

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***İN VİVO* VE *İN VİTRO* ŞARTLARDA YETİŞTİRİLEN *Pistacia lentiscus* L.
(SAKIZ AĞACI)'NİN YAĞ ASİTİ VE UÇUCU YAĞ İÇERİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Ömer Faruk AKDEMİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR

HAZİRAN 2013

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***İN VİVO* VE *İN VİTRO* ŞARTLARDA YETİŞTİRİLEN *Pistacia lentiscus* L.
(SAKIZ AĞACI)'NİN YAĞ ASİTİ VE UÇUCU YAĞ İÇERİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Ömer Faruk AKDEMİR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
DANIŞMAN: Prof. Dr. Ahmet ONAY**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR

HAZİRAN 2013

T.C. DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
DİYARBAKIR

Ömer Faruk AKDEMİR tarafından yapılan “*In vivo* ve *in vitro* şartlarda yetiştirilen *Pistacia lentiscus* L. (sakız ağacı)’nin yağ asidi ve uçucu yağ içeriğinin belirlenmesi” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Mehmet BAŞHAN

Üye : Prof. Dr. Ahmet ONAY

Üye : Prof. Dr. Haluk AYDIN

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 25/06/2013

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../.../.....

Prof. Dr. Hamdi TEMEL

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında fikir ve katkılarıyla çalışmamı yönlendiren danışman hocam Prof. Dr. Ahmet ONAY'a teőekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Bu çalışmanın her aşamasında her türlü desteklerini esirgmeden yardımcı olan Prof. Dr. Mehmet BAŞHAN'a ve Yrd. Doç. Dr. Cumali KESKİN'e teőekkürü bir borç bilirim.

Verilerin değerlendirilmesindeki önerilerinden dolayı Prof. Dr. Hasan Çetin ÖZEN'e, çalışma materyallerinin sistematik sınıflandırılmasındaki katkılarından dolayı Prof. Dr. A. Selçuk ERTEKİN'e, *in vitro* çalışma materyalinin çoğaltılmasındaki katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Hakan YILDIRIM'a, analizlerin yapılmasında yardımcı olan Veysi KIZMAZ'a, laboratuvarında birlikte keyifle çalıştığım Mahir BİNİCİ'ye yardımlarını aldığım arkadaşım Ahmet Serhat BAYAR'a, DÜBAP 12-FF-104 no'lu proje ile maddi katkı sağlayan Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

Ömer Faruk AKDEMİR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
ÇİZELGE LİSTESİ	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
KISALTMA ve SİMGELER	VIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Sakız Ağacının Kökeni ve Sistematiği	2
1.2. Sakız Ağacının Morfolojik Özellikleri	3
1.3. Sakız Ağacının Dünyada ve Ülkemizde Yayılışı	8
1.4. Sakız Ağacının Geleneksel ve Biyoteknolojik Yöntemlerle Çoğaltımı	9
1.4.1. Geleneksel Metotlar	9
1.4.1.1. Tohumdan fidan üretimi	9
1.4.1.2. Çelikle Fidan Üretimi	10
1.4.1.3. Aşılama ile Fidan Üretimi	11
1.4.2. Biyoteknolojik Metotlar	13
1.5. Sakız Ağacının Tıbbi Özellikleri	15
1.6. Sakız Ağacının Ekonomik Önemi	16
1.7. Bitkisel Yağlar	19
1.7.1. Yağ Asitleri	19
1.7.1.1. Yağ Asitlerinin Sınıflandırılması	20
1.7.2. Uçucu Yağlar	20
1.7.2.1. Uçucu Yağ Elde Edilmesinde Kullanılan Yöntemler	21
1.7.2.2. Uçucu Yağları Oluşturan Bileşikler	22
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	25
2.1. Yağ Asitleri Üzerine Çalışmalar	25
2.2. Uçucu Yağlar Üzerine Çalışmalar	26
3. MATERYAL ve METOT	29
3.1. Bitkisel Materyallerin Hazırlanması	29
3.2. Besi Ortamının Hazırlanması, Yüzey Sterilizasyonunda Kullanılan Kimyasallar ve Kullanılan Cihazlar	29
3.3. Lipit Ekstraksiyonu ve Yağ Asitlerinin Metil Esterlerine Dönüştürülmesi	31
3.4. Yağ Asiti Analizi Gaz Kromatografi Koşulları	32

3.5.	Verilerin değerlendirilmesi	32
3.6.	Uçucu Yağların Ekstraksiyonu	33
3.7.	Uçucu Yağların Kimyasal Analizi	33
4.	BULGULAR ve TARTIşMA	35
4.1.	Doğal Koşullarda Yetişen Erkek ve Dişi Ağaçların Değişik Bölümlerinin Yağ Asiti Kompozisyonları	35
4.2.	<i>İn vitro</i> Yetişen Erkek Sakız Ağacının Farklı Bölümlerinin Yağ Asiti Bileşenleri	38
4.3.	Doğal yetişen Dişi ve Erkek <i>P. lentiscus</i> L.'nin Gövde ve Yaprak Bölümlerinden Elde Edilen Uçucu Yağın Bileşenleri	39
4.4.	<i>İn vitro</i> Ortamda Yetiştirilen <i>P. lentiscus</i> L.'nin Gövde ve Yaprasının Uçucu Yağ Bileşenleri	42
5.	SONUÇ ve ÖNERİLER	45
6.	KAYNAKLAR	47
7.	ÖZGEÇMİş	57

ÖZET

İN VİVO VE *İN VİTRO* ŞARTLARDA YETİŞTİRİLEN *Pistacia lentiscus* L. (SAKIZ AĞACI)'NİN YAĞ ASİTİ VE UÇUCU YAĞ İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ömer Faruk AKDEMİR

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2013

Bu çalışmada, sakız ağacının (*Pistacia lentiscus* L.) *in vivo* ve *in vitro* şartlarda yetiştirilen erkek ve dişi genotiplerinin farklı eksplantlarındaki yağ asitleri gaz kromatografisi (GC) ile uçucu bileşenleri gaz kromatografisi kütle spektrometresi (GC-MS) aracılığıyla analiz edildi. Her iki genotipin farklı organlardaki yağ asiti içeriklerinin ana bileşenlerinin benzer olduğu bulundu. Eksplantın tipine bağlı olarak değişen oranlarda dört majör yağ asiti grubunun (palmitik asit (16:0), oleik asit(18:1n-9), linoleik asit (18:2n-6) ve linolenik (C18:3n-3) bulunduğu saptandı. Doğal şartlarda yetişen sakız ağacının erkek ve dişi genotiplerinin yapraklarının majör yağ asiti erkek (% 35.5) ve dişide (%36.78) linolenik asittir (18:3n-3). Gövdenin majör yağ asiti erkek (% 45.25) ve dişide (%40.78) linoleik asittir. Kökte ise majör yağ asiti erkek (% 45.09) ve dişi ağaçta (%47.00) linoleik asittir. Doğada yetişen bitki organlarının içeriğine benzer şekilde *in vitro* yetiştirilen genç sakız ağacı yapraklarının majör yağ asitinin linolenik asit (% 32.06), gövdesinin ise linoleik asit (% 32.55) olduğu saptandı. Miristik asit (C14:0), pentadekanoik asit (C15:0), heptadekanoik asit (C17:0), palmitoleik asit (C16:1n-7), stearik asit (C18:0), ve eikosenoikasit (C20:1n-9) gibi diğer yağ asitleri eser miktarlarda tespit edildi.

Doğal şartlarda yetişen erkek sakız ağacının yapraklarından elde edilen uçucu yağın majör bileşenleri germakren-D (%33,38), trans karyofillen (%14.12) ve δ -kardinen (%8,34) iken, dişi sakız ağacının yapraklarının majör bileşenleri ise; 3-siklohekzen-1-ol, 4-metil-1 (%30.7), limonen (% 10.7) ve trans karyofillen (% 10.25) olarak tespit edilmiştir. Erkek sakız ağacının gövde bölümünden elde edilen uçucu yağın majör bileşenleri; α -mirsen (% 11.75), trans karyofillen (%12.61) ve germakren-D (% 12.66) iken, dişi sakız ağacının gövdesinin majör bileşenleri ise; δ -kardinen (% 12.11), α -pinen (% 7.08) ve limonen (%6.96) olarak tespit edilmiştir. Her iki genotipte belirlenen uçucu yağlarda, monotermen ve seskiterpen bileşenler dominant iken diğer grup bileşenler daha düşük miktardadır. *İN vitro* ortamda yetiştirilen sakız ağacının yapraklarından elde edilen uçucu yağın majör bileşenleri delta-karen (% 16.98), trans karyofillen (% 14.29) ve trans 3(10)-karen-4-ol (% 11.58), gövde de ise; α -pinen (% 31.08), α -mirsen(% 33.01) ve delta 3-karen (% 35.91) olarak bulundu.

P.lentiscus L.'nin dişi ve erkek genotiplerinden elde edilen yağların yağ asitleri ile uçucu yağlarının kimyasal karakterizasyonunun araştırıldığı bu çalışmanın sonuçları onların kalitesini değerlendirmede, farmakolojik aktivitelerini aydınlatmada ve biyoreaktörlerde yağ asitleri ile uçucu yağların seri üretimi için *in vitro* süspansiyon kültürlerinin başlatılmasında önemlidir.

Anahtar kelimeler: *İN vitro*, *İN vivo*, *P.lentiscus* L., Sakız ağacı, Uçucu yağ, Yağ asiti.

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE FATTY ACIDS AND ESSENTIAL OIL COMPOSITIONS OF LENTISK (*Pistacia lentiscus* L.) GROWN *IN VIVO* AND *IN VITRO* CONDITIONS

M.Sc. Thesis

Ömer Faruk AKDEMİR

DEPARTMENT OF BIOLOGY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF DICLE

2013

In this study, fatty acids and essential oils of different organs of male and female genotypes of lentisk (*P. lentiscus* L.) grown *in vivo* and *in vitro* conditions were analyzed by gas chromatography (GC) and gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) analysis. Fatty acid compositions of different organs of both genotypes were found similar by the main compounds. The dominant components observed in the fatty acids of both genotypes depending on the type of the explants by varying amount were palmitic acid (16:0), oleic acid (18:1n-9), linoleic acid (18:2n-6) and linolenic acid (C18:3n-3). Linolenic acid (18:3n-3), the major fatty acid of leaves of both male and female genotypes grown in nature were found 35.5% and 36.78%, respectively. Linoleic acid, the major fatty acid of the stem parts of both genotypes was 45.25% for male and 40.78% for female. The proportions of major fatty acid in root tissues of lentisk were 45.09% for male and 47.0% for female. Similar to the composition of lentisk grown *in vivo*, linolenic acid (32.06%) in the leaf part and linoleic acid (32.55%) in the stem part of juvenile lentisk grown *in vitro* were found. Other fatty acids such as myristic, pentadecanoic, heptadecanoic, palmitoleic, stearic and eicosenoic acid were present in trace proportions.

The dominant components observed in the essential oil extracted from leaves of male and female lentisk grown in nature were germacrene-D (33.38%), trans caryophyllene (14.12%), δ -cardinene (8.34%) and 3-cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1 (30.7%), limonene (10.7%) and trans caryophyllene (10.25%), respectively. The major essential oils determined from stem parts of male and female genotype grown *in vivo* were α -myrcene (11.75%), transcaryophyllene (12.61%) and germacrene- D (12.66%) and δ -cardinene (12.11 %), α -pinene (7.08%) and limonene (6.96%), respectively. In both genotypes essential oils determined, monoterpene and sesquiterpene components were found dominant while the amount of other group components was lower. The main constituents were delta 3-carene (16.98%), trans caryophyllene (14.29%) and trans 3(10)-carene-4-ol (11.58%) in the essential oil extracted from leaves, while they were α -pinene (31.08%), α -myrcene (33.01 %) and delta 3-carene (35.91%) in the essential oil extracted from stem parts of juvenile seedlings.

The results presented from chemical characterization of different fatty acids and essential oil sources of both male and female genotypes belonging to *Pistacia lentiscus* L. are important for evaluation of their quality, the elucidation of their pharmacological activities and the establishment of *in vitro* suspension cultures for mass production of fatty acids and essential oils in bioreactor systems.

Keywords: Essential oil, Fatty acid, *In vitro*, *In vivo*, Lentisk, *P.lentiscus* L.

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1.	<i>Pistacia lentiscus</i> L.'nin erkek ve dişi yaprak morfolojileri.	6
Çizelge 1.2.	<i>Pistacia</i> cinsine ait türlerde yapılan önemli <i>in vitro</i> mikroçoğaltım çalışmaları.	14
Çizelge 1.3.	Monoterpenlerin sınıflandırılması.	22
Çizelge 3.1.	Çalışmalarda kullanılan cihazlar.	29
Çizelge 3.2.	Besi ortamlarının hazırlanmasında ve yüzey sterilizasyonunda kullanılan kimyasallar.	30
Çizelge 4.1	Dişi ve erkek sakız ağacının farklı organlarının yağ asiti bileşenleri	37
Çizelge 4.2	<i>İn vitro</i> yetiştirilen <i>P. lentiscus</i> L.'nin yaprak ve gövde bölümlerinin yağ asiti bileşenleri.	39
Çizelge 4.3	Doğal yetişen dişi ve erkek <i>P. lentiscus</i> L.'nin gövde ve yaprağının uçucu yağ bileşenleri	41
Çizelge 4.4	<i>İn vitro</i> ortamda yetiştirilen <i>P. lentiscus</i> L.'nin gövde ve yaprağının uçucu yağ bileşenleri	43

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1.	Sakız ağacının gövde görünüşü	4
Şekil 1.2.	Olgunlaşmamış meyve görünüşü (A), Olgun meyve görünüşü (B).	5
Şekil 1.3.	Ekzokarpları izole edilmiş tohumlar.	7
Şekil 1.4.	Damla sakızının gövdedeki görünüşü (A), iyi sakız verdiği bilinen ağaçlardan toplanan damla sakızı (B).	8
Şekil 1.5.	Ülkemizde ve Ege Denizi'nde bulunan Yunan adalarında <i>P. lentiscus</i> L.'nin yetiştiği tespit edilen bölgeler.	9
Şekil 1.6.	Yağ asitinin genel yapısı	19
Şekil 3.1.	IBA içeren besi ortamında çimlenmeye bırakılmış tohumların görünüşü (A), BAP içeren besi ortamında çoğaltılın sürgünlerin görünüşü (B)	31

KISALTMA VE SİMGELER

DYA	: Doymuş yağ asitleri
TDYA	: Tekli doymamış yağ asitleri
ADYA	: Çoklu doymamış yağ asitleri
EPA	: Eikosapentaenoik asit: C20:5n-3
DHA	: Dokosaheksaenoik asit: C22:6n-3
C:20 ADYA	: Yirmi karbonlu aşırı doymamış yağ asitleri
C:18 ADYA	: On sekiz karbonlu aşırı doymamış yağ asitleri
ω -3	: Omega-3
ω -6	: Omega-6
GC	: Gaz kromatografi
GC-MS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
LDL	: Lipoprotein
IL-6	: İnterlökin-6
IBA	: İndolbütirik asit
BA	: 6-benzil adenin
NAA	: Naftelen asetik asit
mg/l	: Miligram/litre
gr	: Gram
MS	: Murashige ve Skoog
GA3	: Gibberellik asit
Mg	: Miligram
DKW	: Driver ve Kuniyuki
NaOCl	: Sodyum Hipoklorit
dk	: Dakika

1. GİRİŞ

Anacardiaceae familyasının önemli bir üyesi olan *Pistacia lentiscus* L. yeşil ve aromatik yaprak özelliğine sahip Akdeniz ülkelerinin sahile yakın bölgelerinde yetişen çalılık formunda bir bitkidir. Sakız ağacından elde edilen damla sakızının, bitkisel ve uçucu yağların endüstriyel ve sağlık alanlarındaki kullanımlarından dolayı ekonomik olarak önemli bir bitkidir. Tunus ve Cezayir gibi bazı ülkelerde sakız ağacından elde edilen yağ günlük besinlerde, salatalarda ve hamur işlerinde kullanılmaktadır (Le Floc'h ve Nabli 1983). Sakız ağacının yaprağında ve meyvelerinde bulunan uçucu yağlar nedeniyle milattan önceki yıllardan beri birçok hastalığın tedavisinde drog olarak kullanılmaktadır. Bunların başında, kuduz hastalığı, uyuz ve yılan ısırıkları gelmektedir. Ayrıca, mide yanması, bağırsak akciğer hastalıkları ve değişik diş hastalıklarında uzun yıllar tedavi edici olarak kullanılmıştır (Boztok 1999).

Sakız ağacının geleneksel metotlarla üretimi tohumla ya da çeliklerin köklendirilmesiyle yapılabilir. Sakız ağacı tohumla çoğaltılır çünkü çeliklerden kök oluşumu çok düşük olmakta ya da hiç olmamaktadır. Ancak, bu şekilde tohumdan çoğaltımda, değişik genotiplerin gelişmesi ve sakız üretiminde farklılıklar oluşması söz konusudur. Tespit edilecek verimli *P. lentiscus* L. genotiplerinden fidan üretimi yapılabilmesi amacıyla etkili bir çoğaltım metodunun olmaması, daha önce yapılan çalışmalarda başarılı sonuçlar alınamaması bitkinin endüstriyel değerinden dolayı biyoteknolojik metotlar kullanılarak çoğaltılmasını zorunlu kılmaktadır.

Doğal ortamda yetişen sakız ağacının yaprak, dal ve meyve gibi farklı bölümlerinden elde edilen uçucu yağın kimyasal içeriğini tespit etmeye yönelik bazı çalışmalar yapılmıştır. Sakız ağacının yaprak ve dallarındaki uçucu yağ içeriğini belirlemeye yönelik yapılan çalışmalarda genellikle sayıları 40-45 arasında değişen bileşen tespit edilmiştir. Bu bileşenler arasında da çoğunlukla pinen, mirsen, limonen majör bileşenler olarak tespit edilmiştir (Zrira ve ark. 2003; Amhamdi ve ark. 2009). Sakız ağacının meyveleri üzerinde yağ asiti içeriğine yönelik yapılan çalışmalarda ise palmitik, oleik ve linoleik asit majör yağ asitleri olarak belirlenmiştir (Charef ve ark. 2008; Trabelsi ve ark. 2011).

Doğal ortamda yetişen sakız ağaçlarının uçucu yağ ve yağ asiti içerikleriyle ilgili rapor edilen çalışmalara rağmen *in vitro* ortamda yetiştirilmiş sakız ağaçlarına yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda ülkemizde yetiştirme alanı sınırlı olan ve fidan üretimi için yeterli bir çoğaltım metodu olmayan sakız ağacını *in vitro* koşullarda yetiştirip, uçucu yağlarının ve yağ asitlerinin analizinin yapılması amaçlanmıştır. Elde edeceğimiz sonuçlar *in vivo* ve *in vitro* yetiştirilen sakız ağaçlarının uçucu yağ ve yağ asiti içeriklerini karşılaştırma imkânı sunmanın yanı sıra alınacak sonuçlara göre sakız ağacını değerli bileşenlerinden dolayı *in vitro* üretimde hangi tür eksplantla (yaprak, kök, gövde) kültür başlatılacağı belirlenecektir. Ayrıca, çalışmalar sonucunda çoğaltılması ve ürün alımı için uzun zaman gerektiren yeni sakız bahçelerinin kurulması yerine biyoteknolojik metotlarla yağ asiti ve uçucu bileşenlerin *in vitro* ortamda yetiştirilen bitkisel materyallerle üretilebileceğide gösterilmiş olacaktır. Bu çalışma sonucunda sakız ağacı için temel doku kültürü tekniklerinin alt yapısı oluşturulmuş olacaktır, böylece *in vitro* çoğaltılmış materyaller ile süspansiyon kültürü, tek hücreli kültürler ve biyoreaktörlerde üretim için yeni projeler üretilebilecektir.

