

154722

Pistacia TÜRLERİNDE İN VİTRO SÜRGÜN UCU AŞILAMA

Yüksek Lisans Tezi

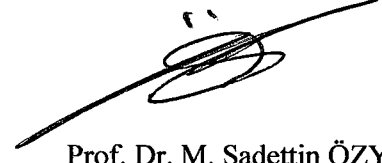


Biyoloji Bölümü
Gaziantep Üniversitesi

Hakan TÖREMEN

Aralık 2004

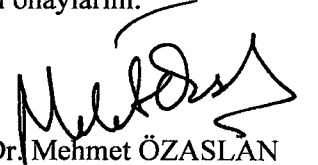
Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı



Prof. Dr. M. Sadettin ÖZYAZICI

FBE Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak gerekli şartları sağladığımı onaylıyorum.



Doç. Dr. Mehmet ÖZASLAN

Bölüm Başkanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.



Yrd. Doç. Dr. Canan CAN

Danışman

Sınav Jüri Üyeleri

Yrd. Doç. Dr. Canan CAN

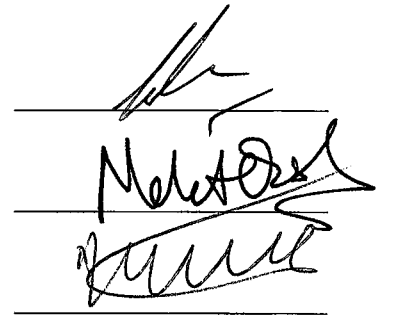
.....

Doç. Dr. Mehmet ÖZASLAN

.....

Doç. Dr. Elman İSKENDER

.....



ÖZ

Pistacia TÜRLERİNDE İN VİTRO SÜRGÜN UCU AŞILAMA

TÖREMEN, Hakan

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Tez Yönetici : Yrd. Doç. Dr. Canan Can

Aralık 2004, 49 sayfa

Pistacia vera L. (Antepfıstığı) *Anacardiaceae* familyasına ait olan yarı tropik bir ağaçtır. Ticari önemi büyük olan bitki daha çok Avrupa'nın Akdeniz bölgeleri, Kuzey Afrika, Orta Doğu Çin ve Kaliforniyada yetiştirilmektedir. Antepfıstığı üretimi için alınan çelikleri köklendirme oldukça zor olduğu için bitki tohumdan çimlendirilerek yada elit klonların gözlerinin heterozigotik anaçlara aşılmasıyla yapılmaktadır. Yabani *Pistacia* türleri bazı parazitlere karşı kök yapısı olarak daha dayanıklı olduklarından aşılama tercih edilmektedirler. Ancak, *Pistacia* türlerine *in vivo* aşılama bazı sorunlar yaşanmaktadır. Bu sorunların başında aşılama engel olan fenolik bileşikler gelmektedir. Bu nedenle *in vitro* sürgün ucu aşılama yöntemlerinin geliştirilmesi ikincil bir alternatif olarak görülmektedir. Bu çalışmada, Antepfıstığının çoğaltılması için *P. mutica*, *P. terebinthus*, *P. atlantica* ve *P. khinjuk* bitkilerinin *in vitro* sürgün ucu aşılama tekniği ile kullanım olanakları araştırılmıştır. Tohumların *in vitro* kültürlerinde yüksek oranda meydana gelen bulaşıklık sorunundan dolayı; farklı sterilizasyon teknikleri, fungusit muamelesi ve embriyo kültürü tekniği araştırılmıştır. Farklı dönemlerde alınan *P. vera* Uzun ve Siirt çeşitlerinin sürgün ucu eksplantlarının *P. mutica*, *P. terebinthus*, *P. atlantica* ve *P. khinjuk* anaçları üzerinde gelişme etkinlikleri araştırılmıştır. 2004 yetiştirme döneminde toplam 22 adet sürgün ucu aşılama sonucunda anaç ve aşı arasında bir uyuşma ve gelişme gözlemlenmemiştir.

Anahtar Kelimeler : Antepfıstığı, *in vitro*, sürgün ucu, aşılama, anaçlar

ABSTRACT

IN VITRO SHOOT TIP GRAFTING IN *Pistacia* SPECIES

TÖREMEN, Hakan

M.Sc. in Biology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Canan Can

December 2004, 49 pages

Pistacia vera L. (Pistachio), a member of the *Anacardiaceae* family, is a semitropical tree. Pistachio has a great commercial importance which is widely cultivated in the Mediterranean regions of Europe and North Africa, the Middle East, China and California. Since pistachio is difficult to propagate by cuttings, clonal propagation is achieved by either germination from seeds or grafting buds from elite clones onto heterozygous rootstocks. Wild-type (WT) rootstocks belonging to genus *Pistacia* are used more than *P. vera* for micrografting because their root structure is highly susceptible to some parasites. However, *in vivo* grafting onto *Pistacia* species has some problems. The leading problem is phenolic compounds which prevent grafting. For this reason, developing methods on *in vitro* shoot tip grafting is seen as secondary alternative. In this study, the usage possibilities of *P. mutica*, *P. terebinthus*, *P. atlantica* and *P. khinjuk* were investigated by *in vitro* shoot tip grafting to propagate pistachio. Because WT seeds were highly contaminated, different sterilization techniques, fungicide treatments, and embryo culture technique were investigated. The compatibility and growing activity of the shoot tip explants of the variety Uzun and Siirt of *P. vera*, taken from different seasons, onto *P. mutica*, *P. terebinthus*, *P. atlantica* and *P. khinjuk* rootstocks were investigated. No compatibility and growing between scion and rootstock were observed at the end of 22 *in vitro* shoot tip grafts within 2004 cultivation period.

Key Words: Pistachio, *in vitro*, shoot tip, grafting, rootstocks

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı destekleyen Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne,

Tez araştırmaları için Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nün bütün imkanlarını sunan bölüm başkanımız sayın Doç. Dr. Mehmet ÖZASLAN'a,

Yüksek lisans tez konumu öneren ve çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Yard. Doç. Dr. Canan CAN'a,

Benden yardım ve bilgilerini esirgemeyen Yüksek Ziraat Mühendisi Kamil SARPKAYA ve Gaziantep Fıstık Araştırma Enstitüsü çalışanlarına,

Yine laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm değerli arkadaşlarım D. Sezen DAĞ, F. Nur İNCİK ve H.H. Cemali TOPRAK ve bölümümüz lisans öğrencileri Nurcan SÖNMEZ , Saadet KAYA ve Ceyda ÇALIŞIR'a,

Maddi ve manevi her zaman yanımda olan AİLEM'e

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI

ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Türlerin önemi.....	7
1.2. Antepfıstığının kökeni ve tarihçesi.....	9
1.3. Antepfıstığının geleneksel yollarla çoğaltılması ve geliştirilmesi	9
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	12
2.1. Mikroaşılama ve gerekliliği.....	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1. Materyal.....	21
3.1.1.Bitki Materyali.....	21
3.1.2. Kimyasallar.....	21
3.1.2.1. Kültür ortamının hazırlanmasında kullanılan kimyasallar.....	21
3.1.2.2. Kültür ortamlarına sonradan ilave edilen kimyasallar.....	21
3.1.3. Kullanılan Cihazlar.....	22
3.2. Yöntem.....	22

3.2.1. Kültür ortamlarının hazırlanması.....	22
3.2.1.1. MS ortamının hazırlanması.....	22
3.2.1.2. Hormonların hazırlanması.....	23
3.2.1.3. Organik kompleks ve aktif kömürün ilave edilmesi.....	23
3.2.1.4. Kültür ortamların sterilizasyonu.....	23
3.2.2. Yabani fıstık tohumlarının <i>in vitro</i> 'da geliştirilmesi.....	23
3.2.2.1. Tohumların sterilizasyonu	23
3.2.2.2.1. Sterilizasyon teknikleri	24
3.2.2.2. Fungusit uygulamaları	26
3.2.2.3. Embriyo kültürü çalışmaları.....	26
3.2.2.3.1. Embriyo kültüründe kullanılacak tohumların sterilizasyonu.....	26
3.2.2.4. Tohumların <i>in vitro</i> 'da çimlendirilmesi.....	26
3.2.3. Sürgün ucu aşılama.....	27
3.2.3.1. Sürgün sterilizasyonu.....	27
3.2.3.2. Sürgün ucu aşılama.....	28
3.2.3.2.1. <i>In vitro</i> 'da gelişen anaçlar üzerine sürgünlerin aşılama.....	28
4. BULGULAR.....	29
4.1. Sterilizasyon çalışmaları.....	29
4.1.1. Fungusit uygulamaları sonuçları.....	30
4.1.2. Embriyo kültürü.....	30
4.2.1. Türlerin çimlendirilmesi.....	31
4.3.1. Sürgün ucu aşılama	32
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	35
6. ÖNERİLER.....	39
KAYNAKLAR.....	40

EKLER.....	47
BU TEZ ÇALIŞMASINDAN ÇIKARILAN YAYINLAR.....	49



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. <i>P.vera</i> L. (antepfıstığı) taç yapısı.....	2
Şekil 1.2. <i>P. khinjuk</i> ağacı ve taç yapısı.....	4
Şekil.1.3. a. <i>P .terebinthus</i> L.' un ocak yapısı. b. <i>P .terebinthus</i> L.' un tohum ve yaprakları.....	5
Şekil 1.4. <i>P.atlantica</i> Defs.'nın ağaç yapısı.....	6
Şekil 1.5. <i>P.atlantica</i> Defs.'in tohum ve yapraklarının görünümü.....	6
Şekil.3.1. Aşılamalarda kullanılan koltukaltı ve tepe sürgünleri.....	28
Şekil 4.1. Kültür ortamında meydana gelen kontaminasyonlar	30
Şekil 4.2. <i>P. khinjuk</i> 'ta embriyo kültürü.....	31
Şekil 4.3. BAP, hidrolize kazein ve malt ekstrakt ile desteklenmiş MS ortamında gelişen <i>P. mutica</i>	32
Şekil 4.4. 47 günlük <i>P. khinjuk</i> (a) ve <i>P. atlantica</i> (b).....	32
Şekil 4.5. Yeni <i>in vitro</i> kültüre alınmış <i>P. atlantica</i> ve <i>P. khinjuk</i> anaçları üzerine aşılansmış sürgün uçları (a), Sürgün ucu aşılamaadan 5 gün sonra(b), Sürgün ucu aşılamaadan 15 gün sonra (c).....	33
Şekil.4.6. 28 gün önce aşılansmış <i>P. khinjuk</i> (a) ve <i>P. atlantica</i> (b).....	33
Şekil 4.7. <i>P.terebinthus</i> 'ta sürgün ve kök gelişimi	34

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

atm.	Atmosfer basınç
ABA	Absisik asit
BA	Benziladenin
BAP	6-Benzilaminopurine
CH	Hidrolize Kazein
cm	Santimetre
°C	Santgrad Derece
dak.	Dakika
dH ₂ O	Deiyonize su
GA ₃	Giberellik asit
gr	Gram
l	Litre
IBA	İndol butirik asit
M	Molar
m	Metre
ME	Malt Ekstrakt
mg	Miligram
mm	Milimetre
ml	Mililitre
MS	Murashige ve Skoog (1962)
pH	Hidrojen iyonu Konsantrasyonu
ppm	Part per million (Milyon başına parça)
spp.	Cinsine ait türler
x	Defa

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1.1. 2003 yılı antepfıstığı üretimi yapan ülkelerin üretim miktarları.....	3
Tablo 1.2. Antepfıstığı'nın sığır eti ve bazı sert kabuklu meyve türleri ile besin değerleri yönünden karşılaştırılması (100 gram kuru meyvede).....	8
Tablo 3.1. Yüzey sterilizasyonlarında kullanılan farklı yöntemler.....	24
Tablo 4.1. Farklı yüzey sterilizasyonlarının türlerdeki çimlenme ve bulaşıklığa olan etkisi.....	29
Tablo 4.2. Embriyo kültüründe türlerdeki çimlenme ve bulaşıklık oranları.....	30
Tablo 4.3. <i>P. mutica</i> ve <i>P.terebinthus</i> 'ta 5 farklı ortamda çimlendirme oranlarının karşılaştırılması	31
Tablo 4.4. Sürgün ucu aşılama başarı değerleri.....	32

1.GİRİŞ

Antepfıstığı (*Pistacia vera* L) Akdeniz, Orta Doğunun yarı kurak bölgelerinde ve Amerika Birleşik Devletlerinde yetiştirilmektedir (Onay, 1996). *P. vera* L. tek gövdeli, 3-8 metre yükseklikte, taç şekli ağaçlarda açılmış şemsiye şeklindedir. Türün anavatanı Güneydoğu Anadolu Bölgesi olup, Anadolu *Pistacia* cinsinin gen merkezidir (Tekin vd., 2001). *P. vera* L. (antepfıstığı) daha çok Avrupa'nın Akdeniz bölgelerinde, Kuzey Afrika'da, Orta Doğu, Çin ve Kalifornia'da yetişen dioik bir bitkidir. Zohary (1952) tarafından yapılan son monografik çalışma sonucunda *Pistacia* cinsinin 11 türü olduğu belirtilmiştir; *P. atlantica*, *P.cabulica*, *P. chinensis*, *P. falcata*, *P. integerrima*, *P. vera*, *P. kurdica*, *P. mutica*, *P. palestine*, *P. terebinthus* ve *P. khinjuk*'tur. Bunların 6 tanesi Türkiye'de yetişmektedir (Davis, 1966). Anacardiaceae familyasına ait tür ilişkisi floral morfolojiye göre yapılmıştır (Wannan ve Quinn, 1991).

Pistacia vera L. (antepfıstığı) botanik açısından;

Alem : *Plantae* (Bitkiler Alemi)
Bölüm : *Phanerogamae* (Tohumlu Bitkiler)
Sınıf : *Magnoliopsida* (J.St. – Hil, Manolyagiller)
Takım : *Sapindales* (Juss, Sabun Ağacıgiller)
Familya : *Anacardiaceae* (Lindl, Sumakgiller)
Cins : *Pistacia* L.

şeklinde sınıflandırılmaktadır.



