (2003). Genetik kavramlar. 6. baskı. *Palme Yayıncılık*, Ankara.
- Krueger, W.H., Maranto, J., Sibbett, G.S., 2005. Olive fruit thinning, In: olive Production Manual, Sibbett, G.S. and Ferguson, L. (Eds.), 101-104 pp, *Universty of California, Agriculture and Natural Resources Publication 3353*, Oakland, California, USA.
- Kubista, M., Andrade, J. M., Bengtsson, M., Forootan, A., Jonak, J., Lind, K., 2006. Thereal-time polymerase chain reaction, *Molecular Aspects of Medicine*, 27(2-3), 95-125.

- Kumar, R., Khurana, A., Sharma, A.K., 2014. Role of plant hormones and their interplay in development and ripening of fleshy fruits, *Journal of Experimental Botany*, 65(16), 4561-4575.
- Kuru, C., ve Özsabuncuoğlu, I.H., 1990. Yabani *Pistacia* türlerinin aşılanmasında sorunlar ve çözüm yolları, Türkiye 1. In: Kuru C., Can A., Öcal M., Yalcin M., Basut M (eds) Antepfıstığı Sempozyumu, Pistachio Research Institute, Gaziantep, Turkey, pp 51-57.
- Külekcı, M. ve Aksoy, A., 2011. Gaziantep ili dağ ve ova köylerinde Antep fıstığı üretim maliyetlerinin karşılaştırılması, *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(1), 41-52.
- Latchman, D.S., (1997). Transcription factors: an overview, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 29(12), 1305-1312.
- Lavee, S., 2007. Biennial bearing in olive (*Olea europaea* L.), In *Annales Series Historia Naturalis*, 17:101-112 pp.
- Lea, U.S., Slimestad, R., Smedvig, P., Lillo, C., 2007. Nitrogen deficiency enhances expression of specific MYB and bHLH transcription factors and accumulation of end products in the flavonoid pathway, *Planta*, 225(5), 1245-1253.
- Lee, R.C, Feinbaum, R.L., Ambros, V.C., 1993. The *C. Elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*, *Cell*, 75(5), 843-854.
- Lemaister, J., 1959. Le Pistacher (Etude bibliographique), *Fruits*, 14(2), 57-77.
- Logos-Quintana, M.R.R., Landeckel, W., Tuschl, T., 2001. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs, *Science*, 294(5543), 853-858.
- Lopez, M. M., Bertolini, E., Olmos, A., Caruso, P., Gorris, M. T., Llop, P., Cambra, M., 2003. Innovative tools for detection of plant pathogenic viruses and bacteria, *International Microbiology*, 6(4), 233-243.
- Louie, R.F., Tang, Z., Albertson, T.E., Cohen, S., Tran, N.K., Kost, G.J., 2008. Multiplex polymerase chain reaction detection enhancement of bacteremia and fungemia, *Critical Care Medicine*, 36(5), 1487-1492.
- Lu, S., Sun, Y.H., Chiang, V.L., 2008. Stress-responsive microRNAs in *Populus*, *The Plant Journal*, 55(1), 131-151.

- Maas, F., Schaap, N., Kolen, S., Zoetbrood, A., Buño, I., Dolstra, H., van de Wiel- van Kemenade, E., 2003. Quantification of donor and recipient hemopoietic cells by real-time PCR of single nucleotide polymorphisms, *Leukemia*, 17(3), 621.
- Marsilio, V., Campestre, C., Lanza, B. 2001. Phenolic compounds change during California-style ripe olive processing, *Food Chemistry*, 74(1), 55-60.
- Mattila, P. and Kumpulainen, J., 2002. Determination of free and total phenolic acids in plant-derived foods by HPLC with diode-array detection, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3660-3667.
- McPherson, M.J. and Moller, S.G., 2001. PCR: The basics from background to bench, *BIOS Scientific Publishers Limited, Oxford*, 276 s.
- Meshi, T., Iwabuchi, M., 1995. Plant transcription factors, *Plant Cell Physiol* 36, 1405–1420.
- Moldenke, H.N. and Alma, L., 1952. Plants of Bible, *Chronica Botanica Company*, 189-191.
- Monselise, S.P. and Goldschmidt, E.E., 1982. Alternate bearing in fruit trees, *Horticultural Reviews*, 4, 128-173.
- Naczki, M. and Shahidi, F., 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1523-1542.
- Naidu, R. A. and Hughes, J. D. A., 2003. Methods for the detection of plant virus diseases, *Plant Virology in Sub Saharan Africa*, 233-253.
- Nadernejad, N., Ahmadimoghadam, A., Hossyinfard, J., Poorseyedi, S., 2013. Effect of different rootstocks on PAL activity and phenolic compounds in flowers, leaves, hulls and kernels of three pistachio (*Pistacia vera* L.) cultivars, *Trees*, 27(6), 1681-1689.
- Nakagawa, M., Hansho, C., Kanzaki, S., Shimizu, K., Utsunomiya, N., 2012. Isolation and expression analysis of flowering locus T-like and gibberellin metabolism genes in biennial-bearing mango trees, *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, 139, 108-117.
- Nejad, M.S. and Niroomand, A., 2007. Carbohydrate content and its roles in alternate bearing in olive, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10 (16), 2744-2747.