1.1. Sakız Ağacının Kökeni ve Sistematiği

Ege ve Akdeniz Bölgesi'nin doğal bitki örtüsü olan *P. lentiscus*, *Sapindales* takımının *Anacardiaceae* (*Sumakgiller*) familyasından *Pistacia* cinsine dahildir (Stevens 2008). Aynı familyanın diğer önemli üyeleri; *P. atlantica* (çitlenbik), *P. terebinthus* (melengiç) ve *P. vera* (antep fıstığı)'dır. Ancak, *P. lentiscus* özellikle Akdeniz ve Ortadoğu bölgesinde *Pistacia* cinsinde bulunan diğer türlerden (*P. atlantica*, *P. palaestina*, *P. terbinthus* ve *P. khinjuk*) herdem yeşil olması ile kolaylıkla ayırt edilebilir. *Pistacia* cinsinin kökeninin Orta Asya olduğuna inanılır (Parfitt ve Badenes 1997; AL-Saghir 2010). *Pistacia*'nın iki gen merkezi tanımlanmıştır. Birincisi Ortadoğu, Kuzey Afrika ve Güney Avrupa'nın Akdeniz bölgelerini, ikincisi ise Batı ve Orta Asya'yı içerir (AL-Saghir 2009; Kafkas ve ark. 2002). Cinsin türleri Kuzey Afrika'dan Filipinler ile Teksas'tan Nikaragura'ya kadar doğal olarak meydana gelir (AL-Saghir 2012). Bu önemli tür için için sınırlı sayıda sistematik çalışma yapılmıştır.

Tournefort (1700), *P. terebinthus* ve *P. vera*'yı *Terebinthus* cinsinin altında sınıflandırmasına rağmen, *P. lentiscus*'u *Lentiscus* adıyla farklı bir cins olarak düşünmüştür.

Cinsi ilk olarak Linnaeus kurmuştur. *Species Plantarum*'da Linnaeus (1753) *Pistacia*'nın altı türünü tanımlamıştır: *P. lentiscus*, *P. narbonensis*, *P. si-maruba*, *P. terebinthus*, *P. trifolia* ve *P. vera*'dır. *Pistacia narbonensis* ve *P. trifolia*, *P. vera*'nın sinonimleridir. Bu çalışmaların ilki Zohary (1952) tarafından tamamlanmıştır. *Pistacia* cinsi morfolojik belirteçlere (yaprak özellikleri ve fıstık morfolojisi) dayanarak yapılan sınıflandırmaya göre 4 bölüm ve toplam 11 türe sahiptir (Zohary 1952; Parlak ve Akbin 2008).

1. *Lentiscella* Zoh.: *P. mexicana* HBK ve *P. texana* Swingle.
2. *Eu-Lentiscus* Zoh.: *P. lentiscus* L., *P. weinmannifolia* Poisson ve *P. saportae* Burnat.
3. *Butmela* Zoh.: *P. atlantica* Desf.
4. *Eu-Terebinthus*: *P. vera* L., *P. khinjuk* Stocks, *P. terebinthus* L., *P. palaestine* Boiss ve *P. chinensis* Bge.

Pistacia cinsinin sistematigi ile ilgili son güncel çalışma ise, AL-Saghir (2012) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmaya göre *Pistacia* 13 taksondan meydana gelir. 10 tür ve 5 alt tür içerir. Cins iki seksiyondan oluşur.

- 1) *Pistacia*: *Pistacia atlantica* Desf., *Pistacia chinensis* Bunge , *Pistacia eurycarpa* Yalt., *Pistacia khinjuk* Stocks, *Pistacia terebinthus* L. , *Pistacia vera* L.,
- 2) *Lentiscella*: *Pistacia lentiscus* L., *Pistacia mexicana* Humb., *Pistacia weinmannifolia* J. Poiss. ex Franch.

1.2. Sakız Ağacının Morfolojik Özellikleri

Kök: *P. lentiscus* L., genç dönemde kazık kök ve birçok yan kök ile karakteristiktir. Olgun dönemde, yan kökler oldukça genişler ve saçaklar oluşturur (Mattia ve ark. 2005).

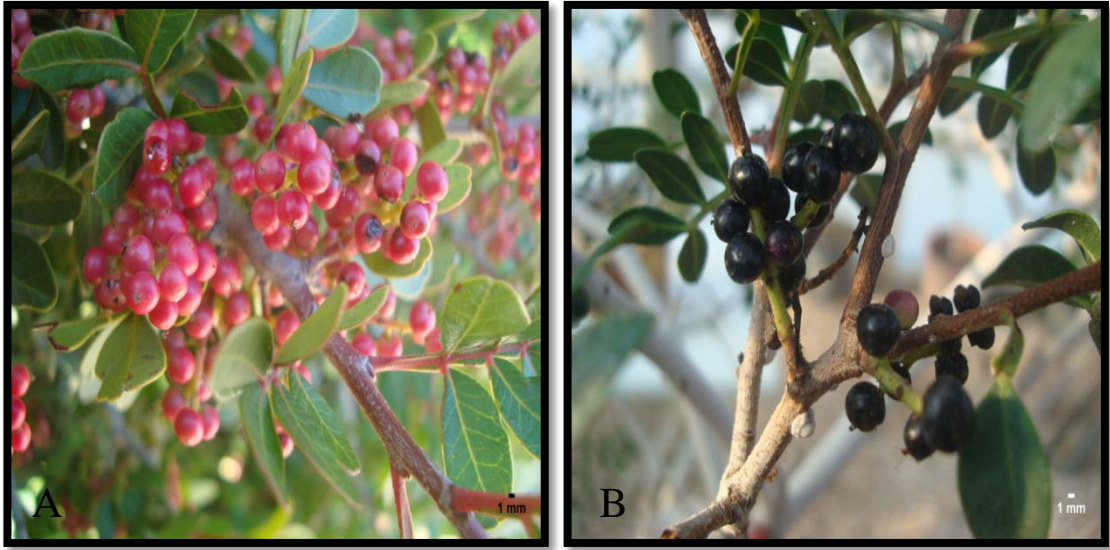
Gövde: Sakız ağacı, genellikle çalı veya ağaçcık formunda gelişen, 1-3 m'ye kadar boylanabilen hatta bazen 6 m yüksekliğinde olabilen bir bitkidir (Şekil 1.1). Doğal sakız ağacının gövdesi düz değildir. Gençken açık gri renkte ileri yaşlarında kül karası rengindedir. Çam ağaçlarında olduğu gibi gövdeden ayrılması zor olan "riknides" adıyla anılan çizgilerle kaplıdır ve pürüzlüdür (URL-1).



Şekil 1.1: Sakız ağacının gövde görünüşü

Çiçek: Dioik bir tür olan sakız ağacında, periant içermeyen çiçekler 1 yıllık sürgünlerin yaprak koltuklarında gelişir. Sakız ağacında çiçeklenme mart-nisan aylarında gerçekleşmekte ve çok sayıda çiçek üretimi söz konusu olmaktadır. Çiçekleri küçük, kırmızimsı veya sarımsıdır ve çiçekler çiçek salkımı 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 altı hafta sonra çiçeklenme gözlenir (Palli ve Aronne 2000).

Meyveler: 4-7 mm çapında, yuvarlak-basık ve sivri uçlu, başlangıçta kırmızı, olgunlaştığında ise siyah renktedir (Şekil 1.2). Drupa tipi olan meyveler, etli-sulu bir mezokarp ile kemiksi bir endokarpa sahiptir. Meyveler ekim sonu ile aralık ayı ortasına kadar olgunlaşmaktadır (Boztok 2004; Browicz 1987). Sakız Adası'ndaki kültür formlarının varyeteden ziyade, uzun yıllar verime göre selekte edilmiş bir çeşit olduğunu belirtmektedir. Bazı araştırmacılar fazla ve iyi kalitede 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 yararlanılabilir. Meyveler sonbaharda olgunlaşır (Palli ve Aronne 2000).



Şekil 1.2: Olgunlaşmamış meyve görünüşü (A), Olgun meyve görünüşü(B)

Yaprak: 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 (Çizelge1.1). Yaprakları gövdeye bağlı dal üzerinde 2-12 adet dikdörtgen, mızraksı veya oval biçimindedir. Yaprakçıklar yumurtamsı, mızrak, eliptik, küt veya dikenimsi uçlu gibi formlar gösterir ve tüsüzdür. Yaprakçık uçları genelde keskin bir noktayla sonlanır (Davis 1967). Aynı bitki, vejetasyonun farklı dönemlerinde farklı yaprak şekli gösterebilmektedir. Hatta bir bitkinin alt yaprakları ile üstteki yaprakları dahi farklı olabilmektedir. Budama yapılarak terbiye edilen bitkinin de yaprak şekli değişmektedir (Boztok 2004). Sakız ağacı, cins içinde en kalın yaprakçıklara sahip olan türdür. Yaprak boyutu ve şekilleri ile yaprakçık sayısı açısından geniş bir varyasyona sahip olan türün erkek ve dişi bireyleri de yaprak formu açısından değişiklik gösterir (Özel 2006).

1. GİRİŞ

Çizelge 1.1: *Pistacia lentiscus* L.'nin erkek ve dişi yaprak morfolojileri

	ERKEK	DIŞI
Yaprakçık sayısı	4-4-2-2-4-6-4-6 5-3-4-3-4-4-4-6	6-6-4-4-4 6-4-6-4-6-6
Yaprak yapısı	Genellikle paripinnat 1-3 Yaprakçıklı Nadiren imparipinnat (3 veya 5 yaprakçıklı) Yaprakçıklar eşit büyüklükte	Genellikle paripinnat 2-3 Yaprakçıklı (Nadiren 1 çift 3 yaprakçıklı) Yaprakçıklar eşit büyüklükte
Yaprak eksen Eksen	Yaprak eksen belirgin alt kısımda dar kanatlı, üst kısımda belirgin kanatlı 1-3 cm uzunlukta Eksen çıkıntısız	Petiol kanatlı 2.5-4.5 cm Eksen çıkıntısız veya mukrolu
Yaprakçıklar	Sapsız ovat, Nadiren eliptik Damarlar pinnat	Sapsız dar eliptik Damarlanma pinnat
Yaprakçık uçları	Kör uçlu Hafifçe girintili	Kamamsı kısa Mukronat

*Yaprak morfolojisi Prof. Dr. Alaaddin S. ERTEKİN tarafından yapılmıştır.

Erkek ağacın yaprak yapısı: Genellikle paripinnat, 1-3 çift yaprakçıklı, nadiren imparipinnat (3 veya 5 yaprakçıklı), yaprakçıklar eş büyüklükte, yaprak eksen belirgin alt kısımda dar kanatlı, üst kısımda belirgin kanatlı, 1-3 cm uzunlukta, eksen çıkıntısız, yaprakçıklarda damarlar pinnat, sapsız oval, nadiren eliptik, yaprak uçları kör uçlu, hafifçe girintilidir. Erkek ağaçlar stres yokluğunda dişi ağaçlara göre daha yüksek fotosentetik kapasite sergilerken, kuraklık stresinde eşdeğer oranda fotosentetik kapasite ve düşük su kullanım etkinliği gösterirler (Nicotra ve ark. 2003).

Dişi ağacın yaprak yapısı: Genellikle paripinnat 2-3 yaprakçıklı (nadiren 1 çift 3 yaprakçıklı), yaprakçıklar eşit büyüklükte. Eksen kanatlı, 2.5-4.5 cm, çıkıntısız veya mukroludur. Yaprakçıklar sapsız, dar eliptik ve damarlanma pinnattır. Yaprakçık uçları kamamsı, kısa ve mukronattır.

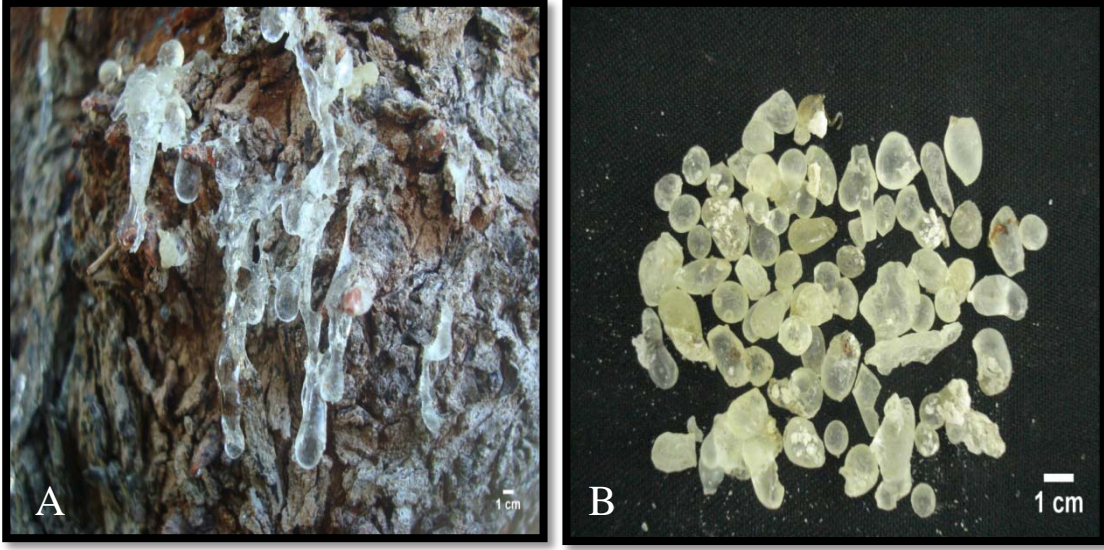
Tohum: Kromozom sayısı $2n=24$ 'tür (Zohary 1952). Tohumlar olgunlaşma döneminde yuvarlak ve düz yüzeylidirler (Şekil 1.3). Tohumlar ekim-kasım ayları arasında toplanabilir (Prada ve Arizpe 2008). Sakız ağacının, çok sayıda çiçek ve meyve üretmesine karşın yaşayan tohum içeren meyve sayısı çok az olmaktadır. Çiçeklerin büyük kısmı meyve oluşturamamakta ve oluşan meyvelerin önemli bir kısmında ise

tohum bulunmamaktadır (Palie ve Aronne 2000). Kırmızımsı veya beyaz meyvelerin toplanmasından kaçınılmalıdır çünkü bu meyvelerde embriyo gelişmemiş veya partenokarpiktir (Jordano 1988). Bu nedenle, siyah meyvelerin içerdiği tohumların çimlenme oranı daha yüksek olduğu için hasat sırasında bunların tercih edilmesi gerekmektedir (Verdu ve Garcia–Fayos 2002). Tohumların çimlenmesi epigeiktir. Buna karşın, tüm diğer *Pistacia* türlerinde çimlenme hipogeiktir. Ayrıca tohum içeren meyvelerin üretimi tek bir popülasyondaki bitkilerde bile değişiklik göstermektedir (Palie ve Aronne 2000; Verdu ve Garcia–Fayos 2002).



Şekil 1.3: Ekzokarpından izole edilmiş tohumlar.

Damla sakızı: Damla sakızı, sakız ağacının gövdesinde açılmış yaralardan damlacıklar halinde sızan aromatik bir bileşiktir (Şekil 1.4). Bitki kendini korumak için bu reçineyi salgılar. Erkek bitkilerin sakız üretim potansiyeli dişilerden fazladır (Boztok 1999). Trapezi veya masa denilen beyaz kil hasat zamanı yere düşen sakızı temiz ve şeffaf tutmak için ağacın altına serpilir. Ağaç altındaki alan düzgün bir süpürge ile süpürülür, sakız toplanır ve çuvallanır. Bir yıl içinde ağustos ve eylül ayları olmak üzere iki defa sakız alınır. Hasat süresince yağmur yağarsa sakız bozulabilir. Sakızı aşındırabilir veya eğer sakız taze ise yağmur suyuyla karışıp siyaha dönüşür. Damla sakızının kalitesi rengine göre değişir. Daha temiz ve şeffaf sakız daha kaliteli olandır. Sakızın okside olduğunda sararır. Şeffaf cam boncuk gibi sakız en kaliteli olandır. Sakızın depolama süresi uzadıkça önce beyaza sonra sarıya döner. Sakıza A, B ve C dereceleri verilir. Sakız ağacından damla sakızı üretmeye ancak ağaç 5 veya 6 yaşında başlanır fakat maksimum ürün vermeye başlaması için ağacın 12-15 yaşına gelmesi gerekir (Peterson 2010). Direkt gün ışığının gövdeye vurması ve ısıtması mastik oluşumunun artmasında önemli bir rol oynamaktadır (Triantafyllou ve ark. 2006).



Şekil 1.4: Damla sakızının gövdedeki görünüşü (A), iyi sakız verdiği bilinen ağaçlardan toplanan damla sakızı (B)

1.3. Sakız Ağacının Dünyada ve Ülkemizde Yayılışı

Sakız ağaçları Dünya’da Akdeniz ikliminin hâkim olduğu tüm kıyı kesimlerinde hatta belli bir yüksekliğe kadar iç kesimlerde doğal olarak yetişmektedir (Ak ve Parlakçı 2009). 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 (Balear dahil), Fransa (Korsika dahil), İtalya (Sardinya ve Sicilya dahil), Hırvatistan, Bosna Hersek, Sırbistan, Arnavutluk, Yunanistan (Girit dahil), Kıbrıs, Türkiye, Suriye, Lübnan, Libya, Tunus, Cezayir ve Fas’ta bulunmaktadır. Deniz seviyesinden 200 m yükseltilere kadar çıkabilen bu bitkiye İstanbul Burgaz Ada, İzmir, Ankara İncesu, Kayseri, Muğla, Marmaris, Kuşadası, Datça, Antalya Kemer, İçel, Tarsus, Ulaş, Seyhan ve Hatay yörelerinde rastlanmıştır (Davis 1967).



Şekil 1.5: Ülkemizde ve Ege Denizi'nde bulunan Yunan adalarında *P. lentiscus* L. yetiştigi tespit edilen bölgeler (Davis 1967)

1.4. Sakız Ağacının Geleneksel ve Biyoteknolojik Yöntemlerle Çoğaltımı

1.4.1. Geleneksel Metotlar

Sakız ağacının geleneksel çoğaltımı; (1) tohumların çimlendirilmesi, (2) çeliklerin köklendirilmesi ve (3) aşılama yöntemleri ile gerçekleştirilmektedir.

