

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

SAKIZ AĞACININ (*Pistacia lentiscus* L.) *IN VITRO*
KOŞULLARDA REJENERASYONU ÜZERİNE
ARAŞTIRMALAR

Deniz ŞENYAY

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi: 29/12/2008

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Aynur GÜREL

Bornova-İzmir

III

Deniz ŞENYAY tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak sunulan “**Sakız Ağacının (*Pistacia lentiscus* L.) *In vitro* Koşullarda Rejenerasyonu Üzerine Araştırmalar**” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 29/12/2008 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Aynur GÜREL

Raportör Üye: Yrd. Doç. Dr. Murat İSFENDİYAROĞLU

Üye : Doç.Dr. Bahattin TANYOLAÇ

ÖZET**SAKIZ AĞACININ (*Pistacia lentiscus* L.) *IN VITRO*
KOŞULLARDA REJENERASYONU ÜZERİNE
ARAŞTIRMALAR****ŞENYAY, Deniz****Yüksek Lisans Tezi, Biyomühendislik Anabilim Dalı****Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Aynur GÜREL****Aralık 2008, 69 sayfa**

Bu tezde, tıbbi ve ticari açıdan büyük bir önem arz eden *Pistacia lentiscus* L. bitkisinin sürgün nod eksplantları ve tohumlarına farklı sterilizasyon yöntemleri kullanılarak, sterilizasyon prosedürünün oturtulması ve dokularda meydana gelen esmerleşme – kararma problemlerinin çözümlenmesine çalışılmıştır. Ayrıca, farklı besin ortamları kullanılarak *in vitro* kültür koşullarında rejenerasyonları incelenmiştir.

Bitkinin sürgün nod eksplantları ile yapılan çalışmada en yüksek sürgün oluşumu ve canlılık oranı, 3 mg/l Benzil Amino Pürin (BAP) ve 0,01 g/l Polivinilpirolidon (PVP) içeren WPM (Lloyd ve McCown, 1980) ortamında sağlanmıştır. %66,6 canlılık oranı ve %2,2 sürgün oluşum oranı elde edilmiştir. Tohum çimlendirilmesi ve sürgün gelişimi için uygun besin ortamları belirlenmiştir. Pamuklu ortamda çimlendirilen tohumlarda %67,5 çimlendirme başarısı sağlanmıştır. En iyi sürgün

VI

gelişimi ve çoklu sürgünler 0,5 mg/l BAP içeren MS (Murashige ve Skoog, 1962) besin ortamında elde edilmiştir. Eksplant başına ortalama 1,3 sürgün sayısı ve 3,6 nod sayısı elde edilmiştir. 0,1 mg/l Giberellik Asit (GA₃) içeren MS besin ortamlarında boyları uzayan sürgünlerin, 1 mg/l Indol Butirik Asit (IBA) içeren MS besin ortamlarında %53,3 oranında köklenme başarısı sağlanmıştır. Tüm kültürlerde, 4000 lux aydınlatma, 26±2°C sıcaklık ve 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık fotoperiyot kullanılmıştır.

Anahtar Sözcükler: *Pistacia lentiscus* L., Sakız ağacı, *in vitro*, sterilizasyon, kararma, rejenerasyon.

ABSTRACT

**RESEARCHES on *IN VITRO* REGENERATION
of MASTIC TREE (*Pistacia lentiscus* L.)**

ŞENYAY, Deniz

M.Sc. in Bioengineering Department

Supervisor: Prof. Dr. Aynur GÜREL

December 2008, 69 Papes

In this thesis, sterilization procedure was tried to be settled by applying different sterilization techniques on shoot node explants and seeds of *Pistacia lentiscus* L. and browning problem was tried to be solved by these techniques. Furthermore, *in vitro* shoot regenerations were investigated by using different culture media.

In this study, on the shoot node explants, the highest shoot formation and viability was obtained by WPM (Lloyd ve McCown, 1980) media containing 3 mg/l Benzyl Amino Purine (BAP) and 0,01 g/l Polyvinylpyrrolidone (PVP). 66,6% viability ratio and 2,2% shoot formation were obtained. Proper media was determined for seed germination and shoot development. Seed germinated in cotton pad gave a germination success with 67,5%. The best shoot development and multiple shoot regeneration were obtained in the MS (Murashige and Skoog, 1962) media containing 0,5 mg/l BAP. Average number of shoots and nodes per explant were 1,3 and 3,6 respectively. The shoots, which

VIII

had been elongated in MS media containing 0,1 mg/l Giberellic Acid (GA₃), were rooted with a success of 53,3% in MS media containing 1 mg/l Indole Butyric Acid (IBA).16 hours light and 8 hours dark photoperiod conditions were used with 4000 lux illumination at 26±2°C temperature as the culture conditions in all of the experiments.

Key Words: *Pistacia lentiscus* L., Mastic tree, *in vitro*, sterilization, browning, regeneration.

IX

TEŞEKKÜR

Bu tez alıőmasını bana veren ve her trl desteği sağlayan hocam Prof. Dr. Aynur GÜREL'e, çalıőmamda kullandığım sakız bitkisi tohumlarını sağlayan Ege Ormancılık ve Araştırma Enstitüsü'ne, çalıőmalarım sırasındaki manevi desteklerinden dolayı aileme ve arkadaşlarıma teőekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER**Sayfa No**

ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VII
TEŞEKKÜR.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XIII
ÇİZELGELER DİZİNİ	XV
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ	4
2.1. Bitkisel Özellikler	4
2.2. Tıbbi ve Ekonomik Özellikleri.....	9
2.3. <i>Pistacia lentiscus</i> Üzerinde Yapılan Çalışmalar	11
2.4. Doku Kültüründe Karşılaşılan Sorunlar	20
2.5. <i>Pistacia lentiscus</i> L.'deki Doku Kültürü Çalışmaları	23
3. MATERYAL ve METOD.....	27
3.1. Materyal	27
3.2. Metod	28
3.2.1. Besin ortamlarının hazırlanması	28
3.2.2. Kültüre alınan nod eksplantların sterilizasyonu.....	33
3.2.3. Tohumların sterilizasyonu	34
3.2.4. Nod eksplantlarının sürgün teşvik ortamına alınması.....	34
3.2.5. Tohumların çimlenme ortamına alınması	34
3.2.6. Tohumdan çimlenen fidelerin sürgün gelişim ortamlarında kültüre alınması.....	35
3.2.7. Kültür koşulları	35

XII

3.2.8. Denemenin kurulması ve verilerin değerlendirilmesi	35
4. BULGULAR.....	37
4.1. Tohumlarda gözlenen kontaminasyon durumu.....	37
4.2. <i>P. lentiscus</i> L. bitkisinden kültüre alınan eksplantlarda kontaminasyon durumu.....	37
4.3. Kültüre alınan sürgün nod eksplantlarında görülen gelişmeler ...	42
4.4. Kültüre alınan tohumlarda görülen gelişmeler.....	50
4.5. Çimlenen <i>Pistacia lentiscus</i> L. bitkilerinde <i>in vitro</i> sürgün gelişimi.....	51
4.6. Çimlenen <i>Pistacia lentiscus</i> L. bitkilerinde <i>in vitro</i> kök gelişimi	55
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	57
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ	69

