



**JUVENİL SAKIZ AĞACI (*Pistacia lentiscus* L.)
SÜRGÜN KÜLTÜRLERİNDE BAZI ELİSİTÖR
UYGULAMALARININ TRİTERPENOİD MİKTARLARI
ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Gurbet KOCABEY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı



T.C.
BATMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**JUVENİL SAKIZ AĞACI (*Pistacia lentiscus* L.)
SÜRGÜN KÜLTÜRLERİNDE BAZI ELİSİTÖR
UYGULAMALARININ TRİTERPENOID
MİKTARLARI ÜZERİNE ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

Gurbet KOCABEY
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Biyoloji Anabilim Dalı

Şubat-2019
BATMAN
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Gurbet KOCABEY tarafından hazırlanan "Juvenil Sakız Ağacı (*Pistacia lentiscus* L.) Sürgün Kültürlerinde Bazı Elisitör Uygulamalarının Triterpenoid Miktarları Üzerine Etkisinin Belirlenmesi" adlı tez çalışması 25/02/2019 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan
Doç.Dr. Hakan YILDIRIM

Danışman
Prof. Dr. Engin TİLKAT

Üye
Doç. Dr. Emine AYAZ TİLKAT

İmza



Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.


Doç. Dr. Bahattin İŞCAN
FBE Müdürü

Bu tez çalışması TÜBİTAK tarafından 114Z842 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Gurbet KOCABEY

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

JUVENİL SAKIZ AĞACI (*Pistacia lentiscus* L.) SÜRGÜN KÜLTÜRLERİNDE BAZI ELİSİTÖR UYGULAMALARININ TRİTERPENOİD MİKTARLARI ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Gurbet KOCABEY

BATMAN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman: Prof. Dr. Engin TİLKAT

2019, 92 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Engin TİLKAT

Doç. Dr. Hakan YILDIRIM

Doç. Dr. Emine AYAZ TİLKAT

ÖZET

Sakız ağacı (*Pistacia lentiscus* L.), antikanser, antifungal, antibakteriyal, antimikrobiyal, antienflamatuvar ve anti-helicobakter pylorii aktivitesi gibi daha pek çok hastalığın tedavisinde kullanılan değerli sekonder metabolitleri içermesi bakımından tıbbi ve ekonomik öneme sahip önemli bir bitkidir. Tez çalışmamızın amacını, juvenil sakız ağacı sürgün kültürlerine bazı elisitör uygulamaları ile antikanser ve antihelicobakter aktivite gösterdiği bilinen triterpenoidlerin (özellikle oleanonic asit, moronic asit, 24Z-masticadienonic asit, 24Z-isomasticadienonic asit, 24Z-masticadienolic asit, 24Z-isomasticadienolic asitin) biyoteknolojik yollarla miktarlarının artırılabilmesi oluşturmaktadır.

Bu bağlamda öncelikle yüzey sterilizasyonu tamamlanan *P. lentiscus* olgun tohumları 1 mg/l IBA destekli MS besi ortamında çimlendirilmiştir. Akseni gövdelerin çoğaltımı, 1 mg/l BAP, 0.5 mg/l GA₃ ile destekli MS besi ortamında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sürgünler farklı kimyasal elisitörlerin bulunduğu besi ortamlarına (E-vitamini, JA, MeJA, Tyr, Pyr, LPM, Mannan, Kitosan, Zimosan A, Peptidoglikan, *P. atlantica* ekstraktı, *P. lentiscus* ekstraktı, *P. khinjuk* ekstraktı, *P. terebinthus* ekstraktı ve *P. vera* ekstraktı) bir kültür periyodu süresince transfer edilmiştir.

Ursonik Asitin genel olarak tüm uygulamalarda tespit edildiği, *P. atlantica* ekstraktı ve Peptidoglikan elisitör uygulamaları haricinde Ursonik Asit miktarında artış meydana geldiği görülmüştür. *P. atlantica*, *P. terebinthus* ve *P. vera* ekstraktı dışında tüm elisitör uygulamalarına ait ekstraktlarda farklı triterpenoid çeşitlerinin oluşumunun gözlemlendiği tespit edilmiştir. Morfolojik bakımdan ise, kontrol gruplarına oranla elisitör uygulanmış sürgünlerin sağlıklı, sarımsı, kırmızımsı ve kahverengileşen gövde ve yaprak yapısına sahip olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Pistacia lentiscus* L., *in vitro*, stres, elisitör, triterpenoitler

ABSTRACT

MSc THESIS

DETERMINATION OF THE EFFECT OF SOME ELICITOR APPLICATIONS ON THE AMOUNT OF TRITERPENOIDS IN JUVENILE SHOOT CULTURES OF LENTISK (*Pistacia lentiscus* L.)

Gurbet KOCABEY

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
BATMAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOLOGY

Advisor: Prof. Dr. Engin TILKAT

2019, 92 Pages

Jury
Prof. Dr. Engin TILKAT
Assoc. Prof. Dr. Hakan YILDIRIM
Assoc. Prof. Dr. Emine AYAZ TILKAT

ABSTRACT

Pistacia lentiscus L. (Mastic tree) is an important plant with important medical and economic importance because it contains valuable secondary metabolites used in the treatment of many diseases such as anticancer, antifungal, antibacterial, antimicrobial, anti-inflammatory and anti-helicobacter pylorii activity. The aim of our thesis is to use some elicitor applications on juvenile mastic tree shoot cultures to increase the amount of triterpenoids which known to have anticancer and antihelicobacter activity via biotechnological methods (esspecially oleanonic acid, moronic acid, 24Z-masticadienonic acid, 24Z-isomasticadienonic acid, 24Z-masticadienolic acid, 24Z-isomasticadienolic acid).

In this context, surface sterilized mature seeds of *P. lentiscus* were germinated in MS medium. supplemented 1 mg/l IBA. Proliferation of of axenic shoots was performed in MS medium supplemented with 1 mg/l BAP and 0.5 mg / l of GA₃. Then shoots were transferred to the MS medium in which different chemical elicitors (E-vitamin, JA, MeJA, Tyr, Pyr, LPM, Mannan, Chitosan, Zimosan A, Peptigoglikan, *P. atlantica* extract, *P. lentiscus* extract, *P. khinjuk* extract, *P. terebinthus* extract and *P. vera* extract) for a culture period.

Ursonic acid was detected generally in all applications, however except for *P. atlantica* extract and Peptidoglycan elicitor applications, it was seen that an increase in the amount of Ursonic Acid occurs. Except *P. atlantica*, *P. terebinthus* and *P. vera* extracts, it was determined that different triterpenoid varieties were observed in the extracts of all elicitor applications. It was found that the shoots applied to the elicitors had unhealthy, yellowed, reddish and brownish stem and leaf compared to the control groups morphologically.

Key words: *Pistacia lentiscus* L., *in vitro*, stress, elicitors, triterpenoids.

ÖNSÖZ

Tez konumun belirlenmesi, yürütülmesi ve tüm çalışmalar boyunca yardımlarını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Engin TİLKAT hocam'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarında her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen kıymetli hocam Sayın Doç. Dr. Emine AYZAZ TİLKAT hocam'a, tanıdığım günden beri çalışma prensibi ve akademik duruşuyla örnek olan çalışmalarım boyunca bilgi birikimine başvurduğum Öğr. Gör. Veysel SÜZERER'e çok teşekkür ederim. Maddi ve manevi her zaman yanımda olan, desteğini esirgemeyen eşim Caner KOCABEY'e ve her zaman yanımda olan tüm aile fertlerime fedakârlıklarından dolayı çok teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Tübitak tarafından, 114Z842 nolu proje ile desteklendiğinden Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na da ayrıca teşekkür ederim.

Gurbet KOCABEY
BATMAN-2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
1.GİRİŞ	1
1.1. Sakız Ağacının Genel Özellikleri	2
1.2. Dünya’da ve Ülkemizde Yayılışı.....	4
1.3. Kullanım Alanları ve Ekonomik Önemi	4
1.4. İçerdiği Sekonder Metabolitler	6
1.5. Biyoteknolojik Yöntemlerle Çoğaltım.....	10
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	19
3.1. Materyal	19
3.1.1. Bitkisel materyal	19
3.2. Yöntem.....	19
3.2.1. Doku kültürü ön hazırlık uygulamaları.....	19
3.2.2. Doku kültürü uygulamaları	22
3.2.3. Triterpenlerin genel özellikleri	25
3.2.4. Terpen bileşenlerin ekstraksiyon ve analizi.....	26
3.2.5. İstatistiksel analizler	27
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	28
4.1. Tohumları Yüzey Sterilizasyonu, Çimlendirilmesi ve Stok Kültürüleri Elde Edilmesine Yönelik Sonuçlar ve Tartışma	28
4.2. Juvenil Sürgünlere Uygulanan Elisitasyon Çalışmaları.....	29

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER..... 73

KAYNAKLAR..... 74

ÖZGEÇMİŞ 84



SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	: Santigrat derece
2,4-D	: 2,4 Diklorofenoksi asetik asit
BAP	: Benzil amino pürin
BBD	: Bitki büyüme düzenleyicileri
CaCl ₂ .2H ₂ O	: Kalsiyum klorür dihidrat
CHN	: Kitosan oligomerleri
cm	: Santimetre
CoCl ₂ .6H ₂ O	: Kobalt klorür hegzahidrat
CuSO ₄ .5H ₂ O	: Bakır sülfat pentahidrat
dk	: Dakika
Fe ₂ SO ₄ .7H ₂ O	: Demir sülfat heptahidrat
g/l	: Gram/litre
GA ₃	: Gibberellik asit
GC-MS	: Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
gr (g)	: Gram
H ₃ BO ₃	: Borik asit
HCl	: Hidrojen klorür
IAA	: İndol asetik asit
IBA	: İndol bütirik asit
JA	: Jasmonik asit
kg	: Kilogram
KH ₂ PO ₄	: Potasyum dihidrojen fosfat
KI	: Potasyum iyodür
Kn	: Kinetin
KNO ₃	: Potasyum nitrat
LC-MS/MS	: Sıvı kromatografisi-Kütle spektrometresi
MeJA	: Metil jasmonat
mg	: Miligram
mg/l	: Miligram/litre
MgSO ₄ .7H ₂ O	: Magnezyum sülfat heptahidrat
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
MnSO ₄ .4H ₂ O	: Mangan sülfat tetrahidrat
MS	: Murashige ve Skoog
Na ₂ EDTA	: Sodyum etilen diamin tetra asetik asit
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	: Sodyum molibdat dihidrat
NAA	: Naftalen asetik asit
NaOCl	: Sodyum hipoklorit
NaOH	: Sodyum hidroksit
NH ₄ NO	: Amonyum nitrat
NO	: Nitrik oksit
PAL	: Fenilalanin amonyum liyaz
pH	: Hidrojen iyon konsantrasyonu
RA	: Rosmarinik asit
s	: Saat
sn	: Saniye
TDZ	: Thidiazuron

UHPLC	: Ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi
UV	: Ultraviyole
ZnSO ₄ .7H ₂ O	: Çinko sülfat heptahidrat
µM	: Mikromolar
m	: Metre
mm	: Milimetre
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
CDDO	: 2-siyano-3,12-diokzoolean-1,9-dien-28-oik asit
CDDO-Me	: C-28 metil ester
CDDO-Im	: İmidazol
CuSO ₄	: Bakır sülfat
Da	: Dalton
µg/ml	: Mikrogram/millilitre
AQ	: Antrakinon
AIP	: Aminoindan-2-fosfonik asidin
G6PDH	: Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz
µmol /l	: Mikromol/litre
mg/g	: Milligram/gram
L-Dopa	: 3,4-dihidroksi-L-fenilalanin
KA	: Kuru ağırlık
BA	: Benzil Adenin
L	: Litre
WPM	: Woody plant medium
PEG	: Polietilen glikol
SGs	: Steviol glikozitleri
CdSO ₄	: Kadmiyum sülfat
atm	: Atmosfer basınç
N	: Normal
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz
µm	: Mikrometre
EtOH	: Etanol
Tyr	: L-Tirozin
Lux	: Lüks

1.GİRİŞ

Pistacia genusu, Sapindales/Rutales takımı içerisinde yaklaşık 70 cins ve 600'ün üzerinde türden oluşan (Mitchell ve Mori, 1987) ve kozmopolit bir familya olan Anacardiaceae (Sumakgiller)'ye bağlıdır (Wannan ve Quinn, 1991; Stevens, 2008).

Pistacia cinsi, 4 seksiyon altında 11 tür olarak sınıflandırılmaktadır: *Lentiscella* Zohary (*P. mexicana* Humb., Bonpl. & Kunth ve *P. texana* Swingle'yi içerir); *Eu Lentiscus* Zohary (*P. lentiscus* L., *P. saportae* Burnat, ve *P. weinmannifolia* Poiss. ex Franch. içerir); *Butmela* Zohary (*P. atlantica* Desf. içerir); ve *Eu Terebinthus* Zohary (*P. chinensis* Bunge, *P. khinjuk* Stocks., *P. palaestina* Boiss., *P. terebinthus* L., ve *P. vera* L.'yi içermektedir) (Onay ve ark., 2016).

Bölüm	Türler
<i>Lentiscella</i>	<i>P. mexicana</i> <i>P. texana</i>
<i>Eu- Lentiscus</i>	<i>P. lentiscus</i> L. <i>P. weinmannifolia</i> <i>P. saportae</i>
<i>Eu-Terebinthus</i>	<i>P. khinjuk</i> Stocks <i>P. terebinthus</i> L. <i>P. palaestine</i> Boiss <i>P. chinensis</i> <i>P. vera</i> L
<i>Butmela</i>	<i>P. atlantica</i> Desf

Çizelge 1.1. *Pistacia* cinsinin sınıflandırılması (Zohary, 1952)

Zohary (1952) tarafından yapılan bu sınıflandırma çalışmalarından sonra *Pistacia* cinsine birçok yeni tür ilave edilmiştir Yaltırık (1967a, 1967b) ülkemizdeki *Pistacia* türlerini yeniden sınıflandırmış ve *P. eurycarpa*'yı yeni bir tür olarak belirlemiştir. Bugün için Uluslararası Bitki İsimleri İndeksinde (International Plant Names Index) *Pistacia* cinsine ait çok sayıda türün bulunduğu ifade edilmiş olmasına rağmen, sistematik araştırmacılar tarafından bunlardan 14 tanesi tür olarak kabul görmektedir. Son yıllarda *Pistacia* cinsine ait türlerden moleküler markör teknikleriyle yapılan çalışmalar da bu durumu desteklemektedir (Yi ve ark., 2008).

1.1. Sakız Ağacının Genel Özellikleri

1.1.1. Morfolojik özellikleri

Sakız ağacı, genellikle çalı veya ağaçcık formunda gelişen 1-3 m (metre)'ye kadar boyolanabilen bir bitkidir (Anonymous, 2005) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Çeşme Çiftlikköy'de yetişen dişi bir sakız ağacının genel görünümü, Bar: 66 cm (Onay ark., 2016a)

Derin kök yapısı olduğundan kuraklığa karşı dayanıklıdır. Sulanınca gelişmesi hızlı olmaktadır. Fakat kök boğazında su birikiminin olmaması gerekir. Bu nedenle meyilli arazilerde yetişmesi daha idealdir. Tuzlu suya toleransı yüksektir ve deniz kenarında dahi iyi gelişir. Derin kök yapısı ve sık yaprak dokusu ile rüzgâr ve su erozyonuna karşı kullanılabilir ideal bir bitkidir (Prada ve Arizpe, 2008). Kuraklığa karşı dayanıklı olup kendini çabuk yenileyebilme özelliğinden dolayı ekolojik değeri bulunmaktadır (Mascarollo ve ark., 2007) .

Yapraklar genellikle 2-4, nadiren de 5-7 çift yaprakçıktan oluşur ve hiçbir zaman terminal yaprakçık taşımaz. Sakız ağacında, bileşik yaprak ekseninde bulunan kanatçıklar çok karakteristiktir. Yaprakları gövdeye bağlı dal üzerinde 2-12 adet dikdörtgen, mızraksı veya oval 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. Budanarak terbiye edilen bitkinin de yaprak şekli değişmektedir (Boztok ve Zeybek, 2004). Sakız ağacı, bulunduğu seksiyon içinde en kalın yaprakçılara (490 µm) sahip olan türdür. *Pistacia* türlerinin tanımlayıcılarına göre

bu cinse giren türlerde (*P. vera* L. hariç) yaprak genişliği 5.38 cm ve yaprak uzunluğu ise 5.13 cm'dir (Anonymous, 1998).

Çiçekler; dioik bir tür olan sakız ağacında, periant içermeyen çiçekler 1 yıllık sürgünlerin yaprak koltuklarında bulunur. Sakız ağacında çiçeklenme bahar aylarında gerçekleşmekte ve çok sayıda çiçek üretimi söz konusu olmaktadır. Çiçekleri küçük, kırmızımsı veya 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. Çiçekler küçük bir salkım şeklini alır (**Şekil 1.2**). Tozlanma anemofil olarak gerçekleşmektedir (Davis 1967).



Şekil 1.2. Dişi sakız ağacı çiçek yapısı

Meyveler; 4-7 mm çapında, yuvarlak-basık ve sivri uçlu, başlangıçta kırmızı, olgunlaştığında ise siyah renktedir (**Şekil 1.3**). Drupa tipi olan meyveler, etli-sulu bir mezokarp ile kemiksi bir endokarpa sahiptir. Meyveler ekim sonu ile aralık ayı ortasına kadar olgunlaşmaktadır (Boztok ve Zeybek, 2004, Browicz 1987).



Şekil 1.3. Sakız ağacı meyveleri

Tohum; Kromozom sayısı $2n=24$ 'tür (Zohary, 1952). Tohumlar olgunlaşma döneminde yuvarlak ve düz yüzeylidirler. Tohumlar Ekim-Kasım ayları arasında hasat edilir (Prada ve Arizpe, 2008). Sakız ağacı, çok sayıda çiçek ve meyve üretmesine karşın yaşayan tohum içeren meyve sayısı çok az olmaktadır. Çiçeklerin büyük kısmı meyve oluşturmamakta ve oluşan meyvelerin önemli bir kısmında ise tohum bulunmamaktadır (Martinez-Palleand Aronne, 2000). Kırmızımsı veya beyaz meyvelerin toplanmasından kaçınılmalıdır. Çünkü bu meyvelerde embriyo ölü veya tohum partenokarpiktir (Jordano, 1988; 1989). Bu nedenle, siyah meyvelerin içerdiği tohum oranı daha yüksek olduğu için hasat sırasında bunların tercih edilmesi gerekmektedir (Verdu and Garcia-Fayos, 2002).

1.2. Dünya'da ve Ülkemizde Yayılışı

Sakız ağacı Dünya'da Akdeniz ikliminin hâkim olduğu tüm kıyı kesimlerinde ve 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 (Macaronesia) 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. Türkiye'de Ege ve Akdeniz bölgelerinde doğal bir yayılım gösterir.(Stevens 2008). Deniz seviyesinden yaklaşık 700 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 (Masceroello ve ark., 2007) .

1.3. Kullanım Alanları ve Ekonomik Önemi

Sakız bitkisinden elde edilen reçineye mastik sakızı adı verilmekte olup bu metabolitin şu ana kadar bilinen 60 farklı kullanım alanı vardır (Onay ve ark.,2014). Türün üretmiş olduğu damla sakızı adındaki metabolit birçok endüstri alanında kullanılmaktadır. Bu kullanım alanları şu şekilde sınıflandırılabilir:

İlaç Endüstrisinde; MS 4. yüzyıldan 7. yüzyıla kadar mide iltihabı, öksürük, bağırsak ve akciğer hastalıklarında iyileştirici özelliğinden dolayı kullanıldığı bilinmektedir (Özdemir, 2014). Son birkaç yılda giderek artan sayıdaki çalışmalarla, sakız reçinesinin gelecekte kimyasal yolla kanserin engellenmesi uygulamalarına temel

oluşturmak için, insanda kansere neden olan çeşitli tipte tümörlere karşı potansiyel antiproliferatif özellikler gösterdiği tespit edilmiştir (Giaginis ve Theocharis, 2011).

Merhem yapımında, ülser hastalığının tedavisinde, diş macununda mastik sakızı kullanılmaktadır. Ayrıca mastik sakızı deri hastalıklarında, yanıklarda, egzama (Palevitch ve Yaniv, 2000) ve kanser hastalıklarında (Loutrari ve ark., 2006) da kullanılmaktadır. Günümüze kadar yapılan birçok farmakolojik çalışmada, sakız ağacının içeriğinde bulunan metabolitlerin çok sayıda hastalığın tedavisinde (antifungal, antibakteriyel, antimikrobiyal, antienflamatuvar, anti-helicobakter pylorii aktivitesi, antiatherogenik aktivite, antitümör aktivite, yara iyileştirici aktivitesi, karaciğer koruyucu aktivite, antiproliferatif ve proapoptik aktivite ve tansiyon düşürücü ve antikanser aktivite gibi) kullanıldığı rapor edilmiştir (İmtiyaz ark., 2013; Huwez ark., 1998; Marone ark., 2001; Al-Habbal ark. 1984; Al-Said ark. 1986; Balan ark., 2007; Assimopoulou ve Papageorgiou, 2005; Kaliora ark., 2007; Andrikopoulos ark., 2003 ve Akdemir, ve ark. 2013). Damla sakızı yağının anti-bakteriyel (Lauk ve ark., 1996) ve antioksidan (Dedoussis ve ark., 2004) özellikte olduğu da tespit edilmiştir. Ayrıca, sakız mikrobiyal plak oluşumunu engellemektedir. (Koutsianas, 2012).

Gıda Endüstrisinde; tatlandırıcı olarak, kek, dondurma, sütlü tatlı, alkollü içki üretiminde özellikle likör ve uzo üretiminde mastik geniş ölçüde kullanılmaktadır. Mastik sakızı ayrıca baharat ve değişik soslara kıvam vermek için de kullanılmaktadır. Kıbrıs ve Suudi Arabistan'da temel bir baharat olarak kullanılmaktadır. Lübnan ve Suriye'de ev kadınlarının yapmış olduğu geleneksel peynirde sakız kokusu ve tadı bulunur. Yunanlıların festival ekmeklerinin aromasının temel içeriği sakızdır. Sakız reçinesi ülkemizde pudinglerin ve dondurmaların ana bileşeni olup, bunların açık beyaz renkte olmasını sağlamaktadır. (Mascarello ark., 2007).

Kimya Endüstrisinde; kozmetik ürünlerde, verniklemede, resim boyalarında da mastik sakızı kullanılmaktadır (Calabro ve Curro, 1974). Sakız reçinesi, bitki yağları ile kombine edildiğinde, yatıştırıcı, nemlendirici ve yaşlanma karşıtı bir etki gösterir. Vücut tarafından emilen cerrahi dikiş iplikleri sakız reçinesinden elde edilir. (Koutsianas, 2012). Bununla birlikte, Sakız ağacı Meksika'da süs bitkisi olarak kullanılmaktadır. Meyvelerinden yenilebilen yağ üretilmekte ve bu yağ doymamış yağ asitleri olan oleik ve linoleik asit bakımından zengin olması bakımından son zamanlarda dikkat çekmektedir (Ucciani ve ark., 1995). Kuraklığa karşı dayanıklı olması ve sonra kendini çabuk yenileyebilme özelliğinden dolayı ekolojik değeri bulunmaktadır (Mascarello

ark., 2007). Ayrıca; Sakız ağacının, reçine ve farklı dokuları üzerine yapılan kimyasal analizlerde, yağ asitleri ve terpenoidler gibi ikincil metabolitleri içerdiği bilinmektedir.

1.4. İçerdiği Sekonder Metabolitler

Yüksek yapılı bitkiler, primer metabolitlerin yanısıra bir takım düşük molekül ağırlıklı farklı bileşikler üretirler. Bitki sekonder metabolitleri olarak adlandırılan bu bileşikler, bitkilerin biyotik çevre ile olan etkileşimlerinde kendi savunma mekanizmalarını oluşturmak için ürettikleri çok çeşitli organik bileşiklerdir (Wink ve ark., 1988 ve Murthy ve ark., 2014). Bu açıdan bitkiler; farmasötik madde, zirai ilaç, tatlandırıcı, parfüm, renk verici madde, biopestisit ve gıda katkı maddesi olarak geniş bir yelpazede kullanılan sekonder metabolitlerin değerli bir kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadır.

P.lentiscus L. bitkisi, içeriğinde bulunan değerli ikincil metabolitler nedeniyle önemli bir bitkidir. Bu ikinci metabolitlerin bir çoğu türün erkek genotipinde daha fazla bulunan ve kalın odunsu dallarından çizilerek elde edilen sakız reçinesinde bol miktarda bulunmaktadır. Başta reçine olmak üzere, bitkinin toprak altı ve üstü kısımları, anti-kanser aktivite gösteren terpenoid bileşenler bakımından zengin bir yapı arz etmektedir (Tilkat ve ark., 2014; Onay ve ark. 2016).

Bitkinin içeriğinde bu denli ekonomik öneme sahip metabolitler bulundurması, sakız ağacının doğal yaşam alanlarından toplanmaları suretiyle populasyonlarının azalma tehlikesini kaçınılmaz kılmaktadır. Biyoteknolojik yöntemler, başta sakız ağacı olmak üzere ekonomik öneme sahip diğer bitkilerin de korunmasını ve dolayısıyla elisitör uygulamalarıyla bu metabolitlerin in vitro üretimine de yol açmaktadır.

Yapılan literatür çalışmaları sonucunda, tezin konusunu da oluşturan triterpenoidlerin ve ekonomik öneme sahip diğer metabolitlerin üretiminin, kültür ortamının çevresel şartlarının değiştirilmesi ve çeşitli elisitör uygulamaları ile artırılması konusundaki çalışmalar **Çizelge 1.2** 'de sunulmuştur.