1.4.1.1. Tohumdan fidan üretimi

Sakız ağacında *Pistacia* cinsine dahil diğer türler gibi rüzgarla tozlaşma olmaktadır (Whitehouse 1957). Bu nedenle dişi bitkiler kolaylıkla yabancı tozlaşma yapmaktadır. Tohumdan gelişen bitkiden ancak 15 yıl sonra sakız alınabilmekte ve bu ağaçlarda sakız verimi, türün dioik olması nedeniyle ağacın geliştiği tohumun genotipik özelliklerine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Ayrıca, partenokarpi ve ovaryumun gelişmemesi gibi döllenme problemlerinden dolayı genotipler arasında tohumların çimlenme oranları da farklı olur (Mulas ve ark. 1998). Sakız ağacı çok sayıda çiçek ve meyve oluşturmaktadır. Ancak canlı tohum içeren meyve sayısı çok

azdır ve meyvelerin içi çoğunlukla boş olduğundan tohum bulunmamaktadır (Palle ve Aronne 2000). Farklı renklerdeki meyvelerde yapılan araştırmalar (Jordano 1988; 1989), kırmızı veya beyaz meyvelerde embriyonun daha çok gelişmemiş veya partenokarpik olduğunu göstermiştir. Kırmızı ve beyaz meyvelerin aksine siyah meyvelerin içerdiği tohumun canlılık oranı göreceli olarak daha yüksektir ve bu nedenle tohumların siyahlaştıktan sonra hasat edilmesi çimlenme oranını artırmaktadır (Verdu ve Garcia –Fayos 2002).

1.4.1.2. Çelikle Fidan Üretimi

Sakızın fidan ile üretimi geleneksel olarak 40-50 santimetrelik dal çeliklerinin şubat ve mart aylarında dikilmesi ya da daldırma suretiyle olmaktadır (Perikos 1993). Özellikle kalın dallardan hazırlanan çelikler bu aylarda araziye dikilmektedir. Çelik ile üretimde köklenmede başarının düşük olduğu görülmüştür (Browicz 1987; Acar 1998). Bu konuda İsfendiyaroğlu (1994) tarafından yapılan çalışma, sakız ağacının bir yıllık sürgünlerden hazırlanan çeliklerinde, değişik hormon karışımları ile muamele edilmesi yoluyla köklenme görüldüğü ve köklenmenin şubat ayında alınan çeliklerde en yüksek, diğer aylarda ise daha düşük olduğunu göstermiştir. Ayrıca, araziye ekimde kullanılacak fazla sakız veren seçkin ağaç sayısı az olduğu için ana bitkiden alınabilecek çelik sayısı da sınırlı olmaktadır. Her ne kadar son zamanlarda çelikle çoğaltılmasında bazı ümit verici bulgular elde edilmişse de (İsfendiyaroğlu 2003), çeliklerden zayıf adventif kök gelişiminden dolayı, bitkinin vejetatif olarak çoğaltılmasında halen zorluklar bulunmaktadır (Mascarello ve ark. 2007). Sakız ağacının geleneksel çoğaltım yöntemi, kalın dallardan hazırlanan odun çeliklerininin kış aylarında doğrudan bahçe tesis edilecek araziye dikilmesine dayanmaktadır (İsfendiyaroğlu 2003). Ancak bu yöntemle hem köklenme uzun sürmekte hem de başarı oranı düşük olmaktadır. Çeliklerle vejetatif çoğaltımı *in vitro* ortamda çalışan Mascarello ve ark. (2007) köklenme oranının düşük olduğunu ve *in vivo* ortama adapte olan bitki sayısının da düşük olduğunu rapor etmiş ancak çalışmada köklenme yüzdesine ait kantitatif bulgular sunulmamıştır. Bununla birlikte İsfendiyaroğlu (2003), kontrollü koşullar altında şubat ayında alınan yapraklı odun çeliklerininin 20 mg/l⁻¹ indol bütirik asit (IBA) uygulaması 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. Bu çalışma sonucu üretilen fidanların bahçe

performansları ile ilgili herhangi bir sonuç verilmemiştir. 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. Sakız ağacı çoğaltımı için kullanılan bu geleneksel yöntemlerin türe olan talepleri karşılamakta yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle var olan çoğaltım teknikleri, biyoteknolojik çoğaltım yöntemleri ile desteklenmelidir.

1.4.1.3. Aşılama ile Fidan Üretimi

Sakız ağacının gerek çöğür, gerekse doğadaki yabani formlar üzerine aşılmasına yönelik çalışmalarda da başarı sağlanamamıştır (Whitehouse 1957; Acar 1998). Sakız ağacı aşıyla çoğaltılamayan bir tür olarak kabul edilmektedir. *Pistacia* cinsinin ortak özelliğinin dokularında zambak (mastik) salgı maddesinin bulunması ve salgı kanallarının kabuğun odun dokusuna yakın floem kısmında yer alması (Acar 1998; Perikos 1993), aşılama çalışmalarını olumsuz etkilemektedir. Dolayısıyla aşılama esnasında yapılan en küçük yaralama neticesinde sakız salgısı oluşmakta, anaçla aşı gözü arasını doldurarak aşının tutmasını engellemektedir. Özellikle fenolik maddelerin oksidasyonu sonucunda nekrotik tabakalar oluşmakta ve bunlar kambiyal geçişi engelleyerek aşı başarısını düşürmektedir (Kalkışım 1997). Bu nedenle, derin yapılan yarıkların ve kalem aşılarının sakız ağacında aşı tutmasını engellediği ve aşılama esnasında buna dikkat edilmesi gerektiği vurgulanmaktadır. Ancak, sakız ağacı gibi yine bir *Pistacia* türü olan antep fıstığının çöğür üzerine veya yabani *Pistacia*'ların üzerine aşılama çalışmaları çok başarılı sonuçlar alınmaktadır (Kaşka ve ark. 1990; Çağlar ve Kaşka 1992). Tohumdan yetişen fidanlarda genetik açılım söz konusu olduğundan verimli sakız üretimi için erkek veya dişi ağaçların mutlaka üstün nitelikli standart kültür çeşitleri ile aşılama gerekmektedir. Ancak fenolik madde salgılayan ağaçlarda genel olarak aşılama başarısını, aşılama zamanı ve aşı yöntemi etkilemektedir. Döneme bağlı olarak değişim gösteren bu maddelerin azlığı ya da çokluğu başarıyı etkilemektedir. Bunların yanı sıra anaç ve kalemin fizyolojik koşulları, hatta bitki büyüme düzenleyiciler aşı başarısını etkileyebilmektedir. Başarıyı etkileyen bir diğer etken de aşılama yöntemidir. Aşılama temel husus, anaç ve kalemin kambiyum tabakalarının birbiri üstüne gelecek şekilde yerleştirilmesi ve işlemin kambiyumun en aktif olduğu zaman yapılmasıdır. Özellikle sakız gibi salgı çıkaran anaç ve kalemlerde

1. GİRİŞ

aşının yöntemi önem kazanmakta, aşılama için yapılacak kesimler önem taşımaktadır. Türlerine göre; denenen aşı yöntemlerinden bazıları daha iyi sonuç vermektedir. Bunda, açılan kesim yaralarının kaynaşmasının ve anaç ile kalemin kambiyumlarının çakışmasının rolü büyüktür. Örneğin, kabuk aşılarında bazen epidermis tabakaları arasında boşluk kalabilmekte ve aşı başarısı düşmektedir (Parlak ve Akbin 2008). Sakız ağacı ile aynı cins olan antep fıstığı aşılama çalışmalarında mevsimler ve yapılan aşı yöntemleri arasında farklılıklar bulunmuştur (Tekin ve ark. 2001; Okay 1994; Ayfer 1988; Kaşka ve ark. 1990). Ancak yine de Acar (1998), sakızda yaşlı gövdeleri yenilemek ve yabancı sakız çalılarını değerlendirmek için yapılan aşı denemelerinden herhangi bir sonuç alınmadığından söz etmektedir. Yakın geçmişe kadar Çeşme yarımadasının belli yörelerindeki bahçelerde sakız üretimi yapıldığı bilinmektedir. Ancak son 20 yılda yörede hızla artan turizm yatırımları nedeniyle tarım alanları daralmıştır. Sonuçta sakız üreticiliği ekonomik önemini yitirmiş ve mevcut ağaç varlığı da yok olma tehlikesi altına girmiştir. Bununla birlikte, son zamanlarda ürüne olan talep artışına bağlı olarak, sakız ağacı kültürünün yeniden canlandırılmasına yönelik girişimlerin olduğu gözlenmektedir. Bu girişimler, yörede bulunan eski plantasyonların yenilenmesi veya yaygınlaştırılması için yeterli miktar ve kalitede fidan üretiminin gerekliliğini gündeme getirmiştir. Aslında İzmir'in, Çeşme ve Alaçatı ilçelerinde bulunan sakız ağacı potansiyeli, Sakız Adası'ndan bulunandan daha fazladır ancak bu adı geçen yerlerde bulunan sakız ağaçları, üretim yapılamayan ağaç ya da ağaçtan çok bozuk nitelikte çalı formundadır. Bu nedenle 2008 yılında, Falım sakızları (Cadbury) ve TEMA Vakfı tarafından "Bozuk Sakız Ağacı Rehabilitasyonu Projesi" başlatılmıştır. Bu proje kapsamında İzmir Gülbahçe'de, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü araştırma sahasında bulunan sakız ağaçlarının aşılama yoluyla damla sakızı üretiminin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. İlgili proje kapsamında bu araştırma sahasında bulunan 17.867 adet bozuk sakız ağacının iyileştirilmesi ve aşılama ayrıca, 5.956 adet aşılı sakız fidanı dikimi gerçekleştirilmesi planlanmıştır (URL-2).

1.4.2. Biyoteknolojik Metotlar (Doku kültürü teknikleri)

Biyoteknoloji; hücre ve doku kültürü, moleküler biyoloji, mikrobiyoloji, genetik, fizyoloji ve biyokimya gibi doğa bilimlerinin yanısıra makine mühendisliği, elektrik-elektronik mühendisliği ve bilgisayar mühendisliği gibi mühendislik dallarından yararlanarak, DNA teknolojisiyle bitki, hayvan ve mikroorganizmaları geliştirmek, doğal olarak varolmayan veya ihtiyacımız kadar üretilemeyen yeni ve az bulunan maddeler elde etmek için kullanılan teknolojilerin bütünüdür. Biyoteknoloji uygulamaları; mikrobiyoloji, biyokimya, moleküler biyoloji, hücre biyolojisi, immünoloji, protein mühendisliği, enzimoloji ve biyoproses teknolojileri gibi farklı alanları bünyesinde toplar. Bu nedenle de biyoteknoloji birçok bilimsel disiplinle karşılıklı ilişki içinde gelişir (URL-3). Biyoteknolojinin en önemli uygulama alanlarından birisi de bitki biyoteknolojisidir. Bugün bitki biyoteknolojisinin ticari kullanımını iki ana başlık altında toplayabiliriz (Davey ve Anthony 2010):

- (1) Bitkilerin özelliklerinin iyileştirilerek çoğaltılması veya klonlanması
- (2) Farmasötik sanayi için hammadde üretimi.

Bitki özelliklerinin iyileştirilerek çoğaltılmasında, çoğu 1960 ve 1970'li yıllarda kurulmuş bitki doku kültürü laboratuvarının da uyguladıkları doku kültürü teknikleridir. Doku kültürü, bitkiden izole edilen doku (eksplant) parçasını yapay besi ortamında süresiz yaşatma tekniğidir. Hücre ve dokular bölünerek kök, yaprak, sürgün, embriyo ve tam bitki geliştirirler. Pierik (1997) tarafından doku kültürü tekniklerinin bilimsel uygulamalarını şöyle sıralamaktadır:

- Bitkilerin ıslahı ve moleküler biyolojisi
- Botanik araştırmaları
- Sekonder metabolit üretimi
- Fitopatolojik çalışmalar
- Vegetatif çoğaltma

Günümüze kadar, *Pistacia* cinsinde yapılan mikroçoğaltım çalışmalarının çoğu ekonomik değeri nedeniyle *P. vera*'da yapılmış olsa da, *P. terebinthus*, *P. mutica*, *P. khinjuk*, *P. palaestina* ve *P. atlantica* türleri üzerine de *in vitro* kültürlerin başlatılması ve optimizasyon çalışmaları mevcuttur (Çizelge 1.2).

1. GİRİŞ

Çizelge 1.2: *Pistacia* cinsine ait türlerde yapılan önemli *in vitro* mikroçoğaltım çalışmaları

Tür	<i>İn vitro</i> Sistem	Sonuç	Kaynak
<i>P. vera</i>	Su ve Nt*	Bitki üretimi	Barghchi ve Alderson, 1983
<i>P. vera</i>	Su	Bitki üretimi	Onay, 2000
<i>P. vera</i>	Nt	Bitki üretimi	Özden-Tokatlı ve ark., 2005
<i>P. khinjuk</i>	Su	Çoklu sürgün oluşumu	Barghchi, 1982
<i>P. khinjuk</i>	Su	Bitki üretimi	Tilkat ve ark., 2005
<i>P. mutica</i>	Su ve Nt	Sürgün büyümesi	Barghchi, 1982
<i>P. atlantica</i>	Su ve Nt	Sürgün büyümesi	Barghchi, 1982
<i>P. palaestina</i>	Su ve Nt	Sürgün büyümesi	Barghchi, 1982
<i>P. terebinthus</i>	Nt	Çoklu sürgün oluşumu	Pontikis, 1984
<i>P. terebinthus</i>	Nt	Sürgün proliferasyonu	Gannoun ve ark., 1995
<i>P. lentiscus</i>	Su	Sürgün proliferasyonu (<i>kararma</i>)	Fascella ve ark., 2004
<i>P. lentiscus</i>	Su	Kararma nedeniyle sürgün proliferasyonu elde edilememiştir	Taşkın ve İnal, 2005
<i>P. lentiscus</i>	Su	Sürgün proliferasyonu (<i>kararma</i>)	Mascarello ve ark., 2007
<i>P.lentiscus</i>	Su	Bitki üretimi	Yıldırım (2012)

* Su: Sürgün ucu; Nt: Nodal tomurcuk.

Çizelge1.2’de görüldüğü gibi *P. lentiscus*’un *in vitro* çoğaltılmasıyla ilgili sadece birkaç ön çalışma rapor edilmiştir (Fascella ve ark. 2004; Taşkın ve İnal 2005; Mascarello ve ark. 2007). Bu ön çalışmalardan, Fascella ve arkadaşları (2004) sakız ağacının çoğaltımında McCown’nun makro ve mikroelementlerinin (Lloyd ve McCown 1980) kullanımının eksplantlarda oluşan kararmayı azalttığını ancak gövde proliferasyonunun MS (Murashige ve Skoog 1962) besi ortamında daha iyi olduğunu rapor etmişlerdir. Taşkın ve İnal (2005), *P. lentiscus* var *Chia*’nın olgun ve genç dokularından alınan apikal sürgün uçlarını farklı hormon derişimlerini içeren MS ve DKW (Driver ve Kuniyuki 1984) besi ortamlarında kültüre aldıkları çalışmada, alınan materyallerden besi ortamına salınan yoğun fenolik bileşiklerden dolayı eksplantlarda organogenezi gözlememişlerdir. Mascarello ve arkadaşları (2007) tarafından yapılan başka bir *in vitro* çalışmada ise, *Pistacia lentiscus*’a ait tohum ve genç bitki eksplantlarını kullanmışlar ve tohumların çimlenme oranını arttırmak için çimlenmeyi artırıcı çeşitli uygulamalar denemişlerdir. Tohumların soğukta tutularak hidrojen klorür (HCl) ile aşındırılmasının ve gibberelik asit (GA3) uygulamalarının tohumlarda

çimlenme oranını arttırdığını rapor etmişlerdir. Akselik sürgünlerin *in vitro* çoğaltımında ise en iyi sürgün proliferasyonunu 0.5 mg/l⁻¹ 6-benzil adeninin (BA) sağladığı ve eksplant başına ortalama 3.5 sürgün oluştuğu bildirilmiştir. Gövdelerin köklendirilmesi için ise naftalen asetik asit (NAA) ve IBA'nın etkileri denenmiş ve 0.5 mg/l⁻¹ NAA içeren besi ortamında çok sayıda uzun köklerin oluştuğu rapor edilmiştir. Son zamanlarda Yıldırım (2012) tarafından rapor edilen bir çalışmada juvenil sakız ağacının *in vitro* mikroçoğaltılması için bir protokol tanımlanmıştır. *In vivo* koşullara transferden dört hafta, dört ve iki yıl sonra sırasıyla, % 83.3, % 96 ve % 100 gibi yüksek oranlarda yaşam canlılığı elde edilmiştir (Onay 2013). Bununla birlikte, olgun erkek ve dişi sakız ağaçlarının *in vivo* zorlanan sürgünlerinden *in vitro* çoğaltma metodunun geliştirilmesi çalışmalarının devam ettiği rapor edilmiştir.

1.5. Sakız Ağacının Tıbbi Özellikleri

Sakız ağacının toprak üstü kısımları, idrar söktürücü özelliklerinden dolayı uyarıcı olarak kullanılmasının yanı sıra hipertansiyon, öksürük, boğaz ağrıları, ekzama, karın ağrısı, böbrek taşları ve sarılık tedavisinde kullanılmıştır (Bentley ve Trimen 1980; Palevitch ve Yaniv 2000). Yapraklardan ve ince dallardan elde edilen yağ bakteriye karşı vasat bir etkinlik gösterip ve mantara karşı tamamen etkisiz kalmasına rağmen reçinesinin uçucu yağı mikroorganizmalara ve mantara karşı çok etkili olduğunu kanıtlamıştır (Magiatis ve ark. 1999). Gallik asit ve onun türevlerinin varlığı, meyvelerdeki 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloylglukoz, K562 hücre sırasındaki H₂O₂'nin sebep olduğu ağız peroksidasyonuna karşı koruyucu bir rol oynadığı belirlenmiştir (Abdelwahed ve ark. 2007).

P.lentiscus'un fenolik bileşiklerinin önemli derecede antimikrobiyal aktivite, özellikle antifungal etki gösterdiği rapor edilmiştir (Benhammou ve ark. 2008). Dahası, incelenen özler, *in vitro* ortamda süperoksit anyonlar için yüksek derecede azaltıcı ve işe yarar olanları toplayıcı bir etkinlik göstermektedir. Güçlü bir antifungal aktivite ve zayıf bir antibakteriyel etkinlik gözlenmiştir. Ayrıca süperoksit anyonlarında yüksek derecede azaltıcı bir güç kapasitesi ve zayıf bir toplayıcı aktivite göstermişlerdir.

