

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SAKIZ AĞACI (*Pistacia lentiscus* L.)'nın *PISTACIA* ANAÇLARI (*Pistacia vera* L., *Pistacia khinjuk* Stocks , *Pistacia atlantica* Desf., *Pistacia terebinthus* L.) ÜZERİNE *IN VITRO* MİKROAŞILANMASI

Nazan ÇALAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR

HAZİRAN 2013

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SAKIZ AĞACI (*Pistacia lentiscus* L.)'nin *PISTACIA* ANAÇLARI (*Pistacia vera* L., *Pistacia khinjuk* Stocks, *Pistacia atlantica* Desf., *Pistacia terebinthus* L.) ÜZERİNE *IN VITRO* MİKROAŞILANMASI

Nazan ÇALAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR

HAZİRAN 2013

T.C
DİCLE UNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
DİYARBAKIR

Nazan ÇALAR tarafından yapılan “Sakız Ağacı (*Pistacia lentiscus* L.)’nın *Pistacia* Anaçları Üzerine *in vitro* Mikroaşılınması” konulu bu çalışma jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir

Jüri Üyesinin

Ünvanı Adı Soyadı

Başkan: Prof. Dr. A. Selçuk ERTEKİN

Üye Prof. Dr. Ahmet ONAY (Danışman)

Üye : Prof. Dr. Hasan Ç. ÖZEN

Üye : Doç Dr. Engin TILKAT

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hakan YILDIRIM (2. Danışman)

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 28/06/2013

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../...../20

Prof. Dr. Hamdi TEMEL

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ

TEŞEKKÜR

Tüm çalışmalarım boyunca her zaman bilgi ve deneyimleriyle yolumu açan Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyelerinden danışman hocam Prof. Dr. Ahmet ONAY'a içten teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarımın her aşamasında bana çok büyük destek olan ve deneysel çalışmalarım sırasında bile çok değerli yardımlarını, sıcaklık ve desteğini gördüğüm, derin bilgi ve deneyimlerini sürekli benimle paylaşan ve iyi bir akademisyen olma yolunda beni hep motive eden ve yol açan, tez yazım aşamasında yardımlarını hiç bir zaman esirgemeyen sayın ikinci danışman hocam Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Öğretim Üyelerinden Yrd.Doç. Dr. Hakan YILDIRIM'a da ayrıca teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyelerinden değerli hocam Prof. Dr. Davut BAŞARAN'ın akademisyen olma yolunda beni cesaretlendirdiği ve bu imkanı sağladıklarından ve her türlü yakın ilgilerinden dolayı kendilerine teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarım esnasında yardım, destek ve sıcaklıklarını gördüğüm, tez çalışmam sırasında her türlü yardımlarını benden esirgemeyen çok değerli arkadaşlarım Mahir BİNİCİ'ye ve Ahmet Serhat BAYAR'a sonsuz teşekkürler.

Zorluklarla dolu yüksek lisans çalışmalarım boyunca en zor anlarımda bile yanımda olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili Selçuk KURT'a, üniversite öğrenimimin her aşamasında varlığıyla beni rahatlatan, en zor anlarımda en büyük destekçim olan tanıyabileceğim en nadide insan olan Selma POYRAZ'a ve ayrıca bu süreç boyunca yanımda olan Gülsüm PEKTANÇ ve Gamze ERDOĞAN'a içten sevgilerimi sunuyorum.

Hayatıma, bu şekilde yön vermemde çok büyük emekleri olan her türlü ihtiyaç ve yardıma koşan ve her şeyimi borçlu olduğum 2012 ocak ayında aramızdan ayrılmış olan yokluğu ve sevgisini her zaman hissedeceğim canım babam Mustafa ÇALAR'a, biricik annem Nazime ÇALAR'a ve sevgili ablam Nazlı ÇALAR KURT'a, kardeşlerim M. Kerem, Canan, Büşra ve Ö. Kürşat'a ve sevgili halam Süheyla TEKDEMİR'e sonsuz teşekkür, sevgi ve saygılarımı sunarım.

Nazan ÇALAR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZET	V
ABSTARCT	VII
ÇİZELGE LİSTESİ	IX
RESİMLER LİSTESİ	X
KISALTMA ve SİMGELER	XI
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	7
3. MATERYAL ve MATOT	17
3.1. MATERYAL	17
3.1.1 Anaçların Genel Özellikleri	17
3.1.1.1. Antepfıstığı (<i>P. vera</i> L.) Anaç Özellikleri	17
3.1.1.2. Buttum (<i>P. khinjuk</i> Stock) Anaç Özellikleri	19
3.1.1.3. Melengiç (<i>P. terebinthus</i> L.) Anaç Özellikleri	19
3.1.1.4. Atlantik Sakızı (<i>P. atlantica</i> Desf.) Anaç Özellikleri	20
3.1.2. Mikroaşılama Kullanılacak Sakız Ağacının Genel Özellikleri	21
3.2. METOT	26
3.2.1. Sterilizasyon Teknikleri	26
3.2.2. Besi Ortamlarının ve Stok Çözeltilerinin Hazırlanması	27
3.2.3. Bitki Büyüme Düzenleyiciler İçin Stok Çözeltilerin Hazırlanması	30
3.2.4. Büyüme Odasının Düzeni	30
3.3. Anaçların Üretilmesi ve Aşıya Hazırlanması	30
3.3.1. Anaç Yetiştirilmesi Amacıyla Farklı <i>Pistacia</i> Türlerine Ait Tohumlar İçin Yüzey Sterilizasyon Tekniklerinin Geliştirilmesi	30
3.3.2. Anaç Yetiştirilmesi İçin Farklı <i>Pistacia</i> Türleri Tohumlarının Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi	32
3.4. Mikroçeliklerin Üretimi ve Hazırlanması	33
3.5. Mikroaşılama Çalışmaları	34
3.5.1. <i>Pistacia</i> Anaçları Üzerine Aşılanan Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametrelerinin Gelişimi Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi	35

3.5.1.1.	Antepfıstığı (<i>P. vera</i> L.) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi	35
3.5.1.2.	Buttum (<i>P. khinjuk</i> Stocks) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi	36
3.5.1.3.	Atlantik Sakızı (<i>P. atlantica</i> Desf.). Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi	36
3.5.1.4.	Melengiç (<i>P. terebinthus</i> L.) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi	37
3.5.2.	<i>Pistacia</i> Anaçları Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının (<i>P. lentiscus</i> L.)' Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Farklı Mikroçelik Uzunluğunun Etkisi	37
3.5.2.1.	Antepfıstığı (<i>P. vera</i> L.) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Farklı Mikroçelik Uzunluğunun Etkisi	37
3.5.2.2.	Buttum (<i>P. khinjuk</i> Stock) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Farklı Mikroçelik Uzunluğunun Etkisi	38
3.5.2.3.	Atlantik sakızı (<i>P. atlantica</i> Desf.) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Farklı Mikroçelik Uzunluğunun Etkisi	38
3.5.2.4.	Melengiç (<i>P. terebinthus</i> L.) Anacı Üzerine Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Farklı Mikroçelik Uzunluğunun Etkisi	39
3.6	<i>In vitro</i> Çoğaltılan Mikroaşılı Bitkilerin İklimlendirilmeye Alıştırılması	39
3.7	Verilerin Değerlendirilmesi	39
4.	BULGULAR ve TARTIŞMA	41
4.1.	Antepfıstığı (<i>P. vera</i> L.) Tohumlarının Sterilizasyonu Üzerine Farklı NaOCl Konsantrasyonlarının Etkisi	41
4.2.	Buttum (<i>P. khinjuk</i> Stock) Tohumlarının Sterilizasyonu Üzerine Farklı NaOCl Konsantrasyonlarının Etkisi	42
4.3.	Atlantik Sakızı (<i>P. atlantica</i> Desf.) Tohumlarının Sterilizasyonu Üzerine Farklı NaOCl Konsantrasyonlarının Etkisi	43
4.4.	Melengiç (<i>P. terebinthus</i> L.) Tohumlarının Sterilizasyonu Üzerine Farklı NaOCl Konsantrasyonlarının Etkisi	44
4.5.	Antepfıstığı (<i>P. vera</i> L.) Tohumlarından <i>In Vitro</i> Anaç Üretimi Üzerine Farklı BBD'lerin Etkisi	45

4.6.	Buttum (<i>P. khinjuk</i> Stock). Tohumlarından <i>In Vitro</i> Anaç Üretimi Üzerine Farklı BBD'lerin Etkisi	46
4.7.	Atlantik Sakızı (<i>P. atlantica</i> Desf.) Tohumlarından <i>In Vitro</i> Anaç Üretimi Üzerine Farklı BBD'lerin Etkisi	47
4.8.	Melengiç (<i>P. terebinthus</i> L.) Tohumlarından <i>In Vitro</i> Anaç Üretimi Üzerine Farklı BBD'lerin Etkisi	48
4.9.	Antepfıstığı (<i>P. vera</i> L.) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi	49
4.10.	Buttum (<i>P. khinjuk</i> Stocks) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi	51
4.11.	Atlantik sakızı (<i>P. atlantica</i> Desf.) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi	52
4.12.	Melengiç (<i>P. terebinthus</i> L.) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi	53
4.13.	Antepfıstığı (<i>P. vera</i> L) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Farklı Mikroçelik Uzunluğunun Etkisi	54
4.14.	Buttum (<i>P. khinjuk</i> Stocks) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Farklı Mikroçelik Uzunluğunun Etkisi	55
4.15.	Atlantik Sakızı (<i>P. atlantica</i> Desf.) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Farklı Mikroçelik Uzunluğunun Etkisi	56
4.16.	<i>In vitro</i> Çoğaltılan Mikroaşılı Bitkilerin Aklimatizasyonu	57
5.	SONUÇ ve ÖNERİLER	59
6.	KAYNAKLAR	61
7.	ÖZGEÇMİŞ	69

ÖZET

Sakız Ağacı (*Pistacia. lentiscus L.*)'nın *Pistacia* Anaçları (*Pistacia vera L.*, *Pistacia khinjuk* Stocks, *P. atlantica* Desf., *Pistacia terebinthus L.*) Üzerine *In Vitro* Mikroaşılanması

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nazan ÇALAR

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2013

Juvenil sakız ağacının (*Pistacia lentiscus L.*) sürgün uçlarının mikroaşılanması çalışıldı. Dört *Pistacia* türünün antepfıstığı, buttum, atlantik sakızı ve melengiç (*Pistacia vera L.*, *Pistacia khinjuk* Stocks, *Pistacia atlantica* Desf. ve *Pistacia terebinthus L.*) olgun tohumları için yüzey sterilizasyonu metotları geliştirildi. *In vitro* çimlendirilmiş olgun tohumlar anaç olarak kullanıldı: 14 günlük (*P. vera L.*, *P. khinjuk* Stocks) ve 8 haftalık (*P. atlantica* Desf. ve *P. terebinthus L.*) fidelerin sürgün uçları kotiledonlar üzerinden kesildi. Aşılanacak anaçların gelişimini gözlemlemek için 4 türün sürgün uzunluğu, gövde çapı ve kök uzunluğu gibi büyüme özellikleri, 3 farklı besi ortamında çalışıldı : (1) 0.5 mg^l⁻¹ BAP + 0.1 mg^l⁻¹ IBA, (2) 0.5 mg^l⁻¹ IBA + 0.1 mg^l⁻¹ BAP ve (3) kontrol grubu (bitki büyüme düzenleyicisiz). Sakız ağacının aksenik olarak çimlenmiş olgun tohumlarından köken alan sürgünler genç anaçlar (antepfıstığı, buttum, atlantik sakızı ve melengiç) üzerine *in vitro* ortamda mikroaşılandığında bütün kombinasyonlarda %100'lük bir başarı ile yeni sürgün-tomurcuk gelişmesi gözlenmiştir. Anaçların aşılama öncesi bütün yaprakları kesilerek gövde eksenini boyunca dikey bir yarık açıldı; Taban kısmı V şeklinde kesilen mikroçelikler anaçta açılan yarığa yerleştirilmiştir. Aşı başarısının gözlenmesi için mikroçelik uzunluğu ve kültür besi ortamının etkisi gibi parametreler ölçülmüştür.

Ortalama sürgün gövde çapı sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu değerleri anaç tipine göre değişti. Antepfıstığı ve buttum olgun tohumlarından anaçların gelişimi atlantik sakızı ve melengiçten daha hızlı olmuştur. Bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen MS besi ortamı bütün türlerde en iyi çimlenme ortamı gibi görünmekle birlikte de 0.5 mg^l⁻¹ BAP+0.1 mg^l⁻¹ IBA destekli MS besi ortamı anaç gelişimi için kullanıldı. Çünkü bu işlemde köklerin gelişiminin inhibe olduğu görüldü. En iyi anaç gelişimi atlantik sakızı ve melengiç'den ziyade antepfıstığı ve buttumun *in vitro* çimlenmiş olgun tohumlarından elde edildi. Atlantik sakızı ve melengiç tohumlarından sürgünlerinin yavaş gelişimi ve daha uzun kök farklılaşması çok aşıkardı. Antepfıstığı, buttum, atlantik sakızı ve melengiç'in kök uzunlukları için en iyi cevapları sırasıyla, 34.43 mm, 44.53 mm, 28.58 mm ve 16.83 mm olarak tespit edildi. Antepfıstığı ve buttumun 14 günlük fideleri anaç olarak kullanıldı. Çünkü antepfıstığı ve buttum için ortalama gövde çapları 2 haftalık kültürden sonra sırasıyla 2.38 mm ve 1.44 mm olarak tespit edildi. Atlantik sakızı ve melengiç fidelerinin yavaş gelişmesinden dolayı ancak 2 aylık kültür sonucu mikroaşılamaya hazır hale geldi. Genç anaçlar üzerine *in vitro* çoğaltılan sürgün uçlarının mikroaşılanması sonucu bütün işlemlerde 100% yeni tomurcuk ya da sürgün gelişimi gözlendi. Mikroaşılanmış fidelerde köklerin gelişmesi kullanılan mikroçeliklerin uzunluğu ile doğrudan ilişkilidir. Mikroaşılanmamış fidelerde en iyi kök gelişimi 0.5 cm ve 1.0 cm'lik mikroçeliklerden ziyade 1.5 cm'lik mikroçeliklerle elde edilmiştir. Aşıların üzerinde aksillar sürgün gelişiminin olmaması ve yavaş büyüme genellikle mikroaşılanmamış bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen besi ortamı üzerinde kültüre alınmaları

halinde gözlemlendi. *In vitro* mikroaşılı bitkiler *in vivo* ortama başarılı bir şekilde alıştırıldı ve mikroaşılı bitkilerin alıştırılması sonucunda herhangi bir zorlukla karşılaşılması.

Bu çalışma olgun sakız ağacı genotiplerinin klonal olarak çoğaltılması için bir mikroaşılama protokolünün geliştirilmesi ve geleneksel sakız ağacı çoğaltma problemlerinin giderilmesi için etkili bir protokol olabileceği düşünülmektedir. Çünkü sakız ağacı erkek ve dişi bitkileri ayrı olan yani dioik ve çalı formunda bir bitkidir. İyi bir ağaç formu vermek uzun yıllar alabilmektedir. Bu da sakız ham maddesi üretiminde sürenin uzamasına neden olabilmektedir. Mikroaşılama yoluyla elde edilen tek gövdeli ve uygun bir gövde ve dal formu kazanmak daha rahat olacaktır.

Anahtar kelimeler: Damla sakızı, mikroaşılama, Sakız ağacı,vejetatif çoğalma

ABSTRACT

IN VITRO MICROGRAFTING OF LENTISK (*Pistacia lentiscus* L.) on *Pistacia* SPECIES (*Pistacia vera* L., *Pistacia khinjuk* Stocks, *Pistacia atlantica* Desf. and *Pistacia terebinthus* L.)

M.Sc. Thesis

Nazan ÇALAR

DEPARTMENT OF BIOLOGY

INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

UNIVERSITY OF DICLE

2013

The success of *in vitro* micrografting of shoot tips of juvenile lentisk (*Pistacia lentiscus* L.) has been examined. Surface sterilization methods for mature seeds of 4 *Pistacia* species were developed. The mature dry nuts of *Pistacia vera* L., *Pistacia khinjuk* Stocks, *Pistacia atlantica* Desf., *Pistacia terebinthus* L. that germinated *in vitro* were used as rootstocks: Ten- to 14-day-old (for *P. vera* L. and *P. khinjuk* Stocks) and 8 weeks (for *P. terebinthus* L. and *P. atlantica* Desf.) *in vitro* seedlings after decapitation above the cotyledons. Growth characteristics such as root length, shoot length and shoot diameter of all four species during the development of micrografts were determined in the tree different growth media: (1) 0.5 mg⁻¹ BAP + 0.1 mg⁻¹ IBA, (2) 0.5 mg⁻¹ IBA + 0.1 mg⁻¹ BAP and (3) the control group (without plant growth regulator). Shoot tips derived from axenic germinated mature seeds of lentisk micrografted onto *in vitro* juvenile rootstocks of *P.vera* L., *P.khinjuk* Stocks, *P. atlantica* Desf., *P. terebinthus* L., resulted in the restoration of shoot-bud proliferation with a 100% success with all combinations when the rootstock was decapitated to remove all leaves and a vertical slit was made on the stump; the scion base, cut in a v-shape, was fitted to the slit. Variables tested include a size of microscion and effects of culture medium were used in order to determine the micrografting success.

The mean shoot diameter, shoot length and root length varied according to the rootstock types. The growth of rootstocks from mature seeds of *P. vera* L. and *P. khinjuk* Stocks were developed faster than *P. terebinthus* L. and *P. atlantica* Desf. Plant growth regulator free MS medium was the best germination medium for all species but 0.5 mg⁻¹ BAP + 0.1 mg⁻¹ IBA supplemented MS medium was used for the development of rootstocks because the development of roots was generally inhibited in this treatment. The best growth of rootstocks was obtained with the *in vitro* germinated mature seeds of *P. vera* L. and *P. khinjuk* Stocks rather than *P. atlantica* Desf. and *P. terebinthus*. Slow growth of shoot and longer root developments for *P. atlantica* L. and *P. terebinthus* was noticeable when the seeds were cultured on the IBA containing germination medium. The best responses for root length of *P.vera* L., *P.khinjuk* Stocks, *P. atlantica* Defs. and *P. terebinthus* L. was 34.43 mm, 44.53 mm, 28.58 mm and 16.83 mm, respectively. The 14-day-old seedlings of *P.vera* L. and *P.khinjuk* Stocks were used as rootstock because the mean shoot diameters for *P. vera* L. and *P. khinjuk* Stocks were reached to 2.38 mm and 1.44 mm, respectively two weeks after culture. The seedlings of *P. atlantica* Desf. and *P. terebinthus* L. were developed slow and became ready for micrografting two months after culture. Shoot tips from juvenile lentisk micrografted onto *in vitro* juvenile rootstocks resulted in the restoration of shoot bud proliferation with a 100% success in all treatments tested. Root development of the micrografts was directly related with the length of the microscion used. The better root growth of micrografts was obtained with the 1.5 cm long shoot tips rather than 0.5 and 1.0 cm microscions. Slow growth and lack of axillary shoot development on the micrografts was noticeable when the micrografts were cultured on plant growth regulator-free medium. *In vitro* micrografted plantlets were successfully acclimatized and no problems were encountered with the establishment of micrografted plants *in vivo*.

This study may be an efficient protocol the establishment of a micrografting protocol for clonally propagating mature lentisk genotypes may be an efficient technique overcoming conventional lentisk propagation problems because *P. lentiscus* L. is a shrub or dioecious tree, with separate male and female plants, and it needs several years to become a tree form by budding up to 5 m high in order to cultivate for its aromatic resin. It is expected that the micrografted plants will have one stem and several axillar branches.

Key words: Lentisk, Micrografting, *Pistacia lentiscus* L., Vegetative propagation

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge.3.1.	Temel MS Besi Ortamının İçeriği	29
Çizelge.4.1.	Antepfıstığı (<i>P. vera</i> L.) Tohumlarının Sterilizasyonu Üzerine Farklı NaOCl Konsantrasyonlarının Etkisi	41
Çizelge. 4.2.	Buttum (<i>P. khinjuk</i> Stock) Tohumlarının Sterilizasyonu Üzerine Farklı NaOCl Konsantrasyonlarının Etkisi	42
Çizelge.4.3.	Atlantik Sakızı (<i>P. atlantica</i> Desf.) Tohumlarının Sterilizasyonu Üzerine Farklı NaOCl Konsantrasyonlarının Etkisi	43
Çizelge 4.4.	Melengiç (<i>P. terebinthus</i> L.) Tohumlarının Sterilizasyonu Üzerine Farklı NaOCl Konsantrasyonlarının Etkisi	44
Çizelge 4.5.	Antepfıstığı Tohumlarının Çimlenme Oranı, Sürgün Uzunluğu, Kök Uzunluğu, ve Aşı Noktası Çapının Gelişimi Üzerine Farklı BBD'lerin Etkisi	45
Çizelge.4.6.	Buttum Olgun Tohumlarının Çimlenme Oranı, Sürgün Uzunluğu, Kök Uzunluğu, ve Aşı Noktası Çapının Gelişimi Üzerine Farklı BBD'lerin Etkisi	46
Çizelge.4.7.	Atlantik sakızı Olgun Tohumlarının Çimlenme Oranı, Sürgün Uzunluğu, Kök Uzunluğu, ve Aşı Noktası Çapının Gelişimi Üzerine Farklı BBD'lerin Etkisi	47
Çizelge.4.8.	Melengiç Olgun Tohumlarının Çimlenme Oranı, Sürgün Uzunluğu, Kök Uzunluğu, ve Aşı Noktası Çapının Gelişimi Üzerine Farklı BBD'lerin Etkisi	48
Çizelge.4.9.	Antepfıstığı (<i>P.vera</i> L.) Anacı Üzerine Mikroaşılı Sakız Ağacının Gelişimi Üzerine BBD Kombinasyonlarının Etkisi	49
Çizelge.4.10.	Buttum (<i>P. khinjuk</i> Stock) Anacı Üzerine Mikroaşılı Sakız Ağacının Gelişimi Üzerine BBD Kombinasyonlarının Etkisi	51
Çizelge.4.11.	Atlantik Sakızı (<i>P. atlantica</i> Desf.) Anacı Üzerine Mikroaşılı Sakız Ağacının Gelişimi Üzerine BBD Kombinasyonlarının Etkisi	52
Çizelge.4.12.	Melengiç (<i>P. terebinthus</i> L.) Anacı Üzerine Mikroaşılı Sakız Ağacının Gelişimi Üzerine BBD Kombinasyonlarının Etkisi	53
Çizelge.4.13.	Antepfıstığı (<i>P. vera</i> L.) Anacı Üzerine Mikroaşılı Sakız Ağacının Gelişimi Üzerine Mikroçelik Uzunluğunun Etkisi	54
Çizelge.4.14.	Buttum (<i>P. khinjuk</i> Stock) Anacı Üzerine Mikroaşılı Sakız Ağacının Gelişimi Üzerine Mikroçelik Uzunluğunun Etkisi	55
Çizelge.4.15.	Atlantik Sakızı (<i>P. atlantica</i> Desf.) Anacı Üzerine Mikroaşılı Sakız Ağacının Gelişimi Üzerine Mikroçelik Uzunluğunun Etkisi	56

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Sekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1.	Antepfıstığı çeşidinin ekzokarplı (A) ve endokarplı (B) tohumları	18
Şekil 3.2.	Buttumun endokarplı tohumları	19
Şekil 3.3.	Melengiç meyveleri (A) ve endokarplı (B) tohumları	20
Şekil 3.4.	Atlantik sakızı endokarplı tohumları	21
Şekil 3.5.	Sakız ağacı olgunlaşmış (siyah renkli) ve olgunlaşmamış (kırmızı renkli) meyvelerin görünüşü	25
Şekil 3.6.	(A) Yüzey sterilizasyonundan hemen sonrakesi ortamına ekilmiş antepfıstığı ; ve (B) buttum tohumları; (C) besi ortamına ekildikten 2 hafta sonra gelişen antepfıstığı bitkileri	32
Şekil 3.7.	(A) BBD'siz besi ortamında kültüre alındıktan 2 hafta sonra gelişmiş buttum bitkileri; (B) IBA ağırlıklı besi ortamında kültüre alındıktan 14 gün sonra gelişmiş antepfıstığı bitkileri; (C) BAP ağırlıklı besi ortamında kültüre alındıktan 8 hafta sonra aşu kalınlığına gelmiş melengiç bitkileri	33
Şekil 3.8.	(A) Kültürün ilk günündeki sakız ağacı tohumları; (B) Kültürden 4 hafta sonraki çimlenmiş sakız ağacı tohumları; (C) 4 aylık proliferasyon sonrası materyal; (D) Laboratuvarda 2 yıldan beri 4 haftalık alt kültürlerle yaşatılan sakız ağacı sürgünleri	34
Şekil 3.9.	0.5 mg ^l ⁻¹ BAP + 0.1 mg ^l ⁻¹ IBA içeren besi ortamına aktarılmış mikroaşılı antepfıstığı bitkileri	36
Şekil 3.10.	Antepfıstığı üzerine 1.0 cm'lik sakız ağacıyla aşılannmış mikroaşılı fide (A); Aşılamadan 4 hafta sonraki aşılı bitkiler (B)	38
Şekil.4.11.	Buttum anacının 1.0 cm'lik mikroçelikle aşılandıktan 4 hafta sonraki gelişimi	55
Şekil.4.12.	Buttum üzerine aşılı sakız ağacı bitkisinin saksıya alındıktan 4 hafta sonraki görünümü	57
Şekil.4.13.	8 haftalık aklimatizasyondan sonra <i>in vivo</i> koşullara aktarılmaya hazır sakız ağacı aşılı buttum fideleri	58

KISALTMA VE SİMGELER

2,4 D	2,4-Diklorofenoksi Asetik Asit
gl ⁻¹	Gram/litre
mg ⁻¹	Miligram/litre
mg	Miligram
mm	Milimetre
cm	Santimetre
AND	Anderson Medium
BA	Benzyladenin
BBD	Bitki Büyüme Düzenleyici
BAP	6- Benzilaminopürin
CH	Kazein hidrolizat
DKW	Driver ve Kuniyuki (1984)
FAO	Food and Agriculture Organization
GA ₃	Gibberellik Asit
IAA	İndol-3 Asetik Asit
IBA	İndol-3 Butirik Asit
NAA	α-Naftalen Asetik Asit
MS	Murashige ve Skoog (1962)
LS	Linsmaier ve Skoog (1965)
NaOCl	Sodyum hipoklorit
SH	Schenk and Hildebrandt (1972)
TDZ	Thidiazuron
WPM	Woody Plant Medium (Lloyd ve McCown,1981)

1. GİRİŞ

Türkiye, dünya üzerinde uygun iklim kuşağındaki konumu itibariyle bahçe bitkileri yetiştiriciliği açısından üstün ekolojik avantaja sahiptir. Dünyada mevcut gen merkezleri arasında hem Yakınoğu ve hem de Akdeniz havzası içinde yer alan Türkiye, birçok meyve türlerinin anavatanı ve meyvecilik kültürünün beşığıdir. Nitekim, bugün dünya üzerinde kültürü yapılan 138 meyve türünden, subtropik meyve türleri de dahil olmak üzere 75 kadar tür ülkemizde yetiştirilebilmektedir. Çok sayıda tür ve çeşit zenginliğinin oluşturduğu bu potansiyel, farklı iklim ve toprak koşullarına adapte olabilecek çeşitlerin seçimi, farklı iç ve dış pazar taleplerine uygun ürün sunumu ve hastalıklara dayanıklı çeşitlerin seçimine olanak sağlayarak farklı amaçlara hizmet verebilecek alternatifler oluşturmaktadır.