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa No</u>
1.1. (a) <i>Pistacia lentiscus</i> bitkisi (b) <i>P. lentiscus</i> yaprak ve çiçekleri.....	1
2.1. <i>P. lentiscus</i> kökleri.....	6
2.2. <i>P. lentiscus</i> tohumlarında sırasıyla partenokarpi, embriyo yokluğu ve tam tohum durumu.	7
2.3. <i>P. lentiscus</i>'da gövde ve dallardan akan reçine damlaları.	9
2.4. Saydam kristal sakız damlaları.....	9
3.1. Araştırmada kullanılan erkek sakız ağacı.	27
3.2. <i>P. lentiscus</i> L. bitkisine ait çiçekler ve tohumları.	28
4.1. Sürgün nod eksplantlarına uygulanan I. sterilizasyon yöntemi sonucunda eksplantlardaki kontaminasyon ve kararma durumları.....	41
4.2. Sürgün nod eksplantlarına uygulanan II. sterilizasyon yöntemi sonucunda eksplantlardaki kontaminasyon ve kararma durumları.....	41
4.3. Sürgün nod eksplantlarına uygulanan III. sterilizasyon yöntemi sonucunda eksplantlardaki kontaminasyon ve kararma durumları.....	41
4.4. <i>P. lentiscus</i> L'de elde edilen küçük sürgün oluşumu.....	42
4.5. <i>P. lentiscus</i> L'de elde edilen küçük sürgün oluşumu.....	43
4.6. <i>P. lentiscus</i> L'de gözlenen eksplant kararması.	43

XIV

- 4.7. Farklı besin ortamları ve BAP konsantrasyonlarının *P. lentiscus* L. sürgün nod eksplantlarında sürgün rejenerasyonu üzerine etkisi.....45
- 4.8. Farklı besin ortamları ve adsorban madde miktarlarının *P. lentiscus* L. sürgün nod eksplantlarında sürgün rejenerasyonu üzerine etkisi.....47
- 4.9. Farklı besin ortamları ve adsorban maddelerin *P. lentiscus* L. sürgün eksplantlarından kaynaklanan ortam kararması üzerine etkisi.....49
- 4.10. (a) *P. lentiscus* L. sürgün eksplantlarında fenolik salgılanmasından kaynaklanan ortam kararmasının gözlemediği ve (b) ortam kararmasının gözlenmediği durumlar.....50
- 4.11. Pamuklu ortamda çimlenen 1 haftalık *P. lentiscus* L bitkisi51
- 4.12. (a) WPM 1 ortamında gelişen tohum kökenli *P.lentiscus* L. sürgünleri (b) MS 1 ortamında gelişen tohum kökenli *P. lentiscus* L. sürgünleri.....52
- 4.13. (a) MS 2 ortamında gelişen tohum kökenli *P. lentiscus* L. çoklu sürgüleri, (b) WPM 2 ortamında gelişim gösteren tohum kökenli *P. lentiscus* L. kökleri.....52
- 4.14. Sürgün ortamlarında kültüre alınan tohum kökenli eksplantlarda görülen gelişmeler.....54
- 4.15. *P. lentiscus* L. sürgünlerinde GA₃ ilavesinden sonra gözlenen boy uzaması.....55
- 4.16. *P. lentiscus* L. sürgünlerinde gözlenen kök oluşumları.....56

ÇİZELGELER DİZİNİ

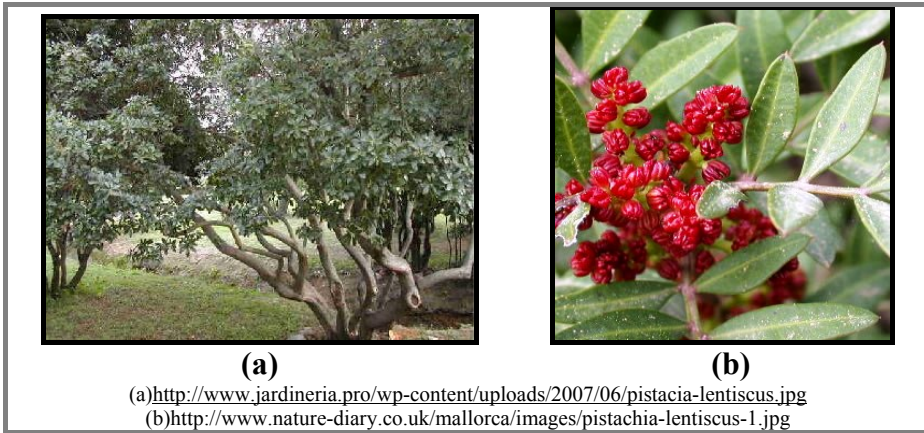
<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa No</u>
2.1. <i>Pistacia lentiscus</i> ve <i>P. lentiscus</i> var. <i>chia</i> bitkilerinin uçucu yağ bileşenleri*	13
2.2. Yaygın doku kültürü sorunları ve çözüm yolları.	21
3.1. MS ve WPM besin ortamlarının içerik ve miktarları.....	29
3.2. Erkek ağaçtan temin edilen nod eksplantlarının aktarıldıkları besin ortamları.....	30
3.3. Tohumların çimlenmeleri ile elde edilen nod eksplantlarının aktarıldıkları besin ortamları.	31
3.4. Eylül 2006- Haziran 2008 dönemlerinde erkek bitkiden alınan sürgün nod eksplantlarının aktarıldıkları besin ortamları.	32
3.5. Sürgün nod eksplantlarının sterilizasyonu.	33
4.1. Sürgün nod eksplantlarına uygulanan I. sterilizasyon yöntemi sonucunda eksplantların durumları.	39
4.2. Sürgün nod eksplantlarına uygulanan II. sterilizasyon yöntemi sonucunda eksplantların durumları.	39
4.3. Sürgün nod eksplantlarına uygulanan III. sterilizasyon yöntemi sonucunda eksplantların durumları.	40
4.4. Farklı besin ortamları ve BAP dozlarının, <i>P. lentiscus</i> L. sürgün eksplantlarında sürgün rejenerasyonu üzerine etkisi.....	44
4.5. Farklı besin ortamları ve adsorban madde miktarlarının <i>P. lentiscus</i> L. sürgün eksplantlarında sürgün rejenerasyonu üzerine etkisi.	46

4.6. <i>P.lentiscus</i> L. sürgün nod eksplantlarından kaynaklanan ortam kararmalarına adsorban maddelerin etkisi.	48
4.7. Kültüre alınan tohumlarda çimlenme durumları.....	50
4.8.Sürgün gelişim ortamlarında kültüre alınan nod eksplantlarında görülen gelişmeler.....	53

1. GİRİŞ

Pistacia lentiscus L., (Sakız Ağacı) *Anacardiaceae* familyasından olan, yeşil ve aromatik yaprak özelliğine sahip, birçok Akdeniz ülkesinde yetişen sık çalılıklardır (Chryssavgi et al., 2008).