Sakız yağı, kaspaz-3 aktivitesinin yükselmesi ve damar endotelial büyüme etkisinin yayılması eşliğinde, insanlardaki lösemi K562 hücrelerinin çoğalmasını önemli ölçüde engellemiştir (Loutrari ve ark. 2006). *P.lentiscus* yağı alkalin fosfat, aspartat

transaminaz ve üre örneklerinde olduğu gibi civa zehirlenmesine karşı korumada kısmen yardımcı olabilir ve ayrıca güvenilir doğal bir besin kaynağı olarak kabul edilebilir, en azından toplam kolesterol ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterolü normal değerlerinde tutarak bunu sağlayabilir (Tounes ve ark. 2008). Damla sakızının yararlı iyileştirici özellikleri eski zamanlardan beri bilinmektedir (Moussaieff ve ark. 2005). Dioscorides Pedanius, 'De materia medica' adlı makalesinde damla sakızının sindirme sürecini olumlu bir şekilde etkilediğini ve ek olarak kozmetik özelliklere ve diş için yararlı etkilere sahip olduğunu ifade etmiştir (Wellmann 1907). Klinik araştırmalar ilk olarak damla sakızının gastrik ve duodenal ülserle karşı etkili olduğunu ortaya koydu (Al-Habbal ve ark. 1984; Al-Said ve ark. 1986). Damla sakızının *in vitro* ortamda *Helicobakter pylori*'ye karşı öldürücü olduğu kanıtlandı (Huwez ve ark. 1998; Marone ve ark. 2001). Ancak, son araştırmalar damla sakızının insanlardaki *H.pylori*'nin *in vivo* ortamda yok edemediğini göstermiştir (Bebb ve ark. 2003; Loughlin ve ark. 2003). Sakız ağacının damla sakızı *in vitro* ortamdaki HCT116 insan kolon kanseri hücrelerinin çoğalmasını engellediği ve bu hücrelerin ölümünü başlatan bileşimleri içerdiği bilinmektedir (Balan ve ark. 2007). *Pistacia lentiscus*'da geleneksel olarak özellikle göğüs, karaciğer, mide, dalak, rahim tümörleri üzerinde bir anti kanser ögesi olarak kabul edilmiştir (Assimopoulou ve Papageorgiou 2005). Sakız, androjen-duyarlı hücrelerindeki androjen alıcının boşaltılmasını önemli ölçüde engellemiştir (He ve ark. 2006). Damla sakızı ilk kez görüldükleri beyaz kan hücreleri lenfositlerince ekspresse edilen gizli sinyalleme molekülleri olan sitokinlerin bir grubu olan interlökin-6 (IL-6) etkinlik endeksi ile plazma seviyelerini ve aktif Crohn hastalığı taşıyan hastalardaki C-reaktif proteini önemli ölçüde azalttığı ortaya çıkmıştır (Kaliora ve ark. 2007). *P. lentiscus* kalp damar hastalıkları ile karaciğer hasarlarına karşı önleyicidir. *In vitro* ortamda insan LDL oksitlenmesini engeller (Andrikopoulos ve ark. 2003) ve triterpenler sayesinde, antioksidan/antiandrojenik etki sağlamak için periferik mononükleer kan hücrelerinde hareket eder (Dedoussis ve ark. 2004).

1.6. Sakız Ağacının Ekonomik Önemi

Sakız ağacı M.Ö birçok medeniyet tarafından başta reçinesi olmak üzere meyvesi, yaprakları ve kimyasal bileşenlerinden dolayı değişik amaçlar için kullanılmıştır. Önemli bir ekonomik değere sahip olan sakız ağacından ticari damla sakızı üretimi ne yazık ki bugün sadece Yunanistan'ın Sakız Adası'nda

gerçekleştirilmekte ve üretilen sakız ihraç edilerek milyonlarca dolar ülke ekonomisine gelir sağlanmaktadır. Sakız Adası'ndan her türlü bitkisel materyalin ada dışına çıkarılması kesinlikle yasaklanmıştır. Yetiştiricilik, üretim ve pazarlama etkinlikleri Sakız Adası'ndaki üreticiler birliğinin kontrolü altındadır. Buna ek olarak, Avrupa Birliği'nin ilgili kurumları tarafından Sakız Adası tamamen koruma altına alınmıştır, sakız üretiminin devamlı artırılması için de sınırsız maddi destek sağlanmaktadır. Sakız Adasında üretilen damla sakızı 50 ülkeye ihraç edilmektedir. En büyük alıcı ülke ise Suudi Arabistan'dır (Moussouris ve Regato 1999). Ülkemizde ise sayıca Çeşme ve çevresinde 200 civarında yaşlı ağaçtan amatör şekilde yapılan 3-5 kg'lık üretim mevcuttur (Parlak ve Akbin 2008). 2009 verilerine göre Türkiye'nin yıllık damla sakızı gereksinimi yaklaşık olarak 18 ton civarındadır. Bu ihtiyaç, 2008 yılında 8 tonu ithal edilerek, TEMA'ya göre 10 tonu da kaçak olarak ülkemize sokularak temin edilmektedir (Bilgin 2009). Sakız ağacı kullanım alanları çok geniş olduğundan oldukça ekonomik bir bitkidir. Bu kullanım alanlarını genel olarak dört gruba ayırabiliriz; (1) ilaç sanayisinde, (2) gıda sanayisinde, (3) kimya endüstrisinde ve (4) diğer kullanım alanları

İlaç sanayisinde: İlaç firmaları, mastiksi tablet ve kapsüllerin, kendiliğinden absorbe olan ameliyat iplerinin üretiminde ve yara bandajlarında kullanmaktadır (Boztok 1999).

Merhem ve diş macunu yapımında mastik sakızı kullanılmaktadır. Ağız hijyenitesi için antiseptik olarak diş macunlarında mastik sakızı kullanılmaktadır (Sherman 2005). Atina Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde yapılan bir çalışmada da mastiks ve mastiks yağının, önemli bir antibakteriyel ve fungusidal etkiye sahip olduğu saptanmıştır (Anonim 2002).

Gıda sanayisinde: Mastik sakızının gıda sanayinde yeri de büyüktür. Hazır çorba gibi gıdalarda koruyucu olarak kullanılır (Boztok 1999). 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

1. GİRİŞ

temel içeriği mastiktir. Mastik rezinesi sütlü tatlıların ana bileşeni olup, bunların açık beyaz renkte olmasını sağlamaktadır (Sherman 2005). Meyvelerinden yenilebilen yağ üretilmekte ve bu yağ doymamış yağ asitleri olan oleik ve linoleik asit bakımından zengin olması bakımından son zamanlarda dikkat çekmektedir (Ucciani 1995).

Kimya endüstrisinde: Kozmetik ürünlerde, verniklemede, resim boyalarında mastik sakızı kullanılmaktadır (Calabro ve Curro 1974). Mastiğin kimyasal analizi sonucu, mastikte % 1-3 arasında mastik yağı, % 4 oranında a ve b mastisinik asit, % 0.5 mastikhonik asit, % 20 a-mastikonik asit, % 18 b-mastikonik asit, % 30 a-mastik rezinesi ve % 20 b-mastik rezinesi bulunmuştur (Sherman 2005). Mastik, % 1-3 oranında uçucu yağ içerir. Sakız bitkisinin yapraklarından da % 0,8 oranında uçucu yağ elde edilebilir. Bu uçucu yağın en önemli bileşenleri alfa pinen, mirsen, beta karyofillen, limonen, anetol ve alfa humulen'dir (Boztok 2004). Mastikten elde edilen uçucu yağ bileşenleri çoğunlukla monoterpenik ve seskiterpenik yapıdadır. Monoterpenler sekrolitik, ekspektoran, sedatif ve tonik etkileriyle bilinirler. Seskiterpenler, yapıdaki fonksiyonel gruba bağlı olarak değişkenlik göstermekle birlikte, anti inflamatuvar etki gösterirler (Boztok 1999). Saç kepeklenmesine karşı bittım sabununun yapımında kullanılmaktadır (Üçer 2004).

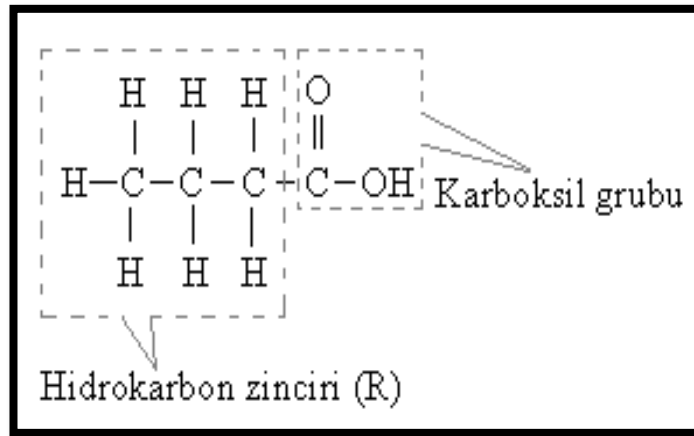
Diğer kullanım alanları: Sakız ağacı Meksika'da süs bitkisi olarak kullanılmaktadır ve çok değerlidir. Özellikle şehir yerleşim alanlarında bulunmaktadır ve uygun iklim özelliklerinin olmadığı yaz aylarında bile yaşamını sürdürebilmektedir. Dekoratif görünümü ve hoş kokusu nedeni ile bahçe düzenlemesinde de kullanılabilir. Toprağı örtmesi nedeni ile toprak erozyonunu da önlemektedir. Kökler 20–25 metre derinliğe kadar uzanabilir. Bu nedenle, kuraklığa dayanıklılık bakımından incir ve zeytine göre daha güçlüdür. Arazi yangını gibi kötü koşullarda bile kısa sürede kendini yeniler.

1.7. Bitkisel Yağlar

Suda çözünmeyip eterde çözünen ve dokunulduğunda kaygan hissini veren maddelerdir. Yağlar üç temel gruba ayrılır: Mineral yağlar, durağan bitkisel ve hayvansal yağlar ve uçucu bitkisel yağlar. Yağları durağan ya da uçucu olarak adlandırmamıza yol açan bunların ısıtıldıklarında buharlaşıp buharlaşmamalarıdır. Yağlar insan besinleri arasında en yoğun enerji kaynağını oluştururlar. Yağların en önemli kaynaklarından birisi de bitkilerdir. Katı ve sıvı yağlar, gliserol ve yağ asitlerinden oluşan triaçilgliserollerdir.

1.7.1. Yağ Asitleri

Yağ asiti; yapısında karboksil grubu (-COOH) taşıyan düz bir hidrokarbon zinciri olup, yağın en önemli ögesidir. Yağ asitleri, hidrokarbon zincirinde karbon sayısı, karbon atomları arasında çift bağ bulunup bulunmaması, çift bağ varsa yeri ve sayısı gibi özellikler bakımından birbirinden ayrılırlar. Yağ asitleri organizmada hücresel yapı elemanı olarak karmaşık lipitler halinde, az bir kısmı da hücre ve dokularda serbest yağ asiti halinde bulunmaktadır. Hayvan, bitki ve mikroorganizmalarda 100'den fazla çeşit yağ asiti izole edilmiştir. Hayvansal organizmalarda sentezlenemeyen ve besinlerle birlikte alınması gerekli olan linoleik, linolenik ve arakidonik asitlere, **esansiyel yağ asitleri** denir.



Şekil 1.6: Yağ asitinin genel yapısı (Gorga 1998)

1.7.1.1. Yağ Asitlerinin Sınıflandırılması

Yağ asitleri, doymuş (tek bağlı yağ asitleri) ve doymamış (çift bağ bulunduran) olmak üzere ikiye ayrılırlar.

Doymuş yağ asitleri: Yağ asiti zinciri çift bağ içermiyorsa doymuş yağ asitidir. Doymuş yağ asitleri (DYA) düzenli bir konfügurasyona sahiptir ve istenilen sıcaklıkta katı bir kristal oluştururlar. Bu yüzden erime noktaları yüksektir (Gürcan 2001). Doymuş yağlar arasında hayvansal yağlarda en çok bulunanlar ise palmitik ve stearik asitlerdir. DYA'lerin daha kısa ve uzun zincirli olanları daha az bulunur (Baysu 1979).

Doymamış yağ asitleri: Yağ asiti zinciri bir veya daha fazla sayıda çift bağ içeriyorsa doymamış yağ asitidir. Yapılarında bir tane çift bağ varsa tekli doymamış (TDYA), birden fazla çift bağ varsa çoklu doymamış (ADYA) veya aşırı doymamış yağ asiti adı verilir. Çift bağlar zincire düzensiz bir özellik katar. En yaygın doymamış yağ asiti olan oleik asit hayvansal ve bitkisel yağlarda bulunur (Gürcan 2001).

1.7.2. Uçucu Yağlar

Uçucu yağ, bitkilerin yaprak, meyve, kabuk veya kök kısımlarından elde edilen, oda sıcaklığında sıvı halde olan, kolaylıkla kristalleşebilen genellikle renksiz veya açık sarı renkli, uçucu, kuvvetli kokulu, doğal bir üründür. Güzel kokulu olmasından dolayı esans ya da eterik yağda denilmektedir. Su ile karışmadıkları için yağ olarak tanımlansalar da sabit yağlardan farklıdır (Ceylan 1983). Uçucu yağların yapılarında bulunan bileşiklerin çoğu terpenoitler (soprenoitler), çoğunlukla monoterenler ve seskiterpenlerdir. Bunun yanı sıra diterpenleri, düşük molekül ağırlıklı alifatik hidrokarbonları, asitleri, alkoller, aldehytleri, asiklik esterleri veya laktonları, istisna olarak azot ve sülfür içeren bileşikler, kumarinleri ve fenilpropanoidlerin homologlarını da içerirler (Grassmann ve Elstner 2003; Wallace 2004; Özgüven ve Kırıcı 1999; Dorman ve Deans 2000). Uçucu yağların bileşim ve miktarları; bitkinin cinsine, bitkinin hangi kısmından elde edildiğine, üretim şekline, iklime ve yetiştirildiği bölgenin coğrafik yapısına bağlı olarak değişmektedir (Özgüven ve Kırıcı 1999; Baydar 2005; Burt 2004; Couladis ve ark. 2002; İşcan ve ark. 2002). Çoğu sudan hafif olan ve su ile karışmayan uçucu yağlar, kokularının suya geçmesine yetecek oranda suda, bunun yanında petrol eteri, benzen, eter, hekzan ve etanol gibi organik çözücülerde ise belli oranlarda çözünürler. Sulu etanolde çözünebilme özellikleri ile uçucu yağlar sabit

yağlardan ayrılırlar. Ayrıca kırılma indisleri oldukça yüksek olup, optikçe aktifler (Tanker ve Tanker 1976; Tyler ve ark. 1988; Evans 1989).

Bitki sekonder metabolitlerinin (fenolik bileşenler, alkaloidler ve uçucu yağlar) bitkideki fonksiyonları aşağıdaki gibi özetlenebilir (Verpoorte ve ark. 1994; Teli ve Timko 2004; Lila 2005):

- Bitkiyi herbivor (Waterman 2001), bakteriyal ve fungal patojen saldırılarına (Osbourn 1996) karşı korur ve aynı ortamdaki diğer bitkilerle rekabet güçlerini artırır.
- Tozlanmada faydalı organizmaları (özellikle böcekleri) çeker ve simbiyotik ilişkilerde görev alır (Briksin 2000)
- Bitkiyi sıcaklık değişimleri, su, ışık, ultraviyole ve mineral madde gibi abiotik stres faktörlerine karşı korur.
- Hücre düzeyinde bitki büyüme düzenleyicileri, gen ifadesinin düzenlenmesi ve transdüksiyon mekanizmalarında görev alırlar.

1.7.2.1. Uçucu Yağ Elde Edilmesinde Kullanılan Yöntemler

Damıtma yöntemi: Sıvıların kaynama noktaları arasındaki farklardan yararlanılarak gerçekleştirilen bir ayırma işlemidir.

a-Su ile damıtma

b-Buhar ile damıtma

c-Vakum ile damıtma

Ekstraksiyon yöntemi: Genel anlamda bir çözücü içerisine uçucu yağ ekstrakte edilmesi işlemidir.

a-Çözücü ekstraksiyonu

b-Süper kritik sıvı ekstraksiyonu

c-Mikrodalgayla ekstraksiyon

d-Sıkıştırılmış çözücü ekstraksiyonu

e-Katı-faz mikro ekstraksiyon

f-Çok yönlü ekstraksiyon

1. GİRİŞ

Mekanik yöntem: Limon ve portakal gibi meyvelerin kabuklarının bez bir torbaya konularak soğuk hidrolik preslerde sıkılarak uçucu yağ elde edilmesinde kullanılan bir işlemdir (Kılıç 2008; Sankarikutty ve Narayanan 1993).

1.7.2.2. Uçucu Yağları Oluşturan Bileşikler

Monoterpenler: Uçucu yağların içeriğinin % 90'ından fazlasını monoterpenler oluştururlar. Monoterpenler Çizelge 1.3'deki gibi 3 gruba ayrılabilirler (Grassmann ve Elstner 2003).

Çizelge 1.3: Monoterpenlerin sınıflandırılması

Düzenli Yapıdaki Monoterpenler		
Monoterpen Hidrokarbonlar	β -Mirsen(-)	α -Fellandren
	Trans- β -okimen	(-)- β -Fellandren
	cis- β -okimen	(+)- α -Pinen
	α -terpinen	(-)- α -Pinen
	γ -terpinen	(-)- β -Pinen
Monoterpen Alkoller	ρ -simen	(+)-3-Karen
	Geraniol	Linalool
	Nerol	(-)- α -terpineol
Monoterpen Aldehitler	(-)- β -Sitronellol	Terpinen-4-ol
	Geranial (Sital a)	
	Neral (Sital b)	
Monoterpen Ketonlar	(+)-Sitronellal	
	(S)(+)-karvon	(-)-kampfer
	(R)(-)-karvon	(+)-kampfer
	(-)-menton	(+)-fenkhon
Monoterpen Eter ve Endoperoksitler	(+)-pulegon	(-)-tujon
	1,8-sineol,	
	Mentonfuran, Dill ether, Askaridol	
Düzensiz Yapıdaki Monoterpenler		
Krisantemik asit, Artemisanes Santolinanes, Lavandulanes		
İridoidler		
Alkoloidlerin biyosentezinde ara ürün olanlar		
İsoprenlerden sentezlenen monoterpenler		

Seskiterpenler: 50'den fazla çeşidi bulunur. *Zingibaraceae* (Zencefilgiller) familyasının uçucu yağlarının çoğunluğunu oluşturur. Örneğiβ -karyofillen-1,2-epokside karanfil ve adaçayı yağında bulunmaktadır.

Aromatik bileşikler: Uçucu yağlardaki daha küçük bileşenlerdir. Bu grubun tipik üyeleri: anetol veya estragol (rezene ve anason uçucu yağlarında bulunur), timol ve karvakrol de aromatik bileşiklerdir.

Diğer bileşikler: Uçucu yağlar aynı zamanda doymamış yağ asitlerinin parçalanma ürünlerini de içerebilirler: cis veya trans-hekzanal, hekzanol, çeşitli laktonlar. Ayrıca terpen yıkımından kaynaklanan bileşikleri (örn: C13-norisoprenoidler), kükürt ve azotlu bileşikleri (örn: piridin türevler) içerirler.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1 Yağ Asitleri Üzerine Çalışmalar

Mekni Nejb (2011) çalışmasında, Tunus'un kuzeyinde yetişen *P. lentiscus*'un depo yağlarının gastrik ülser tedavisinde ağız yoluyla alınan bir ilaç olduğunu belirtmiştir. Bu yağın GC-MS metoduyla analizini yapmış, yağın içeriğindeki bazı maddelerin medikal alanlarda kullanıldığını rapor etmiştir. *P. lentiscus*'un meyvesindeki depo yağın içeriğinin; palmitik asit (% 15.64), linoleik asit (% 47.02), 3-undesilfenol (% 18.86), 3-formil-1,3-sikloheksan (% 2.70), 3-pentadesilfenol (% 14.11) ve 2,6,10,14,18,22-tetrakosaheksan (% 1.67)'den oluştuğunu rapor etmiştir.