Çizelge 1.2. Çeşitli bitki türlerinde farklı biyoteknolojik yöntem ve elisitör uygulamaları ile üretilen ikincil metabolitler

Tür	Kültür	Elisitör	İkincil Metabolit	Kaynakça
<i>Catharanthus roseus</i>	Hücre Süspansiyon	Artemisinik Asit	Vindolin-Vinblastin	Liu ve ark., 2014
<i>Bacopa monnieri</i>	Sürgün	JA	Basosit	Munish ve ark., 2015
<i>Plumbago indica</i>	Saçak Kök	JA	Plumbagin	Gangopadhyay ve ark., 2011
<i>Vitis vinifera</i>	Hücre Süspansiyon	MeJA	Stilbene	Xu ve ark., 2015
<i>Silybum marianum</i>	Hücre Süspansiyon	MeJA	Silimarin	Firouzi ve ark., 2013
<i>Lepechinia caulescens</i>	Kallus	MeJA	Oleonolic Acid	Martinez ve ark., 2017
<i>Panax ginseng</i>	Hücre Süspansiyon	MeJA	Taxanes	Senger ve ark. 2006
<i>Taxus canadensis</i>	Adventitatif Kök	MeJA	Ginsenoside	Bae ve ark., 2006
<i>Panax notoginseng</i>	Hücre Süspansiyon	2-Hidroksimetil jasmonat	Ginsenoside	Hu ve Zhong, 2008
<i>Hypericum hirsutum</i>	Sürgün	SA	Psödo-Hiperisin	Coste ve ark., 2011
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	Adventitatif Kök	SA	Gilisirizik Asit	Li ve ark., 2015
<i>Hypericum perforatum</i>	Hücre Süspansiyon	NO	Hiperisin	Xu ve ark., 2005
<i>Panax ginseng</i>	Adventitatif Kök	Sodyum Nitropurusit	Saponin	Tewari ve ark., 2007
<i>Hypericum perforatum</i>	Sürgün	Kitin	Psödo-Hiperisin	Sonja ve ark., 2015
<i>Vitis vinifera</i>	Hücre Süspansiyon	Kitin	Trans-Resveratrol	Taurino ve ark., 2015
<i>Hypericum perforatum</i>	Sürgün	Pektin	Viniferins	Sonja ve ark., 2014
<i>Fagonia indica</i>	Kallus	Kitosan	Psödo-Hiperisin	Khan ve ark., 2019
<i>Vitis vinifera</i>	Hücre Süspansiyon	Siklo Dekstirin	Ursolik Asit	Belchi-Navarro ve ark., 2012
<i>Gymnema sylvestre</i>	Hücre Süspansiyon	<i>Aspergillus niger</i>	Trans-Resveratrol	Chodiseti ve ark., 2013
<i>Gymnema sylvestre</i>	Hücre Süspansiyon	<i>Agrobacterium Rhizogenes</i>	Gymnemic acid	Chodiseti ve ark., 2013
<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	Saçak Kök	<i>Protomyces gravidus</i>	Gymnemic acid	Chodiseti ve ark., 2013
<i>Taverniera cuneifolia</i>	Kök	<i>Mucor hiemalis</i>	Thiarubrine A	Bhagwath ve ark., 2000
<i>Hypericum perforatum</i>	Hücre Süspansiyon	<i>Botrytis cinerea</i>	Glycyrrhizic acid	Awad ve ark., 2014
<i>Gymnema sylvestre</i>	Hücre Süspansiyon	<i>Bacillus subtilis</i>	Fenilpropanoit	Sonja ve ark., 2015
<i>Gymnema sylvestre</i>	Hücre Süspansiyon	<i>Escherichia coli</i>	Naftadiantron	Sonja ve ark., 2015
<i>A.hispidissima</i>	Saçak Kök	<i>Azotobacter chroococcum</i>	Gymnemic acid	Chodiseti ve ark., 2013
<i>Vitis vinifera</i>	Hücre Süspansiyon	Ultraviolet C	Gymnemic acid	Chodiseti ve ark., 2013
<i>Melissa officinalis</i>	Sürgün	Ozon	Propionillalkanin	Singh ve Sharma, 2016
<i>Pueraria thomsnii</i>	Hücre Süspansiyon	Ozon	Stilbene	Xu ve ark., 2015
<i>Catharanthus roseus</i>	Embriyojenik Doku	NaCl	Rozmarinik Asit	Tonelli ve ark., 2015
<i>Hypericum perforatum</i>	Sürgün	15 gün 35 °C	Puerarin	Sun ve ark., 2012
<i>Panax quinquefolius</i>	Kök Kültürü	5 °C	Vinbilastin ve Vinkristin	Fatima ve ark., 2015
<i>Bacopa monnieri</i>	Sürgün	pH	Hiperisin ve Hiperforin	Chan ve ark., 2010
<i>Withania somnifera</i>	Saçak Kök-Hücre Süspansiyon	pH	Ginsenoside	Jochum ve ark., 2007
<i>Perovskia abrotanoides</i>	Adventitatif Kök	Ag	Bacoside A	Naik ve ark., 2010
<i>Vitis vinifera</i>	Hücre Süspansiyon	Ag	Cryptotanshinone and tanshinone IIA	Arehzo ve ark., 2015
<i>Datura metel</i>	Saçak Kök	Ag	Resveratrol	Cai ve ark., 2013
<i>Vitis vinifera</i>	Hücre Süspansiyon	Cd	Atropin	Zahra ve ark., 2015
<i>Datura stramonium</i>	Hücre Süspansiyon	Co	Resveratrol	Cai ve ark., 2013
<i>Ammi majus</i>	Sürgün	Cu	Resveratrol	Cai ve ark., 2013
<i>Bacopa monnieri</i>	Sürgün	Cu	Ksanttotoksin	Purohit ve ark., 1995
<i>Calophyllum inophyllum</i>	Hücre Süspansiyon	Cr	Bacosit	Munish ve ark., 2015
			İnofilium D	Pawar ve Thengane, 2011

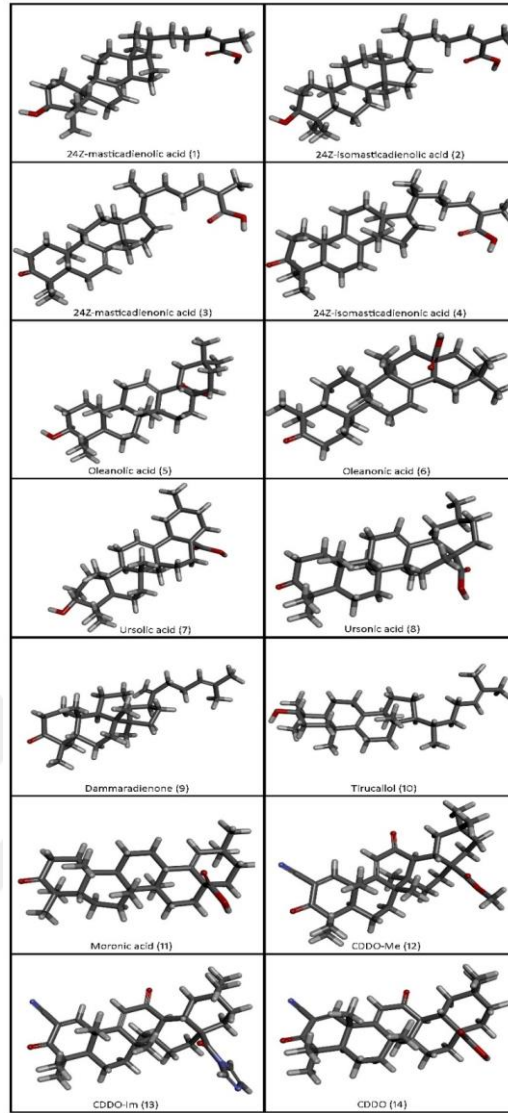
Bununla birlikte, literatürde *P. lentiscus* L. bitkisi üzerine aksenik sürgün kültürlerine doğal ve yapay elisitör uygulamaları yapılmak suretiyle ikincil metabolit üretiminin artırılmasına yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Sakız ağacının, farklı dokuları üzerine yapılan kimyasal analizlerde reçine, yağ asitleri ve terpenoidler gibi ikincil metabolitleri içerdiği bilinmektedir. Ayrıca günümüze kadar yapılan birçok farmakolojik çalışmada, sakız ağacının içeriğinde bulunan metabolitlerin çok sayıda hastalığın tedavisinde (antifungal, antibakteriyal, antimikrobiyal, antiinflamatuar, anti-helicobakter pylorii aktivitesi, antiatherogenik aktivite, antitümör aktivite, yara iyileştirici aktivitesi, karaciğer koruyucu aktivite, antiproliferatif ve proapoptotik aktivite ve tansiyon düşürücü ve antikanser aktivite gibi) kullanıldığı rapor edilmiştir (İmtiyaz ark., 2013; Huwez ark., 1998; Marone ark., 2001; Al-Habbal ark. 1984; Al-Said ark. 1986; Balan ark., 2007; Assimopoulou ve Papageorgiou, 2005; Kaliora ark., 2007; Andrikopoulos ark., 2003 ve Akdemir ve ark. 2013). Sakız reçinesi, sakız ağacının gövdesinde yapılan çiziklerden damlacıklar halinde sızan aromatik bir bileşiktir (Dalby, 2003).

Avrupa sağlık ajansının en son yaptığı sakız reçinesi üzerine değerlendirme raporuna göre sakız reçinesi kimyasal içeriği (Anonim, 2015):

Doğal polimerler (Vander Berg ve ark., 1998). Triterpenler (tetrasiklik euphane- ve dammarane skeleton tip ve mastik asit, isomastik asit, oleanolik asit, tirucallol vb. gibi lupane skeleton ve pentasiklik oleanane tip), Monoterpen hidrokarbonlar, %20 oksitlenmiş monoterpenler ve sesquiterpenler, Polifenoller ve fitositorellerden oluşur.

Sakız ağacının reçine ve yaprak gibi diğer kısımlarında bulunduğu tespit edilen antikanser ve antihelikobakter aktivitesi gösterdiği bilinen kimyasal bileşiklerin (oleanonic acid, moronic acid, 24Z-masticadienonic acid, 24Z-isomasticadienonic acid, 24Z-masticadienolic acid, 24Z-isomasticadienolic asit) biyoteknolojik yöntemlerle üretilmesi mümkündür. Sakız reçinesi içinde bulunan aktif antikanser özellik gösteren bileşenlerin (masticadienonic asit, 3 α -hydroxymasticadienolic asit, 24,25-S-dihydromasticadienonic asit ve masticadienolic asit) 5 farklı kanser tipini inhibe ettiği rapor edilmiştir (Chavez ark., 2005; Giaginis, 2011). Sakız reçinesinden, yağından ve diğer ekstraktlarından elde edilen triterpenoid bileşiklerin 3 boyutlu yapıları **Şekil 1.4**'de verilmiştir.



Şekil 1.4. Sakız reçinesinden, yağından ve diğer ekstraktlarından izole edilen doğal triterpenoidler (1-11) ve sentetik analogları [2-cyano-3,12-dioxoolean-1,9-dien-28-oic asit (CDDO)] (12-14).

Oleanonik asit, ursonik asit, ursolik asit, ve 3-okzofriedelan-28-oik asiti içeren iyi bilinen 9 tane triterpen de incelenmiştir (Chiang ve ark., 2005). Ursolik asit DNA'yı oksidatif hasardan korumasının ötesinde aynı zamanda Caco-2 hücrelerinin tamir aktivitesini artırır, bu da olası bir antikanser mekanizmasını önermektedir (Ramos ve ark., 2010). Ursolik asit H₂O₂ ile oluşturulan DNA hasarına karşı koruyucu bir etki meydana getirdiği bildirilmiştir (Ramos ve ark., 2010). Hem sentetik hem de doğal olarak oluşan triterpen analoglarının antikanser aktivitesi değerlendirildiği çok sayıda çalışma rapor edilmiştir (Liby ve ark., 2007; Setzer ve Setzer, 2003; Kress ve ark., 2007; Sun, 2008; Petronelli ve ark., 2009). 2-siyano-3,12-diokzoolean-1,9-dien-28-oik asit (CDDO) ve C-28 metil ester (CDDO-Me) ve imidazol (CDDO-Im) gibi Oleanolik

asitin ve ursolik asit triterpenoidlerinin sentetik türevleri yüksek antitümör aktivite gücüne ve normal dokularda düşük toksisiteye sahip olmasıyla karakterize edilen yeni anti-kanser terapötik maddelerin son derece güçlü bir sınıfı olarak kabul edilmiştir (Liby ve ark., 2007; Setzer ve Setzer, 2003; Kress ve ark., 2007; Sun, 2008; Petronelli ve ark., 2009). CDDO' türevlerinin kimyasal yapısı **Şekil 1.4**'de verilmiştir. CDDO türevleriyle ilgili şimdiye kadar ki en kapsamlı bilgi lösemi, multipl miyeloma, osteosarkom, meme, akciğer, kolorektal, prostat, beyin ve pankreas kanseri tümör hücreleri dahil olmak üzere farklı tipteki tümör hücrelerine karşı güçlü bir antikanser etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca sakız yağının antimikrobiyal aktivitesine önemli katkıda bulunduğu bilinen Verbenone, α -terpineol ve linalool gibi çok sayıda iz bileşende bulunmuştur. Sakız reçinesinin %3'ünün esansiyel yağ, %25'inin polimer poli β -myrcene ve % 72'sinin polimer içermeyen sakız ekstraktından meydana geldiği bildirilmiştir (Sarantinidis ve Smyrnioudis, 2011). Ayrıca polimer içermeyen sakız reçinesi ekstraktının 3 farklı fraksiyona sahip olduğu rapor edilmiştir: (1) Doğal polimerler; poly- β -myrcene, (2) asidik fraksiyonlar; triterpenler gibi asidik maddeler bu gruptandır, oleanonic acid, moronic acid, 24Z-masticadienonic acid, 24Z-isomasticadienonic acid, 24Z-masticadienolic acid, 24Z-isomasticadienolic acid bunlara örnektir (3) Nötral fraksiyonlar, triterpenik aldehit ve alkoller gibi nötral bileşikler olup bunlara tirucallol, dammaradienone, 28-norolean-12-en-3-one, oleanonic aldehyde, oleanolic aldehyde örnek olarak verilebilir. Bunun yanısıra sakız reçinesi üzerine yapılan analizler sonucu, çoğunluğu antikanser aktivitesi gösteren çok sayıda uçucu ve uçucu olmayan bileşenler **Çizelge 1**'de verilmiştir (Sarantinidis ve Smyrnioudis, 2011). Yapılan çalışmaya göre sakız (yağının) anti bakteriyel bileşenlerinin verbenone, α -terpineol ve linalool olduğu ve bu bileşenler ve poly- β -myrcene'nin aynı zamanda sakız reçinesine yapışkanlık özelliği veren bileşenler olduğu da vurgulanmıştır. Bununla birlikte, sakız reçinesinin asidik fraksiyonlarında ayrı ayrı bulunan, asidik bileşiklerden seçilen izole edilmiş bileşimlerin çeşitli kanser tiplerine karşı tedavi edici etkileri ortaya konmuştur.

1.5. Biyoteknolojik Yöntemlerle Çoğaltım

Bir bitkiden alınan ve tam bir bitkiyi meydana getirme yeteneğine sahip bitki kısımlarından (kök, gövde, embriyo, sürgün) yapay besin ortamında ve aseptik koşullarda yeni bitkilerin elde edilmesine mikroçoğaltım denir. Bitkilerin in vitro üretimi, kullanılan eksplantın özelliğine göre (embriyo, meristem, kallus, hücre, protoplast kültürü) adlandırılır. Bitki doku kültürü teknikleri, geleneksel çoğaltımda

(aşılama ve çoğaltım) karşılaşılan zorlukların giderilmesi için de kullanılmaktadır (Cheong, 2012).

Belirtilen biyoteknolojik üretim tekniklerin uygulanmasıyla, sakız ağacının üyesi olduğu *Pistacia* cinsinin bazı türlerde *P. vera* L. (Barghchi ve Alderson, 1985; Onay ve ark., 1995; Tilkat ve Onay, 2009; Akdemir ve ark., 2014), *P. khinjuk* Stocks (Barghchi, 1986; Tilkat ve ark., 2005; Akdemir ve ark., 2014), *P. terebinthus* L. (Pontikis, 1984; Nacheva ve ark., 2010), *P. atlantica* Desf. (Çetiner ve ark., 1997; Onay, 1998; Akdemir ve ark., 2014), *P. mutica* (Barghchi 1982; 1986b; Ghoraishi, 2006), *P. integerrima* (Çetiner ve ark., 1997) ve *P. palaestina* Boiss (Barghchi 1982, 1986b) ait başarılı çalışmalara rastlanmaktadır. Bununla birlikte tez konusunu oluşturan *P. lentiscus*' a ait yapılan biyoteknolojik çalışmalar son yıllarda literatürde yer almaktadır (Yıldırım, 2012; Onay ve ark., 2014; Kılınç ve ark., 2015).

Bitki, hücre, doku ve organ kültürü teknikleri, türlerin hızlı klonal çoğaltımı, genetik olarak manipüle edilen üstün klonların rejenerasyonu, genetik kaynaklar korunması, sekonder metabolitlerin üretimi ve değerli bitki çeşitliliğinin ex vitro muhafazasında önemli bir rol oynamaktadır (Anis ve ark., 2009; Anis ve ark., 2011). Ayrıca bu teknikler, bitki ıslah çalışmalarında ve bu bileşiklerin biyosentez miktarlarının artırılması çalışmalarında geleneksel yöntemlere ek ve alternatif bir araç olarak da kullanılır. Geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığında, bitki hücre ve organ kültürlerinde sekonder metabolitlerin biyoteknolojik olarak üretimi cazip bir alternatif yol olarak karşımıza çıkmaktadır (Skrzypczak–Pietraszek ve ark., 2014). Özellikle belirli bitkilere ait olan önemli bileşikler, bitki hücre, doku ve organ kültürleri kullanılarak elde edilebilmektedir (Verpoorte ve ark., 2002). Hücre, doku ve organ kültürlerinin, klasik yöntemlere oranla hızlı çoğalma oranlarına sahip oluşu ve biyosentez döngüsü bakımından daha kısa süre gerektirmeleri, daha yüksek bir metabolizma oranı sağlamaktadır (Rao ve ark., 2002).

Son yıllarda, biyokütle birikimi ve hücre hatlarının iyileştirilmesi, besi ortamı optimizasyonu, elisitasyon, öncül metabolit eklenmesi, metabolik mühendisliği, permeabilizasyon, immobilizasyon ve biyotransformasyon, biyoreaktör sistemlerinde mikroçoğaltım yöntemleri gibi sekonder bileşiklerin sentezi için çeşitli yeni stratejiler geliştirilmiştir.

Klasik yöntemlerle, ikincil metabolitlerin üretilmesinde birçok dezavantaj (düşük üretim ve çevre şartlarına göre değişken üretim) bulunmaktadır (Murthy ve ark., 2014).

Özellikle, sakız ağacının çoğaltımında tohumlar kullanıldığından (Çeliklerin köklenme oranı düşük olmakta ya da hiç olmamakta), değişik genotiplerin ortaya çıkması ve sakız üretiminde kalitatif ve kantitatif farklılıkların oluşması söz konusudur. Bu gibi sorunların üstesinden gelmek ve ikincil metabolit üretimini arttırmak için biyoteknolojik yöntemlerden (bitki hücre kültürleri vb.) yararlanılmaktadır (Ramachandra Rao ve Ravishankar, 2002; Murthy ve ark., 2014). Bitki doku ve hücre kültürü yöntemleri, ikincil metabolitlerin sentezi ve üretiminin arttırılması için alternatif bir yaklaşımdır.

Bu bağlamda sakız bitkisi ekstraktlarında doğal olarak bulunan antikanser ve Antihelikobakter etki gösterdiği bilinen triterpenoidlerin (özellikle oleanonic asit, moronic asit, 24Z-masticadienonic asit, 24Z-isomasticadienonic asit, 24Z-masticadienolic asit, 24Z-isomasticadienolic asitin) biyoteknolojik metotlarla miktarlarının arttırılabilmesi için, juvenil sakız ağacı (*Pistacia lentiscus* L.) sürgün kültürlerine elisitör uygulamalarının etkisinin belirlenmesi tez çalışmasının amacını oluşturmaktadır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Vasconsuelo ve ark., (2003) Yapılan bu çalışmada *Rubia tinctorum* L.(kökboya) bitkisinde kitosanın (elisitör) antarakinon üretimi üzerindeki sinyal mekanizmasını araştırmışlardır. *Rubia tinctorum*'da kitosanın, antrakininon sentezini % 100'e yakın seviyede önemli derecede uyardığını ve fosfolipaz C, Ca^{+2} ve protein kinaz C'nin inhibisyonunun ise, kitosanın aktivasyonunu büyük oranda düşürdüğünü, sonuç olarak *Rubia tinctorum* L. bitkisine kitosan uygulamasının antrokinon üretimini artırmasında fosfolipaz C, Ca^{+2} ve protein kinaz C'nin önemli rolü olduğunu bildirmişlerdir.

Yaoya ve ark., (2004) Yaptıkları çalışmada *Pharbitis nil*'in($CuSO_4$ ve MeJA muamele edilmiş saçak kök kültürlerinde umbelliferon, skopoletin, skimmin ürettiğini rapor etmişlerdir. $CuSO_4$ uygulamasından 16 saat sonra umbelliferon üretiminin maksimum düzeye ulaştığı, diğer bileşiklerin üretiminin ise azaldığı minimum seviyenin ise uygulamadan 8 saat sonra oluştuğu belirlenmiştir.

Aziz ve ark., (2006) Kitosan oligomerleri (CHN 1,5/20) ve bakır sülfat uygulamalarının üzümde gri ve tüylü küflere karşı savunma mekanizmasını uyarması üzerine yaptıkları çalışmada en yüksek fitoaleksinin üretimini % 20 deasetilasyon derecesine sahip 1500 Da molekül ağırlığında 200 µg/ml kitosan içeren besi ortamında 48 saatlik inkübasyon sonunda elde edilmiştir. Üzüm yapraklarında kitosan uygulaması kitinaz ve beta-1,3-glukanaz aktivitesinin belirgin bir şekilde indüklenmesine yol açtığı bildirilmiştir. Kitosanın bakır sülfat ile birlikte uygulanmasının şiddetli bir şekilde fitoaleksinin birikimini uyardığı bildirilmiştir. Bakır sülfatın özellikle düşük konsantrasyonlarda tek başına kullanımı dahi asma yapraklarında önemli seviyede fitoaleksinin üretimine yol açtığı rapor edilmiştir. Sonuç olarak asma yapraklarında bakır sülfat ve kitosan uygulamalarının küflerin meydana getirdiği enfeksiyona karşı koruma sağladığı da belirtilmiştir.

Perassolo, (2007) *Rubia tinctorum* süspansiyon kültürlerinde antrakininon (AQ) üretimi üzerine prolin ve aminoindan-2-fosfonik asidin (AIP) etkisini araştırmışlardır. Kültür ortamına 0.25 mM prolin veya 100 µM AIP ilavesinin, *R. tinctorum* süspansiyon kültürlerinde AQ biyosentezini % 50'ye kadar arttırdığını tespit etmişlerdir. Fenilalanin amonyum liyaz (PAL) aktivitesinin prolin varlığında daha yüksek olduğu ancak bu durumun fenolik asit içeriğinde herhangi bir değişikliğe yol açmadığını, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PDH) aktivitesinin de prolin uygulamasından etkilenmediğini

belirtmişlerdir. Protein ile tedavi edilen hücre kültürlerinde AIP ilavesi, PAL inhibisyonu ve düşük fenolik asit içeriği seviyelerini üretmiştir. Bu sonuçlar, *R. tinctorum* süspansiyon kültüründeki AQ seviyesinin metabolik manipülasyonla ve ortak bir substrat için AQ'larla rekabet eden metabolik yolların kilit enzimlerinin inhibisyonuyla artırılmasının mümkün olduğunu göstermektedir. AIP uygulamasının PAL inhibisyonuna ve fenolik asit seviyesinin ise düşmesine yol açtığı bildirilmiştir.

Dewir ark., (2010) *Panax ginseng*'de biyokütle birikimini ve ginsenosid üretimini arttırmak için elisitör olarak kullanılan farklı çoklu doymamış yağ asitleri ile ilgili çalışmalarında, bitkinin adventif kök kültürlerini, sırasıyla 0, 1, 5, 10 veya 50 µmol/l konsantrasyonlarında oleik ve linolenik asit ile elisite etmişlerdir. Kültürün 40. gününde adventif kökler ortamına elisitör eklendiği ve 47. gününde köklerin toplandığı araştırmada, oleik asit ilavesinin kök biyokütle ve ginsenosid birikimini azalttığını, ancak 1 µmol/l linolenik asit ilavesinin kök biyokütlesi azalmasına yol açmadan ginsenosid birikimi arttırdığını bildirmişlerdir. Linolenik asit uygulamasının hem protopanksadiol (2.95 ± 0.048 mg/g DW) hem de protopanksadiollerin (5.66 ± 0.043 mg/g DW) biyosentezini kontrol grubundaki seviyelerine oranla (1.41 ± 0.002 mg/g DW ve 1.58 ± 0.006 mg/g DW) arttırdığını belirtmişlerdir.

Acharya ve ark., (2011) *Rapidos sativus* L.'de araşidonik asit, bakır klorür, kitosan, izonikotinic asit ve salisilik asit gibi abiyotik elisitörler kullanılarak bitkinin yapraklarına püskürtüldükten 24 saat sonra, nitrik oksit (NO), b-1,3 glukanaz, peroksidaz, polifenol oksidaz ve fenoliklerde önemli bir artış olduğu bildirilmiştir.

Raghavendra ve ark., (2011) *Mucuna pruriens* (kadife fasulye) bitkisinde bulunan yüksek derecede aktif bir allelokimyasal olan ve Parkinson hastalığının tanısında nörotransmitter bir öncül olarak kullanılan L-Dopa (3,4-dihidroksi-L-fenilalanin) 'nın bazı elisitörler aracılığıyla enzim üretimi üzerine yaptıkları araştırmada öncelikle 6-benzilaminopurin (BAP) ve indol asetik asit (IAA) ile destekli MS besi ortamında süspansiyon kültürünü başlatmışlardır. Elisitör olarak farklı konsantrasyonlarda MeJA, kitin, pektin, maya ekstraktı ve L-tirozin öncüllerini kullanmışlardır. Elisitör muamele edilen kültürlerden kontrol grubuna oranla daha yüksek konsantrasyonlarda L-Dopa üretildiğini tespit etmişlerdir.

Krzyzanowska ve ark., (2011) *Mentha piperita*'nın (nane) hücre süspansiyon kültürlerinde jasmonik asit ve metil jasmonat olmak üzere 2 farklı elisitörün biyokütle ve rosmarinik asit (RA) birikimi üzerine etkilerini incelemişlerdir. En yüksek

rosmarinik asit birikiminin 117.95 mg/g KA (% 12 KA) olduğu ve 100 µM metil jasmonat ilavesinden 24 saat sonra ölçüldüğü, 200 µM jasmonik asit uygulamasından 48 saat sonra ise yine benzer bir konsantrasyonla 110.12 mg/g KA elde edildiği ve bu değerlerin kontrol grubuna oranla yaklaşık 1,5 kat yüksek olduğu ancak elisitör uygulanan kültürlerin düşük biyokütle birikimine sahip oldukları bildirilmiştir.

Al-Jibouri ve ark., (2012) Yaptıkları çalışmada *Origanum vulgare* L.'nin (kekik) kallus kültürlerini 2,4-Diklorofenoksi asetik asit (2,4-D), Naftalin asetik asit (NAA), Benzil Adenin (BA) ve Kinetin (Kn) içeren Murashige ve Skoog (MS) ortamında ve karanlık şartlarda başlatmışlar ve çalışmada abiyotik elisitörlerin(50 g / L sukroz, 200 mg / L NaCl ve 50 veya 100 mg / L prolin) tymol üretimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Altı hafta sonra kallusların taze ve kuru ağırlıklarını kaydettikleri çalışmada elisitör uygulanan kültürlerin taze ağırlığında kontrol grubuna oranla önemli seviyede azalma meydana geldiği, kontrol grubunda tymol konsantrasyonunun 146.6 ppm seviyesinde olduğu 50 veya 100 mg / L prolin uygulamasının en yüksek tymol oluşumuna yol açtığı bunu sırasıyla sukroz uygulamasının takip ettiğini ancak tuz uygulamasının kontrol grubuna oranla tymol üretimini % 50.56 oranında azalttığını bildirmişlerdir.

Baque ve ark., (2012) Yaptıkları çalışmada, *Morinda citrifolia* (noni) bitkisinin adventif kök süspansiyon kültürlerinde kitosan ve pektin elisitörlerinin bitkideki antrakınonlar (AQ), fenolikler ve flavonoidlerin birikimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Kitosan ve pektininin çeşitli kombinasyonları ile tek başına kitosan uygulamasının sekonder metabolitlerin biyosentezini arttırdığını ancak kök büyümesini inhibe ettiğini, maksimum kök büyümesine ait inhibisyonun, %36-79 hücre ölümü ile elisitörlerin ölümcül etkisine bağlı olabileceğini, optimum metabolit biyosentezini arttırmak için en uygun elisitör konsantrasyonun 0.2 mg/ml kitosan olduğu ve bu konsantrasyondan sırasıyla, AQ, fenolik ve flavonoidlerin 103.16, 48.57 ve 75.32 mg g⁻¹ kuru ağırlığa sahip olduğunu gözlemişlerdir. Kültürün 28'inci gününde iki günlük 0.2 mg ml⁻¹ kitosan elisitasyonundan sonra kök büyümesinin düşük seviyede azalma göstermesine rağmen AQ, fenolik ve flavonoid birikimi bakımından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sırasıyla %45, %8 ve %12 oranında artış gösterdiği rapor edilmiştir.

Yamaner ve ark., (2013) *Hypericum adenotrichum* Spach'ın (kızılcıkotu) invitro fidelerinde mannan ve pektinin hiperisin biyosentezi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. *H. adenotrichum* fidelerini, 15 ve 30 gün boyunca mannan (10, 50 ve

100 mg/L) veya pektin (10, 50 ve 100 mg/L) içeren modifiye bir MS ortamında yetiştirmişlerdir. En iyi sonuçların 15 gün boyunca 50 mg/L mannan veya pektine maruz bırakıldıktan sonra elde edildiğini, mannan uygulamasının psödohiperisin ve hiperisin üretimini sırasıyla 2,8 ve 1,7 kata kadar arttırırken, pektin uygulamasının ise, sırasıyla 4.8 ve 2,7 katına kadar arttırdığını belirtmişlerdir.

Zare ve ark., (2014) *Papaver bracteatum* (adamağusu) bitkisinin hücre süspansiyon kültürlerinde elisitör olarak MeJA ve Ultra ses dalgalarının ayrı ayrı ve L-tirozin ile kombinasyon halinde tebain üretimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. L-tirozin ilavesinin hücre biyokütlesinde önemli değişikliklere yol açmadığını ancak kontrol grubuna oranla tebain üretimini önemli seviyede arttırdığını, MeJA (100 uM) ve L-tirozin (2 mM) kombinasyonu uygulamasının ise uygulamadan altı gün sonra tebain miktarını 84.62 mg/l seviyesine kadar arttırdığını, 20 s ultra ses dalgası uygulamasının ise biyokütle ve hücre büyümesini önemli derecede azalttığını ancak tebain üretimini uygulamadan sonraki altıncı günde 39.60 mg seviyesine yükselttiğini rapor etmişlerdir. Bunun yanı sıra 10 s ultra ses dalgası ile 2 mM L-tirozin kombinasyonu uygulamasının sadece 2 mM L-tirozin ya da sadece 10 s ses dalgası uygulamalarına oranla çok daha yüksek tebain üretimine yol açtığını da belirtmişlerdir.

Nartop ve ark., (2015) *Astragalus trojanus* Stev.,'a (Çanak kale geveni) ait tohumları in vitro koşullarda çimlendirmiş en yüksek rejenerasyon kapasitesine sahip 3 klonu ait gövde ve yaprak eksplantlarını farklı BBD (kinetin, NAA, 2,4-D, TDZ ve IAA) içeren besin ortamlarında), çevre koşulları (1000 ve 4000 lux ışık ve karanlık) besin ortamı bileşimlerine (MS ve WPM) maruz bırakarak kallus oluşturma kapasitelerini araştırmış ve hem MS hem de WPM besin ortamlarının kallus oluşumunu tetiklediğini bildirmiştir. Gövde eksplantlarında yaprak eksplantlarına göre daha yüksek miktarlarda kallus rejenerasyonu olduğunu 4 ve 8 mg/L 2,4-D içeren WPM besin ortamlarında %100 kallus oluşumu tespit ettiğini, 100 µg/L selenyum ve iki kat WPM vitaminlerinin eklenmesiyle karanlık koşullarda kallus biyokütlesinin (78 mg) arttığını rapor etmiştir. Hücre süspansiyon kültürlerinde farklı elisitörler (MeJA, jasmonik asit, salisilik asit ve pektin) ve prekürsör (β -sitosterol) uygulamasını yaptığını, süspanse hücrelerde, 50 mM MeJA ile elisite edilmiş kültürlerin 14. gününde en yüksek astragalozit-IV içeriği, en yüksek 18 sikloastragenol içeriği 50 mM jasmonik asit eklenen kültürlerin 28. gününde saptadığını rapor etmişler.