Ülkemizin bazı ekstrem mikro klimaları dışında, hemen her yerinde meyvecilik yapılmaktadır. Karadeniz kıyısı boyunca elma, erik, fındık, portakal, mandalina ve çay; Marmara ve Ege'de zeytin, şeftali, incir, mandalina; Akdeniz kıyısında turunçgiller, muz ve zeytin; Güneydoğu'da diğer meyve türleriyle birlikte antepfıstığı ve zeytinlikler, bu bölgelerde ekonomik yönden önem ve ağırlık taşımaktadır. Kıyı bölgelerde dağların izin verdiği ölçüde, dar veya geniş alanlarda yer almış olan bu meyvelikler, Anadolu'nun iç kesimlerine doğru gidildikçe sulak vadiler boyunca ilerler. Gediz, Büyük Menderes, Fırat, Dicle, Yeşilırmak, Kızılırmak, Sakarya, Seyhan ve Ceyhan vadileri önemli meyve alanlarımızdır (Anonim, 2007).

Türkiye'de yetiştirilen meyve türleri dünya pazarında aranan türlerdir. Oysa subtropik meyve türlerinden ancak muz ve turunçgiller, tropik meyve türlerinden de Hindistan cevizi, kahve, kakao gibi bazılarının dünya pazarlarında ağırlıklı bir yeri vardır. Türk ekonomisinde meyveciliğin yeri büyüktür. 1927 yılından sonra meyve alanlarımızda sürekli artış görülmekle birlikte meyve alanında düşmeler görölse de bu oran son yıllarda yine yükselmiştir. Gelişmenin tarla ziraatındaki genişlemeye ayak uyduramaması, kısmen bu üretim alanının yetiştirme özellikleri ve bahçe kuruluşundaki güçlüklerle açıklanabilir. Her alanda meyvecilik yapılamaması, meyveciliğin genişlemesini de sınırlamaktadır. Meyvelikler genellikle sulanabilen araziler üzerinde kurulmaktadır.

Tarımsal gelirin milli gelir içinde önemli bir yeri bulunmaktadır. Tarım kolları içinde milli gelire katkısı bakımından bağ bahçe tarımı, tarla tarımı ve hayvancılıktan sonra üçüncü sırada yer almaktadır. Türkiye'den ihraç edilen önemli meyve türleri arasında fındık, antepfıstığı, incir, kuru üzüm, turuncgiller, sert kabuklu meyveler başta gelmektedir. Ceviz, fındık, kestane, antepfıstığı, pıkan, çam fıstığı ve badem sert kabuklu meyveler grubuna girer. Meyvenin sert kabuğu tamamıyla yumurtalığı teşkil eden karpellerden meydana gelmiş ve sertleşmiştir. İçinde ise yumurtadan meydana gelen meyveler vardır. Sert kabuklu meyvelerden antepfıstığı, ceviz ve kestane ihraç edilen ürünlerimizdendir. Son verilere göre, Türkiye yüzölçümünün %5.5 ini meyve, zeytin ve bağ alanları oluşturmaktadır. Toplam üretim miktarı yıllara göre değişmekle birlikte 2012 yılı içinde zeytin (sofralık ve yağlık) de dahil olmak üzere sert kabuklu meyveler olan badem, fındık, ceviz, kestane ve antepfıstığının toplam üretimi yaklaşık olarak 2.973.473 ton civarındadır (Anonim, 2013a).

Antepfıstığının (*P. vera* L.) Tunus (Ghorbel ve ark. 1998), Mısır (Hussein, 1998), İspanya (Batlle ve ark. 1998), Pakistan (Anwar ve Rabbani, 1998) ve İtalya florasında üç türü (Pignatti, 1982), Fas (Loudyi, 1998), Lübnan (Talhouk ve ark. 1998), Irak (Rechinger, 1982) ve Avrupa florasında dört türü (Tutin ve ark. 1968), Yunanistan (Zakynthinos ve Rouskas, 1998), Filistin (Zohary, 1972), İsrail (Zohary, 1972) ve Suriye'de beş türü (Post ve Dinsmore, 1932) ve Türkiye florasında ise altı türü (Yaltrık, 1967) tespit edilmiş olup ülkemiz bu bağlamda *Pistacia* cinsi için çok büyük bir gen merkezi konumundadır. *Pistacia* cinsi içinde önemli bir yeri olan antepfıstığının 2008-2011 yılları ülkemizdeki üretim ortalaması 110.000 tondur (Anonim, 2013). Dünyada toplam üretimi ise 328.000 tondur. Ülkemiz bu üretimi ile İran ve A.B.D'den sonra 3. sırada gelmektedir. Aynı familyanın diğer bir üyesi olan sakız ağacını (*P. lentiscus* L.) ekonomik anlamda önemli kılan, bu bitkinin bir botanik varyetesi olarak kabul edilen *P. lentiscus* var. Chia Duham.'dan sakız (mastik) elde edilmesidir. Türün geniş yayılış alanına karşın, sakız ağacının kültürü çok eski zamanlardan beri sadece Yunanistan'ın Sakız Adası'nın güneyinde yapılmaktadır. Sakız ağacı kültürünün bu kadar dar alanda kalmış olmasında bazı ekolojik faktörlerin belirleyici olduğu bildirilmektedir (Browicz, 1987; Acar, 1988; Perikos, 1993).

Damla sakızının eski çağlardan beri gıda olarak kullanıldığını bilmekteyiz. Yunanistan'ın Sakız Adası'nda Damla Sakızı Yetiştiricileri Birliği 1955 yılında

kurulmuş olup ilk fabrika 1957'de 8000 kilo damla sakızı üretimiyle işlemeye başlamıştır. Bu miktar 1988' de 192.000 kg'a ulaşmıştır. Bu zaman süresince birlik damla sakızı üretimini sistematik hale getirmeyi ve damla sakızının kullanım alanlarını genişletmeyi amaçlamıştır (Anonim, 2013b).

Sakız üretimi için öncelikle çalı formundaki sakız ağaçlarının ağaç formuna getirilmesi veya sakız veren çeşitlerle aşılması gereklidir. Çalı görünümündeki bu ağaçların ağaç formuna getirilmeleri için uzun yıllar gereklidir. Dünyada bugün sadece Yunanistan'ın Sakız Adası'nda ticari damla sakızı üretimi gerçekleştirilmekte, üretilen sakız ya ham olarak ya da işlenerek değişik ürünlerde katkı maddesi olarak kullanılmak üzere ihraç edilerek milyonlarca dolar gelir ülke ekonomisine katkı sağlamaktadır. Bu yüksek gelir nedeniyle Sakız Adası'ndan her türlü bitkisel materyalin ada dışına çıkarılması kesinlikle yasaklanmıştır. Yetiştiricilik, üretim ve pazarlama etkinlikleri Sakız Adası'ndaki üreticiler birliğinin kontrolü altındadır. Avrupa Birliği'nin ilgili kurumları tarafından Sakız Adası'nın bir kısmı koruma altına alınmış ve sakız üretiminin devamlılığı ve artırılması için sınırsız maddi destek sağlanmaktadır. Türkiye'nin yıllık damla sakızı ihtiyacı ise, yaklaşık 18 ton civarındadır. Bu ihtiyaç 2008 yılında 8 tonu ithal, 10 ton da kaçak olarak ülkemize aktarılması ile sağlanmıştır (Bilgin, 2009). Yakın geçmişe kadar Çeşme yarımadasının belli yörelerindeki plantasyonlardan sakız üretimi yapıldığı bilinmektedir. Ancak son 20 yılda yörede hızla artan turizm yatırımları nedeniyle tarım alanları daralmış sonuçta sakız üreticiliği ekonomik önemini yitirmiş ve mevcut ağaç varlığı da yok olma tehlikesiyle karşı karşıya kalmıştır. Bununla birlikte, son zamanlarda bu ürüne olan talep artışına bağlı olarak, sakız ağacı kültürünün yeniden canlandırılmasına yönelik girişimler olduğu gözlenmektedir. Bu açıdan, yörede bulunan eski plantasyonların yenilenmesi ve yaygınlaştırılması, yeterli miktar ve kalitede fidan üretimini gündeme getirmiştir. Aslında özellikle ege bölgesinde sakız ağacı potansiyeli, Sakız Adası'ndan daha fazladır. Ancak bu bitkiler terbiye edilmemiş bozuk nitelikte çalı formunda olduğu için ağaç formuna döndürülmesi gereklidir. Bu nedenle 2008 yılında, Falım sakızları (Cadbury) ve TEMA Vakfı İzmir Gülbahçe'de, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü araştırma sahasında "Bozuk Sakız Ağacı Rehabilitasyonu Projesi" ile sakız ağaçlarının aşılması yoluyla, damla sakızı üretiminin gerçekleştirilmesi ile ülkemize ekonomik girdi sağlanması hedeflenmiştir. Projede, sahada mevcut 17.867 adet bozuk sakız

ağacının rehabilitasyonun ve aşılmasının yapılması ve ayrıca yaklaşık 6.000 adet aşılı sakız fidanı dikiminin gerçekleştirilmesi planlanmıştır. Projenin son durumu hakkında TEMA Vakfı/İstanbul temsilciliği Orman ve Kırsal Kalkınma Bölüm Başkanı ve proje yürütücüsü Hikmet ÖZTÜRK ile görüşüldü ve 80-90 yaşındaki sakız ağaçlardan alınan materyalleri (aşı kalemi) yine sakız ağaçlarına aşılama ve çelikle çoğaltımda % 0 başarı oranının elde edildiği, daha sonra sakız ağaçlarının tehlike altında olmasından ve seçkin klonları tespit için Urla'da "Klon Park" Projesi oluşturulmuş. Klon Park projesi kapsamında; toplamda 52 klondan 340 adet rametin dikimi gerçekleştirildiği, klonlar arası aşı başarısında farklılıklar görüldüğü, çalışma yapılan %10'luk klon sayısında ise, %50 ve üzerinde aşı başarısı sağlandığı belirtilmiştir. Ancak ekonomik ömrü geçmiş ağaçların aşılmasında çok sayıda problemle karşılaşılabilir. Bu problemler arasında; aşı uyumsuzluğu, uygun aşı kalemi temini, aşı kalemi alma ve aşılama zamanına ilişkin sorunlar sayılabilir. Kullanılan aşı kalemlerinin uygun damızlık ağaçlardan alınmaması durumunda, aşılama ağaçlarının homojen bir sakız verimi garanti altına alınamaz.

Sakız ağacının geleneksel çoğaltım yöntemi, iki veya daha yaşlı dallardan hazırlanan odun çeliklerinin kış aylarında doğrudan bahçe tesis edilecek araziye dikilmesine dayanmaktadır (İsfendiyaroğlu, 2003). Bu yöntemde hem köklenme uzun sürmekte hem de başarı oranı düşüktür. Çeliklerle vejetatif çoğaltımı *in vitro* ortamda çalışan Mascarello ve ark. (2007) köklenme oranının düşük olduğunu ve bahçeye aktarılan bitki sayısının bu nedenle daha da düşük olduğunu bildirmiş ancak çalışmada köklenme yüzdesine ait bulgulara yer verilmemiştir. Bununla birlikte İsfendiyaroğlu (2003), kontrollü koşullar altında şubat ayında alınan yapraklı odun çeliklerinin 20 mg l⁻¹ IBA ile muamele edilmesi ile %45 köklenme sağladığını bildirmektedir. Bir yıl içerisinde 11 farklı tarihte alınan çeliklerde ikinci en yüksek köklenme oranı ise, %29 ile Mart ayında elde edildiği bildirilmiştir. Son zamanlarda çeliklerin köklenmesinde elde edilen sonuçlar umut verici olsa da, sakız ağacı *in vivo* vejetatif yöntemlerle çoğaltımı sonucunda oluşan bitkiler çalı formu kazanmasından dolayı bu çalı formundaki ağaçların da ağaç formuna dönüştürülmesi gerekmektedir. Bugüne kadar sakız ağacının gerek çöğür ve gerekse doğadaki yabani formlar üzerine aşılmasına yönelik çalışmalarda da başarı sağlanamadığı bildirilmektedir (Acar, 1988). Sakız ağacı çoğaltımı için kullanılan geleneksel yöntemlerin, bu türe olan fidan taleplerini karşılamakta yetersiz kalacağı aşıkardır.

Sakız fidanı ihtiyacını geleneksel metotlarla karşılamak uzun bir süreç gerektirdiğinden ve mikroçoğaltım sadece juvenil materyalde başarılı sonuçlar rapor edildiği için mikroaşılama ile kısa sürede ve seri bir şekilde üretim yapılabilir. Mikroaşılama sakız ağaçlarının daha hızlı ve güvenli bir şekilde çoğaltılabilmesi ve araziye aktarılabilir forma daha hızlı dönüştürülebilmesi mikroaşılama yönteminin sakız fidanı üretim sorunlarını çözecektir.

Sakız ağacı üzerinde çeşitli araştırmacılar tarafından bitki doku kültürü yöntemleri çalışılmış fakat başarılı sonuçlar elde edilmemiştir (Taşkın ve İnal, 2005; Mascarello ve ark. 2007; Ruffoni ve ark. 2004). Sakız ağacının mikroçoğaltımı için geliştirilen *in vitro* tekniklerin ticari kullanımı için, laboratuvardan araziye bütünleşmiş bir çoğaltım yönteminin önerilebilmesi amacıyla, geliştirilen *in vitro* çoğaltım tekniklerinin optimize edilmesi ve biyoteknolojik yöntemler ile desteklenmesi gerekmektedir. Yıldırım,(2012) tarafından juvenil materyalden kültür başlatarak sakız ağacının mikroçoğaltılması için entegre bir protokol tanımlanmasının dışında bu güne kadar başarılı olgun materyallerin mikroçoğaltılması henüz rapor edilmemiştir.

Bu çalışmanın amacı, iyi sakız ürünü veren ağaçların hızlı çoğaltılmasında rutin olarak kullanılacak bir *in vitro* mikroaşılama protokolünün geliştirilmesidir. Bu amaçla *in vitro* çimlendirilen. antepfıstığı (*P. vera* L.), buttum (*P. khinjuk* Stocks), atlantik sakızı (*P.atlantica* Desf.) ve melengiç (*P. terebinthus* L.) türleri üzerine, juvenil sakız ağacı regenerantlarının mikroaşılanarak model bir çoğaltma protokolü geliştirilmiştir. Bu bağlamda yapılan çalışmayla ortaya çıkan bulgular gelecek dönemlerde olgun sakız ağacı bitkisinde yapılacak *in vitro* mikroaşılama çalışmaları için temel teşkil etmesi muhtemel görülmektedir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

In vitro koşullarda yapılan mikroçoğaltma; ıslah edilmiş bitkisel materyallerin hızlı ve üretimi, vejetasyona bağlı kalmadan üretim yapılabilmesi ve klasik yöntemlerle yapılan çoğaltım şekillerine alternatif ve destekleyici bir yaklaşım sergilemektedir. Başlangıçta turuncgillerde virüsten ari fidan üretimi amacıyla geliştirilen ve daha sonraları farklı meyve ve odunsu bitki türlerine, farklı amaçlara yönelik olarak uygulanan ve günümüzde çok farklı alanlarda ve bitki türlerinde gerçekleştirilmiş *in vitro* mikroaşılama çalışmaları bulunmaktadır. Yapılan çalışma kapsamında, özellikle sert kabuklu meyve türlerine ait *in vitro* mikroaşılama çalışmaları ve yine kullandığımız *Pistacia* türlerinin mikroçoğaltımı ve mikroaşılama ile ilgili önceki dönemlerde farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalar bir araya getirilmiştir.

Aşılama, iki canlı bitki dokusunun (anaç-kalem) birleştirilmesidir. Aşının iki unsurundan biri; belli uzunlukta bir sürgün ucu (aşı kalemi), diğeri ise çimlendirilmiş tohum, köklendirilmiş çelik ya da daldırılmış bitkiden elde edilen anaçlardır. Bitkilerde ilk aşılama, Milattan 1000 yıl önce Çinliler tarafından uygulanmıştır (Hartman ve Kester, 1983). 1821'de 119 geleneksel aşı tekniği tanımlanmıştır. (Hartman ve Kester, 1983). Bitki türlerine ve anaca göre uzunluğu değişmekle birlikte belli uzunluktaki sürgün ucunun, tohumdan ya da *in vitro* mikroçoğaltma yoluyla elde edilmiş ve tepesi kesilerek değişik biçimlerde hazırlanmış anaçlar üzerine steril koşullarda yerleştirilmesi işlemi mikroaşılama olarak tanımlanmaktadır.

Mikroaşılama *in vivo* ve *in vitro* olarak ayrılabilir. *In vivo* mikroaşılama da çoğaltılması istenilen anaç, bitkiden alınan küçük bir çeliğin, sera şartlarında veya bahçelerde yetiştirilen bir anaç üzerine aşılamaından ibarettir. Bu teknik ilk olarak 1920'li yıllarda uygulanmıştır. *In vitro* mikroaşılama da ise mikroçoğaltma ile elde edilen mikroçeliklerin, aseptik olarak çimlendirilen tohumlardan elde edilen anaçlar üzerine aşılama söz konusudur. Anaçlar *in vitro* çimlendirilen tohumlardan veya mikroçoğaltma ile elde edilen köklü-köksüz bitkilerden oluşur. *In vitro* mikroaşılama tekniği ilk defa Murashige ve arkadaşları (1972), tarafından *Citrus* türleri ve hibritlerinin apikal uçlarının hastaliksız anaç bitkiler üzerine mikroaşılama ile başarılmıştır. Bu çalışmalarında, temel amaç virüssüz bitki elde etmek ve nusellus dokularından elde edilen bitkilerin tipik juvenil safhasını ortadan kaldırmak olmuştur.

Bu başarılı çalışmadan sonra *in vitro* mikroaşılama, çoğu araştırmacı tarafından farklı amaçlara yönelik olarak kullanılmıştır.

Abousalim ve Mantell (1992), antepfıstığında (*P. vera* L.) mikroaşılama çalışmalarında anaç olarak açıkta tozlanmış antepfıstığı çeşidinin ağaçlarından alınan tohumların *in vitro* koşullarda çimlendirilmesi ile elde ettikleri 12 günlük çöğürleri, kalem olarak da aynı çeşidin 4 yaşlı ağaçlarından alınan eksplantlar ile oluşturulmuş *in vitro* kültürlerden elde edilen 2-3 nodal tomurcuğuna sahip 8-10 mm uzunluğundaki sürgün uçlarını kullanmışlardır. Aşılamadan önce anacın 15-20 mm yükseklikten tepesi kesilmiş, kökleri de 30-40 mm olacak şekilde kısaltılmış ve anacın tepe kısmından aşağı doğru aşı için bir kesim yapılmıştır. Kalemin ucu V şeklinde hazırlanmış ve anaçta yapılan yarık içerisine yerleştirilmiştir. Aşılı çöğürler bir filtre kağıdı köprüsü kullanılarak sıvı MS ortamında kültüre alınmıştır. İkinci bir denemede dezenfekte edilen tohumlar doğrudan bir milcap sentetik desteğin (polipropilen lif) üst kısmında kültüre alınmış ve 12 gün sonra çöğürler aşılanmıştır. En iyi sonuçların son teknikte elde edildiği çalışmada vaskular birleşme aşılamadan 21 gün sonra meydana gelmiştir.

Onay ve ark. (2003), antepfıstığında *in vitro* ve *ex vitro* mikroaşılama başarısı üzerine aşı kalemi kaynağı olarak farklı yaşlardaki ağaçların, *in vitro* ve *ex vitro* sürgün uçlarının ve BAP (1 mg l^{-1}) uygulanmış sürgün uçlarının etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada, aşı kalemi kaynağı olarak 1, 5, 10 ve 30 yaşındaki ağaçlardan alınan eksplantların *in vitro* sürgünlerinden hazırlanan aşı kalemleri, MS besin ortamında çimlendirilmiş 10-12 günlük çöğürler üzerine, *ex vitro* mikroaşılamada ise sera koşullarında geliştirilmiş 3 aylık çöğürler üzerine yarma aşı tekniği ile aşılanmıştır. Aşı başarı oranı, *in vitro* aşılamada kalem kaynağı olarak yaşlı ağaçlar kullanıldığında %90 olurken, *ex vitro* aşılamada yine aynı yaşta doğrudan ya da 1 mg l^{-1} BAP uygulandıktan sonra aşılanan sürgün uçlarında %90-95 bulunmuştur.

Onay ve ark. (2004), olgun kalemlerde proliferasyon gücünü ve köklenme yeteneğini arttırmak üzere mikroaşılamamanın bir potansiyele sahip olduğunu bildirdikleri çalışmalarında antepfıstığının (*P. vera* L.) Siirt çeşidinin 30 yaşındaki olgun bir ağacından aldıkları sürgünleri ya doğrudan ya da *in vitro* koşullarda sürgün ucu kültürü ile çoğalttıktan sonra, aseptik koşullarda çimlendirdikleri 10-14 günlük çöğürler üzerine yine *in vitro* mikroaşılama tekniği ile aşılamışlardır. Araştırmacılar mikroaşı başarıları

üzerine; aşı tipi, aşı kalemi uzunluğu, besin ortamının yapısı ve eksplantların aşı kalemlerinin damızlık bitkilerden alınma zamanının etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada aşı tipi olarak yarma aşı, anacın gövdesi üzerine yarma aşı ve yaprak koltuğuna yarma aşı; aşı kalemi uzunluğu olarak *in vitro* koşullarda elde edilen sürgünlerden <0.5, 0.5-1, 2-4, 4-6 ya da >10 mm uzunlukta hazırlanan kalemler; besin ortamı olarak çimlendirme ortamı; 0.5 mg⁻¹ BAP ilave edilmiş MS, köklendirme ortamı; 0.5 mg⁻¹ IBA ilave edilmiş MS ya da büyümeyi düzenleyici madde içermeyen MS temel besin ortamları kullandılar. Aşı dönemi olarak da Şubat, Nisan, Haziran, Ağustos ya da Aralık ayları çalışılmıştır. Araştırmada yapılan gözlemler sonucunda en başarılı aşı yöntemi olarak yarma aşı (%80) bulunmuş; gövde üzerine yarma aşı başarısı %60, yaprak koltuğuna yarma aşı başarısı ise, %68 olarak belirtilmiştir. En uygun aşı kalemi uzunluğunun 4-6 mm (%79.2) olarak bildirildiği çalışmada 2-4 mm uzunlukta %56.7, 0.5-1 mm uzunlukta %27.2, 10 mm'den daha uzun kalemlerde %17.2 ve 0.5 mm'den daha kısa uzunluktaki kalemlerde ise %0 aşı başarısı elde edilmiştir. Hem aşı başarısı (%72) ve hem de aksillar sürgün gelişimi (%55) üzerine en etkili ortamın çimlendirme ortamına 0.5 mg⁻¹ BAP ilave edilmiş MS olduğu bulunmuştur. Bu değerler köklendirme ortamında (0.5 mg⁻¹ IBA) %36 ve %28.5, büyümeyi düzenleyici madde içermeyen MS ortamında ise sırasıyla %47 ve %0 olarak kaydedilmiştir. Genel olarak, aşı başarısı *in vitro* sürgünlerden hazırlanan aşı kalemlerinin kullanıldığı durumda, doğrudan bitkiden alınan sürgün uçlarından hazırlanan aşı kalemlerinin kullanıldığı duruma göre daha yüksek bulunmuştur. Araştırmacılar, doğrudan bitkiden alınan sürgün uçlarının kullanıldığı durumda aşı başarısının en yüksek Nisan (%70) ve Haziran (%80) aylarında ve en düşük Şubat (%10) ve Aralık (%30) aylarında olduğunu, *in vitro* sürgünlerden hazırlanan aşı kalemlerinin kullanıldığı mikroaşılarda aşı başarısı (%50-80) bakımından aylar arasındaki farklılığın önemli olmadığını bildirmişlerdir.