Şekil 1.1. *P.vera* L. (antepfıstığı) taç yapısı

Ayfer'e göre (1963 ve 1990) antepfıstığının yetiştirildiği bölgeler kışın ortalama 7.0-7.4 °C sıcaklığa sahip olmalı ve 800-1000 m rakımlı yerlerde yaz mevsimi boyunca sıcaklık yılda 98-100 gün boyunca 30 °C üzerinde olmalıdır. Antepfıstığı sulu tarım yapıldığı İran ve Amerika'da iyi ürün vermektedir. Ancak, antepfıstığı Türkiye'de Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin taşlık, kayalık, besin elementlerince yoksul ve kireçli topraklarında sulama suyunun sınırlı olduğu koşullarda yetiştirilebilir. (Tekin, 2001). Antepfıstığın en çok üretildiği ülkeler, İran, Türkiye, A.B.D., ve Suriye'dir (FAO, 2004). Güneydoğu Anadolu bölgesinde, 1995 yılı itibarıyla yaklaşık 37 milyon antepfıstığı ağacı bulunmakta ve yaklaşık 21 milyonunun verimli olduğu bilinmektedir (Anonim, 1997).

Türkiye Dünya'da antepfıstığı üretimi yapan lider ülkelerden birisidir. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO) Türkiye'nin 2002 yılı itibarıyla 40.000 ton, 2003 yılında ise 85.000 ton antepfıstığı ürettiği rapor edilmiştir. (Tablo 1.1)

Ülkeler	Üretim miktarı (Metrik ton)	Ülkeler	Üretim miktarı (Metrik ton)
İran	310,000	Tunus	800
Türkiye	85,000	Pakistan	200
A.B.D.	52,620	Madagaskar	160
Suriye	50,000	Kırgızistan	100
Çin	28,000	Morocco	50
Yunanistan	8,500	Kıbrıs	15
İtalya	2,500	Meksika	7
Özbekistan	1,000	Mauritius	5

Tablo 1.1. 2003 yılı antepfıstığı üretimi yapan ülkelerin üretim miktarı

Antepfıstığının birçok çeşidi bulunmaktadır. Türkiye’de en çok yetiştirilen antepfıstığı çeşitleri “Antep”, “Siirt”, “Bilgen”, “Kellegouchi”, “Mümtaz”, “Ohadi”, “Sedifi” ve “Vahidi”dir. “Mümtaz”, “Ohadi” ve “Kellegouchi” İran’da, “Uzun” ve “Kırmızı” Türkiye’de, “Red Aleppo” Suriye’de, “Aegina” Yunanistan’da, “Bianca” İtalya’da, “Mateur” Tunus’ta, “Larnaka” Kıbrıs’ta, “Sirora” ise Avustralya’da yetiştiriciliği yapılan ve bu ülkelere özgü çeşitlerdir (Vargas, 1985; Crane and Maranto, 1988; Vargas vd., 1994).

Kırmızı çeşidi: Erken olgunlaşan (Eylül başı) meyve kalitesi Uzun çeşidine yakın bir çeşittir. Uzun çeşidi kadar yaygın değildir (Atlı, 2003).

Halebi çeşidi: Orta mevsimde olgunlaşan (Eylül ortası) meyve kalitesi Uzun ve Kırmızı çeşitlerinden üstündür. Verimi bu iki çeşitten daha düşüktür (Atlı, 2003).

Uzun çeşidi: Orta mevsimde olgunlaşan (Eylül ortası) meyve kalitesi orta olan bir çeşidimizdir. En yaygın olarak yetiştirilen meyvesi oldukça lezzetli ve yeşil içlidir (Atlı, 2003).

Ohadi çeşidi: meyve kalitesi Siirt çeşidinden biraz daha iyi olmakla birlikte, verimi düşük, ağaç gelişimi zayıftır. Meyveleri Siirt çeşidi gibi geç (Ekim başı) olgunlaşır (Atlı, 2003).

Siirt çeşidi: Sulu ve kuru koşullarda Uzun çeşidinden %30 daha verimlidir. Aynı zamanda Siirt ve Ohadi çeşitleri Uzun, Kırmızı ve Halebi çeşitlerinden 3 yıl daha erken ürün vermektedir. İyi bakım yapıldığı takdirde her yıl ürün verebilir. Avrupa birliği standartlarında Siirt çeşidi çok iri meyve sınıfına girmekte, çerezlik olarak talep görmektedir (Atlı, 2003).

Anadolu, *Pistacia* cinsinin gen merkezidir (Tekin vd., 2001). Antepfıstığına anaç olabilecek *Pistacia* türleri, tabii florada bol miktarda bulunmaktadır. *P. khinjuk* Stocks (Buttum), boyu 10 metreyi bulan, yaprak döken bir ağaç türüdür (Şekil 1.2). Çoğunlukla Mısır, Kuzey Irak, İran, Kaşmir'in doğusu (Kawashty vd., 2000) ve Türkiye'de yetişmektedir. Ülkemizde Gaziantep, Siirt, Hakkari, Bitlis ve kısmen Mardin illerinde yoğun olarak bulunur. Mobayen ve Tregubove (1970)'e göre, *P. mutica* ve *P. khinjuk* yıllık 100-600 mm yağışın düştüğü alanlarda bulunabilirler. *P. khinjuk* anaçı kuru koşullarda yapılan aşılama denemelerinde, gelişme ve taç oluşumu yönünden *P. atlantica*, *P. vera*'dan daha iyi sonuç vermektedir (Ulusaraç, 1992).



Şekil 1.2. *P. khinjuk* ağacı ve taç yapısı (Özaslan vd., 2003)

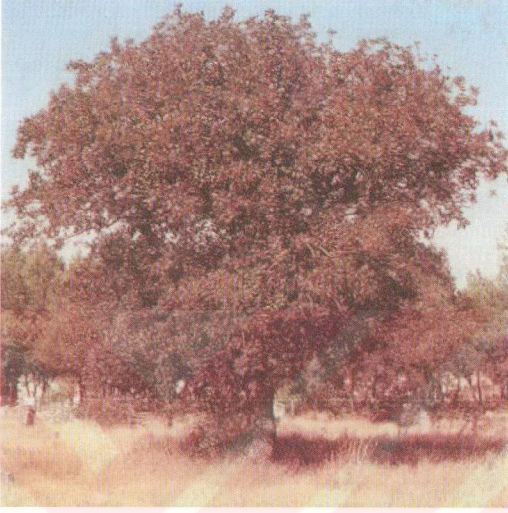
Büyüklüğü çalı ile küçük bir ağaç arasında değişen (yaklaşık 2-6 m) *P. terebinthus* (melengiç, çitlembik) daha çok Orta Doğu ile Güney Avrupa'da yetişir (Aydın ve Özcan, 2002). Hem kurak hem yağışlı kara iklimine adaptasyon sağlamıştır. İnce gövdecikleriyle ocak denilen yapıyı oluştururlar (Şekil 1.3).



Şekil.1.3. a. *P. terebinthus* L.'un ocak yapısı. b. *P. terebinthus* L.'un tohum ve yaprakları (Özaslan vd., 2003)

P. atlantica Akdeniz ve Ege bölgelerinde yetişen bir türdür. *P. atlantica* bu bölgelerde *P. mutica* ile birlikte yetişmektedir. Ağaçları 15-20 metre uzunluğunda olmasından dolayı *Pistacia* cinsinin en uzun türüdür (Şekil 1.4). Meyveleri *P. khinjuk* meyvelerinden küçük, *P. terebinthus* meyvelerinden iri, basık ve yuvarlaktır

(Şekil 1.5). *P. atlantica* çöğürlerinin çok fazla yan dal oluşturması, aşılama kabuk kaldırdığı için sorun yaratmaktadır (Tekin, 2001).



Şekil 1.4. *P. atlantica* Defs.'nin ağaç yapısı (Özaslan vd., 2003)



Şekil 1.5. *P. atlantica* Defs.'in tohum ve yapraklarının görünümü (Özaslan vd., 2003)

P. mutica (Beyaz Sakız) 6-7 m yükseklikte, sık yapraklı bir ağaçtır. Bu türün meyveleri İran ve Irak'ta yerli halk tarafından tüketilmektedir. (Baytop, 1999).

1.1. Türlerin önemi

Kuru'ya göre (1990), Türkiye'de antepfıstığı birçok nedenden dolayı önemli bir üründür. Fıstığın genetik çeşitliliğinin merkezi Türkiye'dir ve bölgeye çok iyi bir şekilde adapte olmuştur. Antepfıstığı besin değeri olarak son derece zengindir, ve son olarak, önemli bir ihraç ürünüdür. *Pistacia* türleri gıda endüstrisinde çok geniş bir kullanım alanına sahiptir (Davidson, 1949; Tanker ve Tanker, 1990). Antepfıstığı meyvesinden yemek yağı elde edilmektedir (<http://www.jrmushroomsandspecialties.com/oils/pistachio.html>). Meyvesinin tadı çok güzel olduğu için dondurma ve pasta imalatında kullanılmaktadır. Dünyanın birçok yerinde antepfıstığı tanınmış ve çerezlik olarak rağbet görmüştür. Küçük taneli antepfıstığı aroma ve tat yönünden iri olanlara göre iyi olmasına rağmen, ticaret için iri olanlar daha çok kabul görmektedir. Türkiye'de *P. terebinthus*'tan elde edilen yağ hem besin olarak tüketilmekte hem de sabun yapımında ham madde olarak kullanılmaktadır (Tanker ve Tanker, 1990). İri Buttum (*P. khinjuk*) meyveleri yağlı yapısından dolayı sabun imalatında kullanılmaktadır. *P. terebinthus* meyveleri, kahve ve çerez imalatında kullanılmaktadır (Tekin vd., 2001). Fıstık reçinesi yapıştırıcı yapımında ve bazı porselen, kemik, cam ve metal ürünlerine parlaklık kazandırma amaçlı kullanılır. Boya endüstrisinde kullanılan reçine, ayrıca alkolik ve alkolik olmayan bazı içeceklerde, kozmetik ürün ve parfümeride, dişçilikte dolgu maddesi olarak yada kürdan üretiminde kullanılmaktadır (Baytop, 1999). Reçine geleneksel olarak sakız gibi çiğnenmekte; dudak kuruması, bazı mide hastalıkları ve solunum yolları için antiseptik olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1999; Tuzlacı ve Aymaz 2001). Antepfıstığı ağacı yüksek kalorili kömür üretimi için de uygundur.

Antepfıstığı'nın 100 gramlık bileşiminin, bazı sert kabuklu meyve türleri ve sığır eti ile besin değeri yönünden karşılaştırılması Tablo 1.2'de verilmiştir (Woodroof, 1982).

Tablo 1.2. Antepfıstığı'nın sığır eti ve bazı sert kabuklu meyve türleri ile besin değerleri yönünden karşılaştırılması (100 gram kuru meyvede).

	Antepfıstığı	Badem	Fındık	Ceviz	Sığır eti
Protein (%)	23.5	19	12.6	14.8	13.6
Yağ (%)	56.4	54	62.4	64	41
Karbonhidrat (%)	19	20	16.7	16.8	-
Ca (mg)	131	234	209	99	8
Fe (mg)	500	504	337	380	124
Na (mg)	-	4	2	2	65
K (mg)	972	773	704	450	355
Vitamin A (mg)	230	0	-	30	80
Vitamin B₁ (mg)	0.67	0.24	0.46	0.33	0.06
Vitamin B₂ (mg)	-	0.92	-	0.13	0.12
Vitamin B₆ (mg)	1.4	3.5	0.9	0.9	3.3
Vitamin C (mg)	30	-	-	2	-
Vitamin E (mg)	5.2	-	-	-	-
Kalori	594	598	634	651	428
Nem (%)	5.3	4.7	5.8	3.5	44.8

Antepfıstığı ağacı (*Pistacia vera* L.) “Altın ağacı”, meyvesi ise “meyvelerin kralı” yada “kralların meyvesi” olarak anılmaktadır (Ayfer, 1990). Genelde kırmızımsı-kahverengi topraklarda yaşayan *Pistacia* türleri farklı iklimlerde ve çeşitli toprak tiplerine adapte olabilirler (Joley, 1979; Woodroof, 1979). Ticari önemleri yanında, *Pistacia türleri* süs bitkisi, gölgelik ve erozyon kontrolünde rüzgar perdesi olarak kullanılır (Joley, 1979), örneğin; *P. lentiscus* ve *P. terebinthus*. Her dem yeşil olan *P. lentiscus* 'un büyüklüğü çalı ile küçük bir ağaç arasında değişmektedir ve süs bitkisi olarak kullanılmaktadır (Joley, 1979). *P. terebinthus* (Melengiç, Çitlembik) ise uzun gövdeciklerinden dolayı rüzgar perdesi için uygundur (Açar, 2003). *P. atlantica* parklarda süs ağacı olarak yetiştirilmektedir (Tekin vd., 2001). Yabani antepfıstıklarının en önemli yararı ise anaç olarak kullanılmalarıdır.

1.2. Antepfıstığı'nın kökeni ve tarihçesi

Dioskurides'e göre, Latin kelimesi olan Pistachio (Antepfıstığı) "pissa"=sakız ve "aklomai"=iyileştirme kelimelerin türetilmiştir (Onay, 1996). Aslında, antepfıstığına sağlığa yararlı sakızı olan bitkide denilebilir.

Eskiden Linnaeus, Condolle, Boissier ve Engler gibi ünlü botanikçiler, antepfıstığı bozkırlarının olduğunu bilmiyorlardı (Bailey, 1947). Vavilova'a göre (1951) antepfıstığı'nın kökeni;

- (1) Kuzeydoğu Hindistan, Afganistan, Tacikistan ve Özbekistan'ı içine alan Orta Asya.
- (2) Kafkasya, İran, Türkmenistan dağları ve Türkiye'yi içine alan Orta-Doğu.

Ağaç, Avrupa'ya Hıristiyanlık dönemi başlangıcında tanıtılmıştır (Moldenke ve Alma, 1952). Fıstık çeşitleri 800'lü yıllarda önce Türkiye'den Suriye'ye, sonra ise İtalya'ya götürülmüştür. Antepfıstığı'nın ana vatanının Türkiye olduğu yemiş olarak yenildiğine dair arkeolojik kalıntılar bulunmasıyla desteklenmiştir. Günümüzde daha çok İran, Amerika, Türkiye, Afganistan, Yunanistan ve Suriye'de yetiştirilmektedir (Onay, 1996). Ayrıca ilk ticari plantasyonlar daha çok İran, Türkiye, ABD, Çin, Afganistan ve vahşi antepfıstığı'nın yetiştiği yerlere yakın bölgelerdeki ülkelerdir.

1.3. Antepfıstığı'nın geleneksel yollarla çoğaltılması ve geliştirilmesi

Antepfıstığı'nın çoğaltılması tüm sert kabukluların içerisinde en zor olanıdır (Joley, 1979). Antepfıstığı'nın geleneksel yollarla çoğaltılması ve geliştirilmesi çok zaman alan pahalı bir yöntemdir. Antepfıstığı'ndan alınan çelikleri köklendirme oldukça zordur. Geçmişten bu yana, antepfıstığı'nın çoğaltılması, tohumdan çimlendirilerek yada elit klonların gözlerinin anaçlara aşılmasıyla yapılmaktadır.