- Nishimura, I., Drake, T. A., Lusi, A. J., Lyons, K. M., Nadeau, J. H., Zernik, J., 2003. ENU large-scale mutagenesis and quantitative trait linkage (QTL) analysis in mice: novel technologies for searching polygenetic determinants of craniofacial abnormalities, *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 14(5), 320-330.
- Nuruzzaman, M., Manimekalai, R., Sharoni, A.M., Satoh, K., Kondoh, H., Ooka, H., Kikuchi, S. 2010. Genomewide analysis of NAC transcription factor family in rice, *Gene*, 465(1), 30-44.
- Ojeda, H., Andary, C., Kraeva, E., Carbonneau, A., Deloire, A., 2002. Influence of pre and postverasion water deficit on anthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz, *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(4), 261- 267.
- Okay, Y., 2002. The composition of some pistachio cultivars regarding their fat and fatty acids and protein content, *Gartenbauwissenschaft*, 67, 107-113.
- Onken, M., 1997. What Is a Cdna Library?, Washington University, MadSci Network Genetics.
- Özbal, Y., 2000. Temel immünoloji, *Nobel Tıp Kitapevleri*, 2.baskı, 110-113.
- Özbek, S., 1978. Özel meyvecilik, *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, 128, 486s.
- Özbek, N., 1981. Meyve ağaçlarının gübrenmesi, *Tarım ve Orman Bakanlığı Yayınları*. 280s. Ankara.
- Özden-Tokatlı, Y., 2005. Antep fıstığı (*Pistacia vera* L.) bitkisinin doku kültürü yöntemleri ile in vitro rejenerasyonu ve mikroçağaltımı, Doktora Tezi, *Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü*, 162 s.
- Perez-Magarino, S., Revilla, I., Gonzalez-SanJose, M.L., Beltran, S., 1999. Various applications of liquid chromatography-mass spectrometry to the analysis of phenolic compounds, *Journal of Chromatography A*, 847, 75-81.
- Piccihioni, G.A., Brown, P.H., Weinbaum, S.A., Muraoka, T.T., 1997. Macronutrient allocation to leaves and fruit of mature, alternate bearing pistachio trees: magnitude and seasonal patterns at the whole-canopy level, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 122 (2), 267-274.

- Pnueli, L., Hareven, D., Rounsley, S.D., Yanofsky, M.F., Lifschitz, E., 1994. Isolation of the tomato AGAMOUS gene TAG1 and analysis of its homeotic role in transgenic plants, *The Plant Cell*, 6(2), 163-173.
- Polat, R. ve Ülger, P., 2001. Antep fıstığının bazı fiziko mekaniksel özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma, *Tarımsal Mekanizasyon 20. Ulusal Kongresi Bildiri Kitabı*, Erzurum, 523-528.
- Polat, R., Ülger, P., Sağlam, R., Sağlam, C., 2001. A survey on the determination of statues of mechanization of pistachio farming and its problems in Turkey. In *XI GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds, Zaragoza: CIHEAM* (pp. 295-299).
- Qing, T., Saijo, M., Niikura, M., Maeda, A., Ikegami, T., Xinjung, W., Kurane, I., Morikawa, S., 2003. Detection of immunoglobulin G to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in sheep sera by Recombinant Nucleoprotein-Based Enzyme-Linked immunosorbent and immunofluorescence assays, *Journal Virol Methods*, 108(1), 111 - 116.
- Reinhart, B.J.S.F.J., Basson, M., 2000. The 21 nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*, *Nature*, 403, 901-906.
- Robbins, R.J. and Bean, S.R., 2004. Development of a quantitative high-performance liquid chromatography-photodiode array detection measurement system for phenolic acids, *Journal of Chromatography A*, 1038, 97-105.
- Roitt, I., Brostoff, J., Male, D., 1998. Immunological techniques, In: immunology, 5th edition, *Mosby, Elsevier*, London, 386.
- Ronaghi, M., Nygren, M., Lunderberg, J., Nyren, P., 1999. Analysis of secondary structures in DNA by pyrosequencing, *Analytical Biochemistry*, 267(1), 65-71.
- Ross, C.A., Liu, Y., Shen, Q.J., 2007. The WRKY gene family in rice (*Oryza sativa*), *Journal of Integrative Plant Biology*, 49(6), 827-842.
- Saitta, M., La Torre, GL., Potort®, AG., Di Bella, G., Dugo, G., 2014. Antepfıstığı (pistacia vera L.) yağ örneklerinin polifenoller ve temel bileşen analizi ile coğrafi farklılaşması, *Amerikan Petrol Kimyacıları Birliği Dergisi*, 91 (9), 1595-1603.
- Saldamlı, İ., 2007. Gıda Kimyası, *Hacettepe Üniversitesi Yayınları*, Ankara, 463-492.