Zouhir Djerrou ve ark. (2009), yaptıkları çalışmada *P. lentiscus*'un doğal depo yağlarının yanıkların iyileşmesindeki etkisini test etmişlerdir. Çalışmada altı yetişkin erkek, Yeni Zellanda tavşanı üzerinde testler yapmışlar ve *P. lentiscus*'un depo yağlarının önemli ölçüde yara kapanmasını teşvik ettiği ve epitelizasyon periyodunu azalttığı sonucuna ulaşmışlar.

M. Charef ve ark. (2008), Cezayir'de yetişen sakız ağacı ve meşe palamudunun (Acorn) yağ asitlerini belirleme isimli çalışmalarında bu bitkilerin meyvelerinden elde edilen ekstraktların kimyasal karakteristiğini ve yağ asiti kompozisyonlarını belirlemişler. *P. lentiscus* L.'de ham yağ % 32.8 ile en yüksek siyah meyvelerde, % 11.7 ile kırmızı meyve ve % 9 ile en düşük değerle meşe palamudunun takip ettiğini tespit etmişler. En yüksek asit değerinin ise 24.0 mg KOH/g değeri ile kırmızı meyvesinin yağında, ardından siyah meyve yağında ve en düşük değerin ise meşe palamudu yağında olduğunu saptamışlar. Yağlardaki yüksek iyot değeri birçok doymamış zincirin varlığının en iyi göstergesidir. Saponifikasyon değeri en düşük *P. lentiscus*'un siyah meyvesinin yağında iken, en yüksek değer 166.7 mg KOH/g ile meşe palamudu yağındadır. Gaz-likit kromatografisiyle palmitik C16:0 (% 16.3–19.5), oleik C18:1 (% 55.3–64.9), linoleik C18:2 (% 17.6–28.4) asit olmak üzere üç baskın yağ asiti bulunduğunu ve yağlar % 78.8–83.5 oranında fark edilir miktarda doymamış yağ asiti içerdiğini göstermişlerdir.

2.2 Uçucu Yağlar Üzerine Çalışmalar

Elhoussine Derwich ve ark. (2010), Fas'ta yetişen sakız ağacının yapraklarının uçucu yağ içeriğini GC-MS, GC-FID metoduyla tespit edip, uçucu yağlarının antibakteriyel etkisini belirlemişler. Çalışmada *P.lentiscus*'un uçucu yağ verimi % 1.02 olarak rapor edilmiştir. Toplam uçucu yağın % 77.22'sini oluşturan 23 uçucu bileşen tanımlanmıştır. Bu 23 yağın ilk üç majör bileşenleri pinen (% 24.25), α -pinen (% 12.58), limonen (% 7.56) olarak tespit edilmiş ve sakız ağacından elde edilen uçucu yağlarının bakterilere karşı etkili olduğu vurgulanmıştır.

S. Zrira ve ark. (2003), sakız ağacının yaprak ve dallarının uçucu yağlarının mevsimsel değişimini incelenmişler. Çalışmalarında ayrıca kimyasal kompozisyon içeriği üzerine bölge farklılığının etkisini incelemek için Fas'ın üç farklı bölgesinden (Mehdia, Oulmes ve Chaouen) topladıkları bitkilerle çalışmışlar. Kimyasal kompozisyondaki varyasyonların bitki populasyonları arasında önemli olduğunu rapor etmişler. Toplam 45 bileşen tanımlanmış, Oulmes'ten getirilen *P. lentiscus* L.'nin uçucu yağının ana bileşenleri; pinen (% 16.5–38.5), mirsen (% 10.2–11.5) ve limonen (% 6.8–9.8), terpinen-4-ol (% 32.7–43.8) iken Chaouen bölgesine ait olanın ana bileşenleri; pinen (% 7.1–13.5) ve bornil asetat (% 6.8–10.3) olarak rapor edilmiştir. Mehdia'dan getirilenin ana bileşenleri ise terpinen-4-ol (% 14.5–19.3), karyofillen oksit (% 6.5–10.3) ve limonen (% 6.7–8.1) olarak tespit edilmiştir. Toplanma zamanının kimyasal içeriğe ve yağ üretimine olan etkisi değişik vejetatif dönemlerde ayrıca incelenmiştir (aralık-haziran). Üç lokasyon için en iyi yağ içeriğinin çiçeklenme periyodu olan mart ve haziran ayları olduğu rapor etmiştir.

Samir Ait Said ve ark. (2011) çalışmalarında, Cezayir'de yetişen *P. lentiscus* L.'nin yapraklarının terpenoid içeriğinin populasyon arasındaki değişkenliğine kimyasal bir yaklaşımda bulunmuşlar ve dişi sakız bitkisinin yapraklarındaki terpenoid içeriğindeki değişkenliği gözlemlemek için üç farklı rakımdan bitkiler seçip rakımın terpenoid içeriğine etkisi incelenmişlerdir. Çalışmada monoterpen hidrokarbon değerlerinin yüksekliğe bağlı olarak değiştiği tespit edilmiştir. Farklı yükseklik seviyeleriyle ilişkili olarak üç kemotip tanımlanmıştır. Bunlar yüksek rakımda (birinci tip) ana bileşenler; β -karyofillen (% 12), δ -kadinen (% 9.3) ve α -pinen (% 6.3) iken, orta rakımda (ikinci tip olarak); β -karyofillen (% 11.5), δ -kadinen (% 8.6) ve karyofillen

oksit (% 6.8) ana bileşenleri tespit edilmiştir. Düşük rakımda ise (üçüncü tip); δ -kadinen (% 10.9), kubebol (% 10.5) ve β -bisabolen (% 7.7) rapor edilmiştir. Bu değişkenlik, genetik farklılığın yanı sıra biyotik ve abiyotik faktörlerin sonucu olarak yorumlanabileceği belirtilmiştir. Temel belirleyici çevresel faktörler sıcaklık ve kuraklık olarak tanımlanmış. Sonuç olarak *P. lentiscus*'un kimyasal dağılımının coğrafi bölge ile ilişkili olduğu açıklanmıştır.

Hassan Amhamdi ve ark. (2009), Fas'ın doğusundan topladıkları *P. lentiscus* L.'nin uçucu yağlarını araştırmışlar. *P. lentiscus*'un yapraklarındaki uçucu yağları hidrodistilasyonla elde edip GC-FID ve GC-MS metoduyla analiz etmişler. Yağ içerisinde yaklaşık 104 bileşen tespit etmişler ve bunlardan yağın % 88.6'sını oluşturan 40 uçucu bileşeni tanımlanmıştır. Yağın ana bileşenleri mirsen (% 39.2), limonen (% 10.3), gurjunen (% 7.8), germakren (% 4.3), pinen (% 2.9), muurolen (% 2.9), humulen (% 2.6), epi-bisikloseskuifellandren (% 2.5), pinen (% 2.2) olarak rapor etmişlerdir. Ayrıca yaprak yağının ana bileşeninin monoterpenler olduğu tespit edilmiştir. Buldukları sonuçları başka ülkelerde sakız bitkisinin uçucu yağ kompozisyonu üzerine yapılan sonuçlarla karşılaştırıp aralarında nicel ve nitel farklılıklar olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu farklılıklara sebep olabilecek etkenleri gün uzunluğu, beslenme sıcaklık, coğrafya ve bitkinin genetik karakteri olarak sıralamışlardır.

A. C. Kaliora ve ark.(2007) yaptıkları çalışmada, Yunanistan'ın Sakız Adasında yetişen *P. lentiscus*'un reçinesinde bulunan basit fenolikleri saptamışlar.

D., Takhi ve ark. (2011), sakız ağacında aralarında bulunduğu bazı bitkilerin sekonder metabolitlerinin (fenolik bileşenler, alkaloidler ve uçucu yağlar) antibakteriyel ve antifungal potansiyelini değerlendirmişler. Cezayir de yetişen: *Datura stramonium*, *Peganum harmala*, *Ricinus communis*, *Nerium oleander*, *Citrullus colocynthis*, *Cleome arabica*, *Pistacia atlantica* ve *Pistacia lentiscus* bitkilerinin uçucu yağlarını ekstrakte etmişler. Disk diffüzyon yöntemini kullanarak bu metabolitlerin üç bakteri ve fungus suşu üzerindeki antibakteriyel ve antifungal etkisini test etmişlerdir. Çalışma sonucunda *P. lentiscus* ve *Pistacia atlantica*'dan elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal ve antifungal etki gösterdiğini gözlemlemişler. Alkaloidlerinde antifungal ve antibakteriyel etkilerini rapor etmişler fakat fenolik bileşenlerin herhangi bir antifungal ve antibakteriyel etkiye sahip olmadığını bildirmişlerdir.

Gardeli Chryssavgi ve ark.(2008) çalışmalarında, doğal yetişen aromatik iki bitkinin toplam fenolik içeriği, antioksidan aktivitesi ve uçucu yağlarının mevsimsel değişkenliğini incelemişler bu amaçla Yunanistan'ın Zakintos adasında yetişen *P. lentiscus* L. ile *Myrtus communis* L. bitkilerini araştırmışlardır. Çalışmada *P. lentiscus* L.'nin uçucu yağları hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilmiş ve GC-MS ile analizleri yapılmıştır. Çalışma sonucunda *P. lentiscus* L.'nin uçucu bileşen kompozisyonunun yüksek monoterpen hidrokarbon fraksiyonuyla (% 45.0–68.3) karakterize olduğunu ve monoterpen hidrokarbonun yüksek miktarlara çiçeklenme döneminde (mayıs) ulaştığını tespit etmişlerdir. Aynı zamanda bitkiden elde edilen ekstraktlardan, en iyi serbest radikal söndürme aktivitesinin $IC_{50}=5.09$ mg/L, en yüksek antioksidant kapasitenin 131 mmol/L ve en yüksek fenolik bileşik miktarının 588 mg gallik asit/g bitki materyali olduğunu rapor etmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bitkisel Materyallerin Hazırlanması

Bitki materyalimiz olan *P.lentiscus* L. İzmir, Çeşme yarım adasındaki Çiftlikköy’de bulunan sakız ağacı bahçelerinden toplanmıştır. Bitki materyalimizin sistematik teşhisi Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünden Prof. Dr. Ahmet Selçuk ERTEKİN tarafından yapılmıştır. *İn vitro* materyalin çoğaltımı Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarında yapılmıştır.

Çeşme Çiftlikköy de doğal olarak yetişen dişi sakız ağaçlarından tohumlar toplandı. Tohumlar toplandıktan sonra ekzokarpından arındırılıp gölge ve havadar bir ortamda kurutularak, kese kağıtları içerisinde *in vitro* çimlendirme çalışmalarına kadar +4°C’ta muhafaza edildi.

3.2. Besi Ortamının Hazırlanması, Yüze Sterilizasyonunda Kullanılan Kimyasallar ve Kullanılan Cihazlar

Kullanılan cihazlar Çizelge 3.1’de ve besi ortamlarının hazırlanmasında yüze sterilizasyonunda kullanılan kimyasallar Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.1: Çalışmalarda kullanılan cihazlar

Cihaz İsmi	Model	Firma	Ülke
Buzdolabı (+4°C)	BK 8450 T	Beko	Türkiye
Hassas Terazı	XT 320M	Precisa	--
pH Metre	211	Hanna	--
Manyetik Karıştırıcı	Are	Velp	İspanya
Etüv	0462637	J.R.Selecta	--
Fırın	6330N	Beko	Türkiye
Saf Su Cihazı	Arium 611	Sartorius	--
Laminar Akımlı Kabin	MH-100	Telstar	İspanya
Otoklav	CL-40M	Alp	Japonya

Çizelge 3.2: Besi ortamlarının hazırlanmasında ve yüzey sterilizasyonunda kullanılan kimyasallar

Kimyasal Adı	MS ortamındaki solüsyonların miktarı	Firma Adı	Katalog No
Etil alkol (%96)	--	Pro-Lab	Ticari
	--	Gamble	
Ticari çamaşır suyu (ACE)		Tüketim Malları	Ticari
		A:Ş	
Glisin	2 mg	Merck	K-27061401
Nikotinic asit	0,5 mg	Sigma	N-0765
Tiamin HCl	0,1 mg	Sigma	T-3902-25
Piridoksin HCl	0,5 mg	Sigma	P-8666
Myo-inositol	100 mg	Sigma	I-3011
Agar	6,4 gr	Sigma	A-1296
Sukroz	30 gr	Sigma	S-5391
IBA (Indolbütirik asit)	100 mg	Sigma	I-5386
BA (Benzil adenin)	100 mg	Sigma	B-3408-5
NH ₄ NO ₃ (Amonyum nitrat)	1650 mg	Sigma	A-3795
KNO ₃ (Potasyum nitrat)	1900 mg	Sigma	P- 8291
KH ₂ PO ₄ (Potasyum fosfat)	170 mg	Sigma	P-8416
CaCl ₂ .2H ₂ O (Kalsiyum klorür)	440 mg	Sigma	C-2536
MgSO ₄ .7H ₂ O (Magnezyum sülfat)	370 mg	Sigma	M-7774
H ₃ BO ₃ (Borik asit)	6,20 mg	Sigma	B-9645
KI (Potasyum iyodür)	0,83	Ridel-de Haen	03124
MnSO ₄ .4H ₂ O (Mangan sülfat)	16,9 mg	Sigma	M-7899
ZnSO ₄ .7H ₂ O (Çinko sülfat)	8,6 mg	Sigma	Z-1001
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O (Molibdik asit)	0,25 mg	Sigma	M-1651
CuSO ₄ .5H ₂ O (Bakır sülfat)	0,025 mg	Sigma	C-8027
CoCl ₂ .6H ₂ O (Kobalt klorür)	0,025 mg	Sigma	C 2911
FeSO ₄ .7H ₂ O (Demir sülfat)	28 mg	Sigma	F-8263
Na ₂ EDTA(Sodyum etilendiamintetraasetik asit)	37 mg	Sigma	E-6635
dH ₂ O	1000ml'e	--	--

Tohumların sterilizasyonu % 20'lik NaOCl (Sodyum hipoklorit)'de (v/v) 20 dk çalkalanarak yapılmıştır (Yıldırım (2012)). Yüze sterilizasyonu yapılan tohumlar içinde 30 g l^{-1} sakkaroz ve 1 mg l^{-1} IBA içeren 50 ml'lik MS besi ortamı içeren magentalarda kültüre alınmıştır. Her magenta'da altı tohum olmak üzere elli kap kültür hazırlanmıştır. Dört hafta sonunda *in vitro* çimlendirilen aksenik tohumların apikal uçları *in vitro* sürgün çoğaltımı için 0.5 mg l^{-1} BA içeren MS besi ortamında alt kültüre alınarak stok kültürler üretilmiştir.



Şekil 3.1: IBA içeren besi ortamında çimlenmeye bırakılmış tohumların görünüşü (A), BAP içeren besi ortamında çoğaltılan sürgünlerin görünüşü (B)

3.3. Lipit Ekstraksiyonu ve Yağ Asitlerinin Metil Esterlerine Dönüştürülmesi

In vivo ve *in vitro* materyallerden alınan örnekler oda sıcaklığında kurutuldu. Her örnekten 5 g alınıp iyice öğütüldü. Örneklerin lipidlerini ekstrakte etmek için oda sıcaklığında kloroform metanol (2:1, oranında) karışımında iki gün bekletildi (Folch 1957). Homojenat, Whatman no: 1 süzgeç kağıdı ile süzülmüştür. Aşırı doymamış yağ asitlerinin otooksidasyonunu önlemek için ekstraksiyon sistemine, kloroformda % 2 oranında hazırlanan bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) maddesinden 50 μl ilave edilmiştir. Sulu fazın ayrılması için, süzüntü, bir ayırma hunisine alınmıştır. Süzüntüye total hacminin 1/4'ü kadar % 0.88'lik KCl çözeltisi ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Berrak iki faz oluşuncaya kadar beklenmiştir. Faz ayırımından sonra alt tabakadaki kloroform fazı ikinci

bir ayırma hunisine alınarak hacminin 1/4'i kadar metanol-su (1:1 v/v) ile yıkanmış ve faz ayırımı için tekrar bekletilmiştir. İkinci faz ayırımından sonra alttaki kloroform tabakası temiz bir erlen içine alınarak susuz sodyum sülfat ile muamele edilerek, kloroform içinde bulunan eser miktardaki su uzaklaştırılmıştır. Total lipitlere 3 ml metanol ve 3-5 damla sülfürik asit damlatılarak 2 saat süreyle geri soğutucu altında 85°C'de ısıtılmıştır. Böylece yağ asitlerinin, yağ asiti metil esterlerine dönüşümü sağlanmıştır. Çözelti soğuduktan sonra, hekzan kullanılarak metil esterleri ekstrakte edilmiştir. Yağ asiti metil esterlerinin analizi için FID (alev iyonizasyon dedektörü) dedektörüne sahip gaz kromatografi aleti kullanılmıştır.

3.4. Yağ Asiti Analizinin Gaz Kromatografi Koşulları

Metil esterlerine dönüştürülen yağ örneklerinin yağ asitleri analizleri Shimadzu 2010 plus Gaz Kromatografisi (GC) cihazında, FID dedektör ve DB-23 kapiler kolon (Bonded % 50 cyanopropyl, 30 m x0.25 mm x0.25 µm, J&W Scientific, Folsom, CA, USA) kullanılarak yapılmıştır. Dedektör ve enjektör sıcaklığı: 250°C, Split–model 1/50. Gaz akış hızları: Taşıyıcı gaz olan helyum için: 0.5 ml/dk; hidrojen: 30 ml/dk; hava: 300 ml/dk. Kolon (fırın), sıcaklığı: 170°C'da bekleme süresi 2 dk beklendikten sonra dakikada: 2°C'lik artışla 210°C'ye ulaşılmıştır. Bu sıcaklıkta 13 dk bekletilmiştir. Örnek, alete 1 mikrolitre enjekte edilmiştir. Yağ asitlerinin teşhisinde, standart olarak yağ asitlerinin metil esterleri karışımı (Sigma-Aldrich Chemicals) kullanılmıştır. Yağ asitleri metil esterlerinin kromatogramları ve toplam yağ asitleri miktarları GC solution versiyon 4 bilgisayar programı ile elde edilmiştir. Analiz edilen örneklerin kromatogramındaki pikler, standarttaki bütün yağ asitlerinin metil esterlerinin alikonma zamanları ile karşılaştırılarak teşhis edilmiştir.

3.5. Verilerin değerlendirilmesi

Yağ asitleri yüzdelerinin karşılaştırılmasında SPSS 12 bilgisayar programı uygulanmıştır. Çalışmamızdan elde edilen bütün veriler üç tekrarın ortalamasından elde edilmiştir. Yağ asidi metil esterlerinin gaz kromatografik analizlerinde, her parametreye ait üçer numune ayrı ayrı enjekte edilerek aynı yağ asidine ait üç değer ortalaması alınmıştır. İki gruba ait yağ asiti yüzdelerinin karşılaştırılmasında *student's t* testi, ikiden fazla grubun karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farklılıklar ise TUKEY HSD testi ile belirlenmiştir. Yapılan istatistikler

sonucu, veriler $p < 0.05$ düzeyinde olduğu zaman farkların önemli olduğu kabul edilmiştir.

