

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



BOLU YÖRESİNDE YETİŞEN *Corylus colurna L.*'NİN
KAMBİYAL AKTİVİTESİ VE MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OKAN YÜKLET

BOLU, ŞUBAT - 2020

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI



BOLU YÖRESİNDE YETİŞEN *Corylus colurna L.*'NİN
KAMBİYAL AKTİVİTESİ VE MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OKAN YÜKLET

BOLU, ŞUBAT - 2020

KABUL VE ONAY SAYFASI

Okan YÜKLET tarafından hazırlanan “**BOLU YÖRESİNDE YETİŞEN *Corylus colurna* L.’NİN KAMBIYAL AKTİVİTESİ VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**” adlı tez çalışması Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda 14.02.2020 tarihinde savunularak **Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü** Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

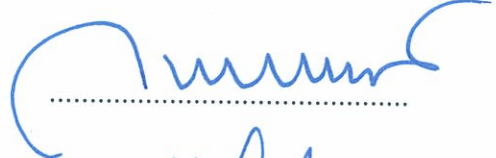


Jüri Üyeleri

Danışman
Prof. Dr. Turan KARADENİZ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Hayri SAĞLAM
Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Tuba BAK
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

İmza


.....

.....

.....

Prof. Dr. Ömer ÖZYURT


.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Rahmetli Babam Ahmet YÜKLET anısına,

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Okan YÜKLET



ÖZET

**BOLU YÖRESİNDE YETİŞEN *Corylus colurna L.*'NİN
KAMBIYAL AKTİVİTESİ VE MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU
YÜKSEK LİSANS TEZİ
OKAN YÜKLET
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. TURAN KARADENİZ)
BOLU, ŞUBAT - 2020**

Bu çalışma Bolu ekolojisinde Türk Fındığı (*Corylus colurna L.*)'nin kambiyal aktivitesi ve genetiklik çeşitliliğini ortaya koymak amacıyla yürütülmüştür. Çalışmada kambiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla vejetasyon sezonu boyunca 8 farklı dönemde aynı ağaç ziyaret edilerek sürgün örnekleri alınmış ve kambiyal gelişim takip edilmiştir.

Genetik varyasyonun ortaya konulması amacıyla Bolu ilinde belirlenen 19 farklı *Corylus colurna L.* ve 5 farklı (Karafındık, Çakıldak, Yomra, Giresun Tombul Fındık, Karayağlı) standart çeşit (*Corylus avellana L.*) 5 adet iPBS retrotranspozon markör yardımıyla DNA testine tabi tutulmuştur.

Çalışma sonucunda yeni ksilem 1'inci dönemden itibaren oluştuğu 3'üncü ve 4'üncü dönemlerde ise 172 µm'den 242 µm'ye ulaştığı ve en fazla büyümenin 4'üncü dönemde tespit edilmiştir. Kambiyal aktivitenin bu dönemleri takiben de devam ettiği ancak gelişme hızının yavaşladığı belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan 24 izolat için beş iPBS markörü ile toplamda 85 lokus üretilmiştir. iPBS markörler *Corylus colurna L.* ve *Corylus avellana L.* gruplarını net bir şekilde ayırmışlardır. iPBS - PCR'dan elde edilen ve tekrarlanabilir 85 amplifikasyon ürününden 76'sının (%76.47) çeşitler arasında polimorfik olduğu tespit edilmiştir. En yüksek polimorfik bant oranı %88.89 ile iPBS-2395 için oluşmuş, en düşük oran ise % 44.44 ile iPBS-2378 primerinde gözlenmiştir.

Çalışma sonucunda; Türk Fındığı'nda Mayıs aylarında kambiyal aktivitenin en fazla olduğu, Haziran ayından itibaren yavaşlayarak artan bir gelişimin olduğu belirlenmiştir. Çalışmada iPBS retrotranspozon markörler Türk Fındığı'nda ilk defa kullanılmış olup verdiği yüksek polimorfizm oranıyla başarıyla kullanılabilceği saptanmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: *Corylus colurna L.*, Türk Fındık, Kambiyal Aktivite, Moleküler Karakterizasyon, iPBS.

ABSTRACT

**THE CAMBIAL ACTIVITY AND MOLECULAR CHARACTERIZATION
OF *Corylus colurna* L. GROWING IN BOLU REGION
MSC THESIS
OKAN YÜKLET
BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY GRADUATE SCHOOL OF
NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF HORTICULTURE
(SUPERVISOR: PROF. DR. TURAN KARADENİZ)
BOLU, FEBRUARY 2020**

This study was carried out to reveal the cambial activity and genetic diversity of Turkish Hazelnut (*Corylus colurna* L.) in Bolu ecology. In this study, in order to determine cambial activity, the same tree was visited in 8 different periods during the vegetation season and shoot samples were taken and cambial development was followed.

19 different *Corylus colurna* L. varieties and 5 different (Karafındık, Çakıldak, Yomra, Giresun Tombul Fındık, Karayağlı) standard cultivars (*Corylus avellana* L.) determined in Bolu province were tested for DNA by 5 iPBS retrotransposon markers.

As a result of the study, it was determined that the new xylem was formed from the 1st period, and in the 3rd and 4th periods, it increased from 172 µm to 242 µm and the highest growth occurred in the 4th period. It was determined that cambial activity continued after these periods but the growth rate slowed down.

A total of 85 loci were produced with five iPBS markers for the 24 isolates used in the study. iPBS markers clearly distinguish *Corylus colurna* L. and *Corylus avellana* L. groups. 76 (76.47%) of 85 amplification products obtained from iPBS - PCR were found to be polymorphic. The highest polymorphic band ratio was 88.89% for iPBS-2395 and the lowest rate was observed in iPBS-2378 primer with 44.44%.

In the results of research; It was determined that cambial activity was the highest in Turkish Hazelnut in May and there was a slowing increase since June. In the study, iPBS retrotransposon markers were used for the first time in Turkish Hazelnut and it was found that it can be used successfully with its high polymorphism rate.

KEYWORDS: *Corylus colurna* L., Turkish Hazelnut, Cambial Activity, Molecular Characterization, iPBS

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	ix
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	x
TEŞEKKÜR	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Fındığın Morfolojik Özellikleri.....	3
1.2 Fındığın Biyolojik Özellikleri	4
1.3 Fındığın Ekolojik Özellikleri.....	5
1.4 Kambiyal Aktivite Özellikleri	5
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	7
2.1 iPBS Markör Sistemi ve Fındık Bitkisi Üzerinde Yapılmış Moleküler Çalışmalar.....	8
3. MATERYAL VE YÖNTEM	12
3.1 Materyal.....	12
3.1.1 Bolu İli İklim Verileri	12
3.2 Yöntem	13
3.2.1 Kambiyal Aktivitenin İncelenmesi	13
3.2.2 Örneklerden Kesit Alınması ve İncelenmesi	15
3.2.3 Moleküler Karakterizasyon.....	16
3.2.3.1 Genotiplerin DNA izolasyonu.....	16
3.2.3.2 DNA Moleküler Marker çalışmaları	18
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	20
4.1 Kambiyal Aktivite	20
4.2 Moleküler Karakterizasyon	33
5. SONUÇ	41
6. KAYNAKLAR.....	43
7. ÖZGEÇMİŞ.....	48

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1. <i>Corylus colurna</i> L. ağacının lokasyonu	14
Şekil 3.2. <i>Corylus colurna</i> L. ağacının genel görünümü	14
Şekil 3.3. Dokuların boyanması için çözeltilerin hazırlanması.....	15
Şekil 3.4. Mikroskopta görüntülenmek üzere hazırlanan kesitler (A: Safraninle boyanmış, B: Metilen Mavisi ile boyanmış).....	16
Şekil 4.1. 1'inci dönemde <i>Corylus colurna</i> L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).....	20
Şekil 4.2. 2'nci dönemde <i>Corylus colurna</i> L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).....	21
Şekil 4.3. 2'nci dönemde <i>Corylus colurna</i> L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25)	22
Şekil 4.4. 2'nci dönemde <i>Corylus colurna</i> L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).....	23
Şekil 4.5. 3'üncü dönemde <i>Corylus colurna</i> L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).....	24
Şekil 4.6. 4'üncü dönemde <i>Corylus colurna</i> L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Safranin, 10 x 0,25).....	24
Şekil 4.7. 5'inci dönemde <i>Corylus colurna</i> L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).....	25
Şekil 4.8. 6'ncı dönemde <i>Corylus colurna</i> L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).....	26
Şekil 4.9. 6'ncı dönemde <i>Corylus colurna</i> L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).....	27
Şekil 4.10. 7'nci dönemde <i>Corylus colurna</i> L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).....	28
Şekil 4.11. 8'inci dönemde <i>Corylus colurna</i> L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).....	28
Şekil 4.12. Dönemlere göre <i>Corylus colurna</i> L. sürgünlerinin enine gelişimi.	30
Şekil 4.13. iPBS-2295 primeri ile elde edilmiş PCR ürünleri, DNA markör (M): GeneRuler 100 bp plus (Thermo Scientific, ABD) ve NT: Kontrol. ...	34
Şekil 4.14. iPBS-2395 primeri ile elde edilmiş bant profilleri, DNA markör (M): GeneRuler 100 bp plus (Thermo Scientific, ABD) ve NT: Kontrol. ...	35
Şekil 4.15. iPBS-2378 primeri ile elde edilmiş bant profilleri, DNA markör (M): GeneRuler 100 bp plus (Thermo Scientific, ABD) ve NT: Kontrol. ...	35
Şekil 4.16. iPBS-2081 primeri ile elde edilmiş bant profilleri, DNA markör (M): GeneRuler 100 bp plus (Thermo Scientific, ABD) ve NT: Kontrol. ...	36
Şekil 4.17. iPBS-2415 primeri ile elde edilmiş bant profilleri, DNA markör (M): GeneRuler 100 bp plus (Thermo Scientific, ABD) ve NT: Kontrol. ...	36
Şekil 4.18. 24 Fındık bitkisi izolatlarının iPBS data matrisine dayandırılarak elde edilen UPGMA kümeleme analizi.	40

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1. <i>Corylus</i> cinsi içinde yer alan çalimsı ve ağaç formundaki türler.....	2
Çizelge 1.2. Ülkeler bazında Dünya fındık üretimi (ton) (2014-2017).....	2
Çizelge 1.3. Türkiye’de iller bazında fındık üretimi (ton) (2015-2018).....	3
Çizelge 3.1. Bolu ili 2019 yılı aylık açık günlerin sayısı	12
Çizelge 3.2. Bolu ili 2019 yılı aylık bulutlu günlerin sayısı	12
Çizelge 3.3. Bolu ili 2019 yılı günlük ortalama sıcaklık değerleri (°C)	12
Çizelge 3.4. Bolu ili 1929-2018 yılları arası ortalama sıcaklık değerleri (°C)	13
Çizelge 3.5. Bolu ili 2019 yılı günlük ortalama nispi nem miktarları (%).....	13
Çizelge 3.6. <i>Corylus colurna</i> L’nin kambiyal aktivite izleme dönemleri.....	13
Çizelge 3.7. Çalışmada kullanılan ekstraksiyon buffer içeriği	17
Çizelge 3.8. Çalışmada kullanılan iPBS markörlerine ait bilgiler.	18
Çizelge 3.9. Çalışmada kullanılan <i>Corylus colurna</i> L.izolatların kısaltılmış halleri	19
Çizelge 4.1. Dönemlere göre <i>Corylus colurna</i> L. sürgünlerinin enine gelişimi	29

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

DI	: Demet Işınları
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations
FL	: Floem
iPBS	: Primer Arası Bağlanma Yeri
KH	: Kalburlu Hücreler
KM	: Kambiyum
KS	: Ksilem
MD	: Mantar Doku
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PIC	: Polimorfik Bilgi İçeriği
RP	: Ayırma Gücü
SH	: Sklerankimatik Hücreler
TH	: Taş Hücreleri
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
YKS	: Yeni Ksilem
YMD	: Yeni Mantar Doku
UPGMA	: Unweighted Pair Group Method Algorithm
µm	: Mikrometre
°C	: Santigrat derece
%	: Yüzde
ml	: Mililitre
g	: Gram
µl	: Mikrolitre

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konumun belirlenmesinde ve çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Turan KARADENİZ'e teőekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Moleküler karakterizasyon çalışmasında yardım ve desteklerinden dolayı Doç. Dr Göksel ÖZER'e ve Mehtap ALKAN'a teőekkürlerimi sunarım.

Araőtırmanın görüntüleme kısmındaki yardım ve desteklerinden dolayı Prof. Dr. Erol AYAZ'a ve Dr. Öğr. Üyesi Kerem YAMAN'a çalışmanın her aşamasında desteğini ve yardımlarını esirgemeyen Arő. Gör. Emrah GÜLER'e maddi ve manevi olarak yanımda olan aileme, desteği ve yardımlarından dolayı Nimet EMANETOĞLU'na sonsuz teşekkür ve őükranlarımı sunarım.

1. GİRİŞ

Fındık, sistematikte Fagales takımının Betulaceae familyasının, Coryleae alt familyasının, *Corylus* cinsine aittir. *Corylus* cinsi içerisinde 25'ten fazla tür olduğu belirtilmektedir. Dünya genelinde mevcut fındık türlerinden Adi Fındık (*Corylus avellana* L.) ve Türk Fındığı (*Corylus colurna* L.) ülkemizde doğal olarak yetişmektedir (Yaltırık, 1997).

Dünyada 'Türk fındığı' olarak bilinmekle birlikte Ağaç Fındığı, Ayı Fındığı, Balkan Fındığı, Kaya Fındığı ya da Bolu Fındığı, Budağan Fındığı gibi adlar da verilmiştir. Türk Fındığı ülkemizde Karadeniz ikliminin hüküm sürdüğü alanlarda ve 800-1700 m yükseltilerinde yayılış göstermektedir (Polat, 2014; Karadeniz vd. 2019)

Ülkemizde Türk Fındığı Bolu, Kastamonu ve Karabük yanı sıra Kazdağları, Rize, Trabzon yörelerinde yayılış göstermektedir (Anşin ve Özkan 1993).

Corylus colurna L'nin ülkemiz dışındaki yayılış alanları Balkanlar (Sırbistan, Bulgaristan ve Romanya), kuzeybatı ve batı Kafkasya, İran'ın kuzey ve kuzeybatısı, Hazar Denizi'nin doğu kıyısı, Afganistan, Pakistan ve Himalaya Dağları'ndan Çin'e kadar geniş bir alanda yayılış gösterir (Davis, 1982; Irmak ve Gülçur, 1974; Yaltırık vd., 2000; Akhtar vd., 2010; TUBIVES, 2015).

Türk fındığı, Türkiye gen merkezli ve Türkiye'den tüm dünyaya yayılmış, en yoğun yayılışını yaptığı Batı Karadeniz Bölgesi dahil Türkiye'de doğal olarak mevcut olduğu, bütün yetiştirme ortamlarında çok küçük populasyonlar hatta münferit olarak varlığını temsil etmesi nedeniyle genetik rezerv olarak üzerinde önemle durulması gereken bir taksondur (Ayan vd., 2016; Yer vd., 2016)

Türkiye fındığının dünyada ilk olarak kültüre alınarak yetiştiriciliği yapılan ve hali hazırda üretimde en büyük paya sahip olan ülkedir. Ülkemizde fındık ekolojik olarak en uygun olan Karadeniz kıyısı boyunca Artvin'den Kocaeli'ne kadar yetiştirilmektedir (Özbek, 1978; Ayfer vd., 1986; Balta, 1993; Köksal, 2002; Karadeniz vd. 2019).

Türk fıncığı (*Corylus colurna* L.) ÷lkemizde doğal olarak yetişen ve karışık meşcerelerde dūřuk oranda bulunan aęaę t÷rlerimizdendir. T÷rk fıncığı 30-35 m boy ve 1,58 m çap yapabilmektedir (Arslan vd., 2013).

Çizelge 1.1. *Corylus* cinsi içinde yer alan alımsı ve ağağ formundaki t÷rler

Grup No	T÷r
1.Grup Avellana grubu	<i>Corylus avellana</i> L.
	<i>Corylus maxima</i>
	<i>Corylus americana</i> Marshall
	<i>Corylus heterophylla</i> Fischer
2.Grup Cornuta grubu	<i>Corylus cornuta</i> Marshall
	<i>Corylus californica</i>
	<i>Corylus sieboldiana</i> Blume
3.Grup Colurna grubu	<i>Corylus colurna</i> L.
	<i>Corylus chinensis</i> Franchet
	<i>Corylus jacquemontii</i> Decaisne
	<i>Corylus papyracea</i>
	<i>Corylus ferox</i>

(Erdoğan ve Mehlenbacher, 2000)

2017 verilerine g÷re d÷nya fıncık üretimi 1,006,178 tondur. Yıllık üretimde ilk sırada 675.000 tonla T÷rkiye, ikinci sırada 131,281 tonla İtalya yer almaktadır. T÷rkiye ve İtalya dışında Azerbaycan, ABD, in ve G÷rcistan önemli fıncık üreticisi ÷lkeler arasında yer almaktadır (izelge 1.2) (FAO, 2017).

Çizelge 1.2. ÷lkeler bazında D÷nya fıncık üretimi (ton) (2014-2017)

÷LKELER/Yıllar	2014	2015	2016	2017
T÷RKİYE	450,000	646,000	420,000	675,000
İTALYA	75,456	101,643	120,572	131,281
AZERBAYCAN	29,796	32,260	33,941	43,000
ABD	32,659	28,123	39,916	29,030
İN	23,608	24,843	26,087	27,044
G÷RCİSTAN	37,400	35,300	29,500	21,400
D÷NYA	713,451	937,390	748,096	1,006,178

FAO, 2017

2018 yılı verilerine g÷re T÷rkiye’de fıncık üretiminde ilk sırada 180,397 ton ile Ordu ili yer almaktadır. Ordu ilini Sakarya, Samsun, D÷zce, Giresun ve Trabzon illeri takip etmektedir. Bolu ilinde fıncık üretimi son yıllarda artış göstermektedir. (izelge 1.3)

Çizelge 1.3. Türkiye’de iller bazında fındık üretimi (ton) (2015-2018)

İLLER	2015	2016	2017	2018
ORDU	200,938	93,030	213,572	180,397
SAKARYA	82,708	77,279	88,840	78,300
SAMSUN	90,857	67,855	96,240	66,363
DÜZCE	69,344	54,493	74,350	52,686
GİRESUN	105,023	37,591	93,339	46,395
TRABZON	39,126	28,978	41,594	34,271
BOLU	366	228	225	1,108
TÜRKİYE	646,000	420,000	675,000	515,000

TÜİK, 2019

Tek gövdeli *Corylus colurna* L. anacı kullanılarak aşı ile çoğaltmanın yetiştiricilik tekniği olarak üstünlükleri bulunmaktadır. *Corylus colurna* L. anacının en önemli özelliği olan dip ve kök sürgünü oluşturmaması, teknik ve kültürel uygulamalarda tarımsal mekanizasyonun kullanılmasına imkan sağlaması, iş gücü ve maliyet girdilerini oldukça düşürmesi bakımından önem kazanmaktadır (Kopuzoğlu ve Şen, 1991; Lagerstedt, 1975).