Tropik ve subtropik bölgelerde yetişen *Pistacia lentiscus* Ege ve Akdeniz sahillerinde makilik alanlarda yaygındır. Her zaman yeşil, paripinnat (çift sayıda yaprakçığı bulunan tüysü bileşik) yapraklı bir bitkidir (Şekil 1a). Yapraklar tüysü, yaprakçıklar uçta dikensi ve sivridir. Çiçekler (Şekil 1b) salkım durumunda toplanmıştır. Bitki halk arasında çitlembik olarak bilinmektedir. *Pistacia lentiscus* bitkisinin bir varyetesi olan *Pistacia lentiscus* var. *chia* 10m'ye kadar yükselebilen, kışın yapraklarını dökmeyen bir ağaçtır. Doğal damla sakızlı ağacının yaprakları birleşiktir, üç ile dört koyu yeşil parçanın birleşiminden oluşmuştur ve pürüzsüzdür (Akay ve Kıvçak, 2004; Anonim 2008a).



Şekil 1.1. (a) *Pistacia lentiscus* bitkisi (b) *P. lentiscus* yaprak ve çiçekleri.

Sakız bitkisinin, halk sağlığı alanındaki kullanımını, antik Yunan zamanına kadar uzanan uzun bir gemiŖe sahiptir. Tıbbi kullanımları çok eŖitlidir ve kaynatılarak hazırlanan reçine ve toprak üstü kısımları boğaz ağrısı, egzama, mide ağrısı, böbrek taŖları ve sarılık gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Ljubuncic et al., 2005).

Elde edilen reçine sakızı veya mastik, kozmetik ve parfümeride, tatlandırıcı olarak da gıda teknolojisinde kullanılmaktadır. α -Tocopherol (E vitamini) doğal olarak *Pistacia* yapraklarında bulunur. Bu vitaminin farmakolojik özellikleri, geniŖ anlamda doğal antioksidan olarak kullanılmaktadır (Kıvçak ve Akay, 2004).

Sakız ağacı, ılımlı iklimi ve toprak karakteristiği bakımından Sakız Adası'nın güney kısmında iyi geliŖim gösterir. Sakız ağacı, adanın diğer kısımlarında da yetiŖir ancak sakız üretmez. Sakız ağacı, Mastichochoxia (doğal damla sakızının yetiŖtirildiđi köylere verilen ad) köylere yayılmıŖ limonsu balsam kokusuyla bilinir. Mastik, antik Yunanlılar, Babiller ve Mısırlılar tarafından sakızdan tıbbi kullanıma kadar birçok alanda ürün olarak kullanılmıŖtır. Geleneksel olarak mastik, sindirim sistemini iyileŖirmede, ağız sağlığında ve besin katkı maddesi olarak kullanılmıŖtır. Farmasötik Ŗirketler hap, kapsül ve kendinden emici cerrahi sütür üretiminde kullanılmıŖtır. Bu geniŖ kullanım alanı mastikin toksikolojik güvenilirliğine iŖaret etmektedir (Anonim, 2008b).

Dioik *Pistacia lentiscus* bitkisi termofilik bir türdür. Ayrıca bitkinin bu termofilik yapısının yanında, kışın yüksek dona tolerans özelliği de mevcuttur. Bu tür, bütün yıl boyunca fenolojik aktivitesini

devam ettirmektedir. Fenolojik evrenin, Kasım - Aralık arasındaki meyve oluşumuyla sonlanmasına rağmen, sürgün gelişimi genelde Ağustos veya Eylül sonunda bitmektedir. Bu *P. lentiscus* gibi Akdeniz türleri fenolojik aktivitelerini güz boyunca devam ettirdiklerinden, nadir olan erken donlardan etkilenmektedir (Palacio et al., 2005).

Bitkisel materyallerin, steril koşullar altında ve *in vitro* ortamlarda rejenerasyonları mümkün olabilmektedir. Ayrıca laboratuarda uygun kontrollü ve steril koşullar altında tam bir bitkiye rejenerasyon sağlanabilmesi, daha az çalışma alanı gerektirmesi ve doğayı tahrip etmemesi gibi avantajlara sahiptir. Geleneksel çelik yöntemi ile sakız bitkisinin çoğaltılmasında köklenmenin uzun sürmesi, başarı oranının düşük olması ve adventif kök oluşumunun zayıf oluşması gibi sorunların yanısıra (Mascarello et al., 2007) tohumların özel çimlenme isteklerinden dolayı, sakız ağacının tohum yoluyla çoğaltılmasındaki zorluklar (Fayos and Verdu, 1998) nedeniyle doku kültürünün avantajları ve önemi ön plana çıkmıştır.

Bu proje kapsamında, *P. lentiscus* bitkisinin *in vitro* koşullarda rejenerasyon potansiyelleri incelenecektir. Sakız bitkisinin tohum ve sürgün eksplantları kullanılarak farklı kültür ortamlarında rejenerasyonlarının elde edilmesi amaçlanmıştır. Tıbbi ve ekonomik açıdan çok önemli özelliklere sahip olan bu bitkinin rejenerasyon yoluyla *in vitro* koşullarda çoğaltılması, ülkemiz ekonomisi açısından çeşitli avantajlar sağlayabilecektir.

2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ

2.1.Bitkisel Özellikler

Sakız bitkisi; Sakız Adası ve Çeşme yöresinde doğal olarak yaşayan ve reçinesinden yararlanılan bir bitkidir. Dişi ve erkek çiçekler ayrı bitkiler üzerindedir. Erkek bitkilerin sakız üretim potansiyeli dişilerden fazladır. Dekoratif görünümü ve hoş kokusu nedeni ile bahçe düzenlemesinde de kullanılabilir (Boztok, 1999).

Toprağı örtmesi nedeni ile toprak erozyonunu da önlemektedir. Kökler 20–25 metre derinliğe kadar uzanabilir. Bu nedenle, kuraklığa dayanıklılığı incir ve zeytinden daha fazladır. Arazi yangını gibi kötü koşullarda bile kısa sürede kendini yeniler. Kıyı bölgelerinde tuza dayanıklıdır. Yavaş gelişir ve 100 yıldan fazla yaşar. 5 yaşından itibaren de sakız salgılar. Bir kilo sakızın fiyatı kalitesine göre 60–100 Dolar civarındadır (Boztok, 1999).

Sakız Adası'nın doğal damla sakızı, antik çağlardan beri bilinen, "skinari" veya "pixari" adıyla da anılan doğal damla sakızı ağacından etrafa yayılan doğal bir reçinedir. Bilimsel adı "*Pistacia lentiscus* var. *chia*" veya "*latifolia*"dır. Antik çağlardan günümüze kadar, Sakız Adası'nı ziyaret eden doğa bilimci ve gezginlerin çoğu doğal damla sakızına ve doğal damla sakızı ağacına özel bir ilgi göstermişlerdir. Hepsisi neden doğal damla sakızının Dünya'da yalnızca Sakız Adası'nın bu küçük kesiminde üretildiğine bir açıklama getirmeye çalışmışlardır. Bilimsel

açıklamalar bu gerçeği yeraltı sularına ve volkanlara, hatta genellikle ılıman olan iklime bağlamışlardır. Sakız Adası'nda kışlar ılımandır ve sıcaklık nadiren sıfırın altında 2–3 dereceye düşer. Bu genel olarak tarım için istenmeyen bir durum olsa da, doğal damla sakızı üretilen köylerin yararınadır. Doğal damla sakızı ağaçları; bol kireçtaşı toprakta, taşlı ve bereketsiz toprağa göre daha iyi yetişmekte ve daha uzun yaşamaktadır. Neme dayanmamaktadır; çünkü nemli toprak, hava almasını zorlaştırmakta ve yaşam süresini kısaltmaktadır. Düzenli sulamaya ihtiyaç duyulur ve adadaki kurak dönemlerde doğal damla sakızı üretiminde belirgin bir düşüş görülür (Anonim, 2008a).