3.6. Uçucu Yağların Ekstraksiyonu

Uçucu yağların ekstraksiyonu için *in vivo* yetişen ve *in vitro* yetiştirilen sakız ağacının yaprak ve gövde bölümlerinden oda koşullarında kurutulmuş 100 g materyal hazırlanmıştır. Ekstraksiyon su distilasyonu yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Ekstraksiyon işlemi Clavenger cihazıyla yapılmıştır. Bitki materyali su ile birlikte Clavenger cihazının balon haznesine koyulur ve suyun kaynamasını takiben oluşan buharın soğutucu yüzeyde yoğunlaşması sonucu uçucu yağ ve su birlikte ayırma kabında toplanırlar. Yoğunluk farkından ötürü uçucu yağ suyun üzerinde yüzer ve böylece uçucu yağ elde edilmiş olur.

3.7. Uçucu Yağların Kimyasal Analizi

Örneklerin analizleri TÜBİTAK-MAM bünyesindeki gıda analiz laboratuvarında yapılmıştır. Analizlerde, Trace GC ultra GC ve Trace DSQ MS modelleri kullanılmıştır. HP 5MS (%5 Phenyl)-methylpolysiloxane (30m x0,25mmx0,25µm) kolonu bulunan cihazın çalışma şartlarında akış hızı 1ml/dk olan helyum gazı taşıyıcı olarak kullanılmıştır. Enjektör sıcaklığı 175°C, split akış hızı 1/50'dir. Dedektör sıcaklığı 200°C kolon sıcaklığı 60°C 1dk. ve 3°C/dk artışla 250°C'ye kadar ısıtılıp, bu sıcaklıkta 1dk tutulmuştur. Retention index (RI); aynı kolon ve çalışma şartlarında enjekte edilen C:13-C:18 homolog hidrokarbonların çıkış zamanları kullanılarak hesaplanmıştır. Uçucu yağlardaki bileşenlerin karakterizasyonu Wiley elektronik kütüphaneler kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Doğal Koşullarda Yetişen Erkek ve Dişi *P. lentiscus* L.'nin Değişik Bölümlerinin Yağ Asiti Kompozisyonları

Çalışmamızda doğal koşullarda yetişen erkek ve dişi *P.lentiscus* L.'nin kök, yaprak ve gövde kısımlarından karbon numarası C:14 ile C:20 arasında değişen on farklı yağ asiti saptandı (Çizelge 4.1). Her iki genotipinde farklı kısımlarında (kök, yaprak ve gövde) yağ asiti yüzdelerinde önemli farklılıklar olduğu belirlendi.

Dişi sakız ağacının kök, yaprak ve gövde bölümlerinde palmitik asit miktarı sırasıyla % 21.60, % 21.12 ve % 21.28 oranlarında bulunmuştur (Çizelge 4.1). Kök yaprak ve gövde bölümlerindeki toplam DYA miktarları % 23.90, % 26.79 ve % 23.01 oranlarındadır. Toplam DYA miktarını belirleyen en önemli yağ asiti palmitik asit olmuştur. Dişi sakız ağacının kök ve gövde bölümlerinde oleik asit miktarı sırasıyla % 19.76 ve % 19.43 oranlarıyla birbirlerine çok yakın değerlerde bulunmuştur. Yaprakta ise bu bileşenin miktarı % 8.03 ile kök ve gövdeye göre daha düşük değerde bulunmuştur. Toplam TDYA miktarı ise kök, yaprak ve gövde bölümlerinde sırasıyla % 20.74, % 11.64 ve % 19.70 oranlarında tespit edilmiştir. TDYA miktarlarını belirleyen en önemli yağ asiti oleik asit olmuştur. Linoleik asit miktarı kök ve gövde de sırasıyla % 45.09 ve % 45.25 oranlarıyla birbirlerine çok yakın çıkmıştır. Linoleik asit yaprakta % 24.77 oranıyla, kök ve gövdeye nispeten daha düşük bir değerde bulundu. Linolenik asit miktarı dişi sakız ağacının yaprağında kök ve gövdeye oranla daha yüksek oranda tespit edildi. Linolenik asit yaprakta % 36.78 oranında kök ve gövde de ise sırasıyla % 10.25 ve % 12.02 oranlarında çıkmıştır. Toplam ADYA'lerini linoleik ve linolenik asit oranları belirlemiştir.

Erkek sakız ağacının kök yaprak bölümlerinde palmitik asit miktarları neredeyse birbirlerinin aynı değerde olup sırasıyla % 19.27, % 19.29 oranlarında tespit edilmiştir. Gövde de ise, palmitik asit kök ve yaprağa oranla daha yüksek bir değer olan % 26.86 oranında bulunmuştur. Bazı böceklerin seksüel feromonların biyosentezinde aracı olan palmitik asit dişi ve erkek ağacın kök ve yaprak bölümlerinde neredeyse benzer oranlarda bulunmuştur. Erkek sakız ağacının gövdesindeki palmitik asit miktarı dişi sakız ağacının gövde kısmının palmitik asit miktarından yüksektir.

Erkek sakız ağacının kök yaprak ve gövde bölümlerinin toplam DYA yağ asiti miktarları sırasıyla % 21.68, % 26.51 ve % 31.40 oranlarında tespit edilmiştir. Toplam DYA oranlarını belirleyen majör yağ asiti palmitik asit olarak bulunmuştur. Oleik asit % 20.65 miktarıyla bitkinin en fazla kök kısmında tespit edilmiştir. Yaprak ve gövde kısımlarında ise oleik asit sırasıyla % 6.83 ve % 13.02 oranlarında bulunmaktadır. Erkek sakız ağacının yaprak ve gövde bölümlerinin oleik asit miktarı diş sakız ağacının yaprak ve gövde bölümlerinin oleik miktarlarından daha düşüktür. Oleik asit toplam TDYA miktarlarını belirleyen majör yağ asitidir. Linoleik asit erkek sakız ağacının kök ve yapraklarında sırasıyla % 47.00, % 28.87; gövdesinde ise % 40.78'dir. Erkek sakız ağacının kök ve gövde kısımlarının linoleik asit içeriğinin diş sakız ağacının kök ve gövde kısımlarından daha düşük değerlerde olduğu tespit edilmiştir.

Erkek sakız ağacının kök yaprak ve gövde kısımlarının linolenik asit içeriği ise sırasıyla % 9.94, % 35.57 ve % 14.78 oranlarında tespit edilmiştir. Erkek ve diş sakız ağaçlarının bölümlerinin linolenik asit miktarları birbirlerine yakın değerlerdedir. Erkek sakız ağacının toplam ADYA belirleyen majör yağ asitleri linoleik ve linolenik asitlerdir. Erkek ve diş ağacında majör yağ asitlerinin sıralaması ADYA, DYA ve TDYA'dır. Her iki genotipteki grupları arasında (kök, yaprak ve gövde) özel bazı yağ asitlerinde önemli farklılıklar belirlenmiştir. Diş ve erkek *P. lentiscus* L. ağaçlarının farklı organlarında doymuş yağ asitleri arasında palmitik, tekli doymamış yağ asitleri arasında oleik, çoklu doymamış yağ asitleri arasında ise linoleik ve linolenik asitler, yüzde dağılımda en çok bulunanlardır. Bu sonuçlara benzer sonuçlar Charef ve ark. (2008) tarafından sakız ağacının meyveleri için de rapor edilmiştir. Bu dağılım hem bitkilerin hem de hayvanların çoğu için geneldir. Her iki genotipte çok düşük miktarlarda da olsa miristik asit (C14:0), pentadekanoik asit (C15:0), heptadekanoik asit (C17:0), palmitoleik asit (C16:1n-7), stearik asit (C18:0), ve eikosenoik asit (C20:1n-9) belirlenmiştir. İki genotipinde yaprakları kök ve gövdelerinden daha yüksek miktarda miristik asit ve palmitoleik asit içermektedir.

Bitkilerde linolenik asit, kloroplast membranındaki polar yağlarının önemli bir bileşeni olduğu için (Simopoulos 2002) bu bileşenin her iki genotipin yapraktaki oranı, kök ve gövdeden oldukça yüksek değerlerde saptanmıştır.

Her iki genotipin farklı kısımlarında aşırı doymamış yağ asitleri içinde en çok linoleik ve linolenik asitler saptanmıştır. Benzer sonuçlar bazı bitki türlerinde de rapor edilmiştir (Saraçoğlu ve ark. 2012; Shafaghat 2011; Zhang ve ark. 2007; Li ve ark. 2005).

İnsanlar, kendileri için temel olan bu bileşenleri besin yoluyla bitkilerden sağlarlar. Besin yoluyla alınan linolenik asit, sağlık için önemli olan eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoikasite (DHA) sentezinde kullanılır.

Elde ettiğimiz veriler, her iki genotipte yaprakların kantitatif yağ asiti kompozisyonunun kök ve gövdeden farklı olduğunu göstermektedir. Bunun nedeni bu organların bitkideki yapısal ve fonksiyonel özelliklerinden kaynaklanabilir. Yapraklar fotosentez için klorofil içeren kloroplast bakımından çok zengindir. Kök ve gövde bitkinin toprakla bağlantısını sağlar ve bitkinin diğer bölümlerine gerekli besin ve depo maddelerini içerirler.

Çizelge 4.1: Dişi ve erkek sakız ağacının farklı organlarının yağ asiti bileşenleri

Yağ Asitleri**	Dişi bitki***			Erkek bitki***		
	Kök (%)	Yaprak (%)	Gövde (%)	Kök (%)	Yaprak (%)	Gövde (%)
C14:0	0.38 ± 0.03a	4.79 ± 0.42b	0.62 ± 0.04c	0.46 ± 0.05a	6.10 ± 0.50b	2.95 ± 0.16c
C15:0	0.17 ± 0.02	---	---	0.17 ± 0.02a	---	0.48 ± 0.04b
C16:0	21.60 ± 1.17a	21.12 ± 1.18a	21.28 ± 1.15a	19.27 ± 1.12a	19.29 ± 1.15a	26.86 ± 1.18b
C17:0	0.10 ± 0.01a	---	0.06 ± 0.01b	0.22 ± 0.02	---	---
C18:0	1.63 ± 0.22a	0.87 ± 0.06b	1.03 ± 0.11c	1.54 ± 0.28a	1.11 ± 0.11b	1.10 ± 0.10b
ΣDYA	23.90	26.79	23.01	21.68	26.51	31.40
C16:1n-7	0.53 ± 0.03a	3.61 ± 0.32b	0.26 ± 0.02c	0.31 ± 0.03a	2.20 ± 0.16b	---
C18:1n-9	19.76 ± 1.17a	8.03 ± 0.64b	19.43 ± 1.14a	20.65 ± 1.19a	6.83 ± 0.56b	13.02 ± 1.10c
C20:1n-9	0.45 ± 0.05	---	---	0.39 ± 0.04	---	---
ΣTDYA	20.74	11.64	19.70	21.37	9.04	13.02
C18:2n-6	45.09 ± 1.92a	24.77 ± 1.16b	45.25 ± 1.83a	47.00 ± 1.76a	28.87 ± 1.25b	40.78 ± 1.65c
C18:3n-3	10.25 ± 0.78a	36.78 ± 1.56b	12.02 ± 0.75a	9.94 ± 0.75a	35.57 ± 1.55b	14.78 ± 0.86c
ΣADYA	55.34	61.55	57.27	56.94	64.44	55.57

* Herbir değer için analizler üç defa tekrarlanmıştır.

** DYA: doymuş yağ asitleri, TDYA: tekli doymamış yağ asitleri, ve ADYA: çoklu doymamış yağ asitleri; C yağ asitlerindeki karbon atomlarının sayısı.

***Her satırda aynı harflerle belirlenen veriler $P > 0,05$ olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir.

4.2. *İn vitro* Yetişen Erkek *P.lentiscus* L.'nin Farklı Bölümlerinin Yağ Asiti Bileşenleri.

İn vitro yetişen erkek *P.lentiscus* L.'nin farklı kısımlarından karbon numarası C14:0 ile C18:0 arasında değişen sekiz farklı yağ asiti tanımlanmıştır (Çizelge 4.2). *İn vitro* yetişen *P.lentiscus* L.'nin yaprak ve gövde bölümlerinden elde edilen yağın majör bileşenleri doğal yetişmiş erkek ağacın gövde yaprak bölümlerinden elde edilen yağın majör bileşenleriyle aynı olup oleik, palmitik, linoleik ve linolenik asittir. *İn vitro* koşullarda rejenere edilen *P. lentiscus*'un yaprak ve gövde bölümlerinde palmitik asit miktarı sırasıyla % 23.10 ve % 31.94 oranlarında bulunmuştur. Toplam DYA miktarları yaprakta % 27.17 gövdede ise % 38.49 oranlarındadır. Toplam DYA miktarını belirleyen en önemli yağ asiti palmitik asit olmuştur. Oleik asit miktarı gövde bölümde (% 12.38) yaprakta (% 8.58) daha yüksek oranda tespit edilmiştir. Toplam TDYA miktarı yaprakta % 9.58 ve gövde de % 12.98 ile temsil edilmektedir (Çizelge 4.2). TDYA miktarlarını belirleyen en önemli yağ asiti oleik asit olmuştur. Koroner kalp rahatsızları ve kanseri önleme gibi faydalı fizyolojik ve besinsel etkilere sahip olan linoleik asit (Oomah 2000) yaprakta % 31.17, gövde ise % 32.55'lik oranlarıyla birbirilerine çok yakın değerlerde çıkmıştır. % 32.06'lik oranıyla yaprağın majör yağ asiti linolenik asittir. Bu yağ asiti besinsel değeriyle bilinmektedir (Corbett 2003). Linolenik asit gövde de ise % 15.95 oranında bulunmuştur. *İn vitro* şartlarda yetiştirilen sakız ağaçlarının gövde ve yaprak bölümlerinde ayrıca çok düşük miktarlarda miristik, pentadekanoik, palmitoleik, heptadekanoik ve stearik asit tespit edilmiştir. Doğal yetişen yaprak ve gövde bölümlerindeki linolenik ve linoleik yüzdelerine benzer miktarlar *in vitro* yetiştirilen yaprak ve gövde bölümlerinde de saptanmıştır (Çizelge 4.2). Bu sonuçlar, *in vitro* şartlarda yetiştirilen sakız ağaçlarının yaprak ve gövde bölümlerinin kantitatif yağ asiti içeriğinin linoleik asit dışında farklı olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.2: *In vitro* yetiştirilen *P.lentiscus* L.'nin yaprak ve gövde bölümlerinin yağ asiti bileşenleri

Yağ Asitleri**	Bitki bölümleri***	
	Yaprak (%)	Gövde (%)
C14:0	1.66 ± 0.22a	1.43 ± 0.20b
C15:0	0.28 ± 0.02a	0.36 ± 0.03a
C16:0	23.10 ± 1.17a	31.94 ± 1.33b
C18:0	2.12 ± 0.31a	4.74 ± 0.41b
ΣDYA	27.1719	38.4999
C16:1n-7	1.00 ± 0.08a	0.60 ± 0.05b
C18:1n-9	8.58 ± 0.66a	12.38 ± 0.98b
ΣTDYA	9.5826	12.9883
C18:2n-6	31.17 ± 1.32a	32.55 ± 1.35a
C18:3n-3	32.06 ± 1.35a	15.95 ± 0.95b
ΣADYA	63.2454	48.5118

* Herbir değer için analizler üç defa tekrarlanmıştır.

** DYA: doymuş yağ asitleri, TDYA: tekli doymamış yağ asitleri, ve ADYA: çoklu doymamış yağ asitleri; C yağ asitlerindeki karbon atomlarının sayısı.

***Her satırda aynı harflerle belirlenen veriler $P>0,05$ olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir.

4.3. Doğal yetişen dişi ve erkek *P. lentiscus* L.'nin gövde ve yaprak bölümlerinden elde edilen uçucu yağın bileşenleri

Bu çalışmada, erkek ve dişi sakız ağacının su distilasyonu yöntemiyle uçucu yağları elde edildi. Uçucu yağların kalitatif ve kantitatif kompozisyonları GC-MS ile analiz edildi. Bu bitkilere ait analiz sonuçları Çizelge 4.3.'te verilmiştir. Doğal olarak yetişen erkek sakız ağacının yaprağında 19, dişi sakız ağacının yaprağında ise 24 uçucu yağ tanımlanmıştır.

Çalışmamızda erkek sakız ağacının yaprağından elde edilen uçucu yağda majör bileşenler olarak germakren-D (% 33,38), trans karyofillen (% 14.12) ve δ -kardinen (% 8,34) tespit edilmiştir. Dişi sakız ağacının yaprağının majör bileşenleri ise 3-siklohekzen-1-ol, 4-metil-1 (% 30.7), limonen (% 10.7) ve trans karyofillen (% 10.25)'dir. Trans karyofillen hem erkek hem de dişi sakız ağacı yapraklarındaki ortak majör bileşendir. Erkek sakız ağacı yapraklarından α -mirsen ve α -humulen uçucu bileşenleri de önemli oranlarda bulunmaktadır. Dişi sakız ağacının yapraklarında ise, majör bileşenler dışında α -pinen, sabinen, γ -terpinen, karyofillen oksit ve p-menta-1-en-8-ol önemli oranlarda bulunan bileşenlerdir. Dişi ve erkek yaprağın ikisinde de

hekzanal, α -mirsen, 3-siklohekzen-1-ol, 4-metil-1, p-menta-1-en-8-ol, α -kopaen, trans karyofillen, α -humulen, germakren-D, α -muurolen, δ -kardinen, karyofillen oksit, kubenol ve α -kadinol uçucu bileşenleri ortaktır. Erkek sakız ağacı gövdesinde majör uçucu bileşenler α -mirsen (% 11.75), trans karyofillen (% 12.61) ve germakren-D (% 12.66), dişi sakız ağacı gövdesinin, majör uçucu bileşenleri δ -kardinen (% 12.11), α -pinen (% 7.08) ve limonen (% 6.96)'dir. Her iki genotipin gövde kısımlarının majör uçucu bileşenlerinden germakren-D, δ -kardinen ve karyofillen oksitin ortak olduğu bulunmuştur. Hem erkek hem de dişi bitkinin yaprak ve gövdelerinden elde edilen uçucu yağları genel anlamda kalitatif ve kantitatif olarak değişiklik göstermektedir. Aynı popülasyonda bulunan ve aynı lokaliteleri paylaşan bu iki genotipin uçucu yağ kompozisyonu benzerlikler gösterse de, her iki genotip arasında ana bileşenler bakımından önemli bir farklılık görüldüğü tespit edilmiştir.