Corylus colurna L’nin anaç olarak kullanıldığı araştırmalar, *Corylus avellana* L.’ye kıyasla daha avantajlı özellikler ortaya koymuşlardır (Cerović vd., 2007; Maurer, 1975; Lagerstedt, 1981).

1.1 Fındığın Morfolojik Özellikleri

Türkiye’deki fındık kültür çeşitleri çoğunlukla 3- 4 m’ ye kadar ulaşan çalı formunda olmakla birlikte batı ülkeleri ile ABD’de uygulanan tek gövdeli yetiştiricilikte ağaçlar 4-6 m’ye kadar boylanabilmektedir (Mehlenbacher, 1991).

Fındık çeşitleri arasında ağacın kuvveti, büyüme şekli, dip sürgünü oluşturma eğilimi yönünden önemli farklılıklar vardır. Türk fındık çeşitleri arasında Çakıldak, Kargalak, Kan, İncekara ve Kuş çeşitlerinde zayıf, Giresun Tombul Fındık, Palaz, Foşa, Kalınkara, Uzunmusa, Sivri ve Yuvarlak Badem çeşitleri orta düzeyde kuvvetli, Mincane, Cavcava, Acı ve Yassı Badem çeşitleri ise kuvvetli bir gelişme göstermektedir (Çalışkan, 1995).

Fındık yaprakları iri, yuvarlak veya hafif uzunca, sap tarafı yürek biçiminde, kenarları testere dişi ve yer yer derin dişli, üst yüzü buruşuk, alt yüzü hafif seyrek türlü ve kısa saplıdır (Özbek, 1978; Mehlenbacher, 1991).

Sonbaharda büyümeye başlayan erkek çiçekler 6-7 cm uzunluğunda püskül gibi sarkık silindirik başaklar halindedir. Kedi kuyruğuna benzedikleri için “kedicik” olarak adlandırılmaktadır. Dişi çiçekler çoğunlukla bir tepe tomurcuğu ya da yan tomurcuk içerisinde yer alır (Özbek, 1978).

Meyvenin mat kısmı fındığın hemen hemen yarı boyuna ulaşır ki bu özellik Türk Fındığı için karakteristiktir (Yaltırık vd., 2000)

Türk fındığını ülkemizde yetişen diğer fındıklardan ayıran özelliklerinden biri de tohumlarının epigeik çimlenme özelliğine sahip oluşu ve involukrum (meyve örtüsü) şekli ve sulu oluşudur (Erdoğan ve Mehlenbacher 2002).

Corylus colurna L. çeşitlerinde zuruf uzunluğu Cavcava, Kan ve Sivri de meyve boyunun 1-1,5 katı Palaz, Foşa, Mincane, Çakıldak ve Avcı da meyve uzunluğunun 1,5-2 katı Giresun Tombul Fındık, Kalınkara, Kargalak, İncekara, Kuş, Yassı Badem ve Yuvarlak Badem de 2-2,5 katı arasında değişir (Ayfer vd. 1986; Çalışkan, 1995).

1.2 Fındığın Biyolojik Özellikleri

Fındıklar, diklin (iki evcikli) meyve türleridir. Başka bir deyişle, erkek ve dişi çiçekler aynı ağaç üzerinde fakat farklı yerlerde bulunur. Tozlanma, rüzgar ile sağlanır. Fındıklarda bol çiçek tozu oluşumu ve stigma yapısı böyle bir tozlanma şeklini kolaylaştırmaktadır (Hagerup, 1942; Romisondo, 1977; Özbek, 1978; Dimoulas, 1979; Thompson, 1979).

Ayfer vd. (1986), Türk fındık çeşitlerini protogeni-homogam olarak nitelendirmiştir.

1.3 Fındığın Ekolojik Özellikleri

Genel olarak don tehlikesinin nadir olduğu, ortalama kış sıcaklıklarının $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ altına düşmediği, en yüksek yaz sıcaklık değerinin $36-37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve yıllık ortalama sıcaklığın $13-16\text{ }^{\circ}\text{C}$ olduğu Haziran ve Temmuz aylarında %60 nispi nem, 775 mm'den daha fazla yıllık yağış miktarına sahip yüksekliği 600 m'yi geçmeyen bölgeler fındık tarımı için uygundur. Fındık ağacının gövdesi, dinlenme döneminde $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ile $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ düşük sıcaklıklara dayanabilmekle birlikte gelişmenin başlaması ile birlikte bu dayanıklılık çok azalmaktadır. Kış sonlarına doğru ağaçların dinlenmeden çıkmalarından sonra fındık ağaçlarının toprak yüzeyine kadar dondukları görülmüştür (Özbek, 1978).

Fındıklar, derin, verimli, drenajı iyi ve pH düzeyi 6,0 ile 7,5 arasında olan topraklarda iyi bir şekilde yetiştirilebilmektedir. Uygun toprak tipleri ise tınlı-humuslu, killi kumlu ve organik maddece zengin topraklar sayılabilir (Köksal, 2002).

Çakırmelikoğlu ve Kaya (1993)' ya göre yaprak tomurcuklarının soğuklama süresi Tombul, Sivri, Palaz ve Foşa çeşitlerinde 350-550 saat, Uzunmusa'da 600-900 saat, Çakıldak'ta 750-1050 saattir.

1.4 Kambiyal Aktivite Özellikleri

Gövde enine kesiti öz, odun ve kabuk olarak 3 kısma ayrılır. Odun ve kabuk arasında yalnız mikroskopla görülebilen kambiyum denilen bir doku vardır. Bu doku iç tarafa doğru odunu, dış tarafa doğru ise kabuğu oluşturur. Kabuk, kambiyumdan itibaren dışa doğru yerleşmiş bazı dokuların birleşmesinden meydana gelmiştir. Genç gövdelerde bu dokular dışa doğru sekonder floem, primer floem, korteks ve epidermis'dir. Yaşın ilerlemesi ile kabuk sekonder floem ve periderm'den oluşur. Kabukta yer alan bu farklılık gövde çapının büyümesi ile meydana gelmektedir. Başlangıçta periderm, epidermisin yerine geçmek üzere kortekste teşekkül eder. Bu peridermin koruyucu görevi, çap artımı ilerledikçe artan iç basınca dayanamaz ve kırılmaya başlar. Aynı zamanda yeni periderm altta oluşmaya başlar. Bu süreç ağacın ömrü boyunca devam eder ve periyodik olarak yeni peridermler oluşur. Periderm; fellem, fellogen ve felloderm olmak üzere 3 tabakadan meydana gelir. Orta tabaka olan

fellojen, gövdenin merkezine doğru fellderm hücrelerini ve gövdenin dış tarafı istikametinde fellem hücrelerini üretir. Peridermdeki fellem hücreleri oluştuktan kısa bir süre sonra canlılıklarını kaybeder ve fellojen tabakası faaliyetini durdurur (Tsoumis, 1968).

Kambiyum aktivitesinin süresi, ağaçtaki bir "pencerenin" çevresel sinyalleri doğrudan almak ve "arşivlemek" için açık olduğu zamandır. Yılın geri kalanında, çevresel etkiler sadece dolaylı olarak kök büyümesi üzerinde etkili olabilir. Kambiyum, tüm ağaç çevresinde sürekli bir meristematik doku oluşturur ve dallar ve köklerin uçlarında procambium yoluyla apikal meristemlere kadar uzanır. Kambiyumun doğası sadece 1850'den beri bilinmektedir (Schweingruber, 1988).

Kambiyal aktivitenin, fitohormonlar, DNA bağlayıcı proteinler, monolignoller, besinler, mineraller, basınç, sıcaklık ve su potansiyeli gradyanları gibi içsel ve dışsal faktörler arasındaki bir etkileşim kompleksine bağlı olduğu bilinmektedir (Savidge, 1996).

Bu çalışmanın temel amacı Bolu yöresinde yetişen *Corylus colurna* L. 'nin kambiyal aktivite sürecini izlemek ayrıca iPBS markörlerini kullanarak farklı bölgelerden alınan *Corylus colurna* L. ve *Corylus avellana* L. yaprak örnekleri ile birlikte fındık populasyonları arasındaki genetik yakınlılığı ve DNA polimorfizimini ortaya çıkarmak amacıyla yürütülmüştür.

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Erdoğan ve Mehlenbacher (2000), DNA analizlerine göre, fındık türlerini avellana grubu, cornuta grubu ve colurna grubu olmak üzere 3 gruba ayırmıştır.

Bulgaristan'da yapılan bir çalışmada; Türk fındığının yayılışı, ekolojisi ve biyolojik özellikleri araştırılmış ve 100-1400 m rakımlar arasında yayılış gösterdiği belirlenmiştir. Yıllık en az 500 mm yağış ve yıllık ortalama 5-13°C arasında değişen sıcaklığa ihtiyaç duymaktadır. Toprak isteği az (ılımlı), ışık isteği yüksek olan bir türdür. İyi yetiştirme ortamlarında boy ve çap gelişmesinin kayına yakın olduğu, karstik ve erozyona uğramış arazilerin ağaçlandırılmasında dikkate değer olduğu belirtilmektedir (Palashev and Nikolov 1979).

Yılmaz (1998), fındığın toprak isteği bakımından fazla seçici olmadığını belirtirken, (Polat, 2014) ışık isteğinin yüksek olduğunu, iyi yetiştirme ortamlarında boy ve çap gelişmesinin kayına yakın olduğu, karstik ve erozyona uğramış arazilerin ağaçlandırılmasında dikkate değer olduğu vurgulanmıştır.

Ghimessy (1980)'e göre Macaristan'da Türk fındığı kıymetli rezerv ağaç türü olarak görülmekte ve hızlı gelişen tür olarak değerlendirilmektedir. Verim gücü düşük tarım arazilerinin ağaçlandırılması ve özellikle kurak yerlerin rehabilite edilmesi için uygun olduğu belirtilmiştir. Asıl değerini kaliteli kerestesi, meyveleri ve süs bitkisi oluşu teşkil etmektedir. Ayrıca 250 olgun ağaçtan yılda maksimum 10 ton fındık elde edilebileceğine vurgu yapılmıştır.

Başka bir çalışmada Jy (1984), Türk fındığının uzun süreli sıcaklık ve kuraklığa, zararlı gaz emisyonlarına toleranslı olduğunu -20 °C gibi düşük sıcaklıklara dayanabildiği ifade etmiştir.

Bobrikov (1979)'a göre Güney doğu Rusya'nın Krasnodar bölgesinde türün saf ve ayrıca, *Juglans regia* L. ve *Castanea sativa* Miller ile karışık plantasyonlar kurulmuş; tohum, fidanlık tekniği, ekim ve plantasyon performansı konusunda detaylı araştırmalar yapılmıştır. Çalışma sonucunda, Türk Fındığı'nın yüksek kalitede odun ürünü (mobilyacılığa uygun) verdiği tespit edilmiştir.

Köksal (2002)'ın bildirdiğine göre Hummer vd. (1986), yabancı fındık çeşitleri üzerinde yaptığı çalışmada 18 tür ile 13 çeşidin soğuğa adaptasyonu, kış soğuklarına dayanımı ve soğuğa uyumsuzluklarını incelemiştir. Çalışma sonucunda türler içerisinde *Corylus heterophylla* soğuğa en dayanıklı tür olmuş, fakat Şubat ayı sonuna doğru soğuğa dayanımını hızla kaybetmiştir. Gövde dokusunun soğuğa dayanıklılığı ise sırasıyla korteks > kambiyum > ksilem > öz şeklinde olmuştur.

Larson (1994)'a göre dağınık gözenekli ağaçlarda yapraklar tamamen geliştiğinde ilk damarlar oluşturulurken, halka gözenekli ağaçlarda ilk damarlar tomurcuk kırılmasından 2-6 hafta önce oluşmaktadır.

Korac vd, (1997), uzun yıllar yaşayabilen *Corylus colurna* L. 'nin çok kuvvetli olduğunu, çok gelişmiş bir kök sistemine sahip olması ve fındık çeşitleriyle uyumunun çok iyi olması nedeni ile önemli bir anaç olduğunu ifade etmektedirler.

2.1 iPBS Markör Sistemi ve Fındık Bitkisi Üzerinde Yapılmış Moleküler Çalışmalar

Retrotranspozonlar tekrar eden ve hareket eden DNA parçaları olup ökaryot canlıların genomunda yer alan iki büyük transpozon grubundan (Sınıf I ve Sınıf II) birisidir. Transpozonlar, bir hücrenin genomunda bir konumdan farklı bir konuma taşınarak hareket edebilen DNA dizileridir. Transpozonlar böylece, mutasyonlara ve genomdaki DNA miktarının değişmesine ve gen ekspresyonunun değişmesine neden olurlar (Zemojtel vd., 2009). Retrotranspozonlar (veya Sınıf I transpozonlar) bir RNA ara ürünü aracılığıyla kendilerini kopyalayarak hareket ederler ve genomun başka bir konumuna yerleşirler. DNA transpozonları (Sınıf II transpozonlar) ise bir RNA ara ürünü kullanmazlar ve buldukları konumdan kesilip taşınarak genomun başka bir konumuna yerleşirler. Kısaca retrotranspozonlar kopyala yapıştır, DNA transpozonlar ise kes yapıştır mekanizmasına sahiptirler. Retrotranspozonlar bu istilacı özellikleri ile genom içerisindeki kopya sayılarını artırır. Fakat retrotranspozonlar her ne kadar istilacı özelliklere sahip olsalar da bu özellikleri hücre içerisinde çeşitli kontrol basamakları ile denetim altına alınmaktadır. Retrotranspozonların taşınma mekanizması genetik çeşitliliğe sebep olmaktadır.

Retrotranspozonlar; uzun terminal doğrudan tekrarlar (LTRs) olarak karakterize edilen LTR TEs, ve LTR olmayan ve DIRS, PLE, LINE ve SINE olarak isimlendirilen beş takım altında toplanırlar (Wicker ve Keller, 2007).

Retrotranspozonlar hareketli genetik elemanlardır ve genomun fiziksel boyutuna katkı sağlarlar. İncelenen canlıların genomlarında önemli miktarda buldukları hatta omurgalılar ve bitkilerin genomlarının yarısından fazlasını transpozon kökenli yapılardan meydana geldiği tespit edilmiştir (Morse vd., 2009).

Son yıllarda, Kalendar vd. (2010), yeni bir PCR tabanlı metod tanımlamışlardır. Bu yöntem hemen her türlü organizmada LTR transpozonlarını izole edebilmekte ve kendi başına evrensel markör sistemi olarak hizmet edebilmektedir. iPBS (primer arası bağlanma yeri) metodu LTR retrotranspozonlarda ters transkriptaz primer bağlanma bölgeleri arasının çoğaltılmasına dayalıdır. Korunmuş protein kodlama bölgelerine dayalı retrotranspozonların izolasyon yöntemlerinden farklı olarak, iPBS primerleri genomdaki retrotranspozon bölgeleri için direkt olarak polimorfizm gösterirler.

iPBS hem bitkiler hem de diğer canlılarda polimorfizmin gözlemlenebileceği tek retrotranspozon tabanlı markör sistemidir. Bununla birlikte bir türde çalışan transpozon markör sistemlerinin çoğu, diğer türler için yararlı olmayabilir. Ancak, Kalendar vd. (2010) tarafından geliştirilen iPBS markörleri “evrensel retrotranspozon markörler” olarak adlandırılır ve tüm ökaryot türlerinde kullanılabilir. Genel uygulanabilirlikleri, uygulanmalarının basit olması ve genotip çözünürlükleri nedeniyle değişik retrotranspozon markör sistemleri, çok sayıdaki evrimsel ve genetik çeşitlilik çalışmalarında yaygın olarak kullanılmıştır (Feschotte vd., 2002; Kalendar ve Schulman, 2006; Schulman vd., 2004).

Ülkemizde fındık çeşitlerinin moleküler düzeyde tanımlanması konusunda ilk çalışma Demir (2004) tarafından yapılmıştır.

Demir (2004), Türk fındık çeşitlerinin pomolojik özelliklerini inceleyerek RAPD markörleri ile çeşit ve klonlar moleküler düzeyde tanımlamıştır. Türk fındık çeşitleri üzerinde yapılan çalışmada çeşitler arasındaki benzerlik ilişkileri ve çeşit içi farklılıklar belirlenmiştir. Çakıldak fındık çeşidinde farklı klonlarda, meyve ağırlığı

1,67-2,20 g, iç ağırlığı 0,93-1,17 g, iç oranı %47,58-55,88, sağlam iç oranı %70-98, boş meyve oranı %0-%28, kabuk kalınlığı 0,76-0,95 mm, çotanaktaki meyve sayısı 2,66-4,58 olarak belirlenmiştir.

Ghanbari vd. (2004), İran'ın (Karaj) SPII Bahçe Araştırma Koleksiyonunda 23 farklı fındık genotip örneklerini incelemiştir. Toplam 16 genotipin 7'sinin uluslararası çeşitler olduğu belirtilmiştir. DNA, boya floresans etkili primerler kullanılarak, amplifiye edilmiş ve polimorfizm, yarı otomatikleştirilmiş ABI-PRISM 377 dizici kullanılarak tespit edilmiştir. Heterozigoti seviyesinin 0,59 ile 0,86 arasında lokal allel sayısının ise 6 'dan 12'ye değişmiş olduğu belirtilmiştir. Üç ana küme halinde dendrogram genotiplere bölünmüş, 10 tanesi aynı grup içerisinde yer almış ve 5 tanesi genetik olarak benzer özellik göstermiştir.

Gökırmak vd. (2009), *Corylus avellana* L. türüne ait değişik coğrafik bölgelerde yayılım gösteren 270 adet klonun genetik profillerini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada 21 SSR primerini kullanmışlardır. Farklı genetik profil gösteren 198 klonda lokus başına ortalama allel sayısının 9,81, heterozigotluk oranının 0,67 olduğu belirtilmiştir.