Ülkemizde antepfıstığı üç şekilde çoğaltılmaktadır. Birincisi, doğada kendiliğinden yetişmiş anaç olabilecek *Pistacia* türleri. İkincisi, *Pistacia* türleri tohumlarının ekilmesiyle elde edilen çöğürlerin üretim bahçelerine dikilerek yerinde aşılması. Üçüncüsü ise tohumların tüplere ekilmesi ve burada geliştirilerek aşılması

sonucunda elde edilen aşılı tüplü fidanlardır (Tekin vd., 2001). Bir meyve türü veya çeşidinden alınan bir göz yada kalemin, anaç üzerine yerleştirilmesine aşı, yapılan bu işleme aşılama denir (Açar, 2003). Gaziantep Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü'nde aşılı tüplü fidan üretimi yapılmaktadır.

Türkiye'de kullanılan antepfıstığı anaçları hala tohumdan elde edilmektedir. Çünkü başarılı bir vejetatif çoğaltma metodu henüz geliştirilmemiştir (Onay, 2000). Antepfıstığı için 2 çeşit anaç vardır; yaşadıkları yerde aşılama yapılan vahşi fıstık türleri ve ticari fıstık bahçelerinin kurulmasına yarayan antepfıstığı fideleri (Ayfer vd., 1990). *P. vera* L. Siirt çeşidi aşılama sonrası iyi gelişme gösterdiği için tür içi aşılama en çok kullanılan anaçtır. Ancak taç gelişimi ve verim yönünden *P. atlantica* ve *P. khinjuk*'tan daha düşük değerler verdiği belirtilmektedir (Ulusaraç, 1992). Bir çok yabancı fıstık anaç olarak kullanılmaktadır. *Pistacia mutica* kök düğüm nematodlarına karşı dayanıklı olduğu İran'ın bir çok bölgesinde anaç olarak kullanılmaktadır (Sheibani, 1987). *P. terebinthus*'un, *Phytophthora* spp.'ne karşı dayanıklı olduğu Pontikis (1984) tarafından rapor edilmiştir. *P. terebinthus* yavaş bir geliştirme gösterdiği için, aşılama sonrası bodur kalmakta ve erken, büyük ve kaliteli meyve vermektedir. Gaziantep'te klasik aşılama genellikle *P. terebinthus* ve *P. khinjuk* kullanılmaktadır. Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü (Gaziantep)'nde yapılan *in vivo* denemeler neticesinde *Pistacia khinjuk* (Buttum) anacı üzerine Siirt çeşidi aşılarak yapılan yetiştiriciliğin diğer anaç ve çeşitlerden üstün olduğu tespit edilmiştir (Atlı, 2003). Aşılama anaç çapı göz (tomurcuk) yada kalemin uyumu için yeterince büyük olmalıdır. Çünkü antepfıstığı tomurcukları bir çok meyve ağacı tomurcuklarıyla karşılaştırıldığında oldukça büyük ve geniştir (Joley, 1979; Woodroof, 1979). *P. atlantica* ve *P. integerrima* anaçları nematod ve *Verticillium* türlerine karşı *P. vera*'ya nazaran daha dayanıklıdır. Buna karşılık Türkiye, İran ve bazı Orta Doğu ülkelerinde yeni bahçelerde *P. vera* anaç olarak kullanılmaktadır. Bunun sebebi, *P. vera* fidelerinin diğer türlerden daha fazla yan kök vermesi ve daha kalın gövdeli olması ve göz verme olgunluğuna daha çabuk ulaşmasıdır (Ayfer vd., 1990). Günümüzde A.B.D'de UCB-1 hibrit anacı antepfıstığı üretiminde en çok kullanılan iki anaçtan birisidir (Almehdi vd., 2002). UCB-1, bir *P. atlantica* dişi ve bir *P. integerrima* erkeğinin çaprazlaması sonucunda oluşan tohumdan elde edilmektedir.

Antepfıstığı'nın çelikle üremesi zor olduğu için, elit klonlardan alınan klonal çoğaltma tomurcuklarla yapılmaktadır (Onay vd., 2003). Antepfıstığı dış dölleme gösteren bir bitki olduğu için yeni fideler genetik olarak oldukça değişiklerdir. Köklenme için büyük eğilime ve diğer uygun karakterlere (örneğin; hastalık rezistansı) sahip genotip kaynağının seçimi başarılı ticari üretim için çok önemlidir (Almehdi vd., 2002). Fidler arasında morfolojik farklılıklar, aşı-anaç arasındaki uygunluğu ölçülebilir biçimde etkilemektedir (Almehdi vd., 2002). Aşı anaç arasındaki uyumsuzluklar türler arası yada varyeteler arası aşılama gerekliliği kılmaştır (Onay vd., 2003). Geleneksel aşılamanın yararlarına ek olarak, sürgün ucu aşılama dışarıdan gelen bulaşıklık açısından hızlı ve verimli (Hartmann vd., 1997) olması yanında az farklılaşmış sürgün ucu dokuları aşı-anaç uyumsuzluğunu azaltabilir (Jonard, 1986). Sürgün ucu aşılama ağaçlarda geliştirme, gençleştirme ve/veya güçlendirme amaçlı kullanılmıştır (Revilla vd., 1996, Estrada-Luna vd., 2002). Ticari olarak yetiştirilen antepfıstığı plantasyonlarının çoğalmasını engelleyen temel sorun, iyi bitki materyallerinin yeterince çoğaltılmamasıdır (Onay, 1996), bunlardan biriside geleneksel aşılama tekniklerindeki bazı zorluklardır. Ayrıca, aşılama yavaş ve pahalıdır. Sonuçta, uzun bir zaman diliminde az sayıda bitki üretilmektedir. Bunun yanında, antepfıstığı, erkek ve dişi çiçekleri ayrı ağaçlarda olan ve rüzgarla tozlanan bir meyve türüdür (Atlı, 2003). Sonuçta meydana gelen fide popülasyonları heterozigottur (Onay, 1996). Çapraz dölleme dolayısıyla, ticari antepfıstıkları hemen hemen vahşi popülasyonlar kadar değişkendir. Bundan dolayı, genetik varyasyonu azaltabilen ve kontrollü döllemeyi sağlayan üretim stratejilerine ihtiyaç vardır (Onay, 1996).

Bu çalışmada, *P. vera* Cv Siirt'in *P. khinjuk* Stocks, *P. terebinthus* L., *P. atlantica* Defs. ve *P. mutica* F. et M türleri üzerine *in vitro* sürgün ucu aşılama teknikleri kullanılarak çoğaltılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bitki kültürü denilince akla tabiattaki bitkileri insanların yararına daha elverişli hale getirmek için kullanılan metotlar gelmektedir. İnsanoğlunun varoluşundan bu yana gösterilen gelişme ile günümüzde “doku kültürü” adını almıştır (Kocaçalışkan, 2002). Bu tarihi gelişim sırasıyla; klasik kültürler, su ve kum kültürleri, hücre ve doku kültürleridir. Doku kültürü, aseptik şartlarda, yapay besin ortamında, bütün bir bitki, hücre (meristematik hücreler, süspansiyon veya kallus hücreleri), doku veya organ gibi bitki kısımlarından yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin (metabolitler gibi) üretilmesidir (Babaoğlu vd., 2001). Bitki doku kültürü teknikleri birçok amaca hizmet etmektedir. Hızlı üretim, bitki ıslahı, sekonder metabolit üretimi ve uzun süreli koruma için doku kültürü teknikleri kullanılmaktadır. Ayrıca nadir ve nesli tükenmekte olan bitkileri tekrar doğaya kazandırmak için doku kültürü kullanılır.

Bitkilerdeki tüm farklılaşmalar tamamen tersine dönüşebilir. 1902 yılında Alman botanikçi Gottlieb Haberlandt tüm bitki hücrelerinin totipotens olduğunu, her hücrenin organizmaya ait genetik özellikleri içerdiğini öne sürmüştür. 1934 yılında Gautheret izole edilmiş hücreden, farklılaşmamış hücre kümesi elde etmiştir. Bu hücre kümelerine kallus denir. Kallus ortamda besin olduğu takdirde sürekli bölünerek büyüme yeteneğine sahiptir.

1958 yılında Cornell Üniversitesi'nden bitki fizyoloğu Steward ve arkadaşları, havucun kökündeki sekonder floem hücrelerini sıvı besi yerine aktarmışlardır (Raven ve Johnson, 1996). Sakaroz, bitki büyümesi için gerekli mineral ve vitaminleri içeren ortamda, yeni hücre kümeleri oluşmuştur. Hücre kümeleri agara transfer edildiğinde sürgün gelişimi meydana gelmiş ve fide elde edilmiştir. Böylece Haberlandt'ın hipotezi doğrulanmıştır. Steward vd. ilk somatik embriyogenesis olayını gerçekleştirmişlerdir. Somatik embriyogenesis hızlı çoğaltımda, sentetik tohum üretiminde ve gen aktarımında önemli bir potansiyele sahiptir.

Eksplant, bitkiden alınan ve *in vitro* doku kültüründe kullanılan başlangıç materyalidir. Eksplant tek bir hücre olabileceği gibi, embriyo, meristem kallus, anter gibi farklı dokular da olabilir. Eksplantın alındığı bitkinin yaşı ve sağlıklı olması, eksplantın canlı ve aktif olması, eksplantın alındığı dönem son derece önemlidir (Kocaçalışkan, 2002).

Besin ortamı, doku kültürü çalışmalarında başarıyı önemli ölçüde etkiler. Ortamın bileşimi, bitki materyaline ve yapılacak çalışmaya göre değişmektedir. Ortamı oluşturan maddeler inorganik elementler, bir karbon ve enerji kaynağı, vitaminler, büyüme regülatörleri olarak gruplandırılabilirler.

İnorganik maddeler makro ve mikro olarak ikiye ayrılır. Makro elementler bitki gelişimi için mutlaka besin ortamında çok miktarda bulunması gereken elementlerdir. Mikro elementler ise kullanımı her zaman gerekli olmayan ortamda az miktarda bulunanlardır.

Karbon ve enerji kaynağı olarak genelde sakaroz kullanılmaktadır. Thiamine, nikotik asit, pyridoxine vitaminleri yüksek bitkilerin hücreleri kültüre alındığında büyüme sınırlayıcı etkiye sahiptir.

Büyüme regülatörleri (düzenleyicileri) doku kültürü ortamlarının en önemli unsurudur. Özellikle kallus oluşumu ve farklılaşma üzerinde çok etkilidirler. Bunlar Oksin, sitokinin ve diğer büyüme regülatörleri olarak üç gruba ayrılırlar. İndol asetik asit, zeatin, zeatin ribozid, Gibberellik asit, absisik asit ve etilen bitkilerce üretilen hormonlardır. Hücre bölünmesi ve kallus oluşumu için bir oksin bazen bir sitokinin gereklidir. Oksinlerin ayrıca apikal dormansi, absisyon ve senesens olayını geciktirme gibi görevleri vardır. Sitokininler ise adenin derivatıdır. Bunlar içinde en çok BAP (6-Benzylaminopurine) en çok kullanılır. Hücre bölünmesi, bitki rejenerasyonu ve sürgün çoğaltımında etkilidirler.

Malt ekstrat hücre bölünmesini teşvik edici bir organik komplekstir. Kazein hidrolizat (CH) 18 farklı amino asit kompleksi içerir ve canlının azot ihtiyacını karşılamada kullanılır.

Aktif kömür, kültür ortamında birçok organik ve anorganik molekülleri absorbe etmektedir ve bu madde bazı doku kültürü sistemlerinde kullanılmaktadır. Etkisi tam olarak bilinmemekle birlikte agardaki kontaminantları ve kültüre alınan dokunun salgıladığı sekonder ürünleri uzaklaştırabileceği; veya belirli endogen büyüme regülatörlerini muhtemelen ayarladığı kaydedilmektedir (Kocaçalışkan, 2002). Ayrıca ortamın rengini koyulaştırarak, toprak koşullarına bir yaklaşıma sağlamaktadır.

2.1. Mikroaşılama ve gerekliliği

Doku kültür tekniklerinden biri olan *in vitro* mikroaşılama; bitki türlerine göre büyüklüğü 0.1-0.8 mm arasında değişen sürgün ucu parçasının, binoküler mikroskop altında, tohumdan yada *in vitro* mikroçoğaltım yoluyla elde edilmiş ve tepesi vurularak değişik biçimlerde kesit açılmış anaçlar üzerine steril koşullarda yerleştirilmesi işlemidir (Baydar ve Çelik, 1999). Mikro aşı, 1980'li yıllarda geliştirilmiştir (Burger, 1984; Jonard, 1986). Eğer meristem *in vitro*'da gelişmiyorsa veya meristemden gelişen sürgünler köklenmiyorsa bunların *in vitro*'da çoğaltılmış anaçlar üzerine aşılması gerekir.

Virüsle bulaşık ana bitkiden direkt olarak aseptik ön işlemler ile ayrılan meristem ucu yada meristem ucunun *in vitro* kültüründen sonuçlanan küçük bir sürgün ucu virüs içermeyen anaca aşılacaktır. Meristem ucu kültürünün başarısız olduğu türlerde virüssüz stokları üretmek için bu işlem kullanılmaktadır.

Virüs eliminasyonu, meyve ağaçlarında genellikle termoterapi ile meristem ucu kültürlerinden gelişen köklü sürgünlere mikroaşılama ile başarılmıştır (Zimmerman ve Swartz, 1994). *In vitro* sürgün ucu aşılama tekniği *Citrus* türlerinde %60-70 oranındaki başarısı ve %90 toprağa şaşırtmadaki başarısı ile ticari üretimde önemli bir uygulama alanı bulmuştur (Grosser, 1994).

Bağcılıkta *in vitro* sürgün ucu aşılama, virüs içermeyen asma fidanı elde etme sürecini kısaltmakla beraber; anaç ve kalem ilişkilerinin incelenmesinde (D'Khili vd., 1995), hastalık etmenlerinin ayrımında (Roistacher ve Kito, 1977) ve hastalık etmeninin taşınması ve yayılmasının önlenmesinde (Ellis ve Whervin-Van, 1986)

kullanılmaktadır. Mikroaşılama meyveli ve sert kabuklu meyveye sahip ağaçları geliştirme programlarında hastalıksız aşı üretim amacıyla (Murashige vd., 1972; Navarro vd., 1975), olgun sürgün materyallerinin gençleştirilmesinde (Francelet, 1979; Hackett, 1985) ve aşılama birlikteliğinin histolojik yapısını araştırmasında (Gebhardt ve Goldbach, 1988) kullanılan bir yöntemdir.