Can ve ark. (2006), antepfıstığı (*P. vera* L.) Siirt çeşidini 4 farklı antepfıstığı anacı üzerine *in vitro* mikroaşılama tekniği ile aşılamaştır. Anaç olarak, *P. mutica*, *P. terebinthus*, *P. atlantica* ve *P. khinjuk* tohumlarının *in vitro* koşullarda çimlendirilmiş 20-22 günlük çöğürleri, kalem olarak da dış koşullarda gelişen olgun ağaçların 0.2-0.3 mm kalınlıktaki sürgün uçları kullanılmıştır. *In vitro* koşullarda gerçekleştirilen mikroaşılama sonrası anaç ve kalem arasında kaynaşma ve gelişme sağlanamamıştır.

Kuru koşullarda standart antepfıstığı çeşitlerine anaç olarak kullanılabilen *Pistacia* türlerinden en uygun anaçın belirlenmesi amacıyla; 1975-1996 yılları arasında Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü araştırma bahçesinde yürütülen bir çalışma ile antepfıstığı (*P. vera* L.), buttum (*P. khinjuk* Stocks) ve atlantik sakızı (*P. atlantica* Desf.) üzerine aşılama çeşitlerinin vegetatif gelişmesi, generatif gelişmesi ve meyve kalite özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. 1982, 1986 ve 1992 yıllarında olmak üzere bugüne kadar üç ara sonuç raporu verilmiş olup çalışmada kullanılan anaçların belirtilen özellikler üzerine farklı etkilerinin olduğu belirlenmiştir. 1975 yılında yetiştirilen buttum, antepfıstığı ve atlantik sakızı (*P. khinjuk* Stocks, *P. atlantica* L. ve *P. vera* L.) anaçlarında; anaç boylarının %1 güven sınırında farklı olduğu saptanmıştır (Koroğlu ve ark., 1997).

Juárez ve ark. (1992), tarafından bademde *in vitro* sürgün ucu aşılama yöntemi kullanılarak virüsten arı bitkiler elde edilmeye çalışılmıştır. Sera koşullarına aktarılan 4-5 haftalık aşılama bitkilerde %40-50 oranında aşı başarısı ve %75-85 hayatta kalma oranı sağlanmıştır. Araştırmada mikroaşılama elde edilen başarının tür ve çeşitlere göre önemli ölçüde değiştiği belirlenmiştir. Sonuçta tüm bitkilerde elma mozaik virüsünde (ApMV) %100, *Prunus* halkalı leke virüsünde (PNRSV) %80 ve cücelik virüsünde (PDV) %46 eliminasyon sağlanmıştır.

Ghorbel ve ark. (1998), Achak badem çeşidinin mikroaşılama ile ilgili olarak yaptıkları çalışmada; aseptik anaçlar üzerine mikroaşılama metodu geliştirmek için mikroaşılama başarısını, aşı kalemin kaynağı ve mikroaşılama fizyolojik durumu tespit edilmeye çalışılmıştır. Arazideki bitkiler üzerinden alınan aktif sürgün uçları, küçük tomurcuklar ve meristematik dokular kültür başlatma için iki ayrı kaynak olarak kullanılmıştır. Kültür başlatıldıktan sonra *in vitro* üretilen altı haftalık sürgün uçları ve apikal tomurcuklar (3-5 mm) mikroaşılama olarak kullanılmıştır. Üstüne veya T şeklinde aşılama bu sürgünler ve tomurcuklardan %82.1 ve %79.2'lik aşı başarı oranları elde edildiği bildirilmiştir. Araziden alınan materyallerden çok sık kontaminasyon meydana gelmekle birlikte, daha küçük meristematik parçalar kullanıldığı durumlarda sıklıkla nekrozis meydana geldiği gözlenmiştir. Kullanılan bu teknik ile Achak badem çeşidinin mikroaşılama ve mikroaşılama kullanımı için iyi bir potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir.

Ghorbel ve ark. (1999), bademde (*Prunus dulcis* (Miller) D.A. Webb) Achak çeşidinde mikroaşılı, aşı tutma başarısı üzerine aşı yöntemi, kalem kaynağı ve aşılarda fizyolojik durumunun etkilerini belirlemek üzere aseptik koşullarda gerçekleştirmişlerdir. Hem aktif ve hem de dinlenme halindeki küçük sürgün, tomurcuk ve meristematik uçlar bahçe koşullarından alınmıştır. Aynı zamanda *in vitro* koşullarda gelişmiş 4-6 haftalık sürgünler ve küçük apikal tomurcuklar (3-5 mm) da kullanılmıştır. Bu sürgünlerin ve tomurcukların anacın tepesine (%82.1) ya da bir T kesiti içerisine (%79.2) aşılması aşı tutma başarısını artırmıştır. Bahçeden alınan eksplantlarda kontaminasyon sorunu ile çok sık karşılaşılmış ve fizyolojik olarak aktif meristematik uçlar kullanıldığında nekrosis sorunu sıkça gözlenmiştir. Araştırmacılar mikroaşılama tekniğinin Achak badem çeşidinin mikro çoğaltımı için iyi bir potansiyele sahip olduğunu ve ağaçların ciddi viral hastalık tehdidi altında bulunduğu Tunus'da badem bahçelerinin yenilenmesi için olası bir yöntem sunduğunu bildirmişlerdir.

Thimmappiah (2002), Kaju fıstığının *in vitro* aşılmasıyla ilgili olarak yapılan çalışmada; *in vitro* üretilmiş bitkiler anaç olarak kullanılmış ve ağaçlardan alınan sürgün ucu ve nodal tomurcuk kültürlerinden üretilen sürgünler mikroçelik olarak kullanılmıştır. *In vitro* ekilen tohumlardan çıkan bitkiler 20-25 günlük iken anaç olarak kullanılmıştır. Hormonun kullanılmadığı modifiye MS besi ortamına ekilen olgun bitkilerden alınan eksplantlardan üretilen 3-15 mm uzunluğundaki sürgün uçları aşılama için kullanılmıştır. Mikroaşılama bitkiler hormonsuz sıvı ½ MS besi ortamında kültüre alınmış ve 10-12 haftalık süre sonunda dış ortama aktarılacak duruma gelmişlerdir. Yapılan çalışmayla birlikte aşılama başarısını etkileyen en önemli iki hususun; aşılama metodu ve aşı kalemin uzunluğu olduğu bildirilmiştir. Sürgün ucu aşılama ve yan aşılama metotlarından sırasıyla %79.5 ve %100'lük aşı başarıları elde edilmiştir. Aşı kalemi uzunluğunun mikroaşı başarısı üzerine önemli etkisinin bulunduğu çalışmada; kalem uzunluğu 5 mm'den büyük olduğu durumlarda iyi sonuç vermesine rağmen, kalem uzunluğunun 3-5 mm'den kısa olduğu durumlarda ise çok düşük cereyan ettiği bildirilmiştir.

Lorenzo (2005), Kestanenin genç klonlar üzerine *in vitro* mikroaşılması ile ilgili yapılan çalışmada juvenil orijinli köklendirilmiş sürgünler anaç olarak kullanılmış, seçilmiş iki olgun klonun (75 yaşındaki ağaçlar) sürgün uçları yarma aşı metodu ile mikroaşılama yapılmıştır. Aşı tutma oranı %64-78 gerçekleşmiştir. Bir, iki, üç defa aşılama

materyallerin çoğaltım oranları; aşılammamış 8-12 defa alt kültüre alınmış klonların çoğaltım oranına göre daha yüksek çıktığı bildirilmiştir. Farklı defalar aşılammamış sürgünlerin çoğaltım oranları arasında önemli derecede bir fark ortaya çıkmamakla birlikte, mikroaşılamanın *in vitro* köklenmeyi etkilemediği görülmüştür. Çalışmada 30 gl⁻¹ sukroz, 7 gl⁻¹ difco-bacto agar ve 0.1 gl⁻¹ BAP ile desteklenen WPM besi ortamı kullanılmıştır.

Yıldırım ve ark. (2010), Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin mikroaşılmması için aşılammamış bitkilerin gelişimi üzerine çeşitli *in vitro* mikroaşı teknikleri, anaç-aşı kalemi üretimi, aşı kalemleri uzunluğu ve anaçların elde edilmesi, aşı kalemi uzunluğu ve besi ortamına ilave edilen oksin-sitokinin kombinasyonlarının etkisi incelenmiştir. Yabani badem tohumlarının *in vitro* çimlendirilmesiyle elde edilen 4 haftalık bitkiler anaç olarak kullanılmıştır. Adı geçen çeşitlerin mikro çoğaltımı için ağaçlardan alınan bir yaşlı sürgünler üzerindeki nodal tomurcukların laboratuvar şartlarında zorlanması sonucu elde edilen 3-5 mm uzunluğundaki sürgünler 0.7 mg l⁻¹ BA ve 0.01 mg l⁻¹ NAA içeren MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Uygulanan mikroaşı tekniklerinden elde edilen sonuçlara göre en başarılı yöntemin yarma aşı olduğu bildirilmektedir. Kullanılan 4-15 mm uzunluğundaki mikroçeliklerden elde edilen mikroaşı başarı oranları çok iyi gerçekleşirken; hormonsuz besi ortamında bulunan mikroaşılı bitkilerdeki büyüme ve sürgün gelişiminin yetersiz olduğu görülmüştür. Başarılı bir şekilde üretilen mikroaşılı bitkilerin aklimitasyonlarının başarılı bir şekilde yapıldığının bildirildiği çalışmada bu açıdan herhangi bir problemle karşılaşılmmamıştır. Yapılan çalışmayla birlikte geliştirilen teknik sayesinde Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin mikroaşılmması ve *in vitro* fidan üretiminde yüksek bir potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir.

Işıkalan ve ark. (2011), Nonpareil badem çeşidinin mikroaşılmması ve kalemlerin mikro çoğaltımı üzerine bitki üyüme düzenleyicilerinin etkisiyle ilgili olarak yapılan çalışmada; yabani badem tohumlarından *in vitro* elde edilen bitkiler anaç, Nonpareil badem çeşidine ait apikal sürgün uçlarının kullanılmasıyla *in vitro* üretilen 1.5-2 cm uzunluğundaki mikroçelikler aşı kalemi olarak kullanılmıştır. BAP'ın farklı konsantrasyonlarıyla MS destekli besi ortamında yapılan sürgün proliferasyon çalışmasından çıkan sonuca göre en iyi konsantrasyonun 1 mg l⁻¹ BAP olduğu bildirilmiş; bu oran arttıkça sürgün rejenerasyonunun önemli derecede azaldığı

görülmüştür. Elde edilen en iyi BAP oranına 0.2-0.4 mg^l⁻¹ IBA ile kombine edilmiş ortamlardan en iyisinin 1 mg^l⁻¹ BAP + 0.2 mg^l⁻¹ IBA'dan elde edildiği bildirilmiştir. Mikroaşılınmış bitkilerin gelişimi üzerine BAP ve IBA (1mg^l⁻¹)'nin etkisiyle ilgili olarak yapılan başka bir deneyde ise; badem anaçları üzerine aşılı bitkilerdeki en iyi aşı tutma oranı ve sürgün gelişiminin 1 mg^l⁻¹ BAP destekli ortamdan elde edildiği bildirilmiştir. *In vitro* mikroaşılınmış bitkilerin aklimitasyon işlemi plastik saksılar içerisine başarılı bir şekilde yapılmıştır. Mikroaşılınmış bitkilerin gelişimi üzerine BAP ve IBA (1mg^l⁻¹)'nin etkisiyle ilgili olarak yapılan başka bir deneyde ise; badem anaçları üzerine aşılı bitkilerdeki en iyi aşı tutma oranı ve sürgün gelişiminin 1 mg^l⁻¹ BAP destekli ortamdan elde edildiği bildirilmiştir. *In vitro* mikroaşılınmış bitkilerin aklimitasyon işlemi plastik saksılar içerisine başarılı bir şekilde yapılmıştır.

Monteuuis'a (2012) göre *in vitro* mikroaşılama; akselik kültür şartlarında yetiştirilen anaçlar üzerine küçük mikroçeliklerin aşılmasından oluşan ve son zamanlarda oldukça yaygın olarak kullanılan bir vejetatif çoğaltım tekniğidir. Bu yöntem mikroaşılamanın ve sürgün ucu kültürü metodunun sınırlamalarının üstesinden gelmekle birlikte, avantajlarını bir araya getirmektedir. Farklı bitki türlerinde uygulanan çeşitli *in vitro* aşı metodu geliştirilirken, birbirinden farklı aşılama tekniklerinin kullanıldığı ve elde edilen başarılı sonuçların *in vitro* anaç ve kalemlerin özelliğiyle ilgili olduğu gerçeğini ortaya çıkarmaktadır. *In vitro* mikroaşılama çalışmaları başlangıçta meyve ağacı tür ve çeşitlerinden endojen patojenleri uzaklaştırmak için geliştirilmişken; sonraları bu yöntem hızlı bir şekilde genişleyerek çeşitli odunsu bitkiler için farklı fizyolojik gelişme dönemlerinde farklı amaçlara yönelik olarak kullanılmıştır. Neticede *in vitro* aşılama; daha yaygın olarak kullanılan diğer vejetatif çoğaltım metotlarının sınırlamalarının üstesinden gelmek için daha fazla dikkat gerektiren ve aynı zamanda genetik olarak farklı doku ve hücrelerin arasındaki ilişkiyi araştırmak için önemli ve orijinal bir teknik olarak geliştiği bildirilmektedir.

Yıldırım ve ark. (2013), Nonpareil, Texas ve Ferrastar badem çeşitlerinin *in vitro* mikroaşılınmasıyla ilgili olarak yaptıkları çalışmada; tohumların *in vitro* çimlendirilmesiyle elde edilen 14 günlük anaçlar ve 4-6 mm uzunluğundaki sürgün uçları kullanılmıştır. Aşı tutma oranlarının %83-100 arasında değiştiğinin belirtildiği çalışmada, ayrıca kullanılan sürgün uçlarının üzerinde bulunan boğum sayılarının farklı parametreler üzerine etkisi incelenmiştir. Hormonsuz ortam, proliferasyon ortamı ve

köklenme ortamı olmak üzere üç farklı oksin-sitokinin kombinasyonunun mikroaşılı bitkilerin gelişmesi üzerine etkilerinin de incelendiği çalışmada, aşılama sonrası en iyi sürgün gelişiminin proliferasyon ortamında ve Teksas-Ferrastar-Nonpareil çeşitlerinde sırasıyla 19.84 mm, 16.5 mm ve 26.93 mm olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, mikroaşılama kullanılan sürgün uçlarının üretimi sırasında aylık periyotlar halinde her alt kültür sırasında moleküler analizler yapılarak mevcut çeşitlerde herhangi bir varyasyon görülüp görülmediği incelenmiştir. Geçen süreçte Teksas-Ferrastar-Nonpareil çeşitlerinde sırasıyla %3.7 – %6.25 – %10.2 oranında varyasyon meydana geldiği ancak bunun ihmal edilebilir olduğu ve üzerinde çalışılan badem çeşitlerinin sabit özelliğe sahip olduklarının tespit edildiği bildirilmiştir.

Taşkın ve İnal, 2005, tarafından yapılan çalışmada; ülkemizde sayısı giderek azalan sakız ağacı (*P. lentiscus* L. var. *chia*)'nın apikal sürgün uçları *in vitro* koşullarda farklı hormon konsantrasyonları içeren MS (Murashige ve Skoog, 1962) ve B5 (Gamborg ve ark., 1968) DKW (Driver ve Kuniyuki, 1984) ortamları orijinal ya da modifikasyonlar yapılarak ve antioksidantlar ilave edilerek hazırlanan ortamlarda kültüre alındığı bildirilmiştir. Yaşlı ağaçlar ve genç fidanlardan alınan materyalde fenolik bileşiklerin etkisinden dolayı gelişebilir özellikte rejenere sürgün veya organojenez oluşmadığı tespit edilmiştir.

McAlister ve ark. (2005) farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin sakız ağacı proliferasyonuna olan etkilerinin araştırılmasına ek olarak, son zamanlarda çeşitli bitki türlerinde olumlu sonuçlar veren ve bitki parçalarının belli zaman aralıklarında besi yeri ile muamele edildiği geçici daldırma biyoreaktör sistemleri (TIS) ile proliferasyonun iyileştirilmeye çalışılması proje hedeflerinden bir diğerini oluşturmaktadır. TIS sistemi katı ve sıvı besi yerlerinin üstünlüklerini birleştirmekte, özellikle de besin maddelerinin bitki hücreleri tarafından kolaylıkla alınmasını sağlarken, aynı zamanda bitkilerin katı olmayan bir ortamda büyümelerine de izin vermektedir. Farklı TIS sistemlerinden özellikle RITA® biyoreaktör sisteminin farklı bitki türlerinde olumlu sonuçlar verdiği bildirilmektedir (Escalona ve ark. 1999). Yine RITA® sistemi kullanılarak, ananas bitkisinin *in vitro* sürgünlerinin çoğaltım oranının arttığı bildirilmiştir. Buna ek olarak, çeşitli araştırmacılar sistemin bitki kalitesini arttırdığını (Özden-Tokatlı ve ark. 2007), kimyasal malzeme giderlerini azalttığını (Etienne ve ark. 1997; Berthouly ve Etienne, 2005), yaprak gelişimini iyileştirdiğini ve vitrifikasyonu azalttığını (Aitken-Christie ve

ark. 1995) belirtmektedirler. Ayrıca, geçici daldırma sisteminden gelen bitkilerin iklimlendirme ve fotoototrofik gelişmeye daha uygun olduğu da bildirilmiştir (Aitken-Christie ve ark., 1995). Farklı bitki türlerinin mikroçoğaltılmasında olumlu sonuçlar veren bu güncel sistem sakız bitkisinin *in vitro* proliferasyonunda henüz denenmemiştir.

Olgun sakız ağacı çeliklerinin köklenme oranının çok düşük olması ve genotipe bağlı olarak köklenme oranının değişiklik göstermesi çelikle çoğaltımın kullanımını kısıtlamaktadır. Etkili bir çoğaltım protokolü belirlemek amacıyla yabancı bitkilerdeki genç çelikler ve tohumlar *in vivo* ve *in vitro* kültür için Mascarello ve ark. (2007) tarafından test edilmiştir. Çimlenme oranını artırmak için tohumlar birkaç gün 4°C de saklamıştır ve çeşitli uygulamalar denenmiştir. HCl ile aşındırılmış ve GA₃ uygulanmış önceden dondurulmuş tohumlar yüksek çimlenme oranı vermiştir. Aseptik klonların belirlenmesinden sonra *in vitro* çoğaltım denemeleri 0,5 mg l⁻¹ BA içeren besi ortamında devam ettirilmiştir. Sürgün proliferasyon oranı eksplant başına 3.5 olarak kaydedilmiştir. IBA ve NAA'nın etkisinin test edildiği köklenme deneylerinden yüksek köklenme 0,5 mg l⁻¹ NAA içeren besi ortamında başarılı sonuç vermiştir (Mascarello ve ark., 2007).

Yıldırım (2012) sakız ağacının sürgün kültürlerini aseptik olarak çimlendirilen tohumlardan başlatmıştır. Farklı N6-benzyladenine (BA) konsantrasyonları, sitokinin ve diğer büyüme düzenleyicilerinin kombinasyonları, besiyerleri ve antioksidanlar gibi faktörleri denemiş ve *in vitro* sürgün çoğaltımı için bir protokol optimize etmiştir. 30 gl⁻¹ sukroz, 100 mg l⁻¹ PVP, 1 mg l⁻¹ BA and 7 gl⁻¹ agar içeren Gamborg vitaminli MS besi ortamında çoklu sürgün (tomurcuk) başlatılmasında 28 günlük kültür sonucunda eksplant başına 2.7 ± 0.17 sürgün (4.18 ± 0.17 tomurcuk) elde edildiğini bildirmiştir. Kök uyarılması için en az iki kez alt kültürlenmiş *in vitro* çoğaltılmış aksenik kültürlerin kullanımı ile oksinlerin ve mineralli besiyerinin kuvvetide çalışılmıştır. 1 mg l⁻¹ IBA içeren besiyerlerinde %92 köklenme elde etmiştir. Bitki aklimatizasyonunda geliştirilen metot başarılı olmuştur çünkü büyüme odasındaki bitkiler yüksek bir hayatta kalma oranını (%83.33) yakalamıştır ve yaşayan bitkiler 4 ay sonra büyümeye devam etmiştir (96%).

3. MATERYAL VE METOT

Bu araştırma, Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarında 2011-2013 yılları arasında yürütülmüştür. Araştırmada eksplant kaynağı olarak Sakız ağacı (*P. lentiscus* L.)'na ait tohumlar Çeşme Çiftlikköy civarındaki ağaçlardan, atlantik sakızı (*P. atlantica* Desf.)'na ait tohumlar Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsünden, melengiç, buttum ve antepfıstığı (*P. terebinthus* L., *P. khinjuk* Stocks ve *P. vera* L.) tohumları ise Siirt Fıstık Üreticileri Birliği'nden temin edilmiştir.

3.1. MATERYAL

3.1.1. Anaçların Genel Özellikleri

3.1.1.1. Antepfıstığı (*P. vera* L.) Anaç Özellikleri

Ülkemizde özellikle Gaziantep'te yaygın olarak kullanılmakla birlikte; Adıyaman, Şanlıurfa ve Kahramanmaraş illerinde nadir olarak kullanılan bir anaçtır. Taç yüksekliği 3-8 m olan, tek gövdeli ve özellikle dişi antepfıstığında şemsiye şeklini alan ağaçlar oluşturmaktadır. Ülkemiz antepfıstığı bahçelerinde en fazla *P. vera* (Uzun ve Kırmızı çeşitleri) tohumlarından üretilen yoz anaçlar kullanılmaktadır (Ayfer ve ark., 1990). Bu türe ait anaçlardaki yan kök gelişimi diğer türlere göre daha iyidir. Bununla birlikte Siirt çeşidine ait anaçlar daha erken aşı kalınlığına gelmektedir. Antepfıstığı anaçları; melengiçe göre kuvvetli, atlantik sakızına göre orta kuvvetlidir. Sulu koşullardaki yetiştiricilikte *Verticillium* hastalığına gösterdiği duyarlılık nedeniyle, son yıllarda anaç olarak kullanımı pek tavsiye edilmemektedir.

Antepfıstığı yazları uzun, sıcak, kurak ve kışları nispeten soğuk olan bölgelerde ekonomik olarak yetişebilmektedir. Antepfıstığının yetişme alanlarını belirleyen önemli faktörlerden birisi sıcaklıktır. Antepfıstığı ağaçları 5-7 metreye kadar büyüyebilir. Genç yaprakların tüylü, olgun yaprakların ise loblu olmasıyla bileşik pinnatlardan ayrılır. Dış taraflarında elle veya mekanik etkiyle meyve olgunlaşınca ayrılabilen etli kabuk bulunur. Antepfıstığının erkek ve dişi çiçekleri ayrı ayrı ağaçlar üzerinde bulunur. Antepfıstığında meyvenin yenilen kısmı tohumu olduğundan, meyve eldesi için tozlaşma ve dölleme zorunludur. Döllemeyen çiçekler dökülür veya bunlardan içi boş (fis) meyveler meydana gelir, dolayısıyla verim doğrudan etkilenir. Meyveleri 10-20 mm uzunluk ve 6-12 mm genişlikte, uzun ovalden küreye kadar değişik şekilli ve çoğu

kez yandan basıktır (Ayfer, 1959). Meyve yarı kuru ve tek çekirdeklidir. Meyvenin olgunluğu, yarı saydam bir halden opak bir görünüm alınca ve embriyoyu kuşatan endokarptan, mezokarp ve ekzokarp'ın ayrılması ve yumuşamasıyla anlaşılır. Endokarp ince kırmızı-menekşe renkli ve tohum açık renklerden siyah yeşile sıralanır. Meyvelerdeki ventral açıklık (yan çizgi) ilk kez temmuz sonlarında gözlenir. Tohum Eylül ortalarında tam fizyolojik olgunluğa ulaşır (Resim 3.1). Fizyolojik olgunluk, kabuktan epikarpın kolayca ayrılmasıyla anlaşılır (Crane, 1978). Bu ayrılma şeftalinin çekirdeğinin meyvenin etli kısmından ayrılması kadar kolaydır. Dünyada *Pistacia vera*'nın elliden fazla kültür varyetesi ve sayılamayacak sayıda yabani varyetesi bulunmaktadır (Anonim, 2002).