Kafkas vd. (2009) 18 Türk (*Corylus avellana* L.) fındığı arasındaki genetik ilişkileri incelemek amacıyla RAPD, ISSR ve AFLP yöntemlerini kullanarak moleküler çalışmalar yapmışlardır. Yapılan çalışmada 25 RAPD primeri, 25 ISSR primeri ve 8 AFLP primeri kullanılarak 434 polimorfik bant elde edilmiştir. Genetik benzerlik değerleri 'Yassı Badem' ve 'Kalınkara' arasında 0,73 gibi düşük, 'Kan' ve 'Uzun Musa' arasında 0,96 gibi yüksek bir değer olduğu belirlenmiştir.

Ferreira vd. (2010)'a göre İspanya'da yapmış oldukları bir çalışmada 11 ISSR primeri kullanarak 66 polimorfik bant elde etmişlerdir. Genotipler arasında UPGMA dendrogramında 2 ana grup oluşmuş olup, fındık genotipleri arasındaki genetik benzerliği belirlemede ISSR yönteminin oldukça faydalı olabileceği rapor edilmiştir.

Erdoğan vd. (2010)'a göre Türk fındık çeşitlerinin aralarında genetik ilişkilerin karakterizasyonu RAPD yöntemi ile tespit edilmiş, 43 dekameri primerleri kullanılarak 241 net ve tekrarlanabilir bantların oluştuğu belirlenmiştir. Polimorfizminin oranı 0,47 - 0,94 arasında değişmiştir. Sonuçlarda belirtilen Tombul

ve farklı seçilen klonlar, Karadeniz bölgesinde yetişen ancak benzer görünümde küçük farklılıklar gösteren bir grup klona verilen ticari bir isim olduğu anlaşılmıştır.

Campa vd. (2011), İspanya’da yapmış oldukları çalışmada yabani ve kültürel fındık genotipleri arasındaki genetik çeşitliliği belirlemek için SSR yöntemini kullanarak genetik benzerliğin 0,43 – 0,83 arasında değişkenlik gösterdiğini ve ortalama oranın 0,69 olduğunu bildirmişlerdir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu araştırma, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde 2017-2019 yılları arasında yürütülmüştür. Çalışmada kambiyal aktivitenin incelemesi için Bolu Güney Felakettin köyünde tek bir *Corylus colurna* L. ağacı belirlenmiştir. Moleküler karakterizasyon çalışması için Bolu Park Bahçeler Müdürlüğünde bulunan *Corylus colurna* L. ve Bolu/ Merkez Paşaköy mahallesinde bir fındık bahçesinde bulunan *Corylus avellana* L. çeşitleri kullanılmıştır.

3.1.1 Bolu İli İklim Verileri

Çizelge 3.1. Bolu ili 2019 yılı aylık açık günlerin sayısı

Aylık Açık Günlerin Sayısı	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos
2019	3	3	9	15	10

Çizelge 3.2. Bolu ili 2019 yılı aylık bulutlu günlerin sayısı

Aylık Bulutlu Günlerin Sayısı	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos
2019	20	26	27	19	13

Çizelge 3.3. Bolu ili 2019 yılı günlük ortalama sıcaklık değerleri (°C)

Gün / Ay	1-5	6-10	11-15	16-20	21-25	26-30
Nisan	5,5	10,9	9,1	4,2	6,7	13,4
Mayıs	13,2	10,8	14,1	16,2	15,9	19,1
Haziran	18,0	18,3	18,3	17,1	19,2	19,2
Temmuz	20,0	20,3	15,3	17,3	18,5	20,7
Ağustos	19,7	18,8	21,4	17,4	20,0	19,3

Çizelge 3.4. Bolu ili 1929-2018 yılları arası ortalama sıcaklık değerleri (°C)

Tarih/ Ay	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos
1929-2018	9,6	14,1	17,4	19,8	16,1

Çizelge 3.5. Bolu ili 2019 yılı günlük ortalama nispi nem miktarları (%)

Gün / Ay	1-5	6-10	11-15	16-20	21-25	26-30
Nisan	77,3	65,9	80,7	76,6	68,4	59,0
Mayıs	61,5	77,3	68,1	75,2	79,2	63,3
Haziran	80,3	78,6	81,5	91,0	80,4	73,3
Temmuz	68,2	63,9	81,2	83,1	71,1	72,0
Ağustos	71,9	64,2	66,4	81,2	77,9	73,1

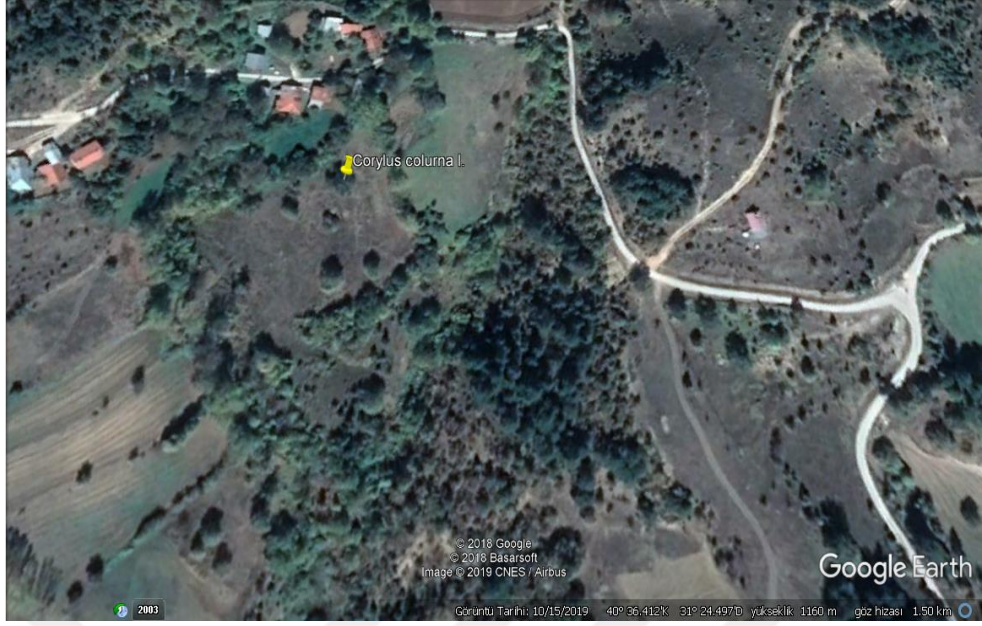
3.2 Yöntem

3.2.1 Kambiyal Aktivitenin İncelenmesi

Bolu ili Merkez ilçe Güney Felakettin köyünde belirlenen tek bir *Corylus colurna* L. ağacından 2019 Nisan – 2019 Ağustos ayları arasında Nisan ayında her 15 günde bir, Mayıs, Haziran, Temmuz, Ağustos aylarında her 20 günde bir genç sürgünlerden örnekler alınarak kambiyal aktivite incelenmiştir (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.6. *Corylus colurna* L'nin kambiyal aktivite izleme dönemleri

Dönem	Aylar	Tarih
1	Nisan	08.04.2019
2		23.04.2019
3	Mayıs	08.05.2019
4		28.05.2019
5	Haziran	17.06.2019
6	Temmuz	07.07.2019
7		27.07.2019
8	Ağustos	16.08.2019



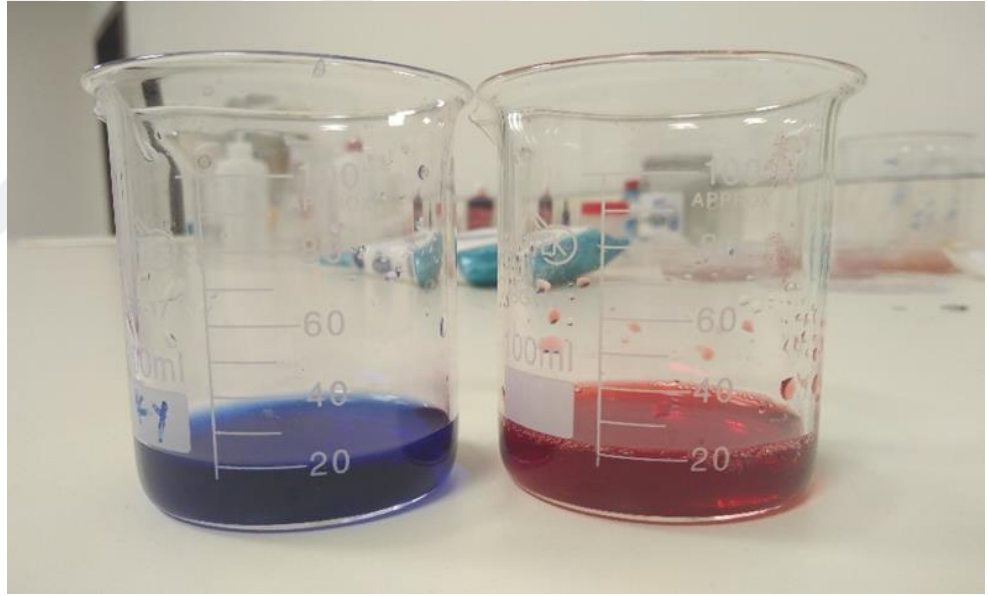
Şekil 3.1. *Corylus colurna* L. ağacının lokasyonu



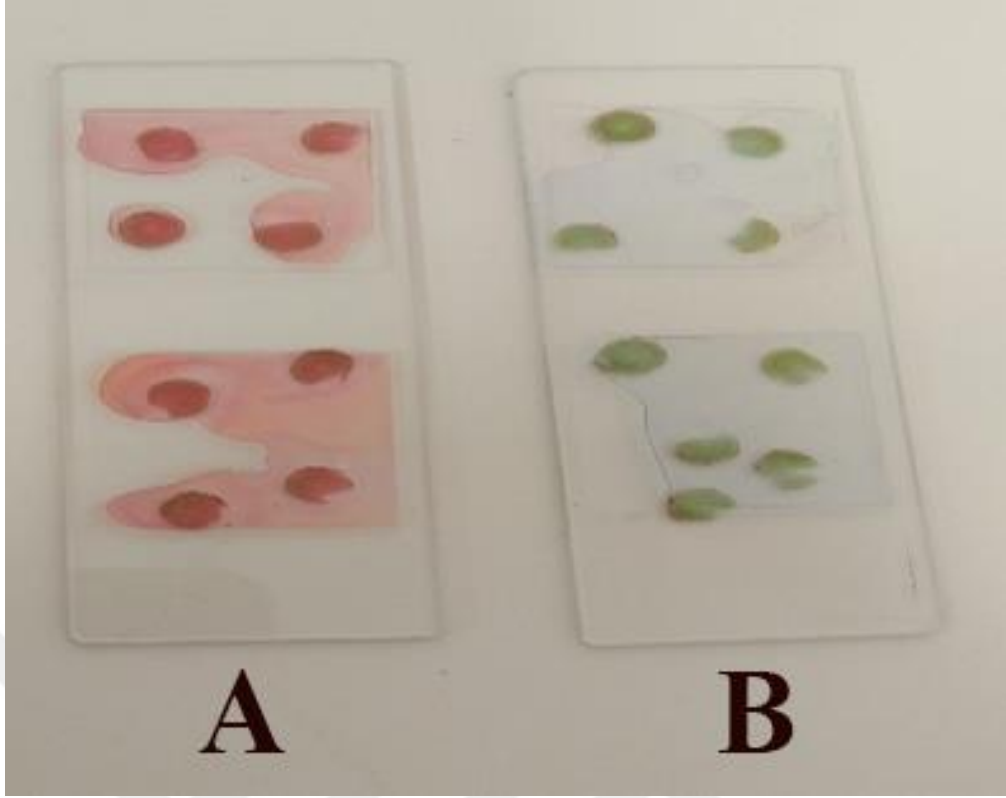
Şekil 3.2. *Corylus colurna* L. ağacının genel görünümü

3.2.2 Örneklerden Kesit Alınması ve İncelenmesi

Her dönemde genç sürgünlerden alınan örnekler aynı gün içerisinde laboratuvar ortamında jilet kullanılarak kesit alınmıştır. Her çalışmada 4 adet lam ve her lamda 2 adet lamel kullanılmıştır. Dokuların boyanması için 100 ml'lik iki behere ayrı ayrı metilen mavisi ve safraninden oluşan çözeltiler 20 ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Pipet yardımıyla alınan safranin ve metilen mavisi kesitlerinin üzerine damlatılarak lamel ile kapatılmıştır. Alınan kesitlere boyanın etki etmesi için 2 dk bekletilmiştir. 2 dk bekletildikten sonra mikroskop altında incelenmiştir. Her dönemde mikroskop altında incelenen kesitler ölçüm sırasında kambiyum genişliği, ksilem genişliği, floem genişliği, yeni ksilem oluşumu, demet ışınlarının uzunluğu, trake eni ve trake boyunun genişliği, taş hücrelerinin genişliği, yeni mantar dokunun oluşumu μm cinsinden ölçülmüştür.



Şekil 3.3. Dokuların boyanması için çözeltilerin hazırlanması.



Şekil 3.4. Mikroskopta görüntülenmek üzere hazırlanan kesitler (A: Safraninle boyanmış, B: Metilen Mavisi ile boyanmış).

3.2.3 Moleküler Karakterizasyon

3.2.3.1 Genotiplerin DNA izolasyonu

Yaprak örnekleri; alındığı steril 50 ml'lik falkon tüplerde etiketlenmiş bir şekilde buz kutuları içerisinde muhafaza edilerek laboratuvara getirilmiştir. Getirilen her bir örnek DNA izolasyonu için sıvı azot altında havan havaneli yardımı ile ezilerek 100'er miligram olacak şekilde 2 ml'lik ependorf tüpler içerisine konularak üzerine DArT DNA izolasyon (<https://www.diversityarrays.com>) yönteminde belirtilen, "fresh buffer" modifiye edilerek 1 ml eklenmiştir. Buffer hazırlığı aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.7. Çalışmada kullanılan ekstraksiyon buffer içeriği

Fresh Buffer	<u>120 ml</u>
Tris HCl pH 8.0ml	15
EDTA pH 8.0 ml	5,5
5M NaCl ml	20
Sorbitol g	3,19
CTAB g	1
Sarcosyl g	1
PVP-40 g	2,4
Sodium disulfite g	0,6

Bidestile su ile 120 ml'ye tamamlanmıştır.

Hazırlanan fresh bufferdan 750 µl alınarak 2 mL'lik steril eppendorf tüplere konulup, 65 °C'de her bir 20 dakikada bir hafifçe karıştırarak 1 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Bu inkübasyondan sonra tüplerdeki ürün homojenizatörden geçirilerek, örnekler oda sıcaklığına soğutulup üzerlerine 1 ml olacak şekilde chloroform: isoamyl alcohol (24:1) karışımı eklenmiş ve 30 dakika boyunca hafifçe ters düz edilerek karıştırılmıştır. Bu sürenin sonunda +4 °C'de 30 dakika süre ile 13,000 rpm'de santrifüje tabi tutulmuş ve elde edilen üst sıvıdan 500 µl alınarak DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, USA) kolonuna yüklenmiştir. Bu aşamadan sonra kit prosedürleri takip edilerek 100 µl elution buffer ile DNA çöktürülmüştür. Basamaklar sırasıyla;

- 500 µl üst sıvı DNeasy Mini spin kolonuna yüklenerek, kolon 2 ml lik bir ependorf tüpüne yerleştirilerek 1 dakika 6000 x g (8000 rpm)'de santrifüj edilmiştir.
- Kolon yeni bir ependorf tüpüne yerleştirilerek üzerine 750 µl AW1 Buffer'ı eklenmiş ve tekrar 1 dakika 6000 x g (8000 rpm)'de santrifüj edilmiştir.
- Ependorf tüpte toplanan sıvı atılarak kolona 500 µl AW2 Buffer'ı eklenmiş ve 1 dakika 6000 x g (8000 rpm)'de santrifüj edilmiştir.
- Ependorf tüpte toplanan sıvı atılarak kolona tekrardan üzerine 500 µl AW2 Buffer'ı eklenmiş ve 2 dakika 20000 x g'de santrifüj edilmiştir.
- Kolon yeni bir 1,5 ml'lik ependorf tüpüne yerleştirilerek üzerine 100 µl Elution-AE Buffer eklenerek 5 dakika oda sıcaklığında bekletildik

sonra 1 dakika 6000 x g (8000 rpm)'de santrifüj edilerek DNA çökertilmiştir.

Elde edilen DNA, DS-11 FX Serisi Spectrophotometer (Denovix Inc., USA) ile ölçülerek steril bi destile su ile 50 ng/μl'ye seyreltilmiştir.

3.2.3.2 DNA Moleküler Marker çalışmaları

Çalışmalarda, Kalendar ve ark. (2010) tarafından üretilen ve evrensel olarak belirtilen iPBS retrotransposons DNA moleküler markörleri kullanılmıştır (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8. Çalışmada kullanılan iPBS markörlerine ait bilgiler.

Primer	Primer sekansı (5'-3')	T (°C)	GC(%)	TB	PB	PPB (%)
iPBS-2295	AGAACGGCTCTGATACCA	55,0	50,0	16	11	68,75
iPBS-2395	TCCCCAGCGGAGTCGCCA	53	72,2	27	24	88,89
iPBS-2378	GGTCCTCATCCA	44,2	58,3	9	4	44,44
iPBS-2081	GCAACGGCGCCA	56,5	75,0	19	15	78,95
iPBS-2415	CATCGTAGGTGGGCGCCA	62,5	66,7	14	11	78,57
Toplam				85	65	
Ortalama						76,47

T (°C) annealing sıcaklığı; TB toplam bant sayısı; PB polimorfik bant sayısı; PPB (%) polimorfik bant yüzdesi

iPBS retrotranspozons PCR çalışmaları; Dream Taq DNA polymerase buffer (Fermentas) 10x, 2 mM dNTPs, 0,8 nM primer, 1,75 unite Dream Taq DNA polymerase (Fermentas) ve 50 ng DNA kullanılarak hazırlanan mixlerle gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonu ise

95°C'de 4 dakika ilk denetürasyon

95°C'de 15 saniye denatürasyon

50-65°C'de 1 dakika bağlanma

68°C'de 1 dakika uzama

72°C'de 5 dakika son uzama safhası olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

} 30 döngü

iPBS markörleri ile elde edilen tüm bantlar, ikili veri matrisinin oluşturulması için pozisyonlarına göre mevcut (1) veya yok (0) olarak skorlanmıştır. Her bir primer-örnek kombinasyonu, en az iki farklı PCR amplifikasyonu ile tekrarlanmış ve sadece tekrarlanabilir bantlar değerlendirilmeye tabi tutulmuştur. iPBS markörlerinin izolatların genetik profillerini analiz etmedeki performansları her bir markör için Rolden-Ruiz vd. (2000)'in önerdiği Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC) ve Prevost ve Wilkinson (1999)'nın önerdiği Ayırma Gücü (RP) verileri hesaplanarak değerlendirilmiştir.