P.lentiscus'da erkek ağaçlar stres yokluğunda dişi ağaçlara göre daha yüksek fotosentetik kapasite sergilerken, kuraklık stresinde eşdeğer oranda fotosentetik kapasite ve düşük su kullanım etkinliği gösterirler (Nicotra et al., 2003).

P. lentiscus, genç dönemde kazık kök ve birçok yan kök ile karakteristiktir. Olgun dönemde, yan kökler oldukça genişler ve saçaklar oluşturur (Mattia et al., 2005).

Doğal damla sakızı ağacının gövdesi düz değildir. Gençken açık gri renkte, ileri yaşlarında kül karası rengindedir. Çam ağaçlarında olduğu gibi gövdeden ayrılması zor olan "riknides" adıyla anılan çizgilerle kaplıdır ve pürüzlüdür. Kökleri boyu 20 metreye ulaşmaya kadar büyür (Şekil 2.1) ve yayılır (Anonim, 2008a).



Şekil 2.1. *P. lentiscus* kökleri.

Wyllie ve ark. (1990), *P. lentiscus* meyvelerinin uçucu bileşenlerinde sirke, salata sosu ve zeytine aroma katmak için kullanılan fenolik yapılu thymol ve carvacrol tespit etmişlerdir. Fenolik bileşikler genellikle doğal olarak sebze, meyve ve zeytinyağı ile şarap gibi fermente ürünlerde bulunmaktadır. Fenolikler, aromatik halka ve/veya halkalarında bir veya birden fazla hidroksil grupları bulunduran organik bileşiklerdir (Lule and Xia, 2005).

P. lentiscus türü ilkbaharda çiçeklenir, meyveler sonbaharda olgunlaşır. Sürgün gelişiminden birkaç hafta sonra çiçeklenme gözlenir. Vejetatif büyüme tamamen çiçeklenme durumundan sonra (Mart sonu) başlar ve Haziran'ın ikinci haftası biter. *P. lentiscus*, sonbaharda sahip olduğu sayısız meyvesiyle üretkenlik yeteneği fazla gibi görünse de üreme başarısı (tohum ve meyve oluşturan çiçek yüzdesi) çok düşüktür. Çok sayıda çiçek hiçbir zaman meyve oluşturmaz ve meyve gelişiminin

farklı aşamalarında meyvelerini döker. Ayrıca, birçok meyve partenokarpiden, embriyo yokluğundan (Şekil 2.2.) veya böcek zararından dolayı tohumuzdur (Palli and Aronne, 2000).



Şekil 2.2. *P. lentiscus* tohumlarında sırasıyla partenokarpi, embriyo yokluğu ve tam tohum durumu.

Sakız ağacı plantasyonunun boyutları yerleşim koşullarına bağlıdır ve lokalize olmuşlardır. Plantasyon genelde birkaç düzineden fazla değildir. Direkt gün ışığının gövdeye vurması ve ısıtması mastik oluşumunun artmasında rol oynamaktadır. Ayrıca ağaçların boyu, bize plantasyon yaşı hakkında bilgi verebilir (Triantafyllou et al., 2006).

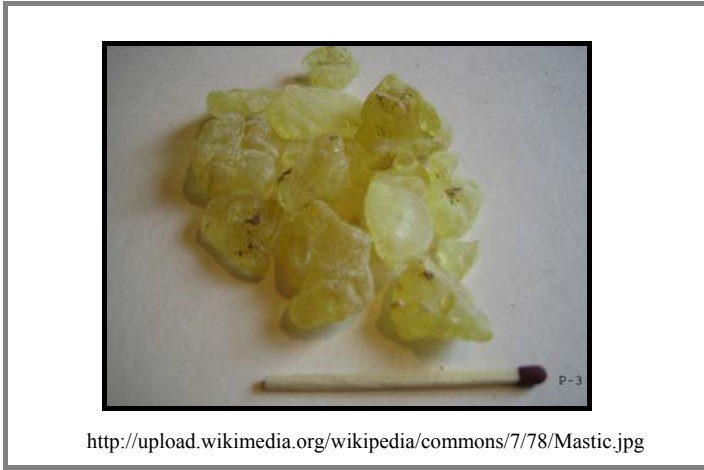
Bu türler için cinsiyet belirleme mekanizması bilinmemektedir. Çiçeklenene kadar bitkinin cinsiyeti anlaşılabilir. Üretkenlik yaşı da 5 yıldan önce değildir. *Pistacia vera* bitkisinde Hormaza ve ark. (1994) DNA markörleri kullanarak 94 fide cinsiyeti belirlemiş ve 1:1 cinsiyet oranı tespit etmişlerdir. Dişi bitkilerin eşeyli üremedeki payı erkeklerden daha fazla bulunmuştur. Bu da dişilerin gelişme ve yaşamını devam ettirebilmesi için daha fazla enerjiye sahip olmasını gerektirmektedir. Bu

nedenle, dişilerin stres koşulları altında erkeklere göre daha düşük hayatta kalma olasılığı vardır (Verdu and Fayos, 1997).

Mastik, bitkinin gövde ve kalın dallarında yüzeysel yarıklar yapıldıktan sonra özel aletlerle ekstrakte edilir. Bu işlem, Temmuz'dan Eylül'e kadar 3 defa tekrarlanır. Reçine, ağacın gövde ve dallarından yaş damlalar (Şekil 2.3) şeklinde akar. Reçine pıhtılaşması yaklaşık 15 gün kadar sürer ve sonra elle toplanır. Ürün, saydam kristal damlalar (Şekil 2.4) şeklindedir. *P. lentiscus*'da reçine oluşmasından sorumlu olan reçine kanal sisteminin gelişimi, anatomisi ve dağılımı yapılan bir çalışmada araştırılmıştır. Bu reçine kanalları gövde, yaprak ve köklerde sadece vasküler sistemin floemide bulunmaktadır. Tübüler yapıdaki bu kanalların yanında epitel hücreleri sıralanır. Reçine kanallarının etrafı ise sklerenkima lifleri ile desteklenmektedir. Kök ve gövdedeki bütün reçine kanal sistemi birbirinden ayrılmış olmasına rağmen, yapraklardaki kanallarla birlikte sürekli bir sistem oluşturur. Reçine kanallarının yaprak, gövde ve köklerde oluşturduğu üç boyutlu ağısı sistem dokuların su tutma kapasitesini artırarak bitkinin kurumasını önler (Savidis et al., 1998).



Şekil 2.3. *P. lentiscus*'da gövde ve dallardan akan reçine damlaları.



Şekil 2.4. Saydam kristal sakız damlaları.