Kırmızı ekzokarplı meyveler üzüm gibi salkım oluştururlar. Fıstık çekirdeği olarak bilinirse de antepfıstığı meyveleri yenilebilir tohum kısmı botanikte drupa tipi meyveye girer. Boyu eninden fazla olan çekirdekler yaklaşık 1.0-1.5 cm uzunluğunda ve 0.5-1.0 cm enindedir ve fildişi renkli bir kabukla kaplıdır. Meyve olgunlaşınca genellikle kabuk çatlar. Uygun olmayan yetiştirme koşullarında tohum kabuğu çatlamaz. Tohum rengi sarı ve yeşilin değişik tonlarında olabilir ve bütün tohum içinde bu renk hakimdir (Atlı, 1992).



Resim 3.1. Antepfıstığı çeşidinin ekzokarplı (A) ve endokarplı (B) tohumları

3.1.1.2. Buttum (*P. khinjuk* Stocks) Anaç Özellikleri

Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin özellikle Siirt, Hakkari ve Bitlis illerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ağaçlar kışın yaprağını döker ve 4-10 m boylanırlar. Aynı gelişme durumundaki diğer anaçlara göre aşı noktası daha kalın

olduğundan, aşılamadaki kolaylık nedeniyle tercih edilmektedir. Sulama imkanının olmadığı koşullarda taç oluşturma bakımından atlantik sakızı, melengiç ve antepfıstığına göre daha iyi sonuç vermektedir. Kültür çeşitleriyle uyumu iyidir. Meyveleri eskiden beri yöre halkı tarafından çeşitli şekillerde değerlendirilmekle birlikte; özellikle tohumlarından elde edilen yağ sabun yapımında kullanılmaktadır (Resim 3.2).



Resim 3.2. Buttumun endokarpli tohumları

3.1.1.3. Melengiç (*P. terebinthus* L.) Anaç Özellikleri

Melengiç (*P. terebinthus* L.), Akdeniz ve Batı Asya'nın tipik bir bitkisidir. Anacardiaceae familyasına ait olan ağaç, Türkiye'nin batı ve güney bölgelerinde yaygın olarak yetişir ve melengiç adıyla bilinir. Ağaçlarının aşılması suretiyle bahçeler oluşturulmaktadır. Ülkemizde hem nemli ve bol yağışlı Akdeniz ikliminde, hem de kurak ve az yağışlı kara ikliminde yetişerek, yüksek bir adaptasyon kabiliyeti gösterir. Yabani olarak ormanlık alanlarda ve dağlarda ocak halinde 2-6 m boylanan ağaçlar oluşturur. *Pistacia* türleri içerisinde en kuvvetli kök sistemine sahiptir. Zayıf veya bodur özelliğinden dolayı, üzerine aşıllı çeşitler erken meyveye yatmakta ve üretilen meyve bol ve kaliteli olmaktadır (Tekin ve ark, 2001). Fidanlıkta anaç gelişimi yavaş olduğu için bu tür ile bahçe kurulamamaktadır; ancak yabani melengiç anaçlarının kök nematodlarına karşı dayanıklı olduğu belirtilmektedir (Yardımcı, 1973). Meyveleri çerez ve kahve yapımında kullanılmaktadır.

Dünyanın değişik yerlerinde melengiç ağacının farklı organlarından çok yönlü yararlanılmaktadır. Türkiye'de, arkeolojik bulgular melengicinin eski çağlardan beri gıda

olarak kullanıldığını göstermiştir. Taze sürgün ve meyvelerden beslenmede yararlanılır. Meyveler iştah açıcı olarak, özel köy ekmeklerinde, kahve ve çay şeklinde tüketilmektedir (Resim 3.3).



Resim 3.3. Melengiç meyveleri (A) ve endokarplı (B) tohumları

3.1.1.4. Atlantik Sakızı (*P. atlantica* Desf.) Anaç Özellikleri

Akdeniz ikliminin hakim olduğu bölgelerde yoğun olarak bulunmaktadır. Taç yüksekliği 15-20 m olan ağaçları ile ülkemizde bilinen en büyük antepfıstığı ağaçlarını oluşturur. Bu bağlamda park ve bahçelerde süs ağacı olarak kullanılmaktadır. Aşı uyumu iyidir. Tüplü fidan üretiminde diğer anaçlarla aynı zamanda aşı kalınlığına gelmesine rağmen, çöğürlerin daha fazla yan dal oluşturması aşılama sırasında sorun çıkarmaktadır. Tohumları sakız ağacı tohumlarına benzer, fındık gibi yemeklik yağ olarak kullanılabilir (Resim 3.4). Tohumlar %60 oranında yağ içerirler. Reçine, alkol ve lake üretimi için kullanılır. Parfüm sektöründe kullanılan uçucu yağlar içerir. Kurutulmuş sapsarı tütsü olarak kullanılır ve yandığında hoş bir koku verir.



Resim 3.4. Atlantik sakızı endokarplı tohumları

3.1.2. Mikroaşılama Kullanılacak Sakız Ağacının (*P. lentiscus* L.) Genel Özellikleri

Anacardiaceae familyasının önemli üyelerinden biri olan *P. lentiscus* L. herdem yeşil ve kuraklığa dayanıklı bir bitkidir. *P. lentiscus* L. bitkisinin gövdesinden elde edilen reçine **mastik sakızı** adını alır ve ticari değeri oldukça yüksektir. Bitkinin önemli bitkisel özellikleri arasında kalkerli topraklara dayanım, herhangi bir yaralanmadan sonra kuvvetli olarak kök ve dip sürgünü verebilme yeteneği ve toprağı erozyona karşı koruma sayılabilir. Mastik ağacı tohumla çoğaltılır çünkü çeliklerden adventif kök oluşumu çok düşük olmakta ya da hiç olmamaktadır.

Milattan önceki yıllardan beri birçok ülkede sakız ağacı yapraklarından, reçine ve meyvelerinden ilaç ham maddesi olarak yararlanılmıştır. *P. lentiscus* L. günümüzde de ilaç ve gıda sanayisinin önemli bir ham maddesidir. Ayrıca kuraklığa karşı dayanıklı olması, sonra kendini çabuk yenileyebilme özelliğinden dolayı ekolojik değeri bulunmaktadır (Mascero ve ark., 2007). Bugün mastik sakızının onlarca kullanım alanı vardır: Bu kullanım alanlarını genel olarak: ilaç sanayisinde, gıda sanayisinde, kimya endüstrisinde ve diğer kullanım alanları şeklinde ayırabiliriz.

İlaç sanayiindeki kullanımı; Merhem yapımında, ülser hastalığının tedavisinde, diş macununda mastik sakızı kullanılmaktadır. Ülser tedavisinde mastik sakızının etkisine ilişkin olarak, iki hafta boyunca günde bir gram alınan mastik sakızının peptik ülseri tedavi edebildiği görülmüştür (Huwez ve ark., 1998). Ayrıca mastik sakızı deri hastalıklarında, yanıklarda, egzama (Palevitch ve Yaniv, 2000), kanser hastalığında (Loutrari ve ark., 2006) geniş ölçüde kullanılmaktadır. Mastik sakızının kolesterolü

azalttığı ve yüksek kan basıncını düşürerek kalp krizi riskini düşürdüğü kanıtlanmıştır (Sanz ve ark., 1998). Ağız hijyenitesi için de antiseptik olarak diş macunlarında mastik sakızı kullanılmaktadır (Sherman, 2005).

Gıda sanayisindeki kullanımı; Tatlandırıcı olarak, keklerde, dondurmalarda, sütlü tatlılarda, alkollü içkilerin üretiminde özellikle likör ve uzo üretiminde mastik geniş ölçüde kullanılmaktadır. Mastik sakızı aynı zamanda baharat ve değişik soslara kıvam vermek için de kullanılır. Kıbrıs ve Suudi Arabistan'da temel bir baharat olarak kullanılmaktadır. Lübnan ve Suriye'de ev kadınlarının yapmış olduğu geleneksel peynirde mastik kokusu ve tadı bulunur. Yunanlıların festival ekmeklerinin temel içeriği mastiktir. Mastik reçenesi ülkemizde pudınglerin ve dondurmaların ana bileşeni olup, bunların açık beyaz renkte olmasını sağlamaktadır (Sherman, 2005).

Kimya endüstrisindeki kullanımı; Kozmetik ürünlerde, verniklemede, resim boyaalarında mastik sakızı kullanılmaktadır (Calabro ve Curro, 1974). Mastik sakızının kimyasal analizi sonucu %1-3 arasında mastik yağı, %4 oranında mastisinik asit, %0.5 mastikhonik asit, %20 a-mastikonik asit, %18 b-mastikonik asit, %30 a-mastik reçenesi ve %20 b-mastik reçenesi bulunmuştur (Sherman, 2005). Mastik yağının anti-bakteriyel ve antioksidan (Dedoussis ve ark., 2004) özellikte olduğu bildirilmektedir.

Diğer kullanım alanları; Sakız ağacı Meksika'da süs bitkisi olarak kullanılmakta olup çok değerlidir. Özellikle yerleşim alanlarında bulunmakta ve iklim özelliklerinin uygun olmadığı yaz aylarında bile yaşamını sürdürebilmektedir. Meyvelerinden yenilebilen yağ üretilmekte ve bu yağ doymamış yağ asitleri olan oleik ve linoleik asit bakımından zengin olması bakımından oldukça dikkat çekmektedir (Ucciani ve ark., 1995).

Yayılış alanı; Sakız ağacı her çeşit toprakta büyüebilmektedir. Termofil bir tür olarak bilinir ve aşırı kurak olmayan arazilerde, ormanlarda bol miktarda bulunmaktadır. Sakız ağacı kış aylarında -7 °C gibi düşük sıcaklıkları bile tolere edebilmekte ve bu sıcaklık derecesinde yaşayabilmektedir. Dünya üzerinde, Güneybatı ve Güneydoğu Avrupa, Batı Asya, Kuzey Afrika, Avrupa ve Kuzey Afrika'ya yakın birçok ada ve adacıklara (Makronezya) yayıldığı bildirilmiştir (Prada ve Arizpe, 2008). Akdeniz Bölgesi'nde, Portekiz, İspanya (Balears dahil), Fransa, İtalya, Hırvatistan, Bosna Hersek, Sırbistan, Arnavutluk, Yunanistan (Girit dahil), Kıbrıs, Türkiye, Suriye,

Lübnan, Libya, Tunus, Cezayir ve Fas'ta bulunmaktadır. *P. lentiscus*'un ülkemizde ve Ege Denizi'ndeki Yunan adalarında bulunmaktadır (Ak ve Parlakçı, 2009).

Sistematiği; Ege ve Akdeniz Bölgesi'nin doğal bitki örtüsü olan *P. lentiscus*, *Terebinthales* takımının *Anacardiaceae* familyasından *Pistacia* cinsine dahildir (Davis, 1967). Aynı familyanın diğer önemli üyeleri; atlantik sakızı (*P. atlantica* Desf.), melengiç (*P. terebinthus*) antepfıstığı (*P. vera*)'dır. Fakat *P. lentiscus* özellikle Akdeniz ve Ortadoğu bölgesinde *Pistacia* genusunda bulunan diğer türlerden (*P. atlantica* Desf., *P. palaestina*, *P. terbinthus* ve *P. khinjuk* Stocks) herdem yeşil olması ile kolaylıkla ayırt edilebilir.

Pistacia genusunda yer alan *P. lentiscus*, Zohary (1952) tarafından morfolojik özellikleri (yaprak özellikleri ve fındık morfolojisi) kullanılarak yapılan sınıflandırmaya göre *P. weinmannifolia* ve *P. saportae* ile birlikte *Eu-Lentiscus* seksiyonunda bulunmaktadır. Bu sınıflandırmaya göre *Eu-Lentiscus* seksiyonuna ek olarak, *P. mexicana* HBK ve *P. texana* Swingle *Lenticella* seksiyonunda, *P. atlantica* Desf. *Butmela* seksiyonunda bulunurken, *P. vera* L., *P. khinjuk* Stocks, *P. palaestine* Boiss ve *P. chinensis* Bge *Eu-Terebinthus* seksiyonunda bulunmaktadır.

Morfolojik Özellikleri; Sakız ağacı, genellikle çalı veya ağaçcık formunda gelişen 1-3 m'ye hatta bazen 6 m kadar boylanabilen bir bitkidir (Anonymous, 2005). Derin kök yapısı nedeniyle kuraklığa karşı dayanıklıdır. Sulanan koşullarda yetiştirildiği durumda gelişmesi hızlı olmaktadır. Ancak kök boğazında su birikiminin olmaması gerekir. Bu sebeple meyilli araziler yetişmesi için daha ideal olmaktadır. Tuzlu suya toleransı yüksektir ve deniz kenarında dahi gelişmesi iyidir. Derin kök yapısı ve sık yaprak dokusu ile rüzgar ve su erozyonuna karşı kullanılacak ideal bir bitkidir (Prada ve Arizpe, 2008). *P. lentiscus* yangın gibi olumsuz koşullarda dahi kendini en hızlı yenileyen bitkilerdendir. Bu özelliği ile ölümsüz ağaç olarak da nitelendirilmektedir.

Yaprak yapısı; Yapraklar genellikle 2-4, nadiren de 5-7 çift yaprakçıktan oluşur ve hiçbir zaman terminal yaprakçık taşımaz. Sakız ağacında, bileşik yaprak ekseninde bulunan kanatçıklar çok karakteristiktir. Yaprakları gövdeye bağlı dal üzerinde 2-12 adet dikdörtgen, mızraksı veya oval biçimdedir. Yaprakçıklar yumurtamsı, mızrak, eliptik, küt veya dikenimsi uçlu gibi formlar gösterir ve tüysüzdür. Yaprakçık uçları genelde keskin bir noktayla sonlanır (Davis, 1967). Aynı bitki, vejetasyonun farklı dönemlerinde farklı yaprak şekli gösterebilmektedir (Boztok ve Zeybek, 2004). Sakız ağacı, bulunduğu seksiyon içinde en kalın yaprakçılara (490 µm) sahip olan türdür. *Pistacia* türlerinin tanımlayıcılarına göre bu cinse giren türlerde (*P. vera* L. hariç) yaprak genişliği 5.38 cm ve yaprak uzunluğu ise 5.13 cm'dir (Anonymous, 1998).

Çiçekler; Dioik bir tür olan sakız ağacında, periant içermeyen çiçekler 1 yıllık sürgünlerin yaprak koltuklarında bulunur. Sakız ağacında çiçeklenme bahar aylarında gerçekleşmekte ve çok sayıda çiçek üretimi söz konusu olmaktadır. Çiçekleri küçük, kırmızımsı veya sarımsı olup salkım halinde kümelenmiştir. Erkek çiçekler 1-2.5 cm uzunlukta bileşik salkımlar, dişi çiçekler ise 1-3 cm uzunlukta seyrek dallanmış salkımlar halindedir. Diğer *Pistacia* türlerinin aksine, sakız ağacında bulunan çiçek salkımı ana eksen üzerinde kısalma eğiliminde olduğu için sekonder salkım dalları yaprak eksenini üzerinde hemen hemen bir noktadan çıkarak, çiçekler küçük bir demet şeklini alır (Davis 1967). Tozlanma anemofil olarak gerçekleşmektedir.

Meyveler; 4-7 mm çapında, yuvarlak-basık ve sivri uçlu, başlangıçta kırmızı, olgunlaştığında ise siyah renktedir. Drupa tipi olan meyveler, etli-sulu bir mezokarp ile kemiksi bir endokarpa sahiptir. Meyveler Ekim sonundan Aralık ayı ortasına kadar olgunlaşmaktadır (Boztok ve Zeybek, 2004). Browicz (1987), Sakız Adası'ndaki kültür formlarının varyeteden ziyade, uzun yıllar verime göre selekte edilmiş bir çeşit olduğunu belirtmektedir. Bazı araştırmacılar, reçine elde edilebilen bitki olarak sadece Sakız Adası'ndaki "Chia" varyetesinden bahsetmektedir. Oysa Bailey (1963), varyete veya form farklılığının ötesinde *Anacardiaceae* familyasına dahil türlerin benzer nitelikte reçine verdiğini belirtmektedir. *P. lentiscus* bitkileri ağaç formuna dönüştükten sonra salgıladığı reçineden yararlanılabilmektedir.

Tohum; Kromozom sayısı $2n=24$ 'tür (Zohary, 1952). Tohumlar olgunlaşma döneminde yuvarlak ve düz yüzeylidirler. Tohumlar ekim-kasım ayları arasında toplanabilir (Prada ve Arizpe, 2008). Sakız ağacının, çok sayıda çiçek ve meyve üretmesine karşın canlı tohum içeren meyve sayısı çok azdır. Çiçeklerin büyük kısmı meyve oluşturamamakta ve oluşan meyvelerin önemli bir kısmında ise tohum bulunmamaktadır (Martinez-Palle ve Aronne, 2000). Kırmızımsı veya beyaz meyvelerin toplanmasından kaçınılmalıdır; çünkü bu meyvelerde embriyo ölü veya partenokarpiktir (Jordano, 1988; 1989). Bu nedenle, siyah meyvelerin içerdiği tohum oranı daha yüksek olduğu için hasat sırasında bunların tercih edilmesi gerekmektedir (Verdu ve Garcia-Fayos, 2002) (Resim 3.5). Tohumların çimlenmesi epigeiktir. Buna karşın, tüm diğer *Pistacia* türlerinde çimlenme hipogeiktir. Ayrıca tohum içeren meyvelerin üretimi tek bir popülasyondaki bitkilerde bile değişiklik göstermektedir (Martinez-Palle ve Aronne, 2000; Verdu ve Garcia-Fayos, 2002). Kabuğu soyulmuş tohumların 20 °C'da %75-90 oranında çimlendiği rapor edilmiştir (Prada ve Arizpe, 2008). Mekanik yolla tohum kabuğu soymak çimlenme hızını artırmakta ve homojen çimlenmeyi sağlamaktadır.



Resim 3.5. Sakız ağacına ait olgunlaşmış (siyah renkli) ve olgunlaşmamış (kırmızı renkli) meyvelerin görünüşü

3.2. METOD

3.2.1. Sterilizasyon Teknikleri

Çalışmada kullanılan tohumların *in vitro* koşullardan kaynaklı herhangi bir kaynaktan olabilecek enfeksiyonunu engellemek ve kontaminasyondan korumak için, başlangıç materyallerinin yanı sıra; besi ortamı, kullanılan alet ve kültür kaplarının tamamen steril şartlar altında hazırlanıp kullanılması son derece önemlidir.

Başlangıç Materyallerinin Yüzey Sterilizasyonu: Çalışmada kullanılan her bir anaca en uygun sterilantı bulmak için sterilizasyon deneyleri yapılmıştır. Bu amaçla tohumlar önce musluk suyu ile yıkanmış daha sonra kontrol (Sodyum Hipoklorit olmadan), %5, %10, %15 ve %20 olacak şekilde NaOCl farklı konsantrasyonlarda kullanılmış olup, antepfıstığı ve buttum (*P.vera* ve *P.khinjuk*) için 15 dk atlantik sakızı ve melengiç (*P.atlantica* ve *P.terebinthus*) için 10 dk çalkalanıp daha sonra sterilatın etkisini gidermek için 5 defa ve her defasında 5 dk. steril saf su ile yıkanma şeklinde uygulanmıştır.

Filtrasyon ile Sterilizasyon: IAA, IBA, GA₃ gibi sıcakta bozulan BBD'lerin sterilizasyonu için mikrofiltrasyon kullanılmaktadır. Bu amaçla Steril Acrodisc (0.2 µm) mikrofiltre kullanılmıştır.

Filtre Kağıtlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu: Steril kabinde yapılan çalışmalar sırasında kullanılacak olan pens ve bisturilerin steril kabin içerisinde muhafazası ve üzerlerinde bitki parçalarının kesilmesi amacıyla iki ayrı ebatta hazırlanan filtre kağıtları ve havlu peçeteler iki kat ambalaj kağıdına sarılarak etüvde 180°C'de 2 saat süreyle sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur.

Cam Malzemelerin Sterilizasyonu: Cam malzemeler (Erlenmayer, cam şişe, mezür, balon joje, pipet vb.) sadece sıcak su kullanılarak fırça yardımıyla temizlendi. Daha sonra üç defa saf sudan geçirilerek 180°C'de etüvde 2 saat bekletilmek suretiyle steril edildi. Kullanılacak olan Magenta GA-7 kültür kapları ise, 121°C'de, 1 atm. basınç altında, 25 dakika süre ile otoklavda sterilize edilmiştir.

Pens ve Bisturilerin Hazırlanması ve Sterilizasyonu: Pens ve bisturiler %96'lık etil alkol ile temizlendikten sonra 10'lu gruplar halinde alüminyum folyolara sarılarak, 180°C'lik bir kuru hava sterilizatöründe 2 saat süre ile sterilize edilmiştir.

Transfer Odasının Hazırlanması ve Sterilizasyonu: Transfer odasında; genel olarak bir ultraviyole lambası, materyal ekim işlemlerinin gerçekleştirileceği steril bir kabin bulunmaktadır. Transfer odasına girilmeden 1 gün önce; steril kabin içi ve dış yüzeyi %96'lık alkol ile temizlenerek, odanın kapı, raf, taban vs. gibi yerler seyreltilmiş NaOCI ile temizlendikten sonra zaman ayarlı ultraviyole lambası açılarak gece 2-3 saat çalışması sağlanarak odanın genel sterilizasyonu tamamlanmıştır.

3.2.2. Besi Ortamlarının ve Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

Çalışmalarımızda besi ortamı olarak; temel MS besi ortamı modifiye edilerek kullanılmıştır. Aksi bilgi verilmediği sürece, tüm çalışmalarda besi ortamı 6.2 gl^{-1} agar ile desteklenmiştir. Çalışmada, kullanılan besi ortamlarına ait stok çözeltilerin hazırlanması ve bitki büyüme düzenleyicilerinin konsantrasyonlarıyla ilgili bilgiler aşağıda verilmiştir.

MS (makro elementler) Ana Solüsyonu

NH_4NO_3	16.5 g
KNO_3	19.0 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	4.4 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.7 g
KH_2PO_4	1.7 g
Steril saf su	1000 ml'ye tamamlanır.

MS Mikro-1 Elementler Ana Solüsyonu

H_3BO_3	620 mg
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2230 mg
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	860 mg
KI	83 mg
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	25 mg
Steril saf su	1000 ml'ye tamamlanır.

MS Mikro-2 Elementler Ana Solüsyonu

CuSO ₄ .5H ₂ O	5 mg
CoCl ₂ . 6H ₂ O	5 mg
Steril saf su	200 ml'ye tamamlanır.

Kompleks Kelatör Ana Solüsyonu

FeSO ₄ .7H ₂ O	2.78 g
Na ₂ EDTA	3.73 g
Steril saf su	1000 ml'ye tamamlanır.

Vitamin Karışımı Ana Solüsyonu

Nikotinic Asit	50 mg
Glisin	200 mg
Piridoksin HCl	50 mg
Steril saf su	100 ml'ye tamamlanır.

B₁ Vitamini Ana Solüsyonu

Tiamin HCl	10 mg
Steril saf su	100 ml'ye tamamlanır.

Myo-inositol

myo-inositol	100 mg
Steril saf su	1000 ml'ye tamamlanır.

BAP (6-Benzylaminopürin) Ana Solüsyonu

BAP	100 mg
1N NaOH	2-3 ml
Steril saf su	100 ml'ye tamamlanır.

IBA (Indol-3 butirik asit) Ana Solüsyonu

IBA	100 mg
% 95 lik Etil Alkol	3-5 ml
Steril saf su	100 ml'ye tamamlanır.

Çizelge 3.1. Temel MS besi ortamının içeriği

MS ana solüsyonu (Makro elementler)	100 ml
MS mikroelementler-1	10 ml
MS mikroelementler-2	1 ml
Kompleks kelatör	10 ml
Vitamin karışımı	1 ml
<i>myo</i> -inositol	10 ml
B ₁ vitamini ana solüsyonu	1 ml
Agar	6.3 g
Sakkaroz	30 g
<u>Steril saf su</u>	<u>1000 ml'ye tamamlanmıştır.</u>

Besi ortamı bileşenlerinin ve büyüme düzenleyicilerinin seçimi; türlerin kültüre başarılı bir şekilde alınması ve rejenerasyon sistemlerinin optimize edilmesi bakımından son derece önemli faktörlerdir.