Asmada (*Vitis vinifera* L.) sürgün ucu kaynağının *in vitro* mikroaşılamada başarı üzerine etkileri Baydar ve Çelik (1999) tarafından incelenmiştir.

Ayrıca mikroaşılama hızlı ve iyi çoğaltım, gençleştirme ve güçlendirme amaçlı yapılabilmektedir. *Pinus radiata* D.Don'un *in vitro* çoğaltmasındaki başarıyı artırmak için mikro aşılama denemeleri yapılmıştır (Fraga vd., 2002). Afrika'nın kurak topraklarında yetişen ve tarımsal ormancılıkta yaygın olarak kullanılan *Faidherbia albida*' da mikroaşılama, gençleştirme ve güçlendirme amacıyla yapılmıştır (Danthu vd., 2002). Maun ağacında (*Anacardium occidentale* L.) sürgün ucu aşılama yöntemi hipokotil ve epikotil aşuları karşılaştırılmış, hipokotilin daha iyi gelişme gösterdiği gözlemlenmiştir (Mnoney vd., 2001).

Afrika'da Sudan ve Sahel'de yaygın olan hünnap ağacı (*Ziziphus mauritiana* Lam.)'nın minyatür aşı kalemleri *in vitro* da geliştirilmiş olan fidelerin üzerine aşılanmıştır (Danthu vd., 2004; Thimmappaiah vd., 2002).

Turnbull vd. (2002) tarafından *Arabidopsis thaliana*'da pek çok bitkisel süreçte rol oynayan uzun-aralıklı sinyallerin yönü ve oluşum yeri mikroaşılama yöntemi sayesinde karşılaştırılmış ve bu sinyal yollarıyla ilgili olan genlerin tespit edilmesi için öncül bir çalışma yapılmıştır.

1970'li yıllardan bu yana virüs ve benzeri hastalık etmenleri içermeyen bitki yetiştirmek için başta turunçgiller olmak üzere çok yıllık bahçe bitkilerinde *in vitro* sürgün ucu aşılama metodu birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır (Bitters vd., 1972; Murashige vd., 1972; Navarro vd., 1975; Carvalho vd., 2002). Turunçlarda virüsten yoksun, verimli ve geç yaşlanan bitki yetiştirmek için Paiva vd. (1993), *Citrus limonia* Osbeck'nın tohumlarını anaç, *Citrus sinensis* L'in 'Seleta Folha Murcha' çeşidini aşı kaynağı olarak kullanmıştır. Yine, Koç vd. (1988), Adana

Çukurova bölgesinde yetiştiriciliği yapılan Citruslarda sürgün ucu aşılama denemeleri yapmışlardır. Navarro vd. (1983) virüs içermeyen şeftali yetiştirmek için *in vitro* sürgün ucu aşılama yöntemini kullanmışlardır.

Zeytin'de germplasm çoğalması için yararlı ve efektif bir metot olan yarma aşısı Troncoso vd. (1999) tarafından denenmiştir.

Bademde (*Prunus amigdalus*) Prunus nekrotik halka virüsü (PNHV), Badem cücelik virüsü (BCV) ve Elma mozayık virüsü (EMV) lerini içermeyen bitki yetiştirmek için Juárez vd. (1992) tarafından bu teknik kullanılmıştır.

Ghorbel vd. (1998), bademin (*Prunus dulcis* (Miller) D.A. Webb) Achak çeşidinde, aşılama tipinin, aşısı kaynağının ve aşının fizyolojik durumunun *in vitro* mikroaşılama üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. 4-6 haftalık sürgünler ile küçük apikal tomurcuklar (3.0-5.0 mm), anaçlar üzerine tepe yada T aşısı yöntemiyle aktarılmışlardır. Tepe aşısı % 82.1, T aşısı ise % 79.2 başarı göstermiştir.

In vitro'da geliştirilen Mercimek (*Lens didinaria* Medik) sürgünleri mikroaşılama çok yüksek başarı göstermiştir (Gulati vd., 2001).

Banerje vd. (2000) *in vitro* mikroaşılama yöntemiyle pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) bitkisini çoğaltmışlar. Mikroaşılama denemelerinde %30 başarı elde etmişlerdir.

Ekonomik önemi olan *Acacia senegal* (Arabistan zambak ağacı) değişik eksplantları kullanılarak yapılan mikroaşılama denemelerinde %60 başarı elde edilmiştir (Palma vd., 1997).

Dünya'da ve ülkemizde antepfıstığı (*P. vera* L.), bu türün farklı çeşitleri yada yabancı *Pistacia* türlerine aşılanmaktadır. Yabancı ağaçlar yaşlı olduklarından kuvvetli kök sistemine sahiptir ve aşısıya gelmeleri için beklemeye gerek yoktur. Öte yandan yabancı türler aşılamadan 3-4 yıl sonra meyve vermektedir (Tekin vd., 2001).

Ferguson vd. (2002) çeşitli tuzlar ve bor stresine maruz kalmış *P. atlantica*, *P. integerrima*, IUCB-1 (*P. atlantica* X *P. integerrima*) anaçları üzerine *P. vera* L.

Kerman çeşidi aşılınmış ve performansları karşılaştırmışlardır. Farklı dört tuz uygulaması su yoluyla bitkilere uygulanmıştır. 10 mg/l bor sabit tutularak, dört farklı elektriksel iletkenlik; 3.5, 8.7, 12, 16 dS.m(-1) uygulanmıştır. Kerman'daki gelişim, toplam yaprak alanındaki büyümeye, gövde çapındaki genişlemeye ve toplam yüzey üstü gelişime göre yorumlanmıştır. Elektriksel iletkenliğin 12'ye ulaştığındaki parametreler hariç, tüm gelişme parametreleri tuzluluk arttığında azalmıştır. Fakat, elektriksel iletkenlik 16 dS.m(-1) olduğunda, Kerman'ın *P.integerrima* ve UCB-1 anaçları üzerindeki gelişimi, *P.atlantica* anacına göre daha iyi olmuştur. Yapraklardaki yaralanmalar aşı ve uygulamalarından ve tuzluluktan çok bor toksitesine bağlanmıştır. Yaralanmış yaprak dokularındaki bor konsantrasyonu 1000 ile 2500 mg.kg(-1) arasında değişmektedir. Genelde, bor stresindeki bitki yapraklarında yaralanmalar azalmamış, tuz oranı arttıkça bitki yapraklarındaki yaralanmalar azalmıştır. Buradan, Bor ile diğer mineral besin elementleri arasında iç sinerjistik ilişki olduğu anlaşılmaktadır. Fakat *P. integerrima* anacına aşılın *P.vera* en yüksek seviyedeki tuzluluk büyük yaralanmalara neden olmuştur. Bunun sebebi beklide bor ile Cl⁻ ve/yada Na⁺ toksitesinin birleşimidir. *P.vera*, *P.integerrima* anacı üzerine aşılandığında diğer anaçlara göre Steady-state porometre ile belirlenen yaprak transpirasyonu, stoma iletimi ve klorofil konsantrasyonu, birleşmiş tuzluluk ve boru büyük miktarda düşürmüştür.

Almehdi vd. (2002), antepfıstığı anaçlarının (örneğin; UCB-1) çelikle kolonal çoğaltımı üzerine bir çalışma yapmışlardır. UCB-1, yapraklı çelikten 2 yaşındaki beş adet budanmış olgun fide-kökenli ağaçların kullanılmasıyla üretilmiştir. Üç sürgün boyu, üç kesme pozisyonu ve üç indol butirik asit (IBA) konsantrasyonu test edilmiştir. Genotipler (ağaçlar), kesme pozisyonları, örnek alım yılları arasında önemli köklenme farklılıkları bulunmuş. Fakat sürgün gelişimi ve IBA konsantrasyonları arasında bir fark gözlemlenmemiştir. Genotip haricindeki tüm bu faktörler bahçe tesisi sırasında kontrol edilebilir. Değerlendirme ve üretim için iyi ürün verme potansiyeline sahip genotipler seçilmelidir. Seçilen UCB-1 ağaçlarından %40'tan daha fazla oranlarda köklenme elde edilebilir. Anaçların klonal üretimi pratiktir ve bu çok iyi genotiplerin geliştirilmesi için fırsat vermektedir.

Epstein vd. (2004) *Verticillium dahliae* tarafından istila edilmiş toprakta, iki interspesifik melez antepfıstığı anaçları (UCBI ve PGII) ile *V.dahliae*'ya dirençli

P.integerrima ve *V.dahliae*'ya hassas *P.atlantica* anaçlarının ölüm oranlarını, *Verticillium* solgunluğu simptomları oranı, gelişme ve ürün vermelerini karşılaştırmışlardır. 10 yıl sonra, aşı bölgelerindeki ksilemde *V. dahliae* örnekleri alınmıştır. Sonuç, hibrid UCBI'ya aşılanan ağaçların *P.integerrima* kadar geliştiği ve ürün verdiğini göstermektedir. Melez PGII anacı üzerindeki ağaçlar en az ürünü vermişlerdir. Varyans analizi ve log-lineer modeller *V.dahliae* tarafında istila edilmiş toprakta, üç birleşim antepfıstığı ürün verimini önemli oranda etkiler. Anaç aşı kuvveti ve infeksiyon boyutunu etkiler. Üçüncüsü, infeksiyon boyutu ve aşı kuvveti ters ilişkilidir. Aşı kuvvetinde görsel kanı olarak *P.integerrima* anacı üzerindeki ağaçlar en gözde olmasına rağmen, gövdedeki aşı bölgesinde %65 oranında *V. dahliae* infeksiyonu olmuştur. Bu oran, *P. atlantica*'da %73 ve UCBI'da %25'tir. Buradan, *P.integerrima* ve UCBI *V. dahliae*'ya karşı direnç için en az bir farklı mekanizmaya sahiptir denilebilir.

Werner vd. (2001) *Pistacia x saportae* Burnat hibritinin *Verticillium* infeksiyonlarına diğer popüler anaçlardan daha dayanıklı olduğunu ileri sürmüşlerdir. *Pistacia x saportae*, *P. lentiscus* ile *P. terebinthus*'un hibritidir.

Onay vd. (1997), *P.vera* L.'nin somatik embriyolarının farklı konsantrasyonlardaki BA, absisik asit (ABA) ve sakaroz içeren MS ortamlarında gelişmelerini karşılaştırmıştır. Somatik embriyoların olgunlaşmaları için en iyi ortam, düşük konsantrasyonlarda ABA yada BA (0.5 mg/l) ve %2-4 sakaroz içeren yada bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen ve % 6 sakaroz içeren sıvı MS'dir.

Nikpeyma vd. (1995) *P.vera*'nın 3 kültür çeşidi (Kırmızı, Siirt ve Ohadi) ile radikül ucu alınmış 3 anaç (*P.terebinthus*, *P.atlantica* ve *P. khinjuk*) kullanarak en iyi yan kökü veren ve iyi gelişen tür ve çeşitleri belirlemek istemişlerdir. 0, 250 yada 500 ppm GA₃ muamelesi tür ve çeşitleri yapılmıştır. 7 ay sonunda kültür çeşitlerinin sürgün çapları (>7 mm), anaçlarınkinden (<5mm) daha büyük olduğu hesaplanmıştır. Ayrıca GA₃ muamelesinin tutarlı bir etkisi olmadığı belirlenmiştir. 18 ay sonucunda, Ohadi ve Siirt çeşitlerinin gövde çapları daha büyük çıkmıştır. En yoğun kök sistemi *P. terebinthus*' ta gözlemlenmiş, bu türü *P.atlantica* takip etmiştir. Bu iki türün yan kök sayısı diğerlerinden fazladır.

Abousalim (1991), *P.vera*'nın tohumlarını sıvı yarı MS ortamında çimlendirmiş. Ortama büyüme düzenleyicisi eklememiş, 2, 4, 6, 8 yada 10 mg/l BA (benziladenin) ortama eklenmiştir. Büyüme düzenleyicisiz katı MS ortamına, 0.5, 1,2,4, yada 8 mg/l BA eklemiş ve bu ortamda *P.atlantica* tohumlarını çimlendirmiştir. 14 gün sonunda *P. vera* tohumlarında en çok sürgün oluşumu 6-8 mg/l BA içeren ortamda gözlemlenmiştir. 35 gün sonunda tüm kültürlerde vitrifikasyon (camlaşma) meydana gelmiştir.1-2 mg/l BA içeren ortamda 35 gün sonunda *P. atlantica* kültürlerinde en fazla sürgün oluşumu gözlemlenmiştir. BA'ın 4 mg/ l 'den düşük olduğu ortamda sürgün oluşumunda ani bir düşüş olmuştur. BA'nın 1 mg/l olduğu ortamda en fazla sürgün ve tomurcuk oluşmuştur.

Uç ve koltuk meristemleri veya mevcut koltuk tomurcukları *in vitro* kültüre alınarak çok sayıda sürgünlerin geliştirilmesi, bunların köklendirilmesi ile de tam bitkilerin elde edilebilir. Onay vd. (2000) olgun *P. vera* L.'nin nodal segmentlerinden multiple sürgünlerini BA eklenmiş MS ortamında üretmek istemişlerdir. Maksimum sürgün üretimi 8.8 µM BA içeren katı MS ortamında kültüre alınan *in vitro* çoğaltılmış sürgünlerden alınmış sürgün uçlarından elde edilmiştir. Çoğalma hızı 30. günde eksplant başına 20 mikrosürgündür. Mikrosürgünlerin köklendirilmesi indol butirik asit(IBA) ile desteklenmiş MS ortamında başarılıdır. Köklendirilmiş bitkiciklerin kısa bir aklimatizasyon periyodu sonrasında bağımsız geliştirme gösterdikleri farz edilmiştir. Gelişen bitkiler seraya aktarılmıştır.

Türkiye'de ilk defa antepfıstığında mikroaşılama çalışmaları Kuyucu (1995) tarafından yapılmış, *Pistacia vera* L. çeşitlerinin aşılamadaki başarıyı etkilediği belirlenmiştir.

Büyükalaca vd. (1997), *P.vera*'nın Kerman ve İran çeşitlerinin embriyolarının *in vitro*'da çimlenmelerine en uygun ortamı belirlemek istemişlerdir. Üç farklı kültür ortamı kullanılmıştır. Katı, büyüme düzenleyicisiz MS; katı, büyüme düzenleyicileri ve sakarozdan yoksun yarı MS; sıvı, büyüme düzenleyicileri ve sakarozdan yoksun yarı MS. Tüm ortamlarda çimlenme meydana gelmiş, 4 hafta sonunda tüm çimlenmiş fideler alt kültüre aktarılmıştır. En iyi sürgün gelişimi yarı sıvı MS ortamında gerçekleşmiştir.