2.2. Tıbbi ve Ekonomik Özellikleri

Mastik sakızı, geleneksel Yunan ilacı olarak karın ağrısı, sindirim güçlüğü ve peptik ülser gibi çeşitli gastrointestinal düzensizliklerde kullanılmaktadır. Modern zamanda ise, Akdeniz mutfağında tatlandırıcı,

sakız yapımı, parfümeri, diş hekimliği ve peptik ülserden korunma amacıyla kullanılmaktadır (Paraschos et al., 2006).

P. lentiscus L., ayrıca antikanser ajanı olarak özellikle göğüs, karaciğer, mide, dalak ve rahim kanseri tümörleri için tedavi edici olarak kullanılmıştır (Kordalı ve ark., 2002).

P. lentiscus var. *chia*'dan elde edilen doğal bitki özütünün, biyoaktif bileşenlerinin kombinasyonundan dolayı antimikrobiyal aktivitesi geniş çapta çalışılmaktadır. Bunlardan biri olan perillyl alkol (POH), tümör kemoterapisinde kullanılmakta ve antianjiyogenik özellik göstermektedir. Mastik yağının, tümör hücre büyümesini ve anjiyogenezi durdurabileceği araştırılmıştır. Yapılan çalışmada mastik yağı konsantrasyonu zamana bağlı olarak K562 insan lösemi hücreleri üzerinde, hücre bölünmesine bağlı olarak çoğalmayı önlemiş ve apoptoz etkisi göstermiştir (Loutrari et al., 2006).

Doğal bir reçine olan mastik sakızının, prostat kanser hücrelerinde maspin (tümör baskılayıcı gen) ekspresyonunu düzenleyebileceği araştırılmıştır. RT-PCR ve Western blotting yöntemleri, transkripsiyon ve translasyon düzeylerindeki maspin ekspresyonunu belirlemede kullanılmıştır. Raportör gen denemesi ile mastik sakızının maspin promotörü üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Mastik sakızı, maspin mRNA ve protein ekspresyonunu uyarmıştır ve maspin promotör aktivitesi mastik sakızı uygulamasıyla arttırılmıştır (He et al., 2007).

Üç *Pistacia* türünün halk hekimliğinde kullanılması açısından sitotoksitesinin Brine-shrimp metodu kullanılarak değerlendirilmesi araştırılmıştır. *Pistacia*'ların üç türünün yapraklarından hazırlanan etanol, *n*-hegzan, metanol, etilasetat ekstreleri ve infüzyonlarına Brine-shrimp (*Artemia salina*) metodu uygulanmıştır. *Artemia salina*, tuzlu göllerde geniş popülasyonlar halinde yaşayan, günümüzde laboratuvar deneylerinde kullanılan bir eklembacaklı türüdür. *P. lentiscus* ve *Pistacia lentiscus* var *chia* bitkilerinin yapraklarından hazırlanan *n*-hegzan, etanol ve metanol ekstrelerinin sitotoksik aktivite gösterdiği saptanmıştır. Genelde halk hekimliğinde kullanılan infüzyon ekstrelerinin ise sitotoksik olmadığı saptanmıştır. Bu bitkisel droglar halk hekimliğinde özellikle infüzyon şeklinde kullanıldığı için sitotoksik aktivite sonuçlarının olumsuz çıkmaması drogların halk hekimliğinde kullanımı açısından önemli bir olgudur. Sonuç olarak üç droğun etilasetat ve infüzyon ekstreleri dışındaki ekstrelerinin Brine-shrimp metoduna göre sitotoksik olduğu saptanmıştır (Kıvçak ve Akay , 2002).

2.3. *Pistacia lentiscus* Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Huwer ve ark. 1999'da mastik reçinesinin *Helicobacter pylori* bakterisini yok etmekteki potansiyelini araştırmıştır. *P. lentiscus*'un çoğu triterpenoid bileşenleri, reçinenin asidik fraksiyonundan izole edilerek tanımlanmıştır. *P. Lentiscus* bitkisinin sadece yapraklarında fenolik bileşenler olarak, galloyl türevleri, flavanoidler, antosiyaninler ve bazı sekonder metabolitler tespit edilmiştir (Kaliora et al.,2005).

P. lentiscus'un genç yaprakları azot ve tanence zengindir, ancak olgun yapraklarla karşılaştırıldığında karbonhidrat içeriği bakımından fakirdir. Ayrıca *P. lentiscus*, yarı kurak Akdeniz havzalarına iyi adapte olmuştur ve tür üzerindeki bu kuraklık baskısı, bu alanlardaki türü temsil eden fertlerin sayısında azalmaya sebep olmuştur. Yapılan bir çalışmada amaç, Güney Anadolu'da bulunan *P. lentiscus*'un toprak –bitki etkileşimini açıklamaktır. Toprak analiz verileri, bu bitkinin kumlu–killi, killi ve kumlu topraklar gibi farklı tipteki topraklarda yaşayabildiğini göstermiştir. Sakız ağacının yetişebildiği toprağın tuz oranı düşüktür, toprak ılımlı pH'dadır ve az alkalidir. Bu tür, az fosfor ve potasyumlu, ancak farklı kalsiyum karbonat ve azot içerikli toprakları tercih eder (Doğan ve ark., 2003).

Yapılan diğer bir çalışmada, süper kritik CO₂ ekstraksiyonu uygulaması ile çeşitli basamaklarda CO₂ yoğunluklarındaki artışla farklı kompozisyonlarda ürünler elde edilmesi, farklı bölgelerden toplanan *P. lentiscus* yaprak ve meyvelerine çok aşamalı ayırma uygulanması ve hidrodistilasyon ile sağlanan SFE (kademeli ayırma tekniği) ürünlerini karşılaştırması amaçlanmıştır. Tüm özütler GC/MS ile analiz edilmiştir. Çok miktarda β -pinene, β -phellandrene ve β -caryophyllene tespit edilmiştir. Türkiye'deki *P. lentiscus* ve *P. lentiscus* var. *chia* yaprak ve dallarından elde edilen uçucu yağ bileşenleri (Çizelge 2.1) de GS/MS ile tespit edilmiştir (Congiu et al., 2001; Kıvçak ve ark., 2004).

P. lentiscus'a ait her iki cinsiyetin fotosentetik özelliklerinin, habitat dağılımı üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, doygun ışık

asimilasyonu ve stoma iletkenlik oranları her iki erkek ve dişi bitki için yaz boyunca çalışılmıştır. Asimilasyon değerleri, akşama oranla sabahları daha fazladır. Kuraklık stresinin olmadığı (laboratuvar ortamı) koşullarda dişi ve erkek bitkilerin yapraklarından ölçülen fotosentetik değerler birbirine yakın çıkmıştır. Doğal stres koşulları altında, dişi bitkide düşük CO₂ asimilasyonu ve stoma iletkenliği kaydedilmiştir.

Gözlenen bu farklılıklar, fotosentetik aktiviteden çok dişilerdeki yüksek su kullanma etkinliğine bağlı olan stoma kontrol kapasitesinden kaynaklanmaktadır. Bu sonuçlar, erkek bitkilerin yaşlı komünitelerindeki ekolojik avantajının, su alınımındaki yüksek rekabetten kaynaklandığını öne sürmektedir (Correial and Barradas, 2000).