Kullanılan tüm maddeler mg l^{-1} olarak ifade edildi. Bir litrelik standart MS besi ortamı hazırlamak için 1 litrelik otoklavlanabilir şişe içerisine 500 ml steril saf su bırakıldı. Daha sonra belirtilen miktarda sakkaroz eklendi. Bu işlemi sırasıyla çizelge 3.1'de verilen ortam bileşenlerinin, belirtilen konsantrasyonlarda otoklavlanabilir şişe içine aktarılması izledi. Her maddenin ilave edilmesinden sonra çökmeyi önlemek amacıyla, hazırlanan solüsyon birkaç dakika çalkalandı. Ortam için gerekli olan bu bileşenlerin eklenmesinden sonra, tüm bu karışım steril saf su ile 1 litreye tamamlandı. Daha sonra amaca göre; 250 ml ya da 500 ml'lik otoklavlanabilir şişelere aktarıldı. Yapılacak deneyin amacına uygun olarak, bitki büyüme düzenleyiciler eklendikten sonra, pH 5.7-5.8'e ayarlandı (1 M NaOH ve HCl ile). Ortamın katılaştırılması için agar eklendi. Hazırlanan besi ortamının sterilizasyonu; 1 atmosfer basınçta 121°C 'de 15-25 dakika süre ile ya da besi ortamının miktarına göre bu süre azaltılarak ya da arttırılarak otoklavda bekletilmek suretiyle gerçekleştirildi. Sterilizasyonu yapılan besi ortamı,

transfer odasında steril kabin içerisinde Magenta GA-7 kültür kabına 50 ml olarak paylaştırıldı. Besi ortamı soğuyarak katılaştıktan sonra yapılacak deneyler kapsamında kullanıldı.

3.2.3. Bitki Büyüme Düzenleyiciler İçin Stok Çözeltilerin Hazırlanması

Bitki büyüme düzenleyicilerine (BAP-IBA-NAA) ait stok çözeltilerin hazırlanması için, ihtiyaç duyulan miktarlar tartıldı. Stok çözeltiler genellikle mg/ml konsantrasyonlarında hazırlandı. Tartımdan sonra 50 ya da 100 ml steril balon jöjelere aktarıldı. Her madde 5-10 ml kadar 1 M KOH (TDZ, NAA), ya da 1 M HCl (BAP, K, TDZ) içinde küçük magnetik karıştırıcılarla birlikte çözdürüldü. Bazı kimyasallar (IBA, 2-4 D) ise 5-10 ml'lik alkolde eritildi. Eritilen BBD steril saf suyla 50 ml ya da 100 ml'ye tamamlandı. Her maddeyi ekledikten sonra küçük magnetik karıştırıcı yardımıyla çözelti homojen bir şekilde karıştırıldı. Bazı bitki büyüme düzenleyicileri (IAA ve IBA) sıcakta bozulacağı için filtre ile sterilize edildikten sonra besi ortamına ilave edildi. Büyüme maddelerine ait stok çözeltiler buzdolabında 4°C'de saklandı ve rutin bir şekilde, kullanım yoğunluğuna bağlı olarak uygun periyotlarla taze olarak hazırlandı.

3.2.4. Büyüme Odasının Düzeni

Büyüme odası $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ yoğunluktaki ışık şiddetine sahip olup, ortam sıcaklığını 25 ± 2 °C'de sabit tutan bir sıcaklık kontrol sistemi (klima ve termostat) bulunmaktadır. Materyale uygulanacak fotoperiyot; bir zaman ayarlayıcı ile 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık olacak biçimde ayarlanmıştır. Işık üretimi için beyaz flüoresan ampuller kullanılmıştır. Bu şekilde hazırlanan ortamda, kültürlerin gelişmesi için gerekli optimum koşullar sağlanmıştır.

3.3. Anaçların Üretilmesi ve Aşıya Hazırlanması

3.3.1. Anaç Yetiştirilmesi Amacıyla Farklı *Pistacia* Türlerine Ait Tohumlar İçin Yüze Sterilizasyon Tekniklerinin Geliştirilmesi

Dört farklı *Pistacia* türünün olgun tohumlarından anaç üretimi amacıyla çalışmada kullanılan her bir anaca ait tohumlar için optimum kombinasyonu bulmak amacıyla sterilizasyon deneyleri yapılmıştır. Bu deneyde tohumlar önce musluk suyu ile yıkanmış daha sonra; kontrol (Sodyum Hipoklorit içermeyen), %5, %10, %15 ve %20

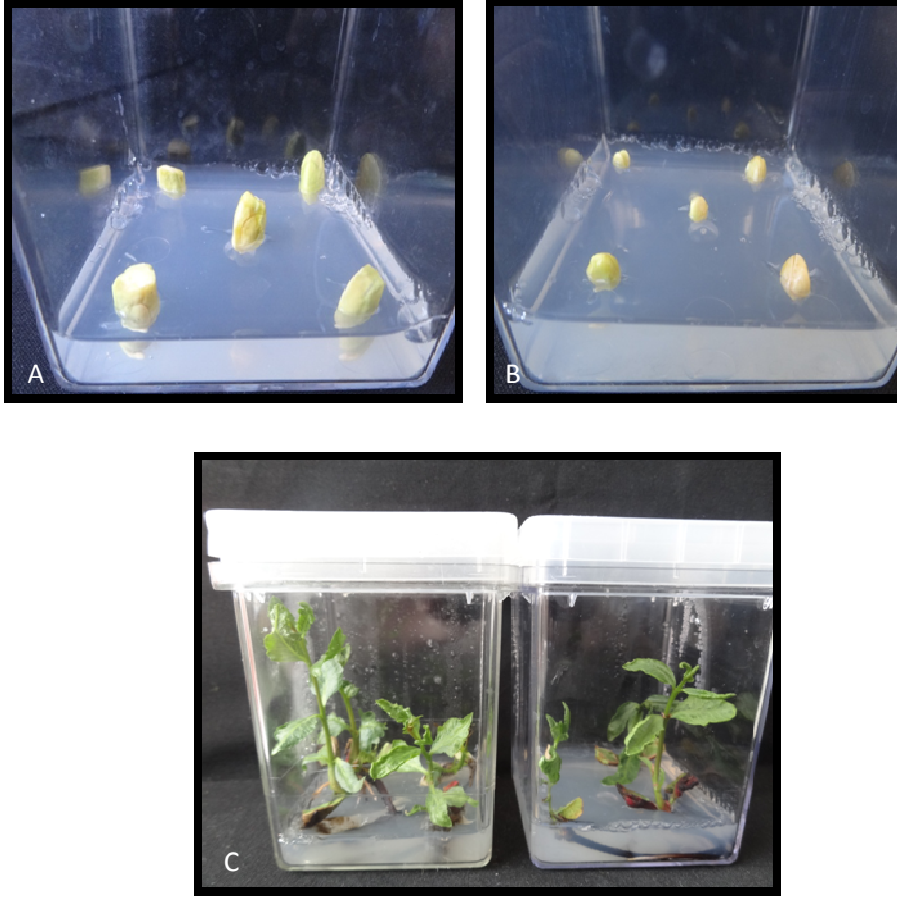
olacak şekilde NaOCl farklı konsantrasyonlarda kullanılmış olup, antepfıstığı ve buttum (*P. vera* ve *P. khinjuk*) için 15 dk; atlantik sakızı ve melengiç (*P. atlantica* ve *P. terebinthus*) için 10 dk çalkalanıp daha sonra sterilattın etkisini gidermek için 5 defa ve her defasında 5 dk. steril saf su ile yıkandı. Tüm sterilizasyon işlemleri röpikaj odasında yapılmıştır. MS besi ortamına 30 gl⁻¹ sakkaroz ve 5.5 gl⁻¹ agar ilave edilerek BBD'siz olarak hazırlanmıştır. 25°C sıcaklıkta flüoresan lambalarla 16/8 saatlik bir fotoperiyot uygulanan büyüme odasında antepfıstığı, buttum, atlantik sakızı ve melengiç tohumları çimlenmeye bırakıldı. Resim 3.6'da sterilizasyondan sonra besi ortamına alınmış antepfıstığı ve buttum tohumları görülmektedir.

Tüm sterilizasyon çalışmalarında yapılan gözlemler ve alınan ölçümler aşağıda belirtilmiştir:

Enfekte tohum (%); kültürlerin gelişmeleri dikkate alınarak 14 günlük kültür sonunda, enfekte olan tohum sayısının toplam tohumlara oranı hesaplanarak yüzde olarak ifade edilmiştir.

Çimlenen tohum (%); kültürün 28. gününe kadar enfekte olmadan gelişen tohum sayısının, toplam tohumlara oranı hesaplanarak yüzde olarak ifade edilmiştir.

Aşırı steril tohum(%); kültürün 28. gününe kadar herhangi bir gelişme göstermeyip kahverengileşerek bozulan tohum sayısının, toplam tohumlara oranı hesaplanarak ifade edilmiştir.



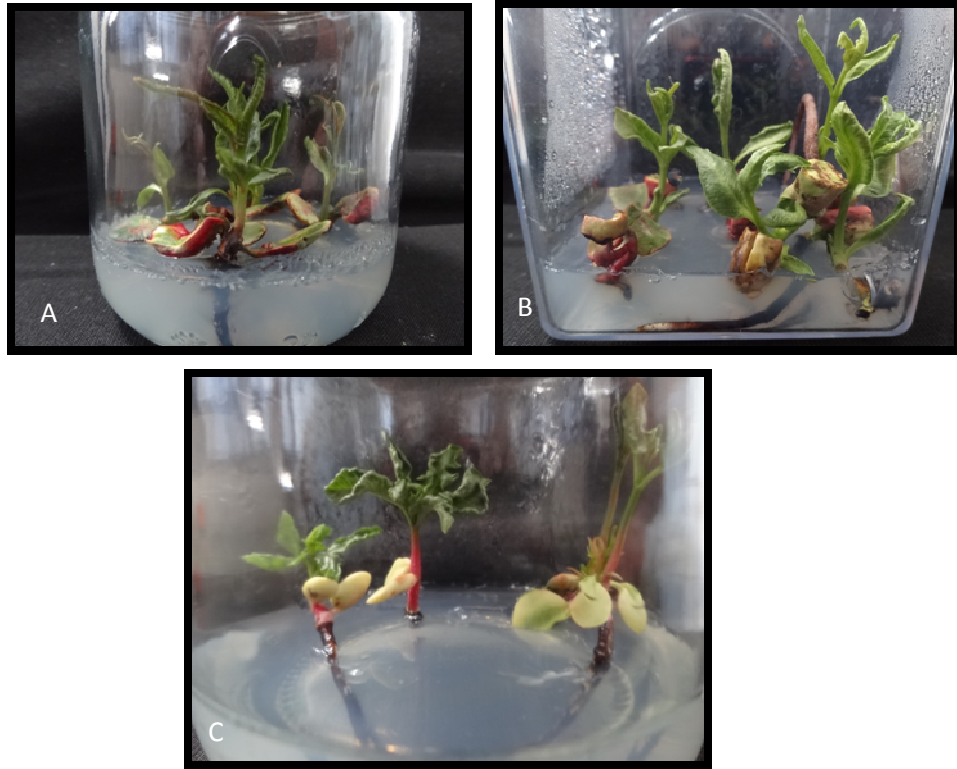
Resim 3.6. Yüzye sterilizasyonundan hemen sonra besim ortamına ekilmiş Antepfıstığı (A) ve Buttum tohumları (B); besim ortamına ekildikten 2 hafta sonra gelişen antepfıstığı bitkileri (C)

3.3.2. Anaç Yetiştirilmesi İçin Farklı *Pistacia* Türleri Tohumlarının Besim Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi

Bu çalışmada farklı *Pistacia* türü tohumları için tespit edilen optimum sterilizasyon koşulları kullanılarak, her türün gelişme süresine göre anaç özellikleri tespit edilmiştir. Araştırma kapsamında anaç yetiştirilmesi çalışmalarında, olgun *Pistacia* tohumlarından mikroaşılama anaç olarak kullanılmak üzere aksenik doku kültürü materyali elde etmek için; standart MS besim ortamı; BBD'siz, 0.5 mg l^{-1} BAP + 0.1 mg l^{-1} IBA ve 0.5 mg l^{-1} IBA + 0.1 mg l^{-1} BAP olarak üç kombinasyon halinde hazırlanmıştır. 25°C sıcaklıkta flüoresan lambalarla 16/8 saatlik bir fotoperiyot uygulanan büyüme odasında antepfıstığı, buttum, atlantik sakızı ve melengiç (*P. vera* L., *P. khinjuk* Stocks, *P. atlantica* Desf. ve *P. terebinthus* L.) tohumları oksin-sitokinin kombinasyonlu besim ortamı kültür kaplarında çimlenmeye bırakıldı (Resim 3.6). Test

edilen *Pistacia* türleri arasında ortalama sürgün uzunluğu, gövde çapı ve kök uzunlukları bakımından istatistiksel farklılıklar gözlenmiştir.

Kültüre alınan anaçlardan antepfıstığı ve buttum tohumları genellikle 2-3 hafta içinde çimlenerek aşılama kalınlığına ulaşırlarken, atlantik sakızı ve melengiç ise 7-8 haftada ancak aşılama kalınlığına gelmiştir (Resim 3.7). Anaç pensle sıkı bir şekilde tutularak, hassas öz kısmına zarar vermeden anaç ekseninin orta kısmından (dar meristemli yarma aşısı) üst kısmı v şeklinde olacak şekilde eksen boyunca 2-3 mm'lik bir yarık açılır. Bu surette anaçlar aşılıya hazır hale gelmiştir.



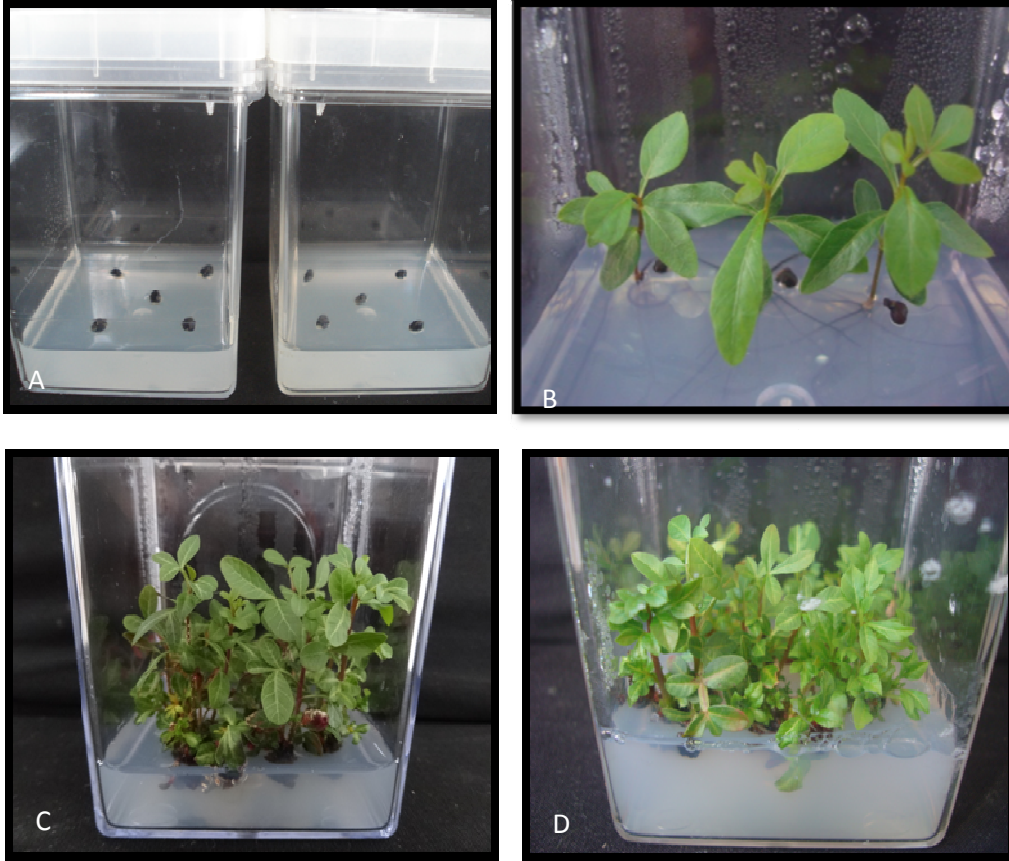
Resim 3.7. A) BDD'siz besi ortamında tohumlar kültüre alındıktan 2 hafta sonra gelişmiş buttum bitkileri
 B) IBA ağırlıklı besi ortamında kültüre alındıktan 14 gün sonra gelişmiş antepfıstığı bitkileri
 C) BAP ağırlıklı besi ortamında kültüre alındıktan 8 hafta sonra aşılama kalınlığına gelmiş melengiç bitkileri

3.4. Mikroçeliklerin Üretimi ve Hazırlanması

Sakız ağacının mikroçaoğaltımı ile ilgili daha önceden yapılan ve mikroçaoğaltmanın tüm aşamalarını içeren çalışma (Yıldırım, 2012) kapsamında elde edilen bilgiler ışığında rutin mikroçaoğaltma işlemleri gerçekleştirilmiştir. Akselik çimlendirilmiş tohumlardan çoğaltılan *in vitro* sürgünler elde edildikten sonra 1 mg^{-1}

3. MATERYAL ve METOT

BA içeren MS besi ortamında 4-5 haftalık alt kültürler de sürgünler yaklaşık iki yıl muhafaza edildiler (Resim 3.8). Kaliteli sürgünler (genellikle kültürün 3. haftası) elde edildikten sonra yıl boyunca mikroaşılamanın yapılması mümkündür. Mikroçeliklerin bazal kısımlarını her iki yanı“v” şeklinde kesilir. Hazırlanan çeliğin hemen aşılması gerekir ya da ışık ve hava almayacak şekilde çok kısa süreli bekletilebilir, ancak uzun süreli bekletilirse mikroçeliğin anaca yerleştirilmesi zor olabileceği gibi aşı tutma oranında düşük olacaktır.



Resim 3.8. A)Kültürün ilk gününde MS besi ortamında sakız ağacı tohumları

B) Kültürden 4 hafta sonraki çimlenmiş tohumları

C) 4 haftalık kültür sonunda çoğaltılmış sürgünler

D) Laboratuvar ortamında 2 yıldan beri 4 haftalık alt kültürlerle yaşatılan sakız ağacı sürgünleri

3.5. Mikroaşılama Çalışmaları

Mikroaşılama çalışmaları kapsamında aşağıda açıklamaları yapılan aşı tutma oranı (%), sürgün uzunluğu (mm) ve köklenme oranları(%) belirlenmiştir.

Aşı tutma oranı: Aşılı bitkilerin besi ortamına aktarılmasından 28 gün sonra kaynaşmış ve gelişmenin meydana geldiği aşılı bitkilerin, toplam bitkilere oranı (%) olarak hesaplanmıştır.

Sürgün uzunluğu: Aşılı bitkilerin besi ortamına aktarılmasından 28 gün sonra aşı sürgünlerinde meydana gelen gelişmenin mm olarak dijital kumpas yardımıyla ölçülmesiyle hesaplanmıştır.

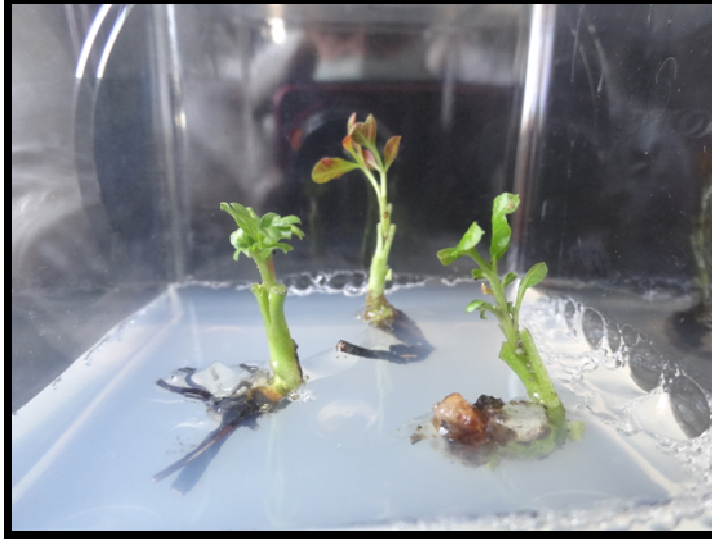
Köklenme oranı: Aşılı bitkilerin besi ortamında kalan anaç kısımlarında yeni köklenme görülen bitkilerin toplam bitkilere oranı (%) olarak hesaplanmıştır.

3.5.1. *Pistacia* Anaçları Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi

Bu deneyde, anaç sterilizasyon ve gelişimi için optimize edilen koşullar kullanılarak çimlendirilen. *Pistacia* anaçları üzerine 0.8-0.9 mm uzunluğundaki sakız ağacı sürgün uçları mikroçelik olarak kullanılarak yapılan mikroaşılama sonucu elde edilen aşılı fideler, iki farklı besi ortamı (oksin-sitokinin kombinasyonları) ve bir kontrol grubu ile (MS) kültüre alınmıştır. Mikroaşılanmış fidecikler kültüre alındıktan 4 hafta (28 gün) sonra, aşı tutma oranı(%), sürgün uzunluğu ve kök oluşturma oranı (%) rapor edildi.

3.5.1.1. Antepfıstığı (*P.vera* L.) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi

Bu çalışmada antepfıstığı çeşidiyle aşıl原因an sakız ağacı anacının bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan, 0.5 mg^l⁻¹ BAP + 0.1 mg^l⁻¹ IBA ve 0.5 mg^l⁻¹ IBA + 0.1 mg^l⁻¹ BAP ile destekli MS besi ortamına dikildikten sonra aşı tutma oranı (%), köklenme oranı (%) ve kallus oluşumu (%) olarak tespit edilmiştir. Resim 3.9'da BAP ağırlıklı MS besi ortamına aktarılmış fideler görülmektedir.



Resim 3.9. 0.5 mg^l⁻¹ BAP + 0.1 mg^l⁻¹ IBA içeren besi ortamına aktarılmış mikroaşılı antepfıstığı fideleri

3.5.1.2. Buttum (*P. khinjuk* Stocks) Anacı Üzerine Aşılana Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi

Bu çalışmada sakız ağacı ile aşılana buttum anacının bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan, 0.5 mg^l⁻¹ BAP + 0.1 mg^l⁻¹ IBA ve 0.5 mg^l⁻¹ IBA + 0.1 mg^l⁻¹ BAP ile destekli MS besi ortamına dikildikten sonra aşı tutma oranı (%), köklenme oranı (%) ve sürgün uzunluğu olarak tespit edilmiştir.

3.5.1.3. Atlantik Sakızı (*P. atlantica* Desf.) Anacı Üzerine Aşılana Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi

Bu çalışmada sakız ağacı ile aşılana atlantik sakızı anacının bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan, 0.5 mg^l⁻¹ BAP + 0.1 mg^l⁻¹ IBA ve 0.5 mg^l⁻¹ IBA + 0.1 mg^l⁻¹ BAP ile destekli MS besi ortamına dikildikten sonra aşı tutma oranı (%), sürgün uzunluğu (mm) ve köklenme oranı (%) olarak tespit edilmiştir.

3.5.1.4. Melengiç (*P. terebinthus* L.) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi

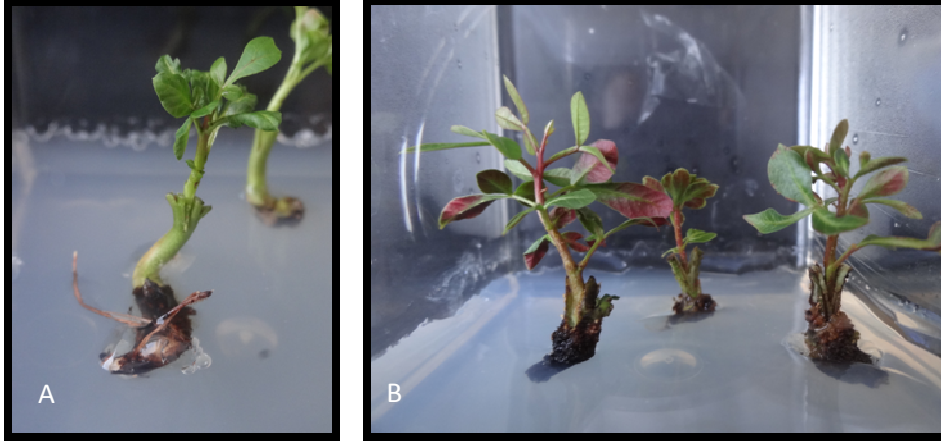
Bu çalışmada sakız ağacı ile aşıl原因an melengiç anacının bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan, 0.5 mg^l⁻¹ BAP + 0.1 mg^l⁻¹ IBA ve 0.5 mg^l⁻¹ IBA + 0.1 mg^l⁻¹ BAP ile destekli MS besisi ortamına dikildikten sonra aşı tutma oranı (%), sürgün uzunluğu (mm) ve köklenme oranı (%) olarak tespit edilmiştir.