Antepfistiğinin çelikle üremesi zor olduğundan antepfistiğinin *in vitro* ve *in vivo* mikro aşılama Onay (2003) tarafından çalışılmıştır. *P.vera*'nın Siirt çeşidinin 3-5 aylık *in vivo*'da gelişmiş fideleri aşı kaynağı, 12 günlük *in vitro* fideleri ise anaç olarak kullanılmış. Sürgün uçları ise 1, 5, 10 ve 30 yıllık ağaçlardan alınmıştır. *In vivo* mikroaşılama aşılama aşılama arasında iyi bağlantı olması için parafilm kullanılmıştır. *In vivo* aşılama aşılama yine aksillar sürgünde sağlanmıştır. Toprağa şaşırtılan bitkilerde herhangi bir problemle karşılaşmamıştır. Otsu anaçlar üzerine yapılan mikroaşılama yararlı bir tekniği ortaya çıkarmıştır.

Chatibi vd. (1998), 0.05 mg/l NAA, 0.2 mg/l IBA ve 1.0 mg/l BAP içeren Zigotik (RA-Z) ortamda kültüre alınmış *Pistacia vera* L. cv. Mateur'nun *in vitro*'da geliştirilmiş meristem orijinli aşılama kullanıldığı *in vivo* ve *in vitro* mikroaşılama denemelerinde % 70' den daha büyük başarı elde etmiştir. Alt kısmı yarılmış aşılama 0.2-0.3 cm çapındaki anaçlar üzerine oturtulmuştur.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

Araştırmalarda anaç kaynağı olarak *P. khinjuk* Stocks, *P. terebinthus* L., *P. atlantica* Defs., *P. mutica* F. et M. 'nın *in vivo*'da yetiştirilen tohumları ve *P. vera* L.'nin Siirt ve Uzun çeşitlerinin tepe ve koltukaltı sürgünleri kullanılmıştır. Tohumlar, Gaziantep Havaalanı civarındaki bahçelerden, Durnalık Köyü (Gaziantep), Mersin'in Mut ilçesi ve Siirt'ten alınmıştır. Sürgünler, Gaziantep Üniversitesi kampus alanında ve Gaziantep Fıstık Araştırma Enstitüsü'ne ait arazide yetiştirilen antepfıstıklarından alınmıştır.

3.1.2. Kimyasallar

Çalışmada kullanılan kimyasallar Calbiochem, Merck, Serva, Biolab ve Sigma firmalarından temin edilmiştir.

3.1.2.1. Kültür ortamının hazırlanmasında kullanılan kimyasallar

Bütün çalışmalarda Murashige ve Skoog (1962)-MS doku kültürü ortamı kullanılmıştır. MS ortamının içerdiği kimyasallar ve bu kimyasalların kullanılan miktarları Ek.1 de verilmiştir.

3.1.2.2. Kültür ortamlarına sonradan ilave edilen kimyasallar

a) Aktif kömür

b) Sitokin hormonu

6-Benzylaminopurine (BAP, C₁₂H₁₁N₅)

c) Organik kompleksler

Malt ekstrakt

Hidrolize kazein

3.1.3.Kullanılan Cihazlar

Etüv (Nüve)

Fuji Film Fotoğraf Makinesi (S602 Zoom)

Hassas Terazı (Precisa M 160)

Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı (Velp)

İnkübatör (Memmert 400)

PH metre (Inolab WTW)

Sterio Zoom Trinoküler Araştırma Mikroskobu (Soif SQF-D)

Steril Çalışma Kabini

Otoklav (Nüve OT 060V)

3.2.Yöntem

3.2.1. Kültür ortamlarının hazırlanması

3.2.1.1. MS ortamının hazırlanması

Ek.2.'de verilen oranlarda A, B, D stok solüsyon grubundaki kimyasallar tartılmış ve dH₂O ile çözülerek üzerileri 100 ml'ye tamamlanmıştır. Stok C'nin hazırlanmasında ise FeSO₄. 7H₂O belirtilen oranda tartılmış ve 90 ml dH₂O ile tamamlanmıştır. Bu çözelti karıştırılarak ısıtılmış ve açık sarı-berrak bir solüsyon haline getirilmiştir. Daha sonra Na₂EDTA-2H₂O (Titriplex) ilave edilmiş, çözeltinin tamamı dH₂O ile 100 ml'ye tamamlanmış ve pH 5.5'e ayarlanmıştır. Hazırlanan stok solüsyonlar +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Stok solüsyonlar belirli aralıklar ile kontrol edilmiş ve herhangi bir mikrobiyal bulaşıklık saptandığında yeniden hazırlanmıştır. 1 litre kültür ortamının hazırlanması için stok solüsyonlardan 10'ar ml ve Ek.3.'de verilen kimyasallardan da (agar hariç) belirtilen oranlarda alınarak çözelti, saf su ile 1 l' ye tamamlanmıştır. PH, 1 M NaOH ve 1 M HCl kullanılarak 5,7 ye ayarlanmıştır. Son olarak agar ilave edilmiştir (Can vd., 1992 a; Koç ve Can., 1992).

3.2.1.2. Hormonların hazırlanması

BAP hormonu stok halinde hazırlanmıştır. Kullanılan oranlarda tartılan hormon 1M NaOH ile çözüldükten sonra saf su ile istenilen miktara tamamlanmıştır. Hormon ortama agar ilave edilmeden ve pH ayarlanmadan önce ilave edilmiştir (Can vd., 1992 a).

3.2.1.3. Organik kompleks ve aktif kömürün ilave edilmesi

Tohum çimlendirmesi ve aşılama sonrası bitki geliştirilmesi için MS besi ortamına agar katılmadan önce her zaman 1 gr/l aktif kömür, 250 mg/l malt ekstrakt ve 250 mg/l Hidrolize kazein eklenmiştir.

3.2.1.4. Kültür ortamların sterilizasyonu

Ortamlar 1 atm. basınçta 121°C 'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir (Can vd., 1992 b).

3.2.2. Yabani fıstık tohumlarının *in vitro*'da geliştirilmesi

3.2.2.1. Tohumların sterilizasyonu

Dormansinin kırılması için tohumlar +4 °C' de devamlı süreyle buzdolabında bekletilmiştir. Yabani antepfıstıklarının sterilizasyonu için 5 farklı fungusit uygulaması içine alan toplam 14 farklı sterilizasyon denenmiştir. Sterilant olarak %70'lik etil alkol ve içerisine 2-3 damla Tween-20 bulunan değişik derişimlerde sodyum hipoklorit, hidrojen peroksit ve 5 farklı fungusit kullanılmıştır. Dış perikarp ve kabuk çıkarıldıktan sonra çekirdek yüzey sterilizasyonuna maruz bırakılmıştır. Son çalışmalarda; tohumlar çeşme suyunda ortalama 2-5 dakika daha sonra yine aynı süre deterjanlı su ve Tween-20 karışımında bekletilmiştir. Daha sonra yine çeşme suyunda ortalama 5 dakika bekletilmiştir. Sonra %70' lik alkol içerisinde 5 dakika bekletilen tohumlar 1 defa steril saf sudan geçirilmiştir. Daha sonra %15'lik sodyum hipoklorit içerisinde 15 dakika bekletilmiştir. 1 defa steril saf sudan geçirilen tohumlar, % 70'lik alkolde 2 dakika bekletilmiştir. Son olarak 3 yada 4 defa steril saf sudan geçirilen tohumlar içerisinde steril kurutma kağıdı bulunan steril petrilere alınmıştır (Can vd., 1992 a; Koç vd., 1992).

3.2.2.2.1. Sterilizasyon Teknikleri

Araştırma kapsamında tohumlarda meydana gelen aşırı bulaşıklıktan dolayı pek çok sterilizasyon yöntemi denenmiştir. Aşağıda sterilizasyon yöntemleri Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1. Yüzey sterilizasyonlarında kullanılan farklı yöntemler.

Yöntem I	Yöntem II
<p>Çeşme suyu ile yıkama (5 dak.) Deterjanlı su + Tween 20 (5 dak) Çeşme suyu ile yıkama (5 dak) %70 Etanol (2 dak) Steril dH₂O ile yıkama (1x) %5 NaOCl (5 dak) Steril dH₂O ile yıkama (1x) %15 NaOCl (10 dak) Steril dH₂O ile yıkama (3x) Filtre kağıdında kurutma</p>	<p>Çeşme suyu ile yıkama (5 dak.) Deterjanlı su + Tween 20 (5 dak) Çeşme suyu ile yıkama (5 dak) %70 Etanol (4 dak) Steril dH₂O ile yıkama (2x) %10 NaOCl (10 dak) Steril dH₂O ile yıkama (1x) %5 NaOCl (5 dak) Steril dH₂O ile yıkama (2x) %5 H₂O₂ (5 dak) Steril dH₂O ile yıkama (3x) Filtre kağıdında kurutma</p>
Yöntem III	Yöntem IV
<p>Çeşme suyu ile yıkama (5 dak.) Deterjanlı su + Tween 20 (5 dak) Çeşme suyu ile yıkama (5 dak) %70’lik Etanol (2 dak) Steril dH₂O ile yıkama (1x) %20’lik H₂O₂ (10 dak) Steril dH₂O ile yıkama (2x) %10’lukNaOCl (5 dak) Steril dH₂O ile yıkama (3x) Filtre kağıdında kurutma</p>	<p>Çeşme suyu ile yıkama (5 dak.) Deterjanlı su + Tween 20 (5 dak) Çeşme suyu ile yıkama (5 dak) %70’lik Etanol (2 dak) Steril dH₂O ile yıkama (1x) %5’lik NaOCl (5 dak) Steril dH₂O ile yıkama (1x) %20’lik H₂O₂ (15 dak) Steril dH₂O ile yıkama (3x) Filtre kağıdında kurutma</p>

Yöntem V	Yöntem VI
<p>Çeşme suyu ile yıkama (5 dak) Deterjanlı su + Tween 20 (5 dak) Çeşme suyu ile yıkama (5 dak) %70 Etanol (2 dak) Steril dH₂O ile yıkama (1x) %15 NaOCl (15 dak) Steril dH₂O ile yıkama (2x) %15 H₂O₂ (15 dak) Steril dH₂O ile yıkama (3x) Filtre kağıdında kurutma</p>	<p>Çeşme suyu ile yıkama (5 dak.) Deterjanlı su + Tween 20 (5 dak) Çeşme suyu ile yıkama (5 dak) %70 Etanol (2 dak) Steril dH₂O ile yıkama (1x) %15 NaOCl (20 dak) Steril dH₂O ile yıkama (2x) %15 H₂O₂ (20 dak) Steril dH₂O ile yıkama (3x) Filtre kağıdında kurutma</p>
Yöntem VII	Yöntem VIII
<p>Çeşme suyu ile yıkama (5 dak.) Deterjanlı su + Tween 20 (5 dak) Çeşme suyu ile yıkama (5 dak) %70 Etanol (2 dak) Steril dH₂O ile yıkama (1x) %15 H₂O₂ (20 dak) Steril dH₂O ile yıkama (2x) %20 NaOCl (20 dak) Steril dH₂O ile yıkama (4x) Filtre kağıdında kurutma</p>	<p>Çeşme suyu ile yıkama (5 dak.) Deterjanlı su + Tween 20 (5 dak) Çeşme suyu ile yıkama (5 dak) %70 Etanol (2 dak) Steril dH₂O ile yıkama (1x) %20 H₂O₂ (20 dak) 7.Steril dH₂O ile yıkama (2x) %20 NaOCl (25 dak) Steril dH₂O ile yıkama (4x) Filtre kağıdında kurutma</p>
Yöntem IX	
<p>Çeşme suyu ile yıkama (5dak.) Deterjanlı su + Tween 20 (5 dak) Çeşme suyu ile yıkama (5 dak) %70 Etanol (5 dak) Steril dH₂O ile yıkama (1x) %15 NaOCl (15 dak) Steril dH₂O ile yıkama (1x) %70 Etanol (2 dak) Steril dH₂O ile yıkama (3x) Filtre kağıdında kurutma</p>	

Yöntemlerin türlere göre gösterdiği farklılıklar Tablo 4.1’te gösterilmiştir.

3.2.2.2. Fungusit uygulamaları

Tohumlar sterilizasyon öncesi değişik oranlarda ve sürelerde farklı fungusit solüsyonları içerisinde bekletilmiştir. %80 thiram (tetramethylthiuram disulphide) içeren Pomarsol Forte WP 80, %50 carbendazim içeren Cekudazim 50 WP, % 50 metalik bakır (Bakır oksiklorür) içeren Bakır WP, %50 Captan N-(trichloromethylthio) cyclohex-4 ene-1,2-di carboximide içeren Captan 50 WP ve %50 Benomyl Methyl 1-(butylcarbamoyl)-2-benzimidazolecarbamate içeren 5-Dupont Benlate fungusitlerinin sulu solüsyonları kullanılmıştır. Tohumlar bu solüsyonlar içerisinde farklı sürelerde bekletilmiş daha sonra yüzey sterilizasyonuna maruz kalmışlardır.

3.2.2.3. Embriyo kültürü çalışmaları

Sterilizasyonlardaki olumsuz sonuçlardan dolayı embriyo kültürü 4 türün tohumları için denenmiştir. Yüzey sterilizasyonundan sonra tohum embriyoları bisturi yardımıyla trinoküler altında çıkarılmış ve MS ortamına aktarılmıştır.

3.2.2.3.1. Embriyo kültüründe kullanılacak tohumların sterilizasyonu

Sterilant olarak %70'lik etil alkol ve içerisine 2-3 damla Tween-20 bulunan %15'lik sodyum hipoklorid kullanılmıştır. Tohumlar deterjanlı su ve Tween-20 içeren solüsyonda 5 dakika bekletildikten sonra 5 dakika çeşme suyunda durulanmıştır. %70'lik alkolde 5 dakika bekletilen tohumlar 1 defa steril saf sudan geçirilmiştir. %15'lik sodyum hipoklorid içerisinde 15 dakika bekletilen tohumlar bir defa steril saf sudan geçirilerek sonra %70'lik alkolde 2 dakika bekletilmiştir. Bu işlemlerden sonra 3 defa steril saf sudan geçirilen tohumlar içerisinde steril kurutma kağıdı bulunan steril petrilere alınmıştır. Trinoküler mikroskop, değişik ebatlarda pens ve bisturi yardımıyla kesip çıkarılan embriyolar MS ortamına aktarılmıştır. Embriyo kültürü sonuçları Tablo 4.2'te verilmiştir.