Çizelge 2.1. *Pistacia lentiscus* ve *P. lentiscus* var. *chia* bitkilerinin uçucu yağ bileşenleri* (Kıvçak ve ark., 2004)

BİLEŞEN	Dal	Yaprak	Dal	Yaprak
	Reçinesi	Reçinesi	Reçinesi	Reçinesi
	Yabani Tür		Kültür Türü	
α -Phellandrene	2.3	-	-	-
<i>p</i> -Mentha-1,7(8)-diene (= pseudolimonene)	0.1	-	-	-
α -Terpinene	1.1	-	-	-
Limonene	6.9	1.3	0.7	1.0
β -Phellandrene	6.5	0.4	0.8	0.6
Butyl-2-methylbutyrate	-	0.4	0.1	-
(<i>Z</i>)- β -Ocimene	-	-	-	0.1
γ -Terpinene	1.8	-	-	0.2

Çizelge 2.1. (devam)

BİLEŞEN	Dal Reçinesi	Yaprak Reçinesi	Dal Reçinesi	Yaprak Reçinesi
	Yabani Tür		Kültür Türü	
(<i>E</i>)- β -Ocimene	-	-	-	0.4
2-Methylbutyl butyrate	0.3	-	-	0.4
<i>p</i> -Cymene	0.3	7.1	-	0.2
Isoamyl isovalerate	-	0.1	-	-
2-Nonanone	-	0.3	0.3	0.4
α -Cubebene	-	-	-	-
α -Pinene	19.4	0.5	0.5	-
3-Methyl butyl hexanoate (= isoamyl hexanoate)	0.4	1.8	0.4	0.9
2-Nonyl acetate	-	-	-	-
(<i>Z</i>)-3-Hexenyl-2-methyl butyrate	-	0.1	-	-
α -Ylangene	-	0.1	-	-
Terpinen-4-ol	5.7	29.2	-	-
Camphene	0.3	-	-	-
β -Pinene	2.8	1.1	0.1	-
Sabinene	23.2	1.8	-	-
Myrcene	2.2	0.2	27.4	13.9
α -Copaene	0.6	1.3	1.3	0.9
2-Nonanol	-	0.2	-	0.2
β -Bourbonene	-	0.4	-	0.1
β -Cubebene	0.3	0.7	0.9	0.5
<i>trans-p</i> -Menth-2-en-1-ol	0.1	0.6	-	-

Çizelge 2.1. (devam)

BİLEŞEN	Dal Reçinesi	Yaprak Reçinesi	Dal Reçinesi	Yaprak Reçinesi
	Yabani Tür		Kültür Türü	
β -Ylangene	-	-	0.1	0.1
Bornyl acetate	0.1	1.4	-	-
β -Elemene	0.8	1.5	1.2	0.9
2-Undecanone	-	2.8	0.9	1.9
α -Thujene	0,6	-	-	-
Isoamylbenzoate	-	1.0	0.1	0.4
Dodecanoic acid	-	-	0.1	0.3
Benzyl benzoate	-	-	-	0.4
Tetradecanoic acid (= myristic acid)	-	-	0.1	0.2
Hexadecanoic acid	-	0.4	0.1	0.5
Dodecanoic acid	-	-	0.1	0.3
Terpinen-4-ol	5.7	29.2	-	-
Isoamyl octanoate	-	0.7	-	-
2-Methyl butyl benzoate	-	0.2	-	-
Cubebol	0.6	0.3	1.7	0.4
Dodecanol	-	-	-	0.1
Isocaryophyllene oxide	-	0.7	0.1	-
Caryophyllene oxide	0.3	3.3	0.5	0.3
(E)-Nerolidol	-	-	-	0.3
Gleenol	-	0.2	-	-
1,6-Germacradien-5 β -ol (= Germacrene D-4 β -ol)	0.4	-	0.6	0.2

Çizelge 2.1. (devam)

BİLEŞEN	Dal Reçinesi	Yaprak Reçinesi	Dal Reçinesi	Yaprak Reçinesi
	Yabani Tür		Kültür Türü	
Humulene epoxide-II	-	1.2	-	-
<i>cis</i> -Calamenene	-	0.8	0.3	0.4
<i>cis</i> - β -Terpineol	-	-	-	0.2
Hexadecanoic acid	-	0.4	0.1	0.5
Cubenol	-	0.7	0.6	0.7
Terpinolene	0.5	-	-	0.3
Terpinen-4-ol	5.7	29.2	-	-
<i>p</i> -Methyl acetophenone	-	0.3	-	-
Cadina-1,4-diene (= cubenene)	-	-	0.3	0.3
Myrtenol	-	0.2	-	-
3,7-Guaiadiene	-	0.1	-	0.1
2-Tridecanone	-	0.1	-	0.1
(<i>E</i>)-Geranyl acetone	-	0.6	-	-
Germacrene-B	0.1	-	-	-
<i>p</i> -Cymen-8-ol	-	0.5	-	-
δ -Cadinol (= alpha-muurolol)	0.1	0.8	0.6	0.9
Dimyrcene II-a	-	-	3.1	1.8
Elemicine	-	-	-	0.2
α -Eudesmol	-	-	0.4	0.5
α -Cadinol	0.6	3.0	2.2	3.3
Dimyrcene II-b	-	-	1.3	0.6

Çizelge 2.1. (devam)

BİLEŞEN	Dal	Yaprak	Dal	Yaprak
	Reçinesi	Reçinesi	Reçinesi	Reçinesi
	Yabani Tür		Kültür Türü	
T-Muurolol	0.3	1.7	1.2	1.8
δ -Cadinol (= alpha-muurolol)	0.1	0.8	0.6	0.9
Dimyrcene II-a	-	-	3.1	1.8
Elemicine	-	-	-	0.2
T-Cadinol	0.2	-	0.8	
1- <i>epi</i> -Cubenol	0.2	1.2	1.1	1.3
Elemol	0.2	0.2	0.8	0.6
Spathulenol	-	0.5	0.1	0.1
(Z)-3-Hexen-1-yl benzoate	-	0.2	-	0.2
Dimyrcene I-a	-	-	0.2	0.1
Dimyrcene I-b	-	-	0.3	0.1
3,4-Dimethyl-5-pentylidene-2(5H)-furanone	-	-	-	0.2
Mint sulfide	-	-	-	1.8
<i>epi</i> -Cubebol	0.2	0.2	0.8	0.2
T-Muurolol	0,3	1,7	1,2	18
α -Humulene	1.3	2.4	3.3	3.4
Cryptone	-	0.8	-	-
γ -Muurolene	0.8	2.7	1.3	1.7
α -Terpineol	0.4	3.5	-	3.3
α -Terpinyl acetate	0.3	-	1.4	4.8
Borneol	-	0.3	-	-

Çizelge 2.1. (devam)

BİLEŞEN	Dal Reçinesi	Yaprak Reçinesi	Dal Reçinesi	Yaprak Reçinesi
	Yabani Tür		Kültür Türü	
2-Undecanol	-	0.1	-	-
Germacrene D	14.1	0.7	21.7	20.1
α -Muurolene	0.6	1.8	2.3	1.4
Bicyclogermacrene	0.4	-	0.9	0.5
<i>cis</i> -Piperitol	-	0.4	-	-
(<i>E,E</i>)- α -Farnesene	-	-	-	0.2
δ -Cadinene	1.7	0.4	3.9	4.2
<i>epi</i> -Zonarene	0.1	-	0.4	0.4
2- Methylbutyl isovalerate	0,1	0,3	-	0,2
β -Caryophyllene			7,2	10,8
γ - Cadinene	0,1	0,6	0,3	0,4
Total	99.9	89.9	95.8	94.3

*Bileşen isimleri İngilizce verilmiştir.