Zrira ve ark. (2003) sakız ağacının yaprak ve dallarında elde ettikleri uçucu yağın majör bileşenleri α -pinen, β -mirsen, limonen, terpinen-4-ol, bornil asetat ve karyofillen oksit olmak üzere 45 çeşit uçucu yağ tanımlamışlardır. Hassan Amhamdi ve ark. (2009)'nın çalışmalarında yaprakta 40 çeşit uçucu yağ tanımlanmıştır. Bunlardan mirsen, limonen, β -gurjunen, germakren, β -pinen, muurolen, α -humulen, epi-bisikloeskuifellandren ve α -pinen majör bileşenler olarak saptanmıştır. Samir Ait Said ve ark (2011) benzer çalışmalarında yaprakta majör bileşenler olarak β -karyofillen, δ -kardinen, α -pinen, β -karyofillen, δ -kardinen, karyofillen oksit, δ -kardinen, kubebol ve β -bisaboleni tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.3: Doğal yetişen dişi ve erkek *P. lentiscus* L.'nin gövde ve yaprağının uçucu yağ bileşenleri

Bileşenler	Yüzde (%)					
	RT	RI	Erkek Yaprak	Erkek Gövde	Dişi Yaprak	Dişi Gövde
1H-pirol, 1-metil	2.33	873	0.55	1.02	--	0.47
Hekzenal	2.98	889	1.28	--	0.27	--
2-Hekzenal	3.90	911	3.22	--	--	--
α -Pinen	5.59	953	--	2.53	9,07	7.08
Sabinen	6.74	981	--	1.12	6.02	6.51
β -Pinen	6.94	985	--	0.51	--	--
α -Mirsen	7.21	992	7.45	11.75	0.78	2.68
L-Fellandren	7.88	1008	--	--	0.38	--
α -Terpinen	8.22	1017	--	--	2.78	0.35
Limonen	8.67	1027	--	1.45	10,7	6.96
γ -Terpinen	9.75	1054	--	--	4.69	0.77
α -Terpinolen	10.79	1079	--	--	1.03	--
2-Nonanon	11.14	1088	--	--	--	0.22
Verbenol	11.53	1097	1.25	1.42	--	0.79
Isopinokarveol	13.32	1141	--	--	0.76	0.84
p-Menta-1,5-dien-8-ol	14.76	1176	--	--	--	0.34
3-Siklohekzen-1-ol,4-metil-1	15.01	1182	0.46	1.60	30,7	6.50
P-ment-1-en-8-ol	15.72	1199	2.55	--	4.37	1.03
D-Verbenon	16.33	1214	--	--	--	0.23
Karveol 1	16.78	1225	--	--	--	0.36
D-Karvon	17.95	1253	--	--	0.39	0.49
2-Undekanon	19.78	1298	0.45	0.56	--	0.87
α -Kubenen	21.77	1346	--	--	--	1.16
α -Terpinil asetat	22.04	1353	0.53	--	--	--
α -Kopaen	23.05	1377	0.83	0.69	0.31	1.03
β -Kubeben	23.58	1390	--	--	--	0.62
Trans karyofillen	24.94	1423	14.12	12.61	10.25	3.54
α -Humulen	26.49	1461	5.41	3.53	1.74	2.71
γ -Muurolen	27.26	1480	--	2.28	0.81	3.61
Germakren-D	27.54	1487	33.38	12.66	3.52	6.51
Seskifellandren	28.01	1498	--	0.80	--	1.29
α -Muurolen	28.25	1504	3.51	2.26	0.58	3.19
δ -Kardinen	29.04	1523	8.34	9.16	1.79	12.11
Epizonaren	29.24	1528	--	--	0.43	--
Kadine-1,4-dien	29.66	1538	--	--	--	0.57
Kadala-1(10),3,8-triene	30.10	1549	--	--	--	0.26
Muurolan-3,9(11)-diene-10-peroxy	30.93	1569	--	--	--	0.42
Karyofillen oksit	31.73	1589	1.85	8.96	3.30	6.52
Salvial-4(14)-en-1-on	32.14	1599	--	0.76	--	0.93
Humulen epoksit II	32.83	1615	--	0.94	--	1.64
Sikloizolongifolen, 8-hidroksi-,endo-	33.14	1623	--	0.68	--	1.03
Kubenol	33.49	1631	1.46	2.19	0.68	3.01
Tau-Murolol	34.20	1649	4.85	5.08	--	--
α -kadinol	34.63	1659	4.85	6.25	1.14	3.71
Sembren	44.43	1898	--	3.31	--	0.99
Tanımlanan bileşenler (%)			96.34	94.12	96.49	91.34
Monoterpen hidrokarbonlar			7.45	17.36	36.81	25.19
Oksitlenmiş monoterpenler			4.33	1.42	4.76	3.24
Sesquiterpen hidrokarbonlar			78.6	46.86	19.43	40.8
Oksitlenmiş sesquiterpenler			11.55	17.49	4.44	12.8
Diğer bileşenler			5.96	6.49	30.97	9.31

(RI - Retention index: Alıkonma indeksi; RT - Retention time: Alıkonma zamanı).

4.4. *İn vitro* Ortamda Yetiştirilen *P. lentiscus* L.'nin Gövde ve Yaprığının Uçucu Yağ Bileşenleri

İn vitro ortamda yetiştirilen sakız ağacının yapraklarında toplam 16 çeşit uçucu bileşen tespit edilmiştir. Gövde bölümünde ise 3 çeşit uçucu bileşen tespit edilmiştir. *İn vitro* ortamda yetiştirilen sakız ağacının yaprağındaki uçucu yağın majör bileşenleri delta 3-karen (% 16.98), trans karyofillen (% 14.29) ve 3(10)-karen-4-ol,trans (% 11.58)'dir. Gövde kısmından elde edilen uçucu bileşenleri ise α -pinen (% 31,08), α -mirsen (% 33.01) ve delta 3-karen (% 35.91)'dir. Doğal ortamda yetiştirilen dişi ve erkek sakız ağacının yapraklarında toplamda 43 uçucu bileşen bulunurken *in vitro* ortamda yetiştirilen sakız ağacının yapraklarında 16 çeşit uçucu bileşen tespit edilmiştir.

Doğal ortamda yetiştirilen erkek sakız ağacının yaprağından elde edilen uçucu yağda majör bileşenler olarak germakren-D (% 33.38), trans karyofillen (% 14.12) ve δ -kardinen (% 8.34) iken dişi sakız ağacının yaprağının majör bileşenleri ise 3-siklohekzen-1-ol, 4-metil-1 (% 30.7), limonen (% 10.7) ve trans karyofillen (% 10.25) olarak bulunmuştur. *İn vivo* şartlarda yetişen erkek sakız ağacının gövde bölümünün majör uçucu bileşenleri; α -mirsen (% 11.75), trans karyofillen (% 12.61) ve germakren-D (% 12.66)'dir. *İn vivo* şartlarda yetişen dişi sakız ağacının gövdesinin majör bileşenleri; δ -kardinen (% 12.11), α -pinen (% 7.08) ve limonen (% 6.96)'dir. *İn vivo* ve *in vitro* ortamda yetiştirilen yaprak eksplantlarında ortak majör bileşen trans karyofillen iken gövde eksplantlarındaki ortak majör bileşen ise α -mirsen ile α -pinen'dir. Aynı içerikli besi ortamında alt kültürlenerek çoğaltılan yaprak ve gövdenin uçucu bileşen sayısının daha az olması, her ne kadar *in vitro* ortam üzerinde yetiştirilen bitkiler için, kültür besi ortamı stres kaynağı olarak düşünülse de, eksplantların aynı kültür besi ortamına alışmasından dolayı uçucu bileşen sayısının daha az olmasına neden olabilir. *İn vivo* ortamdaki sakız ağacı eksplantlarında uçucu bileşen sayısının fazla olması ise bitkilerin hem biyotik hem de abiyotik stres faktörleri altında olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu yorumların geçerli olabilmesi için *in vitro* ortamda (normal doku kültürü ortamına) çoğaltılan materyallere değişik stres faktörleri uygulanarak yukarıdaki spekülatif yorumlarda ispatlanabilir veya çürütülebilir. Literatürde *in vivo* gelişen materyal üzerine rapor edilen majör bileşenlerden bazılarının bu çalışma kapsamında gözlenen uçucu bileşenler ile benzerlik göstermesi, uçucu bileşenlerin üretiminde biyoteknolojik yöntemlerin kullanılabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.4: *In vitro* ortamda yetiştirilen *P. lentiscus L.*'nin gövde ve yaprağının uçucu yağ bileşenleri

Bileşenler	Yüzde (%)			
	RT	RI	Yaprak	Gövde
1H-Pirol, 1-metil	2.33	873	1.41	--
Hekzanal	2.98	889	1.53	--
α -Pinen	5.59	953	2.22	31.08
α -Mirsen	7.21	992	7.92	33.01
Delta 3-karen	7.89	1009	16,98	35.91
Verbenol	11.53	1097	3.03	--
Isopinokarveol	13.32	1141	1.87	--
P-Menta-1,5-dien-8-ol	14.76	1176	2.38	--
Limonen-4-ol	14.96	1181	3.57	--
3(10)-Karen-4-ol,trans	15,47	1193	11.58	--
Ökarvon	16.50	1218	2.92	--
Trans karyofillen	24,94	1423	14.29	--
α -Humulen	26.49	1461	2.18	--
γ -Muurolen	27.26	1480	3.38	--
α -Muurolen	28.25	1504	2.83	--
α -Kadinol	34.63	1659	1.34	--
Tanımlanan bileşenler (%)			79.43	100
Monoterpen hidrokarbonlar			43.49	100
Oksitlenmiş monoterpenler			8.98	
Sesquiterpen hidrokarbonlar			22.68	
Oksitlenmiş sesquiterpenler			1.34	
Diğer bileşenler			2.94	

(*RI*: Retention index: Alikonma indeksi; *RT*: Retention time: Alikonma zamanı).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda doğal yetişen ve *in vitro* ortamda yetiştirilen sakız ağaçlarının yağ asiti ve uçucu yağ içerikleri belirlendi. Yağ asiti analizlerinde doğal ortamda yetişmiş dişi ve erkek bitkilerin kök gövde ve yaprak kısımlarında cinsiyete bağlı olarak yağ asiti içeriklerinde önemli bir farklılık tespit edilmemiştir. Bununla birlikte kök gövde ve yaprak kısımlarının bitkideki fonksiyonlarına bağlı olarak yağ asiti içeriklerinin değiştiği saptanmıştır. *In vivo* ve *in vitro* yetiştirilen bitkilerin majör yağ asiti bileşenlerinin palmitik, linoleik ve linolenik asit olduğu tespit edilmiştir. Yağ asiti içeriklerinde belirgin bir farklılık oluşmamasının temel nedeni primer metabolik yolla sentezi gerçekleştirilen yağ asitlerinin bitkilerdeki tüm hücrelerde büyüme için gerekli olmasındandır (Ohlroggeav ve Browse 1995).

In vivo ortamda yetiştirilen sakız ağacından elde edilen uçucu yağda *in vitro* yetiştirilene göre daha fazla sayıda uçucu bileşen elde edildi. *In vivo* ve *in vitro* yetişen sakız ağaçlarının uçucu yağ içeriklerini büyük oranda sekonder metabolitlerin terpenler sınıfına ait olan monoterpenler ile seskiterpenlerden oluşturmaktadır. Monoterpenler tozlayıcıları cezbedici ve bitkilere saldıran organizmalara karşı onları korumada toksik etki gösteren uçucu bileşenlerdir. Seksiterpenlerin ise böcek çekici, beslenmeyi engelleyici ve fitoaleksin fonksiyonları bulunmaktadır. Uçucu yağların bitkilerde sentezlenmelerinin genel nedenleri ise herbivorlara, mikrobiyal enfeksiyonlara, UV ışınlarına karşı koruma sağlarlar. Ayrıca uçucu yağlar tozlaşmada cezbedici, allopatik ajan ve baklagillerin kök nodüllerinde azot fiksasyonu için sinyal molekülleri olarak görev yaparlar (Crozier ve ark. 2006). *In vivo* ortamda yetişen sakız ağaçları uçucu yağ sentezi için gerekli koşullara maruz kaldıklarından dolayı uçucu yağ içerikleri *in vitro* yetiştirilenlere göre daha zengin çıkmıştır. *In vitro* yetiştirilen bitkiler büyüme odasında, besi ortamında yetiştirildikleri için uçucu yağların bitkilerde sentezlenmesine neden olan faktörlerin çoğundan izole olduklarından dolayı az sayıda uçucu bileşen sentezlemişlerdir. Sentezlenen uçucu bileşenlerin içerikleri gerekli olan stres faktörleri kullanılarak zenginleştirilebilir.

Çalışmamızda, canlıların birincil (primer) metabolitlerinden olan sabit yağların *in vitro* ortamda yetişen sakız ağaçlarında da *in vivo* yetişen sakız ağaçlarında olduğu gibi içeriği önemli bir değişime uğramadan sentezlendiğini tespit ettik. Bu sonuç sakız

ağacı gibi zengin kimyasal bileşenlere sahip bitkilerin farklı organlarından faydalı kimyasalların *in vitro* ortamlarda bitki doku kültürü teknikleri kullanılarak güvenli bir şekilde yılın bütün dönemlerinde üretilbileceğini göstermiştir.

In vivo ortamda yetişen sakız ağacının ikincil metabolitlerinden (uçucu yağlarının) bazılarının *in vitro* ortamda yetiştirilenlerden de sentezlendiğini, sentezlenmeyenlerin ise gerekli stres koşulları sağlandığı zaman elde edilebileceğine dair indikatör bilgiler tespit edilmiştir.

Yapılacak olan daha ileri düzey biyoteknolojik çalışmalarla (kallus, hücre süspansiyon kültürü ve tek hücreli hatlardan itibaren) geliştirilecek olan biyoreaktör sistemlerinde, sağlık ve gıda sektörünün ihtiyaç duyduğu sekonder bileşikler; öncül maddeler ve elisitörler kullanarak manipüle edilecek olan kültür besi ortamlarında yoğun bir şekilde üretilbilecektir.

6. KAYNAKLAR

Abdelwahed A., Bouhleb I., Skandrani I., Valenti K., Kadri M., Guiraud P., Steiman R., Mariotte AM., Ghedira K., Laporte F., Dijoux-Franca MG., Chekir-Ghedira L. 2007. Study of anti mutagenic and antioxidant activities of gallic acid and 1,2,3,4, 6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus* confirmation by microarray expression profiling. Chem. Biol. Interact., vol.165, no.1, p.1–13.

Acar İ. 1998. (*Pistacia lentiscus* L. var. Chia.) Sakızı üretiminin geliştirilmesine esas olmak üzere sakızın fiziko-kimyasal yönden incelenmesi. Ormançılık Araştırma Ens. Teknik Rap.Ser., no 35.

Ak B.E., Parlakçı H. 2009. *Pistacia lentiscus* in the mediterranean region in Turkey. Acta Hort., no.818, p.77-82.

Al-Habbal M.J., Al-Habbal Z., Huwez F.U. 1984. A double-blind controlled clinical trial of mastic and placebo in the treatment of duodenal ulcer. Clin. Exp. Pharmacol P., vol.11, no.5, p.541-544.

AL-Saghir M. G. 2009. Evolutionary history of the genus *Pistacia* (Anacardiaceae). *Int. J. Bot.*, vol.5, no.3, p.255-257.

AL-Saghir M. G., Porter D. M. 2012. Taxonomic revision of the genus *Pistacia* L. (Anacardiaceae). *AJPS*, vol.3, no.1, p.12-32.

AL-Saghir, M. G. 2010. Phylogenetic analysis of the genus *Pistacia* L. (Anacardiaceae) based on morphological data. *Asian J. Plant Sci.*, vol.9, no.1, p.28-35.

Al-Said M.S., Ageel A.M., Parmar N.S., Tariq M. 1986. Evaluation of mastic, a crude drug obtained from *Pistacia lentiscus* for gastric and duodenal antiulcer activity. *J. Ethnopharmacol.*, vol.15, no.3, p.271-278.

Amhamdi H., Aouinti F., Wathelet J. P., and Elbachiri A. 2009. Chemical composition of the essential oil of *Pistacia lentiscu* L. from Eastern Morocco. *Rec. Nat. Prod.*, vol.3, issue 2, p.90-95.

Andrikopoulos N.K., Kaliora A.C., Assimopoulou A.N., Papapeorgiou V.P. 2003. Biological activity of some naturally occurring resins, gums and pigments against *in vitro* LDL oxidation. *Phytother. Res.*, vol.17, no.5, p.501–507.

Anonim 2002. The Possible Benefits of Mastica, a Dietary Supplement. Allergy Research Group. 30806 Santana Street; CA 94544.

6. KAYNAKLAR

Assimopoulou A.N., Papageorgiou V.P. 2005. GC-MS analysis of penta- and tetracyclic triterpenes from resins of *Pistacia* species. Part I. *Pistacia lentiscus* var. *chia*. Biomed Chromatogr., vol.19, no.4, p.285–311.

Ayfer M. 1988. Antepfıstığı ve cevizde aşı teknikleri ve sorunları. Doktora Tezi, A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü.

Bailey L.H. (1963). The Standard Cyclopedia Of Horticulture.

Balan KV., Prince J., Han Z., Dimas K., Cladaras M., Wyche GH., Sitaras NM., Pantazis P. 2007. Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated *in vitro* with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus* L. var. *chia*. Phyto Med., vol.14, no.4, p.263–272.

Barghchi M and Alderson PG. 1983. *In vitro* propagation of *Pistacia vera* L. from seedling tissues. J Hort. Sci. 58:435–445.

Barghchi M. 1982. *In vitro* propagation of *Pistacia* species. Ph.D. Thesis, Nottingham University, UK.

Baydar H. 2005. Yayla kekiği (*Origanum minutiflorum* O. Schwarz et. P. H. Davis)'nde farklı toplama zamanlarının uçucu yağ içeriği ve uçucu yağ bileşenleri üzerine etkisi. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 18(2):175-178.

Baysu N. 1979. Temel Biyokimya. F.Ü. Veteriner Fakültesi Yayınları. Elazığ.

Bebb J.R., Bailey-Flitter N., Ala'Aldeen D., Atherton J.C. 2003. Mastic gum has no effect on *Helicobacter pylori* load *in vivo*. J. Antimicrob. Chemother., vol.52, no.3, p.522–523.

Benhammou N., Bekkara F. A., Panovska T. K. 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. Afr. J. Pharm. Pharmacol., vol.2, no.2, p.22-281.

Bentley RY., Trimen H. 1980. Medicinal plants. In Gardeli et al. (eds) Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. Food Chem, p.1-11.

Bilgin D.C. 2009. Hürriyet Gazetesi, <http://hurarsiv.hurriyet.com.tr/goster/haber.aspx?id=12192244&tarikh=2009-08-01>.

Boztok Ş. 1999. Sakız Yetiştiriciliği Ege Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi, Çeşme Doğa ve Hayvan Severler ve Koruyanlar Derneği Yerel Gündem -21 İzmir, 15 s.

Boztok Ş., Zeybek U. 2004. *Pistacia* cinsine dahil bazı doğal bitkilerin sakız reçinesi kalitesi açısından irdelenmesi, gıda ve ilaç sanayinde değerlendirilmesi üzerine araştırma. Ege Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi. İZMİR.

Briksin D.P. 2000. Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. *Plant Physiol*, vol.124, no.2, p.507–514.

Browicz F.A. 1987. *Pistacia lentiscus* L. var. Chia (*Anacardiaceae*) on Chios island. *Pl. Sys. Evol.*, vol.155, no.1-4, p.189-195.

Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Int J Food Microbiol*, vol.94, issue 3, p.223-253.