3.2.2.4. Tohumların *in vitro*'da çimlendirilmesi

Yüzey sterilizasyonundan geçirilen tohumlar 30 ml ortam içeren erlen mayerlere yada 15 ml ortam içeren cam tüplere alınmışlardır. Bu amaçla MS (1962) Bazal

Ortamı (%3 sakkaroz ve %1 aktif kömür içeren) kullanılmıştır. İlk denemelerde dormant tohumların daha iyi çimlenmesi için 250 ppm 'lik GA3 solüsyonlarında 1 gece bekletilmiştir. Tohumların en iyi şekilde çimlendirilmesi için MS ortamına ilave olarak 4 farklı ortam *P. mutica* ve *P. terebinthus* üzerinde denenmiştir. Bu amaçla tohumlar MS+5mg/l BAP+100 mg/l CH+100 mg/l MA, MS+5mg/l BAP+250 mg/l CH+100 mg/l MA, MS+5mg/l BAP+500 mg/l CH+100 mg/l MA, MS+5mg/l BAP+250 mg/l CH+250 mg/l MA ortamları denemiştir. Sonuçlar tablo 4.3'de gösterilmiştir. Sürgün ucu aşılama denemeleri için yetiştirilen anaçlar 250 mg/l Hidrolize kazein, 250 mg/l Malt ekstrakt, 5mg/l BAP hormonu ile desteklenmiş MS ortamı çimlendirilmiştir.

3.2.3. Sürgün ucu aşılama

3.2.3.1. Sürgün sterilizasyonu

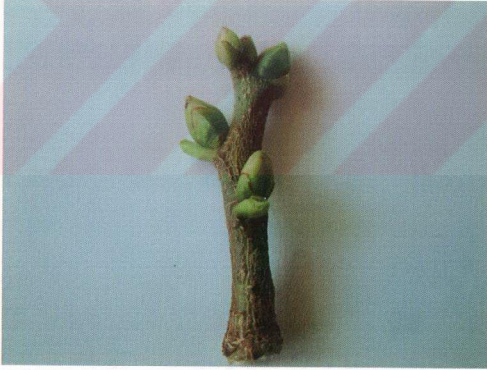
Sterilant olarak %70'lik etil alkol ve içerisine 2-3 damla Tween-20 bulunan %5'lik ve %3'lük sodyum hipoklorid kullanılmıştır. Sürgünlerin zarar görmemesi için, 2 parçadan oluşan yüzey sterilizasyonundan geçirilmiş. Aşılamaya uygun olmaları için 2 aşamada sürgünler küçültülmüşlerdir. Birinci kısımda, sürgünler 5 dakika çeşme suyunda yıkanmıştır. Deterjan ve Tween-20 içeren solüsyonda çalkalanarak 5 dakika bekletilmiştir. 10 dakika süreyle çeşme suyundan geçirdikten sonra % 70'lik alkolde 2 dakika bekletilmiştir. Bir defa steril saf sudan geçirilen sürgünler %5'lik sodyum hipoklorid içerisinde 5 dakika bekletilmiştir. 2 defa saf sudan geçirilen sürgünler tekrar %70'lik alkole alınmış ve 30 saniye bekletilmiştir. 3 defa steril saf sudan geçirilen sürgünler bu aşamada küçültülmüşlerdir. Sterilizasyonun ikinci kısmında 30 saniye alkolde bekletilen sürgünler %3'lük sodyum hipoklorid içerisinde 2 dakika bekletilmiştir. Bu işlemlerin arkasından 3 defa steril saf sudan geçirilmiştir ve içerisinde steril kurutma kağıdı bulunan steril petrilere alınarak, aşılamaya hazır hale getirilmiştir.

3.2.3.2. Sürgün ucu aşılama

Aşılı fideler 15 ml sıvı MS ortamı içeren tüplere aktarılmıştır. Bu amaçla %1 aktif kömür, 250 mg/l Hidrolize kazein, 250 mg/l Malt ekstrakt, 0.5 ml BAP içeren MS ortamı kullanılmıştır.

3.2.2.3.1. *İn vitro*'da gelişen anaçlar üzerine sürgünlerin aşılması

Anaçlar karanlık ortamda, *in vitro*'da 26-28 °C'de geliştirilmiştir. Aseptik koşullarda gelişen yaklaşık 7-9 cm uzunluğunda 20, 22 günlük anaçlar üzerine aşı kaynağı olarak *in vivo*'da gelişmiş sürgün uçları kullanılmıştır (Şekil.3.1). Anaçlar kotiledon yaprağının üst kısmından itibaren 4-5 cm bırakılarak kesilmiş, yüzey sterilizasyonundan geçirilmiş sürgünler yarma aşı yöntemiyle açılan yarığa oturtulmuş. Daha sonra aşılı bitki sıvı MS ortamına aktarılmıştır. Kültürler 26-28 °C'de, loş ışıkta klima odalarına yerleştirilmiş, değerlendirmeler 6-8 gün sonra yapılmıştır.



Şekil.3.1. Aşılmalarda kullanılan koltukaltı ve tepe sürgünleri

4. BULGULAR

4.1. Sterilizasyon çalışmaları

Tablo 4.1 de verildiği gibi, dört anaç üzerinde birçok sterilizasyon denenmiştir. Ancak, *P. khinjuk*'ta meydana gelen yoğun kontaminasyondan dolayı V, VI, VII, VIII nolu sterilizasyonlar sadece *P. khinjuk* için uygulanmıştır. IX. nolu sterilizasyon sürgün ucu aşılama için bitki yetiştirmede kullanılmıştır. Bu yöntemle göre, dört anaç üzerinde bulaşıklık oranı: %23.4 (n=256). Türlerin *in vitro*'da çimlenme oranları sırasıyla; *P. mutica*: %41.6 (n=120), *P. khinjuk*: %35.2 (n=102), *P. terebinthus*: %20.4 (n=88), *P. atlantica*: %24.3 (n=123)' tür. *P. terebinthus* bulaşıklık, düşük çimlenme oranı ve *in vitro*'da cılız gelişme göstermiştir. Bundan dolayı mikro aşı için uygun bir anaç değildir.

Tablo 4.1. Farklı yüzey sterilizasyonlarının türlerdeki çimlenme ve bulaşıklığa olan etkisi

Yöntemler	Türler							
	<i>P.mutica</i>		<i>P.atlantica</i>		<i>P.khinjuk</i>		<i>P.terebinthus</i>	
	B (%)	Ç(%)	B(%)	Ç(%)	B(%)	Ç(%)	B(%)	Ç(%)
I	66.6	12.5	0	33	100	0	54.2	16.6
II	87.5	0.4	19	42.8	33	44	58.3	33.3
III	35.2	37	0	22	77.7	22.2	37.5	25
IV	70.8	0.8	11.1	40.7	55.5	44.4	42	12.5
V	-	-	-	-	66	33.3	-	-
VI	-	-	-	-	55.5	33.3	-	-
VII	-	-	-	-	60	33.3	-	-
VIII	-	-	-	-	59.2	40.7	-	-
IX	12.9	41.6	35.2	24.3	17.8	35.2	53.5	20.4

B: Bulaşık tohum sayısının toplam tohum sayısına oranı

Ç: Çimlenmiş tohumların toplam tohum sayısına oranı



Şekil 4.1. Kültür ortamında meydana gelen kontaminasyonlar

4.1.1. Fungusit uygulamaları sonuçları

5 farklı fungusit muamelesine maruz kalan tohumlara yüzey sterilizasyonu uygulanmış, kontrol grubu ile bir fark olmadığı gözlemlenmiştir.

4.1.2. Embriyo kültürü

Embriyo kültürü amacı ile yapılan çalışmalarda yine MS ortamı kullanılmıştır. Embriyo kültüründe çimlenen bitkilerin köklerinde yan kök gözlemlenmemiştir.

Tablo 4.2. Embriyo kültüründe türlerdeki çimlenme ve bulaşıklık oranları.

Türler	<i>P.khinjuk</i>	<i>P.atlantica</i>	<i>P.terebinthus</i>	<i>P.mutica</i>
Bulaşıklık oranı	%100	%100	%70	%60
Çimlenme oranı	%60	% 0	%40	%33



Şekil 4.2. *P. khinjuk*'ta embriyo kültürü

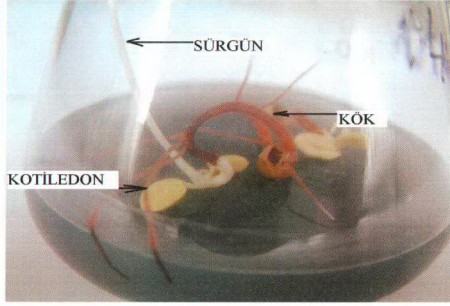
4.2.1. Türlerin çimlendirilmesi

Nikpeyma vd. (1995) saptadığı gibi çalışma sonucunda 250 ppm GA₃ muamelesinin tutarlı bir etkisi olmadığı belirlenmiştir.

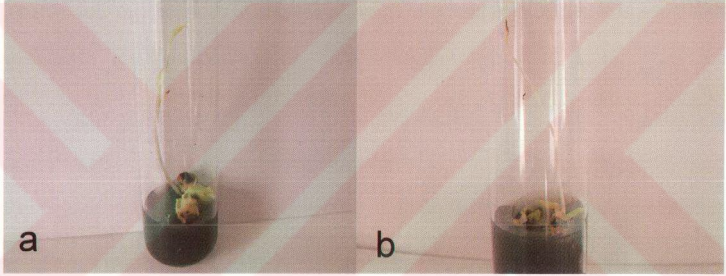
	<i>P.mutica</i>	<i>P.terebinthus</i>
MS (Kontrol)	22.2	21.8
MS+5mg/l BAP+100 mg/l CH+100 mg/l MA	40.0	18.1
MS+5mg/l BAP+250 mg/l CH+100 mg/l MA	46.6	16.6
MS+5mg/l BAP+500 mg/l CH+100 mg/l MA	44.4	18.1
MS+5mg/l BAP+250 mg/l CH+250 mg/l MA	41.6	20.4

Tablo 4.3. *P. mutica* ve *P.terebinthus*'ta 5 farklı ortamda çimlendirme oranlarının karşılaştırılması.

Tablo 4.3'te görüldüğü gibi MS ortamı BAP ve Malt ekstrakt ile desteklenmiş MS ortamında kültüre alınan tohumlarda çimlenme yönünden pek bir fark olmadığı anlaşılmıştır. *P. mutica* güçlendirilmiş MS ortamına iyi adapte olduğu köklerin kalın ve yan kök sayısının bol olduğu öncül çalışmada gözlemlenmiştir (Şekil 4.3). Türlerin çimlenmesi uniform değildir. Aynı türün bazı tohumları ekimden 8-10 gün sonra çimlenirken bazı tohumlar 20 günden sonra çimlenebilmektedir. 30 günde sürgün kısmından bazı fideler kurumaya başlarken, aynı zamanda kültüre alınmış bazı tohumların çimlenme aşamasında olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.3. BAP, hidrolize kazein ve malt ekstrakt ile desteklenmiş MS ortamında gelişen *P. mutica*



Şekil 4.4. 47 günlük *P. khinjuk*(a) ve *P. atlantica* (b)

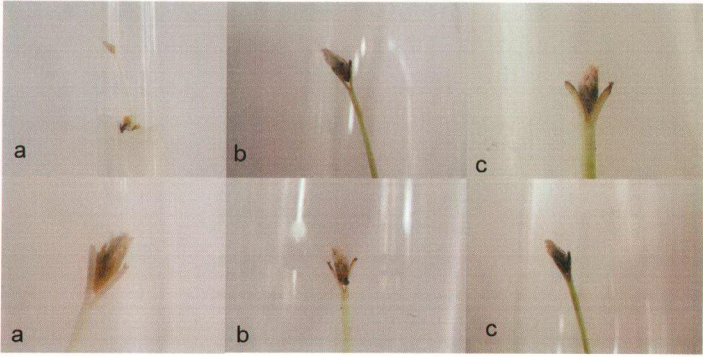
4.3.1. Sürgün ucu aşılama

In vitro'da geliştirilmiş toplam 22 bitkiye aşılama yapılmıştır. Aşılama kullanılan türler ve aşı-anaç uyuşması Tablo 4.4'te verilmiştir. Görüldüğü gibi aşı-anaç kaynaşması meydana gelmemiştir.

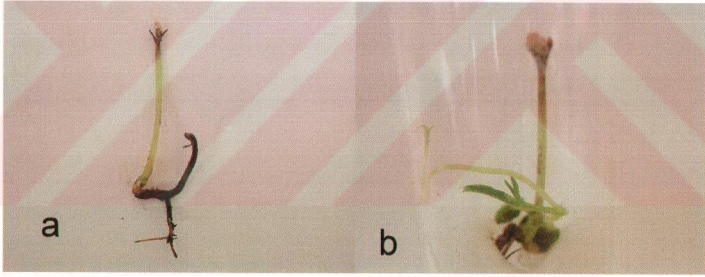
Tablo.4.4. Sürgün ucu aşılama başarı değerleri

Türler	Aşı yapılmış anaç sayısı	Aşı-Anaç uyuşması
<i>P. atlantica</i>	6	-
<i>P. khinjuk</i>	13	-
<i>P. mutica</i>	3	-

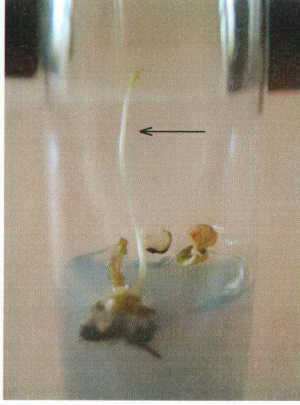
- : Anaç-sürgün kaynaşması var
 +: Anaç-sürgün kaynaşması yok



Şekil 4.5. Yeni *in vitro* kültüre alınmış *P. atlantica* ve *P. khinjuk* anaçları üzerine aşılanmış sürgün uçları (a), Sürgün ucu aşılardan 5 gün sonra(b), Sürgün ucu aşılardan 15 gün sonra (c)



Şekil.4.6. 28 gün önce aşılanmış *P. khinjuk* (a) ve *P. atlantica* (b).



Şekil 4.7. *P. terebinthus* 'ta sürgün ve kök gelişimi

Şekil 4.5 'te görüldüğü gibi *P. terebinthus in vitro* 'da denenmiş tüm sterilizasyon çeşitlerinde bulaşıklık, kültür ortamlarında gelişme ve çimlenme yönünden anaçlar içinde en olumsuz sonuçları vermiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bitki doku kültürü teknikleri kullanılarak bitkiler daha hızlı geliştirilebildiğinden dolayı, geleneksel aşılamadaki anacın olgunlaşma zamanını beklemeye gerek yoktur. Antepfıstığına mikro aşılama ile aşılı bitkilerin oluşumu daha erken yaşta gerçekleştirilebilecektir. Küçük bir alandan, kısa süre içerisinde fazla sayıda bitki elde edilebilecektir. Ayrıca yine bu teknikler mevsime bağımlılığı ortadan kaldırmaktadır.