Doğal bir çalı olan *P. lentiscus* için, gübre olarak turbanın kısmi olarak kullanılmasının büyüme ve beslenme üzerine etkisi araştırılmıştır. Budama ve kentsel katı atıklar veya budama artıkları ile evsel atıklar gübre olarak kullanılmıştır. Substrattan elde edilen sıvı ekstraktlar çimlenmeye zarar vermemiştir. Özellikle evsel atıkların gübre olarak kullanıldığı substrattaki bitkilerin büyüme ve beslenmesi, kontrol olarak kullanılan turba bazlı substrattaki bitkilerin büyüme ve beslenmesine

göre daha iyidir ve fosfor tutma yeteneği oldukça artmıştır (Ostos et al., 2007).

P. lentiscus L. bitkisinde düşük su kullanımının biyokütle dağılımı, kök morfolojisi ve solunuma etkisi araştırılmıştır. Fideler, sera koşullarındaki toprak dolu saksıların içinde haftalık veya aylık sulama yapılarak, 6 ay süreyle gelişmeye bırakılmışlardır. Düşük su kullanımı bütün biyokütlerde güçlü olarak azalmaya neden olmuştur. Su kısıtlaması sekonder kök topolojisini etkilememiştir. Yaprak yüzey alanının kök yüzey alanına oranı aylık sulamanın yapıldığı koşullarda yüksek çıkmıştır. Kuraklık, büyümeyi engelleyerek tüm fidenin morfolojisini ve fizyolojisini etkilemiştir (Cortina et al., 2007).

P. lentiscus yapraklarından elde edilen ham ekstraktların tarımsal patojenik mantar olan *Phythium ultimum*, *Rhizoctania solani* ve *Fusarium sambucinum* üzerine antifungal aktivitesi araştırılmıştır. Birçok durumda yaprakların benzin eter, kloroform, etil asetat ve etil alkol ekstraktları *P. ultimum* ve *R. solani*'nin gelişimini engellemiştir (Kordalı et al., 2003).

Sakız ağacı çeliklerinin köklenmesi üzerine yapılan bir çalışamada, çelik alma devresi ve köklendirme açısından bitki büyüme düzenleyicilerinin değişik konsantrasyon ve kombinasyonlarının etkilerinin belirlenmesi amacıyla çeliklerin köklenme bölgesindeki fenolik maddeler ve bunların çelik alma devrelerindeki başlangıç düzeyleri saptanmıştır. Köklendirme devrelerinin her iki yılında da şubat döneminde en iyi sonuçlar elde edilmiştir. Birinci yılda en yüksek

köklenme oranı (%76,6) ve kök adedi (5,8), 20.000 ppm dozda IBA uygulamasıyla sağlanmıştır (İsfendiyaroğlu,1999).

Pistacia türünün yangın sonrası filizlenmesi ve toprağı erozyondan koruması, Akdeniz iklim koşulları altında işletim ve yeniden ağaçlandırma çalışmaları için değerli olmasını sağlamıştır. Yapılan bir çalışmada, türün çimlenme ve hayatta kalmasını kontrol eden etmenler belirlenmeye çalışılmıştır. Zamana bağlı tohum canlılığındaki kayıp, dormansi mekanizmasının varlığı, tohum çimlenmesini teşvik eden koşullar ve çimlenme dinamiğı araştırılmıştır. Sonuçlar, yıl içinde çabuk çimlenme gösteren kısa süreli tohum bankasına sahip olduğunu göstermiştir. Işık ve sıcaklık ön uygulamasının yapılmadığı durumda tohum çimlenmesinde dormansi gözlenmemiştir. Tohumun etli kısmının soyulması ile bol ve uzun süreli yağış (≥ 7 gün; $\geq 100 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}$) çimlenme için gerekli olmuştur. Tohum canlılığı 1 yıl sonra şiddetli bir şekilde azalma göstermiştir (Fayos and Verdu, 1998).

2.4.Doku Kültüründe Karşılaşılan Sorunlar

Doku kültürü çalışmaları için eksplant hazırlama işlemi sırasında yapılan kesimler nedeniyle açığa çıkan bileşikler, ortamın veya eksplantın kararmasına sebep olabilmektedir. *In vitro* koşullarda oksidasyon ürünleri, eksplantlara inhibitör etkisi yapmaktadır. Kararmanın önüne geçebilmek için; kültür ortamlarına antioksidant (potasyum siyanit, askorbik asit, sistein, tiyoüre, PVP) ilave edilerek, eksplantlar kültür ortamına alınmadan önce antioksidanlarla yıkanarak, inkübasyonun başlangıç aşamasında ışık yoğunluğu değiştirilerek veya

eksplantlar sık sık taze ortama aktarılarak çözüm bulunmaya çalışılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Compton and Preece, 1986; Hu and Wang 1983).

Odunsu bitkilerin doku kültürü ile çoğaltılmasında diğer bir önemli problem mikroorganizmalarla bulaşmadır. Bulaşmayı önlemek için doku kültürünün ilk aşaması olan sterilizasyon üzerinde önemle durmak gerekmektedir. Ortamdan ve eksplantlardan gelebilecek bulaşmayı önlemek için çok iyi bir sterilizasyon prosedürü oluşturulmalıdır. (Hu and Wang 1983).

Doku kültürü uygulamalarında görülen problemler ve çözüm önerileri Çizelge 2.2 'de özetlenmiştir (Kyte and Kleyn, 1996).

Çizelge 2.2. Yaygın doku kültürü sorunları ve çözüm yolları (Kyte and Kleyn, 1996).

BELİRTİLER	NEDENLER	ÇÖZÜM ÖNERİLERİ
Eksplant ölümleri	Yoğun dezenfektanlar Çok kuvvetli ortam Zamanlama	Seyreltik dezenfektan kullanımı ½ veya ¼ katı ortam kullanımı Farklı zamanlarda eksplant alma
Kültürün kararması ve ölümler	Kontaminasyon Su problemi Yanlış ortam seçimi Aşırı sıcak	Kültürün atılması ve yeniden ortam hazırlanması Su saflığının kontrolü Ortamın değiştirilmesi Sıcaklığın azaltılması

Çizelge 2.2. (devam)