Pratibha ve ark., (2015) Prolin ve polietilen glikol (PEG) ün elisitör olarak kullanıldığı *Stevia rebaudiana*'nın (şekerotu) kallus ve süspansiyon kültüründe, steviol glikozitlerinin (SGs) üretimi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada 5 mM prolin ve % 5 PEG ilavesinin Kallus ve süspansiyon kültürlerinde biyokütle miktarını arttırdığını ancak bu elisitörlerin daha yüksek konsantrasyonlarının ise biyokütle miktarını azalttığını tespit etmişlerdir. Kimyasal stres uygulamasının SGs lerin üretimini arttırdığını, kallus kültürlerinde 7.5 mM prolin ve % 5 PEG uygulamasının sırasıyla SGs miktarını % 1.09 ve % 1.83'e yükselttiğini bunun yanı sıra süspansiyon kültürlerinde yine aynı konsantrasyonda prolin ve PEG uygulamasının onuncu günde SGs seviyesini sırasıyla 3.7 kat (% 5.03) ve 4.7 kat (% 6.38) arttırdığını bildirmişlerdir.

Anusha ve ark., (2016) *Celastrus paniculatus* bitkisinin yaprak eksplantlarından 1,5 mg/l 2,4-D ve 1 mg/l NAA ile destekli MS besi ortamında kallus kültürleri başlatılmış, kallus kültürlerine elisitör olarak jasmonik asit eklenmek suretiyle fenolik bileşenlerin miktarlarının arttırıldığı da rapor edilmişlerdir.

Çetin ve Baydar, (2016) Bu çalışmada üzüm bitkisine (*Vitis vinifera* L.) ait Kalecik Karası ve Öküzgözü çeşitleri hücre süspansiyon kültürlerinde fenolik bileşiklerin üretimi üzerine 0.1 ve 1.5 mg/l kadmiyum sülfat ($CdSO_4$), 0 ve 10 μM metil jasmonat ve 0, 0.20 ve 0.25 M sakkaroz uygulamalarının etkilerini araştırmışlardır. 1.5 mg/l $CdSO_4$ ve 1.0 mg/l MeJA uygulamasının iki kültürlerde de en yüksek fenolik üretime, özellikle Kalecik Karası'nın 1.5 mg/l $CdSO_4$ uygulaması en yüksek toplam fenolik (3.144 mg/g antosiyanin ($1.672 CV g^{-1}$) ve trans-resveratrol (3.650 $\mu g/g$) oluşumuna, 10 μM 'de MeJA uygulamasının Öküzgözü'nde en yüksek trans-resveratrol birikimine (11.681 $\mu g/g$) ve 0.20 M sukroz uygulamasının Kalecik Karası'nda en yüksek toplam fenolik (4.215 mg/g) ve trans-resveratrol (7.550 $\mu g/g$) ile en çok antosiyanin oluşumuna yol açtığını belirtmişlerdir.

Gabr ve ark., (2016) Devedikeni (*Silymarin marinum*) bitkisinin yaprak eksplantlarından 5 mg/l NAA, 2 mg/l Kin ve 0.1 mg/l GA_3 ile desteklenmiş MS ortamında başlatılan kallus kültürlerinde 20, 40 ve 80 mg/l MeJA uygulamasının silimarin ve fenolik bileşik birikimini yüksek oranda arttırdığı ve kontrol gruplarında tespit edilmeyen Silybin A & B birikimini uyardığı rapor edilmiştir.

Li ve ark., (2016) Yaptıkları bir çalışmada, patojenik bir mantar olan *Fusarium sambucinum*'dan izole ettikleri kitosan ve oligokitosanın, *Z. bungeanum* bitkisinin

savunma sistemini tetikleyen bir faktör olarak hareket ederek, bitki hücrelerinde sekonder metabolizmayı aktifleştirdiği rapor edilmişlerdir.

Sirhindi ve ark., (2017) Bu çalışmada 130 mM tuz stresine maruz bıraktıkları 7 günlük *Vigna radiata* (maş fasulyesi) fidelerinde jasmonik asit (JA) 'nın toplam fenolik, flavonoid bileşiklerin kantitatif ve kalitatif analizi ile fizyo-biyokimyasal özellikleri ve fenilalanin amonyum liyaz (PAL) aktivitesi üzerindeki etkisini incelemişler. Sonuç olarak tuz uygulamasının kök ve sürgün uzunluğunu ve klorofil içeriğini azalttığını, fakat JA'nın eksojen uygulamasının hem kök hem de sürgün uzunluğunu iyileştirdiğini ve PAL aktivitesini arttırdığını, böylece toplam fenol ve flavonoid seviyelerini de yükselttiğini bildirmişlerdir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitkisel materyal

Sakız bitkisi için materyal kaynağı olarak, İzmir'in Çeşme ilçesinde bulunan Çiftlikköy beldesi civarında doğal olarak yetişen ve iyi sakız verdiği bilinen diş ağaçlarından elde edilen tohumlar kullanılmıştır. Tohumlar kültür başlatma çalışmaları için, kuru plastik kaplar içinde laboratuvara getirilerek kültüre alınana kadar +4°C' ta buzdolabında muhafaza edilmiştir (Şekil 3.1 A,B).



Şekil 3.1. (A) Diş sakız ağacına ait meyveler, (B) mezokarpı uzaklaştırılmış meyveler

3.2. Yöntem

3.2.1. Doku kültürü ön hazırlık uygulamaları

3.2.1.1. Sterilizasyon işlemleri ve besi ortamlarının hazırlanması

In vitro çalışmalarda kullanılan malzemelerin steril olması kontaminasyon riskini azalttığı ve başarılı sonuçlar elde etmede büyük önem taşıdığından çalışma öncesinde ekipmanların özelliklerine göre steril edildi.

Kültür odasına girilmeden bir gün önce; steril kabin içi ve dış yüzeyi %96'lık alkol ile temizlenerek, odanın kapı, raf, taban vs. gibi yerler seyreltilmiş NaOCI ile temizlendikten sonra zaman ayarlı ultraviyole (UV) lambası açılarak gece 2-3 saat çalışması sağlanarak odanın genel sterilizasyonu tamamlandı. Cam malzemeler (erlenmayer, cam şişe, mezür, balon joje, pipet vb.) sadece sıcak su kullanılarak fırça yardımıyla temizlendi. Daha sonra üç defa saf sudan geçirilerek 180°C'de etüvde 3 saat bekletilmek suretiyle sterilizasyonu tamamlandı. Çalışmada kullanılan pens ve bisturiler ise %96'lık etil alkol ile temizlendikten sonra cam boncuklu sterilizatörde (Steri 350 swiss made) 10 sn. süre ile 250°C'de sterilize edildi. Magenta GA-7 kültür kapları ise,

121°C’de, 1 atm. basınç altında, 25 dakika süre ile otoklavda sterilize edildi. Distile sular 121°C’de 15 psi basınç altında 3 saat boyunca etüvde bekletilerek sterilize edildi.

Bitki büyüme odası 40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ yoğunluktaki ışık şiddetine sahip olup, ortam sıcaklığını 25±2 °C’de sabit tutan bir sıcaklık kontrol sistemi (klima ve termostat) bulunmaktadır. Fotoperiyot; bir zaman ayarlayıcı ile 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık olacak biçimde ayarlanmış ve beyaz flüoresan lambalar kullanıldı. Besi ortamları hazırlanırken önceden oluşturulmuş stok çözeltilerden 1 litre için gerekli miktarlar alınarak behere aktarıldı sonra gerekli bitki büyüme düzenleyici miktarları eklendi. Üzerine 30 g süzkroz eklenip eritildi, hacim distile su ile 1 litreye tamamlandı. Sonra ortamın pH’sı seyreltilmiş NaOH (sodyum hidroksit) veya HCl (hidrojen klorür) kullanılarak 5.8’e ayarlandı. 6.4 gr agar ilave edildikten kültür kaplarına yaklaşık 50’şer ml olmak üzere döküldü. Kapakları kapatılan kültür kapları, 121°C’de 15 dk. otoklava bırakılarak sterilize edildi.

3.2.1.2. Bitki büyüme düzenleyicilerinin stok çözeltilerinin hazırlanması

Bitki büyüme düzenleyicilerine (BAP-IBA) ait stok çözeltilerin hazırlanması için, ihtiyaç duyulan miktarlar tartıldı. Stok çözeltiler genellikle mg/ml konsantrasyonlarında hazırlandı. Tartımdan sonra 50 ya da 100 ml steril balon jöjelere aktarıldı. Sonra her madde 5-10 ml kadar 1N HCl içinde küçük magnetik karıştırıcılarla birlikte çözdürüldü. IBA ise 5-10 ml’lik alkolde eritildi. Eritilen BBD steril saf suyla 50 ml ya da 100 ml’ye tamamlanarak homojenize edildi. Bazı bitki büyüme düzenleyicileri (IBA) sıcakta bozulacağı için filtre ile sterilize edildikten sonra besi ortamına ilave edildi. Büyüme maddelerine ait stok çözeltiler buzdolabında 4°C’de saklandı ve rutin bir şekilde, kullanım yoğunluğuna bağlı olarak uygun periyotlarla taze olarak hazırlandı.

3.2.1.3. Kullanılan besi ortamı içeriği

Yapılan çalışmalarda MS (Murashige ve Skoog, 1962) besi ortamı modifiye edilerek kullanıldı. Besi ortamı 6.4 g/l agar ile desteklendi. Kullanılan besi ortamlarına ait stok çözeltilerin hazırlanması ve bitki büyüme düzenleyicilerinin konsantrasyonları ve 1L MS besi ortamının hazırlanması ile ilgili bilgiler aşağıda verilmiştir (**Çizelge 3.1., 3.2. ve 3.3.**).

Çizelge 3.1. MS besi ortamının hazırlanmasında kullanılan stok solüsyonlar ve miktarları

MS MakroElementler Ana Solüsyonu	
NH ₄ NO	16.5g
KNO ₃	19.0 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	4.4 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	3.7 g
KH ₂ PO ₄	1.7 g
Steril saf su	1000 ml'ye tamamlanır.

MS Mikro Elementler-1 Ana Solüsyonu	
H ₃ BO ₃	620 mg
MnSO ₄ .4H ₂ O	1695 mg
ZnSO ₄ .7H ₂ O	860 mg
KI	83 mg
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	25 mg
Steril saf su	1000 ml'ye tamamlanır.

MS Mikro Elementler-2 Ana Solüsyonu	
CuSO ₄ .5H ₂ O	25 mg
CoCl ₂ . 6H ₂ O	25 mg
Steril saf su	200 ml'ye tamamlanır.

Kompleks Kelatör Ana Solüsyonu	
FeSO ₄ .7H ₂ O	3.725 g
Na ₂ EDTA	2.785 g
Steril saf su	1000 ml'ye tamamlanır.

Vitamin Karışımı Ana Solüsyonu	
Nikotinik Asit	50 mg
Glisin	200 mg
Piridoksin HCl	50 mg
Steril saf su	100 ml'ye tamamlanır.

B1 Vitamini Ana Solüsyonu	
Tiamin HCl	10 mg
Steril saf su	100 ml'ye tamamlanır.

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

Çizelge 3.2. Besi ortamlarına ilave edilen bitki büyüme düzenleyicilerinin tip ve çeşitleri.

BAP (6-Benzylaminopürin) Ana Solüsyonu (10⁻³)	
BAP	100 mg
1N NaOH	2-3 ml
Steril saf su	100 ml'ye tamamlanır.

IBA (Indol-3 butirik asit) Ana Solüsyonu (10⁻³)	
IBA	100 mg
% 95 lik Etil Alkol	3-5 ml
Steril saf su	100 ml'ye tamamlanır.

GA₃ (Gibberelik asit) Ana Solüsyonu

GA ₃	100 mg
3-5cc	%95'lik etil alkol
Steril saf su	100 ml'ye tamamlanır.

Çizelge 3.3. Standart MS besi ortam içeriği* (gl⁻¹)

Temel MS besi ortamının içeriği	
MS ana solüsyonu	100 ml
MS-1	10 ml
MS-2	1ml
Komplex kelatör	10 ml
Vitamin karışımı	1 ml
myo-inositol	10 ml
B1 vit. ana solüsyonu	1 ml
Agar	6.4 g
Sakkaroz	30 g
Steril saf su	1000 ml'ye tamamlanmıştır.

* Tez çalışmasında kullanılan bütün kimyasallar Sigma Ltd.'den alınmıştır.

3.2.2. Doku kültürü uygulamaları

3.2.2.1. Eksplantların yüzey sterilizasyonu

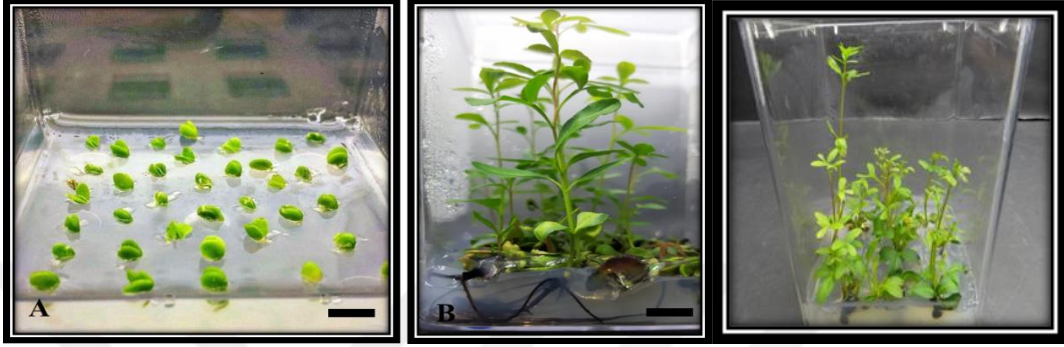
Olgun tohumlar sert kabuklarından bir kırıcı yardımıyla ayrılarak, %20 lik Sodyum hipoklorit (NaOCl-ACE) içerisinde 20 dakika süresince çalkalandıktan sonra, 3 defa 5' er dakika steril distile suda çalkalanarak çamaşır suyundan arındırıldı (Kılınç ve ark., 2015).

3.2.2.2. Tohum çimlendirilmesi ve sürgünlerin proliferasyonu ve muhafazası

Tohumların yüzey sterilizasyonu tamamlandıktan sonra 1 mg/l IBA destekli MS besi ortamında çimlendirilerek (Onay ve ark., 2014), elde edilen aksenik gövdelerin çoğaltımı, 1mg/l BAP, 0.5 mg/l GA₃ ile destekli MS besi ortamında gerçekleştirildi (Kılınç ve ark., 2015). Özetlenecek olursa, juvenil sürgünlerin proliferasyonu için 1 mg/l BAP, 30 g şeker ve 6.4 gr agar içeren MS besi ortamı temel proliferasyon ortamı olarak kullanılarak stok kültürler oluşturuldu.

KBAG 110T941 nolu proje kapsamında olgun ve juvenil sakız ağacı genotiplerinin in vitro rejenerasyon protokolleri tanımlanmıştır (Yıldırım, 2012; Kılınç vd., 2014 ve Onay vd., 2014b). Yüzey sterilizasyonu tamamlanan tohumlar 1 mg/l IBA destekli (Indol Bütirik Asit) MS besi ortamına(Onay ve ark., 2014b), ekildikten sonra 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ve 3000 lux lambalarla aydınlatılan bitki büyütme odasında 28 gün boyunca bekletilerek çimlendirildi. Daha sonra çimlendirilen tohumlardan alınan, aksenik gövde uçları ve nodal tomurcukların çoğaltımı ise, 1mg/l BAP (Benzil Amino Pürin), 0.5 mg/l GA₃ (Giberellik Asit) ile destekli MS besi

ortamında gerçekleştirildi. (Yıldırım, 2012; Onay ve ark., 2014b ve Kılınç ve ark., 2014). Proliferasyon MS (Murashige ve Skoog, 1962) besi ortamında 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ve 3000 lux lambalarla bitki büyütme odasında 28 gün boyunca bekletilerek çoğaltıldı. Tez çalışmamızda kullanılan bitkisel materyaller aşağıda gösterilmiştir (Şekil 3.2 A, B, C).



Şekil 3.2. (A) 1 mg/l IBA destekli MS besi ortamında çimlenmeye bırakılan tohumlar, (B) 4 haftalık kültür süresi sonrasında çimlenen tohumlar, (C) Kültür süresi sonrasında gelişen bitkilerden alınan sürgünlerin 1 mg/l BAP + 0.5 mg/l GA₃ içeren MS besi ortamında çoğaltılmaları.

3.2.2.3. Aksenik sürgün kültürlerine uygulanacak elisitörlerin hazırlanması ve uygulanması

3.2.2.3.1. Elisitörlerin hazırlanması

Elisitör olarak; Jasmonik Asit, Metil Jasmonat, Kitosan, Prolin, Prolin Metil Esteri, Tirozin, E vitamini (α -Tocopherol), *P. khinjuk* Ekstraktı, *P. vera* Ekstraktı, *P. terebinthus* Ekstraktı, *P. lentiscus* Ekstraktı, Mannan, Peptidoglikan, *P.atlantica* ekstraktı, Zimosan A eklendi.

Çizelge 3.1. Eklenen elisitörler ve konsantrasyonları

Elisitör Tipi	Konsantrasyon		
Jasmonik Asit	0.5 mg/l	1 mg/l	2 mg/l
Metil Jasmonat	0.5 mg/l	1 mg/l	2 mg/l
Kitosan	50 mg/l	100 mg/l	200 mg/l
Prolin	50 mg/l	100 mg/l	200 mg/l
Prolin Metil Esteri	50 mg/l	100 mg/l	200 mg/l
Tirozin	50 mg/l	100 mg/l	200 mg/l
E vitamini (α -Tocopherol)	50 mg/l	100 mg/l	200 mg/l
<i>P. khinjuk</i> Ekstraktı	50 mg/l	100 mg/l	200 mg/l
<i>P. vera</i> Ekstraktı	50 mg/l	100 mg/l	200 mg/l
<i>P.terebinthus</i> Ekstraktı	50 mg/l	100 mg/l	200 mg/l
<i>P. lentiscus</i> Ekstraktı	50 mg/l	100 mg/l	200 mg/l
Mannan	50 mg/l	100 mg/l	200 mg/l
Peptidoglikan	1 mg/l	2 mg/l	4 mg/l
<i>P.atlantica</i> ekstraktı	50 mg/l	100mg/l	200 mg/l
Zimosan A	1 mg/l	2 mg/l	4 mg/l

Ayrıca, elisitasyonların uygulanması öncesinde, bazı elisitör tiplerinin hazırlığı aşağıda ifade edildiği şekilde yapıldı. Aşağıda verilen elisitörlerin hepsi Çizelge 1’de belirtilen miktarda besi ortamına otoklav sonrası ilave edildi.

Jasmonik Asit: Yeterli hacimde jasmonik asit %96’lık etil alkolde çözülerek 1 mg/ml konsantrasyonda stok hazırlandı. Hazırlanan stok 0.22 µm lik mikro filtreden geçirilerek steril edildi ve kullanıncaya kadar -20 °C’de saklandı.

Metil Jasmonat: Yeterli hacimde metil jasmonat %96’lık etil alkolde çözülerek 1 mg/ml konsantrasyonda stok hazırlandı. Hazırlanan stok 0.22 µm lik mikro filtreden geçirilerek steril edildi ve kullanıncaya kadar -20 °C’de saklandı.

Kitosan: 50 mg kitosan tartıldı. Konsantrasyon 50 mg/ml olacak şekilde 1 N HCl’te çözülerek, 50 °C’de 2 saat karıştırıldı, akabinde NaOH pelet (yaklaşık 10 tane atıldı) kullanılarak pH’ ı yaklaşık 5.8’e ayarlandı. Ardından 121 °C’de 1.2 atmosfer basınç altında 20 dakika otoklav edilerek kullanıncaya kadar 4 °C’de saklandı.

L-Prolin: 50 mg L- Prolin tartıldı ve NaOH’ de çözülerek 50 mg/ml olacak şekilde stok hazırlanarak pH’sı 5.8 ayarlandı. Hazırlanan stok 0.22 µm lik mikro filtreden geçirilerek steril edilerek kullanıncaya kadar -20 °C’de saklandı.

L-Prolin Metil Esteri: 50 mg L- Prolin Metil Esteri tartıldı ve dH₂O’da çözülerek 50 mg/ml olacak şekilde stok hazırlandı. Hazırlanan stok 0.22 µm lik mikro filtreden geçirilerek steril edilerek kullanıncaya kadar -20 °C’de saklandı.

L-Tirozin: 50 mg L-Tirozin tartıldı ve HCl’de çözülerek 50 mg/ml olacak şekilde stok hazırlanarak pH’sı 5.8 ayarlandı. Hazırlanan stok 0.22 µm lik mikro filtreden geçirilerek steril edilerek kullanıncaya kadar -20 °C’de saklandı.

E vitamini (α-Tokoferol): 50 mg E-Vitamini alınarak EtOH’ da çözülerek 50mg/ml olacak şekilde stok çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan stok 0.22 µm lik mikro filtreden geçirilerek steril edilerek kullanıncaya kadar -20 °C’de saklandı.

Mannan: 50 mg mannan tartıldı ve NAOH da çözülerek 50 mg/ml olacak şekilde stok hazırlanarak pH’sı 5.8 ayarlandı. Hazırlanan stok 0.22 µm lik mikro filtreden geçirilerek steril edilerek kullanıncaya kadar -20 °C’de saklandı.

Peptidoglikan: Yeterli miktarda peptidoglikan tartılıp PBS (Fosfat Tamponlu Tuz) çözeltisinde 1 mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan stok 0.22 µm lik mikro filtreden geçirilerek steril edilerek kullanıncaya kadar -20 °C’de saklandı.

Zimosan A: Yeterli miktarda zimosan A tartılıp %70’lik EtOH’da ilave edilerek 30 dk ısıtıldıktan sonra 1mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan stok

0.22 µm lik mikro filtreden geçirilerek steril edilerek kullanincaya kadar -20 °C'de saklandı.

Pistacia Türlerine Ait Ekstraktlar: Pistacia türlerinin total yağlarından elde edilen ekstraktlar %96'lık EtOH'da 1mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan stoklar 0.22 µm lik mikro filtreden geçirilerek steril edilerek kullanincaya kadar -20 °C'de saklandı.

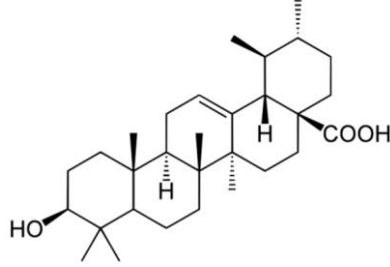
3.2.2.3.2. Elisitörlerin uygulanması

Elisitör uygulamaları için, ortalama 1 cm uzunluğundaki aksenik sürgünler alındı. Sırasıyla 0.5, 1 ve 2 mg/l (Jasmonik Asit, Metil Jasmonat); 1, 2 ve 4 mg/l (Peptidoglikan ve Zimosan A) ve 50, 100 ve 200 mg/l (Kitosan, Prolin, Prolin Metil Esteri, Tirozin, E vitamini (α-Tocopherol), *P. khinjuk* Ekstraktı, *P. vera* Ekstraktı, *P. terebinthus* Ekstraktı, *P. lentiscus* Ekstraktı, Mannan, *P.atlantica* ekstraktı) olmak üzere 3 farklı konsantrasyonda elisitör eklenmiş besi ortamları hazırlandı. 28 günlük kültür periyodu sonrasında gelişen bitkicikler, oda sıcaklığında bekletildikten sonra kurutularak ve gövde ile yaprak kısımları ayrı şekilde triterpen analizleri için oda sıcaklığı koşullarında saklandı. 15 Farklı elisitör ilave edilen besin ortamlarında inkübe edilen sürgünlerin proliferasyon çalışmalarında veriler kültürün 28. gününde toplam 25 eksplantın ortalamasından elde edilmiştir. Yapılan gözlemler ve alınan ölçümler şu şekildedir: Eksplant başına oluşan gövde sayısı, ortalama gövde uzunlukları ve gövde oluşturma kapasitesi (GOK) hesaplanmıştır. $GOK = \text{Rejenere olan eksplant başına oluşan ortalama gövde sayısı} \times \text{rejenere olan eksplant yüzdesi} / 100$.

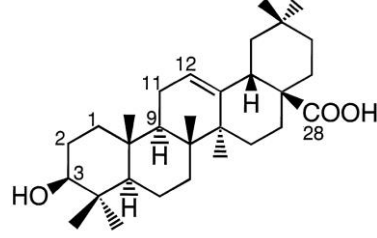
3.2.3. Triterpenlerin genel özellikleri

Triterpenler yapılarında 6 izopren grubu bulunduran bileşiklerdir. 100 farklı fitosterol ve 4000 den fazla diğer tip triterpenleri bulundurur. Çoğu uçucu yağda karışım halinde bulunmaktadır. Asit, alkol, ester, aldehit, keton, fenol ve eter gibi organik fonksiyonel gruplar taşıyabilirler. Oksijen içeren terpen türevleri terpenoid adını alırlar. Uçucu yağların tat ve koku açısından çok önemli, belirgin bazı fizyolojik etkilere sahip, kısmını oluştururlar. Triterpenerin prekürsörü olan skualen iki adet farnesil pirofosfat molekülünün birbirlerine kuyruk-kuyruk konfügirasyonu ile bağlanması ile oluşur. Triterpenler glikozitleri olarak (saponin) veya aglikon olarak (streol, triterpen) bulunurlar. Genellikle yapraklarda ve bazı meyvelerde mumsu tabakalar içinde

bulunurlar. Ursolik asit, betulinik asit ve oleanolik asit bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan triterpenlerdir (Şekil 3.3 ve 3.4) (Arsal Kor, 2016).



Şekil 3.3. Ursolik asit



Şekil 3.4. Oleanolik asit

3.2.4. Terpen bileşenlerin ekstraksiyon ve analizi

3.2.4.1. Sürgün kültürlerinin ekstrelerinin hazırlanması

Ekstrelerin hazırlanması için öncelikle örnekler kurutulduktan sonra öğütülerek toz haline getirilmiş ve kullanılıncaya kadar karanlık koşullarda saklanmıştır. 100 mg toz örneğin ekstraksiyonu öncelikle 5 gün boyunca 250 ml kloroform solüsyonunda akabinde 1.5 L etanolde 1 gün boyunca bekletilerek 25°C’de masere edilmiştir.

3.2.4.2. LC-MS/MS ile triterpenoitlerin analizi

Sürgün kültürlerinden elde edilen kuru ekstreler Shimadzu marka ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi (UHPLC) cihazı ile analiz edilmiştir.

3.2.4.2.1. LC- MS/MS sistemi

Elisitasyon çalışmaları sonrası kültürlerden elde edilen kuru ekstreler Shimadzu marka ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi (UHPLC) cihazı ile analiz edilmiştir. Kullanılan sıvı kromatografin donanımı; LC-30AD ikili pompa, DGU-20A3R degazer, CTO-10ASvp kolon fırını ve SIL-30AC otoörnekleyici içermektedir. Analiz edilen analitlerin ayrımı için farklı uzunluk, iç çap ve partikül boyutlarında C18 kolonlar kullanılarak en uygun ayırım gerçekleştirildi. UHPLC cihazınının çıkışına bağlı olarak Shimadzu marka SPD-20AV model photo diode array ve LCMS 8040 model ESI/APCI-MS/MS kütle spektrometre dedektörleri kullanıldı ve en verimli dedeksiyonu gerçekleştirildi. Kullanılan kütle spektrometre dedektörüyle hem pozitif hem de negatif iyonlaştırma modunda analizler gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.2.2. LC-MS/MS için mobil faz sistemi

Sıvı kromatografi cihazı için kullanılacak hareketli faz sistemi A ve B fazı olmak üzere ikili sistemden oluşmaktadır. A fazı ultra saf su, B fazı ise metanol, asetonitril, metanol-su, asetonitril-su şeklinde farklı varyasyonlar denenerek en iyi ayrımın gerçekleştiği mobil faz sistemi tercih edildi.

3.2.4.2.3. LC-MS/MS analizi için örneklerin hazırlanması

Bitki materyallerinden elde edilen kuru ekstratlar metanol ile 500 mg/kg olacak şekilde seyreltilmiş ve 0,22 µm şırınga ucu filtreden geçirilerek cihaza enjekte edildi.

3.2.5. İstatistiksel analizler

Çalışmalar sonucu elde edilen veriler (Eksplant başına düşen gövde sayısı, Gövde Uzunluğu ve Gövde oluşturma kapasitesi) (Lambardi ve ark., 1993) bakımından istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Bütün çalışmalar tesadüf blokları deneme desenine göre yapılmıştır. Verilerdeki değişkenliği hızlı bir şekilde görmek için bütün çalışma sonuçlarının tanımlayıcı analizleri SPSS 19.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Test edilen işlemler arasındaki farklılıkların belirlenebilmesi için veriler ANOVA'ya tabi tutulmuştur. İstatistiksel olarak farklı görülen işlemler belirlendiğinde ortalama veriler arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ seviyesinde Duncan çoklu karşılaştırma testine tabi tutulmuştur. Oransal verilere ise, Ki kare (χ^2) testi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Tohumları Yüzey Sterilizasyonu, Çimlendirilmesi ve Stok Kültürüleri Elde Edilmesine Yönelik Sonuçlar ve Tartışma

İkincil metabolitlerin arttırılmasına yönelik in vitro kültürlerine uygulanacak kimyasal uyarıcıların, ilgili metabolitlerin artmasının belirlenebilmesi için, in vitro kültür sistemlerinde, kültürlerin başlatılacağı materyal ve bu işlemler için kullanılan yardımcı malzemelerin aseptik olması başarıyı etkileyen en temel konulardan biridir. Çalışma kapsamında, in vitro kültürlerin oluşturulması sırasında gerçekleştirilen çalışmalarda kullanılan yöntemler, laboratuvarımızda başarıyla yürütülmüş TÜBİTAK projeleri (TÜBİTAK 209T030, 110T941, ve 114Z842) serisinden gelmektedir. Bu bağlamda, olgun tohumların yüzey sterilizasyonu ve in vitro çimlendirilmesi çalışmalarında; 1) Tohumların yüzey sterilizasyonu için, %20'lik Sodyum hipoklorit [(NaOCl), Ticari ACE)] içerisinde 20 dakika süresince çalkalanan tohumlar, ardından 3 defa 5'er dakika steril distile suda yıkandı. Yüzey sterilizasyonu tamamlanan tohumlar 1 mg/l IBA destekli MS besi ortamına ekildi. (**Şekil 4.1A**). 2) Besi ortamına transfer edilen tohumların 7-10 gün içinde çimlenerek 21 gün sonunda (**Şekil 4.1B**) görüntü elde edildi. 3) Çimlenen tohumlardan elde edilen aksenik sürgünler 1mg/l BAP, 0.5 mg/l GA₃ ile destekli MS besi ortamına transfer edilerek proliferasyonu sağlandı. (**Şekil 4.1 B**). Ortalama 28 günde bir, proliferasyon besi ortamı (1mg/l BAP, 0.5 mg/l GA₃ ile destekli MS besi ortamı) yenilerek stok kültürlerin elde edilmesi sağlandı.