Markörlerden elde edilen veri matrisi, NTSYS-PC versiyon 2.02 programı (Rohlf 2000) ile Jaccard'ın benzerlik katsayısı kullanılarak genetik benzerlik matrisine çevrilmiştir. Benzerlik matrisi ağırlıklı olmayan aritmetik ortalama eş grup metodu (UPGMA) yardımıyla kümeleme analizi yapılarak dendrogram elde edilmiş ve izolatlar arasındaki genetik akrabalık değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.9. Çalışmada kullanılan *Corylus colurna* L.izolatların kısaltılmış halleri

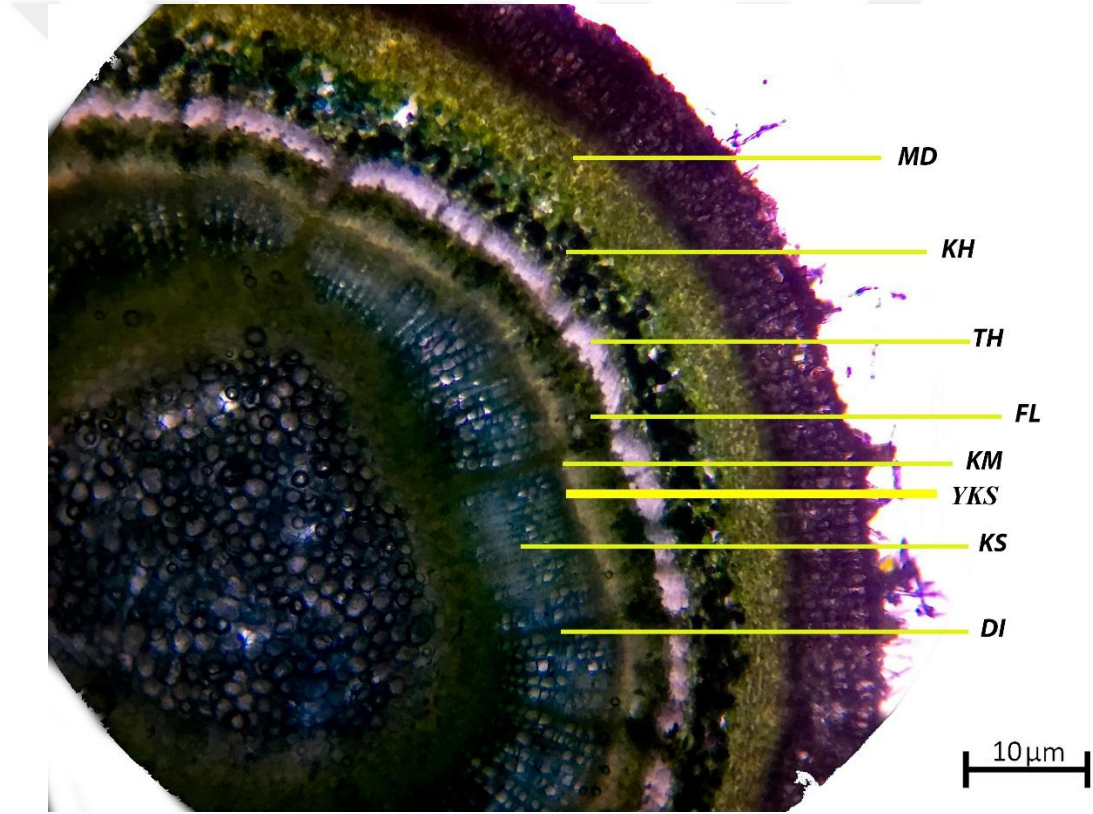
İzolatlar	Kısaltılmış Halleri
Kastamonu Pınarbaşı Pın 3-13	K-Pınarbaşı
Bolu Merkezler M11-21	B-Merkezler
Bolu Merkezler M4	B-Merkezler 2
Çorum Oğuzlar OK6-1	Ç-Oğuzlar
Kastamonu Pınarbaşı Pın 1-14	K-Pınarbaşı 2
Kastamonu Pınarbaşı Pın 3-3	K-Pınarbaşı 3
Bolu Pelitçik P7XY-14	B-Pelitçik
Ankara Nallıhan Erenler ERY3	A-Nallıhan
Bolu Pelitçik P7XY-8	B-Pelitçik 2
Bolu Seben S6X-4	B-Seben
Bolu Muratlar K5-YK1	B-Muratlar
Bolu Güney Felakettin GF5-14	B-Güney F
Bolu Muratlar K4-2	B-Muratlar 2
Bolu Güney Felakettin GF8-4	B-Güney F.2
Bolu Seben S8X-14	B-Seben 2
Bolu Seben S1-18	B-Seben 3
Bolu Pelitçik P2-7	B-Pelitçik 3
Bolu Merkezler M1-1	B-Merkezler 3
Bolu Güney Felakettin GFM-1	B-Güney F.3

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Kambiyal Aktivite

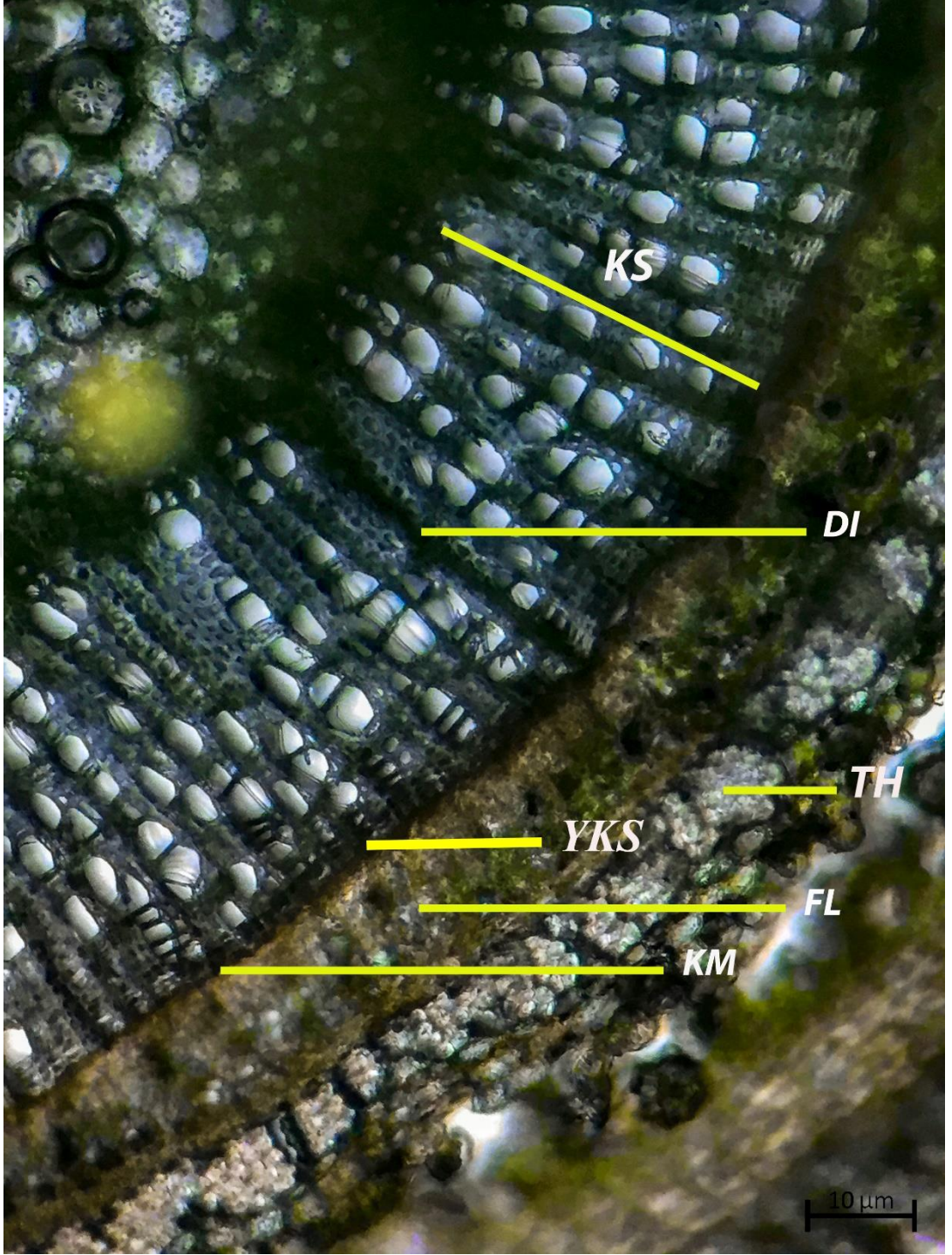
Corylus colurna L. sürgünlerinden alınan kesitler mikroskop altında incelendikten sonra yıllık halkaların oluşum süreci izlenilmiştir. Örneklerden alınan kesitler her dönem için farklılık göstermektedir.

Yapılan ölçümlerde 1'inci dönemde (08.04.2019) *Corylus colurna* L. sürgünlerinde yıllık halkaların oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.1).

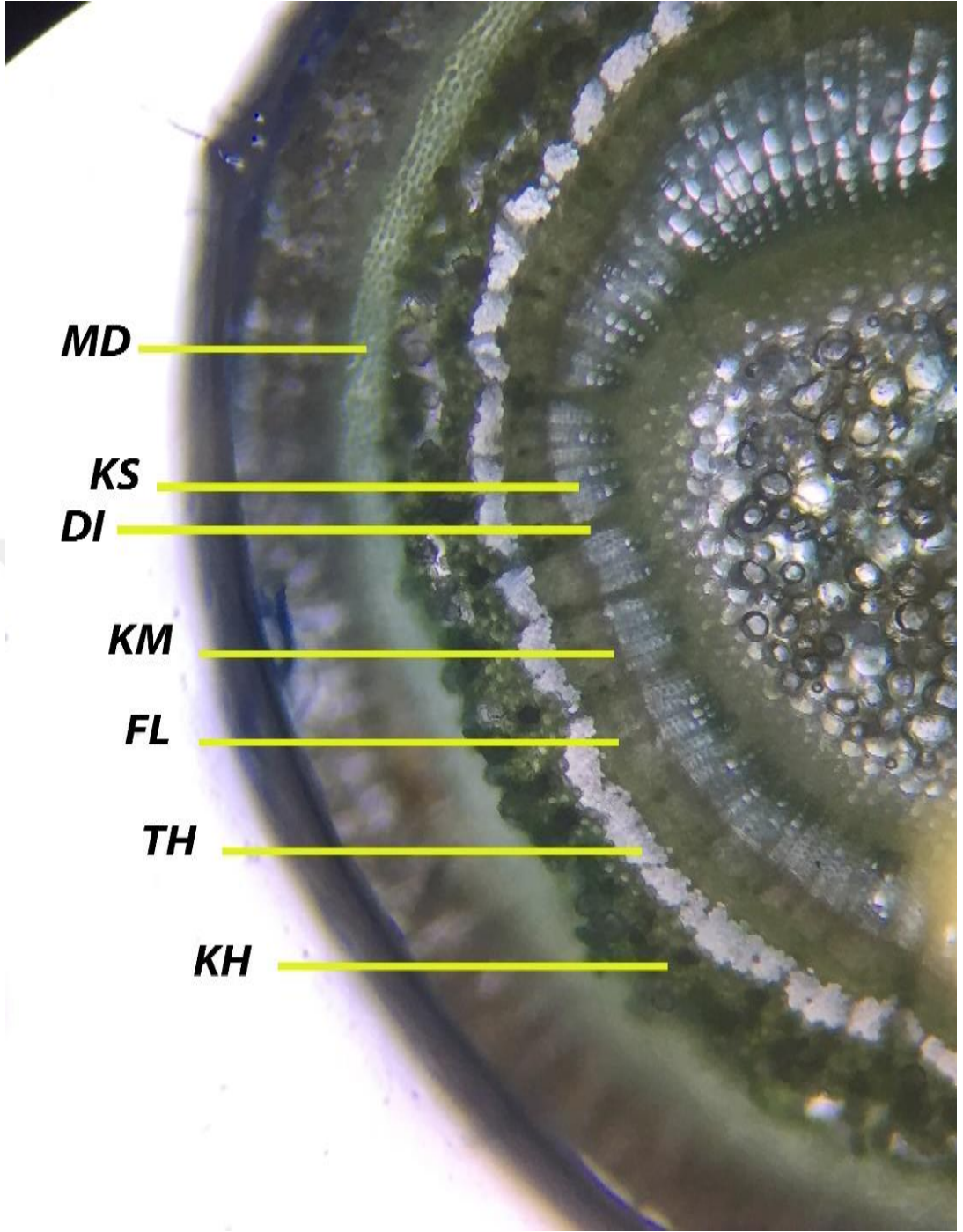


Şekil 4.1. 1'inci dönemde *Corylus colurna* L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).

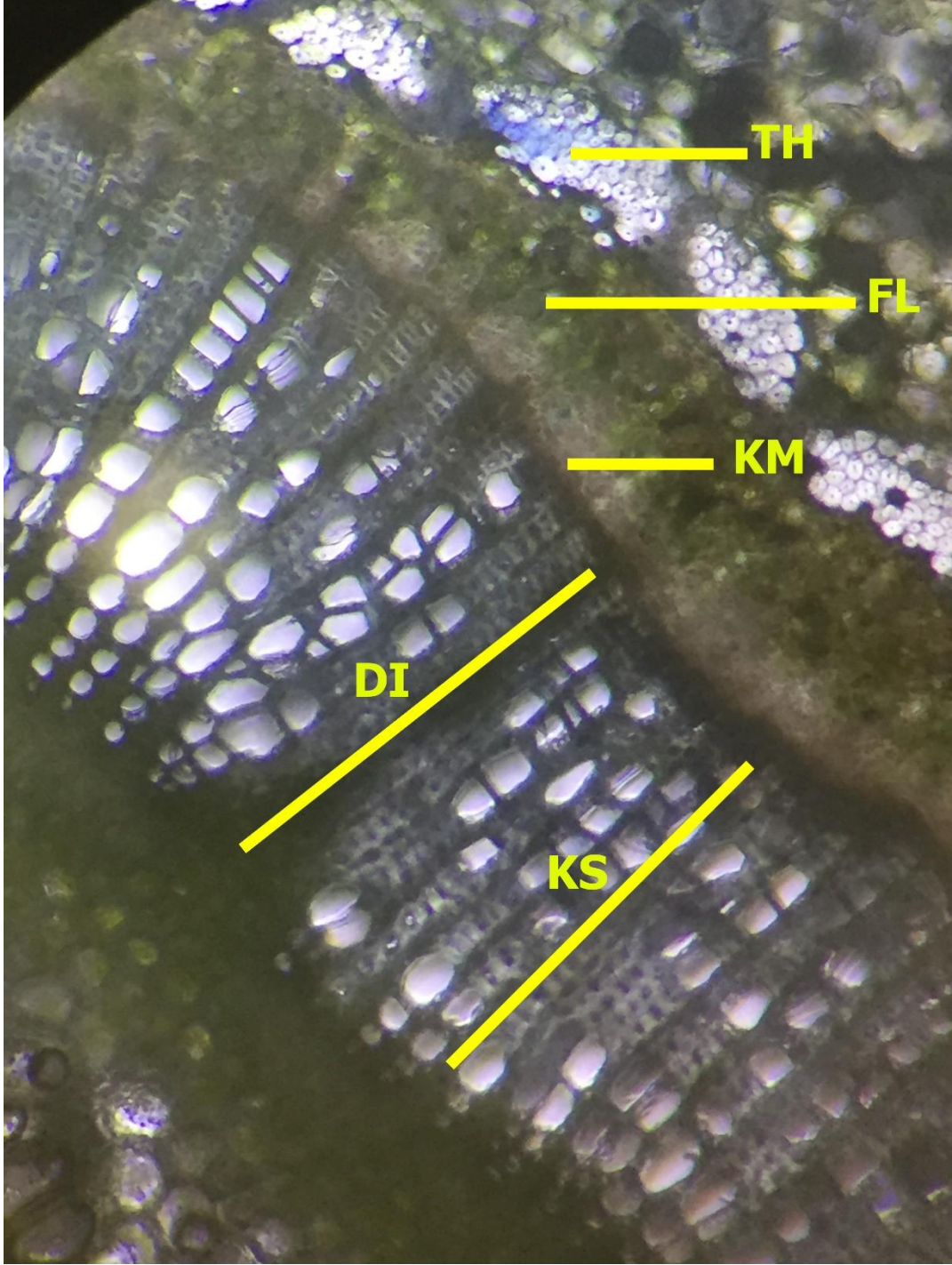
Yapılan ölçümlerde 2'nci dönemde (23.04.2019) *Corylus colurna* L. sürgünlerinde yıllık halkaların oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.2) (Şekil 4.3) (Şekil 4.4).



Şekil 4.2. 2'nci dönemde *Corylus colurna* L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).

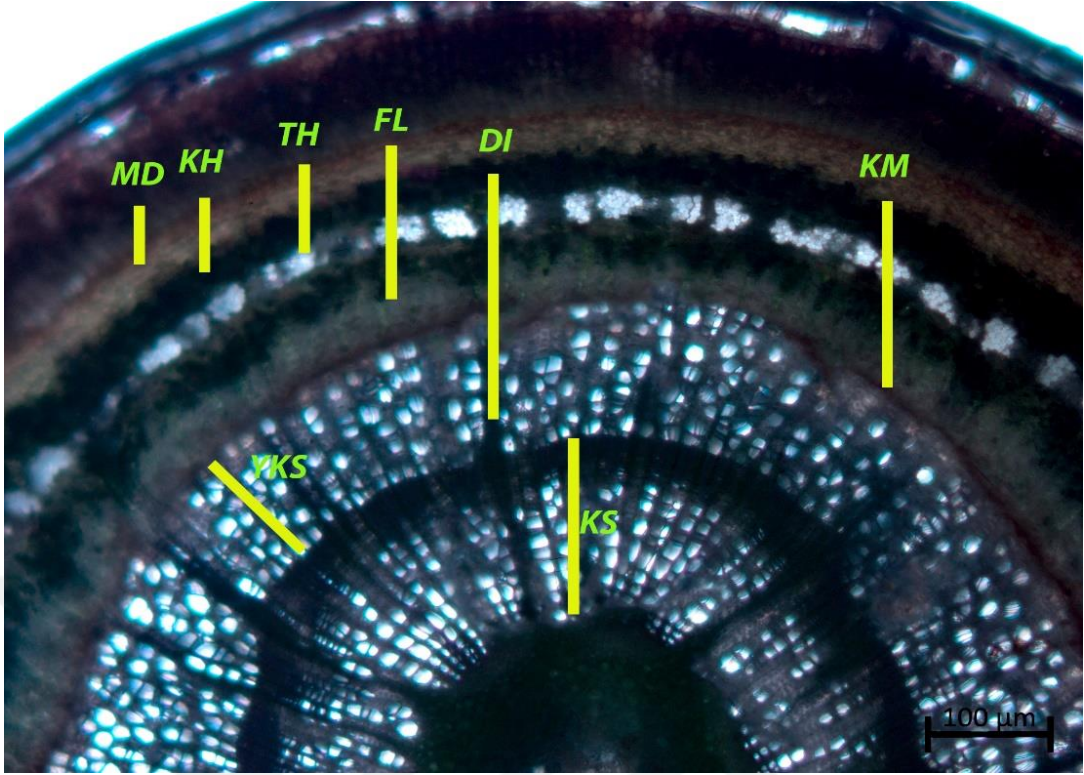


Şekil 4.3. 2'nci dönemde *Corylus colurna* L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25) .