Bu çalışmanın amacı antepfıstığının (*P. vera*) *in vitro* sürgün ucu aşılama yöntemiyle çoğaltılması ve mikro aşılama için yöntemine uygun tür veya türlerin belirlenmesidir. Antepfıstığının günümüzdeki en ciddi sorunları; almasıık ürün verimi, toprak kökenli fungus *Verticillium dahliae*, geç olgunlaşmadır. Bu çalışmayla çevresel etmenlere dayanıklı popüler anaçlar içerisinde sürgün ucu aşılama için uygun anaç veya anaçlar belirlenmek istenmiştir.

Anaç tohumları karanlık ortamda çimlendirilerek fidelerin yumuşak dokuya sahip olmaları amaçlanmıştır. *Citrus* türlerinde yaygın olarak kullanılan teknik antepfıstığında denenmiştir. Gaziantep ve çevresinde büyük oranlarda tarımı yapılan, bu bölgenin ekonomisinde ve kültüründe büyük yeri olan antepfıstığının az masraflı ve pratiğe aktarılabilir şekilde çoğaltılması arzu edilmiştir.

Pistacia spp.'in *in vitro* embriyo kültürü ile çoğaltılışındaki olumsuzluğun nedeninin genetiksel olduğu düşünülmektedir. *In vitro*'da düşük bir çimlenme oranı olduğu gözlemlenmiştir. Kontaminasyon probleminden dolayı denen embriyo kültüründe cılız ve ince bir gövde gelişimi gözlemlenmiştir.

Bu çalışmada *P.vera* Uzun ve Siirt çeşitlerinin sürgünlerinin 4 farklı anaç aktarılması denenmiştir. Oksin ve sitokinin faaliyetleri sonucunda bir kallus meydana gelmesi ve dokuların birbirine kaynaşması için aşı ve kalemin kesik

yüzeylerindeki dokuların karşı karşıya gelmesi son derece önemlidir. Sürgün ucu aşılama da sürgün ile anacın birbirine iyice temas etmesi için yarma aşısı denenmiştir.

Farklı sterilizasyon yöntemleri aşırı bulaşıklığın ortamda gözlemlenmesinden dolayı yapılmıştır. Tablo 4.1’de görüldüğü gibi, yöntem IX *P. atlantica* hariç diğer üç tür için gerek iyi çimlenme gerekse bulaşıklığı önlemede en iyi yöntemdir. Aynı yöntem yüzey sterilizasyonunda büyük problemler çıkaran *P. khinjuk* türü için 9 farklı sterilizasyon içerisinden bulaşıklık için en düşük değeri vermiştir. Sterilizasyon tekniğinin tüm türler için aynı olması çalışma sırasında zaman kaybını önleyeceği gibi aşılama sonrası değerlendirme için gereklidir. Böylece aynı sterilizasyona maruz kalmış bitkilerin nasıl bir gelişime gösterdiği test edilmiş olacaktır. Fungusit solüsyonuna tohumlar kabuklu yada kabuksuz şekilde farklı sürelerde konulduktan sonra yüzey sterilizasyonuna maruz bırakılmış fakat kontrol grubu (fungusitsiz) tohumları arasında fark gözlemlenmemiştir.

Şekil. 4.1 ‘de görüldüğü gibi, tüm çalışma boyunca bulaşıklıklar genelde *Penicilium* spp., *Aspergillus* spp. ve Maya türlerinden meydana gelmektedir. Bu türler aflatoksin üreten funguslardır. Aflatoksin aşırı toksik ve potansiyel kanserojen olan sekonder küf metabolitleridir. Gıda maddesi olarak Türkiye, İran gibi Orta Doğu ülkelerinde tüketilen yabani türlerin tohumları halk sağlığı açısından ciddi önem taşımaktadır.

Embriyo kültürü oldukça zahmetli ve çimlenme oranı düşük bir uygulamadır. Ayrıca çimlenen türler oldukça cılızdır. Bu yüzden *P. vera*’da uygulanan embriyo yoluyla çoğaltım yabani türler için uygulanmamıştır.

Tablo 4.3’te görüldüğü gibi türlerin çimlenmesinde aşırı derecede bir farklılık gözlemlenmiştir. Ancak Malt ekstrakt, hidrolize kazein ve BAP içeren ortamda özellikle *P. mutica* da kök gelişimi ve sürgün boyunda kısa sürede iyi gelişime gözlenmiştir.

Şekil 4.5 ‘te görüldüğü gibi *P. terebinthus* anacının çimlenen tohumları zayıf bir gelişime göstermiştir. *In vitro*’da denenmiş tüm sterilizasyon çeşitlerinde bulaşıklık, kültür ortamlarında gelişime ve çimlenme yönünden anaçlar içinde en olumsuz

sonuçları *P.terebinthus* vermiştir. Çimlenen anacın gövde kalınlığı çok ince olduğundan sürgün ucu aşılama için uygun değildir.

Tüm denemeler sonucunda *in vitro* da en iyi gelişen ve çimlenen tür *P.khinjuk* 'tur. Çimlenen bitkilerin kök yapısı oldukça kalındır. *P. khinjuk* bitkisinde Siirt kökenli tohumların çimlenmesi Gaziantep kökenli tohumlara oranla düşüktür. Ancak Gaziantep kökenli *P.khinjuk* tohumlarında bulaşıklık oranı daha yüksektir.

İn vivo sürgün uçlarının *in vitro* anaç gövdelerine göre büyük olmaları, aşılama sırasında bu sürgün uçlarının anaç üzerine tam olarak yerleştirilememelerine yol açtığından, sonuçta bir kısmı açıkta kalan bu sürgün uçlarının kısa sürede kuruyarak canlılıklarını yitirmeleri mikroaşılamadaki başarısızlığın temel nedeni olabilir.

İn vivo sürgün uçlarının dezenfeksiyona ihtiyaç duyulması ve alındıkları dönemin başarıyı etkilemesi (Deogratias vd., 1991) diğer dezavantajlardandır. *İn vivo* bitkilerdeki fenolik bileşikler ile hormon içerikleri arasındaki denge doku kültürü çalışmalarını oldukça etkilemektedir. Bu dengenin Antepfıstığında *in vivo* eksplantların doku kültürü çalışmalarında doku kararmalarına ve ölümlerine neden olduğu bilinmektedir. Polifenol oksidaz ve peroksidaz aktivitesinin yüksek olduğu dönemde doğadan alınan sürgün uçlarının kullanıldığı mikroaşılarda, enzimatik oksidasyondan dolayı aşı yerinde kahverengileşme görülmekte ve aşı kalemi kuruyarak kısa sürede canlılığını yitirmektedir (Poessel vd., 1980). Şeftali (Jonard, 1986) ve kayısıda (Deogratias vd., 1991) değişik dönemlerde alınan sürgün uçlarının mikroaşılama başarısının peroksidaz aktivitesine bağlı olduğu ispatlanmıştır. Eksplant içerisinde gizli bulunan (endojen) mikroorganizmaların sebep olduğu diğer kontaminasyonlarda ise belirlenmesi ve giderilmesi de güç olduğu bilinmektedir.

Sürgün ucu aşılamadaki başarısızlığın diğer nedeni ise doku uyumsuzluğu olduğu tahmin edilmektedir. Sürgün ucu aşılama denemeleri vahşi türler ile kültüre alınmış *P. vera* L. çeşitleri arasında meydana gelmesi bu sonucu ortaya çıkarmış olabilir. Estrada-Luna vd. (2002) dikenli armut kaktüsü türlerinde (*Opuntia* spp.) mikroaşılama denemeleri yapmışlar, tür-içi aşılamanın türler-arası aşılama dan daha başarılı olduğunu rapor etmişlerdir.

P.vera'nın sürgünleri uzun süre dormant kalmaktadır. Bu sürgün gözleri anaç üzerine aşılandığında sürgün ile aşı arasında bir kaynaşma meydana gelmeyebilir. Bu nedenle aşı tutumu gerçekleşmeyebilir. Bu konuda detaylı çalışmaların yapılmasına gereksinim duyulmaktadır.

6. ÖNERİLER

Yapılan dokuz farklı sterilizasyon ve fungusit uygulamalar sonucunda, gerek çimlenme ve gerekse kontaminasyon açısından dört anacın hepsi için Yöntem IX en başarılı sonucu vermiştir.

Turuncgillerde yaygın olarak kullanılan tekniğin *Pistacia* türlerinde uygulanmasında başarılı sonuç alınamamıştır. Başarılı sonuçlar elde etmek için aşağıdaki uygulamalar denenebilir.

1. *In vitro*'da geliştirilen sürgünlerin sürgün ucu aşılama da kullanılması.
2. *In vitro*'da geliştirilen çeliklerden alınan sürgünlerin sürgün ucu aşılama da kullanılması.
3. *In vivo*'da gelişen sürgünlerin farklı dönemlerde yada ağaçların farklı yönlerinden alınması.
4. Farklı Antepfıstığı çeşitlerinin yada daha genç ağaçların sürgün ucu kaynağı olarak kullanılması.

KAYNAKLAR

Abousalim, A. (1991) Multiple shoot formation from in vitro germinating *Pistacia vera* L. and *P. atlantica* Desf. seeds. *Actes de l'Institut Agronomique et Veterinaire Hassan II*. 11:4, 5-8.

Açar, İ. (2003). *Antepfıstığında Aşılama*. Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü Yayınları. Broşür No:1. Gaziantep-Türkiye.

Almehdi, A.A., Parfitt, D.E., Chan, H. (2002). Propagation of Pistachio rootstock by rooted stem cuttings. *Scientia Horticulturae*, **96**, 359-363.

Anonim, (1997). *Ekonomik ve Sosyal Göstergeler*. Devlet İstatistik Enstitüsü Matbaası. Ankara.

Atlı, H.S. (2003). *Antepfıstığı Çeşit, Tozlayıcı ve Anaçları*. Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü Yayınları. Broşür No:3. Gaziantep-Türkiye.

Aydın, C., Özcan, M. (2002). Some physico-mechanic properties of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) fruits. *Journal of Food engineering*, **53**, 97-101.

Ayfer, M. (1963). *Pistachio nut and its problems with special reference to Turkey*. University of Ankara Faculty of Agriculture Yearbook, pp. 189-217.

Ayfer, M. (1990). *Antepfıstığının Dünü, Bugünü, Geleceği*. 1. Antepfıstığı Sempozyumu Bildirileri, 11-12 Eylül, Gaziantep, sayfa: 14-23.

Ayfer, M., Okay, Y., Erdoğan, V. (1990). *Antepfıstığı Anaçları ve Çoğaltılmaları*. 1. Antepfıstığı Sempozyumu Bildirileri, 11-12 Eylül, Gaziantep. sayfa: 38-48.

Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S. (Eds.) (2001). *Bitki Biyoteknolojisi-1-Doku kültürü ve uygulamaları*. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları.

Bailey, L.H. (1947). *The Standart Encyclopedia of Horticulture*, III, 2648-2650.

Banerjee, A.K., Agrawal, D.C., Nalawade, S.M., Krishnamurthy K.V., (2000). Recovery of in vitro cotton shoots through micrografting. *Current Science*, **78** (5), 623-626.

Baydar, N.G. ve Çelik, H. (1999). Asmada (*Vitis vinifera* L.) sürgün ucu kaynağının in vitro mikroyaşılama başarı üzerine etkileri . *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, Ek Sayı **3**, 741-747.

Baytop, T. (1999). *Therapy with medicinal plants in Turkey*. İstanbul Nobel Tıp Evleri Pres.

Bitters, W.P., Murashige, T., Rancan, T.S., Nauer, E.M. (1972). *Investigation on Establishing Virus-Free Citrus Plant Through Tissue culture*. In Proc. 5th Conference International Organisation Citrus Virology. W. Price (Ed.), Univ. FL. Press, Gainesville, pp. 267-271.

Burger, D.W. (1984). Micrografting: a tool for the plant propagator. Proceedings of International Plant Propagator's Society, **34**, 244-253.

Büyükalaca, S., Gülen, H., Tanriver, E., Kaksa, N., Kuden, A.B. (Eds.), Dennis, F.G. Jr., (1997). Embryo rescue on abortive pistachio seeds. *Acta-Horticulturae*, **441**, 307-308.

Can, C., Koç, N.K., Çınar, A. (1992 a). Meristem kültürü tekniği ile karanfilde (*Dianthus sp.*) *in vitro* çoğaltım olanaklarının araştırılması. *Doğa Dergisi*, **16**, 641-648.

Can, C., Koç, N.K., Çınar, A. (1992 b). *In vitro* clonal propagation of sour orange (*Citrus aurantium* var. *Brezilia*) by using epicotyl segments. *Doğa Dergisi*, **16** (1), 132-139.

Carvalho, S.A., Santos, F.A. and Machado, M.A. (2002). Psorosis Virus Complex Elimination from Citrus by Shoot-tip Grafting Associated to Thermotherapy. *Fitopatologia Brasileira*, **27** (3), 306-308.

Chatibi, A., Kchouk, M.L., Mliki, A., Ghorbel, A. (1998). Micrografting of Pistachio (*Pistacia vera* L.) cv. Mateur. *Chaiers Options Mediterraneennes*, **33**, 121-130.

Crane, J.C. and Maranto, J. (1988). *Pistachio production*. Division of Agricultural & Natural Resources Publications. No: 2279.

Danthu, P., Hane, B., Sagna, P., Gassama, Y.K., (2002). Restoration of rooting competence in mature *Faidherbia albida*, a Sahelian leguminous tree, through serial root sucker micrografting, *New Forests*, **24** (3), 239-244.

Danthu, P., M.A. Touré, Soloviev, P., Sagna, P., (2004). Vegetative propagation of *Ziziphus mauritiana* var. Gola by micrografting and its potential for dissemination in the Sahelian Zone, *Agroforestry Systems* (in cooperation with ICRAF), **60** (3), 247-253.

Davidson, D.F.D. (1949). Report on the gum mastic industry in Chios. *Bulletin of the Imperial Institute Pres.*

Davis, P.H., (1966). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, No:1, pp. 544-547.

Deogratias, J.M., Castelloni, V., Dosba, F., Juarez, J., Arregui, J.M., Ortega, C., Ortega, V., Llacer, G., Navarro, L. (1991). Study of Growth Parameters on Apricot Shoot Tip Grafting In Vitro. *Acta Horticulturae*, **293**, 363-371.