Doku kültürü uygulamalarında, bütün bitki türleri için evrensel bir rejenerasyon protokolü bulunmadığından her bitki türü, hatta her bitki çeşidi için spesifik bir in vitro çoğaltım protokolünün oluşturulması gerekmektedir. Bu tez kapsamında nihai amaç sakız ağacının tohumlarından itibaren yeni bir mikroçoğaltım tekniği oluşturmak olmadığından daha önce, Yıldırım (2012), Onay ve ark., (2014), Kılınç ve ark., (2015)'nin geliştirmiş oldukları protokoller sürgün kültürü işlemlerini gerçekleştirmek için kullanılmıştır.



Şekil 4.1. A) 1 mg/l IBA destekli MS besi ortamında çimlenmeye bırakılan tohumlar, (B) Çimlenen tohumlar, C) Proliferasyonu sağlanan sürgünler Bar: 0.90 cm.

4.2. Juvenil Sürgünlere Uygulanan Elisitasyon Çalışmaları

Tez çalışması kapsamında, yapılan proliferasyon sonucunda elde edilen stok kültürlerden yaklaşık 1 cm uzunluğunda yapraklı sürgünler alınarak, farklı tipte ve konsantrasyonda kimyasal uyarıcı içeren (elisitör) 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında yaklaşık bir ay inkübe edildi. Bir aylık inkübasyon sonrası, sürgünlerin gelişimine yönelik elde edilen veriler istatistik olarak değerlendirildi ve Çizelge 4.1., Çizelge 4.3., Çizelge 4.5., Çizelge 4.7., Çizelge 4.9., Çizelge 4.11., Çizelge 4.13., Çizelge 4.15., Çizelge 4.17., Çizelge 4.19., Çizelge 4.21., Çizelge 4.23., Çizelge 4.25., Çizelge 4.27. ve Çizelge 4.29.'da verilmiştir. Farklı kimyasal uyarıcıların ilave edildiği besi ortamlarında inkübe edilen sürgünlerin, gelişimleri sırasında, uygulanan elisitasyonun oda sıcaklığında kurutulan sürgünlerden elde edilen gövde ve yaprak ekstralarında bazı terpenoid değişimlerinin irdelendiği sonuçlar ise Çizelge 4.2., Çizelge 4.4., Çizelge 4.6., Çizelge 4.8., Çizelge 4.10., Çizelge 4.12., Çizelge 4.14., Çizelge 4.16., Çizelge 4.18., Çizelge 4.20., Çizelge 4.22., Çizelge 4.24., Çizelge 4.26., Çizelge 4.28. ve Çizelge 4.30.'da verilmiştir. Bununla birlikte inkübasyona yönelik

olarak morfojik değerlendirilmelerin yapıldığı görüntüler ise **Şekil 4.2.**, **Şekil 4.3.**, **Şekil 4.4.**, **Şekil 4.5.**, **Şekil 4.6.**, **Şekil 4.8.**, **Şekil 4.9.**, **Şekil 4.10.**, **Şekil 4.11.**, **Şekil 4.12.**, **Şekil 4.13.**, **Şekil 4.14.**, **Şekil 4.15.** ve **Şekil 4.16'** da verilmiştir.

P. lentiscus L. juvenil sürgünlerinin 50-100 ve 200 mg/l E-vitaminin (α - tokoferol) ilave edildiği 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında inkübasyonu sonrası, uygulanan elisitasyonun sürgün gelişimine etkisi **Çizelge 4.1**, gövde ve yaprak ekstrelerindeki bazı terpenoidlerin miktarına ilişkin sonuçlar **Çizelge 4.2** ve morfolojik gözlemlere ilişkin görüntüler ise **Şekil 4.2'** de sunuldu.

Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyonlarda E vitamini (α - tokoferol)'ın sürgün gelişimine etkisi

Elisitör Tipi	Konsantrasyon mg/l	Ortalama Gövde Sayısı ***Ort±SH	Ortalama Gövde Uzunluğu (cm) Ort±SH	**G.O.K
Kontrol	0	9.03±0.71a	0.56±0.05b	9.03
E Vitamini (α- tokoferol)	50	3.56±0.18b	0.72±0.03a	3.56
	100	3.26±0.18b	0.77±0.05a	3.26
	200	2.86±0.18c	0.74±0.03a	2.86

Veriler kültürün 1. ve 28. günü 25 eksplantın ortalamasını göstermektedir. Bir kolondaki farklı harfler işlemin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre P≤0.05 seviyesinde istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

** Gövde oluşturma kapasitesi indeksi.

***Ortalama ± Standart hata.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen E-vitaminin sürgün gelişimine olan etkisi irdelendiğinde, kontrolde ortalama 9.03±0.71 gövde/eksplant oranı hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l E-vitamini ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 3.56±0.18, 3.26±0.18 ve 2.86±0.18 gövde/eksplant oranı hesaplandı. E-vitamini ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin sayısı kontrole göre zayıf olurken, bununla birlikte ilave edilen E-vitamini konsantrasyonu artıka gövde/eksplant oranında azalma meydana geldi. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol ile tüm E vitamini ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, 50 mg/l ve 100 mg/l E-vitamini ilaveli besi ortamlarına ile 200 mg/l E-vitamini ilave edilen besi ortamında gelişen sürgünlerin gövde/eksplant oranı bakımından da istatistiksel olarak fark hesaplandı.

Gövde uzunluğu bakımından elde edilen veriler değerlendirildiğinde kontrolde ortalama 0.56±0.05 cm hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l E-vitamini ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 0.72±0.03 cm, 0.77±0.05 cm ve 0.73±0.03 cm gövde uzunlukları hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ile E-vitamini ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında

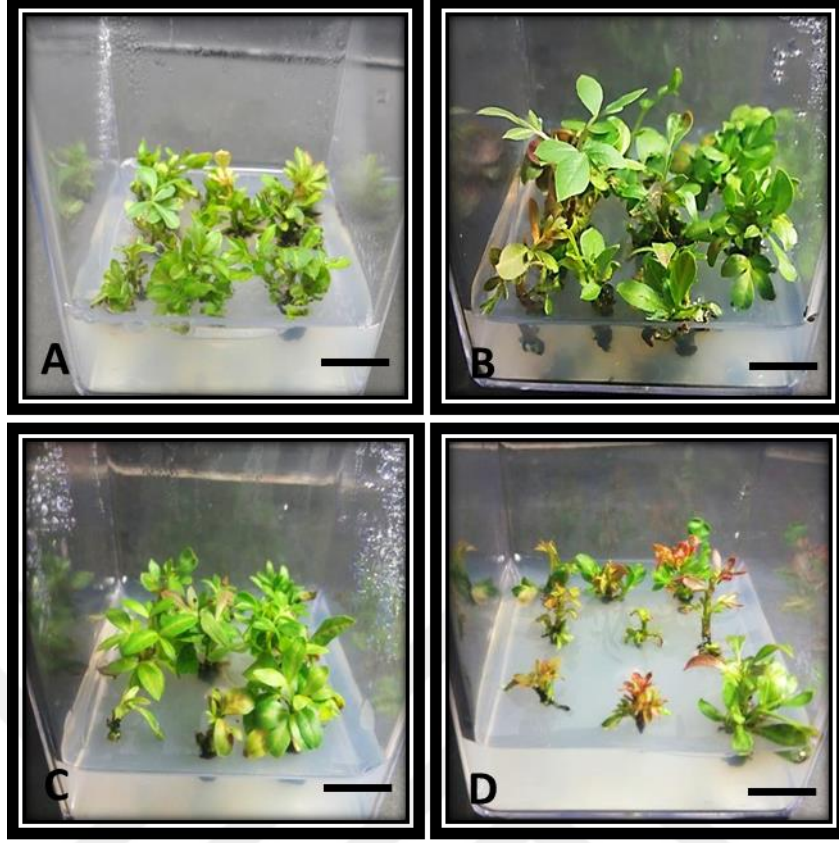
istatistiksel fark hesaplanırken, sadece E-vitamini ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünler arasında ortalama gövde uzunluğu bakımından istatistiksel olarak herhangi bir fark hesaplanmadı. Gövde oluşturma kapasitesi bakımında kontrol 9.03, E-vitamini ilaveli besi ortamlarında ise sırasıyla 3.56, 3.26, 2.86 olarak hesaplandı (**Çizelge 4.1**)

Çizelge 4.2. Farklı E vitamini (α - tokoferol) konsantrasyonlarının juvenil sürgünlerin gövde ve yaprağındaki triterpenoid miktarındaki değişimine etkisi (ppm)

Elisitör Tipi	Kons. (mg/l)	Eksp. Tipi	Ursonik Asit	Moronik Asit	Oleanonik Asit	Mastikadienolik Asit	Oleanolik Asit	Ursolik Asit
Kontrol	-	G	0.012	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	50	G	0.015	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.028
		Y	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
E Vitamini (α - tokoferol)	100	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.008	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	200	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. Tespit Edilemedi

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen E-vitaminin gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin analizleri bakımından elde edilen veriler irdelendiğinde, kontrolden gelen gövde ve yaprak ekstratlarında sadece Ursonik Asit tespit edilirken (Gövde:0.012 ppm, Yaprak: 0.07 ppm), E vitamini ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstratları triterpenoid bakımından kontrole göre daha zengindir; 50 mg/l E-vitamini ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.015 ppm, Yaprak: 0.007 ppm), Ursolik Asit (Gövde:0.028 ppm)], 100 mg/l E-vitamini ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Yaprak: 0.008 ppm)] dir. Özellikle kontrole göre; gövde ve ekstraktlarında Ursonik asit miktarında artış gözlenirken, yine kontrol grubu gövde ve yaprak ekstraktlarında tespit edilemeyen Ursolik asit, 50 mg/l E-vitamini ilave edilen besi ortamında gelişen sürgünlerin gövde ekstraktlarında tespit edildi (**Çizelge 4.2**)



Şekil 4.2. *P. lentiscus* L. bitkisine ait juvenil sürgünlerin A) Kontrol B) 50 mg/l C) 100 mg/l ve D) 200 mg/l E vitamini ilaveli 1 mg/l BAP+0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında yaklaşık 4 haftalık proliferasyonu Bar: 0.9 cm.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen E-vitaminin sürgün gelişimine olan etkisi morfolojik olarak irdelendiğinde, kontrole göre E-vitamini konsantrasyonu artıkça yaprak ve gövdelerdeki kızarıklık artmakta, gövde gelişiminde ise azalmalar meydana geldiği gözlemlenmiştir (**Şekil 4.2**).

P. lentiscus L. juvenil sürgünlerinin 0.5-1 ve 2 mg/l Jasmonik Asit (JA) ilave edildiği 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında inkübasyonu sonrası uygulanan elisitasyonun sürgün gelişimine etkisi **Çizelge 4.3**, gövde ve yaprak ekstrelerindeki bazı terpenoidlerin miktarına ilişkin sonuçlar **Çizelge 4.4** ve morfolojik gözlemlere ilişkin görüntüler ise **Şekil 4.3'** de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyonlarda Jasmonik Asit'in sürgün gelişimine etkisi

Elisitör Tipi (mg/l)	Konsantrasyon mg/l	Ortalama Gövde Sayısı ***Ort±SH	Ortalama Gövde Uzunluğu (cm) Ort±SH	**G.O.K
Kontrol	-	9.03±0.71a	0.56±0.05c	9.03
Jasmonik Asit (JA)	0.5	3.97±0.29c	1.16±0.09a	3.97
	1	5.50±0.38b	0.85±0.07b	5.50
	2	2.90±0.25d	1.08±0.08a	2.90

Veriler kültürün 1. ve 28. günü 25 eksplantın ortalamasını göstermektedir. Bir kolondaki farklı harfler işlemin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre P≤0.05 seviyesinde istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

** Gövde oluşturma kapasitesi indeksi. ***Ortalama ± Standart hata.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen Jasmonik Asit'in sürgün gelişimine olan etkisi irdelendiğinde, kontrolde ortalama 9.03 ± 0.71 gövde/eksplant oranı hesaplanırken, 0.5-1 ve 2 mg/l Jasmonik Asit ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 3.97 ± 0.29 , 5.50 ± 0.38 ve 2.90 ± 0.25 gövde/eksplant elde edilmiştir. Jasmonik Asit ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin sayısı kontrole göre zayıf olurken, bununla birlikte yüksek miktarda ilave edilen Jasmonik Asit gövde/eksplant oranında azalmaya sebep olduğu görülmüştür. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol ile tüm JA ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde/eksplant oranları ile sadece JA ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde/eksplant oranları arasında da istatistiksel fark hesaplandı.

Gövde uzunluğu bakımından elde edilen veriler değerlendirildiğinde kontrolde ortalama 0.56 ± 0.05 cm hesaplanırken, 0.5-1 ve 2 mg/l JA ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 1.16 ± 0.09 cm, 0.85 ± 0.07 cm ve 1.08 ± 0.08 cm gövde uzunlukları hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ile JA ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, sadece JA ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünler arasında ortalama gövde uzunluğu bakımından 0.5 ve 2 mg/l JA ile 1 mg/l JA arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmiştir.

Gövde oluşturma kapasitesi bakımında kontrol 9.03, JA ilaveli besi ortamlarında ise sırasıyla 3.97, 5.50 ve 2.90 olarak hesaplandı (**Çizelge 4.3**).

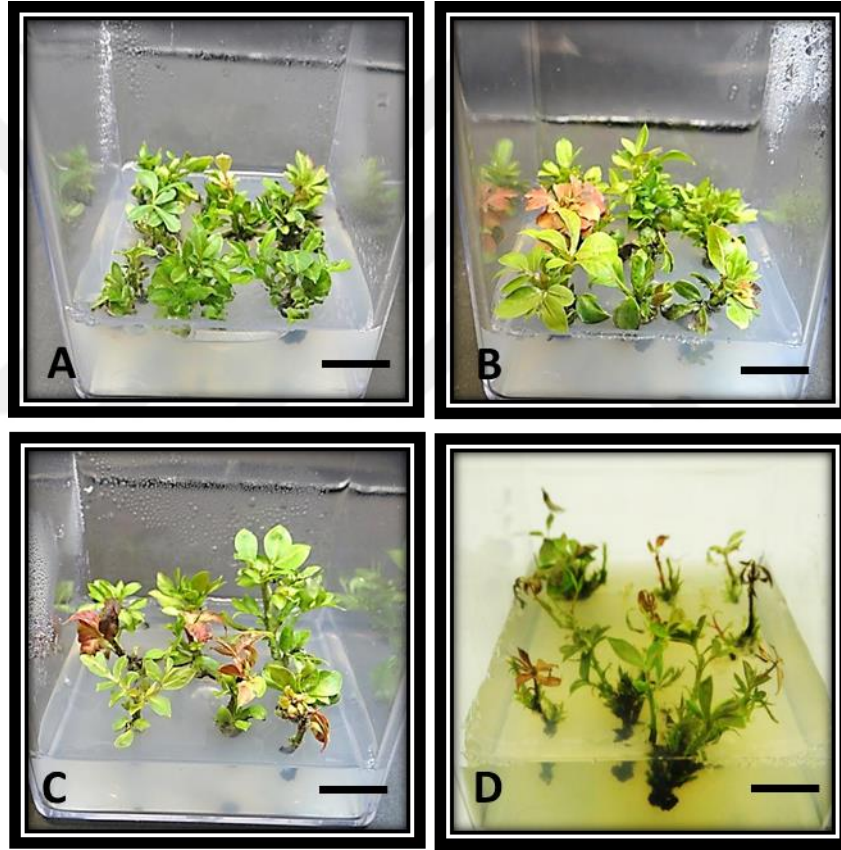
Çizelge 4.4. Farklı Jasmonik Asit konsantrasyonlarının juvenil sürgünlerin gövde ve yaprağındaki triterpenoid miktarındaki değişimine etkisi (ppm)

Elisitör Tipi	Kons. (mg/l)	Eksp. Tipi	Ursonik Asit	Moronik Asit	Oleanonik Asit	Mastikadienolik Asit	Oleanolik Asit	Ursolik Asit
Kontrol	-	G	0.012	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Jasmonik Asit (JA)	0.5	G	0.034	N.D.	0.006	N.D.	N.D.	0.012
		Y	0.023	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.015	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2	G	0.006	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
	Y	0.005	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	

N.D. Tespit Edilemedi

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen JA'in gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin analizleri bakımından elde edilen veriler irdelendiğinde, kontrolden alınan gövde ve yaprak ekstrelerinde sadece Ursonik Asit tespit edilirken (Gövde:0.012 ppm, Yaprak: 0.007 ppm), JA ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstreleri triterpenoid

bakımından kontrole göre daha zengindir; 0.5 mg/l JA ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.034 ppm, Yaprak: 0.023 ppm), Oleanonik Asit (Gövde: 0.006 ppm), Ursolik Asit (Gövde:0.012 ppm)], 1 mg/l JA ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Yaprak: 0.015 ppm) dir. 2 mg/l JA ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.006 ppm, Yaprak: 0.005 ppm) dir. Özellikle kontrole göre; gövde ve yaprak ekstraktlarında Ursonik asit miktarında artış gözlenirken, yine kontrol grubu gövde ve yaprak ekstraktlarında tespit edilemeyen Ursolik asit ve Oleanonik Asit, 0.5 mg/l JA ilave edilen besi ortamında gelişen sürgünlerin gövde ekstraktlarında tespit edilmiştir (Çizelge 4.4)



Şekil 4.3. *P. lentiscus* L. bitkisine ait juvenil sürgünlerin A) Kontrol B) 0.5 mg/l C) 1 mg/l ve D) 2 mg/l Jasmonik asit ilaveli 1 mg/l BAP+0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında yaklaşık 4 haftalık proliferasyonu Bar: 0.9 cm.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen JA sürgün gelişimine olan etkisi morfolojik olarak irdelendiğinde, kontrole göre JA konsantrasyonu artıka yaprak ve gövdelerdeki kızarıklık artmakta, yaprak oluşumunda ise yüksek konsantrasyonda azalmalar meydana geldiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.3).

P. lentiscus L. juvenil sürgünlerinin 0.5-1 ve 2 mg/l Metil Jasmonat (MeJA) ilave edildiği 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında inkübasyonu sonrası, uygulanan elisitasyonun sürgün gelişimine etkisi **Çizelge 4.5**, gövde ve yaprak ekstrelerindeki bazı terpenoidlerin miktarına ilişkin sonuçlar **Çizelge 4.6** ve morfolojik gözlemlere ilişkin görüntüler ise **Şekil 4.4'** de sunuldu.

Çizelge 4.5. Farklı konsantrasyonlarda Metil Jasmonat (MeJA)'ın sürgün gelişimine etkisi

Elisitör Tipi	Konsantrasyon mg/l	Ortalama Gövde Sayısı ***Ort±SH	Ortalama Gövde Uzunluğu (cm) Ort±SH	**G.O.K
Kontrol	-	9.03±0.71a	0.56±0.05c	9.03
	0.5	3.73±0.30b	0.72±0.08b	3.73
Metil Jasmonat (MeJA)	1	3.20±0.18c	0.67±0.06b	3.20
	2	3.20±0.27c	0.96±0.08a	3.20

Veriler kültürün 1. ve 28. günü 25 eksplantın ortalamasını göstermektedir. Bir kolondaki farklı harfler işlemin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre P≤0.05 seviyesinde istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.
** Gövde oluşturma kapasitesi indeksi. ***Ortalama ± Standart hata.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen MeJa'nın sürgün gelişimine olan etkisi irdelendiğinde, kontrolde ortalama 9.03±0.71 gövde/eksplant oranı hesaplanırken, 0.5-1 ve 2 mg/l MeJa ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 3.73±0.30, 3.20±0.18 ve 3.20±0.27 gövde/eksplant oranı hesaplandı. MeJa ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin sayısı kontrole göre zayıf olurken, bununla birlikte ilave edilen MeJa miktarı arttıkça gövde/eksplant oranında azalmaya sebep olduğu hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol ile MeJa ilaveli tüm besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde/eksplant oranları arasında da istatistiksel fark hesaplanırken, sadece MeJa ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde/eksplant oranları bakımından 1 mg/l ve 2 mg/l MeJa ile 0.5 mg/l MeJa arasında istatistiksel fark hesaplanmıştır.

Gövde uzunluğu bakımından elde edilen veriler değerlendirildiğinde kontrolde ortalama 0.56±0.05 cm hesaplanırken, 0.5-1 ve 2 mg/l MeJa ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 0.72.16±0.08 cm, 0.67±0.06 cm ve 0.96±0.08 cm gövde uzunlukları hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ile MeJa ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, sadece MeJa ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünler arasında

ortalama gövde uzunluğu bakımından 0.5 ve 1 mg/l MeJa ile 2 mg/l MeJa arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmiştir.

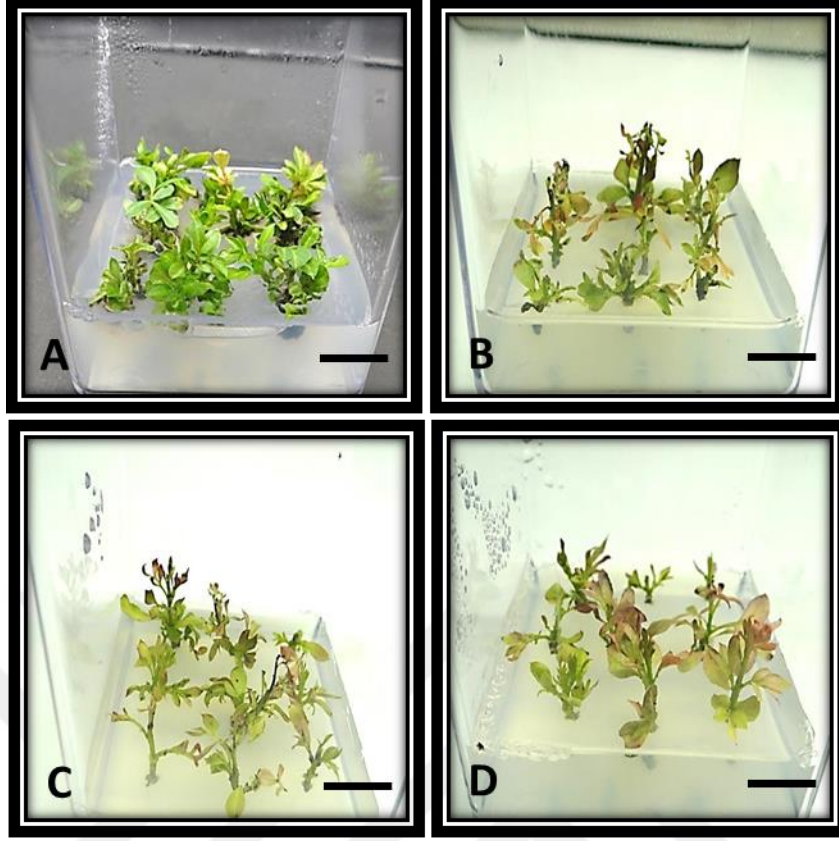
Gövde oluşturma kapasitesi bakımında kontrol 9.03, MeJa ilaveli besi ortamlarında ise sırasıyla 3.73, 3.20 ve 3.20 olarak hesaplandı (**Çizelge 4.5**).

Çizelge 4.6. Farklı Metil Jasmonat (MeJA) konsantrasyonlarının juvenil sürgünlerin gövde ve yaprağındaki triterpenoid miktarındaki değişimine etkisi (ppm)

Elisitör Tipi	Kons. (mg/)	Eksp. Tipi	Ursonik Asit	Moronik Asit	Oleanonik Asit	Mastikadienolik Asit	Oleanolik Asit	Ursolik Asit
Kontrol	-	G	0.012	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Metil Jasmonat (MeJA)	0.5	G	0.019	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.004	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1	G	0.156	0.003	0.018	0.006	N.D.	N.D.
		Y	0.008	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2	G	0.096	N.D.	0.008	0.004	N.D.	N.D.	
	Y	0.009	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	

N.D. Tespit Edilemedi

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen MeJa'in gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin analizleri bakımından elde edilen veriler irdelendiğinde, kontrolden gelen gövde ve yaprak ekstraktlarında sadece Ursonik Asit tespit edilirken (Gövde:0.012 ppm, Yaprak: 0.007 ppm), MeJa ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktlarındaki triterpenoid bakımından kontrole göre çok daha zengindir; 0.5 mg/l MeJa ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.019 ppm, Yaprak: 0.004 ppm)], 1 mg/l MeJa ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.156 ppm, Yaprak: 0.008 ppm), Moronik Asit (Gövde: 0.003 ppm), Oleanonik Asit (Gövde: 0.018 ppm), Mastikadienolik Asit (Gövde: 0.006 ppm)], 2 mg/l MeJa ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.096 ppm, Yaprak: 0.009 ppm), Oleanonik Asit (Gövde: 0.008 ppm), Mastikadienolik Asit (Gövde: 0.004 ppm)] dir. Özellikle kontrole göre; gövde ve yaprak ekstraktlarında Ursonik asit miktarında artış gözlenirken, yine kontrol grubu gövde ve yaprak ekstraktlarında tespit edilemeyen Moronik Asit, Oleanonik Asit ve Mastikadienolik Asit 1 ve 2 mg/l MeJa ilave edilen besi ortamında gelişen sürgünlerin gövde ekstraktlarında tespit edilmiştir (**Çizelge 4.6**).



Şekil 4.4. *P. lentiscus* L. bitkisine ait juvenil sürgünlerin A) Kontrol B) 0.5 mg/l B) 1 mg/l ve C) 2 mg/l Metil Jasmonat ilaveli 1 mg/l BAP+0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında yaklaşık 4 haftalık proliferasyonu Bar: 0.9 cm.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen MeJa'nın sürgün gelişimine olan etkisi morfolojik olarak irdelendiğinde, kontrole göre MeJa konsantrasyonu artıkça yaprak ve gövdelerdeki kızarıklık artmakta, yaprak oluşumunda ise genelde azalmalar meydana geldiği gözlemlenmiştir (**Şekil 4.4**).

P. lentiscus L. juvenil sürgünlerinin 50-100 ve 200 mg/l L-Tirozin (Tyr) ilave edildiği 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında inkübasyonu sonrası, uygulanan elisitasyonun sürgün gelişimine etkisi **Çizelge 4.7**, gövde ve yaprak ekstrelerindeki bazı triterpenoidlerin miktarına ilişkin sonuçlar **Çizelge 4.8** ve morfolojik gözlemlere ilişkin görüntüler ise **Şekil 4.5'** de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Farklı konsantrasyonlarda L-Tirozin (Tyr)' nin sürgün gelişimine etkisi

Elisitör Tipi	Konsantrasyon mg/l	Ortalama Gövde Sayısı ***Ort±SH	Ortalama Gövde Uzunluğu (cm) Ort±SH	**G.O.K
Kontrol	-	9.03±0.71a	0.56±0.05b	9.03
	50	3.23±0.35b	0.74±0.06a	3.23
L-Tirozin	100	2.90±0.24b	0.65±0.05ab	2.90
	200	2.93±0.20b	0.56±0.04bc	2.93

Veriler kültürün 1. ve 28. günü 25 eksplantın ortalamasını göstermektedir. Bir kolondaki farklı harfler işlemin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre P≤0.05 seviyesinde istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

** Gövde oluşturma kapasitesi indeksi. ***Ortalama ± Standart hata.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen L-Tirozin'in sürgün gelişimine olan etkisi irdelendiğinde, kontrolde ortalama 9.03±0.71 gövde/eksplant oranı hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l L-Tirozin ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 3.23±0.35, 2.90±0.24 ve 2.93±0.20 gövde/eksplant oranı hesaplandı. L-Tirozin ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin sayısı kontrole göre zayıf olurken, bununla birlikte ilave edilen L-Tirozin konsantrasyonu artıkça gövde/eksplant oranında azalma hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde de kontrol ile tüm L-Tirozin ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, L-Tirozin ilave edilen besi ortamında gelişen sürgünlerin gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel olarak fark hesaplanmadı.

Gövde uzunluğu bakımından elde edilen veriler değerlendirildiğinde kontrolde ortalama 0.56±0.05 cm hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l L-Tirozin ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 0.74±0.06 cm, 0.65±0.05 cm ve 0.56±0.04 cm gövde uzunlukları hesaplandı. L-Tirozin konsantrasyonu artıkça ortalama gövde uzunluğunda azalma hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ile L-Tirozin ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında 50 mg/l L-Tirozin ilaveli besi ortamı arasında istatistiksel fark hesaplanırken, sadece L-Tirozin ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünler arasında ortalama gövde uzunluğu bakımından sadece 50 mg/l ve 200 mg/l L-Tirozin ilaveli besi ortamları arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmiştir.