- Sambrook, J. and Russell, D.W., 1989. Molecular cloning: alaboratory manual, 3rded, *Cold Spring Harbor*, New York, 999 s.
- Sambrook, J. and Russell, D.W., 2006. The basic polymerase chain reaction, Molecular cloning a labratory manuel, Dallas, *Cold Spring Harbor*, 245-270.
- Sarıkaya, Ö., 2005. Funguslar ile gallik asit üretiminde çeşitli bitkisel atıkların kullanılabilirliğinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, *Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Eskişehir, 9-10.
- Saydam, F., Değirmenci, İ., Veysi Güneş, H.V., 2011. mikroRNA'lar ve kanser, *DicleMedical Journal*, 38(1), 113-120.
- Schmidtlein, H. and Hermann, K., 1975. Quantitative analysis for phenolic acids by thin layer chromatography, *Journal of Chromatography A*, 115, 123-128.
- Sevindik, E. ve Abacı, Z.T., 2013. Nested PCR ve Kullanım Alanları, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6(2), 22-26.
- Shahidi, F. and Naczki, M., 1995. Food Phenolics, Chemistry, Effects, Applications, *Technomic*, USA.
- Shalom, L., Samuels, S., Zur, N., Shlizerman, L., Zemach, H., Weissberg, M., Ophir, R., Blumwald, E., Sadka, A., 2012. Alternate bearing in citrus: changes in the expression of flowering control genes and in global gene expression in on versus off crop trees, *PLos One*, 7(10), 46930.
- Shani, E., Salehin, M., Zhang, Y., Sanchez, S.E., Doherty, C., Wang, R., Mangado, C.C., Song, L., Tal, I., Pisanty, O., Ecker, J.R., Kay, S.A., Pruneda-Paz, J., Estelle, M., 2017. Plant stress tolerance requires auxin-sensitive Aux/IAA transcriptional repressors, *Current Biology*, 27(3), 437-444.
- Shannon, S. and Meeks-Wagner, D.R., 1991. A mutation in the Arabidopsis TFL1 gene affects inflorescence meristem development, *Plant Cell*, 3, 877-892.
- Simon, R., Igen<sup>o</sup>, M.I., Coupland, G., 1996. Activation of floral meristem identity genes in Arabidopsis, *Nature*, 384, 59-62.
- Singh, Karam B. Foley, Rhonda C. Oñate-Sánchez, Luis., 2002. Transcription factors in plant defense and stress responses. *Current Opinion in Plant Biology* 5, 430-436.