3.5.2. *Pistacia* Anaçları Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Farklı Mikroçelik Uzunluklarının Etkisi

Bu deneyde, anaç sterilizasyon ve gelişimi için optimize edilen koşullar kullanılarak çimlendirilen. *Pistacia* anaçları üzerine 0.5, 1.0 ve 1.5 cm uzunluğundaki *P. lentiscus* L. sürgün uçları mikroçelik olarak kullanılarak yapılan mikroaşıl原因ama sonucu elde edilen mikroaşılı fideler sürgün gelişimi ve kök oluşturma oranları açısından en iyi ortam olarak belirlenen 0.5 mg^l⁻¹ IBA + 0.1 mg^l⁻¹ BAP içeriikli besisi ortamında (MS) kültüre alınmıştır. Bu deneyde melengiç (*P. terebinthus* L.) anacının aşıl原因abilir anaç haline gelmesindeki süre problemi yüzünden aşıl原因ama için uygun anaç olmadığı görüldüğü için mikroçelik uzunluğu deneyinde anaç olarak kullanılmamıştır. Mikroaşıl原因anmış fidecikler kültüre alındıktan 4 hafta (28 gün) sonra, aşı tutma oranı(%), sürgün uzunluğu ve kök oluşturma oranı (%) tespit edilmiştir.

3.5.2.1. Antepfıstığı (*P. vera* L.) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Farklı Mikroçelik Uzunluklarının Etkisi

Bu çalışmada mikroçelik olarak kullanılan 0.5 cm, 1.0 cm ve 1.5 cm uzunluğundaki sakız ağacı ile aşıl原因an antepfıstığı anacının 0.5 mg^l⁻¹ IBA + 0.1 mg^l⁻¹ BAP destekli MS besisi ortamına aktarıldıktan sonra aşı tutma oranı (%), sürgün uzunluğu (mm), köklenme oranı olarak tespit edilmiştir (Resim 3.10).



Resim3.10. A) Antepfıstığı anacı üzerine 1.0 cm'lik sakız ağacı mikroçeliğiyle aşılantmış mikroaşılı fideler; B) Aşılantmadan 4 hafta sonra gelişmiş bitkiler

3.5.2.2. Buttum (*P. khinjuk* Stocks) Anacı Üzerine Aşılantanan Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Farklı Mikroçelik Uzunluklarının Etkisi

Bu çalışmada mikroçelik olarak kullanılan 0.5 cm, 1.0 cm ve 1.5 cm uzunluğundaki sakız ağacı ile aşılantanan buttum anacının 0.5 mg^l⁻¹ IBA + 0.1 mg^l⁻¹ BAP destekli MS besi ortamına aktarıldıktan sonra aşı tutma oranı (%), sürgün uzunluğu (mm), köklenme oranı olarak tespit edilmiştir.

3.5.2.3. Atlantik Sakızı (*P. atlantica* Desf.) Anacı Üzerine Aşılantanan Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Farklı Mikroçelik Uzunluklarının Etkisi

Bu çalışmada mikroçelik olarak kullanılan 0.5 cm, 1.0 cm ve 1.5 cm uzunluğundaki sakız ağacı ile aşılantanan atlantik sakızı anacının 0.5 mg^l⁻¹ IBA¹ + 0.1 mg^l⁻¹ BAP destekli MS besi ortamına aktarıldıktan sonra aşı tutma oranı (%), sürgün uzunluğu (mm), köklenme oranı olarak tespit edilmiştir.

3.5.2.4. Melengiç (*P. terebinthus* L.) Anacı Üzerine Aşılana Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Farklı Mikroçelik Uzunluklarının Etkisi

Bu çalışmada mikroçelik olarak kullanılan 0.5 cm, 1.0 cm ve 1.5 cm uzunluğundaki sakız ağacı ile aşılana melengiç anacının 0.5 mg^l⁻¹ IBA + 0.1 mg^l⁻¹ BAP destekli MS besi ortamında kültüre alındıktan sonra aşı tutma oranı (%), sürgün uzunluğu (mm), köklenme oranı olarak tespit edilmiştir.

3.6. *In vitro* Çoğaltılan Mikroaşılı Bitkilerin Aklimitizasyonu

Sakız ağacı (*P. lentiscus* L.) ile aşılana bütün mikroaşılı fidelerin arazi şartlarına alıştırılmasında ilk aşama olan aklimatizasyon için ticari torf (tam sterilize edilmiş) kullanılmıştır. Bitkiler köklenme ortamından çıkarılıp musluk suyu altında yıkanarak, su içerisinde bir süre bekletildikten sonra tam sterilize edilmiş, ticari torf içeren plastik saksılara dikilmişlerdir. Dikim işleminden sonra can suyu verilen bitkilerin üzerleri 50 ml'lik cam beherlerle kapatılarak Bölüm 3.2.4.'de belirtilen büyüme odasında gelişmeye bırakılmıştır. Sulama işlemi düzenli olarak yapılmak ve ekimi yapılan bitkilerin üzeri 7. günden itibaren aşamalı olarak (7. günde 1 dakika, 8. günde 2 dakika, 9. günde 3 dakika, 10. günde 4 dakika, 11. günde 5 dakika) açılmak suretiyle ortamın nemi kontrol altında tutulmuştur. Bu şekilde gelişmeye bırakılan bitkilerin üzerleri 45 gün sonunda tamamen açılmıştır. Üzerleri tamamen açılan bitkiler 1 ay daha büyüme odasında bekletildikten sonra torf ve toprak karışımı içeren saksılara aktararak arazi koşullarına aktarılmaya hazırlanmış ve 2 - 3 hafta bakım işlemleri düzenli bir şekilde yapılarak gelişmeleri sağlanmıştır.

3.7. Verilerin Değerlendirilmesi

Bütün çalışmalar 3 tekerrürlü olarak toplam en az 15 eksplant üzerinde yapılmıştır. Elde edilen verilerin analizi amacıyla SPSS 13.0 paket programı kullanılmıştır. Test edilen işlemler arasındaki farklılığın belirlenebilmesi için veriler ANOVA'ya tabi tutulmuştur. İstatistiksel farklılığın önemli görüldüğü işlemler belirlendiği zaman, ortalamalar arasındaki farklılıklar ($P \leq 0.05$) seviyesinde DUNCAN testine tabi tutulmuştur.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Antepfıstığı (*P. vera* L.) Tohumlarının Sterilizasyonu Üzerine Farklı NaOCl Konsantrasyonlarının Etkisi

Bu deneyde tohumların enfekte olmadan çimlenmesi ve dekontaminasyonuna etkisini tespit etmek için NaOCl'ün %5, %10, %15, %20'lik konsantrasyonları bir kontrol grubu ile birlikte test edildi. Sert kabukları çıkarılmış antepfıstığı (*P. vera* L.) tohumları NaOCl'nin %5, %10, %15, %20'lik çözeltileri içine 15 dakika çalkalandılar. Yüze sterilizasyonunda her seri steril distile su ile 5 kez (her biri yaklaşık 5 dakika) iyice çalkalandılar. Steril saf suda yaklaşık 1 saat bekletildikten sonra tohumların testası steril kurutma kağıdı üzerinde bir pens ve bistrü yardımı ile kolayca çıkarıldı ve radikulanın yönü besi ortamına gelecek şekilde besi ortamında kültüre alındılar. Çekirdeklerin çimlenmesi için kullanılan MS besi ortamı 30 gl⁻¹ sakkaroz ve 6.2 gl⁻¹ agarla desteklendi.

Çizelge 4.1. Antepfıstığı (*P. vera* L.) tohumlarının sterilizasyonu üzerine farklı NaOCl konsantrasyonlarının etkisi*

Uygulama	Çimlenen Tohum (%)	Enfekte Tohum (%)	Aşırı Steril Tohum (%)
Kontrol	14.0 ± 4.95 d	86.0 ± 4.96 a	0.00 ± 0.00 b
% 5 NaOCl	34.0 ± 6.76 c	66.0 ± 6.76 b	0.00 ± 0.00 b
% 10 NaOCl	62.0 ± 4.90 b	38.0 ± 6.93 c	0.00 ± 0.00 b
% 15 NaOCl	84.0 ± 5.23 a	10.0 ± 4.28 d	6.0 ± 3.39 b
% 20 NaOCl	44.0 ± 7.09 c	0.00 ± 0.00 d	56.0 ± 7.09 a

*Veriler kültürün 14. gününde toplam 50 eksplantın ortalamasıdır.

Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi, uygulanan işlemler arasında önemli istatistiksel farklılıklar vardır. 14 günlük kültür sonucu kontrol grubundakilerin %86'sı, %5'lik işlemde tohumların %66'sı, %10'lük işlemde tohumların %36'sı enfekte olurken, %15'likte tohumların %10'u ve %20'lik işlemlerde tohumların hiçbiri enfekte olmamıştır. Çizelge 4.1'de verilen sonuçlar NaOCl konsantrasyonunun artmasıyla 14 gün kültüre alınan antepfıstığı (*P. vera* L.) tohumlarının enfeksiyon oranının azaldığını göstermektedir. %20'lik NaOCl uygulandığı zaman herhangi bir enfeksiyon gözlenmezken en yüksek enfeksiyonun %86 ile kontrol grubunda olduğu tespit edilmiştir. Çizelgedeki veriler bir bütün olarak değerlendirildiği zaman antepfıstığı

tohumlarının sterilizasyonu için %15'lik NaOCl'in 15 dakika süre ile uygulanmasının iyi sonuç vereceği görülmektedir.

4.2. Buttum (*P. khinjuk* Stocks) Tohumlarının Sterilizasyonu Üzerine Farklı NaOCl Konsantrasyonlarının Etkisi

Bu deneyde buttum tohumların enfekte olmadan çimlenmesi ve dekontaminasyonuna etkisini tespit etmek için NaOCl'ün %5, %10, %15, %20'lik konsantrasyonları bir kontrol grubu ile birlikte test edildi. Sert kabukları çıkarılmış tohumlar NaOCl'nin %5, %10, %15, %20'lik çözeltileri içine 15 dakika çalkalandılar. Her 2-3 dakikada bir erlen içinde çalkalandılar. Yüzey sterilizasyonunda her seri steril distile su ile 5 kez (herbiri yaklaşık 5 dakika) iyice çalkalandılar. Steril saf suda yaklaşık 1 saat bekletildikten sonra tohumların testası steril kurutma kağıdı üzerinde bir pens ve bistürü yardımı ile kolayca çıkarıldı ve radikulanın yönü besi ortamına gelecek şekilde kültür kaplarına ekildiler. Tohumların çimlenmesi için kullanılan MS besi ortamı 30 gl⁻¹ sakkaroz ve 6.2 gl⁻¹ agarla desteklendi.

Çizelge 4.2. Buttum (*P. khinjuk* Stocks) tohumlarının sterilizasyonu üzerine farklı NaOCl konsantrasyonlarının etkisi*

Uygulama	Çimlenen Tohum (%)	Enfekte Tohum (%)	Aşırı Steril Tohum (%)
Kontrol	14.0 ± 4.95 c	86.0 ± 4.95 a	0.00 ± 0.00 c
% 5 NaOCl	42.0 ± 7.05 b	58.0 ± 7.05b	0.00 ± 0.00 c
% 10 NaOCl	76.0 ± 6.10 a	24.0 ± 6.10 c	0.00 ± 0.00 c
% 15 NaOCl	62.0 ± 6.93 a	16.0 ± 5.23 c	22.0 ± 5.91 b
% 20 NaOCl	34.0 ± 6.76 b	8.0 ± 3.87 c	58.0 ± 7.05 a

*Veriler kültürün 14. gününde toplam 50 eksplantın ortalamasıdır.

Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi kontrol grubundaki bütün tohumların %86'sı enfekte oldular. 14 günlük inkübasyon sonucu %5'lik işlemde tohumların %58'i, %10'lük işlemde %24 'ü enfekte olurken, %15'likte tohumların %16'sı ve %20'lik işlemde %8'i enfekte oldu. Çizelge 4.2'deki istatistiksel analiz sonuçlarına göre işlemler arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır. Çizelge 4.2'de verilen sonuçlar açıkça gösteriyor ki NaOCl konsantrasyonunun artmasıyla 14 gün kültüre alınan buttum tohumlarının enfeksiyon oranı azalmıştır. Yine çizelgeden anlaşılacağı üzere %15 ve %20'lik NaOCl, tohumların enfekte olma oranı çok düşük olduğu için kontrol, %5 ve

%10'luk NaOCl konsantrasyonlarından daha az enfeksiyon oranı vermiştir. En yüksek çimlenme oranı ve düşük enfeksiyon oranı bakımından uygulamaların genel değerlendirilmesi durumunda %10'luk NaOCl sterilantı ile buttum tohumlarının çimlenmesinde kullanılabileceği tespit edilmiştir.

4.3. Atlantik Sakızı (*P. atlantica* Desf.) Tohumlarının Sterilizasyonu Üzerine Farklı NaOCl Konsantrasyonlarının Etkisi

Bu deneyde tohumların enfekte olmadan çimlenmesi ve dekontaminasyonuna etkisini tespit etmek için NaOCl'ün %5, %10, %15, %20'lik konsantrasyonları bir kontrol grubu ile birlikte test edildi. Sert kabukları çıkarılmış tohumlar 10 dakika NaOCl'nin %5, %10, %15, %20'lik çözeltileri içine 10 dakika çalkalandılar. Her 2-3 dakikada bir erlenler çalkalandı. Yüzey sterilizasyonunda her seri steril distile su ile 5 kez (her biri yaklaşık 5 dakika) iyice çalkalandılar. Steril saf suda yaklaşık 1 saat bekletildikten sonra tohumların testası steril kurutma kağıdı üzerinde bir pens ve bistürü yardımı ile kolayca çıkarıldı ve radikulanın yönü alt tarafa gelecek şekilde MS besi ortamında kültüre alındılar. Çekirdeklerin çimlenmesi için kullanılan MS besi ortamı 30 gl⁻¹ sakkaroz ve 6.2 gl⁻¹ agarla desteklendi.

Çizelge 4.3. Atlantik sakızı (*P. atlantica* Desf.) tohumlarının sterilizasyonu üzerine farklı NaOCl konsantrasyonlarının etkisi*

Uygulama	Çimlenen Tohum (%)	Enfekte Tohum (%)	Aşırı Steril Tohum (%)
Kontrol	16.0 ± 5.23 d	84.0 ± 5.23 a	0.00 ± 0.00 c
% 5 NaOCl	42.0 ± 7.05 bc	58.0 ± 7.05b	0.00 ± 0.00 c
% 10 NaOCl	62.0 ± 6.93 a	38.0 ± 6.93 c	0.00 ± 0.00 c
% 15 NaOCl	48.0 ± 7.13 ab	12.0 ± 4.64 d	40.0 ± 6.99 b
% 20 NaOCl	28.0 ± 6.41 cd	6.0 ± 3.39 c	66.0 ± 6.76 a

*Veriler kültürün 14. gününde toplam 50 eksplantın ortalamasıdır.

Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi kontrol grubundaki tohumların %84'nün enfekte olduğu gözlemlendi. 14 günlük kültür sonucu %5'lik işlemde tohumların %58'i, %10'lük işlemde %38'i enfekte olurken, %15'likte tohumların %12'si ve %20'lik işlemde %6'sı enfekte olmuştur. Atlantik sakızı tohumlarının steril olarak çimlenebilmesi için, uygulanan işlemlerden alınan sonuçlara uygulanan istatistiksel analiz sonucuna göre işlemler arasında önemli farklılıklar vardır Çizelge 4.3'de verilen sonuçlar NaOCl

konsantrasyonunun artmasıyla 14 gün kültüre alınan Atlantik sakızı (*P. atlantica* L.) tohumlarının enfeksiyon oranının azaldığını göstermektedir. %62'lik çimlenme oranı, %38'lik enfeksiyon oranı ve aşırı steril tohumun hiç görülmemesi nedeniyle %10 NaOCI konsantrasyonunun atlantik sakızları tohumlarını sterilizasyonu için uygun olduğu tespit edilmiştir.

4.4. Melengiç (*P. terebinthus* L.) Tohumlarının Sterilizasyonu Üzerine Farklı NaOCI Konsantrasyonlarının Etkisi

Melengiç tohumların enfekte olmadan çimlenmesi ve dekontaminasyonuna etkisini tespit etmek için NaOCI'nin %5, %10, %15, %20'lik konsantrasyonları bir kontrol grubu ile birlikte test edildi. Sert kabukları çıkarılmış tohumlar NaOCI'nin %5, %10, %15, %20'lik çözeltileri içine 10 dakika çalkalandılar. Her 2-3 dakikada bir erlenler çalkalandı. Yüzey sterilizasyonunda her seri steril distile su ile 5 kez (her biri yaklaşık 5 dakika) iyice çalkalandılar. Steril saf suda yaklaşık 1 saat bekletildikten sonra tohumların testası steril kurutma kağıdı üzerinde bir pens ve bisturi yardımı ile kolayca çıkarıldı ve radikulanın yönü besi ortamına gelecek şekilde MS besi ortamında kültüre alındılar. Tohumların çimlenmesi için kullanılan MS besi ortamı 30 gl⁻¹ sakkaroz ve 6.2 gl⁻¹ agarla desteklendi.

Çizelge 4.4. Melengiç (*P. terebinthus* L.) tohumlarının sterilizasyonu üzerine farklı NaOCI konsantrasyonlarının etkisi*

Uygulama	Çimlenen Tohum (%)	Enfekte Tohum (%)	Aşırı Steril Tohum (%)
Kontrol	8.0 ± 3.87 c	92.0 ± 3.87 a	0.00 ± 0.00 d
% 5 NaOCI	32.0 ± 6.66 b	68.0 ± 6.66 b	0.00 ± 0.00 d
% 10 NaOCI	52.0 ± 7.13 a	18.0 ± 5.48 c	30.0 ± 6.54 c
% 15 NaOCI	38.0 ± 6.93 ab	16.0 ± 5.23 c	46.0 ± 7.12 b
% 20 NaOCI	22.0 ± 5.91 bc	14.0 ± 4.95 c	64.0 ± 6.85 a

*Veriler kültürün 14. gününde toplam 50 eksplantın ortalamasıdır.

Deneyden elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçlarına göre işlemler arasında önemli farklılıklar bulunduğu tespit edilmiştir. Çimlenme oranı bakımında en iyi sonuç %10 NaOCI uygulamalarında elde edilirken, en düşük çimlenme oranı, enfeksiyon riskinin yüksek olmasından dolayı kontrol grubunda görülmüştür. Çizelge 4.4'de görüldüğü gibi kontrol grubundaki tohumların %92'si

enfekte oldular. 14 günlük kültür sonucu %5'lik işlemde tohumların %68'i, %10'lük işlemde %18'i enfekte olurken, %15'likte tohumların %16'sı ve %20'lik işlemde %14'ü enfekte olmuştur. NaOCl konsantrasyonunun artmasıyla 14 gün kültüre alınan melengiç (*P. terebinthus* L.) tohumlarının enfeksiyon oranının azaldığı tespit edilmiştir. Çizelge 4.4'deki veriler ve daha önce bildirilen veriler ışığında, melengiç (*P. terebinthus* L.) tohumlarının dekontaminasyonu için %10'lik NaOCl'nin uygun olabileceği tespit edilmiştir.

4.5. Antepfıstığı (*P.vera* L.) Tohumlarından *In Vitro* Anaç Üretimi Üzerine Farklı BBD'lerin Etkisi

Bu deneyde mikroaşılama da anaç olarak kullanılacak tohumların gelişimleri için 2 farklı oksin-sitokin kombinasyonu ve bir kontrol grubu ile birlikte test edildi. Sert kabukları çıkarılmış tohumlar Çizelge 4.1 belirlenen en uygun sterilant ile yüzey sterilizasyonları gerçekleştirildikten sonra MS besi ortamlarında kültüre alındılar.

Çizelge 4.5. Antepfıstığı tohumlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu, kök uzunluğu ve aşu noktası çapının gelişimi üzerine farklı BBD'lerin etkisi*

BBD Kombinasyonu	Çimlenme Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Kök Uzunluğu (mm)	Aşu Noktası Çapı (%)
Kontrol	32.0 ± 6.66 b	18.76 ± 0.93 a	14.40 ± 1.96 b	2.33 ± 0.06 a
BAP	64.0 ± 6.85 a	22.14 ± 1.72 a	34.43 ± 5.00 b	2.38 ± 0.07 a
IBA	20.0 ± 5.71 b	11.02 ± 0.50 b	28.82 ± 3.55 ab	1.67 ± 0.13 b

*Veriler kültürün 14. gününde rapor edildi ve her işlem için ortalama 50 tohum kullanıldı.

Deney sonucunda elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçlarına göre çimlenme oranı sürgün uzunluğu ve kök oluşturma değerleri bakımından uygulamalar arasındaki fark önemli çıkarken; aşu noktası çapı bakımından gruplar arasında bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Çimlenme oranı bakımından %64.0 ile 1 mg⁻¹ BAP en iyi sonucu verirken IBA çimlenme ortamındaki çimlenme oranı %20.0 olarak en düşük oranda ortaya çıkmıştır. Sürgün uzunluğu bakımından en iyi sonucu 1 mg⁻¹ BAP uygulaması 22.14 mm olarak verirken hormonsuz ve IBA uygulamaları aynı grup içerisinde yer almış ve BAP uygulamalarından geride kalmıştır. Kök uzunluğu

bakımından BAP ve IBA uygulamaları en iyi sonucu vermiş ve sırasıyla 34.43 mm ve 28.82 mm kök gelişiminin olduğu gözlenmiştir. Aşı noktası çapı bakımından en iyi sonucu 2.38 mm ile BAP uygulaması verirken diğer uygulamalar yakın sonuçları verdiği için istatistiksel bir farklılık tespit edilmemiştir.

4.6. Buttum (*P. khinjuk* Stocks) Tohumlarından *In Vitro* Anaç Üretimi Üzerine Farklı BBD'lerin Etkisi

Bu deneyde mikroaşılama da anaç olarak kullanılacak tohumların gelişimleri için 2 farklı oksin-sitokin kombinasyonu ve bir kontrol grubu ile birlikte test edildi. Sert kabukları çıkarılmış tohumlar Çizelge 4.2'de belirlenen en uygun sterilant ile yüzey sterilizasyonları gerçekleştirildikten sonra MS besi ortamında kültüre alındılar.

Çizelge 4.6. Buttum tohumlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu, kök uzunluğu, ve aşı noktası çapının gelişimi üzerine farklı BBD'lerin etkisi*

BBD Kombinasyonu	Çimlenme Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Kök Uzunluğu (mm)	Aşı Noktası Çapı (%)
Kontrol	43.33 ± 9.20 b	16.96 ± 2.29 b	42.14 ± 4.28 a	1.44 ± 0.18 a
BAP	87.14 ± 4.03 a	18.75 ± 0.76 b	25.26 ± 1.24 b	1.38 ± 0.03 a
IBA	53.33 ± 9.26 b	25.17 ± 2.06 a	44.53 ± 5.70 a	1.35 ± 0.09 a

*Veriler kültürün 14. gününde rapor edildi ve her işlem için ortalama 50 tohum kullanıldı.

Deney sonucunda elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçlarına göre çimlenme oranı sürgün uzunluğu ve kök oluşturma değerleri bakımından uygulamalar arasındaki fark önemli çıkarken; aşı noktası çapı bakımından gruplar arasında bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Çimlenme oranı bakımından %87.14 ile 1 mg⁻¹ BAP en iyi sonucu verirken hormonsuz çimlenme ortamındaki çimlenme oranı %43.33 olarak en düşük oranda ortaya çıkmıştır. Sürgün uzunluğu bakımından en iyi sonucu 1 mg⁻¹ IBA uygulaması 25.17 mm olarak verirken hormonsuz ve BAP uygulamaları aynı grup içerisinde yer almış ve IBA uygulamalarından geride kalmıştır. Kök uzunluğu bakımından IBA ve hormonsuz uygulamaları en yüksek sonucu vermiş ve sırasıyla 44.53 mm ve 42.14 mm kök gelişiminin olduğu gözlenmiştir. Aşı noktası çapı bakımından en iyi sonucu 1.44 mm ile hormonsuz uygulaması verirken diğer uygulamalar yakın sonuçları verdiği için istatistiksel bir farklılık tespit edilmemiştir.

4.7. Atlantik Sakızı (*P. atlantica* Desf.) Tohumlarından *In Vitro* Anaç Üretimi Üzerine Farklı BBD'lerin Etkisi

Bu deneyde mikroaşılama da anaç olarak kullanılacak tohumların gelişimleri için 2 farklı oksin-sitokinin kombinasyonu ve bir kontrol grubu ile birlikte test edildi. Sert kabukları (endokarpı) çıkarılmış tohumlar Çizelge 4.3'de belirlenen en uygun sterilant ile yüzey sterilizasyonları gerçekleştirildikten sonra MS besi ortamında kültüre alındılar.