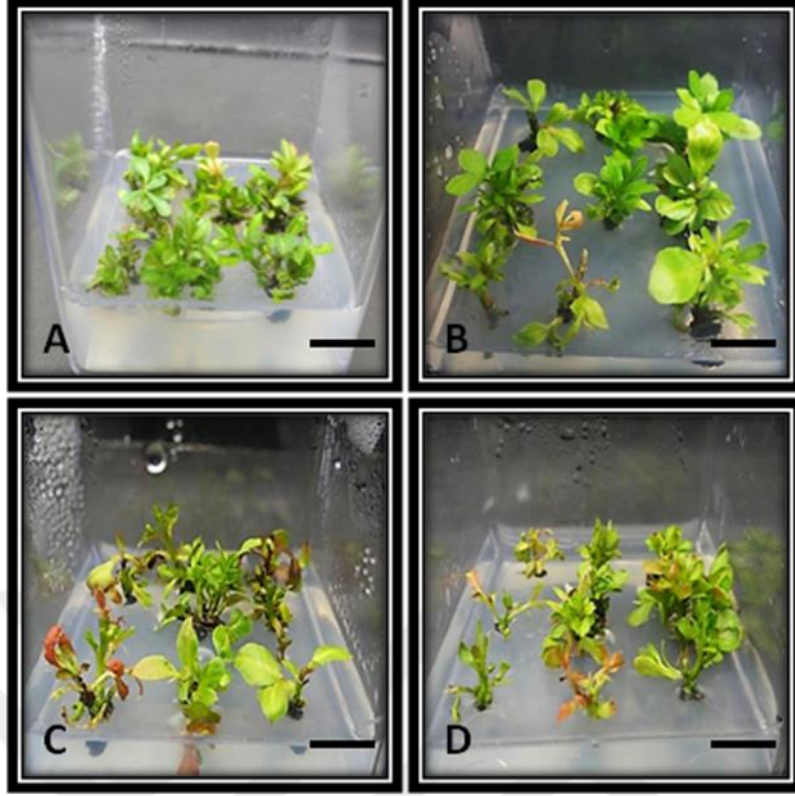
Gövde oluşturma kapasitesi bakımında kontrol 9.03, L-Tirozin ilaveli besi ortamlarında ise sırasıyla 3.23, 2.90, 2.93 olarak hesaplanmıştır (**Çizelge 4.7**)

Çizelge 4.8. Farklı L-Tirozin (Tyr) konsantrasyonlarının juvenil sürgünlerin gövde ve yaprağındaki triterpenoid miktarındaki değişimine etkisi(ppm)

Elisitör Tipi	Kons. (mg/)	Eksp. Tipi	Ursonik Asit	Moronik Asit	Oleanonik Asit	Mastikadienolik Asit	Oleanolik Asit	Ursolik Asit
Kontrol	-	G	0.012	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
L-Tirozin (Tyr)	50	G	0.026	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.024
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	100	G	0.033	N.D.	0.005	N.D.	N.D.	0.060
		Y	0.003	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	200	G	0.005	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. Tespit Edilemedi

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen L-Tirozin'in gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin analizleri bakımından elde edilen veriler irdelendiğinde, kontrolden gelen gövde ve yaprak ekstraktlarında sadece Ursonik Asit tespit edilirken (Gövde:0.012 ppm, Yaprak: 0.007 ppm), L-Tirozin ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktları triterpenoid bakımından kontrole göre zengindir; 50 mg/l L-Tirozin ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.026 ppm), Ursolik Asit (Gövde:0.024 ppm)], 100 mg/l L-Tirozin ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.033 ppm, Yaprak: 0.003 ppm), Oleanonik Asit (Gövde: 0.005 ppm), Ursolik Asit (Gövde: 0.060 ppm)], 200 mg/l L-Tirozin ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.005 ppm)]. Özellikle kontrole göre; gövde ve ekstraktlarında Ursonik asit miktarında artış gözlenirken, yine kontrol grubu gövde ve yaprak ekstraktlarında tespit edilemeyen Ursolik Asit (gövde) 50 ile 100 mg/l de ve Oleanonik Asit (gövde) 100 mg/l L-Tirozin ilave edilen besi ortamında gelişen sürgün ekstraktlarında tespit edilmiştir (**Çizelge 4.8**).



Şekil 4.5. *P. lentiscus* L. bitkisine ait juvenil sürgünlerin A) Kontrol B) 50 mg/l C) 100 mg/l ve D) 200 mg/l L-Tirozin (Tyr) ilaveli 1 mg/l BAP+0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında yaklaşık 4 haftalık proliferasyonu Bar: 0.9 cm.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen L-Tirozin'in sürgün gelişimine olan etkisi morfolojik olarak irdelendiğinde, kontrole göre L-Tirozin konsantrasyonu artıkça yaprak ve gövdelerdeki kızarıklık artmakta, yaprak oluşumunda ise genelde kontrole göre azalmalar meydana geldiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.5).

P. lentiscus L. juvenil sürgünlerinin 50-100 ve 200 mg/l L- Prolin 'in ilave edildiği 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında inkübasyonu sonrası, uygulanan elisitasyonun sürgün gelişimine etkisi Çizelge 4.9, gövde ve yaprak ekstrelerindeki bazı triterpenoidlerin miktarına ilişkin sonuçlar Çizelge 4.10 ve morfolojik gözlemlere ilişkin görüntüler ise Şekil 4.6'da sunulmuştur.

Çizelge 4.9. Farklı konsantrasyonlarda L-Prolin (Pyr)'in sürgün gelişimine etkisi

Elisitör Tipi (mg/l)	Konsantrasyon mg/l	Ortalama Gövde Sayısı ***Ort±SH	Ortalama Gövde Uzunluğu (cm) Ort±SH	**G.O.K
Kontrol	-	9.03±0.71a	0.56±0.05c	9.03
	50	1.93±0.17d	0.88±0.06a	1.93
L-Prolin	100	3.43±0.23b	0.52±0.04c	3.43
	200	2.60±0.18c	0.63±0.04b	2.60

Veriler kültürün 1. ve 28. günü 25 eksplantın ortalamasını göstermektedir. Bir kolondaki farklı harfler işlemin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre P≤0.05 seviyesinde istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

** Gövde oluşturma kapasitesi indeksi. ***Ortalama ± Standart hata.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen L-Prolin'in sürgün gelişimine olan etkisi irdelendiğinde, kontrolde ortalama 9.03±0.71 gövde/eksplant oranı hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l L-Prolin ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 1.93±0.17, 3.43±0.23 ve 2.60±0.18 gövde/eksplant oranı hesaplandı. L-Prolin ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin sayısı kontrole göre zayıf olurken, bununla birlikte yüksek konsantrasyonda L-Prolin ilaveli besi ortamlarında gövde/eksplant oranında azalma hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde de kontrol ile tüm L-Prolin ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, L-Prolin ilave edilen besi ortamında gelişen sürgünlerin gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel olarak fark hesaplanmıştır.

Gövde uzunluğu bakımından elde edilen veriler değerlendirildiğinde kontrolde ortalama 0.56±0.05 cm hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l L-Prolin ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 0.88±0.06 cm, 0.52±0.04 cm ve 0.63±0.04 cm gövde uzunlukları hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ile L-Prolin ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında 50 ve 200 mg/l L-Prolin ilaveli besi ortamı arasında istatistiksel fark hesaplanırken, sadece L-Prolin ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünler arasında ortalama gövde uzunluğu bakımından istatistiksel olarak fark hesaplanmıştır.

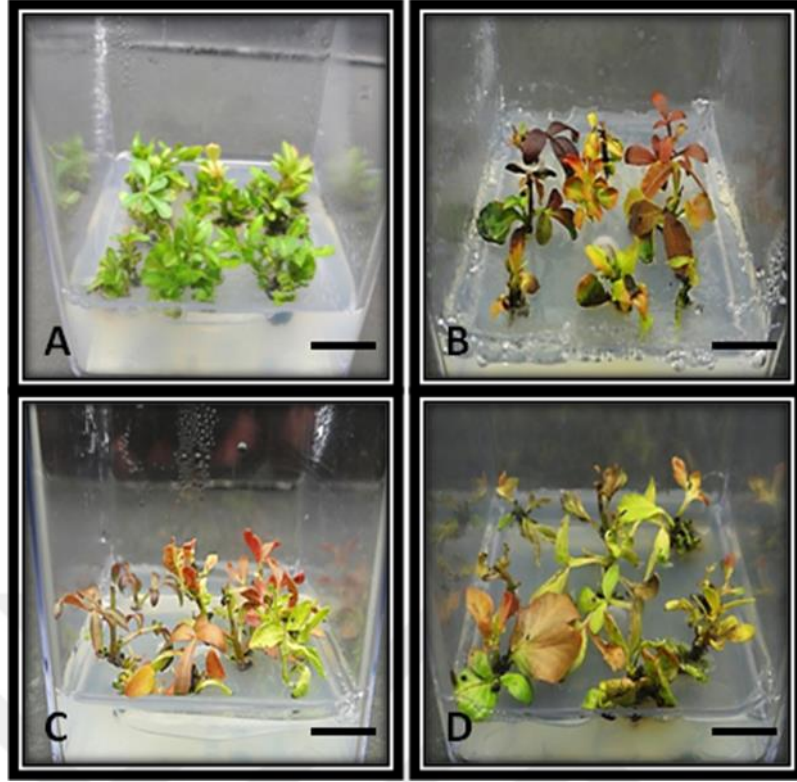
Gövde oluşturma kapasitesi bakımında kontrol 9.03, L-Prolin ilaveli besi ortamlarında ise sırasıyla 1.93, 3.43, 2.60 olarak hesaplanmıştır (**Çizelge 4.9**).

Çizelge 4.10. Farklı L-Prolin (Pyr) konsantrasyonlarının juvenil sürgünlerin gövde ve yaprağındaki triterpenoid miktarındaki değişimine etkisi (ppm)

Elisitör Tipi	Kons. mg/l	Eksp. Tipi	Ursonik Asit	Moronik Asit	Oleanonik Asit	Mastikadienolik Asit	Oleanolik Asit	Ursolik Asit
Kontrol	-	G	0.012	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
50	50	G	0.008	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
L-Prolin (Pyr)	100	G	0.006	0.003	0.012	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
200	200	G	0.037	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. Tespit Edilemedi

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen L-Prolin'in gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin analizleri bakımından elde edilen veriler irdelendiğinde, kontrolden gelen gövde ve yaprak ekstraktlarında sadece Ursonik Asit tespit edilirken (Gövde:0.012 ppm, Yaprak: 0.007 ppm), L-Prolin ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktları triterpenoid bakımından kontrole göre zengindir; 50 mg/l L-Prolin ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.008 ppm)], 100 mg/l L-Prolin ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.006 ppm), Moronik Asit Gövde: 0.003 ppm), (Oleanonik Asit (Gövde: 0.012 ppm)], 200 mg/l L-Prolin ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.037 ppm)]. Özellikle kontrole göre; gövde ekstraktlarında Ursonik asit miktarında artış gözlenirken, yine kontrol grubu gövde ve yaprak ekstraktlarında tespit edilemeyen Moronik Asit (gövde) ve Oleanonik Asit (gövde) 100 mg/l L-Prolin ilave edilen besi ortamında gelişen sürgün ekstraktlarında tespit edilmiştir (**Çizelge 4.10**).



Şekil 4.6. *P. lentiscus* L. bitkisine ait juvenil sürgünlerin A) Kontrol B) 50 mg/l C) 100 mg/l ve D) 200 mg/l L-Prolin (Pyr) ilaveli 1 mg/l BAP+0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında yaklaşık 4 haftalık proliferasyonu Bar: 0.9 cm.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen L-Prolin'in sürgün gelişimine olan etkisi morfolojik olarak irdelendiğinde, kontrole göre L-Prolin konsantrasyonu arttıkça yaprak ve gövdelerdeki kızarıklık oluşmakta, yaprak oluşumunda ise genelde kontrole göre azalmalar meydana geldiği gözlemlendi (Şekil 4.6).

P. lentiscus L. juvenil sürgünlerinin 50-100 ve 200 mg/l L-Prolin Metil Esteri (LPM)'nin ilave edildiği 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında inkübasyonu sonrası, uygulanan elisitasyonun sürgün gelişimine etkisi Çizelge 4.11, gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin miktarına ilişkin sonuçlar Çizelge 4.12 ve morfolojik gözlemlere ise Şekil 4.7'de sunulmuştur.

Çizelge 4.11. Farklı konsantrasyonlarda L-Prolin Metil Esteri (LPM)'nin sürgün gelişimine etkisi

Elisitör Tipi (mg/l)	Konsantrasyon mg/l	Ortalama Gövde Sayısı ***Ort±SH	Ortalama Gövde Uzunluğu (cm) Ort±SH	**G.O.K
Kontrol	-	9.03±0.71a	0.56±0.05a	9.03
L-Prolin Metil Esteri (LPM)	50	3.43±0.24d	0.48±0.03b	3.43
	100	4.03±0.30c	0.49±0.04b	4.03
	200	4.97±0.35b	0.44±0.03b	4.97

Veriler kültürün 1. ve 28. günü 25 eksplantın ortalamasını göstermektedir. Bir kolondaki farklı harfler işlemin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre P≤0.05 seviyesinde istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

** Gövde oluşturma kapasitesi indeksi. ***Ortalama ± Standart hata.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen L-Prolin Metil Esteri'nin sürgün gelişimine olan etkisi irdelendiğinde, kontrolde ortalama 9.03 ± 0.71 gövde/eksplant oranı hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l L-Prolin Metil Esteri ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 3.43 ± 0.24 , 4.03 ± 0.30 ve 4.97 ± 0.35 gövde/eksplant oranı hesaplandı. L-Prolin Metil Esteri ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin sayısı kontrole göre zayıf olurken, bununla birlikte ilave edilen L-Prolin Metil Esteri konsantrasyonu arttıkça gövde/eksplant oranında artışlar hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde de kontrol ile tüm L-Prolin Metil Esteri ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, L-Prolin Metil Esteri ilave edilen besi ortamında gelişen sürgünlerin gövde/eksplant oranları arasında da istatistiksel olarak fark hesaplanmıştır.

Gövde uzunluğu bakımından elde edilen veriler değerlendirildiğinde kontrolde ortalama 0.56 ± 0.05 cm hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l L-Prolin Metil Esteri ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 0.48 ± 0.03 cm, 0.49 ± 0.04 cm ve 0.44 ± 0.03 cm gövde uzunlukları hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ile L-Prolin Metil Esteri ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, sadece L-Prolin Metil Esteri ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünler arasında ortalama gövde uzunluğu bakımından istatistiksel olarak herhangi bir fark hesaplanmamıştır.

Gövde oluşturma kapasitesi bakımında kontrol 9.03, L-Prolin Metil Esteri ilaveli besi ortamlarında ise sırasıyla 3.43, 4.03, 4.97 olarak hesaplanmıştır (**Çizelge 4.11**).

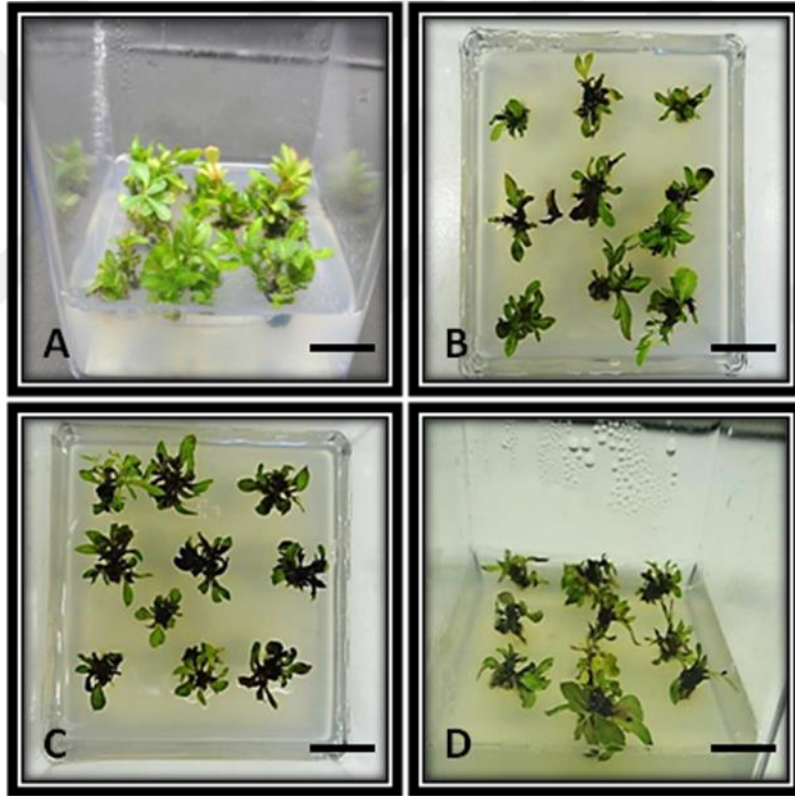
Çizelge 4.12. Farklı L-Prolin Metil Esteri (LPM) konsantrasyonlarının juvenil sürgünlerin gövde ve yaprağındaki triterpenoid miktarındaki değişimine etkisi (ppm)

Elisitör (mg/l)	Kons.	Eksp. Tip	Ursonik Asit	Moronik Asit	Oleanonik Asit	Mastikadienolik Asit	Oleanolik Asit	Ursolik Asit
Kontrol	-	G	0.012	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
L-Prolin Metil Esteri (Pyr Me)	50	G	0.025	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.024
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	100	G	0.014	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	200	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.013	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. Tespit Edilemedi

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen L-Prolin Metil Esteri'nde gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin analizleri bakımından elde edilen veriler irdelendiğinde, kontrolden gelen gövde ve yaprak

ekstrelerinde sadece Ursonik Asit tespit edilirken (Gövde:0.012 ppm, Yaprak: 0.07 ppm), L-Prolin Metil esteri ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktları triterpenoid bakımından kontrole göre zengindir; 50 mg/l L-Prolin Metil Esteri ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.025 ppm), Ursolik Asit (Gövde: 0.024 ppm)], 100 mg/l L-Prolin Metil Esteri ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.014 ppm)], 200 mg/l L-Prolin Metil Esteri ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Yaprak: 0.013 ppm)]. Özellikle kontrole göre; gövde ve yaprak ekstraktlarında Ursonik asit miktarında artış gözlenirken, yine kontrol grubu gövde ve yaprak ekstraktlarında tespit edilemeyen Ursolik Asit (yaprak) 50 mg/l L-Prolin Metil Esteri ilave edilen besi ortamında gelişen sürgün ekstraktlarında tespit edilmiştir (Çizelge 4.12).



Şekil 4.7. *P. lentiscus* L. bitkisine ait juvenil sürgünlerin A) Kontrol B) 50 mg/l c) 100 mg/l ve D) 200 mg/l L-Prolin Metil Esteri (LPM) ilaveli 1 mg/l BAP+0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında yaklaşık 4 haftalık proliferasyonu Bar: 0.9 cm.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen L-Prolin Metil Esteri'nin sürgün gelişimine olan etkisi morfolojik olarak irdelendiğinde, kontrole göre L-Prolin Metil Esteri konsantrasyonu artıkça gövde ve yapraklarda az kızarıklık, gövdede

kararmalar oluştuğu yaprak oluşumunda ise genelde kontrole göre azalmalar meydana geldiği gözlemlenmiştir (şekil 4.7).

P. lentiscus L. juvenil sürgünlerinin 50-100 ve 200 mg/l Mannan'ın ilave edildiği 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında inkübasyonu sonrası, uygulanan elisitasyonun sürgün gelişimine etkisi izelge 4.13, gövde ve yaprak ekstrelerindeki bazı triterpenoidlerin miktarına ilişkin sonuçlar izelge 4.14 ve morfolojik gözlemlere ilişkin görüntüler ise şekil 4.8'de sunulmuştur.

Çizelge 4.13. Farklı konsantrasyonlarda Mannan'ın sürgün gelişimine etkisi

Elisitör Tipi	Konsantrasyon (mg/l)	Ortalama Gövde Sayısı ***Ort±SH	Ortalama Gövde Uzunluğu (cm) Ort±SH	**G.O.K
Kontrol	-	9.03±0.71ab	0.56±0.05b	9.03
	50	10.30±1.07a	0.62±0.08b	10.30
Mannan	100	8.33±0.74b	0.60±0.03b	8.33
	200	1.96±0.30c	1.12±0.08a	1.96

Veriler kültürün 1. ve 28. günü 25 eksplantın ortalamasını göstermektedir. Bir kolondaki farklı harfler işlemin Duncan oklu karşılaştırma testine göre P≤0.05 seviyesinde istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

** Gövde oluşturma kapasitesi indeksi. ***Ortalama ± Standart hata.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen Mannan'ın sürgün gelişimine olan etkisi irdelendiğinde, kontrolde ortalama 9.03±0.71 gövde/eksplant oranı hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l Mannan ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 10.30±1.07, 8.33±0.74 ve 1.96±0.30 gövde/eksplant oranı hesaplandı. Mannan ilave edilen besi ortamlarında gövde/eksplant oranı 50 mg/l Mannan ilaveli besi ortamda en fazla hesaplanırken, Mannan konsantrasyonu arttıkça gövde/eksplant oranı kontrolle karşılaştırıldığında düştüğü hesaplandı. Bununla birlikte ilave edilen Mannan konsantrasyonu arttıkça gövde/eksplant oranında düşüşler hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğin de kontrol ile 50 ve 100 mg/l Mannan ilaveli besi ortamlarındaki gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel fark hesaplanmazken, Mannan ilave edilen besi ortamındaki gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel olarak fark hesaplanmıştır.

Gövde uzunluğu bakımından elde edilen veriler değerlendirildiğinde kontrolde ortalama 0.56±0.05 cm hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l Mannan ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 0.62±0.08 cm, 0.60±0.03 cm ve 1.12±0.08 cm gövde uzunlukları hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ile 50 ve 100 mg/l Mannan ilaveli besi ortamlarındaki gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında istatistiksel fark hesaplanmazken, kontrol ile 100 mg/l Mannan ilaveli besi

ortamlarındaki gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında istatistiksel olarak fark hesaplandı. Sadece Mannan ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünler arasında ortalama gövde uzunluğu bakımından 50 ve 100 mg Mannan ilaveli besi ortamları ile 200 mg/l Mannan ilaveli besi ortamlarında istatistiksel olarak fark hesaplanmıştır.

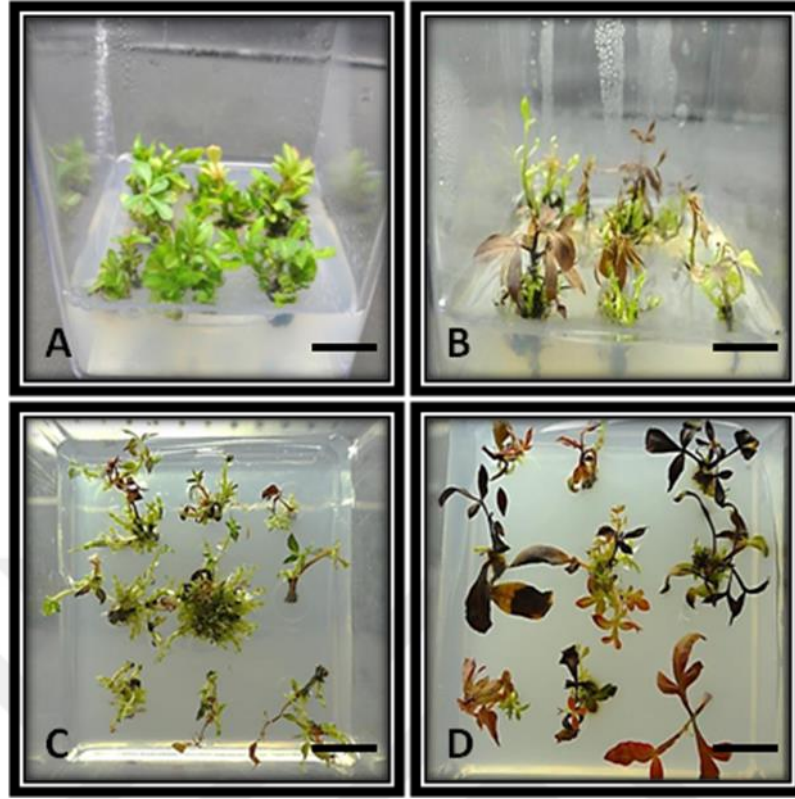
Gövde oluşturma kapasitesi bakımında kontrol 9.03, Mannan ilaveli besi ortamlarında ise sırasıyla 10.30, 8.33, 1.96 olarak hesaplanmıştır (**Çizelge 4.13**).

Çizelge 4.14. Farklı Mannan konsantrasyonlarının juvenil sürgünlerin gövde ve yaprağındaki triterpenoid miktarındaki değişimine etkisi (ppm)

Elisitör Tipi	Kons. (mg/l)	Eksp. Tipi	Ursonik Asit	Moronik Asit	Oleanonik Asit	Mastikadienolik Asit	Oleanolik Asit	Ursolik Asit
Kontrol	-	G	0.012	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	50	G	0.023	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Mannan	100	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.012
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	200	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.004	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. Tespit Edilemedi

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen Mannan'da gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin analizleri bakımından elde edilen veriler irdelendiğinde, kontrolden gelen gövde ve yaprak ekstraktlarında sadece Ursonik Asit tespit edilirken (Gövde: 0.012 ppm, Yaprak: 0.007 ppm), Mannan ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktları triterpenoid bakımından kontrole göre görece zengindir; 50 mg/l Mannan ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.023 ppm)], 100 mg/l Mannan ilaveli besi ortamında [Ursolik Asit (Gövde: 0.012 ppm)], 200 mg/l Mannan ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Yaprak: 0.004 ppm)]. Özellikle kontrole göre; gövde ve yaprak ekstraktlarında Ursonik asit miktarında artış gözlenirken, yine kontrol grubu gövde ve yaprak ekstraktlarında tespit edilemeyen Ursolik Asit (gövde) 100 mg/l Mannan ilave edilen besi ortamında gelişen sürgün ekstraktlarında tespit edilmiştir (**Çizelge 4.14**).



Şekil 4.8. *P. lentiscus* L. bitkisine ait juvenil sürgünlerin A) Kontrol B) 50 mg/l C) 100 mg/l ve D) 200 mg/l Mannan ilaveli 1 mg/l BAP+0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında yaklaşık 4 haftalık proliferasyonu Bar: 0.9 cm.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen Mannan'ın sürgün gelişimine olan etkisi morfolojik olarak irdelendiğinde, kontrole göre düşük Mannan konsantrasyonunda fazla miktarda sürgün oluşurken sürgünler cılız ve sağlıksızdır. Mannan konsantrasyonu arttıkça kontrole göre gövde sayısında azalma meydana gelirken gövde ve yapraklarda kızarıklık oluşmakta, yaprak oluşumunda ise genelde kontrole göre azalmalar meydana geldiği gözlenmiştir (Şekil 4.8).

P. lentiscus L. juvenil sürgünlerinin 50-100 ve 200 mg/l Kitosan'ın ilave edildiği 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında inkübasyonu sonrası, uygulanan elisitasyonun sürgün gelişimine etkisi Çizelge 4.15, gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin miktarına ilişkin sonuçlar Çizelge 4.16 ve morfolojik gözlemlere ilişkin görüntüler ise Şekil 4.9'de sunulmuştur.

Çizelge 4.15. Farklı konsantrasyonlarda Kitosan'ın sürgün gelişimine etkisi

Elisitör Tipi	Konsantrasyon (mg/l)	Ortalama Gövde Sayısı ***Ort±SH	Ortalama Gövde Uzunluğu (cm) Ort±SH	**G.O.K
Kontrol	-	9.03±0.71a	0.56±0.05a	9.03
	50	5.51±0.21b	0.47±0.02b	5.51
Kitosan	100	4.82±0.44c	0.60±0.07a	4.82
	200	4.71±0.27c	0.50±0.03ab	4.71

Veriler kültürün 1. ve 28. günü 25 eksplantın ortalamasını göstermektedir. Bir kolondaki farklı harfler işlemin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre $P \leq 0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

** Gövde oluşturma kapasitesi indeksi. ***Ortalama ± Standart hata.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen Kitosan'ın sürgün gelişimine olan etkisi irdelendiğinde, kontrolde ortalama 9.03 ± 0.71 gövde/eksplant oranı hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l Kitosan ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 5.51 ± 0.21 , 4.82 ± 0.44 ve 4.71 ± 0.27 gövde/eksplant oranı hesaplandı. Kontrole göre Kitosan ilave edilen besi ortamlarında gövde/eksplant oranında düşüş hesaplanırken, Kitosan konsantrasyonu arttıkça gövde/eksplant oranının düştüğü hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde de kontrol ile Kitosan ilaveli besi ortamlarındaki gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, Kitosan ilave edilen besi ortamındaki gövde/eksplant oranları arasında 50 mg/l ile 100 ve 200 mg istatistiksel olarak fark hesaplanmıştır.

Gövde uzunluğu bakımından elde edilen veriler değerlendirildiğinde kontrolde ortalama 0.56 ± 0.05 cm hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l Kitosan ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 0.47 ± 0.02 cm, 0.60 ± 0.07 cm ve 0.50 ± 0.03 cm gövde uzunlukları hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ile 100 ve 200 mg/l Kitosan ilaveli besi ortamlarındaki gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında istatistiksel fark hesaplanmazken, kontrol ile 50 mg/l Kitosan ilaveli besi ortamlarındaki gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında istatistiksel olarak fark hesaplandı. Sadece Mannan ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünler arasında ortalama gövde uzunluğu bakımından, 50 ile 100 mg/l Kitosan ilaveli besi ortamlarında istatistiksel olarak fark hesaplanmıştır.