- Shokraii, E. H., 1977. Chemical Composition of the Pistachio nuts (*Pistaciavera*L.) of Kerman, Iran, *Journal of Food Science*, 42 (1), 244-245.
- Singh, K.B., Foley, R.C., Onate-Sanchez, L., 2002. Transcription factors in plant defense and stress responses, *Current Opinion in Plant Biology* 5, 430-436.
- Skevin, D., Rade, D., Stnicrij, D., Mokrovca, Z., Nederal, S., Bencic, D., 2003. The Influence of Variety and Harvest Time on The Bitterness and Phenolic Compounds of Olive, *Oil. European Journal of Lipid Science and Technology*, 105(9), 536-541.
- Spann, R.C., Beede, R.H., Dejong, T.M., 2008. Seasonal carbohydrate storage and mobilization in bearing and non-bearing Pistachio (*Pistacia vera*) trees, *Tree Physiology*, 28, 207-213.
- Suakar, Ö., 2012. Zeytin cDNA kütüphanelerinin moleküler karakterizasyonu ve önemli Genlerin tespiti, Doktora Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Balıkesir.
- Sun, L.M., Zhang, J.Z., Mei, L., Hu, C.G., 2014. Molecular cloning, promoter analysis and functional characterization of APETALA 1-like gene from precocious trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.), *Scientia Horticulturae*, 178, 95-105.
- Taner, G., 2007. Lipoik asit ve ferulik asitin lenfosit kültüründe mitomisin-c'ye karşı antigenotoksik etkileri, Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 29-31.
- Tekin, H., 1992. Gaziantep yöresinde topraktan ve yapraktan yapılan farklı gübre uygulamalarının Antep fıstığının yaprak bileşimi, gelişme, verim ve ürün kalitesi etkilerinin araştırılması, *Antep Fıstığı Araştırma Enstitüsü Yayınları*.
- Tekin, H., Arpacı, S., Atlı, H.S., 2001. Giriş. In: Tekin, H., Arpacı, S., Atlı, H.S., Acar, I., Karadağ, S., Yükceken, Y., Yaman, A. (eds), Antep fıstığı Yetiştiriciliği, *Antep Fıstığı Araştırma Enstitüsü*, Gaziantep, 13,3-11.
- Tekin, H., Çağlar, G., Kuru, C., Akkök, F., 1990. Antep fıstığı besin kapsamalarının belirlenmesi ve en uygun yaprak örneği alım zamanının tesbiti, *Türkiye 1. Antep Fıstığı Sempozyumu Bildiriler*, 120-138.

- Tekin, H., Genç, Ç., Kuru, C., Akkök, F.,1985. Antepfıstığının besin maddesi kapsamalarının belirlenmesi üzerine araştırmalar, *Bahçe*, 14(1-2), 47-57.
- Temizkan, G. ve Arda, N., 2008. Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler, *Nobel Tıp Kitabevi*, 3. Baskı.
- Therios, I.N., 2009. Olives, No: 18, *CABI*, 409.
- Tilkat, E., 2006. Erkek Antep fıstığı (*Pistacia vera* L. cv. 'Atlı') ağaçlarının in vitro mikroçağaltılması, Doktora Tezi, *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 144.
- 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(9), 1115-1122.
- Torun, S., 2013. Kozmetik amacıyla kullanılan bazı bitkisel yağların yağ asidi bileşimlerinin analizi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 67sayfa
- Tsao, R. and Deng, Z., 2004. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals, *Journal of ChromatographyB*, 812, 85-99.
- Tunalıoğlu, R. ve Taşkaya, B., 2003. Antep fıstığı, *Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü*,2(5), 1-4.
- Turhan, E., 2011. Bahçe Bitkilerinin Fizyolojik Esasları, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, 245s.
- TÜİK, 2017. Türkiye İstatistik Kurumu.
- Türktaş, M., Kurtoğlu, K.Y, Dorado, G., Zhang, B., Hernandez, P., Unver, T., 2014. Sequencing of plant genomes a review, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 38.
- Türkyılmaz, S. ve Esendal, M.Ö., 2002. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Mikrobiyolojide Kullanım Alanları, *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 8(1), 71-76.
- Ulger, S., Sönmez, S., Karkacier, M., Eroy, N., Akdesir, O., Aksu, M., 2004. Determination of endogenous hormones, sugars and mineral nutrition levels during the induction, initiation and differentiation stage and their effects on flower formation in olive, *Plant Growth Regulation*, 42,89-95.



- Undi, R.B., Kandi, R., Gutti, R.K., 2013. MicroRNAs as haematopoiesis regulators, *Advances in Haematology*, 1-20.
- Unver, T. ve Budak H., 2009. Conserved microRNAs and their targets in model grass species brachypodium distachyon, *Planta*, 230(4), 659-69.
- Üstek, D., 2011. Yeni nesil DNA dizileme (New Generation DNA Sequencing), *Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 1(1), 11-8.
- Vinocur, B. and Altman, A., 2005. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: Achievements and Limitations, *Current Opinion in Biotechnology* 123-132.
- Varol, N. and Tanrisever, A., 2004. Annual variation of leaf proteins of four recognized olive varieties in Turkey, In *V International Symposium on Olive Growing 791*, 447-452.
- Vemmos, S.N., 1999. Carbohydrate content of inflorescent buds of defruited and fruiting pistachio (*Pistacia vera* L) branches in relation to biennial bearing, *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 74(1), 94-100.
- Vrebalov, J., Pan, I.L., Arroyo, A.J.M., McQuinn, R., Chung, M., Poole, M., Rose, J., Seymour, G., Grandillo, S., Giovannoni, J., 2009. Fleshy fruit expansion and ripening are regulated by the tomato SHATTERPROOF gene TAG1, *The Plant Cell*, 21(10), 3041-3062.
- Wang, H., Miyazaki, S., Kawai, K., Deyholos, M., Galbraith, D. W., Bohnert, H. J., 2003. Temporal progression of gene expression responses to salt shock in maize roots, *Plant Molecular Biology*, 52(4), 873-891.
- Wang, W., Vinocur, B., Altman, A., 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance, *Planta*, 1-14.
- Warren, A.J., 2002. Eukaryotic transcription factors. *Current Opinion on Structural Biology* 12, 107–114.
- Weiler, J., Gausepohl, H., Hauser, N., Jensen, O.N., Hoheisel, J.D., 1997. Hybridisation based DNA screening on peptide nucleic acid (PNA) oligomer arrays, *Nucleic Acids Resources*, 25(14), 2792–2799.