Çizelge 4.7. Atlantik sakızı tohumlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu, kök uzunluğu, ve aşı noktası çapının gelişimi üzerine farklı BBD'lerin etkisi*

BBD Kombinasyonu	Çimlenme Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Kök Uzunluğu (mm)	Aşı Noktası Çapı (%)
Kontrol	50.00 ± 9.28 a	7.25 ± 0.65 b	22.85 ± 2.22 a	1.43 ± 0.05 b
BAP	63.41 ± 7.61 a	10.07 ± 0.83 a	9.66 ± 1.22 b	1.77 ± 0.08a
IBA	24.21 ± 4.41 b	11.05 ± 0.81 a	28.58 ± 3.61ab	1.87 ± 0.11a

*Veriler kültürün 8.haftasında rapor edildi ve her işlem için ortalama 50 tohum kullanıldı.

Deney sonucunda elde edilen verilere uygulanan istatistiki analiz sonuçlarına göre çimlenme oranı sürgün uzunluğu ve kök oluşturma değerleri bakımından uygulamalar arasındaki fark önemli çıkarken; aşı noktası çapı bakımından gruplar arasında bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Çimlenme oranı bakımından %63.41 ile 1 mg⁻¹ BAP destekli besi ortamı en iyi sonucu verirken, IBA destekli ortamındaki çimlenme oranı %24.21 olarak en düşük oranda gözlenmiştir. Sürgün uzunluğu bakımından en iyi sonucu 1 mg⁻¹ IBA uygulaması 11.05 mm olarak verirken hormonsuz ve BAP uygulamaları aynı grup içerisinde yer almış ve IBA uygulamalarından geride kalmıştır. Kök uzunluğu bakımından hormonsuz ve IBA uygulamaları en iyi sonucu vermiş ve sırasıyla 22.85 mm ve 28.58 mm kök gelişiminin olduğu gözlenmiştir. Aşı noktası çapı bakımından en iyi sonucu 1.44 mm ile IBA uygulaması verirken diğer uygulamalar birbirine yakın sonuçları vermesinden dolayı istatistiksel bir farklılık tespit edilmemiştir. Atlantik anacının sürgün uzunluğu antepfıstığı ve buttum anacına göre gelişmesi çok daha yavaş gerçekleşmiş olup bitki

yapısı olarak zayıf ve cılız bir anaç olmasına rağmen aşı tutma oranı bakımından herhangi bir sorun yaşanmamıştır.

4.8. Melengiç (*P. terebinthus* L.) Tohumlarından *In Vitro* Anaç Üretimi Üzerine Farklı BBD'lerin Etkisi

Bu deneyde mikroaşılama da anaç olarak kullanılacak fidelerin gelişimleri için 2 farklı oksin-sitokinin kombinasyonu ve bir kontrol grubu ile birlikte test edildi. Sert kabukları çıkarılmış tohumlar Çizelge 4.4.'de belirlenen en uygun sterilant ile yüzey sterilizasyonları gerçekleştirildikten sonra MS besi ortamında kültüre alındılar.

Çizelge 4.8. Melengiç tohumlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu, kök uzunluğu ve aşı noktası çapı gelişmesi üzerine farklı BBD'lerin etkisi*

BBD Kombinasyonu	Çimlenme Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Kök Uzunluğu (mm)	Aşı Noktası Çapı (%)
Kontrol	35.56 ± 7.21 a	5.28 ± 0.47 c	12.98 ± 1.20 b	1.08 ± 0.06 b
BAP	31.11 ± 6.97 ab	14.90 ± 2.71 b	16.83 ± 1.68 a	1.60 ± 0.13 a
IBA	53.33 ± 7.52 a	20.96 ± 2.20 a	13.07 ± 0.75 b	1.09 ± 0.07 b

*Veriler kültürün 8.haftasında rapor edildi ve her işlem için ortalama 50 tohum kullanıldı.

Deney sonucunda elde edilen verilere uygulanan istatistiki analiz sonuçlarına göre çimlenme oranı sürgün uzunluğu ve kök oluşturma değerleri bakımından uygulamalar arasındaki fark önemli çıkarken; aşı noktası çapı bakımından gruplar arasında bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Çimlenme oranı bakımından %53.33 ile 1 mg⁻¹ IBA en iyi sonucu verirken BAP çimlenme ortamındaki çimlenme oranı %35.56 olarak en düşük oranda ortaya çıkmıştır. Sürgün uzunluğu bakımından en iyi sonucu 1 mg⁻¹ IBA uygulaması 20.96 mm olarak verirken hormonsuz ve BAP uygulamaları aynı grup içerisinde yer almış ve IBA uygulamalarından geride kalmıştır. Kök uzunluğu bakımından BAP ve IBA uygulamaları en iyi sonucu vermiş ve sırasıyla 16.83 mm ve 13.07 mm kök gelişiminin olduğu gözlenmiştir. Aşı noktası çapı bakımından en iyi sonucu 1.60 mm ile BAP uygulaması verirken diğer uygulamalar yakın sonuçları vermesinden dolayı istatistiksel olarak bir farklılık tespit edilmemiştir.

4.9. Antepfıstığı Anacı Üzerine Aşılana Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi

Bu deneyde, anaçlar için optimize edilen sterilizasyon ve anaç yetiştirme koşulları kullanılarak çimlendirilen antepfıstığı anaçları üzerine ve 8-9 mm uzunluğundaki sakız ağacı sürgün uçları mikroçelik olarak kullanılarak yapılan mikroaşılama sonucu elde edilen aşı fideler, iki farklı besi ortamı (oksin-sitokinin kombinasyonları) ve bir kontrol grubu (MS) kültüre alınmıştır. Elde edilen bulgulara ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.9'de verilmiştir.

Çizelge 4.9. Antepfıstığı anacı üzerine mikroaşılı sakız ağacının gelişmesine BBD kombinasyonlarının etkisi*

BBD Kombinasyonu	Aşı Tutma Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (cm)	Kök Oluşturma Oranı (%)
Kontrol	100.00 ± 0.00 a	1.66 ± 0.19 b	62.50 ± 18.29 a
0.5 mg⁻¹ BAP + 0.1 mg⁻¹ IBA	100.00 ± 0.00 a	1.06 ± 0.17 b	37.50 ± 18.29 b
0.5 mg⁻¹ IBA + 0.1 mg⁻¹ BAP	100.00 ± 0.00 a	1.10 ± 0.16 a	44.44 ± 17.56 b

*Veriler kültürün 28. gününde ve her seride 10 mikroaşımın ortalamasını içermektedir.

Aşı tutma oranı bakımından besi ortamları arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunmama ile birlikte aşı tutma oranları %100 oranında gerçekleşmiştir. Yıldırım ve ark. 2010, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin *in vitro* çimlendirilen tohum anaçları üzerine mikroaşılama sonucu elde edilen aşı tutma oranının en düşük %90 olarak elde etmiştir. Ghorbel ve ark. 1998, Achak badem çeşidinin mikroaşılama ile ilgili çalışmada maksimum aşı tutma oranının %80 olduğunu bildirmiştir. Yıldırım ve ark. 2013, Teksas, Ferrastar ve Nonpareil badem çeşitlerinin mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada tohumdan elde edilen çöğür anaçlar farklı tiplerde kullanılarak hipokotil ve epikotil seviyelerinden yapılan mikroaşılama ile birlikte aşı tutma oranlarının %83-%100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Ayrıca mikroaşılama kullanılan sürgünlerin boğum sayısının aşı tutma oranı üzerine etkisini de inceleyen araştırmacılar en iyi aşı tutma oranını yalnız sürgün ucu ve sürgün ucu + bir boğum materyalinden elde edildiği bildirilmiştir. Juarez ve ark. 1992, tarafından

bademde sürgün ucu aşılama yöntemiyle yapılan mikroaşılama çalışmasında aşı tutma oranının %40-50 olduğu bildirilmiştir. Işıkalan ve ark. 2011, *in vitro* çimlendirilmiş tohum anaçları üzerine Nonpareil çeşidinin mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %91-100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Channuantapipa ve ark. 2000, Nonpareil 15-1 ve Ne Plus Ultra badem çeşitleri titan x nemaguard hibrit anaçları üzerine mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %50-65 arasında olduğunu bildirmiştir. Çelik 2006, Ferragnes badem çeşidinin GF-677, Ak-1 ve Ak-2 klonal anaçlarının mikroaşılama ile ilgili yapılan çalışmada aşı tutma oranlarının sırasıyla %25, %25.1 ve %34.4 olduğu bildirilmiştir. Farklı araştırmacılar tarafından farklı badem çeşitleri ve anaçlarının kullanılarak yapılan mikroaşılama çalışmalarında elde edilen aşı tutma oranları %25 ile %100 arasında değişiklik göstermektedir. Abousalim ve Mantell (1992), milkap destekli sıvı ortamda; antepfıstığı mikroaşılama aksillar dallanma ile çeliklerin gelişimi, köklerin dallanması ve gelişiminin iyi olduğunu bildirmektedir. Bununla birlikte bu ortamın çelik ve kök gelişimini artırdığı rapor edilmiştir. Eğer iki defadan daha az alt kültür yapılan çelikler, çoğaltma ortamlarında kullanılırsa, çeliklerdeki aksillar sürgün gelişiminin zayıf ve yavaş olduğu görülür. Benzer şekilde kaynaklarda da belirtildiği gibi, diğer bazı odunsu türlerde alt kültür sayısının rejuvenasyonu artırdığı rapor edilmiştir (Hammatt 1994; Jones 1994).

Çalışmamızda elde edilen aşı tutma oranları birçok araştırmacının elde ettiği sonuçlara nispeten daha yüksek çıkmıştır. Aşılı anaçlarda meydana gelen köklenme durumları bakımından hormonsuz ortamdan %62'lik bir oran görülürken, IBA ağırlıklı ortamda ise %44'lük bir köklenme sağlanmıştır. Bu iki ortama göre BAP ağırlıklı ortamda köklenme nispeten daha yüksek oranda meydana gelmiştir. En iyi sürgün gelişiminin de BBD'siz ortamda gerçekleştiği görülmüştür. Dar meristemli yarma aşısı ile yapılan mikroaşılarda, kaynaşmanın olup olmadığı kültürün 3. gününde belli olmaktadır. Kültürün 2. haftasında mikroçeliğin anaca bağlandığı yerlerde, az miktarda kallus oluşurken, 4 hafta sonra, kallus miktarı artar ve sürgün uzaması iyice belirginleşir. Benzer şekilde, mikroaşılama ilk 2-3 hafta içinde çelik ve anaç arasında kallus oluşumu ve devam eden gelişme, Jeffrey ve Yeoman (1983) tarafından rapor edilmiştir. Aşı kalemi olarak kullanılan mikroçelikler, kültürün 4 haftasında en az iki çift yaprak oluşturur ve 6 hafta sonra ise, 3 veya 4 tomurcuklu sürgünler gelişir.

4.10. Buttum Anacı Üzerine Aşılana Sakız Ağacının Bazı Aşı Parametrelerinin Gelişimi Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi

Bu deneyde, mikroçoğaltım yoluyla laboratuvar şartlarında çimlendirilen buttum çeşidine ait 2 cm uzunluğundaki anaçlar ve mikroçelik olarak kullanılan 8-9 mm uzunluğundaki sakız ağacı sürgün uçları kullanılarak yapılan mikroaşılama sonucu elde edilen aşılı materyaller, farklı oksin-sitokinin kombinasyonlarına sahip MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Elde edilen bulgulara ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Buttum anacı üzerine mikroaşılı sakız ağacının gelişmesine BBD kombinasyonlarının etkisi*

BBD Kombinasyonu	Aşı Tutma Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (cm)	Kök Oluşturma Oranı (%)
Kontrol	100.00 ± 0.00 a	1.07 ± 0.11 b	100.00 ± 0.00 a
0.5 mg^l⁻¹ BAP + 0.1 mg^l⁻¹ IBA	100.00 ± 0.00 a	1.11 ± 0.12 b	33.33 ± 16.60 b
0.5 mg^l⁻¹ IBA+ 0.1 mg^l⁻¹ BAP	100.00 ± 0.00 a	1.51 ± 0.08 a	55.56 ± 17.56 b

*Veriler kültürün 28. gününde ve her seride ortalama 10 mikroaşılının ortalamasını içermektedir.

Aşı tutma oranı bakımından besi ortamları arasında herhangi bir fark bulunmayıp aşı tutma oranları %100 oranında gerçekleşmiştir. Aşılı anaçlarda meydana gelen köklenme durumları bakımından hormonsuz ortamdan %100'lük bir başarı oranı yakalanmıştır. IBA ağırlıklı ortamda ise, %55'lik bir köklenme oranı sağlanmıştır. Bu iki ortama göre BAP ağırlıklı ortamda köklenme nispeten daha az oranda meydana gelmiştir. En iyi sürgün gelişimi de IBA ağırlıklı ortamda gerçekleştiği görülmüştür. Dar meristemli yarma aşısı ile yapılan mikroaşılarda, kaynaşmanın olup olmadığı kültürün 3. gününde belli olmaktadır. Kültürün 2. haftasında mikroçeliğin anaca bağlandığı yerlerde, az miktarda kallus oluşurken, 4 hafta sonra, kallus miktarı artar ve sürgün uzaması iyice belirginleşir.

4.11. Atlantik sakızı (*P. atlantica* Desf.) Anacı Üzerine Aşılana Sakız Ağacının Bazı Aşı Parametrelerinin Gelişimi Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi

Bu deneyde, mikroçoğaltım yoluyla laboratuvar şartlarında çimlendirilen atlantik sakızı çeşidine ait 2 cm uzunluğundaki anaçlar ve mikroçelik olarak 8-9 mm uzunluğundaki sakız ağacı sürgün uçları kullanılarak yapılan mikroaşılama sonucu elde edilen aşılı fideler, farklı oksin-sitokinin kombinasyonlarına sahip MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Elde edilen bulgulara ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4.11. Atlantik sakızı anacı üzerine mikroaşılı sakız ağacının gelişmesine BBD kombinasyonlarının etkisi*

BBD Kombinasyonu	Aşı Tutma Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (cm)	Kök Oluşturma Oranı (%)
Kontrol	100.00 ± 0.00 a	0.80 ± 0.06 b	100.00 ± 0.00 a
0.5 mg^l BAP + 0.1 mg^l IBA	100.00 ± 0.00 a	0.55 ± 0.02 c	33.3 ± 16.60 b
0.5 mg^l IBA + 0.1 mg^l BAP	100.00 ± 0.00 a	1.08 ± 0.09 a	100.00 ± 0.00 a

*Veriler kültürün 28. gününde ve her seride 10 mikroaşının ortalamasını içermektedir.

Çizelge 4.11’de görüldüğü gibi aşı tutma oranı bakımından besi ortamları arasında herhangi bir fark bulunmayıp aşı tutma oranları %100 oranında gerçekleşmiştir. Aşılı anaçlarda en iyi sürgün gelişimi IBA ağırlıklı ortamda gerçekleştiği görülmüştür. Dar meristemli yarma aşı ile yapılan mikroaşılarda, kaynaşmanın olup olmadığı kültürün 5 gününde belli olmaktadır. Kültürün 2. haftasında mikro çeliğin anaca bağlandığı yerlerde, az miktarda kallus oluşurken, 4 hafta sonra, kallus miktarı artar ve sürgün uzaması iyice belirginleşir. Kök oluşturma oranları durumları bakımından hormonsuz ve IBA ağırlıklı ortamda %100’lük bir başarı oranı yakalanmıştır. BAP ağırlıklı ortamda ise nispeten daha düşük oranda gerçekleşmiş olup %33’lük bir köklenme oranı sağlanmıştır

4.12. Melengiç Anacı Üzerine Aşılana Sakız Ağacının Bazı Aşı Parametrelerinin Gelişimi Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi

Bu deneyde, mikroçoğaltım yoluyla laboratuvar şartlarında çimlendirilen melengiç çeşidine ait 2 cm uzunluğundaki anaçlar ve mikroçelik olarak kullanılan 8-9 mm uzunluğundaki sakız ağacı sürgün uçları kullanılarak yapılan mikroaşılama sonucu elde edilen aşılı materyaller, farklı oksin-sitokinin kombinasyonlarına sahip MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Elde edilen bulgulara ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Melengiç anacı üzerine mikroaşılı sakız ağacının gelişmesine BBD kombinasyonlarının etkisi*

BBD Kombinasyonu	Aşı Tutma Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (cm)	Kök Oluşturma Oranı (%)
Kontrol	100.00 ± 0.00 a	0.98 ± 0.05 a	55.56 ± 16.55 a
0.5 mg^l⁻¹ BAP + 0.1 mg^l⁻¹ IBA	100.00 ± 0.00 a	0.94 ± 0.04 a	33.33 ± 15.50 a
0.5 mg^l⁻¹ IBA + 0.1 mg^l⁻¹ BAP	100.00 ± 0.00 a	0.87 ± 0.04 a	33.33 ± 15.50 a

*Veriler kültürün 28. gününde ve her seride 10 mikroaşımın ortalamasını içermektedir.

Çizelge 12’de görüldüğü gibi aşı tutma oranı bakımından besi ortamları arasında herhangi bir fark bulunmayıp %100 oranında gerçekleşmiştir. Aşılı anaçlarda sürgün gelişimi BAP ağırlıklı ortamlarla çok yakın sonuçlar vermesiyle birlikte en iyi gelişim hormonsuz ortamda gerçekleştiği görülmüştür. Dar meristemli yarma aşı ile yapılan mikroaşılarda, kaynaşmanın olup olmadığı kültürün 8. gününde belli olmaktadır. Kültürün 2. haftasında mikroçeliğin anaca bağlandığı yerlerde, az miktarda kallus oluşurken, 4 hafta sonra, kallus miktarı artar ve sürgün uzaması iyice belirginleşir. Kök oluşturma oranları durumları bakımından hormonsuz %55’lik oranla en iy sonucu veren ortam olmasının yanında IBA ve BAP ağırlıklı ortamlar aynı sonucu vererek %33’lük kök oluşturma oranı meydana gelmiştir.

4.13. Antepfıstığı (*P.vera* L.) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Farklı Mikroçelik Uzunluğunun Etkisi

Bu deneyde, sterilizasyon ve anaç gelişimleri için optimize edilen koşullar kullanılarak çimlendirilen antepfıstığı anacı üzerine mikroçelik olarak 0.5, 1.0 ve 1.5 cm uzunluğundaki sakız ağacı sürgün uçları kullanılarak yapılan mikroaşıl原因ama sonucu elde edilen aşı fideler, 0.5 mg^l⁻¹ IBA + 0.1 mg^l⁻¹ BAP içerikli besi ortamında (MS) kültüre alınmıştır. Elde edilen bulgulara ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.13'te verilmiştir.

Çizelge 4.13. Antepfıstığı anacı üzerine mikroaşılı sakız ağacının gelişmesine mikroçelik uzunluğunun etkisi*

Mikroçelik Uzunluğu (cm)	Aşı Tutma Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Kök Oluşturma Oranı (%)
0.5	100.00 ± 0.00 a	1.06 ± 0.07 b	53.33 ± 13.33 a
1.0	100.00 ± 0.00 a	1.29 ± 0.03 b	66.67 ± 12.59 a
1.5	100.00 ± 0.00 a	1.96 ± 0.12 a	33.33 ± 12.59 a

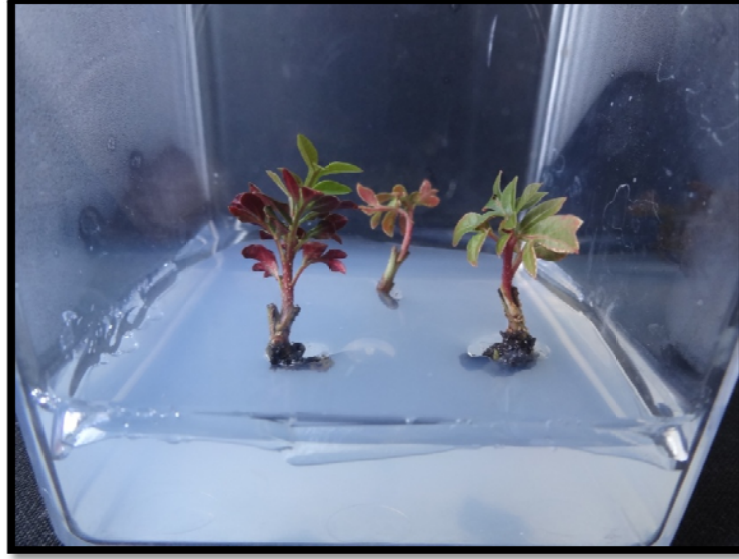
Veriler kültürün 28. gününde ve her seride 10 mikroaşımın ortalamasını içermektedir.

Yapılan çalışma kapsamında elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçlarına göre uygulamalar arasında aşı tutuma ve kök oluşturma oranları bakımında ortaya çıkan farklılıklar önemli bulunmuştur. Aşı tutma oranları bakımından gruplar arasında %100'lük bir oran elde edilirken farklılıklar ortaya çıkmamıştır. Sürgün uzunluğu bakımından en iyi sonucu 1.5 cm'lik uygulama 1.96 cm'lik bir gelişme göstermiş olup; diğer uygulamalar daha düşük ve farklı bir grup içinde yer almışlardır. Kök oluşturma oranları bakımından en iyi sonucu %66.67 ile 1.0 cm'lik uygulama verirken; en düşük sonucu %33.33 ile 1.5 cm'lik uygulama vermiş olmakla birlikte bütün uygulamalar aynı grup içerisinde yer almıştır.

4.14. Buttum (*P. khinjuk* Stocks) Anacı Üzerine Aşıl原因an Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Farklı Mikroçelik Uzunluğunun Etkisi

Bu deneyde, sterilizasyon ve anaç gelişimleri için optimize edilen koşullar kullanılarak çimlendirilen buttum. anacı üzerine mikroçelik olarak 0.5, 1.0 ve 1.5 cm

uzunluğundaki sakız ağacı sürgün uçları kullanılarak yapılan mikroaşılama sonucu elde edilen aşılı fideler, 0.5 mg l^{-1} IBA + 0.1 mg l^{-1} BAP içerikli besi ortamında (MS) kültüre alınmıştır (Resim 4.11). Elde edilen bulgulara ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.14’de verilmiştir.



Resim 4.11. Buttum anacının 1.0 cm’lik mikroçelikle aşılandıktan 4 hafta sonraki gelişimi

Çizelge 4.14. Buttum anacı üzerine mikroaşıllı sakız ağacının gelişmesine mikroçelik uzunluğunun etkisi*

Mikroçelik Uzunluğu (cm)	Aşı Tutma Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Kök Oluşturma Oranı (%)
0.5	100.00 ± 0.00 a	0.80 ± 0.04 c	20.00 ± 10.69 b
1.0	100.00 ± 0.00 a	1.28 ± 0.05 b	66.67 ± 12.59 a
1.5	100.00 ± 0.00 a	1.74 ± 0.04 a	66.67 ± 12.59 a

*Veriler kültürün 28. gününde ve her seride 10 mikroaşının ortalamasını içermektedir.

Yapılan çalışma kapsamında elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçlarına göre uygulamalar arasında aşı tutma ve kök oluşturma oranları bakımında ortaya çıkan farklılıklar önemli bulunmuştur. Aşı tutma oranları bakımından gruplar arasında %100’lük bir oran elde edilirken farklılıklar ortaya çıkmamıştır. Sürgün uzunluğu bakımından en iyi sonucu 1.5 cm’lik uygulama 1.74 cm’lik bir gelişme göstermiş olup; diğer uygulamalar daha düşük ve farklı bir grup içinde yer almışlardır.

Kök oluşturma oranları bakımından en iyi sonucu %66.67 ile 1.0 cm ve 1.5 cm'lik uygulama aynı değerleri verirken; en düşük sonucu %20.0 ile 0.5 cm'lik uygulama vermiş olmakla birlikte uygulama farklı bir grup içerisinde yer almıştır.

4.15. Atlantik Sakızı (*P. atlantica* Desf.) Anacı Üzerine Aşılana Sakız Ağacının Bazı Aşı Gelişme Parametreleri Üzerine Farklı Mikroçelik Uzunluğunun Etkisi

Bu deneyde, sterilizasyon ve anaç gelişimleri için optimize edilen koşullar kullanılarak çimlendirilen atlantik sakızı. anacı üzerine mikroçelik olarak 0.5, 1.0 ve 1.5 cm uzunluğundaki sakız ağacı sürgün uçları kullanılarak yapılan mikroaşılama sonucu elde edilen aşı fideler, 0.5 mg^l⁻¹ IBA + 0.1 mg^l⁻¹ BAP içerikli besi ortamında (MS) kültüre alınmıştır. Elde edilen bulgulara ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.15'de verilmiştir.