Gövde oluşturma kapasitesi bakımında kontrol 9.03, Kitosan ilaveli besi ortamlarında ise sırasıyla 5.51, 4.82 ve 4.71 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.16. Farklı Kitosan konsantrasyonlarının juvenil sürgünlerin gövde ve yaprağındaki triterpenoid miktarındaki değişimine etkisi (ppm)

Elisitör Tipi	Kons. (mg/l)	Eksp. Tipi	Ursonik Asit	Moronik Asit	Oleanonik Asit	Mastikadienolik Asit	Oleanolik Asit	Ursolik Asit
Kontrol	-	G	0.012	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	50	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Kitosan	100	G	0.015	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.018
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	200	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. Tespit Edilemedi

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen Kitosan'da gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin analizleri bakımından elde edilen veriler irdelendiğinde, kontrolden gelen gövde ve yaprak ekstrelerinde sadece Ursonik Asit tespit edilirken (Gövde:0.012 ppm, Yaprak: 0.007 ppm), Kitosan ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstreleri triterpenoid bakımından kontrole göre görece zengindir; 100 mg/l Kitosan ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.015 ppm), Ursolik Asit (Gövde: 0.018 ppm)]. Özellikle kontrole göre; gövde ekstraktlarında Ursonik asit miktarında artış gözlenirken, yine kontrol grubu gövde ve yaprak ekstraktlarında tespit edilemeyen Ursolik Asit (gövde) 100 mg/l Kitosan ilave edilen besi ortamında gelişen sürgün ekstraktlarında tespit edilmiştir (**Çizelge 4.16**).



Şekil 4.9. *P. lentiscus* L. bitkisine ait juvenil sürgünlerin A) Kontrol B) 50 mg/l C) 100 mg/l ve D) 200 mg/l Kitosan ilaveli 1 mg/l BAP+0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında yaklaşık 4 haftalık proliferasyonu Bar: 0.9 cm.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen Kitosan'ın sürgün gelişimine olan etkisi morfolojik olarak irdelendiğinde, Kitosan konsantrasyonu artıka kontrole göre gövde sayısında azalma meydana gelirken gövde ve yapraklarda kızarıklık oluşmakta, yaprak oluşumunda ise genelde kontrole göre azalmalar meydana geldiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.9).

P. lentiscus L. juvenil sürgünlerinin 1-2 ve 4 mg/l Zimosan A'nın ilave edildiği 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında inkübasyonu sonrası, uygulanan elisitasyonun sürgün gelişimine etkisi Çizelge 4.17, gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin miktarına ilişkin sonuçlar Çizelge 4.18 ve morfolojik gözlemlere ilişkin görüntüler ise Şekil 4.10'de sunulmuştur.

Çizelge 4.17. Farklı konsantrasyonlarda Zimosan A'nın sürgün gelişimine etkisi

Elisitör Tipi	Konsantrasyon (mg/l)	Ortalama Gövde Sayısı ***Ort±SH	Ortalama Gövde Uzunluğu (cm) Ort±SH	**G.O.K
Kontrol	-	9.03±0.71a	0.56±0.05ab	9.03
Zimosan A	1	8.83±0.87a	0.56±0.03a	8.83
	2	8.16±0.31a	0.49±0.02b	8.16
	4	5.53±0.47b	0.23±0.02c	5.53

Veriler kültürün 1. ve 28. günü 25 eksplantın ortalamasını göstermektedir. Bir kolondaki farklı harfler işlemin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre P≤0.05 seviyesinde istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

** Gövde oluşturma kapasitesi indeksi. ***Ortalama ± Standart hata.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen Zimosan A'nın sürgün gelişimine olan etkisi irdelendiğinde, kontrolde ortalama 9.03 ± 0.71 gövde/eksplant oranı hesaplanırken, 1-2 ve 4 mg/l Zimosan A ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 8.83 ± 0.71 , 8.16 ± 0.31 ve 5.53 ± 0.47 gövde/eksplant oranı hesaplandı. Kontrole göre Zimosan A ilave edilen besi ortamlarında gövde/eksplant oranında düşüş hesaplanırken, Zimosan A konsantrasyonu arttıkça gövde/eksplant oranının düştüğü hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde de kontrol ile 4 mg/l Zimosan A ilaveli edilen besi ortamında gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, kontrol ile 1 ve 2 mg/l Zimosan A ilaveli edilen besi ortamında gövde/eksplant oranları arasında herhangi istatistiksel bir fark hesaplanmadı. Zimosan A ilave edilen besi ortamındaki gövde/eksplant oranları arasında 1 ve 2 mg/l ile 4 mg istatistiksel olarak fark hesaplanmıştır.

Gövde uzunluğu bakımından elde edilen veriler değerlendirildiğinde kontrolde ortalama 0.56 ± 0.05 cm hesaplanırken, 1-2 ve 4 mg/l Zimosan A ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 0.56 ± 0.05 cm, 0.49 ± 0.02 cm ve 0.23 ± 0.02 cm gövde uzunlukları hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ile 1 mg/l Zimosan A ilaveli besi ortamlarındaki gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları aynı grup içinde yer alırken, kontrol ile 2 ve 4 mg/l Zimosan A ilaveli besi ortamlarındaki gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında istatistiksel olarak fark hesaplandı. Sadece Zimosan A ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünler arasında ortalama gövde uzunluğu bakımından istatistiksel olarak fark hesaplanmıştır. Gövde oluşturma kapasitesi bakımında kontrol 9.03, Zimosan A ilaveli besi ortamlarında ise sırasıyla 8.83, 8.16 ve 5.53 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.18. Farklı Zimosan A konsantrasyonlarının juvenil sürgünlerin gövde ve yaprağındaki triterpenoid miktarındaki değişimine etkisi (ppm)

Elisitör Tipi	Kons. (mg/l)	Eksp. Tipi	Ursonik Asit	Moronik Asit	Oleanonik Asit	Mastikadienolik Asit	Oleanolik Asit	Ursolik Asit
Kontrol	-	G	0.012	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Zimosan A	1	G	0.008	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.026
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2	G	0.014	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.019
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	4	G	0.015	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.047
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. Tespit Edilemedi

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen Zimosan A'dan gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin analizleri bakımından elde edilen veriler irdelendiğinde, kontrolden gelen gövde ve yaprak ekstraktlarında sadece Ursonik Asit tespit edilirken (Gövde:0.012 ppm, Yaprak: 0.007 ppm), Zimosan A ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktları triterpenoid bakımından kontrole göre görece zengindir; 1 mg/l Zimosan A ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.008 ppm), Ursolik Asit (Gövde: 0.026 ppm)], 2 mg/l Zimosan A ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.014 ppm), Ursolik Asit (Gövde: 0.019 ppm)], 4 mg/l Zimosan A ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.015 ppm), Ursolik Asit (Gövde: 0.047 ppm)]. Özellikle kontrole göre; 2 ve 4 mg/l Zimosan A ilave edilen sürgünlerin gövde ekstraktlarında Ursonik asit miktarında artış gözlenirken, yine kontrol grubu gövde ve yaprak ekstraktlarında tespit edilemeyen Ursolik Asit (gövde) 1, 2 ve 4 mg/l Zimosan A ilave edilen besi ortamında gelişen sürgün ekstraktlarında tespit edilmiştir(Çizelge 4.18).



Şekil 4.10. *P. lentiscus* L. bitkisine ait juvenil sürgünlerin A) Kontrol B) 1 mg/l C) 2 mg/l ve D) 4 mg/l Zimosan A ilaveli 1 mg/l BAP+0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında yaklaşık 4 haftalık proliferasyonu Bar: 0.9 cm.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen Zimosan A'nın sürgün gelişimine olan etkisi morfolojik olarak irdelendiğinde, Zimosan A konsantrasyonu artıkça kontrole göre gövde sayısında azalma meydana gelirken gövde ve yapraklarda az kızarıklık oluşmakta, yaprak oluşumunda E-vitamini, JA, MeJA, Try, Pyr, LPM, Mannan ve Kitosan aksine daha fazla yaprak oluşumu gözlemlenmiştir (**Şekil 4.10**).

P. lentiscus L. juvenil sürgünlerinin 1-2 ve 4 mg/l Peptidoglikan (PGn)'ın ilave edildiği 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında inkübasyonu sonrası, uygulanan elisitasyonun sürgün gelişimine etkisi **Çizelge 4.19**, gövde ve yaprak ekstrelerindeki bazı triterpenoidlerin miktarına ilişkin sonuçlar **Çizelge 4.20** ve morfolojik gözlemlere ilişkin görüntüler ise **Şekil 4.11**'de sunulmuştur.

Çizelge 4.19. Farklı konsantrasyonlarda Peptidoglikan'ın sürgün gelişimine etkisi

Elisitör Tipi	Konsantrasyon (mg/l)	Ortalama Gövde Sayısı ***Ort±SH	Ortalama Gövde Uzunluğu (cm) Ort±SH	**G.O.K
Kontrol	-	9.03±0.71a	0.56±0.05b	9.03
	1	7.60±0.60b	0.56±0.03b	7.60
Peptidoglikan	2	8.60±0.62ab	0.56±0.04b	8.60
	4	7.00±0.92b	0.75±0.08a	7.00

Veriler kültürün 1. ve 28. günü 25 eksplantın ortalamasını göstermektedir. Bir kolondaki farklı harfler işlemin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre P≤0.05 seviyesinde istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.
** Gövde oluşturma kapasitesi indeksi. ***Ortalama ± Standart hata.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen Peptidoglikan'ın sürgün gelişimine olan etkisi irdelendiğinde, kontrolde ortalama 9.03±0.71 gövde/eksplant oranı hesaplanırken, 1-2 ve 4 mg/l Peptidoglikan ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 7.60±0.60, 8.60±0.62 ve 7.00±0.92 gövde/eksplant oranı hesaplandı. Kontrole göre Peptidoglikan ilave edilen besi ortamlarında gövde/eksplant oranında düşüş hesaplanırken, düşük ve yüksek konsantrasyon Peptidoglikan ilave edilen besi ortamlarında gövde/eksplant oranının düştüğü hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol ile 2 mg/l Peptidoglikan ilaveli edilen besi ortamında gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel fark hesaplanmazken, kontrol ile 1 ve 4 mg/l Peptidoglikan ilaveli edilen besi ortamında gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel fark hesaplandı. Peptidoglikan ilave edilen besi ortamındaki gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark hesaplanmamıştır.

Gövde uzunluğu bakımından elde edilen veriler değerlendirildiğinde kontrolde ortalama 0.56±0.05 cm hesaplanırken, 1-2 ve 4 mg/l Peptidoglikan ilaveli besi

ortamlarında sırasıyla ortalama 0.56 ± 0.03 cm, 0.56 ± 0.04 cm ve 0.75 ± 0.08 cm gövde uzunlukları hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ile 1 ve 2 mg/l Peptidoglikan ilaveli besi ortamlarındaki gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında istatistiksel fark hesaplanmazken, kontrol ile 4 mg/l Peptidoglikan ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında istatistiksel olarak fark hesaplandı. Sadece Peptidoglikan ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunluğu bakımından 1 ve 2 mg/l ile 4 mg/l arasında istatistiksel olarak fark hesaplanmıştır.

Gövde oluşturma kapasitesi bakımında kontrol 9.03, Peptidoglikan ilaveli besi ortamlarında ise sırasıyla 7.60, 8.60 ve 7.00 olarak hesaplanmıştır (**Çizelge 4.19**).

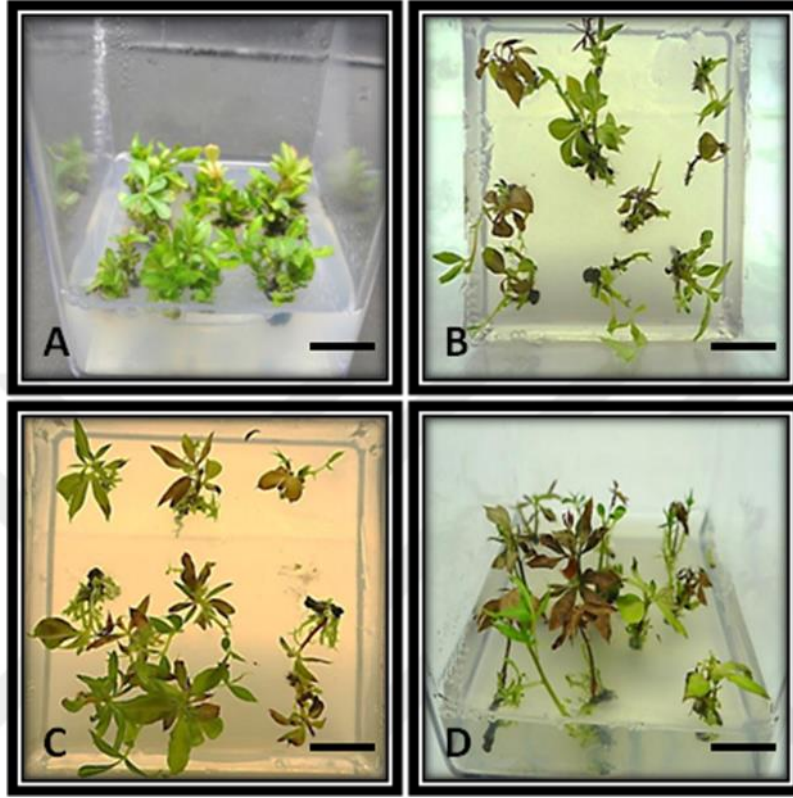
Çizelge 4.20. Farklı Peptidoglikan (PGn) konsantrasyonlarının juvenil sürgünlerin gövde ve yaprağındaki triterpenoid miktarındaki değişimine etkisi (ppm)

Elisitör Tipi	Kons. (mg/l)	Eksp. Tipi	Ursonik Asit	Moronik Asit	Oleanonik Asit	Mastikadienolik Asit	Oleanolik Asit	Ursolik Asit
Kontrol	-	G	0.012	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Peptidoglikan	1	G	0.004	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.009	N.D.	N.D.	0.005	N.D.	N.D.
	2	G	0.005	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
4	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
	Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	

N.D. Tespit Edilemedi

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen Peptidoglikan'dan gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin analizleri bakımından elde edilen veriler irdelendiğinde, kontrolden gelen gövde ve yaprak ekstraktlarında sadece Ursonik Asit tespit edilirken (Gövde:0.012 ppm, Yaprak:0.007 ppm), Peptidoglikan ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktları triterpenoid bakımından kontrole göre görece zengindir; 1 mg/l Peptidoglikan ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.004 ppm, Yaprak: 0.009 ppm), Mastikadienolik Asit (Yaprak: 0.005 ppm)], 2 mg/l Peptidoglikan ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.005 ppm)]. Özellikle kontrole göre denenen Peptidoglikan konsantrasyonlarında E-vitamini, JA, MeJA, Try, Pyr, LPM, Mannan, Kitosan ve Zimosan A aksine Ursonik Asit miktarında artış gözlenmezken, yine kontrol grubu gövde ve yaprak ekstraktlarında tespit edilemeyen Mastikadienolik Asit (Yaprak) 1

mg/l Peptidoglikan ilave edilen besi ortamında gelişen sürgün ekstraktlarında tespit edilmiştir (Çizelge 4.20).



Şekil 4.11. *P. lentiscus* L. bitkisine ait juvenil sürgünlerin A) Kontrol B) 1 mg/l C) 2 mg/l ve D) 4 mg/l Peptidoglikan (PGn) ilaveli 1 mg/l BAP+0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında yaklaşık 4 haftalık proliferasyonu Bar: 0.9 cm.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen Peptidoglikan'ın sürgün gelişimine olan etkisi morfolojik olarak irdelendiğinde, Peptidoglikan düşük ve yüksek konsantrasyonda Peptidoglikan da gövde ve yapraklarda az kızarıklık oluşmakta, yaprak oluşumunda ise kontrole göre yaprak oluşumunda azalma gözlemlenmiştir (Şekil 4.11).

P. lentiscus L. juvenil sürgünlerinin 50-100 ve 200 mg/l *P. atlantica* ekstraktı'nın ilave edildiği 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında inkübasyonu sonrası, uygulanan elisitasyonun sürgün gelişimine etkisi Çizelge 4.21, gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin miktarına ilişkin sonuçlar Çizelge 4.22 ve morfolojik gözlemlere ilişkin görüntüler ise Şekil 4.12'de sunulmuştur.

Çizelge 4.21. Farklı konsantrasyonlarda *P. atlantica* ekstraktı'nın sürgün gelişimine etkisi

Elisitör Tipi	Konsantrasyon (mg/l)	Ortalama Gövde Sayısı ***Ort±SH	Ortalama Gövde Uzunluğu (cm) Ort±SH	**G.O.K
Kontrol	-	9.03±0.71a	0.56±0.05c	9.03
<i>P. atlantica</i> Ekstraktı	50	1.40±0.15c	1.29±0.08b	1.40
	100	1.97±0.15b	1.48±0.51a	1.97
	200	1.00±0.00d	1.55±0.03ab	1.00

Veriler kültürün 1. ve 28. günü 25 eksplantın ortalamasını göstermektedir. Bir kolondaki farklı harfler işlemin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre $P \leq 0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

** Gövde oluşturma kapasitesi indeksi. ***Ortalama ± Standart hata.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen *P. atlantica* ekstraktı'nın sürgün gelişimine olan etkisi irdelendiğinde, kontrolde ortalama 9.03 ± 0.71 gövde/eksplant oranı hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l *P. atlantica* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 1.40 ± 0.15 , 1.97 ± 0.15 ve 1.00 ± 0.00 gövde/eksplant oranı hesaplandı. Kontrole göre *P. atlantica* ekstraktı ilave edilen besi ortamlarında gövde/eksplant oranında düşüş hesaplanırken, düşük ve yüksek konsantrasyon *P. atlantica* ekstraktı ilave edilen besi ortamlarında gövde/eksplant oranının düştüğü hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde de kontrol ile *P. atlantica* ekstraktı ilaveli edilen besi ortamında gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, *P. atlantica* ekstraktı ilave edilen besi ortamındaki gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel olarak fark hesaplanmıştır.

Gövde uzunluğu bakımından elde edilen veriler değerlendirildiğinde kontrolde ortalama 0.56 ± 0.05 cm hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l *P. atlantica* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 1.29 ± 0.08 cm, 1.48 ± 0.51 cm ve 1.75 ± 0.08 cm gövde uzunlukları hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ile *P. atlantica* ekstraktı ilaveli besi ortamlarındaki gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, *P. atlantica* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunluğu bakımından 50 ve 200 mg/l ile 100 ve 200 mg/l arasında istatistiksel olarak fark hesaplanmamıştır.

Gövde oluşturma kapasitesi bakımında kontrol 9.03, *P. atlantica* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında ise sırasıyla 1.40, 1.97 ve 1.00 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.22. Farklı *P. atlantica* Ekstraktı konsantrasyonlarının juvenil sürgünlerin gövde ve yaprağındaki triterpenoid miktarındaki değişimine etkisi (ppm)

Elisitör Tipi	Kons. (mg/l)	Eksp. Tipi	Ursonik Asit	Moronik Asit	Oleanonik Asit	Mastikadienolik Asit	Oleanolik Asit	Ursolik Asit
Kontrol	-	G	0.012	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>P. atlantica</i> Ekstraktı	50	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	100	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	200	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. Tespit Edilemedi

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen *P. atlantica* ekstraktı'ndan gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin analizleri bakımından elde edilen veriler irdelendiğinde, kontrolden gelen gövde ve yaprak ekstraktlarında sadece Ursonik Asit tespit edilirken (Gövde:0.012 ppm, Yaprak: 0.007 ppm), *P. atlantica* ekstraktı ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktları herhangi bir triterpenoid oluşumu tespit edilmemiştir (Çizelge 4.22).



Şekil 4.12. *P. lentiscus* L. bitkisine ait juvenil sürgünlerin A) Kontrol B) 50 mg/l C) 100 mg/l ve D) 200 mg/l *P. atlantica* ekstraktı ilaveli 1 mg/l BAP+0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında yaklaşık 4 haftalık proliferasyonu Bar: 0.9 cm.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen *P. atlantica* ekstraktı'nın sürgün gelişimine olan etkisi morfolojik olarak irdelendiğinde, *P. atlantica* ekstraktı arttıkça gövde ve yapraklarda kızarıklık artmakta ve sağlıklı gövdeler oluştuğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.12).

P. lentiscus L. juvenil sürgünlerinin 50-100 ve 200 mg/l *P. lentiscus* ekstraktı'nın ilave edildiği 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında inkübasyonu sonrası, uygulanan elisitasyonun sürgün gelişimine etkisi Çizelge 4.23, gövde ve yaprak ekstraterindeki bazı triterpenoidlerin miktarına ilişkin sonuçlar Çizelge 4.24 ve morfolojik gözlemlere ilişkin görüntüler ise Şekil 4.13'de sunulmuştur.

Çizelge 4.23. Farklı konsantrasyonlarda *P. lentiscus* ekstraktı'nın sürgün gelişimine etkisi

Elisitör Tipi	Konsantrasyon (mg/l)	Ortalama Gövde Sayısı ***Ort±SH	Ortalama Gövde Uzunluğu (cm) Ort±SH	**G.O.K
Kontrol	-	9.03±0.71a	0.56±0.05c	9.03
<i>P. lentiscus</i> Ekstraktı	50	1.00±0.00c	1.57±0.11a	1.00
	100	1.26±0.11b	1.41±0.07b	1.26
	200	1.00±0.00c	1.57±0.04a	1.00

Veriler kültürün 1. ve 28. günü 25 eksplantın ortalamasını göstermektedir. Bir kolondaki farklı harfler işlemin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre P≤0.05 seviyesinde istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

** Gövde oluşturma kapasitesi indeksi. ***Ortalama ± Standart hata.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen *P. lentiscus* ekstraktı'nın sürgün gelişimine olan etkisi irdelendiğinde, kontrolde ortalama 9.03±0.71 gövde/eksplant oranı hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l *P. lentiscus* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 1.00±0.00, 1.26±0.11 ve 1.00±0.00 gövde/eksplant oranı hesaplandı. Kontrole göre *P. lentiscus* ekstraktı ilave edilen besi ortamlarında gövde/eksplant oranında düşüş hesaplanırken, düşük ve yüksek konsantrasyon *P. lentiscus* ekstraktı ilave edilen besi ortamlarında gövde/eksplant oranının düştüğü hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde de kontrol ile *P. lentiscus* ekstraktı ilaveli edilen besi ortamında gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, *P. lentiscus* ekstraktı ilave edilen besi ortamındaki gövde/eksplant oranları 50 mg/l ve 200 mg/l ile 100 mg/l *P. lentiscus* ekstraktı ilave edilen arasında istatistiksel olarak fark hesaplanmıştır.

Gövde uzunluğu bakımından elde edilen veriler değerlendirildiğinde kontrolde ortalama 0.56 ± 0.05 cm hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l *P. lentiscus* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 1.57 ± 0.11 cm, 1.41 ± 0.07 cm ve 1.57 ± 0.04 cm gövde uzunlukları hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ile *P. lentiscus* ekstraktı ilaveli besi ortamlarındaki gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, *P. lentiscus* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunluğu bakımından 50 ve 200 mg/l ile 100 mg/l arasında istatistiksel olarak fark hesaplanmıştır.

Gövde oluşturma kapasitesi bakımında kontrol 9.03, *P. lentiscus* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında ise sırasıyla 1.00, 1.26 ve 1.00 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.23).

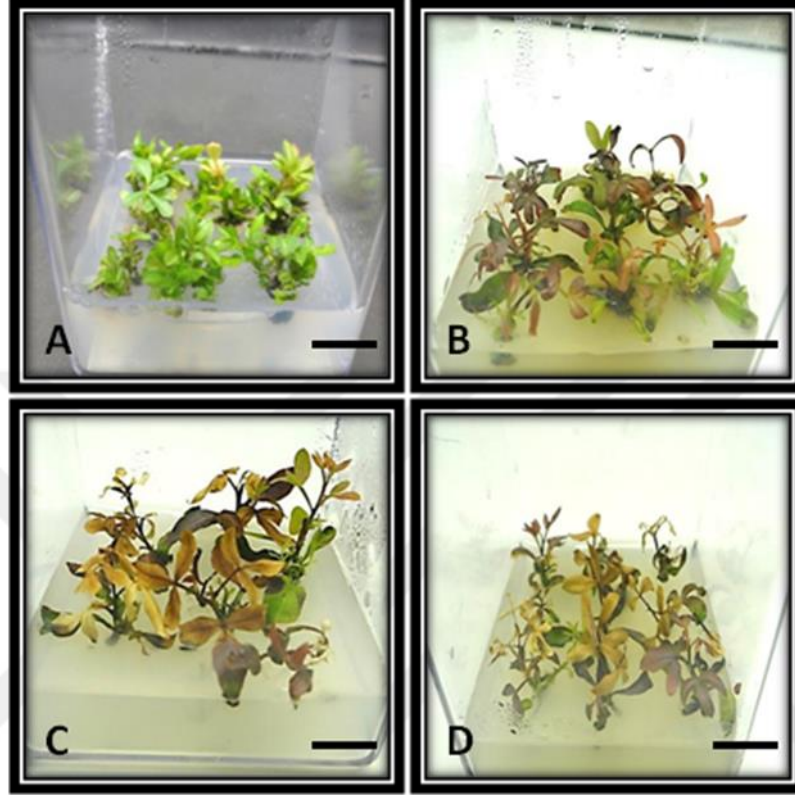
Çizelge 4.24. Farklı *P. lentiscus* Ekstraktı konsantrasyonlarının juvenil sürgünlerin gövde ve yaprağındaki triterpenoid miktarındaki değişimine etkisi (ppm)

Elisitör Tipi	Kons. (mg/l)	Eksp. Tipi	Ursonik Asit	Moronik Asit	Oleanonik Asit	Mastikadienolik Asit	Oleanolik Asit	Ursolik Asit
Kontrol	-	G	0.012	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>P. lentiscus</i> Ekstraktı	50	G	0.010	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.023
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	100	G	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
200	G	0.045	N.D.	N.D.	N.D.	0.002	N.D.	
	Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	

N.D. Tespit Edilemedi

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen *P. lentiscus* ekstraktı'ndan gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin analizleri bakımından elde edilen veriler irdelendiğinde, kontrolden gelen gövde ve yaprak ekstraktlarında sadece Ursonik Asit tespit edilirken (Gövde:0.012 ppm, Yaprak: 0.007 ppm), *P. lentiscus* ekstraktı ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktları triterpenoid bakımından kontrole göre görece zengindir; 50 mg/l *P. lentiscus* ekstraktı ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.010 ppm, Ursolik Asit (Gövde: 0.023 ppm)], 100 mg/l *P. lentiscus* ekstraktı ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.007 ppm)], 200 mg/l *P. lentiscus* ekstraktı ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.045 ppm), Mastikadienolik Asit (Gövde: 0.002 ppm)]. Özellikle kontrole göre; 200 mg/l *P. lentiscus* ekstraktı ilave edilen sürgünlerin gövde ekstraktlarında Ursonik asit miktarında artış gözlenirken, yine kontrol grubu gövde ve yaprak ekstraktlarında tespit edilemeyen Ursolik Asit (gövde) 50 mg/l *P. lentiscus*

ekstraktı, Mastikadienolik Asit (gövde) 200 mg/l *P. lentiscus* ekstraktı ilave edilen besi ortamında gelişen sürgün ekstraktlarında tespit edilmiştir (Çizelge 4.24).



Şekil 4.13. *P. lentiscus* L. bitkisine ait juvenil sürgünlerin A) Kontrol B) 50 mg/l C) 100 mg/l ve D) 200 mg/l *P. lentiscus* ekstraktı ilaveli 1 mg/l BAP+0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında yaklaşık 4 haftalık proliferasyonu Bar: 0.9 cm.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen *P. lentiscus* ekstraktı'nın sürgün gelişimine olan etkisi morfolojik olarak irdelendiğinde, *P. lentiscus* ekstraktı arttıkça gövde ve yapraklarda kızarma ve kahverengileşme artmakta ve sağlıklı gövdeler oluştuğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.13).

P. lentiscus L. juvenil sürgünlerinin 50-100 ve 200 mg/l *P. khinjuk* ekstraktı'nın ilave edildiği 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında inkübasyonu sonrası, uygulanan elisitasyonun sürgün gelişimine etkisi Çizelge 4.25, gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin miktarına ilişkin sonuçlar Çizelge 4.26 ve morfolojik gözlemlere ilişkin görüntüler ise Şekil 4.14'de sunulmuştur.

Çizelge 4.25. Farklı konsantrasyonlarda *P. khinjuk* ekstraktı'nın sürgün gelişimine etkisi

Elisitör Tipi	Konsantrasyon (mg/l)	Ortalama Gövde Sayısı ***Ort±SH	Ortalama Gövde Uzunluğu (cm) Ort±SH	**G.O.K
Kontrol	-	9.03±0.71a	0.56±0.05c	9.03
<i>P. khinjuk</i>	50	1.00±0.00b	1.47±0.03ab	1.00
Ekstraktı	100	1.00±0.00b	1.47±0.07ab	1.00
	200	1.00±0.00b	1.52±0.04a	1.00

Veriler kültürün 1. ve 28. günü 25 eksplantın ortalamasını göstermektedir. Bir kolondaki farklı harfler işlemin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre $P \leq 0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

** Gövde oluşturma kapasitesi indeksi. ***Ortalama ± Standart hata.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen *P. khinjuk* ekstraktı'nın sürgün gelişimine olan etkisi irdelendiğinde, kontrolde ortalama 9.03 ± 0.71 gövde/eksplant oranı hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l *P. khinjuk* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 1.00 ± 0.00 , 1.00 ± 0.00 ve 1.00 ± 0.00 gövde/eksplant oranı hesaplandı. Kontrole göre *P. khinjuk* ekstraktı ilave edilen besi ortamlarında gövde/eksplant oranında düşüş hesaplanırken, tüm *P. khinjuk* ekstraktı ilave edilen besi ortamlarında gövde/eksplant oranının benzer olarak hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol ile *P. khinjuk* ekstraktı ilaveli edilen besi ortamında gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, *P. lentiscus* ekstraktı ilave edilen besi ortamındaki gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark hesaplanmamıştır.