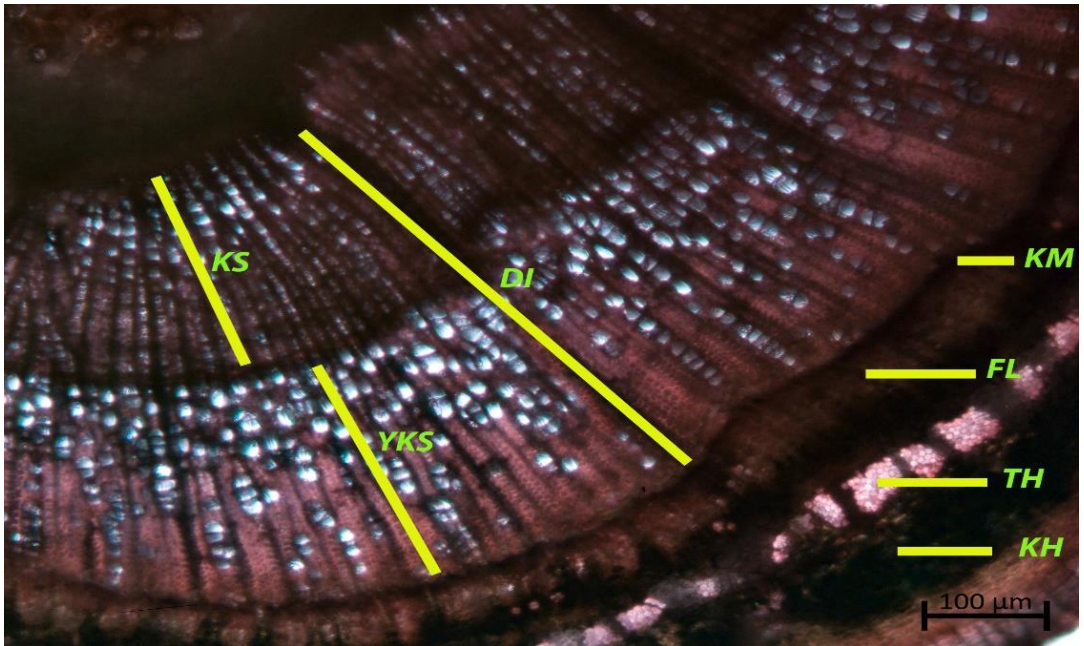
Şekil 4.4. 2'nci dönemde *Corylus colurna* L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).

Yapılan ölçümlerde 3'üncü dönemde (08.05.2019) *Corylus colurna* L. sürgünlerinde yıllık halkaların oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.5).



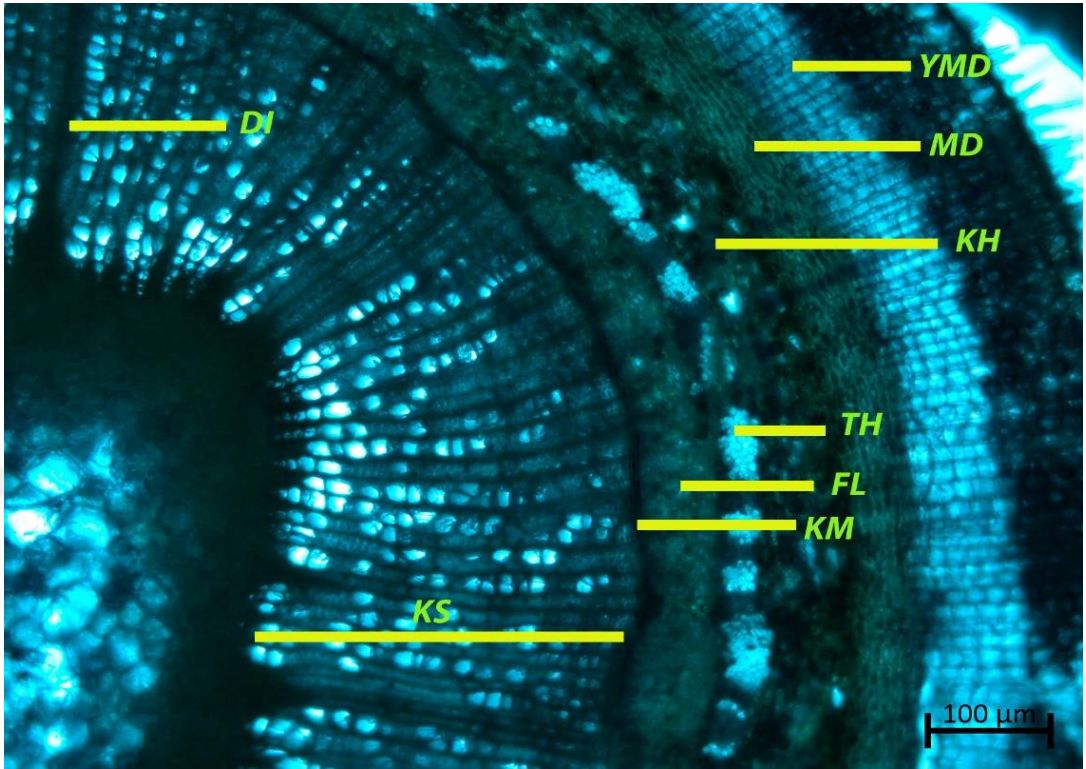
Şekil 4.5. 3'üncü dönemde *Corylus colurna* L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).

Yapılan ölçümlerde 4'üncü dönemde (28.05.2019) *Corylus colurna* L. sürgünlerinde yıllık halkaların oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.6).



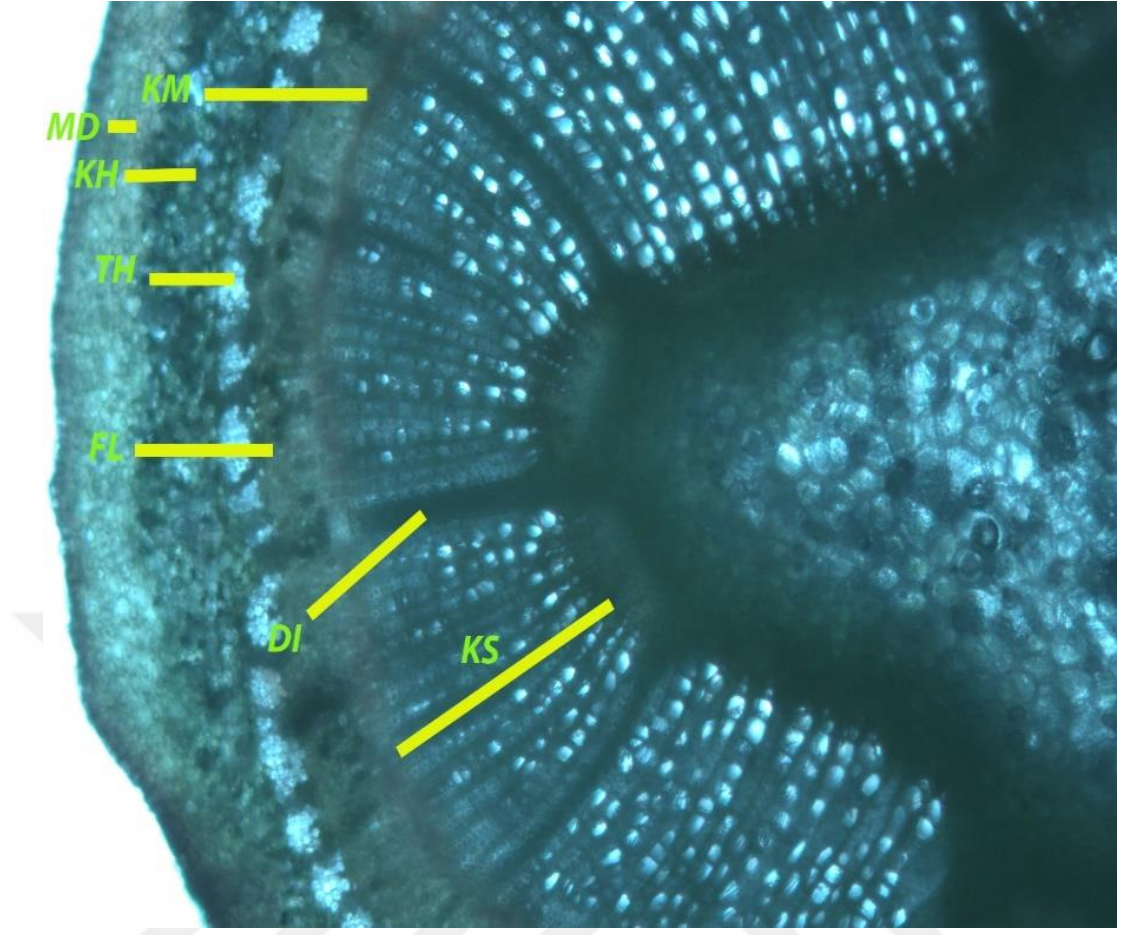
Şekil 4.6. 4'üncü dönemde *Corylus colurna* L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Safranin, 10 x 0,25).

Yapılan ölçümlerde 5'inci dönemde (17.06.2019) *Corylus colurna* L. sürgünlerinde yıllık halkaların oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.7).

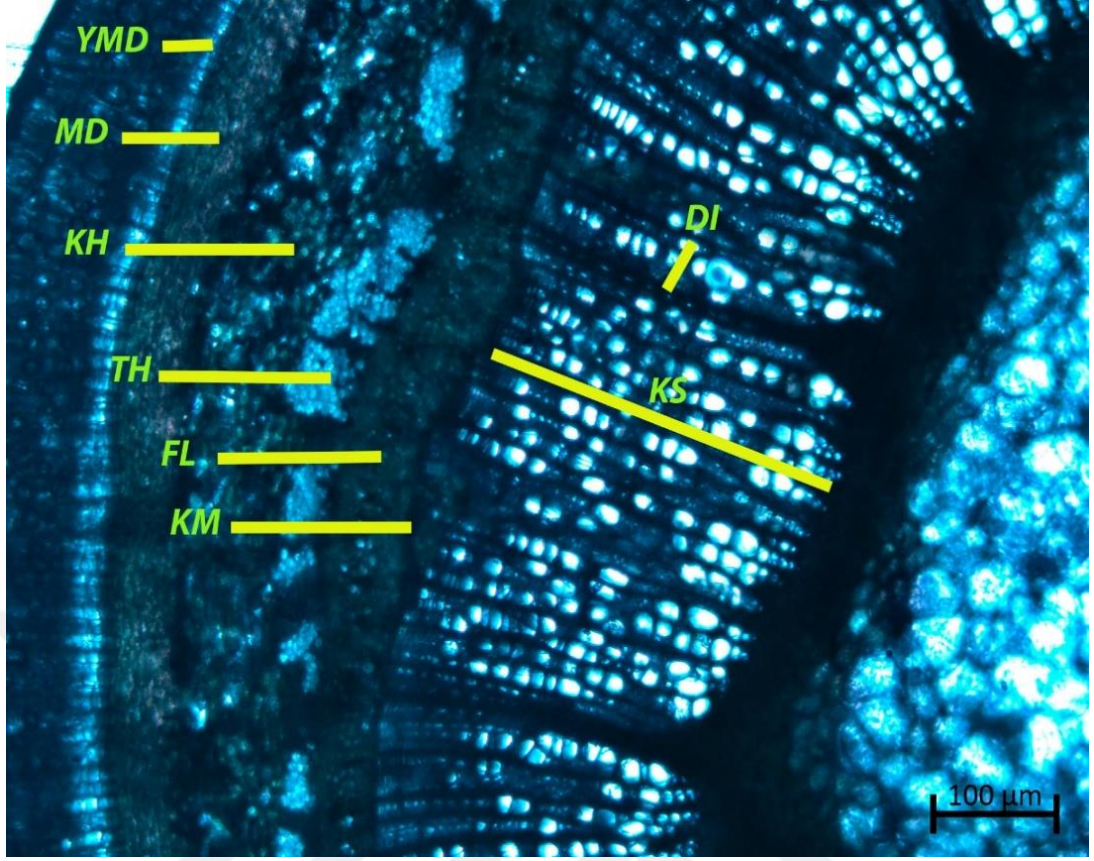


Şekil 4.7. 5'inci dönemde *Corylus colurna* L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).

Yapılan ölçümlerde 6'ncı dönemde (07.07.2019) *Corylus colurna* L. sürgünlerinde yıllık halkaların oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.8) (Şekil 4.9).

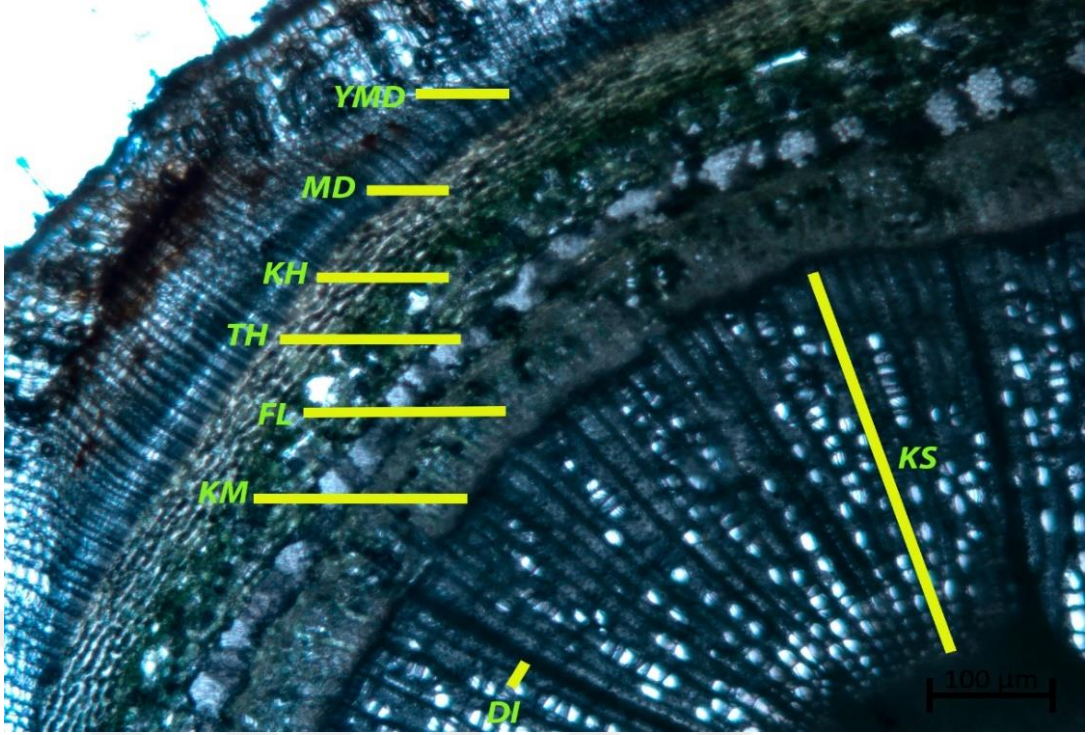


Şekil 4.8. 6'ncı dönemde *Corylus colurna* L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).



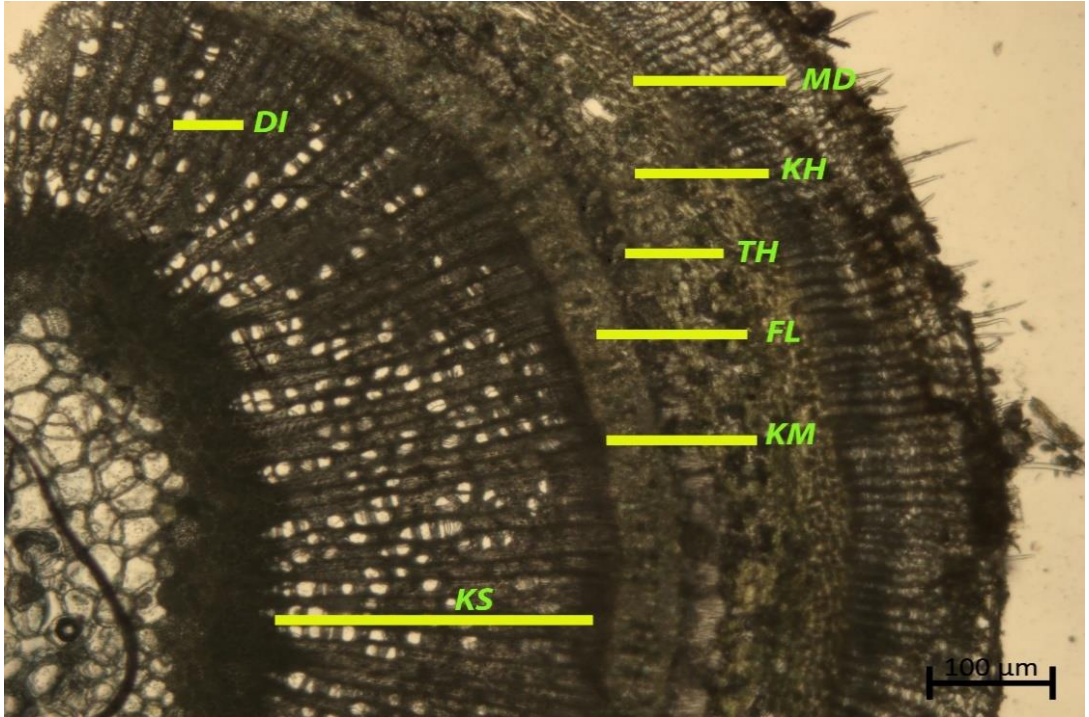
Şekil 4.9. 6'nci dönemde *Corylus colurna* L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).