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

Ceylan A. 1983. *Tıbbi Bitkiler-II*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını No:481, Bornova-İzmir.

Charef M., Yousfi M., Saidi M., Stocker P. 2008. Determination of the fatty Acid composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* seeds growing in Algeria. *J Am Oil Chem Soc*, vol.85, issue 10, p.921-924.

Chryssavgi G., Vassiliki P., Athanasios M., Kibouris T., Komaitis M. 2008. Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxydant capacity of methanolic extracts. *Food Chem*, vol.107, issue 3, p. 1120-1130.

Corbett P. 2003. It is time for an oil change! Opportunities for high oleic vegetables oils. *Inform* 14: 480 – 481.

Couladis M., Özcan M., Tzakou O., Akgül A. 2002. Menengiç (*Pistacia terebinthus* L.) ağacının değişik organlarında uçucu yağ bileşimi. 14. Bitkisel ilaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler (29-31 Mayıs, Eskişehir): 240-245. ISBN 975-94077-2-8.

Crozier A., Clifford M. N., Ashihara H. 2006. *Plant Secondary Metabolites*. P.59,78.

Çağlar S., Kaşka N. 1992. Senir (İçel) yöresindeki melengiçlerin antepfistıklarına çevrilmesi ve mevcut antepfistiği ağaçlarında yapay tozlama ile verimliliğin artırılması üzerine araştırmalar. Türkiye I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. 13-16 Ekim 1992, 59-62.

Davey M., Anthony P. 2010. *Plant cell culture essential methods*, Wiley-Blackwell.

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 G.V., Kaliora A.C., Psarras S., Chiou A., Mylona A., Papadopoulos N.G., Andrikopoulos N.K. 2004. Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and down regulation of CD36 mRNA expression. *Atherosclerosis* vol.174, no.2, p.293–303.

Derwich E., Manar A., Benziane Z. and Boukir A. 2010. GC/MS Analysis and *in vitro* anti bacteriyal activity of the essential oil isolated from leaf of *Pistacia lentiscus* growing in Morocco. *World Appl. Sci. J.*, vol.8, no.10, p.1267-1276.

Djerrou Z., Maameri Z., Hamdi-Pacha Y., Serakta M., Riachi F., Djaalab H. and Boukeloua A. 2009. Effect of virgin fatty oil of *Pistacia lentiscus* on experimental burn wound's healing in rabbits. *Afr. J. Trad.*, vol.7, issue 3, p.258-263.

Dorman H.J.D., and Deans S.G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol*, vol.88, issue 2, p.308-316.

Driver J., Rodriguez R., Kuniyuki A. H. 1984. *In vitro* propagation of paradox walnut (*Juglans hindsii* x *Juglans regia*) rootstock. *Hort Science*, 19: 507-509.

Evans W.C. 1989. Trease and evans pharmacognosy, 13th Edition, London, Bailliere Tindal, p. 421-429.

Fascella G, Airo M, Zizzo GV, Ruffoni B. 2004. Prime osservazioni sulla coltivazione *in vitro* di Lentisco (*Pistacia lentiscus* L.). *Italus Hortus*, vol.11(4), p.141-143 (in Italian).

Folch J., Lees M., Sladane-Stanley G.H.A. 1957. Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226: 497-509.

Gannoun S, Lionakis SM, Gerasopoulos D. 1995. Aspects of *in vitro* culture of *Pistacia terebinthus* and *Pistacia vera*. *Acta Hort.* 419:201–206.

Gorga C. 1998. A new selected comments on lipids, *Qual. Assur. Seafood Appendix 1*, 245

Grassmann J. and Elstner E.F. 2003. Essential oils/properties and uses. *Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition* (Elsevier Science Ltd.): 2177-2184.

Gürcan Ü. 2001. 'Yağ Rafinasyonunda Oluşan trans yağ asitlerinin incelenmesi'. Y.L.T. S.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü. Konya.

He M.L., Yuan H.Q., Jiang A.L., Gong A.Y., Chen W.W., Zhang P.J., Young C.Y., Zhang J.Y. 2006. Gum mastic inhibits the expression and function of the androgen receptor in prostate cancer cells. *Cancer* vol.106, no.12, p.2547–2555.

- Huwez F.U., Thirlwell D., Cockayne A., Ala'Aldeen D.A. 1998. Mastic gum kills *Helicobacter pylori*. N. Engl. J. Med., vol.339, no.26, p.357-363.
- İsfendiyaroğlu M. 1994. Bazı dış mekan süs bitkileri yeşil çeliklerinin köklenmelerine çeşitli faktörlerin etkileri üzerine araştırmalar. E.Ü.Z.F. Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, s: 59.
- 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., vol.40, No.1, p.25-32.
- İşcan G., Demirci F., Kırimer N., Kürkçüoğlu M., Başer K.H.C., Kıvanç M. 2002. Bazı *Umbelliferae* türlerinden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyel etkileri. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 29-31 Mayıs 2002, Eskişehir, Eds. K.H.C.Başer ve N.Kırimer.
- Jordano P. 1988. Polinizacion y variabilidad de la produccion de semillas en *Pistacia lentiscus* (L) (*Anacardiaceae*). Anales Jará. Bot. Madrid, vol.45, no.1, p.213-231.
- Jordano P. 1989. Pre-dispersal biology of *Pistacia lentiscus* (*Anacardiaceae*): cumulative effects on seed removal by birds *Oikos*. 55: 375-386.
- Kafkas S., Kafkas E., Perl-Treves R. 2002. Morphological diversity and a germplasm survey of wild *Pistacia* species in Turkey. *Genet. Resour. Crop Ev.*, vol.49, no.3, p.261-270.
- Kaliora A. C., Mylona A., Chiou A., Petsios D. G. & Andrikopoulos N. K. 2007. Detection and identification of simple phenolics in *Pistacia lentiscus* resin. *J liq chromatogr R T*, Vol. 27, No. 2, pp. 289–300.
- Kaliora A.C., Stathopoulou M.G., Triantafillidis J.K., Dedoussis G.V., Andrikopoulos N. K. 2007. Chios mastic treatment of patients with active Crohn's disease. *World J.Gastroenterol.*, vol.13, no.5, p.748–753.
- Kalkışım Ö. 1997. Kızılcıkta (*Cornus mas* L.) aşı kaynaşması ile çelik köklenmesinin anatomik ve histolojik olarak incelenmesi üzerine bir araştırma. Doktora tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Kaşka N., Ak B. E., Nikpeyma Y. 1990. *Pistacia* cinsinin değişik türlerinde yonga, yama durgun ve sürgün T göz aşılarının uygulanması, 1. Antepfıstığı Sempozyumu, 59-67.
- Kılıç A. 2008. Uçucu yağ elde etme yöntemleri. Bartın Orman Fakültesi Dergisi, cilt 10, sayı 13, sayfa 37-45.

Le Floc'h E., Nabli M.A. 1983. Programme flore et végétation Tunisiennes. In: Contribution à une étude ethnobotanique de la flore Tunisienne. Tunis. Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique, imprimerie officielle de la république Tunisienne, p. 144–145.

Li XQ., Song AH., Li W. 2005. Analysis of the fatty acid from *Bupleurum chinense* DC in China by GC-MS and GC-FID. Chem Pharm Bull, vol.53, issue 12, p.1613-1617.

Lila M.A. 2005. Valuable secondary products from *in vitro* culture. Chapter 24: Plant Development and Biotechnology. CRC Pres, p:285–289.

Linnaeus C. 1753. Species Plantarum. Laurentii Salvii, vol.2, no.1753, p.1025-1026.

Lloyd G., McCown B. 1980. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. Comb. Proc. Int. Plant Prop. Soc., vol.30, p. 421-427.

Loughlin M.F., Ala'Aldeen D.A., Jenks P.J. 2003. Monotherapy with mastic does not eradicate *Helicobacter pylori* infection from mice. J. Antimicrob. Chemother., vol.51, no.2, p.367–371.

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, vol.55, no.1, p.86–93.

Magiatis P., Melliou E., Skaltsounid AL., Chinou IB., Mitaku S. 1999. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* var. chia. Plant Med., vol.65, p.749-752.

Marone P., Bono L., Leone E., Bona S., Carretto E., Perversi L. 2001. Bactericidal activity of *Pistacia lentiscus* mastic gum against *Helicobacter pylori*. J. Chemother., vol.13, no.6, p.611–614.

Mascarello C., Fascella G., Zizzo G.V., Mantovani E. and Ruffoni B. 2007. *In vivo* and *in vitro* propagation of *Pistacia lentiscus* L. Acta Hort., 764: 299-305.

Mattia C., Bischetti G. B., Gentile F. 2005. Biotechnical characteristics of root systems of typical Mediterranean species. Plant Soil., vol.278, no.1-2, p.23-32.

Moussaieff A., Fride E., Amar Z., Lev E., Steinberg D., Gallily R., Mechoulam R. 2005. The Jerusalem Balsam: from the Franciscan Monastery in the old city of Jerusalem to Martindale 33. J Ethnopharmacol, vol.101, no.1-3, p.16-26.

Moussouris Y., Regato P. 1999. An overview of non timber forest products in the Mediterranean region. FAO on-line publications, <http://www.fao.org/docrep/x5593e/x5593e03.htm> (Erişim tarihi: 3.5.2011).

Mulas M., Albentino P., Brigaglia N. 1998. Evaluation of *Pistacia lentiscus* L. genetic resources to select ecotypes having high efficiency in the colonisation of marginal lands. *Acta Hort.*, 457: 279-286.

Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, vol.15, issue 3, p.473-497.

Nejib M. 2011. GC/MS Chemical Analysis of *Pistashia lentiscus* fatty oil from the north of Tunisia. *International Journal of Pharm Tech Research*, vol.3, issue 4, pp.2245-2248.

Nicotra A.B., Chazdon R. L., Montgomery R. A. 2003. Sexes show contrasting patterns of leaf and crown carbon gain in a dioecious rainforest shrub. *Am. J. Bot.*, vol.90, no.3, p.347-355.

Ohlroggeav J. and Browse J. 1995. Lipid Biosynthesis. *Plant Cell*, July; 7(7), p.957–970.

Okay Y. 1994. Antepfistiğinde (*P. vera* L.) sakız salgısı (mastika) ile aşı tutumu arasındaki ilişkiler, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı.

Onay A. 2000 Micropropagation of pistachio from mature trees. *Plant Cell, Tissue Organ Cult.*, vol.60, issue 2, p.159-163

Onay A. 2013. Sakız ağacının (*Pistacia lentiscus* L.) juvenil ve olgun eksplantlarının mikroçoğaltımı, kriyoprezervasyonu ve genetik kararlılığının belirlenmesi. Proje no:110T941.

Oomah B.D., Ladet S., Godfrey D.V., Liang J., Girard B. 2000. Characteristics of raspberry (*Rubus idaeus* L.) seed oil. *Food Chem*, vol.69, issue 2, p.187- 193.

Osborn A.E. 1996. Preformed antimicrobial compounds and plant defense against fungal attack. *Plant Cell*, vol.8, p.1821–1831.

Ozden-Tokatli Y, Ozudogru EA, Akcin A. 2005. *In vitro* response of pistachio nodal explants to silver nitrate. *Sci. Hort.*, vol.106, issue 3, p.415-426.

Özel N. 2006. Sakız'ın taksonomisi ve biyolojik özellikleri, *Pistacia lentiscus* L. (Sakız Ağacı), Paneli, Ege Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi.

Özgüven M. ve Kırıcı S. 1999. Farklı ekolojilerde nane (*Mentha*) türlerinin verim ile uçucu yağ oran ve bileşenlerin araştırılması. Tr. J. of Agriculture and Forestry. 23:465-472.

Palevitch D., Yaniv Z. 2000. Medicinal plants of the Holy Land. Modan Publishing House, Tel Aviv, Israel. In Ljubuncic et al. (eds) The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease. J.Ethnopharmacol, p.198–204.

Palli M. E., Aronne G. 2000. Reproductive cycle in southern Italy of *Pistacia lentiscus* (*Anacardiaceae*). Plant Biosyst., vol.134, no.3, p.365-371.

Parfitt D. E., Badenes M. L. 1997. Phylogeny of the genus *Pistacia* as determined from analysis of the chloroplast genome. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol.94, no 15, p.7987-7992.

Parlak S., Akbin A. N. 2008. Sakız (*Pistacia lentiscus* var. Chia)'nın aşılama yoluyla çoğaltılması. Çevre ve Orman Bakanlığı Araştırma Projesi, proje no: 15.2110/2008-2010.

Perikos J. 1993. The Chios Gum Mastic. Print All Ltd. Athens, Greece p:95.

Peterson D., BA., Dip. NT, RH (AHG), ARC President 2010. Aromatic journey in the eastern Mediterranean. Issue 11.

Pierik R.L.M. 1997. *In vitro* culture of higher plants. Kluwer Academic Publishers, p: 353.

Pontikis CA. 1984. *In vitro* propagation of *Pistacia terebinthus* L. Plant Propagator vol.30, issue 3, p.14-15.

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

Said S.A., Fernandez C., Greff S., Torre F., Derridj A., Gauquelin T. and Mevy J.-P. 2011. Inter-population variability of terpenoid composition in leaves of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria: A chemoecological approach. Molecules, vol.16, issue 3, p.2646-2657.

Sankarikutty B., Narayanan C.S. 1993. Essential Oils/Isolation and production. Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition (Academic Press): 2185-2189.

Saraçoğlu H. T., Zengin G., Akin M., Aktümsek A. 2012. A comparative study on the fatty acid composition of the oils from five *Bupleurum* species collected from Turkey.Turk J Biol vol.36, issue 5, p.527-523.

Shafaghat A. 2011. Antioxidant, antimicrobial activities and fatty acid components of leaf and seed of *Bupleurum lancifolium* Hornem.J Med Plants Res, vol.5, issue 16, p.3758-3762.

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

Simopoulos A.P. 2002. Omega-3 fatty acids in wild plants, nuts and seeds. Asia Pacific J Clin Nutr, vol.11, issue 6, p.163–S173.

Stevens P.F. 2008. Angiosperm Phylogeny Website, Version 9. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/Apweb>.

Takhi D., Ouinten M. and Yousfi M. 2011. Study of antimicrobial activity of secondary metabolites extracted from spontaneous plants from the area of Laghouat, Algeria. Adv. Environ. Biol., vol.5, no.2, p.469-476.

Tanker M., ve Tanker N. 1976. Farmakognozi, Cilt 2, Reman Matbaası, İstanbul, s.13-35.

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

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

Teli N.P. and Timko M.P. 2004. Recent developments in the use of transgenic plants for the production of human therapeutics and biopharmaceuticals. Plant Cell, Tiss Org, vol.79, issue 2, p.125–145.

Tilkat E, Işıkalan Ç, Onay A. 2005. *In vitro* propagation of khinjuk pistachio (*Pistacia khinjuk* stocks) through seedling apical shoot tip culture. Propag Ornament Plants, vol.5, issue 3, p.1-5.

Tounes M., Abdennour C., Houaine N. 2008. Influence of *Pistacia lentiscus* oil on serum biochemical parameters of domestic rabbit *Oryctolagus Cuniculus* in mercury induced toxicity. Eur. J. Sci. Res., vol.24, no.4, p.591-600.

Tournefort J. P. 1700. Institutiones Rei Herbariae. *Typog-raphia Regia*, vol.2, no.1700, p.579-580.

Trabelsi H., Cherif O. A., Sakouhi F., Villeneuve P., Renaud J., Barouh N., Boukhchina S., Mayer P. 2011. Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. Food Chem, vol.131, issue 2, p. 434-440.

Triantafyllou A., Chaviaras N., Sergentanis T. N., Protopapa E., Tsaknis J. 2006. *Chios mastic* gum modulates serum biochemical parameters in a human population. *J. Ethnopharmacol*, vol.111, no.1, p.43-49.

Tyler V.E., Brady L.R. ve Robbers J.E. 1988. *Pharmacognosy*, 9th Edition, Philadelphia, Lea & Febiger, p.103-137.

Ucciani E. 1995. *Nouveau dictionnaire des Huiles Ve'ge'tales—composition en acides gras. Technique et Documentation—Lavoisier, Paris (in French)*.

URL-1: http://www.ibiblio.org/pfaf/cgi-bin/arr_html?Pistacia+lentiscus.

URL-2 : www.tema.org.tr/çalışmalarımız/projeler; sakız projesi, 2008.

URL-3 : <http://tr.wikipedia.org/wiki/Biyoteknoloji>.

Üçer M. 2004. Sakız ve mutfak kültürümüzde damla sakızı ile yapılan yiyecekler. *Türk mutfak kültürü üzerine araştırmalar. Türk halk kültürü ve tanıtma vakfı yayınları*. Ankara.

Verdu M., Garcia-Fayos P. 2002. *Ecologia reproductiva de Pistacia lentiscus L. (Anacardiaceae): anacronismo evolutivo en el matorral mediterraneo*. *Rev. Chil. Hist. Nat.*, vol.75, no.1, p.57-65.

Verpoorte R., Heijden R., Hoge J.H.C., and Hoopen H.J.G. 1994. *Plant cell biotechnology for the production of secondary metabolites*. *Pure Appl Chem*, vol.66, issue 10 p.2307-2310.

Wallace R.J. 2004. *Antimicrobial properties of plant secondary metabolites*. *Proceeding of the Nutrition Society*. 63:621-629.

Waterman P.G. 2001. *Evolution of secondary plant metabolism*. *Encyclopedia of Life Sciences*, Nature Publishing Group. University of Strathclyde, Glasgow, United Kingdom, 9 pg.

Wellmann M., (Ed.) 1907. *Pedanii Dioscuridis Anazarbei de materia medica libri quinque*, vol.1. Weidmann, Berlin.

Whitehouse W.E. 1957. *The pistachio nut—a new crop for the western United States*. *Econ. Bot.*, vol.11, no.4, p.281-321.

Yıldırım H. 2012. *Micropropagation of Pistacia lentiscus L. from axenic seedling-derived explants*. *Sci Hortic*, vol.137, issue (April 1, 2012), p.29-35.

Yıldırım H. 2012. *Micropropagation of Pistacia lentiscus L. from axenic seedling-derived explants*. *Sci Hortic Amsterdam*, vol.137, issue April 1, p. 29-35.

Zhang TT., Zhou JS., Wang QA. 2007. Flavonoids from aerial part of *Bupleurum chinense* DC. *Biochem Syst Ecol*, vol.35, issue 11, p.801-804.

Zohary M. 1952. A monographical study of the genus *Pistacia*. *Palestine Journal of Botany Jerusalem*, vol.5, p.187-228.

Zrira S., Elamrani A. and Benjilal B. 2003. Chemical composition of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Morocco—a seasonal variation. *Flavour Frag J*, vol.18, issue 6, p.475-480.

7. ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Diyarbakır'da doğdu. İlkokulu Mehmet İçkale İlkokulu'nda, Ortaokulu Huzurevleri Ortaokulunda ve Lise öğrenimini Ziya Gökalp Y.D.A lisesi'nde tamamladı. 2003 yılında Dicle Üniversitesi Siirt Eğitim Fakültesi Fen ve Teknoloji Öğretmenliği Bölümünü kazandı. 2010 yılında Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programına başladı.

25.06.2013

Ömer Faruk AKDEMİR