Gövde uzunluğu bakımından elde edilen veriler değerlendirildiğinde kontrolde ortalama 0.56 ± 0.05 cm hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l *P. khinjuk* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 1.47 ± 0.03 cm, 1.47 ± 0.07 cm ve 1.52 ± 0.04 cm gövde uzunlukları hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ile *P. khinjuk* ekstraktı ilaveli besi ortamlarındaki gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, tüm *P. khinjuk* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunluğu bakımından istatistiksel olarak herhangi bir fark hesaplanmamıştır.

Gövde oluşturma kapasitesi bakımında kontrol 9.03, *P. khinjuk* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında ise sırasıyla 1.00, 1.00 ve 1.00 olarak hesaplanmıştır (**Çizelge 4.25**).

Çizelge 4.26. Farklı *P. khinjuk* Ekstraktı konsantrasyonlarının juvenil sürgünlerin gövde ve yaprağındaki triterpenoid miktarındaki değişimine etkisi (ppm)

Elisitör Tipi	Kons. (mg/l)	Eksp. Tipi	Ursonik Asit	Moronik Asit	Oleanonik Asit	Mastikadienolik Asit	Oleanolik Asit	Ursolik Asit
Kontrol	-	G	0.012	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	50	G	0.017	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>P. khinjuk</i> Ekstraktı	100	G	0.020	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.011
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	200	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.008

N.D. Tespit Edilemedi

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen *P. khinjuk* ekstraktı'ndan gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin analizleri bakımından elde edilen veriler irdelendiğinde, kontrolden gelen gövde ve yaprak ekstraktlarında sadece Ursonik Asit tespit edilirken (Gövde:0.012 ppm, Yaprak: 0.007 ppm), *P. khinjuk* ekstraktı ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktları triterpenoid bakımından kontrole göre görece zengindir; 50 mg/l *P. khinjuk* ekstraktı ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.017 ppm, Yaprak: 0.001)], 100 mg/l *P. khinjuk* ekstraktı ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.020 ppm), Ursolik Asit (Gövde: 0.011 ppm)], 200 mg/l *P. khinjuk* ekstraktı ilaveli besi ortamında [Ursolik Asit (Gövde: 0.008 ppm)]. Özellikle kontrole göre; 50 ve 100 mg/l *P. khinjuk* ekstraktı ilave edilen sürgünlerin gövde ekstraktlarında Ursonik asit miktarında artış gözlenirken, yine kontrol grubu gövde ve yaprak ekstraktlarında tespit edilemeyen Ursolik Asit (gövde) 50 mg/l *P. khinjuk* ekstraktı ve Ursolik Asit (yaprak) 200 mg/l *P. khinjuk* ekstraktı ilave edilen besi ortamında gelişen sürgün ekstraktlarında tespit edilmiştir (**Çizelge 4.26**).



Şekil 4.14. *P. lentiscus* L. bitkisine ait juvenil sürgünlerin A) Kontrol B) 50 mg/l C) 100 mg/l ve D) 200 mg/l *P. khinjuk* ekstraktı ilaveli 1 mg/l BAP+0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında yaklaşık 4 haftalık proliferasyonu Bar: 0.9 cm.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen *P. khinjuk* ekstraktı'nın sürgün gelişimine olan etkisi morfolojik olarak irdelendiğinde, *P. khinjuk* ekstraktı arttıkça gövde ve yapraklarda kızarma ve kahverengileşme artmakta ve sağlıklı gövdeler oluştuğu gözlemlenmiştir (**Şekil 4.14**).

P. lentiscus L. juvenil sürgünlerinin 50-100 ve 200 mg/l *P. terebinthus* ekstraktı'nın ilave edildiği 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında inkübasyonu sonrası, uygulanan elisitasyonun sürgün gelişimine etkisi **Çizelge 4.27**, gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin miktarına ilişkin sonuçlar **Çizelge 4.28** ve morfolojik gözlemlere ilişkin görüntüler ise **Şekil 4.15**'de sunulmuştur.

Çizelge 4.27. Farklı konsantrasyonlarda *P. terebinthus* ekstraktı'nın sürgün gelişimine etkisi

Elisitör Tipi	Konsantrasyon (mg/l)	Ortalama Gövde Sayısı ***Ort±SH	Ortalama	**G.O.K
			Gövde Uzunluğu (cm) Ort±SH	
Kontrol	-	9.03±0.71a	0.56±0.05c	9.03
<i>P.terebinthus</i> Ekstraktı	50	1.00±0.00c	1.32±0.11b	1.00
	100	1.40±0.16b	1.32±0.07b	1.40
	200	1.03±0.03c	1.55±0.03a	1.03

Veriler kültürün 1. ve 28. günü 25 eksplantın ortalamasını göstermektedir. Bir kolondaki farklı harfler işlemin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre $P \leq 0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

** Gövde oluşturma kapasitesi indeksi. ***Ortalama ± Standart hata.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen *P. terebinthus* ekstraktı'nın sürgün gelişimine olan etkisi irdelendiğinde, kontrolde ortalama 9.03 ± 0.71 gövde/eksplant oranı hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l *P. terebinthus* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 1.00 ± 0.00 , 1.40 ± 0.16 ve 1.03 ± 0.03 gövde/eksplant oranı hesaplandı. Kontrole göre *P. terebinthus* ekstraktı ilave edilen besi ortamlarında gövde/eksplant oranında artış hesaplanırken, istatistiksel olarak değerlendirildiğin de kontrol ile *P. terebinthus* ekstraktı ilaveli edilen besi ortamında gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, 50 ve 200 mg/l ile 100 mg/l *P. terebinthus* ekstraktı ilave edilen besi ortamındaki gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel olarak fark hesaplanmıştır.

Gövde uzunluğu bakımından elde edilen veriler değerlendirildiğinde kontrolde ortalama 0.56 ± 0.05 cm hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l *P. terebinthus* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 1.32 ± 0.11 cm, 1.32 ± 0.07 cm ve 1.55 ± 0.03 cm gövde uzunlukları hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ile *P. terebinthus* ekstraktı ilaveli besi ortamlarındaki gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, 50 ve 100 mg/l ile 200 mg/l *P. terebinthus* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunluğu bakımından istatistiksel olarak fark hesaplanmıştır.

Gövde oluşturma kapasitesi bakımında kontrol 9.03, *P. khinjuk* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında ise sırasıyla 1.00, 1.40 ve 1.03 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.27).

Çizelge 4.28. Farklı *P. terebinthus* Ekstraktı konsantrasyonlarının juvenil sürgünlerin gövde ve yaprağındaki triterpenoid miktarındaki değişimine etkisi (ppm)

Elisitör Tipi	Kons. (mg/l)	Eksp. Tipi	Ursonik Asit	Moronik Asit	Oleanonik Asit	Mastikadienolik Asit	Oleanolik Asit	Ursolik Asit
Kontrol	-	G	0.012	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>P.terebinthus</i> Ekstraktı	50	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.008	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	100	G	0.006	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
200	G	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
	Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	

N.D. Tespit Edilemedi

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen *P. terebinthus* ekstraktı'ndan gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin analizleri bakımından elde edilen veriler irdelendiğinde, kontrolden gelen gövde ve yaprak ekstraktlarında sadece Ursonik Asit tespit edilirken (Gövde:0.012 ppm, Yaprak: 0.007 ppm), 50 mg/l *P. terebinthus* ekstraktı ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Yaprak: 0.008)], 100 mg/l *P. terebinthus* ekstraktı ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.006 ppm)], 200 mg/l *P. terebinthus* ekstraktı ilaveli besi ortamında [Ursolik Asit (Gövde: 0.007 ppm)]. Özellikle kontrole göre; 50 mg/l *P. terebinthus* ekstraktı ilave edilen sürgünlerin yaprak ekstraktında Ursonik asit miktarında artış gözlemlenmiştir (Çizelge 4.28).



Şekil 4.15. *P. lentiscus* L. bitkisine ait juvenil sürgünlerin A) Kontrol B) 50 mg/l C) 100 mg/l ve D) 200 mg/l *P. terebinthus* ekstraktı ilaveli 1 mg/l BAP+0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında yaklaşık 4 haftalık proliferasyonu Bar: 0.9 cm.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen *P. terebinthus* ekstraktı'nın sürgün gelişimine olan etkisi morfolojik olarak irdelendiğinde, *P. terebinthus* ekstraktı arttıkça gövde ve yapraklarda kızarma ve kahverengileşme artmakta ve sağlıklı gövdeler oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 4.15).

P. lentiscus L. juvenil sürgünlerinin 50-100 ve 200 mg/l *P. vera* ekstraktı'nın ilave edildiği 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında inkübasyonu sonrası, uygulanan elisitasyonun sürgün gelişimine etkisi Çizelge 4.29, gövde ve yaprak ekstraterindeki bazı triterpenoidlerin miktarına ilişkin sonuçlar Çizelge 4.30 ve morfolojik gözlemlere ilişkin görüntüler ise Şekil 4.16'de sunulmuştur.

Çizelge 4.29. Farklı konsantrasyonlarda *P. vera* ekstraktı'nın sürgün gelişimine etkisi

Elisitör Tipi	Konsantrasyon (mg/l)	Ortalama Gövde Sayısı ***Ort±SH	Ortalama Gövde Uzunluğu (cm) Ort±SH	**G.O.K
Kontrol	-	9.03±0.71a	0.56±0.05c	9.03
<i>P. vera</i> Ekstraktı	50	1.77±0.19b	1.32±0.10b	1.77
	100	1.50±0.15b	1.46±0.10ab	1.50
	200	1.10±0.06c	1.60±0.08a	1.10

Veriler kültürün 1. ve 28. günü 25 eksplantın ortalamasını göstermektedir. Bir kolondaki farklı harfler işlemin Duncan çoklu karşılaştırma testine göre P≤0.05 seviyesinde istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir.

** Gövde oluşturma kapasitesi indeksi. ***Ortalama ± Standart hata.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen *P. vera* ekstraktı'nın sürgün gelişimine olan etkisi irdelendiğinde, kontrolde ortalama 9.03 ± 0.71 gövde/eksplant oranı hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l *P. vera* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 1.77 ± 0.19 , 1.50 ± 0.15 ve 1.10 ± 0.06 gövde/eksplant oranı hesaplandı. Kontrole göre *P. vera* ekstraktı ilave edilen besi ortamlarında gövde/eksplant oranında düşüş hesaplanırken, istatistiksel olarak değerlendirildiğin de kontrol ile *P. vera* ekstraktı ilaveli edilen besi ortamında gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, 50 ve 100 mg/l ile 200 mg/l *P. vera* ekstraktı ilave edilen besi ortamındaki gövde/eksplant oranları arasında istatistiksel olarak fark hesaplanmıştır.

Gövde uzunluğu bakımından elde edilen veriler değerlendirildiğinde kontrolde ortalama 0.56 ± 0.05 cm hesaplanırken, 50-100 ve 200 mg/l *P. vera* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında sırasıyla ortalama 1.32 ± 0.10 cm, 1.46 ± 0.10 cm ve 1.60 ± 0.08 cm gövde uzunlukları hesaplandı. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ile *P. vera* ekstraktı ilaveli besi ortamlarındaki gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunlukları arasında istatistiksel fark hesaplanırken, 50 ve 100 mg/l ile 100 ve 200 mg/l *P. vera* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin ortalama gövde uzunluğu bakımından istatistiksel olarak herhangi bir fark hesaplanmamıştır.

Gövde oluşturma kapasitesi bakımında kontrol 9.03, *P. vera* ekstraktı ilaveli besi ortamlarında ise sırasıyla 1.00, 1.40 ve 1.03 olarak hesaplanmıştır (**Çizelge 4.29**).

Çizelge 4.30. Farklı *P. vera* ekstraktı konsantrasyonlarının juvenil sürgünlerin gövde ve yaprağındaki triterpenoid miktarındaki değişimine etkisi (ppm)

Elisitör Tipi	Kons. (mg/l)	Eksp. Tipi	Ursonik Asit	Moronik Asit	Oleanonik Asit	Mastikadienolik Asit	Oleanolik Asit	Ursolik Asit
Kontrol	-	G	0.012	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	0.007	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
<i>P. vera</i> Ekstraktı	50	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	100	G	0.024	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	200	G	0.005	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Y	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. Tespit Edilemedi

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen *P. vera* ekstraktı'nın gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktlarındaki bazı triterpenoidlerin analizleri bakımından elde edilen veriler irdelendiğinde, kontrolden gelen gövde ve yaprak

ekstrelerinde sadece Ursonik Asit tespit edilirken (Gövde:0.012 ppm, Yaprak: 0.007 ppm), *P. vera* ekstraktı ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstreleri triterpenoid bakımından kontrole göre görece zengindir; 100 mg/l *P. vera* ekstraktı ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.024 ppm)], 200 mg/l *P. vera* ekstraktı ilaveli besi ortamında [Ursonik Asit (Gövde: 0.005 ppm)]. Özellikle kontrole göre; 100 mg/l *P. vera* ekstraktı ilave edilen sürgünlerin gövde ekstraktlarında Ursonik asit miktarında artış gözlemlenmiştir (Çizelge 4.30).



Şekil 4.16. *P. lentiscus* L. bitkisine ait juvenil sürgünlerin A) Kontrol B) 50 mg/l C) 100 mg/l ve D) 200 mg/l *P. vera* Ekstraktı ilaveli 1 mg/l BAP+0.5 mg/l GA₃ destekli MS besi ortamında yaklaşık 4 haftalık proliferasyonu Bar: 0.9 cm.

Yarı katı besi ortamına elisitör olarak ilave edilen *P. vera* ekstraktı'nın sürgün gelişimine olan etkisi morfolojik olarak irdelendiğinde, *P. vera* ekstraktı arttıkça gövde ve yapraklarda kızarma ve kahverengileşme artmakta ve sağlıklı gövdeler oluştuğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.16).

Literatür irdelendiğinde, farklı kimyasal uyarıcıların, bitki doku kültüründe yetiştirilen bitki eksplantlarına uygulanmasıyla, ikincil metabolitlerin miktarın artırılmasına yönelik birçok çalışma mevcuttur (Tilkat ve ark., 2018). Bitkisel ikincil metabolitlerin üretilmesi çalışmalarında, sürgün, saçak kök, kallus, gövde teratoma ve

hücre süspansiyon kültürleri kullanılmaktadır. Bununla birlikte, ilgili metabolitlerin bahsi geçen kültürlerle ilave edilecek kimyasal uyarılarla artırmak mümkündür. Tez çalışması kapsamında, sürgün kültürlerine uygulanan kimyasal uyarıcılar (doğal ve sentetik) kullanılarak, bazı triterpenoidlerin miktarında artışın sağlanması amaçlanmıştır. Çalışma sonunda elde edilen veriler irdelendiğinde uygulanan kimyasal uyarıcıların ilave edildiği besi ortamlarında gelişen besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ve yaprak ekstraktarı için; Kontrol gövde ve yaprak ekstraktlarında sadece Ursonik Asit (Gövde: 0.012, Yaprak: 0.007 ppm) oluşumu tespit edildi. Kimyasal uyarıcıların ilave edildiği besi ortamlarında ise Oleanolik Asit dışında diğer diğer triterpenoidler hem tespit (*P. atlantica* ekstraktı ilaveli besi ortamlarından gelişen sürgünler dışında), hemde kontrole göre miktarında artış (Peptidoglikan ilaveli besi ortamında gelişen sürgünler haricinde) sağlandı. Ancak, denenen kimyasal uyarıcılar arasında; Genel olarak, kimyasal uyarıcıların ilave edildiği besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gelişimi irdelendiğinde, gövdelerde saramalar ve kızarmalar meydana gelirken, yaprak miktarında azalma meydana geldiği gözlemlendi. Elde edilen sonuçlarla literatür karşılaştırıldığında;

Khan ve ark (2019), 65.5 µM Kitosan ilaveli besi ortamında gelişen *F. indica* kallus kültürlerinde Ursolik Asit miktarında artış (Kontrol: 0.094 ppm, 65.5 µM Kitosan: 0.311 ppm) hesaplanırken, tez çalışması kapsamında 100 mg/l Kitosan ilaveli besi ortamında gelişen sürgünlerin gövde ekstraktında kontrole göre Ursolik Asit (Kontrol: 0 ppm, 100 mg/l Kitosan: 0.018 ppm.) tespit edildi.

Martinez ve ark (2017), 50 µM MeJA ilaveli besi ortamında gelişen *Lepechinia caulescens* kallus kültürlerinde kontrole göre Ursolik Asit ve Oleanolik Asit miktarında 5 kata artış sağlanırken, tez çalışması kapsamında MeJA ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ekstraktlarında Ursonik, Moronik, Oleanonik ve Mastikadienolik asit miktarında artış hesaplandı.

Wiktorowska ve ark (2010), 100 µM JA ilave edilen besi ortamında gelişen *Calendula officinalis* L. süspansiyon kültürlerinde Oleanolik Asit kontrole göre 9.4 kat, 50 mg/l Kitosan ilave edilen besi ortamında gelişen süspansiyon kültürlerinde ise Oleanolik Asit miktarı kontrole göre 5 kat artış sağlanırken, tez çalışması kapsamında JA ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ekstraktlarında Ursonik, Ursolik, Oleanonik Asit miktarlarında kontrole göre artış hesaplandı.

Yamaner ve ark (2013), 50 mg/l Mannan ilaveli besi ortamında gelişen *Hypericum adenotrichum* sürgün kültürlerinde kontrole göre Hiperisin için 1.7, Psödohiperisin için 2.7 kat artış sağlanırken, tez çalışması kapsamında Mannan ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ekstraktlarında Ursolik, Ursolik miktarlarında kontrole göre artış hesaplandı.

Savitha ve ark (2006), %2.5 oranında *Saccharomyces cereviceae* filtratı ilaveli besi ortamında gelişen *Beta vulgaris* saçak kök kültürlerinde betalain miktarı kontrole göre 2 kat artış sağlarken, tez çalışması kapsamında Zimosan A ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ekstraktlarında Ursolik ve Ursolik Asit, Peptidoglycan ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ekstraktlarında Mastikadienolik asit miktarlarında artış hesaplandı.

Wang ve ark (2017), 0.2 mM MeJA ve 100 mg/l maya özütü ilaveli besi ortamlarında gelişen *Achyranthes bidentata* süspansiyon kültürlerinde Oleanolic Asit miktarında kontrole göre sırasıyla yaklaşık 3 ve 4 kat artış hesaplanırken, tez çalışması kapsamında Zimosan A ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ekstraktlarında Ursolik ve Ursolik Asit, Peptidoglycan ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ekstraktlarında Mastikadienolik asit ve MeJA ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ekstraktlarında Ursolik, Moronik, Oleanonik ve Mastikadienolik asit miktarlarında kontrole göre artış hesaplandı.

Raghavendra ve ark (2011), 200 mM L-Tirozin ve MeJA ilaveli besi ortamlarında gelişen *Mucuna pruriens* L. süspansiyon kültürlerinde L-Dopa miktarında kontrole göre sırasıyla yaklaşık 20 ve 45 kat miktar artışı hesaplanırken, tez çalışması kapsamında L-Tirozin ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ekstraktlarında Ursolik, Ursolik ve Oleanonik Asit, MeJA ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ekstraktlarında Ursolik, Moronik, Oleanonik ve Mastikadienolik asit miktarlarında kontrole göre artış hesaplandı.

Masoumian ve ark (2011), 4 mg/l L-Prolin ilaveli besi ortamlarında gelişen *Hydrocotyle bonariensis* L. kallus kültürlerinde flavanoid miktarında kontrole göre artış hesaplanırken, tez çalışması kapsamında L-Prolin ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ekstraktlarında Ursolik, Moronik ve Oleanonik miktarlarında kontrole göre artış hesaplandı.

Pratibha ve ark (2015), 5 mM L-Prolin ve % 5 PEG ilaveli besi ortamlarında gelişen *Stevia rebaudiana*'nın kallus ve süspansiyon kültürlerinde steviol glikozitlerinin (SGs)

kontrole göre 2 kat artış hesaplanırken, tez çalışması kapsamında L-Prolin ilaveli besi ortamlarında gelişen sürgünlerin gövde ekstraktlarında Ursonik, Moronik ve Oleanonik miktarlarında kontrole göre artış hesaplandı.

Baque ve ark (2012), 0.2 mg/ml Kitosan 0.2 mg/ml kitosan *Morinda citrifolia* adventif kök süspansiyon kültürlerinde antrakinonlar (AQ), fenolikler ve flavonoidlerin kontrole göre sırasıyla %45, %8 ve %12 oranında artış hesaplanırken, tez çalışması kapsamında Kitosan ilaveli besi ortamında gelişen sürgünlerin gövde ekstraktında Ursonik ve Ursolik Asit miktarlarında kontrole göre artış hesaplandı.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

P. lentiscus olgun tohumlarının çimlenmesi ile elde edilen sürgünler farklı kimyasal uyarıcılar (E-vitamini, JA, MeJA, Tyr, Pyr, LPM, Mannan, Kitosan, Zimosan A, Peptidoglikan, *P. atlantica* ekstraktı, *P. lentiscus* ekstraktı, *P. khinjuk* ekstraktı, *P. terebinthus* ekstraktı ve *P. vera* ekstraktı) ilave edildiği besi ortamlarına transfer edildi. Yaklaşık 1 (bir) ay inkübasyon süresi sonunda;

-Mannan (50 mg/l) ekstraktı ilave edilen besi ortamlarında inkübe edilen sürgünler, haricinde denenen tüm kimyasal uyarıcılarda gövde/eksplant oranı kontrole göre her zaman düşük kalmıştır. Bununla birlikte her ne kadar Mannan (50 mg/l) ilave edilen besi ortamlarında gövde/ekplant oranı yüksek olsa da gövdeler sağlıklı olarak gözlemlendi.

-*P. atlantica* ekstraktı ilave edilen besi ortamlarında gelişen sürgünler dışında tüm kimyasal uyarıcıların kullanıldığı sürgünlerin ekstraktlarında triterpenoid oluşumu tespit edildi.

-Genel olarak tüm ekstraktlarda Ursonik Asit tespit edilirken (*P. atlantica* ekstraktı ilaveli besi ortamlarından gelişen sürgünler haricinde), Peptidoglikan ilaveli besi ortamında gelişen sürgünler haricinde geri kalan kimyasal uyarıcıların kullanıldığı sürgünlerin ekstraktlarında Ursonik Asit miktarında artış tespit edildi.

-Kimyasal uyarıcıların kullanıldığı besi ortamlarında gelişen sürgünlerin ekstraktlarında triterpenoid içeriği en fazla gövde ekstraktlarında tespit edildi.

-Kimyasal uyarıcıların kullanıldığı besi ortamlarında gelişen sürgünler, kimyasal uyarıcıların kullanılmadığı besi ortamlarında gelişen sürgünlere göre (kontrol) sağlıklı, sararmış, kızarmış ve kahverengileşen gövde ve yaprakların oluştuğu tespit edildi.

-İlgili tez çalışması ve bu tez çalışmasının üretildiği TÜBİTAK projesi kapsamında elde edilen sonuçlarla beraber elde edilen veriler irdelendiğinde, özellikle ilgili triterpenoidlerin artışı için literatür destekli olarak farklı stratejiler belirlenerek, hedef metabolitlerin daha fazla artışına sebep olabilecek yöntemler geliştirilebileceği gibi, uygulanan metodlar yüksek biyomas miktarının kullanıldığı biyoreaktörler kullanılarak daha fazla üretilmesine ve hedef madde saflaştırılmasına yetebilecek miktarda hammadde elde edilebilir.

KAYNAKLAR

- Acharya, K., Chakraborty, N., Dutta, A.K., Sarkar, S., Acharya, R., 2011, Signaling role of nitric oxide in the induction of plant defense by exogenous application of abiotic inducers, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 44 (15), 1501-1511.
- Ak, B.E. ve Parlakçı H., 2009, Pistacia lentiscus in the Mediterranean Region İn Turkey, In: Proc. 1st IS on pomegranate, Ed. A.I. özgüven .Acta Hort. 818, ISHS 2009,pp:77-82.
- Akdemir, H., Suzerer, V., Tilkat, E., Yildirim, H., Onay, A., Ozden Tokatlı, Y., 2013, In vitro conservation and cryopreservation of mature pistachio (*Pistacia vera L.*) germplasm, *J. Plant Biochem. Biot.*, 21, 43-51.
- Akdemir, Ö.F., Tilkat, E., Onay, A., Kılınç, F.M., Süzerer, V., Çiftçi, Y.Ö., 2013, Geçmişten Günümüze Sakız Ağacı *Pistacia lentiscus L.*, *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 3(2),1-28.
- Akdemir, H., Süzerer, V., Onay, A., Tilkat, E., Ersali, Y., Çiftçi, Y.O., 2014, Micropropagation of the pistachio and its root stocks by temporary immersionsystem, *Plant Cell Tissue Organ Cult*117:65–76.
- Al-Habbal, M. J., Al-Habbal, Z. and Huwez, F.U., 1984, A double-blind controlled clinical trial of mastic and placebo in the treatment of duodenal ulcer, *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 11, 541–544.
- Al-Jibouri, A. M. J., Abd, A.S, Majeed, D. M., Ismail, E. N., 2012, Influence of Abiotic Elicitors on Accumulation of Thymol in Callus Cultures of *Origanum vulgare L.*, *Journal of Life Sciences*, Al-Nahrain University, Baghdad 10072, Iraq, 1094-1099.
- 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*, 15, 3, 271-278.
- Andrikopoulos, N.K., Kaliora, A.C., Assimopoulou, A.N. and Papapeorgiou, V.P., 2003, Biological activity of some naturally occurring resins, gums and pigments against *in vitro* LDL oxidation, *Phytother.Res.*, 17 (5), 501–507.
- Anis, M., Husain, M.K., Siddique, I., Varshney, A., Naz, R., Perveen, S., Khan, MI., Ahmed, MR., Husain, M.K., Khan, P.R., Aref, I.M., 2011, Biotechnological approaches for the conservation of forestry species, In: Jenkins JA. editor. Forest Decline: Causes and Impacts, USA: Nova Science Publishers Inc. p. 1–39.
- Anis, M., Husain, MK., Faisal, M., Shahzad, A., Ahmad, N., Siddique, I., Khan, H., In: Kumar, A., Sopory, S.K., 2009, editors. Recent Advances in Plant Biotechnology and its Application, New Delhi: IK International Pvt. Ltd. p. 397–410.
- Anonim, 2015, European Medicines Agency, Science Medicines Health, EMA/HMPC/46756/2015 Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC) Assessment report on Pistacia lentiscus L., resin (mastic), © European Medicines Agency, 2015. pp:1-43. Web site: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_HMPC_assessment_report/2015/07/WC500190097.pdf Erişim tarihi: 05.06.2018.
- Anonymous, 1998, The Wealth of India, A Dictionary of Indian Raw Materials and Industrial Products, vol. VIII Publication and Information Directorate, CSIR, New Delhi. p. 120.

- Anonymous, 2005, Turkish Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Directorate of Samsun, Agricultural Products Planning Statistics Davis PH. 1967 *Linum L.* In: Davis PH, (ed.) Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh University Press, Edinburgh 2: 425–450.
- Anusha T.S., Joseph, M.V., Elyas K.K., 2016, Callus Induction and Elicitation of Total Phenolics in Callus Cell Suspension Culture of *Celastrus paniculatus* – willd, an Endangered Medicinal Plant in India, *Pharmacogn. J.* 8(5):471-475.
- Arehzoo, Z., Christina, S., Florian, G., Parvaneh, A., Javad, A., Seyed, H.M., 2015, Christoph W. Effects of some elicitors on tanshinone production in adventitious root cultures of *Perovskia abrotanoides* Karel, *Industrial Crops and Products*, 67:97–102.
- Arsal Kor, S., 2016, KKTC'de Yetißen *Lathyrus Ochrus* (L.) da uçucu yağ içeriğinin, uçucu sekonder metabolitlerinin ve bazı aktivite özelliklerinin tayin edilmesi, Doktora Tezi, *Yakın Doğu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, KKTC 85 sayfa.
- Assimopoulou, A.N. and 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.*, 19 (4), 285–311.
- Awad, V., Kuvalekar, A., Harsulkar, A., 2014 Microbial elicitation in root cultures of *Taverniera cuneifolia* (Roth) Arn, for elevated glycyrrhizic acid production, *Industrial Crops and Products*.;54:13–16.
- Aziz, A., Trotel-Aziz, P., Dhuicq, L., Jeandet, P., Couderchet, M., Vernet, G. 2006, Chitosan oligomers and copper sulfate induce grapevine defense reactions and resistance to gray mold and downy mildew, *Phytopathology*, 96(11),1188–1194.
- Bae, KH., Choi, Y.E., Shin, C.G., Kim, Y.Y., Kim, Y.S., 2006, Enhanced ginsenoside productivity by combination of ethephon and methyl jasmoante in ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer adventitious root cultures, *Biotechnol Lett* 28:1163–1166.
- Balan, K.V., Prince, J., Han, Z., Dimas, K., Cladaras, M., Wyche, G.H., Sitaras, N.M. and 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.*, 14(4), 263–272.
- Baque, M.A., Moh, S.H., Lee, E.J., Zhong, J.J., Paek, K.Y. 2012., Production of biomass and useful compounds from adventitious roots of high-value added medicinal plants in bioreactor, *Biotechnology Advances*, 30:1255–1267.
- Barghchi, M., 1982 *In vitro* propagation of *Pistacia* species. Ph.D. Thesis, Nottingham University, UK.
- Barghchi, M. and Alderson, P.G., 1985, *In-vitro* propagation of *P. vera* L. and commercial varieties of Ohadi and Kelleghochi, *Journal of Horticultural Science* 60, 423-440.
- Barghchi, M., 1986, *In Vitro* Micropropagation of *Pistacia* Rootstocks, *Proceeding of The International Plant Prop.*, 35. 334-337.
- Belchi-Navarro, S., Almagro, L., Lijavetzky, D., Bru, R., Pedren , M.A., 2012, Enhanced extracellular production of trans-resveratrol in *Vitis vinifera* suspension cultured cells by using cyclodextrins and methyljasmonate, *Plant Cell Rep* 31:81–89.
- Bhagwath, S.G., Hjortsø, M.A., 2000, Statistical analysis of elicitation strategies for thiarubrine A production in hairy root cultures of *Ambrosia artemisiifolia*, *Journal of Biotechnology*, 80: 159–167.