Yapılan ölçümlerde 7'nci dönemde (27.07.2019) *Corylus colurna* L. sürgünlerinde yıllık halkaların oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. 7'nci dönemde *Corylus colurna* L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).

Yapılan ölçümlerde 8'inci dönemde (16.08.2019) *Corylus colurna* L. sürgünlerinde yıllık halkaların oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.11).

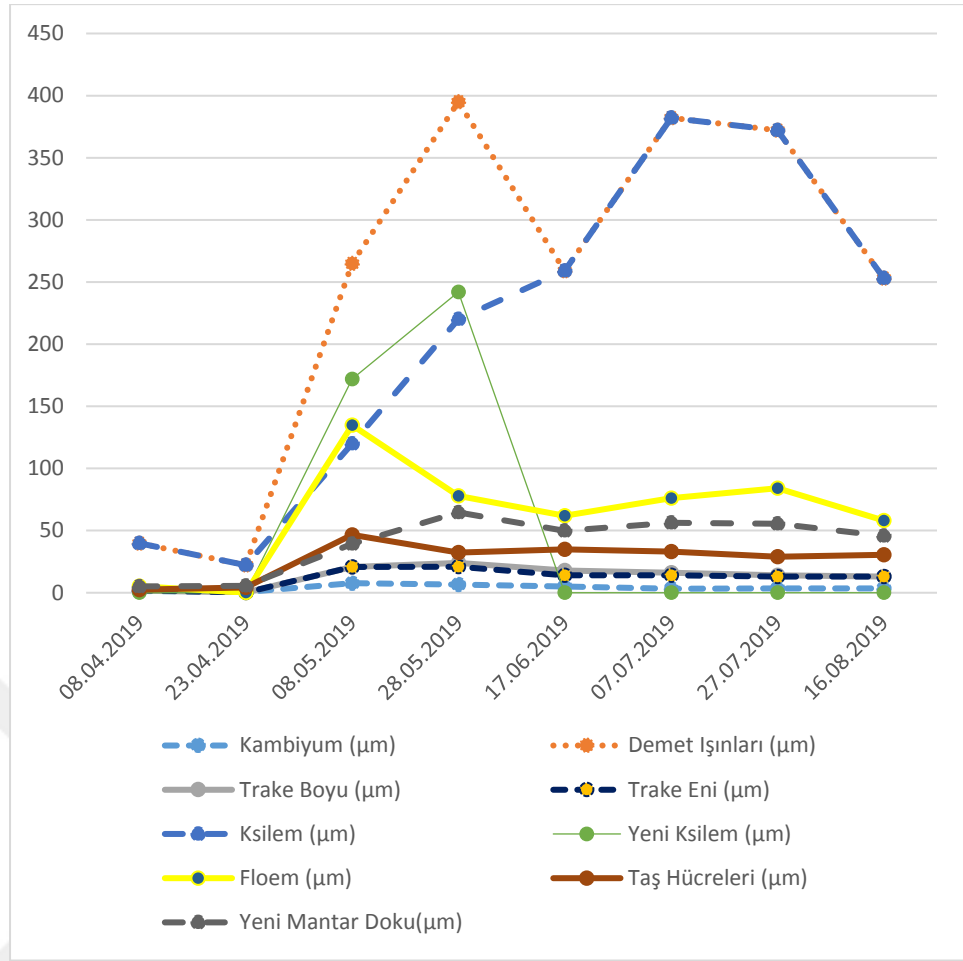


Şekil 4.11. 8'inci dönemde *Corylus colurna* L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesi (Metilen Mavisi, 10 x 0,25).

Corylus colurna L. sürgünlerinden alınan kesitler mikroskop altında incelendikten sonra kambiyum, ksilem, floem, demet ışını, trake eni ve trake boyu, yeni ksilem, taş hücreleri ve yeni mantar dokunun genişliği belirlenmiştir. Çizelge 4.1’de bu dokuların uzunlukları ve genişlikleri verilmiştir.

Çizelge 4.1. Dönemlere göre *Corylus colurna* L. sürgünlerinin enine gelişimi

Örnek Alma Dönemleri	Kambiyum (µm)	Demet Işınları (µm)	Trake Boyu (µm)	Trake Eni (µm)	Ksilem (µm)	Yeni Ksilem (µm)	Floem (µm)	Taş Hücreleri (µm)	Yeni Mantar Doku(µm)
08.04.2019	1,3	39,8	1,6	2,0	39,8	-	5,2	2,5	5,1
23.04.2019	0,6	22,2	0,2	0,2	22,2	-	-	4,2	5,6
08.05.2019	7,7	265	20,7	20,8	120	172	134,8	46,6	39,3
28.05.2019	6,6	395	24	20,9	220	242	77,9	32,3	64,6
17.06.2019	4,9	259	18	14	259	-	62	34,9	49,8
07.07.2019	3,3	382	16	14	382	-	76	33	56,3
27.07.2019	3,5	372	14	13	372	-	84	29	55,6
16.08.2019	3,6	253	13	13	253	-	58	30,4	45,6



Şekil 4.12. Dönemlere göre *Corylus colurna* L. sürgünlerinin enine gelişimi.

Corylus colurna L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesini incelemek için alınan kesit örneklerinde 1' inci dönemde (08.04.2019) kambiyum genişliği 1,3 µm, demet ışınları uzunluğu 39,8 µm, trake boyu 1,6 µm, trake eni 2,0 µm, ksilem genişliği 39,8 µm, floem genişliği 5,2 µm, taş hücreleri genişliği 2,5 µm, yeni mantar doku genişliği ise 5,1 µm olarak ölçülmüştür.

2'nci dönemde (23.04.2019) ise kambiyum genişliği 0,6 µm, demet ışınları uzunluğu 22,2 µm, trake boyu 0,2 µm, trake eni 0,2 µm, ksilem genişliği 22,2 µm, taş hücrelerinin genişliği 4,2 µm, yeni mantar doku genişliği ise 5,6 µm olarak hesaplanmıştır.

1'inci ve 2'nci dönemler karşılaştırıldığında kambiyum, ksilem, demet ışınları, trake eni, trake boyu uzunluğunun azaldığı gözlenmiştir. Taş hücreleri ve yeni mantar doku genişliği ise artış gösterdiği belirlenmiştir. Bu iki dönemde yeni ksilem oluşumu gözlenmiştir. Yeni ksilem oluşumunun gözlenmesi, yeni mantar dokunun genişliğinin

artması *Corylus colurna* L. sürgünlerinin vejetasyon döneminin başladığını göstermektedir. Ayrıca bu dönemde yeni mantar dokunun oluşması *Corylus colurna* L. sürgünlerinin enine genişlediğini göstermektedir. Her iki dönemlere ait Bolu ilinin iklim verileri incelendiğinde Nisan ayı ortalama sıcaklık değerleri en düşük 4,2 °C en yüksek 13,4 °C olduğu, ortalama nispi nem miktarı ise en düşük % 59,0 en yüksek % 80,7 genel olarak Nisan ayının bulutlu geçtiği belirlenmiştir.

Yeni ksilem oluşumu 3'üncü dönemde (08.05.2019) gözlenmiştir. Kesit alındıktan sonra yapılan ölçüm çalışmasında kambiyum genişliği 7,7 µm, demet ışınları uzunluğu 265 µm, trake boyu 20,7 µm, trake eni 20,8 µm, ksilem genişliği 120 µm, floem genişliği 134,8 µm, taş hücrelerinin genişliği 46,6 µm, yeni mantar doku genişliği ise 39,3 µm dur. Yeni ksilem oluşumu bu dönemde 172 µm olarak ölçülmüştür.

Yeni ksilem oluşumu 4'üncü dönemde (28.05.2019) de gözlenmiştir. Kesit alındıktan sonra yapılan ölçüm çalışmasında kambiyum genişliği 6,6 µm, demet ışınları uzunluğu 395 µm, trake boyu 24 µm, trake eni 20,9 µm, ksilem genişliği 220 µm, floem 77,9 µm, taş hücreleri 32,3 µm, yeni mantar doku genişliği ise 64,6 µm dur. Yeni ksilem oluşumu bu dönemde 242 µm olarak ölçülmüştür.

3'üncü ve 4'üncü dönemler karşılaştırıldığında kambiyum, floem ve taş hücrelerinin genişliğinin azaldığı, ksilem, yeni ksilem, demet ışınları, trake boyu, trake eni, yeni mantar doku genişliğinin artış gösterdiği belirlenmiştir. Ksilem genişliğinin her iki dönemde artış göstermesi, floem genişliğinin ise azalması *Corylus colurna* L. sürgünlerinin vejetasyon döneminin 3'üncü dönemde hızlandığını 4'üncü dönemde ise en üst düzeyde olduğunu göstermektedir. Ayrıca bu dönemlerde yeni mantar dokunun oluşması *Corylus colurna* L. sürgünlerinin enine genişlediğini göstermektedir. Her iki dönemlere ait Bolu ilinin iklim verileri incelendiğinde ortalama sıcaklığın en düşük 10,8 °C en yüksek 19,1 °C ve ortalama nispi nem miktarı ise en düşük % 61,5 en yüksek % 79,2 olduğu, ayrıca Mayıs ayının genel olarak bulutlu geçtiği belirlenmiştir.

Yeni ksilem oluşumu 5'inci dönemde (17.06.2019) gözlenmemiştir. Kesit alındıktan sonra yapılan ölçüm çalışmasında kambiyum genişliği 4,9 µm, demet ışınları uzunluğu 259 µm, trake boyu 18 µm, trake eni 14 µm, ksilem genişliği 259 µm, floem genişliği 62 µm, taş hücrelerinin genişliği 34,9 µm, yeni mantar doku genişliği

ise 49,8 µm olarak ölçülmüştür. 5'inci döneme ait Bolu ilinin iklim verileri incelediğinde ortalama sıcaklığın en düşük 17,14 °C en yüksek 19,28 °C ve ortalama nispi nem miktarı ise en düşük % 73,3 en yüksek % 91,0 olduğu, ayrıca Haziran ayının genel olarak bulutlu geçtiği belirlenmiştir.

6'ncı dönemde (07.07.2019) yeni ksilem oluşumu gözlenmemiştir. Kesit alındıktan sonra yapılan ölçüm çalışmasında kambiyum genişliği 3,3 µm, demet ışınları uzunluğu 382 µm, trake boyu 16 µm, trake eni 14 µm, ksilem genişliği 382 µm, floem genişliği 76 µm, taş hücrelerinin genişliği 33 µm, yeni mantar doku genişliği ise 56,3 µm olarak ölçülmüştür. 6'ncı döneme ait Bolu ilinin iklim verileri incelediğinde ortalama sıcaklığın en düşük 15,32 °C en yüksek 20,7 °C ve ortalama nispi nem miktarı ise en düşük % 63,9 en yüksek % 83,1 olduğu ayrıca Temmuz ayının genel olarak güneşli geçtiği belirlenmiştir.

5'inci ve 6'ncı dönemler karşılaştırıldığında kambiyum, trake boyu, taş hücrelerinin genişliği azaldığını, ksilem, floem, demet ışınları, yeni mantar dokunun genişliğinin artış gösterdiği belirlenmiştir. 5'inci dönemin iklim verileri göz önüne alındığında *Corylus colurna* L. sürgünlerinin vejetasyon döneminin 4'üncü döneme göre yavaş olduğu belirlenmiştir. 5'inci ve 6'ncı dönemlerde yeni mantar doku ve ksilem genişliği artması *Corylus colurna* L. sürgünlerinin enine genişlemesinin devam ettiği belirlenmiştir.

Yeni ksilem oluşumu 7'nci dönemde (27.07.2019) gözlenmemiştir. Kesit alındıktan sonra yapılan ölçüm çalışmasında kambiyum genişliği 3,5 µm, demet ışınları uzunluğu 372 µm, trake boyu 14 µm, trake eni 13 µm, ksilem genişliği 372 µm, floem genişliği 84 µm, taş hücrelerinin genişliği 29 µm, yeni mantar doku genişliği ise 55,6 µm olarak ölçülmüştür. 7'nci döneme ait Bolu ilinin iklim verileri incelediğinde ortalama sıcaklığın en düşük 15,32 °C en yüksek 20,7 °C ve ortalama nispi nem miktarı ise en düşük % 63,9 en yüksek % 83,1 olduğu ayrıca Temmuz ayının genel olarak güneşli geçtiği belirlenmiştir.

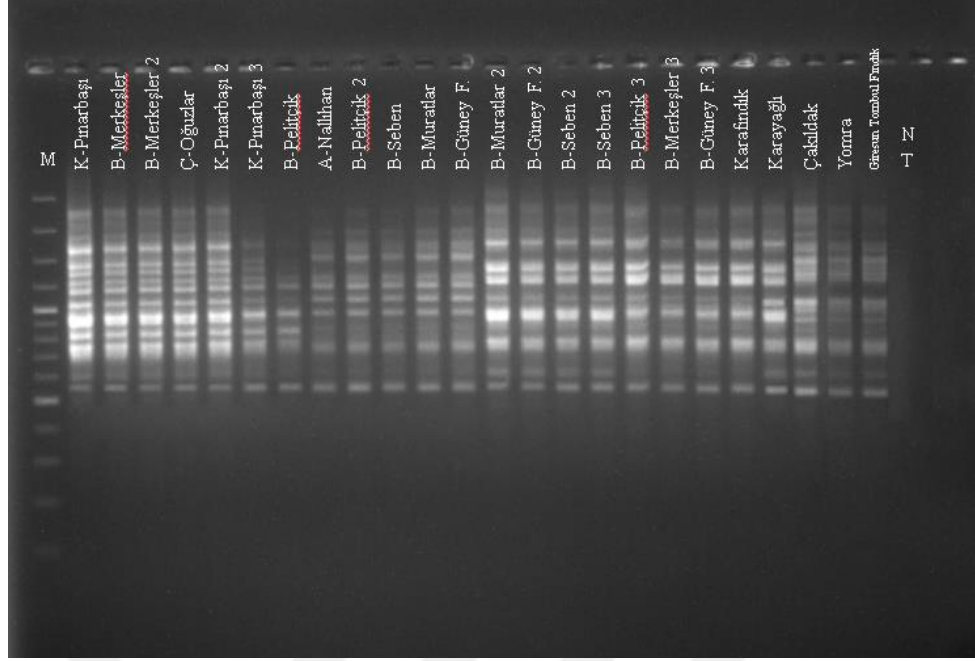
Yeni ksilem oluşumu 8'inci dönemde (16.08.2019) de gözlenmemiştir. Kesit alındıktan sonra yapılan ölçüm çalışmasında kambiyum genişliği 3,6 µm, demet ışınları uzunluğu 253 µm, trake boyu 13 µm, trake eni 13 µm, ksilem genişliği 253 µm, floem genişliği 58 µm, taş hücrelerinin genişliği 30,4 µm, yeni mantar doku genişliği

ise 45,6 µm olarak ölçülmüştür. 8'inci döneme ait Bolu ilinin iklim verileri incelediğinde ortalama sıcaklığın en düşük 17,4 °C en yüksek 21,4 °C ve ortalama nispi nem miktarı ise en düşük % 64,2 en yüksek % 81,2 olduğu, ayrıca Ağustos ayının genel olarak güneşli geçtiği belirlenmiştir.

7'nci ve 8'inci dönemler karşılaştırıldığında ksilem, floem, yeni mantar dokularında genişlemenin gerilediği trake boyu, demet ışınlarının uzunluğunun azaldığı kambiyum ve taş hücrelerinin enine büyümelerinde artış olduğu belirlenmiştir. Her iki dönemde elde edilen bilgiler doğrultusunda *Corylus colurna* L. sürgünlerinin enine genişlemesinin yavaşladığını ayrıca vejetasyon döneminin sonuna geldiğini belirlenmiştir.

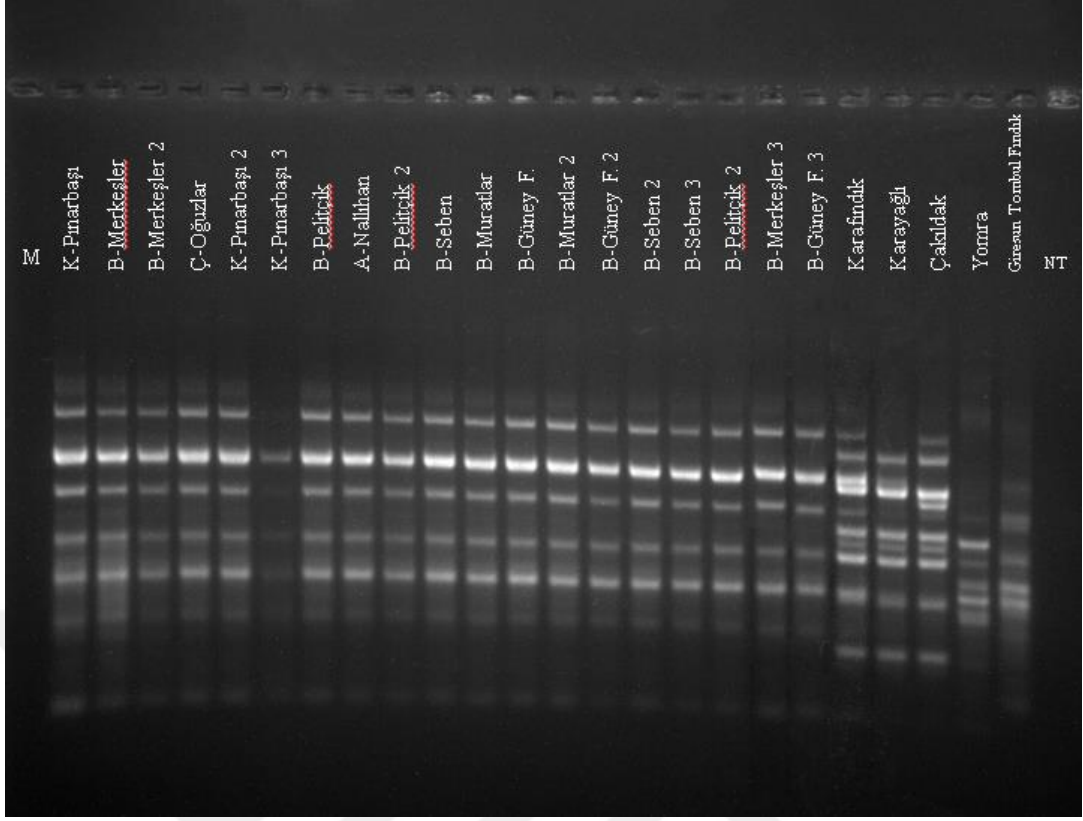
4.2 Moleküler Karakterizasyon

Birçok moleküler markör tekniği, klasik tanımlama metotlarındaki yoğun işgücü, uzman ve uzun soluklu zaman gereksinimi gibi kısıtlamaları aşmak için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Çalışmamız kapsamında son zamanlarda yeni bir moleküler markör sistemi olarak ortaya çıkmış olan iPBS markörleri, fındık bitkisi izolatlarının arasındaki genetik çeşitliliği araştırmak amacıyla ilk defa kullanılmıştır (Şekil 4.13).