Çizelge 4.15. Atlantik sakızı anacı üzerine mikroaşılı sakız ağacının gelişimine mikroçelik uzunluğunun etkisi*

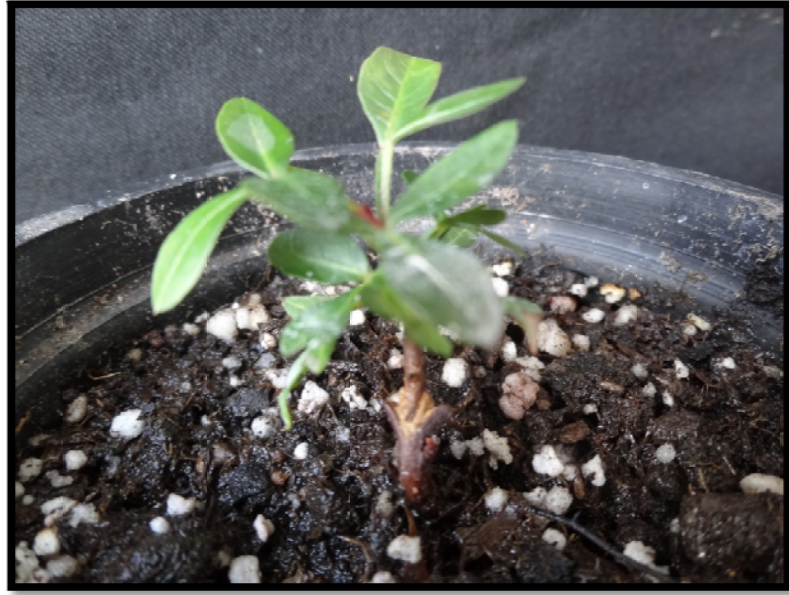
Kalem uzunluğu (cm)	Aşı Tutma Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Kök Oluşturma Oranı (%)
0.5	100.00 ± 0.00 a	0.77 ± 0.03 c	53.33 ± 13.33 a
1	100.00 ± 0.00 a	1.32 ± 0.02 b	53.33 ± 13.33 a
1.5	100.00 ± 0.00 a	1.60 ± 0.03 a	66.67 ± 12.59 a

*Veriler kültürün 28. gününde ve her seride 10 mikroaşının ortalaması içermektedir.

Yapılan çalışma kapsamında elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçlarına göre uygulamalar arasında aşı tutuma ve kök oluşturma oranları bakımında ortaya çıkan farklılıklar önemli bulunmuştur. Aşı tutma oranları bakımından gruplar arasında %100'lük bir oran elde edilirken istatistiksel farklılıklar gözlenmemiştir. Sürgün uzunluğu bakımından en iyi sonucu 1.5 cm'lik uygulama 1.60 cm'lik bir gelişme göstermiş olup; diğer uygulamalar daha düşük ve farklı bir grup içinde yer almışlardır. Kök oluşturma oranları bakımından en iyi sonucu %66.67 ile 1.5 cm'lik uygulama verirken; en düşük sonucu %53.33 ile 0.5 cm ve 1.0 cm'lik uygulama aynı değerleri vermiş olmakla birlikte uygulama aynı grup içerisinde yer almıştır.

4.16. *In vitro* Çoğaltılan Mikroaşılı Bitkilerin Aklimatizasyonu

Sakız ağacı ile aşılınmış bütün mikroaşılı fidelerin aklimatizasyonu 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperiyotlu ışık yoğunluğu $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ olan bir büyüme odasında yapıldı. Aşılı fideler musluk suyunda 1 saat boyunca yıkandıktan sonra, ticari olarak satılan torf içinde adaptasyonu yapıldı (Resim 4.12).



Resim 4.12. Buttum üzerine aşılı sakız ağacı bitkisinin saksıya alındıktan 4 hafta sonraki görünümü

Çalışmada tohum kökenli anaçlar üzerine sakız aşılı bitkiler ile, 45 günlük aklimatizasyon süresi sonunda, 1:1:1 oranlarındaki tam steril torf : kum : toprak karışımına % 80 oranında başarı ile transfer edilmiştir (Resim 4.13).



Resim 4.13. 8 haftalık aklimatizasyondan sonra *in vivo* koşullara aktarılmaya hazır sakız ağacı aşılı buttum fideleri

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sakız ağacının vejetatif olarak çoğaltılmasıyla ilgili bu güne kadar çok az sayıda rapor sunulmuştur. Vejetatif yöntemlerin yetersizliği (tohum çimlenme oranının düşük olması, çelik köklenme oranının düşük oranda veya hiç olmaması) sakız ağaçlarının klonal çoğaltımı için geleneksel çoğaltım yöntemlerine alternatif tekniklerin geliştirilmesini gerektirir. Bu nedenle bu çalışma kapsamında rutin olarak kullanılabilecek bir mikroaşılama protokolü geliştirilmiştir.

Mikroaşılama çalışmaları kapsamında 4 farklı *Pistacia* (*P. vera* L., *P. terebinthus* L., *P. khinjuk* Stocks, *P. atlantica* Desf.) türünün *in vitro* mikroaşılamada anaç olarak kullanılma durumlarını belirlemek için, yapılan uygulamalar kapsamında antepfıstığı için en uygun sterilantın %15'lik NaOCI olmasının yanı sıra; buttum, atlantik sakızı, ve melengiç tohumları için ise %10'luk NaOCI uygulamasının en uygun olduğu tespit edilmiştir.

Anaç yetiştirme bakımından yapılan uygulamalar sonucunda antepfıstığı tohumları için aşı noktası çapı bakımından çalışan besi ortamları arasında herhangi önemli bir farklılık bulunmazken çimlenme oranı ve sürgün uzunluğu bakımından en uygun ortamın 1 mg^l⁻¹ BAP ile desteklenmiş besi ortamı olduğu tespit edilmiştir. Buttum tohumlarının gelişimi için en iyi çimlenme ortamının 1 mg^l⁻¹ BAP verirken sürgün uzunluğu bakımından da en iyi sonuç 1 mg^l⁻¹ IBA destekli besi ortamından elde edilmiştir. Aşı noktası çapı bakımından ise besi ortamlar arasında önemli farklılıklar kaydedilmemiştir. Buttum ve antepfıstığı anaçları Atlantik ve melengiç tohumlarına göre çok daha kuvvetli bir gelişme göstermişlerdir. Antepfıstığı ve buttum anaçları 10 - 14 gün içinde aşılabilir anaç kalınlığına geldikleri gözlenmiştir. Atlantik sakız tohumlarının gelişimi üzerine en iyi çimlenme ortamını 1 mg^l⁻¹ BAP verirken, sürgün uzunluğu bakımından ise 1 mg^l⁻¹ IBA en iyi sonuç vermiştir. Aşı noktası çapı bakımından en iyi sonucu IBA uygulamasında gözlenmiştir. Melengiç tohumları için ise en iyi çimlenme ve sürgün gelişiminin 1 mg^l⁻¹ IBA içerikli ortam, aşı noktası çapı bakımından ise 1 mg^l⁻¹ BAP destekli ortam olduğu tespit edilmiştir. Atlantik sakızı ve melengiç tohumlarının anaç olarak kullanılacak forma ulaşmaları 8 hafta sürmüştür.

4 farklı *Pistacia* anacı üzerine yapılan mikroaşılama sonucu türler arasında aşı tutma oranları bakımından herhangi bir farklılık görülmemiştir ve bütün işlemlerde

%100'lük bir başarı elde edilmiştir. Sürgün gelişimi ve kök oluşturma oranı bakımından en iyi anacın buttum ile arasında çok büyük farklılıklar olmamasıyla birlikte antepfıstığından elde edilmiştir. Atlantik sakızı ve melengiç anaçlarında sürgün gelişimi ve kök oluşturma oranları bakımından önemli farklılıklar olmasıyla birlikte antepfıstığı ve buttuma nazaran gelişimleri daha yavaş ve zayıf olmuştur.

4 farklı *Pistacia* türü üzerine farklı mikroçelik uzunluklarının (0.5, 1.0 ve 1.5 cm) mikroaşı başarısı üzerine farklı aşılama başarıları elde edilmiştir. Bu uygulamalar sonucunda sakız ağacı sürgün uçları ile aşılınmış antepfıstığı, buttum ve atlantik sakızı için benzer sonuçlar verirken en iyi sürgün uzunluğu gelişimi 1.5 cm'lik sürgünler kullanıldığında elde edilmiştir. Kök oluşturma oranı bakımından antepfıstığı anacı üzerine 1.0 cm'lik sakız mikroçeliklerin aşılандığı fideler daha iyi gelişme gösterirken buttum anacında 1.0 ve 1.5 cm'lik sürgün uçları arasında bir fark gözlenmemiştir. Atlantik sakızı için ise, en uygun kök oluşturma oranı bakımından 1.5 cm'lik sürgünler kullanıldığında elde edilmiştir.

Rapor edilen bu çalışma ile sakız ağacı için ilk defa *in vitro* mikroaşılama protokolü geliştirilmiştir. Bu metotla çoğaltmanın avantajı; çalı formundaki sakız ağaçlarının ağaç formuna dönüştürülmesi için gerekli olan zaman kaybına uğramadan steril sakız regenerantlarını doğrudan ağaç formundaki anaçlara aşılınması yoluyla daha erken sakız üretimi yapılabilecek ağaçların üretimine olanak sağlanacaktır.

6. KAYNAKLAR

Abousalim, A. And Mantell, SH., 1992. Micrografting of pistachio (*Pistacia vera* L. cv. Mateur). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 29:231-234.

Acar, İ., 1988. (*Pistacia lentiscus* var. *chia*) Sakızı Üretimine Geliştirilmesine Esas Olmak Üzere Sakızın Fiziko-Kimyasal Yönden İncelenmesi, Ormanlık Araştırma Enstitüsü, Teknik Raporlar Serisi No:35.

Acar,C., 1997. tuzlu Topraklarda Kullanılabilecek Bazı Ağaç türleri. Ege Ormanlık Araştırma Enstitüsü, Enstitü Dergisi No: 1997/1, ISSN: 1300-9532, s: 84-107, İzmir.

Aitken-Christie J., Kozai T., Smith MAL. 1995. Glossary, In: Aitken-Christie J., Kozai T., Smith MAL. (eds). Automation and Environmental Control in Plant Tissue Culture, Kluwer, Dordrecht pp: ix-xii.

Ak, B.E ve Parlakçı H. (2009) *Pistacia lentiscus* in the Mediterranean Region İn Turkey. In: Proc. 1st IS on pomegranate. Ed. A.I. özgüven.Acta Hort. 818, ISHS 2009,pp:77-82.

Anonim,(2013a)<http://www.damlasakizi.org>.

Anonim,(2002) Dana Bauer, <http://www.rps.psu.edu/0201/pistachio.html>.

Anonim,(2013b)http://rapor.tuik.gov.tr/reports/rwservlet?bitkisel_uretimdb2=&report=BARAPOR72.RDF&p_yil1=2012&p_kod=1&p_gr1=11324&p_dil=1&p_bolum=113&desformat=html&ENVID=bitkisel_uretimdb2Env

Anonim,(2007)<http://hbogm.meb.gov.tr/modulerprogramlar/kursprogramlari/bahcecilik/moduller/meyvecilik.pdf>Anonim,(2013)<http://www.fao.org>

Anwar, R., Rabbani, M.A. 1998. Natural Occurence, distribution and eses of *Pistacia* species in Pakistan. Towards a comprehensive documentation and use of *Pistacia* genetic diversity in Central & West Asia, North Africa and Europe, (Padulosi S. and Hadj- Hassan A., -eds), Report of The IPGRI Workshop, pp. 45-49, Irbid, Jordan

ATLI, H.S, (1992) Antepfıstığı Semineri 31 Ağustos – 4 Eylül 1992, Gaziantep, 49-58.

AYFER, M. (1990) Antep Fıstığının Dünü Bugünü Geleceği. Türkiye 1. Antep Fıstığı Sempozyumu Bildirileri, 11-12 Eylül 1990- Gaziantep, pp. 14-23.

AYFER, M. 1959. Antepfıstığının Dölllenme Biyolojisi Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniv. Zir. Fak.Yayımları, No: 148, Ankara
Barghchi M. (1986). *In vitro* micropropagation of *Pistacia* rootstocks. Proceeding of the International Plant Propagators Society, 35: 334-337.

Battle, I., Romero, M.A., Rovira, M., Vargas, F.J., 1998. *Pistacia* conservation, characterization and use at IRTA: current situation and prospects in Spain. Towards a comprehensive documentation and use of *Pistacia* genetic diversity in Central & West Asia, North Africa and Europe, (Padulosi S. and Hadj- Hassan A., -eds), Report of The IPGRI Workshop, pp. 77-88, Irbid, Jordan.

Bilgin D.C., (2009) Hurriyet Gazetesi, Agustos 2009.

Browicz, K., 1987. *Pistacia lentiscus* cv. *Chia* (Anacardiaceae) on Chios Island, Pl.Syst. Evol, 155: 189-195.

Calabro G, Curro P. 1974 Costituenti degli olii essenziali. Nota IV — essenza di lentisco, Estratto da Essenze Derivati Agrumari 44:82–92 (*in Italian*).

Crane J.C. (1978) Quality of pistachio nuts as affected by time of harvest. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 103. 332-333.

Çetiner S., Yücel H., Aka-Kaçar Y., Yalçın-Mendi Y. (1997). Clonal propagation of *Pistacia* rootstocks by meristem and shoot culture. *Acta Horticulturae*, 441: 333–336.

Davis PH. 1967 *Linum* L. In: Davis PH. (ed.) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh University Press, Edinburgh 2: 425–450.

Dedoussis GVZ, Kaliora AC, Psarras S, Chiou A, Mylona A, Papadopoulos NG, Andrikopoulos NK. 2004 Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and down regulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis* 174:293–303.

Escalona M., Lorenzo JC., Gonzalez B., Daquinta M., Gonzalez JL., Desjardins Y., Barroto CG. 1999. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems, *Plant Cell Rep* 18, 743-748.

Etienne H., Lartoud M., Michaux-Ferriere N., Carron MP., Berthouly M., Teisson C. 1997. Improvement of somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis* (Müll. Arg.) using the temporary immersion technique, *In vitro Cell Dev Biol Plant* 33, 81-87.

Juarez, J., Camarasa, E., Ortega, V., Arregui, J.M., Cambra, N., Llacer, G., Navarro, L., 1992. Recovery of Virus-Free Almonds Plants by Shoot Tip Grafting In Vitro. *Acta Horticulture* 309:393-400.

Esmail-Pour, A., 1998. Distribution, use and conservation of Pistachio in Iran. Towards a comprehensive documentation and use of *Pistacia* genetic diversity in Central & West Asia, North Africa and Europe, (Padulosi S. and Hadj- Hassan A., -eds), Report of The IPGRI Workshop, pp. 16-27, Irbid, Jordan.

Ghorbel, A., Chatibi, A., Thaminy, S., Kchouk, M.L., 1999. Micrografting of almond (*Prunus dulcis* Mill.) cv. Achak. *Acta Hort. (ISHS)* 470, 429-433.

Ghorbel, A., Ben Salem-Fnayou, A., Chatibi, A., Twey, M., 1998. Genetic Resources of *Pistacia* in Tunisia. Towards a comprehensive documentation and use of *Pistacia* genetic diversity in Central & West Asia, North Africa and Europe, (Padulosi S. and Hadj- Hassan A., -eds), Report of The IPGRI Workshop, pp. 62-72, Irbid, Jordan.

HATRMANN, H T; KESTER, D E. *Plant propagation, Principles and Practices*. 4th edition. Prentice-Hall International, Inc., London. 1983.

Hussein, I.A., 1998. *Pistacia* Species in Egypt. Towards a comprehensive documentation and use of *Pistacia* genetic diversity in Central & West Asia, North Africa and Europe, (Padulosi S. and Hadj- Hassan A., -eds), Report of The IPGRI Workshop, pp. 75-77, Irbid, Jordan.

Huwez FU, Thirwell D, Cockayne A, Ala'Alden DAA. 1988 Mastic gum kills *Helicobacter pylori*. *New England Journal of Medicine* 339:1946.

6. KAYNAKLAR

Işıkalan, Ç., Namlı, S., Akbař, F., Ak, B.E., 2011. Micrografting of almond (*Amygdalus communis*) cultivar 'Nonpareil'. AJCS 5(1):61-65.

İsfendiyaroğlu, M., 2003, Effects of Some Physical and Biochemical Factors On The Rooting Of Mastic Tree (*Pistacia lentiscus* var. Chia Duham.) Cuttings., Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 40(1):25-32.

Juarez, J., Camarasa, E., Ortega, V., Arregui, J.M., Cambra, N., Llacer, G., Navarro, L., 1992. Recovery of Virus-Free Almonds Plants by Shoot Tip Grafting In Vitro. Acta Horticulture 309:393-400.

Körođlu M, Köksal Aİ (1997) Gap Bölgesi Koşullarında Standart Antepfıstığı (*Pistacia vera* L.) Çeşitlerinin Etkili SıcaklıkToplamı İsteklerinin Belirlenmesi. In: Fındık ve Diğer Kabuklu Meyveler Simpozyumu Bildirileri, 10-11 Ocak 1996, Samsun, 235-241.

Fernández-Lorenzo, J.L., Fernández-López M.J. 2005. Reinvigoration of Mature *Castanea sativa* by Serial Micrografting onto a Juvenile Clone. Actas III Hort. 693, ISHS Chestnut Congress.

Loudyi, W. 2001. Pistacia genetic rresources and Pistachio nut production in Morocco, Pistacia towards a comprehensive documentation of distributipn and use its genetic diveristy in Central & West Asia, North Africa and mediterranean Europe, Report of The IPGRI Workshop (Editors, S. Padulosi and A. Hadj- Hassan), pp. 56-61, 14-17 December 1998, Irbid, Jordan.

Loutrari H, Magkouta S, Pyriochou A, Koika V, Kolisis F N, Papapetropoulos A, Roussos C. 2006 Mastic oil from *Pistacia lentiscus* var. chia inhibits growth and survival of human K562 leukemia cells and attenuates angiogenesis. Nutr. Cancer 55(1):86–93.

McAllister B, Finnie J, Watt MP, Blakeway F. 2005. Use of the temporary immersion bioreactor system (RITA[®]) for production of commercial *Eucalytus* clones in Mondi Forests (SA), *Plant Cell. Tiss. Org. Cult.* 81, 347-358.

Martinez- Palie E, Aronne G (2000) Reproductive cycle of *Pistacia lentiscus* (*Anacardiaceae*) in Sourthern Italy. Plant Biosystems 134:365-371.

Mascarello C, Fascella G, Zizzo GV, Mantovani E, Ruffoni B. 2007 *In Vivo* and *In Vitro* Propagation of *Pistacia lentiscus* L. *Acta Horticulturae* 764: 299-305.

MURASHIGE, T., BITTERS, W.P., RAGA, T.S. NAUER, E.M. ROISTACHER, C.N. and HOLLIDAY, B.P., 1972. A Technique of Shoot Apex Grafting and its Utilization Towards Recovering Virüs-free citrus clones. *Hort. Science* Vol: 7, no.2, 118-119 pp.

Monteuuis, O., 2012. *In Vitro* Grafting Of Woody Species. *Propagation of Ornamental Plants* Vol. 12, No: 1, 11-24.

Onay, A., Pirin, V., Yıldırım, H., Başaran, D. *In Vitro* Micrografting of mature pistachio (*Pistacia vera* var. Siirt). *Plant Cell, Tissue and Organ culture*, 77, 215-219, 2004.

Onay A. 2003, Micropropagation of pistachio. In: *Micropropagation forest trees and fruits. Forestry Sciences, Volume; 75, Chapter 19, Section C: 565-588.* Edited by S. Mohan Jain and Katsuaki Ishii. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.

Onay A, Pirinç V, Işıkalan C, Adıyaman F, Tilkat E ve Başaran D. 2003. *In vivo* and *in vitro* micrografting of pistachio, *Pistacia vera* L. cv. "Siirt". *Tur. J Biol*, 27: 95-100.

Palevitch D, Yaniv Z. 2000 *Medicinal plants of the Holy Land*, Modan Publishing House, Tel Aviv, Israel.

Perikos, J 1993. *The Chios Gum Mastic*, Print All Ltd., Athens, Greece, 95 sayfa.

Prada, M. A., Arizpe, D., 2008. *Pistacia lentiscus* L. In: *Riparian tree and shrub propagation handbook*. Page 90-93

Pignatti, S., 1982. *Flora d'Italia*. In: Pignatti, S. (ed.), 2, 482 p. Bologna, Italy.

Post, G.E., Dinsmore, J.E., 1932. *Flora of Syria*. American Univ. Press, Palastine and Sinai, 1, 940 p., Beirut, Lebanon.

Rechinger, K.H., 1982. *Teucrium* L. (ed.) Rechinger K.H. *Flora Iranica*, Lieferung 150. Graz Akademische Druck und Verlagsanstalt, 23- 44.

RUFFONI, Ricardo. Analise metodológica da prática do Judô. 2004. 105 p. Mestrado em Ciência da Motricidade Humana – Universidade Castelo Branco. Rio de Janeiro. Sanz MJ, Terencio MC, Paya M. 1998 *In vivo* hypotensive activity of *Pistacia lentiscus* L. *Phytotherapy Research* 2:201–202.

Sherman DR. 2005 The Magic Tree - Marvelous Masticha", *Epikouria Magazine*, Fall/Winter, Issue 1

Talhouk, S.N., Nehme, G.A., Baalbaki, R., Zurayk, R., Adham, Y., 2001. Ecogeographic characterization of *Pistacia* spp. In Lebanon. Towards a comprehensive documentation and use of *Pistacia* genetic diversity in Central & West Asia, North Africa and Europe, (Padulosi S. and Hadj-Hassan A., -eds), Report of The IPGRI Workshop, pp. 13-16, Irbid, Jordan.

Taşkın T, İnal A. 2005 Sakız Ağacı (*Pistacia lentiscus* var. *chia* Duhamel)'nın *in vitro* mikroçoğaltımı üzerine araştırmalar. *Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi* 15 (1): 1-14

Tekin, H., Arpacı, S., Atlı, H.S., Açar, İ., Karadağ, S., Yükçeken, Y., Yaman, A., 2001. Antepfıstığı Yetiştiriciliği, Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü Müd. Yayın No:13, 132 s.

Thimmappaiah Puthra GT, Anil SR 2002. *In vitro* grafting of cashew (*Anacardium occidentale* L.). *Sci Hort.*92, 177–182.

Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A., 1968. *Flora Europaea*. Cambridge Univ. Press, 2, 2392 p., Cambridge.

Ucciani E 1995 *Nouveau dictionnaire des Huiles Ve'ge'tales—composition en acides gras. Technique et Documentation—Lavoisier, Paris (in French)*. Ulusaraç A., (1992) Mevcut standart Antepfıstıklarına Anaç Seçimi. III. Arasonuç raporu (Basılmamış), Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü, Gaziantep.

Verdu M, Garcia –Fayos P (2002) Ecología reproductiva de *Pistacia lentiscus* L. (*Anacardiaceae*): anacronismo evolutivo en el matorral mediterráneo. *Revista Chilena de Historia Natural* 75:57-65.

Whitehouse, W. E. 1957. The pistachio nut-a newcrop for the western United States, *Economic Botany*, 11(4):281-321 Yaltırık, F., 1967. *Pistacia* L. In: P.H. Davis (Ed.) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh University Press, Edinburgh, Vol. 2, 544–549 pp. UK.

Yaltırık, F. 1967b. Anacardiaceae. In: *Contributions to the Taxonomy of woody Plants in Turkey*, Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh, 28: 11-12.

Yardımcı, B., 1973. Sert Kabuklu Fıstık. Tarım Bak. Ziraat İşleri Gen. Müd. Yay 154, Ankara.

Yıldırım H., Akdemir, H., Süzerer, V., Özden, Y., Onay, A., 2013. *In vitro* Micrografting of the Almond Cultivars “Teksas”, “Ferrastor” and “Nonpareil”. *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* 27(1):3493-3501

Yıldırım H., (2012), Micropropagation of *Pistacia lentiscus* L. from axenic seedling-derived explants. *Scientia Horticulturae* 137 29–35.

Yildirim H., Onay A., Süzerer V., Tilkat E., Ozden-Tokatli Y., Akdemir H. 2010. Micrografting of almond (*Prunus dulcis* Mill.) cultivars ‘Ferragnes’ and ‘Ferraduel’. *Scientia Horticulturae*, 125: 361-367.

Zakynthinos, G., Rouskas, D., 1998. Wild and Cultivated *Pistacia* species in Greece. Towards a comprehensive documentation and use of *Pistacia* genetic diversity in Central & West Asia, North Africa and Europe, (Padulosi S. and Hadj- Hassan A., -eds), Report of The IPGRI Workshop, pp. 88-93, Irbid, Jordan.

Zohary, M., 1972. *Pistacia* L. In *Flora Palaestina*. Israel Academy of Sciences and Humanities, Jerusalem, 2, 297–300 pp. Israel.

7. ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Diyarbakır'ın Bismil ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Bismil'de tamamladım. 2006 yılında Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümüne yerleştim ve 2011 yılında bölüm birinciliği ile mezun oldum. Aynı yıl Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı'nda Tezli Yüksek Lisans programına başladım. Halen aynı bölümde Yüksek Lisans eğitimimi sürdürmekteyim.