- Boztok, Ş., Ulvi, Zeybek., 2004 *Pistacia* Cinsine Dahil Bazı Doğal Bitkilerin Sakız Reçinesi Kalitesi Açısından İrdelenmesi, Gıda ve İlaç Sanayinde Değerlendirilmesi Üzerine Arş.
- Browicz, F.A. 1987. *Pistacia lentiscus* L. var.chia (*Anacardiaceae*) on Chios island, *Pl.Sys.Evol.*, 155:189-195.
- Cai, Z., Kastell, A., Speiser, C., Smetanska, I., 2013 Enhanced resveratrol production in *Vitis vinifera* cell suspension cultures by heavy metals without loss of cell viability, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 171:330–340.
- Calabro, G., Curro, P., 1974, Costituenti degli olii essenziali, Nota IV essenza di lentisco, Estratto da *Essenze Derivati Agrumari* 44:82–92 (*in Italian*).
- Chan, L.K., Koay, S.S., Boey, P.L., Bhatt, A., 2010, Effects of abiotic stress on biomass and anthocyanin production in cell cultures of *Melastoma malabathricum*, *Biological Research*, 43:127–135, PMID:21157639.
- Chavez, I. O., Apan T. R., Mart´inez-V´azquez, M., 2005, Cytotoxic activity and effect on nitric oxide production of tirucallane-type triterpenes, *J Pharm Pharmacol*, 57, 1087–1091.
- Cheong, E.J., 2012, Biotechnological approaches for improvement and conservation of *Prunus* species. *Plant Biotechnol Rep* 6:17-28. *Plant Biotechnology Reports*, 6:17-28.
- Chiang, Y.M., Chang, J.Y., Kuo, C.C., Chang, C.Y., Kuo, Y.H. 2005, Cytotoxic triterpenes from the aerial roots of *Ficus microcarpa*, *Phytochemistry*, 66, 495–501.
- Chodisetti, B., Rao, K., Gandi, S., Giri, A., 2013, Improved gymnemic acid production in the suspension cultures of *Gymnema sylvestre* through biotic elicitation, *Plant Biotechnology Reports*, 7:519–525.
- Coste, A., Vlase, L., Halmagyi, A., Deliu, C., Coldea, G., 2011, Effects of plant growth regulators and elicitors on production of secondary metabolites in shoot cultures of *Hypericum hirsutum* and *Hypericum maculatum*, *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 106:279–282.
- Çetin, E.S., Baydar, N.G., 2016, Elicitor Applications to Cell Suspension Culture for Production of Phenolic Compounds in Grapevine, *Journal of Agricultural Sciences*, 22 (1), 42-53.
- Çetiner, S., Yucel, H., Aka-Kacarand Y., Yalcın-Mendi, Y., 1997, Clonal Propagation of *Pistacia* Root stocks by Meristem and Shoot Culture, Proceedings of the Fifth International Symp. on Temperate Zone Fruits in the Tropics and Subtropics, *Acta Horticulturae*, ISHS, 441, 333-335.
- Dalby, A., 2003, *Food in the Ancient World, From A to Z*. London: Taylor and Francis Group.
- Davis, P.H., 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.Z., 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* 174:293–303.
- Dewir, Y.H., Chakrabarty, D., Lee, S.H., Hahn, E.J., Paek, K.Y., 2010, Indirect regeneration of *Withania somnifera* and comparative analysis of withanolides in vitro and greenhouse grown plants, *Biologia Plantarum*, 54(2), 357-360.
- Fatima, S., Mujib, A., Dipti, T., 2015, NaCl amendment improves vinblastine and vincristine synthesis in *Catharanthus roseus*: a case of stress signalling as

- evidenced by antioxidant enzymes activities *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 121:445–458.
- Firouzi, A., Mohammadi, S.A., Khosrowchahli, M., Movafeghi, A., Hasanloo, T., 2013, Enhancement of silymarin production in cell culture of *Silybum marianum* (L) Gaertn by elicitation and precursor feeding, *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 19(3):262–274.
- Gabr, A.M.M., Ghareeb, H., El Shabrawi, H.M., Smetanska, I., Bekheet, S.A., 2016, Enhancement of silymarin and phenolic compound accumulation in tissue culture of Milk thistle using elicitor feeding and hairy root cultures, *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 14(2), 327-333.
- Gangopadhyay, M., Dewanjee, S., Bhattacharya, S., 2011, Enhanced plumbagin production in elicited *Plumbago indica* hairy root cultures. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 111:706–710.
- Ghoraishi, S.R., 2006, Micropropagation of *P. mutica*. *Acta Horticulturae*, 726: 183-192.
- Giaginis, C., Theocharis, S., 2011, Current Evidence on the Anticancer Potential of Chios Mastic Gum, *Nutrition and Cancer*, 63(8), 1174-1184.
- Hu, F.X., Zhong, J.J., 2008, Jasmonic acid mediates gene transcription of ginsenoside biosynthesis in cell cultures of *Panax notoginseng* treated with chemically synthesized 2-hydroxyethyl jasmonate, *Process Biochem* 43:113–118.
- Huwez, F.U., Thirlwell, D., Cockayne, A., Ala'Aldeen, D.A., 1998, Mastic gum kills *Helicobacter pylori*, *N. Engl. J. Med.*, 339, 26, 357-363.
- Imtiyaz, S., Tariq, M., Ali, S.J., Chaudhary, S.S., Baig, M.G., 2013, *Pistacia lentiscus* Linn: Gum with immense medicinal potential, *Spatula DD*, 3(2): 69-73.
- Jochum, G.M., Mudge, K.W., Thomas, R.B., 2007, Elevated temperatures increase leaf senescence and root secondary metabolite concentration in the understory herb *Panax quinquefolius* (Araliaceae), *American Journal of Botany*, 94:819–826. PMID: 21636451.
- Jordano, P., 1988, Polinizacion y variabilidad de la produccion de semillas en *Pistacia lentiscus* (L) (Anacardiaceae), *Anales Jará. Bot. Madrid*, 45 (1), 213-231.
- Jordano, P., 1989, Pre-dispersal biology of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae): cumulative effects on seed removal by birds, *Oikos*, 55: 375-386.
- Kaliora, A.C., Stathopoulou, M.G., Triantafillidis, J.K., Dedoussis, G.V. and Andrikopoulos, N.K. 2007, Chios mastic treatment of patients with active Crohn's disease, *World J Gastroenterol*, 13, 748-753.
- Khan, T., Khan, T., Hano, C., Abbasi, B.H., 2019, Effects of chitosan and salicylic acid on the production of pharmacologically attractive secondary metabolites in callus cultures of *Fagonia indica*, *Industrial Crops & Products* 129., 525–535.
- Kilinç, F.M., Süzerer, V., Ozden-Çiftçi, Y., Onay, A., Yıldırım, H., Uncuoğlu-Altınkut, A., Tilkat, E., Koc, I., Akdemir, Ö.F., Metin-Karakaş Ö., 2014, Clonal Micropropagation of *Pistacia lentiscus* L. and Assessment of Genetic Stability using IRAP Markers, *Plant Growth Regulation*. (Springer In press).
- Kilinç, F.M., Süzerer, V., Ozden Çiftçi, Y., Onay, A., Yıldırım, H., Uncuoğlu Altınkut A. and Tilkat, E., Koc, I., Akdemir, Ö.F., Metin Karakaş, Ö., 2015, Clonal micropropagation of *Pistacia lentiscus* L. and assessment of genetic stability using IRAP markers. *Plant Growth Regulation* 75:75. doi:10.1007/s10725-014-9933-9.

- Koutsianas, N., 2012, Apivita featured plant: Mastic tree (*Pistacia lentiscus* var. Chia, APIVITA. <http://www.apivita.com/new/pistacia-lentiscus-var-chia>^[x] Son Erişim tarihi: 20 Temmuz 2014.
- Kress, C.L., Konopleva, M., Mart'inez-Garc'ia, V., Krajewska, M., Lefebvre, S., 2007, Triterpenoids display single agent anti-tumor activity in a transgenic mouse model of chronic lymphocytic leukemia and small B cell lymphoma, *PloS One*, 2, 5-59.
- Krzyzanowska, J., Janda, B., Pecio, L., Stochmal, A., Oleszek, W., Czubacka, A., Przybys, M., Doroszevska, T., 2011, Determination of polyphenols in *Mentha longifolia* and *M. Piperita* field grown and in vitro plant samples using UPLC-Q-MS, *Journal of Aoac. Int.*, 94(1), 43-50.
- Lambardi, M., Sharma, K.K. and Thorpe, T.A., 1993, Optimization of in vitro bud induction and plantlet formation from mature embryos of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.), *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 29, 189-199.
- Lauk, L., Ragusa, S., Rapisarda, A., Franco, S., Nicolosi, V. M., 1996, In vitro antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* L. extracts preliminary report, *J Chemother*, 8, 207–209.
- Li, B., Wang, B., Li, H., Peng, L., Ru, M., Liang, Z., Yan, X., Zhu, Y., 2015 Establishment of *Salvia castanea* Diels f. tomentosa Stib. Hairy root cultures and the promotion of tanshinone accumulation and gene expression with Ag⁺, methyl jasmonate, and yeast extract elicitation. *Protoplasma*, DOI: 10.1007/s00709–015–0790–9.
- Li, B., Wang, B., Li, H., Peng, L., Ru, M., Liang, Z., Yan, X., Zhu, Y., 2016, Establishment of *Salvia castanea* Diels f. tomentosa Stib. Hairy root cultures and the promotion of tanshinone accumulation and gene expression with Ag⁺, methyl jasmonate, and yeast extract elicitation, *Protoplasma*, 253(1), 87-100.
- Liby, K.T., Yore, M.M., Sporn, M.B., 2007, Triterpenoids and rexinoids as multifunctional agents for the prevention and treatment of cancer, *Nat Rev Cancer*, 7, 357–369.
- Liu, J., Zhu, J., Tang, L., Wen, W., Lv, S., Yu, R., 2014, Enhancement of vindoline and vinblastine production in suspension-cultured cells of *Catharanthus roseus* by artemisinic acid elicitation, *World J Microbiol Biotechnol* 30:175–180.
- Loutrari, H., Magkouta, S., Pyriochou, A., Koika, V., Kolisis, F.N., Papapetropoulos, A., Roussos, C., 2006, Mastic oil from *Pistacia lentiscus* var. chia inhibits growth and survival of human K562 leukemia cells and attenuates angiogenesis, *Nutr.Cancer*, 55, 1, 86–93.
- 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*, 13, 6, 611–614.
- Martinez, V., Victor, M., Samuel, E., Estrada-Soto, Jose de Jesus Arellano-Garcia, Julio C. Rivera-Leyva, Patricia Castillo-España, Angelica Flores Flores, Alexandre T. Cardoso-Taketa, Irene Perea-Arango, 2017, Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Enhanced the Production of Ursolic and Oleanolic Acid in Callus Cultures of *Lepechinia Caulescens*, *Pharmacogn Mag.* 13 4): S886–S889.

- Martinez-Palae, E., Aronne, G., 2000, Reproductive cycle of *Pistacia lentiscus* (*Anacardiaceae*) in Southern Italy. *Plant Biosystems* 134:365-371.
- Mascarello, C., Fascella, G., Zizzo, G.V., Mantovani, E., Ruffoni, B., 2007, *In vivo* and *in vitro* propagation of *Pistacia lentiscus* L., *Acta Horticulture*, 764, 299–306.
- Masoumian, M., Arbakariya, A., Syahida, A., Maziah, M., 2011, Effect of precursors on flavonoid production by *Hydrocotyle bonariensis* callus tissues, *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(32), 6021-6029.
- Mitchell, J.D., and S.A., Mori., 1987, The cashew and its relatives (*Anacardium: Anacardiaceae*). Mem, NY Bot., Gard., 42: 1-76.
- Munish, S., Ashok, A., Rajinder, G. and Sharada, M., 2015, Enhanced bacoside production in shoot cultures of *Bacopa monnieri* under the influence of abiotic elicitors, *Natural Product Research*., 29 (8), 745-749.
- Murashige, T., Skoog, F., 1962., A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures, *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.
- Murthy, H.N., Lee, E.J., Paek, K.Y., 2014, Production of secondary metabolites from cell and organ cultures: strategies and approaches for biomass improvement and metabolite accumulation *Plant Cell Tiss Organ Cult* 118:1–16.
- Nacheva, L., Gercheva, P., Zhivondov, A., 2010, Micropropagation of Rare Transsexual Forms of *Pistacia* (*Pistacia terebinthus* L.) Found in Bulgaria.
- Naik, P.M., Manohar, S.H., Praveen, N., Murthy, H.N., 2010, Effects of sucrose and pH levels on *in vitro* shoot regeneration from leaf explants of *Bacopa monnieri* and accumulation of bacoside A in regenerated shoots, *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 100:235– 239.
- Nartop, P., Gürel, A., Akgün, İ.H., Bedir, E. 2015, Astragaloside IV and cycloastragenol production *in vitro* produced *Astragalus trojanus* Stev., *Indian Journal of Biotechnology*, 14, 540-546.
- Onay, A., Jeffree, C.E. and Yeoman, M.M., 1995, Somatic embryogenesis in cultured immature kernels of Pistachio, *Pistacia vera* L.. *Plant Cell Reports* 15: 192-195.
- Onay, A., 1998, Somatic Embryogenesis From Mature Seed Cultures of *Pistacia atlantica*, *Türk J Agric For* 24 465–473 © TÜBİTAK.
- Onay, A., Özden-Çiftçi Y., Yıldırım H., Tilkat E. 2014, Sakız Ağacının (*Pistacia lentiscus* L.) Juvenil ve Olgun Eksplantlarının Mikroçoğaltımı, Kriyoprezervasyonu ve Genetik Kararlılığının Belirlenmesi, Proje Sonuç Raporu (Proje No: 110T941).
- Onay, A., Tilkat, E., Süzerer, V., Karakaş Metin, Ö., Özden Çiftçi, Y., Kılınç, F.M., Koç, İ., Şakiroğlu, M., Yıldırım, H., Altinkut Uncuoğlu, A. Çalar, N., Akdemir, Ö. F. 2016, Rejuvenation of Mature Lentisk by Micrografting and Evaluation of Genetic Stability, *Turkish Journal of Biology*, (Kabul Edildi).
- Onay, A., Yıldırım, H. ve Yavuz, A.M., 2016, Sakız ağacı (*Pistacia lentiscus* L.) yetiştiriciliği ve reçinesi., *Batman Üniversitesi Yaşam Bilim Dergisi*, 3 (2), 1-28.
- Özdemir, E., 2014, Sakız Ağacı, Çeşmeline. <http://www.cesmeline.com/haber/?p=290>.
- P., 1988, Polinizacion y variabilidad de la produccion de semillas en *Pistacia Jordano lentiscus* (L) (*Anacardiaceae*), *Analestel Jardin Botanico de Madrid* 45:213-231.
- 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*, pp.198–204.

- Pawar, K.D., Thengane, S.R., 2011, Influence of abiotic elicitation on production of dipyrano-coumarins in suspension cultures of *Calophyllum inophyllum* L. *Acta Physiol Plant* 33:2149–2158.
- Perassolo, M., Quevedo, C., Busto, V., Ianone, F., Giuliotti, A.M., Talou, J.R., 2007, Enhance of anthraquinone production by effect of proline and aminoindan-2-phosphonic acid in *Rubia tinctorum* suspension cultures, *Enzyme Microb Tech.*, 41,181-185.
- Petronelli, A., Saulle, E., Pasquini, L., Petrucci, E., Mariani, G., 2009a, High sensitivity of ovarian cancer cells to the synthetic triterpenoid CDDO imidazolide *Cancer Lett* 282, 214–228.
- Pontikis, C.A., 1984, In vitro propagation of *Pistacia terebinthus* L., *Plant Propagator* 30, 3, 14-15.
- Prada, M.A., Arizpe, D., 2008, *Pistacia lentiscus* L. In:Riparian tree and shrub propagation handbook, Page 90-93.
- Pratibha, G., Satyawati, S., Sanjay, S., 2015, Biomass yield and steviol glycoside production in callus and suspension culture of *Stevia rebaudiana* treated with proline and polyethy-lene glycol, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, DOI: 10.1007/s12010– 015–1616–0.
- Praveen, N., Murthy, H.N., 2010, Establishment of cell suspension cultures of *Withania somnifera* for the production of withanolide A. *Bioresource Technology*, 101:6735– 6739.
- Purohit, M., Pande, D., Datta, A., Srivastava, P.S., 1995, Enhanced xanthotoxin content in regenerating cultures of *Ammi majus* and micropropagation, *Planta Medica*, 61:481– 482.
- Raghavendra, S., Ramesh, C. K., Kumar, V., Khan, M.H.M., 2011, Elicitors and precursor induced effect on L-Dopa production in suspension cultures of *Mucuna pruriens* L., *Frontiers in Life Science*, 5:3-4, 127-133, DOI: 10.1080/21553769.2011.649188.
- Ramachandra Rao, S. and Ravishankar, G. A., 2002, Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites, *Biotechnology Advances*, 20: 101-153.
- Ramos, A.A., Pereira-Wilson, C., Collins, A.R. 2010, Protective effects of ursolic acid and luteolin against oxidative DNA damage include enhancement of DNA repair in Caco-2 cells, *Mutat Res*, 692, 6–11.
- Rao, R.S., Ravishankar, G.A., 2002, Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites, *Biotechnology Advances*, 20:101–153.
- Sarantinidis, M. and Smyrnioudis, I., 2011, Chios Mastiha, Web: http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:ijMFLw3VmisJ:www.gummastic.gr/public/Leaflets/ENG_Mastiha_Presentation_Sept_2011_no_video.ppt_x+&cd=3&hl=tr&ct=clnk&gl=tr, Erişim tarihi: 31.05.2018. Schafer-Menuhr, A., Mix-Wager.
- Savitha, B.C., Thimmaraju, R., Bhagyalakshmi, N., Ravishankar, G.A., 2006, Different biotic and abiotic elicitors influence betalain production in hairy root cultures of *Beta vulgaris* in shake-flask and bioreactor, *Process Biochemistry*, 41, 50–60.
- Senger, R.S., Phisalaphong, M., Karim, M.N., Linden, J.C., 2006, Development of a culture sub-population induction model: signaling pathways synergy and taxanes production by *Taxus canadensis*, *Biotechnol Prog* 22:1671–1682.
- Setzer, W.N., Setzer, M.C., 2003, Plant-derived triterpenoids as potential antineoplastic agents, *Mini Rev Med Chem*, 3, 540–556.

- Singh, B., Sharma, R.A., 2016, Yield enhancement of phytochemicals by *Azotobacter croococcum* biotization in hairy roots of *Arnebia hispidissima*, *Industrial Crops and Products*, 81:169-175.
- Sirhindi, G., Mushtaq, R., Mir, M.A., Alyemeni, M.N., Alam, P. and Ahmad, P., 2017, Characterization of jasmonic acid-induced phenols in *Vigna radiate* under salt stress. *Pak J Bot.* 49 (5), 1647-1654.
- Skrzypczak–Pietraszek, E., Słota, J., Pietraszek, J., 2014, The influence of L–phenylalanine, methyl jasmonate and sucrose concentration on the accumulation of phenolic acids in *Exacum affine* Balf. f. ex Regel shoot culture, *Acta Biochimica Polonica*, 61(1): 47–53.
- Sonja, G.S., Oliver, T., Stéphane, M., Alain, D., Claude, J., Daniel, H., 2014, Effects of polysaccharide elicitors on secondary metabolite production and antioxidant response in *Hypericum perforatum* L. shoot cultures, *Scientific World Journal*, 11:609–649.
- Sonja, G.S., Oliver, T., Stéphane, M., Alain, D., Eric, L., Claude, J. and Daniel, H., 2015, Polysaccharide elicitors enhance phenylpropanoid and naphthodianthrone production in cell suspension cultures of *Hypericum perforatum*, *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, DOI: 10.1007/s11240–015–0798–z.
- Stevens, P.F., 2008, Angiosperm Phylogeny, Erişim: www.mobot.org/MOBOT/research/Apweb, 15.07.2013.
- Sun, L., Su, H., Zhu, Y., Xu, M., 2012, Involvement of abscisic acid in ozone–induced puerarin production of *Pueraria thomsonii* Benth. suspension cell cultures. *Plant Cell Reports*, 31:179–185.
- Sun, S.Y., 2008, Therapeutic potential of synthetic triterpenoids in neuroblastoma, *Cancer Biol Ther*, 7, 718–720.
- Taurino, M., Ingrosso, I., D’amico, L., Domenico1, S.D, Nicoletti, I., Corradini, D., Santino, A., Giovino, G., 2015, Jasmonates elicit different sets of stilbenes in *Vitis vinifera* cv. *Negramaro cell cultures*, *Springer Plus*.4:49.
- Tewari, R.K., Lee, S.Y., Hahn, E.J., Paek, K.Y., 2007, Temporal changes in the growth, saponin content and antioxidant defense in the adventitious roots of *Panax ginseng* subjected to nitric oxide elicitation, *Plant Biotechnol Rep*, 1:227–235.
- Tilkat, E., Işıkan, Ç., Onay, A., 2005, *In Vitro* Propagation of *Khinjuk* Pistachio (*Pistacia khinjuk* Stocks) Through Seedling Apical Shoot Tip Culture, *Propagation of Ornamental Plants*, 5(3):1-5.
- Tilkat, E., Koc, I., Akdemir, Ö.F., Metin Karakaş Ö., 2014, Clonal Micropropagation of *Pistacia lentiscus* L. and Assessment of Genetic Stability using IRAP Markers, *Plant Growth Regulation*. (Springer In press).
- Tilkat, E., Onay, A., Yildirim, H. and Ayaz, E. 2009a, Direct plant regeneration from mature leaf explants of pistachio, *Pistacia vera* L. *Scientia Horticulturae*, 121(3): 361-365, DOI: 10.1016/j.scienta.2009.02.007.
- Tilkat, E., Ertaş, A., Yılmaz, M.A., Surmuş-Aşan, H., Onay, A., Süzerer, V. 2018, *Pistacia lentiscus* L. ‘Un In Vitro Sürgün, Kallus Ve Hücre Süspansiyon Kültürlerinde Antikanser Aktivite Gösteren Kimyasal Bileşenlerin Üretilmesi, TÜBİTAK Proje 114Z842 sonuç raporu.
- Tonelli, M., Pellegrini, E., D’Angiolillo, F., Nali, C., Pistelli, L., 2015, Lorenzini G. Ozone–elicited secondary metabolites in shoot cultures of *Melissa officinalis* L. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 120:617–629.
- Ucciani, E., 1995, Nouveau dictionnaire des Huiles Ve’ge’tales-composition en acides gras. Technique et Documentation–Lavoisier, Paris (*in French*)

- Vander Berg, K.J, Vander Horst, J., Boon, J.J., & Sudmeijer, O.O., 1998, Cis-1, 4-poly- β -myrcene; the structure of the polymeric fraction of mastic resin (*Pistacia lentiscus*) elucidated, *Tetrahedron Lett*, 39, 2645-2648.
- Vasconsuelo, A., Giuletti, A.M., Picatto, G., Rodriguez, J.T., Boland, R. 2003. Involvement of the PLC/PKC pathway in Chitosan-induced anthraquinone production by *Rubia tinctorum* L. cell cultures, *Plant Science*, 165, 429-436.
- Verdu, M., Garcia -Fayos P., 2002, Ecología reproductiva de *Pistacia lentiscus* L. (*Anacardiaceae*): anacronismo evolutivo en el matorral mediterranes, *Rev. Chil. Hist. Nat.*, Vol.75, No.1, pp.57-65.
- Verpoorte, R., Contin, A., Memelink, J., 2002, Biotechnology for the production of plant secondary metabolites, *Phytochemical Review*, 1,13–25.
- Wang, Q.J., Lei1, X.Y., Zheng L.P., Wang, J.W., 2017, Molecular characterization of an elicitor-responsive 3-hydroxy-3- methylglutaryl coenzyme A reductase gene involved in oleanolic acid production in cell cultures of *Achyranthes bidentata*, *Plant Growth Regul*, 81:335–343.
- Wannan, B.S., C.J. Quinn., 1991, Floral structure and evolution in the *Anacardiaceae*, *Botanical Journal of the Linnean Society*, 107: 349-385.
- Wiktorowska, E., Długosz, M., Janiszowska, W., 2010, Significant enhancement of oleanolic acid accumulation by biotic elicitors in cell suspension cultures of *Calendula officinalis* L., *Enzyme and Microbial Technology* 46, 14–20.
- Wink, M., 1988, Plant breeding: importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores, *Theoretical and Applied Genetics*, 75:225– 233.
- Xu, A., Zhan, J.C. and Huang, W.D., 2015, Effects of ultraviolet C, methyl jasmonate and salicylic acid, alone or in combination, on stilbene biosynthesis in cell suspension cultures of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon, *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 122, 197–211.
- Xu, M.J., Dong, J.F., Zhang, G., 2005, Enhancement of hypericin production and cell growth of *Hypericum perforatum* L. suspension cells by nitric oxide. *Chin J Biotechnol* 21:66–70.
- Yaltirik, F., 1967a, *Anacardiaceae*, In: P. H. Davis, Ed., *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburgh Uni-versity Press, Edinburgh, 2, 544-548.
- Yaltirik, F., 1967b, *Anacardiaceae*, Contributions to the Taxonomy of Woody Plants in Turkey, *Notes Royal Botanical Gardan*, 28, 11- 12.
- Yamaner, Ö., Erdağ, B. 2013, Effects of sucrose and polyethylene glycol on hypericins content in *Hypericum adenotrichum*, *EurAsian Journal of Biosciences*, 7, 101-110.
- Yaoya, S., Kanho, H., Mikami, Y., Itani, T., Umehara, K., Kuroyanagi, M., 2004, Umbelliferone released from hairy root cultures of *Pharbitis nil* treated with copper sulfate and its subsequent glucosylation, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 68, 1837–1841.
- Yıldırım, H., 2012, Micropropagation of *Pistacia lentiscus* L. from axenic seedling derived explants, *Scientia Horticulturae*, 137, 29–35.
- Yi, T., Wen, J., Golan-Goldhirsh, A. & Parfitt, D. E., 2008, Phylogenetics and Reticulate Evolution in *Pistacia* (*Anacardiaceae*), *American Journal of Botany*, 95 (2), 241-251.
- Zahra, S., Mehrnaz, K., Gholamreza, A., Mustafa, G., 2015, Improvement of atropine production by different biotic and abiotic elicitors in hairy root cultures of *Datura metel*, *Turkish Journal of Biology*, 39:111–118.

- Zare, N., Farjaminezhad, R., Asghari-Zakaria, R., Farjaminezhad, M., 2014, Enhanced thebaine production in *Papaver bracteatum* cell suspension culture by combination of elicitation and precursor feeding, *Nat Prod Res* 28:711–717.
- Zohary, M., 1952, A monographical study of the genus *Pistacia*. *Palestianian Journal of Botany* (Jerusalem) 5, 187- 228.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Gurbet KOCABEY
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Batman-01/01/1989
Telefon : 05425197220
Faks : -
e-mail : gurbet.baglamis@hotmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Kozluk Çok Programlı Lisesi, Kozluk ,Batman	2009
Üniversite	: Batman Üniversitesi/Batman	2014
Yük. Lisans	: -	
Doktora	: -	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2014-2015	Batman Karatay İlkokulu	Öğretmen

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER

İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR

1. Hatice Akkuş, Emine Ayaz Tilkat, Mustafa Abdullah Yılmaz, Yüstra Çetin, Gurbet Bağlamış, Veysel Süzerer, Abdulsalam Ertaş, Engin Tilkat, Ahmet Onay. 2017. Effects of Heavy Metals Elicitation on Therapeutic Agent Production in *In Vitro* Lentisk Culture. September 2017, International Green Biotechnology Congress-2017, pp 104-104, Bostancı-İstanbul, Turkey.
2. Engin Tilkat, Hilal Saruhan Fidan, Abdulsalam Ertaş, Mustafa Abdullah Yılmaz, Gurbet Bağlamış, Veysel Süzerer, Fatih Mehmet Kılınç and Ahmet Onay. 2017. Antioxidant and anticholinesterase Activities of The Ethanol Extracts from various Parts of *in vivo* and *in vitro* grown *Pistacia lentiscus* L. May 2017, I. Uluslararası Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Kongresi, pp 1810-1810, Konya, Turkey.