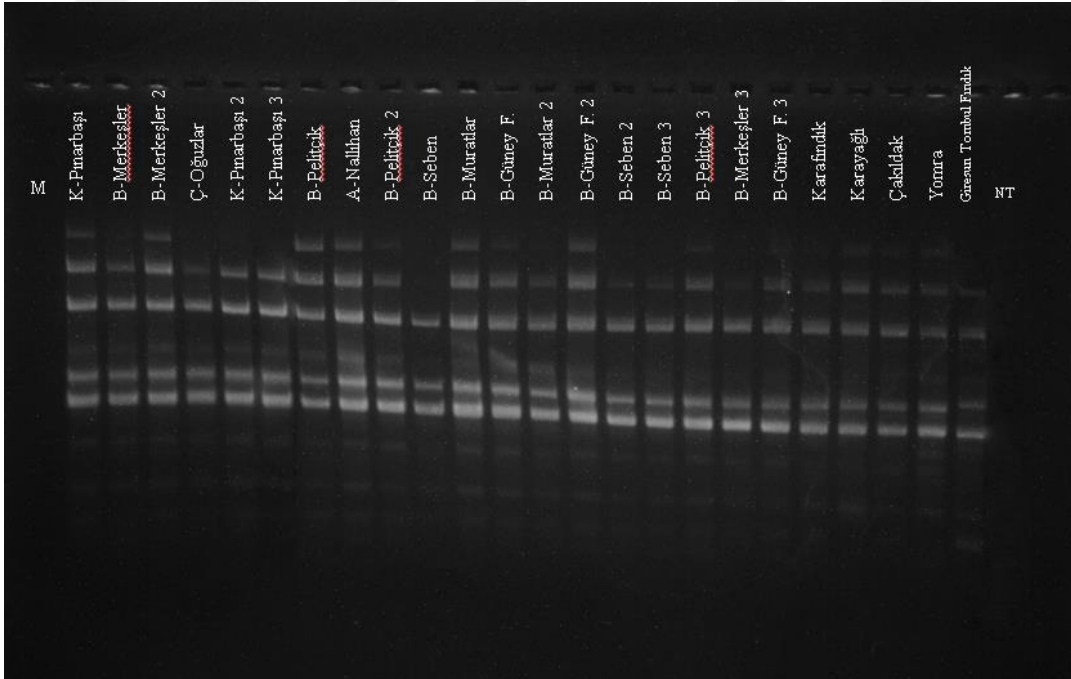


Şekil 4.13. iPBS-2295 primeri ile elde edilmiş PCR ürünleri, DNA markör (M): GeneRuler 100 bp plus (Thermo Scientific, ABD) ve NT: Kontrol.

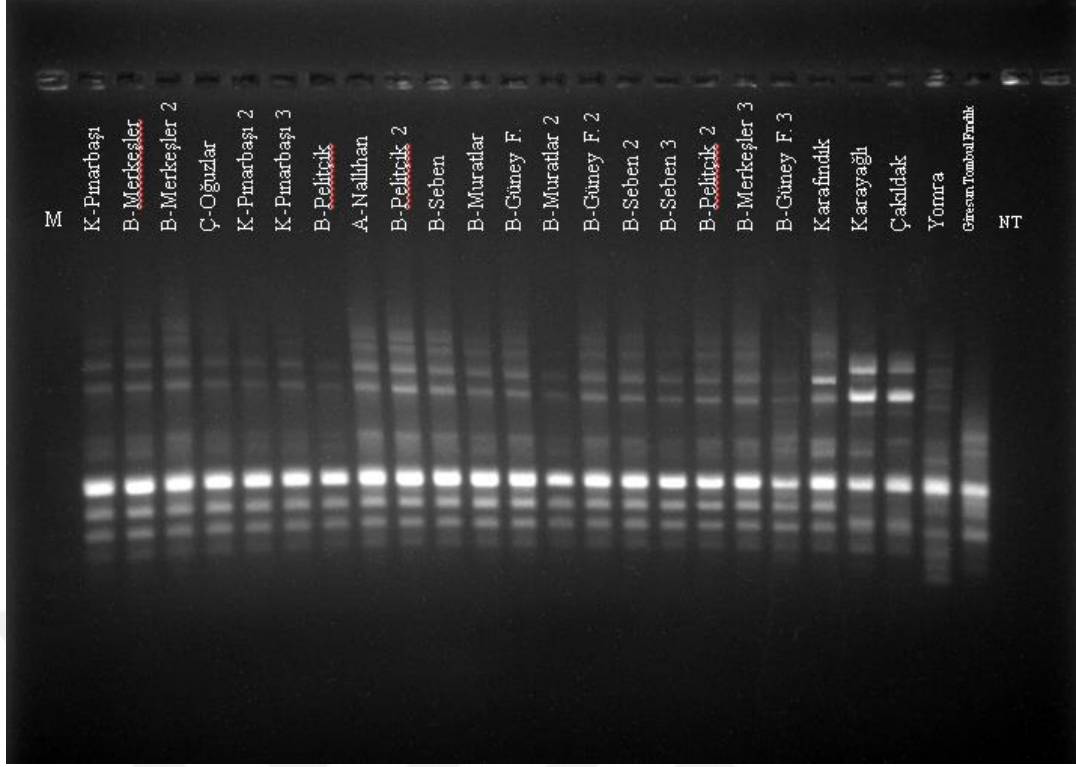
Çalışmada kullanılan 24 izolat için beş iPBS markörü ile toplamda 85 lokus üretilmiştir. Markör sistemi, farklı genotiplerine ait izolatlar arasında önemli bir değişkenlik sağlayan çok sayıda fragment üretmiştir (Şekil 4.14) (Şekil 4.15) (Şekil 4.16) (Şekil 4.17).



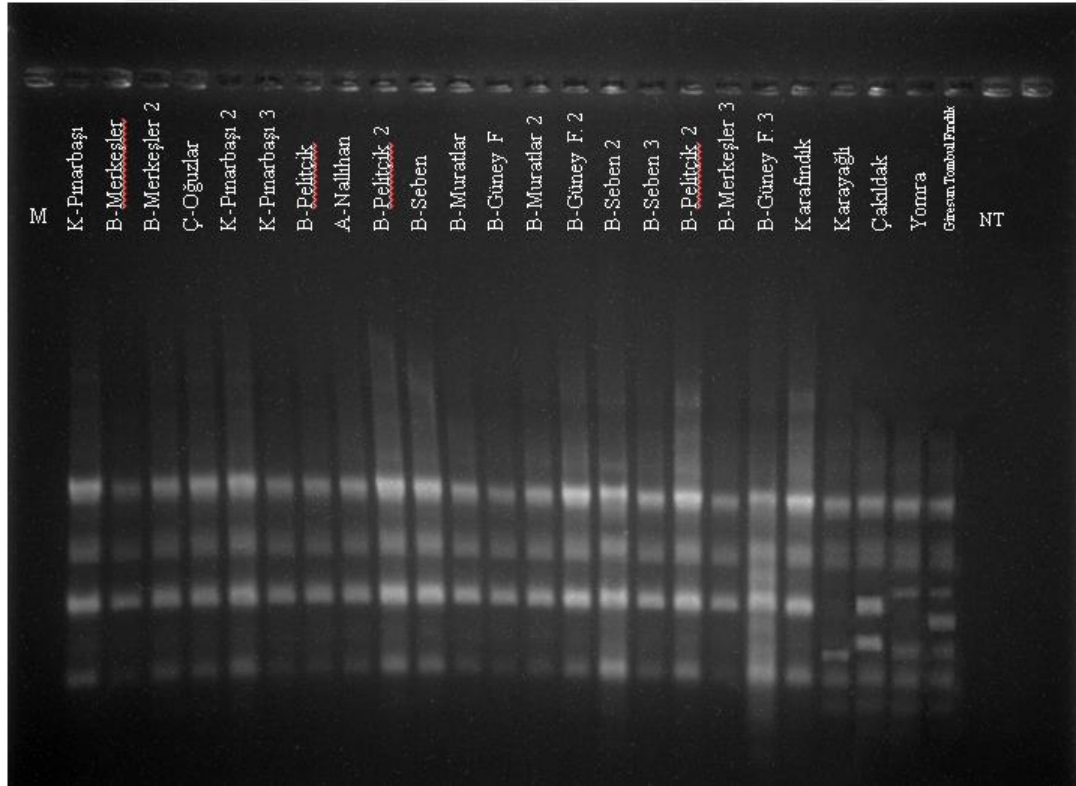
Şekil 4.14. iPBS-2395 primeri ile elde edilmiş bant profilleri, DNA markör (M): GeneRuler 100 bp plus (Thermo Scientific, ABD) ve NT: Kontrol.



Şekil 4.15. iPBS-2378 primeri ile elde edilmiş bant profilleri, DNA markör (M): GeneRuler 100 bp plus (Thermo Scientific, ABD) ve NT: Kontrol.



Şekil 4.16. ipBS-2081 primeri ile elde edilmiş bant profilleri, DNA markör (M): GeneRuler 100 bp plus (Thermo Scientific, ABD) ve NT: Kontrol.



Şekil 4.17. ipBS-2415 primeri ile elde edilmiş bant profilleri, DNA markör (M): GeneRuler 100 bp plus (Thermo Scientific, ABD) ve NT: Kontrol.

iPBS - PCR'dan elde edilen ve tekrarlanabilir 85 amplifikasyon ürününden 76'sının (%76,47) çeşitler arasında polimorfik olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.8). En yüksek polimorfik bant oranı %88,89 ile iPBS-2395 için oluşmuş, en düşük oran ise % 44,44 ile iPBS-2378 primerinde gözlenmiştir.

iPBS primerler ile elde edilen verilerin UPGMA kümeleme analizi sonucu oluşturulan dendrogram incelendiğinde Bolu- Pelitçik 3, Bolu - Güney Felakettin 3, Bolu - Merkezler 3 izolatlarının benzerlik oranının 1,00, Bolu – Muratlar 2 ve Bolu- Güney Felakettin 2 izolatlarının benzerlik oranının 1,00, Ankara – Nallıhan ve Bolu – Muratlar izolatlarının benzerlik oranının 1,00, Bolu- Pelitçik 2 ve Bolu Seben izolatlarının benzerlik oranının 1,00, Bolu – Merkezler, Çorum – Oğuzlar ve Kastamonu – Pınarbaşı 2 izolatlarının benzerlik oranının 1,00, Kastamonu – Pınarbaşı, Bolu- Merkezler 2 ve Kastamonu – Pınarbaşı 3 izolatlarının benzerlik oranının 1,00 olduğu belirlenmiştir.

Bolu- Pelitçik 3, Bolu - Güney Felakettin 3, Bolu - Merkezler 3 izolatlarının Bolu-Seben 3 izolatu arasındaki benzerlik oranı 0,86 ile 1,00 aralığında kaldığı saptanmıştır.

Bolu – Muratlar 2 ve Bolu- Güney Felakettin 2 izolatlarının Bolu-Seben 2 izolatu arasındaki benzerlik oranı ise 0,86 ile 1,00 aralığında olduğu tespit edilmiştir.

Ankara – Nallıhan ve Bolu – Muratlar izolatlarının, Bolu- Pelitçik 2 ve Bolu Seben izolatları arasındaki benzerlik oranı 0,86 ile 1,00 aralığında olduğu belirlenmiştir.

Bolu – Merkezler, Çorum – Oğuzlar ve Kastamonu – Pınarbaşı 2 izolatlarının Kastamonu – Pınarbaşı, Bolu- Merkezler 2 ve Kastamonu – Pınarbaşı 3 izolatları arasındaki benzerlik oranı 0,86 ile 1,00 aralığında olduğu belirlenmiştir.

Bolu- Pelitçik 3, Bolu - Güney Felakettin 3, Bolu - Merkezler 3, Bolu-Seben 3 izolatlarının Bolu – Muratlar 2 ve Bolu- Güney Felakettin 2, Bolu-Seben 2 izolatları arasındaki benzerlik oranı 0,86 ile 1,00 aralığında olduğu görülmüştür.

Bolu- Pelitçik izolatinin Bolu-Muratlar, Ankara- Nallıhan, Bolu- Seben, Bolu Pelitçik 2 izolatları arasındaki benzerlik oranı 0,86 ile 1,00 aralığında kaldığı tespit edilmiştir.

Bolu- Güney Felakettin izolatinin Bolu- Pelitçik 3, Bolu - Güney Felakettin 3, Bolu - Merkezler 3, Bolu-Seben 3, Bolu – Muratlar 2, Bolu- Güney Felakettin 2, Bolu-Seben 2 izolatları arasındaki benzerlik oranı 0,86 ile 1,00 aralığında olduğu belirlenmiştir.

Bolu- Pelitçik, Bolu-Muratlar, Ankara- Nallıhan, Bolu- Seben, Bolu Pelitçik 2 izolatların Bolu – Merkezler, Çorum – Oğuzlar ve Kastamonu – Pınarbaşı 2, Kastamonu – Pınarbaşı, Bolu- Merkezler 2 ve Kastamonu – Pınarbaşı 3 izolatları arasındaki benzerlik oranı 0,86 ile 1,00 aralığında olduğu belirlenmiştir.

Bolu- Güney Felakettin, Bolu- Pelitçik 3, Bolu - Güney Felakettin 3, Bolu - Merkezler 3, Bolu-Seben 3, Bolu – Muratlar 2, Bolu- Güney Felakettin 2, Bolu-Seben 2 izolatlarının Bolu- Pelitçik, Bolu-Muratlar, Ankara- Nallıhan, Bolu- Seben, Bolu Pelitçik 2, Bolu – Merkezler, Çorum – Oğuzlar ve Kastamonu – Pınarbaşı 2, Kastamonu – Pınarbaşı, Bolu- Merkezler 2 ve Kastamonu – Pınarbaşı 3 izolatları arasındaki benzerlik oranı 0,86 ile 1,00 aralığında olduğu belirlenmiştir.

Karafındık izolatinin Bolu- Güney Felakettin, Bolu- Pelitçik 3, Bolu - Güney Felakettin 3, Bolu - Merkezler 3, Bolu-Seben 3, Bolu – Muratlar 2, Bolu- Güney Felakettin 2, Bolu-Seben 2, Bolu- Pelitçik, Bolu-Muratlar, Ankara- Nallıhan, Bolu-Seben, Bolu Pelitçik 2, Bolu – Merkezler, Çorum – Oğuzlar ve Kastamonu – Pınarbaşı 2, Kastamonu – Pınarbaşı, Bolu- Merkezler 2 ve Kastamonu – Pınarbaşı 3 izolatları arasındaki benzerlik oranı 0,72 ile 0,86 aralığında olduğu belirlenmiştir.

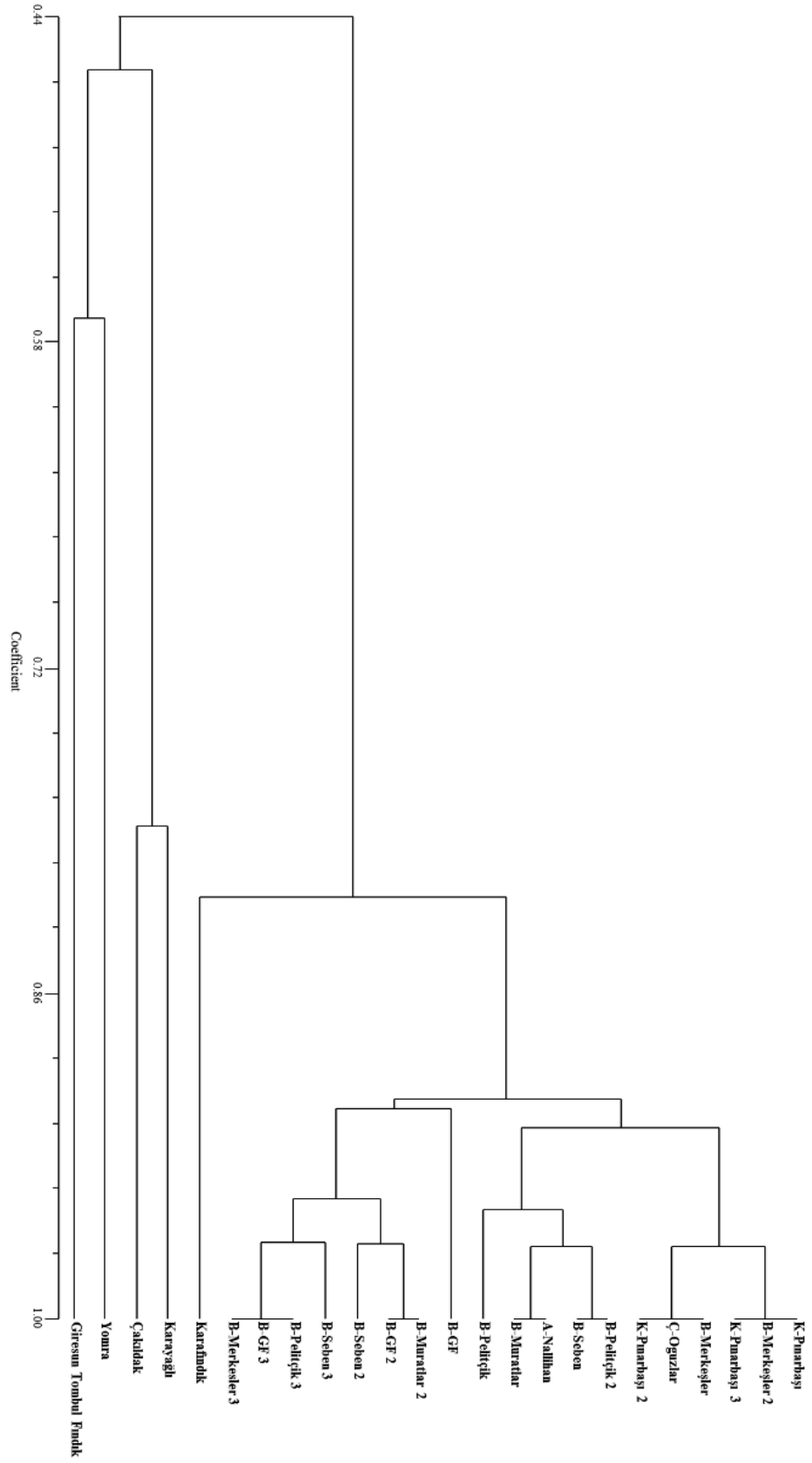
Yomra ve Giresun Tombul Fındık izolatların benzerlik oranı 0,44 ile 0,56 aralığında, Karayağlı ve Çakıldak izolatların benzerlik oranı 0,72 ile 0,86 aralığında olduğu belirlenmiştir.