- D'Khili, B., Michaux-Ferriere, N., Grenan, S. (1995). Etude Histochimique de l'Incompatibilité au Microgreffage et Greeffage de Boutures Herbacées Chez La Vigne. *Vitis*, **34** (3), 135-140.
- Ellis, D.M., Whervin-Van, W, (1986). *Improving Citrus Production in Jamaica Through Phytosanitation*. St.Lucia, pp. 1-10.
- Epstein, L., Beede, R., Kaur, S., Ferguson, L. (2004). Rootstock effects on pistachio trees grown in *Verticillium dahliae*-infested soil. *Phytopathology*, **94** (4), 388-395.
- Estrada-Luna, A.A., Lopez-Peralta, C., Cardenas-Soriano, E. (2002). In vitro micrografting and the histology of graft union formation of selected species of prickly pear cactus (*Opuntia* spp.). *Scientia Horticulturae*, **92**, 317-327.
- Ferguson, L., Poss, J.A., Grattan, S.R., Grieve, C.M., Wang, D., Wilson, C., Donovan, T.J., Chao, C.T. (2002). Pistachio rootstocks influence scion growth and ion relations under salinity and boron stress. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **127** (2), 194-199.
- Francelet, A. (1979). Rajeunissement des arbres adultes en vue de leur propagation végétative. *AFOCEL*, **12**, 3-18.
- Fraga, M.F., Cañal, M.J., Aragonés, A., Rodríguez, R., (2002). Factors involved in *Pinus radiata* D. Don. Micrografting. *Annals of Forest Science*, **59**, 155-161.
- Gebhardt, K. and Goldbach, H., (1988). Establishment, graft union characteristics and growth of *Prunus* micrografts. *Physiol. Plant*, **72**, 153-159.
- Ghorbel, A., Chatibi, A., Thaminy, S., Kchouk, M.L., Ferguson, L. (Ed.), Kester, D., (1998). Micrografting of almond (*Prunus dulcis* (Miller) D.A. Webb) cv. Achak. *Acta-Horticulturae*, **470**, 429-433.
- Grosser, J.W. (1994). In vitro culture of tropical fruits. In: Vasil IK and Thorpe TA (Eds.), *Plant Cell and Tissue culture*, pp. 475-496, Kluvert Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.
- Gulati, A., Schryer, P., McHughen, A. (2001). Regeneration and micrografting of lentil shoots. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, **37** (6), 798-802.
- Hackett, W.P. (1985). Juvenility maturation and rejuvenation in woody plants. *Horticultural Review*, **7**, 109-155.
- Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies Jr, F.T., Geneve, R.L. (1997). *Plant Propagation-Principles and Practices*. (6th ed.) Prentice-Hall. Englewood Cliffs, N.J.
- Joley, L.E. (1979). Pistachios. Pp, 163-174. In: RA Jaynes (Ed.). *Nut tree culture in North America*. Northern Nut Growers Assoc., Broken Arrow Road, Handen, Conn.

Jonard, R. (1986). Micrografting and its application to tree improvement. In Bajaj, Y.P.S. (Ed.) *Biotechnology in agriculture and forestry*. Trees I. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo.

Juárez, J., Camarasa, E., Ortega, C., Ortega, V., Arregui, J.M., Cambra, M., Llácer, G. and Navarro, L. (1992). Recovery of virus-free almond plants by shoot-tip grafting in vitro. *Acta-Horticulturae*, **309**, 393-400

Kawashty, S.A., Mosharrafa, S.A.M., El-Gibali, M., Saleh, N.A.M. (2000). The Flavonoids of Four *Pistacia* Species in Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology*, **28**, 915-917.

Kocaçalışkan, İ. (2002). *Bitki kültürleri (Organ, Doku, ve Hücre)*. DPÜ Fen-Edebiyat Fakültesi. Biyoloji Bölümü.

Koç, N.K., Çınar, A., Can, C. (1988). *Bitki patolojisinde doku kültürü yöntemlerinin kullanılma olanakları üzerinde araştırmalar*. Ç.Ü. Araştırma Fonu 1. Bilim Kongresi Cilt:1 Adana.

Koç, N.K., Can, C. (1992). Turunçta (*Citrus aurantium L.*) kallus kültürlerinin elde edilmesinde bazı oksin, sitokin ve kültür ortamlarının etkileri. *Doğa Dergisi*, **16** (1), 148-157.

Kuru, C., Özsabuncuoęlu, İ.H. (1990). *Yabani Pistacia türlerinin aşılmasında sorunlar ve çözüm yolları*. Antepfıstığı Sempozyumu Bildirileri, 11-12 Eylül 1990-Gaziantep-Türkiye, pp: 49-50.

Kuyucu, S. (1995). *Antepfıstıklarının In Vitro Koşullarda Mikroaşılması*. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, 35 s.

<http://www.jrmushroomsandspecialties.com/oils/pistachio.html>

FAO 2004 data bankası verisi:

<http://faostat.fao.org/faostat/servlet/XteServlet3?Areas=%3E862&Items=223&Elements=51&Years=2003&Format=Table&Xaxis=Years&Yaxis=Countries&Aggregate=&Calculate=&Domain=SUA&ItemTypes=Production.Crops.Primary&language=EN>

Mnoney, E.E., Mantell, S.H. (2001). In vitro micrografting of cashew. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **66** (1), 49-58.

Mobayen, S. and Tregubove, V. (1970). *The natural vegetative covers in Iran*. Project of UNDO/FAO in Iran.

Moldenke, H.N., Alma, L. (1952). *Plants of Bible*. Chronica Botanica.

Murashige, T., Skoog, F. (1962). *Pysiol. Plant.*, **15**, 473-493.

Murashige, T., Bitters, W.P., Rangan, T.S., Nauer, E.M., Roistacher, C.N., Holliday, P.B. (1972). A Technique of Shoot Apex Grafting and Its Utilization towards Recovering Virus-free Citrus Clones. *Hortscience*, **7**, 118-119.

Navarro, L., Roistacher, C.N., Murashige, T. (1975). Improvement of shoot tip grafting in vitro for virus-free Citrus. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **100**, 471-479.

Navarro, L., Llácer, G., Cambra, M., Arregui, J.M. and Juárez, J. (1983). Shoot-tip Grafting In Vitro for Elimination of Viruses in Peach Plants (*Prunus persica* Batsch). *Acta-Horticulturae*, (ISHS), **130**, 185-192.

Nikpeyma, Y., Kaksa, N., Kaksa, N. (Ed.), Kuden, A.A. (Ed), Ferguson, L, (Ed.), Michailides, T. (1995) Effects of radicle tip pinching and giberellic acid on the growth of container grown *Pistacia* seedlings under glasshouse conditions. *Acta-Horticulturae*, **419**, 243-248.

Onay, A. (1996). *In vitro Organogenesis and Embryogenesis of Pistachio, Pistacia Vera* L. PhD Thesis. University of Edinburg, UK.

Onay, A., Firat, M.Z., Namlı, O. (1997). An improved method for embling production in pistachio, *Pistacia vera* L. using somatic embryo, matured in a liquid medium. *Turkish Journal of Biology*, **21**(2), 159-174.

Onay, A. (2000). Somatic Embryogenesis From Mature Seed Cultures of *Pistacia atlantica*. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **24**, 465-473.

Onay, A., Pirinç, V., Adıyaman, F., Işıkalan, Ç., Tilkat, E., Başaran, D. (2003). In Vivo and in Vitro Micrografting of Pistachio, *Pistacia vera* L. cv. "Siirt". *Turkish Journal of Biology*, **27**, 95-100.

Özaslan, M., Can, C., Zeynalov, Y., Tekin, H. (2003). *Gaziantep ve çevresindeki Pistacia cinsine bağlı tür ve çeşitlerin saptanarak Gaziantep Üniversitesi Botanik Bahçesine introduksiyonu ve Gaziantep bölgesinde Antepfistiğine zarar veren hastalıkların belirlenmesi*. Gaziantep Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi FEF-0101 nolu proje kesin sonuç raporu. Gaziantep.

Paiva, L.V., Decarvalho, S.A., Desouza, M., (1993). Obtaining a virus-free Seleta Folha Murcha through micrografting In-vitro. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, **28** (11), 1341-1344.

Palma, B., Vogt, G.F., Neville, P. (1997). Micrografting, an answer to the in vitro multiplication of *Acacia senegal* (L) willd? *Annales Des Sciences Forestieres*, **54** (2), 203-210.

Poessel, J.L., Martinez, J., Macheix, J.J., Jonard, R., (1980). Variations Saisonnières de L'aptitude au greffage In Vitro D'apex de pécher (*Prunus Persica* Batches). Relations avec les Teneurs en Coomposés Phénoliques et les Activities Peroxydasiques et Polyphenoloxidasiques. *Physiol. Veg*, **18**, 665-675.

- Pontikis, C.A. (1984). In vitro propagation of *Pistacia terebenthus* L. *The plant propagator*, **31**, 14-15.
- Raven, P.H., Johnson, G.B. (1996). *Biology*. Mills, C.J. (Ed.). The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Revilla, M.A., Jose, P., Abelardo, C., Roberto, R. (1996). In vitro reinvigoration of mature oil tree (*Olea europaea* L.) through micrografting. *In vitro Cellular& Developmental Biology-Plant*, **32**, 257-261.
- Roistacher, C.N., Kito, S.L., (1977). Elimination of Additional Citrus Viruses by shoot-Tip Grafting In Vitro. *Plant Diseases Rptr*, **61**,594-596.
- Sheibani, A. (1987). *Characteristics of Iranian Pistachio varieties*. In Iranian Pomology Seminar. Seed and plant improvement Institute, Rafsanjan, Iran.
- Tanker, M., Tanker N. (1990). *Farmakognozi*. Ankara. Ankara Üniversitesi Yayınları.
- Tekin, H., Arpacı, S., Atlı, H.S., Açar, İ., Karadağ, S., Yükçeken, Y., Abdullah, Y. (2001). *Antepfıstığı Yetiştiriciliği*, Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, No: 13, Gaziantep.
- Thimmappaiah, Puthra, G.T., Anil, S.R., (2002). In vitro grafting of cashew (*Anacardium occidentale* L.). *Scientia Horticulturae*, **92** (2), 177-182.
- Troncoso, A., Linan, J., Cantos, M., Acebedo, M.M., Rapoport, H.F. (1999). Feasibility and anatomical development of an in vitro olive cleft-graft. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **74** (5), 584-587(4).
- Turnbull, C.G.N., Booker, J.P., Leyser, H.M.O. (2002). Micrografting Techniques for Testing Long-distance signaling in Arabidopsis. *The Plant Journal*, **32**, 255-262.
- Tuzlacı, E., Aymaz, P.E. (2001). *Fitoterapia*, **72** (4), 323.
- Ulusaraç, A., (1992). *Mevcut Standart Antepfıstıklarına Anaç Seçimi (3)*. Gaziantep Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, Gaziantep.
- Vargas, F.J. (1985). *El pistachero. Algunos aspectos importantes del cultivo*. Diputacio de Tarragona. Publ. CAMB, no 33.
- Vargas, F.J., Romero, M., Plana, J., Rovira M., Batlle, I. (1994). *Characterization and behavior of pistachio cultivars in Catalonia (Spain)*. First International Symposium on Pistachio Nut. ISHS-FAO. Adana, Turkey. Abstract Book, pp. 16-17.
- Wannan, B.S., Quinn, C.J. (1991). *Bot. J. Linn. Soc*, **107**, 349-385.
- Vavilov, V.L. (1951). *Chronica Botanica*. In K.S. Chester, *The origin, variation, immunity and cultivated plants*.

Werner, O., Sanchez-Gomez, P., Guerra, J., Martinez, J.F. (2001). Identification of *Pistacia x saportae* Burnat (Anacardiaceae) by RAPD analysis and morphological characters. *Scientia Horticulturae*, **9**, 179-186.

Woodroof, J.G. (1979). *Tree Nuts Production, Processing, Products*. Vol. II, (2nd Ed.). AVI Publishing Company Inc. Westport, Connecticut.

Woodroof, J.G. (1982). *Tree Nuts Production, Processing, Products*, AVI Publishing Company Inc. Westport, Connecticut.

Zimmerman, R.H., Swartz, H.J., (1994). In vitro culture of temperate fruits. In: Vasil, I.K. and Thorpe, T.A. (Eds.), *Plant cell and Tissue Culture*, pp. 475-496, Kluvert Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.

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



EKLER

EK 1. MS Ortamının Kimyasal Bileşenleri

KİMYASAL	mg/l
NH ₄ NO ₃	1650
CaCl ₂ . 2H ₂ O	440
KNO ₃	1900
H ₃ BO ₃	6.2
KH ₂ PO ₄	170
KI	0.83
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
CoCl ₂ . 6H ₂ O	0.025
MgSO ₄ . 7H ₂ O	370
MnSO ₄ .H ₂ O	16.9
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
FeSO ₄ . 7H ₂ O	27.8
Na ₂ EDTA-2H ₂ O	37.3
Thiamine HCl	0.1
Pyridoxine HCl	0.5
Nicotinic HCl	0.5
Glycine	2.0
Myo-inositol	100
Sucrose	30 g/lt
Agar	8-10 gr/lt

EK 2. Stok Solüsyonlar

Kimyasallar	Oranlar (mg/100 ml)
A- H ₃ BO ₃	62
KH ₂ PO ₄	1700
KI	8.3
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	2.5
CoCl ₂ . 6H ₂ O	0.25
B- MgSO ₄ . 7H ₂ O	3700
MnSO ₄ .H ₂ O	169
ZnSO ₄ .7H ₂ O	86
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.25
C- FeSO ₄ . 7H ₂ O	278
Na ₂ EDTA-2H ₂ O	373
D- Thiamine HCl	1
Pyridoxine HCl	5
Nicotinic HCl	5
Glycine	20

EK 3. Sonradan İlave Edilen Kimyasallar

Kimyasal	mg/l
NH ₄ NO ₃	1650
CaCl ₂ . 2H ₂ O	440
KNO ₃	1900
Myo-inositol	100
Sucrose	30 g/l
Agar	8-10 gr/l

BU TEZ ÇALIŞMASINDAN ÇIKARILAN YAYINLAR;

1. Töremen, H., Sarpkaya K., Can, C., Özaslan, M., 2004. ***Pistacia* Cinsine Ait Bazı Türlerde In Vitro Sürgün Ucu Aşılama.** *XVII. Ulusal Biyoloji Kongresi*, 21-24 Haziran, Adana. Sayfa: 46.