- Whitehouse, W.E., 1957. The Pistachio nut-A new crop for the Western United States, *Economic Botany*, 281-321.
- Wilhelm, J. and Pingoud, A., 2003. Real-Time Polymerase Chain Reaction, *European Journal of Chemical Biology*, 4(11), 1120-1128.
- Yang, T., Xue, L., An, L., 2007. Functional diversity of miRNA in plants, *Plant Science*, 172(3), 423-32.
- Yang, X., Tu, L., Zhu, L., Fu, L., Min, L., Zhang, X. 2008. Expression profile analysis of genes involved in cell wall regeneration during protoplast culture in cotton by suppression subtractive hybridization and macroarray, *Journal of Experimental Botany*, 59(13), 3661-3674.
- Yanık, H., 2013. Zeytin (*Olea europaea* L.) Bitkisinde Periyodisite İle İlişkili mRNA'ların Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çankırı*.
- Yavuz, H., 2008. Türk zeytinyağlarının bazı kalite ve saflık kriterlerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara*.
- Yener, G., 2011. Zeytin tahmini bZIP transkripsiyon faktörünün moleküler karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir*.
- Yıldırım, A., Kandemir, N., Sönmezoğlu, Ö.A., Güleç T., 2011. Buğdayda Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Olası Sorunların Optimizasyonu, *Anadolu Tarım Bilim Dergisi*, 26(1), 36-39.
- Yıldız, N., 2004. Toprak ve bitki ekosistemindeki ağır metaller, ZT-531. Yüksek Lisans Ders Notları, Erzurum.
- Yi-Yun, C., 2015. Alternate bearing in Olive (*Olea eoropeae* L.) M.S., Plant Biology, Thesis, *Universty of California, UC Riverside*.
- Yoltaş, A., ve Karaboz, İ., 2010. DNA mikroarray teknolojisi ve uygulama Alanları, *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 8, 01-19.
- Zhao, Y., Chan, Z., Gao, J., Xing, L., Cao, M., Yu, C., Gong, Y., 2016. ABA receptor PYL9 promotes drought resistance and leaf senescence, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(7), 1949-1954.

Zhiwei, J., Yun, L., Yun, Z., Junguang, H., Zuping, C., Guoying, W., 2009. Cloning and characterization of a putative transcription factor induced by abiotic stress in *Zea mays*, *African Journal of Biotechnology*, Vol. 8/24 15 December, 6764-6771.

Zohary, M., 1952. A monographical study of the genus *Pistacia*, *Palestianian Journal of Botany (Jerusalem)* 5,187-228.

Zor, M., 2007. Depolamanın ayva reçelinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri ile antioksidan aktivitesi üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum

Url-1: <https://www.inc.com/inc5000/list/2016/>

Url-2: [Kilis.tarim.gov.tr/Belgeler/Ytisitiricilik%20Dökümanları/antepfısıtđı.pdf](http://Kilis.tarim.gov.tr/Belgeler/Ytisitiricilik%20Dökümanları/antepfısıtđı.pdf)

Url-3: (<http://454.com/Agr> 2018'den değiştirilmiştir).

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı-Soyadı : Ayşe ASLAN  
Doğum Yeri ve Tarihi Siirt 20.07.1991  
Telefon : 539-7967033  
E-posta : [ayse.aslan.56@hotmail.com](mailto:ayse.aslan.56@hotmail.com)

### EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise :	Siirt Lisesi	2009
Üniversite :	Siirt Üniversitesi	2014
Yüksek Lisans	Siirt Üniversitesi	2018
Doktora :		

### İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
-----	-------	--------

### UZMANLIK ALANI

### YABANCI DİLLER

### BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

### YAYINLAR