Yomra ve Giresun Tombul Fındık izolatlarının Çakıldak ve Karayağlı izolatları arasındaki benzerlik oranı 0,44 ile 0,56 aralığında olduğu belirlenmiştir.

Yomra, Giresun Tombul Fındık, Çakıldak ve Karayağlı izolatlarının Karafındık, Bolu- Güney Felakettin, Bolu- Pelitçik 3, Bolu - Güney Felakettin 3, Bolu - Merkezler 3, Bolu-Seben 3, Bolu – Muratlar 2, Bolu- Güney Felakettin 2, Bolu-Seben 2, Bolu- Pelitçik, Bolu-Muratlar, Ankara- Nallıhan, Bolu- Seben, Bolu Pelitçik 2, Bolu – Merkezler, Çorum – Oğuzlar ve Kastamonu – Pınarbaşı 2, Kastamonu – Pınarbaşı, Bolu- Merkezler 2 ve Kastamonu – Pınarbaşı 3 izolatları arasındaki benzerlik oranı 0,44 olarak belirlenmiştir.

iPBS primerler ile elde edilen verilerin UPGMA kümeleme analizi sonucu oluşturulan dendrogram izolatları 2 gruba ayırmıştır (Şekil 4.18). Bununla birlikte Karafındık, Karayağlı, Çakıldak, Yomra, Giresun Tombul Fındık izolatlarının diğer tüm Bolu izolatlarından ayrıldığı görülmüştür.

Bu çalışmada *Corylus avellana* L. ve *Corylus colurna* L. arasındaki genetik benzerlik oranı 0,44 olarak belirlenmiştir. *Corylus colurna* L. genotipleri arasındaki benzerlik 0,86-1,00 arasında bulunurken iPBS - PCR'dan elde edilen ve tekrarlanabilir 85 amplifikasyon ürününden 76'sının (%76,47) çeşitler arasında polimorfik olduğu Campa vd. (2011), SSR markörlerle yabani ve kültürel fındık genotipleri arasındaki genetik benzerliğin 0,43 – 0,83 arasında değişkenlik gösterdiğini ve ortalama oranın 0,69 olduğunu Erdoğan vd. (2010), Polimorfik DNA (RAPD) ile Türk fındık çeşitlerinin aralarında genetik ilişkilerin karakterizasyonu belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada polimorfizm oranı 0,47-0,94 arasında değiştiğini Kafkas vd (2009), 18 *Corylus avellana* L.'da RAPD, ISSR ve AFLP yöntemlerini kullanarak yaptığı çalışmada 25 RAPD primeri, 25 ISSR primeri ve 8 AFLP primeri kullanılarak 434 polimorfik bant elde edildiğini genotipler arasındaki benzerlik 'Yassı Badem' ve 'Kalınkara' arasında 0,73, 'Kan' ve 'Uzun Musa' arasında 0,96 olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda elde edilen polimorfizm değerleri Kafkas vd. (2009) ve Erdoğan vd. (2010) bildirdiği değerlere yakın, Campa vd. (2011)' in bildirdiği polimorfizm değerlerinden yüksek bulunmuştur.



Şekil 4.18. 24 Fındık bitkisi izolatlarının iPBS data matrisine dayandırılarak elde edilen UPGMA kümeleme analizi.

5. SONUÇ

Bolu ekolojisinde *Corylus colurna* L. sürgünlerinin kambiyal aktivitesini incelemek amacıyla yürütülen bu çalışmada, vejetasyon döneminde 8 farklı dönemde yıllık sürgünlerde kambiyum gelişimi izlenmiştir. Çalışmada kambiyum gelişiminin yanında floem, demet ışınları, trake, yeni ksilem, taş hücreleri ve yeni mantar doku gelişimi de takip edilmiştir.

İlk örnekler 8 Nisan 2019 tarihinde alınmış ve buna göre enine kambiyum büyümesinin birinci döneme göre ikinci dönemde 1,35 μm 'den 2,04 μm 'e ulaştığı görülmüştür. Yeni ksilem oluşumu 1' inci dönemde oluşmaya başladığını ve 4'üncü dönemde ise sonlandığı görülmüştür.

3' üncü ve 4'üncü dönemde yeni ksilem dokusunun oluşumu hızlandığı, buna göre yıllık halkaların meydana geldiği saptanmıştır. Bu dönemler en hızlı vejetasyon dönemini kapsamakta olup, izlenen dokuların da en fazla büyümenin bu dönemde gerçekleştiği belirlenmiştir. Zira, bu dönemde yeni ksilemin 172 μm ' dan 242 μm 'a ulaşmıştır. Ayrıca 3'üncü dönemden itibaren kambiyum genişliğinin azalmaya başlaması, Türk fıncığı (*Corylus colurna* L.) üzerine *Corylus avellana* L. aşlamak için mayıs ayının uygun zaman olduğunu göstermektedir.

İzlenen 8 dönem boyunca ksilem ve yeni mantar dokunun sürekli olarak artış gösterdiği, sürgünün enine büyümesine önemli katkılar yaptığı belirlenmiştir.

Floemin enine büyümesinde 3'üncü dönem itibariyle azalma görüldüğü, buna karşılık ksilemde artış olduğu, izlenen dönem için gerek ksilem ve gerekse floemin azalan oranlarda enine büyümeye katkı yapmaya devam edildiği belirlenmiştir.

Genel olarak çok yıllık bitkilerde enine büyüme üzerine ksilemin %75, floemin ise %25 oranında etki yaptığı bildirilmektedir (Karadeniz vd. 2018). Buna göre, ksilemin floeme göre daha fazla gelişmesi beklenen bir sonuç olarak görülmektedir.

iPBS primerler ile elde edilen verilerin UPGMA kümeleme analizi sonucu oluşturulan dendrogram incelendiğinde oluşturulan dendrogram izolatların 2 gruba ayrıldığı, bununla birlikte Karafındık, Karayağlı, Çakıldak, Yomra, Giresun Tombul fıncık izolatlarının diğer tüm *Corylus colurna* L. izolatlarından ayrı grup oluşturduğu

saptanmıştır. Karafındık her ne kadar literatürlerde *Corylus avellana* olarak geçmekte olsa da, çalışmamızda genetik benzerlik olarak *Corylus colurna* grubuna daha yakın bulunmuştur. Karafındığın melez bir çeşit olduğunu söyleyen literatürler de bulunmamaktadır. Çalışmamızda elde edilen bulgular da bu yöndedir. Zira Karayağlı, Çakıldak, Yomra ve Giresun Tombul fıncığı *Corylus avellana* L. türüne ait olup, farklı bir tür olan *Corylus colurna* L.'den net bir şekilde ayrılmıştır. Farklı türlerin birbirinden net bir şekilde ayrılması beklenen bir durum olup, iPBS retrotranspozons markörlerin, fıncıkların genetik ayrımlarında etkili bir yöntem olduğu ortaya konulmuştur.



6. KAYNAKLAR

- Anşın R ve Özkan ZC (1993) Tohumlu Bitkiler Odunsu Taksonlar, KTÜ Genel Yayın No :167, Orman Fak., Yayın No.19, KTÜ Basımevi, Trabzon.
- Arslan M, Kılınç İ and Vural M (2013) Flora of Kale-Bolu Fındığı (Turkey) Nature Protection Area, Biological Diversity and Conservation, s 6/3:107-119.
- Ayan S, Aydınöz D, Yer EN and Ünal E (2016) Turkish filbert (*Corylus colurna* L.) a new distribution area in Northwestern Anatolia Forests: (Provinces of Müsellimler, Tunuslar in Ağlı, Kastamonu), BIODICON, 9 (1) 128-135.
- Ayfer M, Uzun A ve Baş F (1986) Türk Fındık Çeşitleri. Karadeniz Fındık ve Mamülleri İhracatçılığı Birliği. 95s.
- Blagoeva E and Nikolova M (2010) "Growth Dynamics of Hazelnut (*Corylus* Spp.) Grafted by Different Techniques". Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture. 67(1): 96-100.
- Bobrikov BP (1979) *Corylus colurna* in The Upper Reaches of the River Fars. Lesnoe-Khozaistvo. 1979, No. 3, 39-40.
- Campa A, Trabanco N, Pérez-Vega E, Rovira M and Ferreira JJ (2011) "Genetic relationship between cultivated and wild hazelnuts (*Corylus avellana* L.) collected in northern Spain." Plant breeding, 130(3): 360-366.
- Cerović S, Ninić-Todorović J. Gološin B, Ognjanov V and Bijelić S (2009) "Grafting Methods in Nursery Production of Hazelnut Grafted on *Corylus colurna* L.". Acta Hort. (ISHS). 845:279-282.
- Çakırmelikoğlu C ve Kaya A (1993) "Yoğun olarak üretimi yapılan bazı önemli fındık çeşitlerinin kış soğuklama ihtiyaçlarının tespiti." Araştırma Proje Özetleri. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Fındık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Araştırma Proje Özetleri, 1999, 100s.
- Çalışkan T (1995) Fındık Çeşit Katalogu. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü. Bitkisel Üretim Geliştirme Dairesi Başkanlığı. Mesleki Yayınlar Serisi. Ankara. 72s.
- Davis PH (1982) Flora of Turkey and East Argean Island. Vol VII.P.685, Edinburg.
- Demir T (2004) "Türk fındık çeşitlerinin RAPD markörleri ve pomolojik özellikleri ile tanımlanarak çeşitler arasındaki akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi." Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 207 s, Samsun.

- Dimoulas L (1979) Etüde de diverse aspects de la reproduction sexuee chez lenoisetier (*Corylus avellana* L.) Thesis, University of Bordeaux 162pp.
- Erdoğan V and Mehlenbacher SA (2000) “Phylogenetic Relationships of *Corylus* Species (Betulaceae) Based on Nuclear Ribosomal DNA ITS Region and Chloroplast matK Gene Sequences.” *Systematic Botany*, 25(4):727-737.
- Erdoğan V ve Mehlenbacher SA (2002) Phylogenetic Analysis of Hazelnut Species (*Corylus*, Corylaceae) Based on Morphology and Phenology. *Ot Sistematik Botanik Dergisi*. Cilt 9, Sayı 1.
- Erdogan V, Koksai AI and Aygun A (2010) “Assessment of genetic relationships among Turkish Hazelnut (*Corylus avellana* L.)” Cultivars by RAPD Markers. *Romanian Biotechnological Letters*, 15 (5): 5591 – 1601.
- FAO (2017) <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>, 10 Aralık 2017.
- Ferreira JJ, Garcia C, Tous J and Rovira M (2010) “Genetic diversity revealed by morphological traits and ISSR markers in hazelnut germplasm from northern Spain.” *Plant breeding*, 129(4): 435-441.
- Feschotte C ve Wessler SR (2002) “Mariner-like transposases are widespread and diverse in flowering plants”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 280–285.
- Ghanbari A, Boccacci P, Akkac A, Talaie A, Vezvaie A and Botta R (2004) “Characterization of Iranian hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars using microsatellite markers.” In VI International Congress on Hazelnut 686 pp. 111-116.
- Ghimessy L (1980) “Turkish Filbert (*Corylus colurna*) as A Valuable Reserve Tree Species in Hungary.” *Erdo. No. 29: 8, 365-369; 2 pl. Hungary*.
- Gökirmak T, Mehlenbacher SA and Bassil NV (2009) “Characterization of European hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars using SSR markers.” *Genetic resources and crop evolution*, 56(2): 147-172.
- Hagerup O (1942) “The morphology and biology of the *Corylus* fruit.” *et.Kgl.DansL Vidensk. Selskab. Biol.Meddleser* 17:3-32.
- Hummer K, Lagerstedt HB ve Kim SK (1986) “Filbert acclimation, maximum coldhardiness and deacclimation.” *Amer.Soc.Hort.Sci. II* 1:474-482.
- Irmak A ve Gülçur F (1974) “Doğu Karadeniz Bölgesindeki Fındığın yapraklarındaki besin elementi konsantrasyonları ile yetişmekte olduğu toprakların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine araştırmalar.” *Orm. Fak. Dergisi: A-11*.
- JY (1984) An encounter with trees. The Tree Hazel or Turkish Hazel, a Street Tree of The Future?. *Gartnermeister. No. 20, 511-512; 5 pl. Europe*.

- Kafkas S, Doğan Y, Sabır A, Turan A ve Seker H (2009) “Genetic characterization of hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars from Turkey using molecular markers.” HortScience, 44(6): 1557-1561.
- Kalendar R, Antonius K, Smykal P and Schulman A (2010) “iPBS: a universal method for DNA Fingerprinting and retrotranspozon isolation”, Theor. Appl. Genet. 121:1419-1430
- Kalendar R and Schulman A (2006) “IRAP and REMAP for retrotranspozon-based genotyping and finterprinting”, Nature Protoc 1: 2478-2484.
- Karadeniz T, Balta F, Balta F and Battal P (1997) “Relations Between Cambial Activity and Phenolic Compounds.” Acta Hort.445:191-198
- Karadeniz T (2018) İleri Fidancılık Tekniği Ders Notu, Bolu.
- Kopuzoğlu N ve Şen SM (1991) “Ülkemiz Fındık Yetiştiriciliğinde Aşı ile Çoğaltmanın Yeri ve Önemi.” T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Türkiye 1. Fidancılık Sempozyumu. 26-28 Ekim 1987. Tokat.
- Korac M, Ninic-Todorovic J. Cerovic, S. and Golosin B, (1997) “Results of Hazel Grafting on Turkish Filbert (*Corylus colurna* L.)” Acta Hort. (ISHS) 445: 419-422
- Köksal Aİ (2002) Turkish Hazelnut Cultures, Ankara.
- Lagerstedt HB (1975) “Filberts. Advances in Fruit Breeding.” Purdue Univ. Press. West Lafayette. Ind. 456-488.
- Lagerstedt HB (1981) “A New Device for Hot-Callusing Graft Unions.” Hortscience. 16:529-530.
- Larson PR (1994) “The vascular cambium: development and structure.” Springer, Berlin
- Maurer KJ (1975) “Graft combinations of some hazelnut varieties with *Corylus colurna* rootstock.” Baumschulpraxis. Germany FR.
- Mehlenbacher SA (1991) Genetic Resources of Temperate Fruit and Nut Crops. ActaHorticulture No. 290- XVII. Chapter 17. 791-836.
- Özbek S (1978) Özel Meyvecilik. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 128. Ders Kitabı: 11. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara. 486s.
- Palashev I and Nikolov V (1979) “The distribution, ecology and biological features of *Corylus colurna* in Bulgaria.” Gorskostopanska-Nauka, 16: 5, 26-42; 21 ref.
- Polat S (2014) “Türk Fındığı (*Corylus colurna* L.)’nın Türkiye’deki Yeni Bir Yayılış Alanı.” Marmara Coğrafya Dergisi, S. 29,136-149, İstanbul.

- Prevost A and Wilkinson MJ (1999) "A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars." *Theoretical and Applied Genetics*, 98, 107–112.
- Romisondo P (1977) "Aspects and problems of hazel cultivation with particular reference to floral biology, the origin of the hazel, species of the genus *Corylus*, and their cultivar importance." *Riv. Della Ortoflorofrutticultural Italina* 61 (5) : 277-302.
- Rohlf FJ (2000) NTSYS-pc, numerical taxonomy and multivariate analysis system, vol v. 2.1. Exceter Software, New York.
- Roldan-Ruiz I, Dendauw J, Vanbockstaele E, Depicker A and De Loose M (2000) "AFLP Markers Reveal High Polymorphic Rates In Ryegrasses (*Lolium spp.*)." *Molecular Breeding*, 6, 125–134.
- Savidge RA (1996) "Xylogenesis, genetic and environmental regulation a review." *IAWA J.* 17: 269–310.
- Schweingruber FH (1988) "Tree Rings, Basics and Applications of Dendrochronology" Kluwer Academic Publishers, The Netherlands
- Thompson MM (1979) "Genetics of incompatibility in *Corylus avellana* L." *Theor. Appl. Genet.* 54:1 13-1 16.
- Tsoumis G (1968) *Wood as Raw Material: Source, Structure, Chemical Composition, Growth, Degradation and Identification.* Pergamon Press, Oxford.
- TÜİK (2019) <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>, 10 Ekim 2019
- TUBIVES (2015) Türk Flora veritabanı (<http://www.tubitak.gov.tr/tubives/>), Erişim Tarihi: 13 Aralık 2015.
- Yaltrık F, (1997) *Orman ve Park Ağaçlarımız (İğne yapraklılar)*, Atlas Dergisi, Nisan Eki, İstanbul.
- Yaltrık F ve Efe A (2000) *Dendroloji Ders Kitabı Gymnospermae-Angiospermae. (Orman Endüstrisi Mühendisliği Bölümü Öğrencileri İçin) II. Baskı*, İstanbul.
- Yılmaz A (1998) "Türkiye'de fındık ziraatinin plansız gelişimi ve sonuçları." *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 11:101-114.
- Zemojtel T, Kielbasa SM, Arndt PF, Chung HR and Vingron M (2009) "Methylation and deamination of CpGs generate p53-binding sites on a genomic scale." *Trends Genet* 25: 63–66.
- Wicker T and Keller B (2007) "Genome-wide comparative analysis of copia retrotransposons in Triticeae, rice, and Arabidopsis reveals conserved ancient evolutionary lineages and distinct dynamics of individual copia families" *Genome Res* 17: 1072–1081.



7. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : OKAN YÜKLET

Doğum Yeri ve Tarihi : DENİZLİ – 21.09.1993

Lisans Üniversite : BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

Elektronik posta : okan.93@hotmail.com

İletişim Adresi : Karaçayır mah. Şehit Selen Paşa cad. Hayrettin
Karadağ apt. No: 20 Daire 7 MERKEZ/ BOLU