BELİRTİLER	NEDENLER	ÇÖZÜM ÖNERİLERİ
Eksplantın yaşaması, ancak gelişmenin olmaması	Dormansi Daha çok zaman ihtiyacı Çok kuvvetli ortam Yanlış ortam seçimi Çok sıcak ve çok soğuk	1 ay süreyle soğuklama Farklı zamanda eksplant alma Eksplant transferi Az yoğun ortam kullanma Ortamı değiştirme, Nitrat ve tuz konsantrasyonlarını azaltma Aktif kömür ve GA ₃ ilavesi Sıcaklığın değiştirilmesi
Çok yavaş gelişme	Yanlış ortam seçimi	Ortam değişikliği
Çok uzun ve çalmsı sürgünler	Çok az sitokinin	Hava ve/veya sitokininini arttırmak
Zayıf sürgün çoğalması	Çok az sitokinin	Hava ve/veya sitokininini arttırmak
Çok kısa sürgünler	Çok fazla sitokinin	Sitokininin azaltılması
Çoğalmanın olmaması	Çok az sitokinin Soğuklama gereksinimi Düşük sıcaklık Dormansi gerekliliği	Sitokininin arttırılması 4-8 hafta soğukta depolama Sıcaklığın arttırılması 3-8 hafta soğukta depolama
Kalın gövde, küçük yapraklar	Çok fazla sitokinin	Sitokininin azaltılması
İstenmeyen kallus	Yanlış hormon kullanımı	Sitokininin azaltılması, oksinsiz ortam, 1-5 mg/l TIBA (triiodobenzoik asit) ilavesi
Klorotik yapraklar	Kontaminasyon Aşırı sıcak Yanlış formülasyon	Kontaminasyonun indekslenmesi veya kontrolü Sıcaklığın azaltılması Ortam değişikliği, azotu değiştirme
Vitrifikasyon (Çamsılaşma)	Osmozun bozulması Çok fazla sitokinin Hücre duvarlarında lignin eksikliği Yanlış agar Kültürün yaşlanması	Sıcaklığı düşürme, havayı veya agarı arttırma Sitokininin azaltılması Phloroglucinol ilavesi Agar değiştirme Daha sık transfer yapılması
Zayıf köklenme	Yanlış hormon dengesi	Sitokininin arttırılması
Kırmızı gövdeler	Stres Çok fazla şeker Çok az nitrat Kültürün yaşlanması	Işık ve sıcaklık değişikliği Şekerin azaltılması Nitratın arttırılması Daha sık transfer yapılması

Çizelge 2.2. (devam)

BELİRTİLER	NEDENLER	ÇÖZÜM ÖNERİLERİ
Bitkilerin ölümü	Kök oluşmaması Çok sıcak ve çok kurak Patojenler Yanlış toprak karışımı, pH, nem ya da besin elementi	Kültürde kökleri geliştirme, dip kısımlara oksin uygulaması Hava ve toprak neminin ayarlanması Patojenlerin test edilmesi Araştırma ve deneme
Zayıf çoğalma	Yaşlanma	Kültürdeki zamanın kısaltılması Hormonların artırılması ya da değiştirilmesi Kömür ilavesi
Aborsiyonlar	Patojenler Ortam Hava eksikliği	Patojenlerin test edilmesi Ortam değişikliği Steril hava sağlanması

2.5. *Pistacia lentiscus* L.'deki Doku Kültürü Çalışmaları

Bilimsel yayınlarda *Pistacia lentiscus* L. ile ilgili hücre ve doku kültürü konularında çok fazla çalışma bulunmamaktadır ve yapılan çalışmalarda istenilen sonuçlar elde edilememiştir. Projemize kaynak oluşturması bakımından diğer *Pistacia* türlerine ait doku kültürü ve çoğaltım çalışmaları incelenmiştir.

Alderson ve Barghchi (1983) yaptığı çalışmada, *Pistacia vera* L. (Antep fıstığı) bitkisine ait, steril koşullarda geliştirilmiş fidelerin ve tohumdan çimlendirilmiş 2 yaşına kadar olan bitkilerin klonal çoğaltımını, geliştirdikleri prosedürler ile araştırmışlardır. Gelişen sürgün kültürleri, *P. vera* L.'nin sürgün ucu ve nodal tomurcuk eksplantlarından MS (Murashige ve Skoog, 1962) ortamına 4 mg/l Benzil Amino Pürin (BAP) ilavesi ile sağlanmıştır. *P. vera* L.'nin sürgün kültürlerinde ise *in*

in vitro'da 2.5 mg/l Indol Butirik Asit (IBA) içeren ½ MS ortamında köklendirilmeler gerçekleştirilmiş ve hormonsuz ortamda da kök gelişimi için alt kültürlemeler yapılmıştır (Barghchi ve Alderson, 1983).

Pistacia vera. L. bitkisinin *in vitro* rejenerasyonunu arttırmak için sürgün oluşumu ve gelişimi üzerine gümüş nitratin etkisi araştırılmıştır. *In vitro*'da büyümüş bitkiciklerden elde edilen nod eksplantlarının besin ortamlarına farklı bileşenlerdeki 6-Benzil Adenin (BA), Kinetin (KIN), Giberellik Asit (GA₃), ve Gümüş Nitrat (AgNO₃) uygulanmıştır. Ortama 48 µM AgNO₃ ilavesi rejenerasyon sıklığını ve sürgün büyümesini arttırmış ve rejenere eksplantlardaki kallus oluşumunu azaltmıştır. En fazla rejenerasyon (%100), 9 µM BA, 0.2 µM GA₃ ve 24 veya 48 µM AgNO₃ içeren MS ortamında elde edilmiştir. Rejenere sürgünler, çoğalma ortamındaki üç alt kültürden sonra ½ MS ortamına 12 µM Indol Butirik Asit (IBA) ilavesi ile köklendirilmiştir (Tokatlı et al., 2004).

Fascella ve ark. (2004), *Pistacia lentiscus* ile yaptığı diğer bir çalışmada vejetatif çoğaltımda oluşan zorlukları önlemek ve homojen materyal elde etmek için, belirli karakterdeki ekotipleri seçip *in vitro* kültür için denemişlerdir. Sterilizasyon ve çoğaltım denemeleri, belirli zaman ve farklı birleşimlerdeki beslenme ile yürütülmüştür. Aseptik eksplantlar, deterjan solüsyonu, etanol (%70) ve NaClO (%1.2 aktif klor) uygulaması ile sağlanmıştır. Başlangıç aşamasında McCown ortamının makro ve mikro elementleri kararma sorununu azaltmış, MS ortamı tuzları ise sürgün oluşumunu sağlamıştır (Fascella et al., 2004).

Taşkın ve İnal (2005), yaptıkları çalışmada, ülkemizde sayısı giderek azalmakta olan Sakız ağacının (*Pistacia lentiscus* L. var. *chia*) apikal sürgün uçlarını, farklı konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri ve antioksidanlar içeren MS, Gamborg B5 (1968) ve DKW (Driver ve Kuniyuki, 1984) ortamlarında kültüre almışlardır. Yaşlı ağaçlar ve genç fidanlardan alınan materyallerde fenolik bileşiklerin etkisinden dolayı gelişebilir özellikte rejenere sürgün veya organogenez görülemediği (Taşkın ve İnal, 2005).

Sakız bitkisinin çoğaltımı tohumla yapılabilir, ancak genotipler arasında çeşitlilik oluşur. Etkili çoğaltım prokolünü oluşturmak amacıyla yabancı türün tohum ve genç çelikleri, *in vitro* ve *in vivo* kültür ortamlarında denenmiştir. Çimlenme oranını arttırmak için, tohumlar birkaç gün 4°C'de bekletilmiştir. Ayrıca HCl ile tohumların aşındırılması ve GA₃ uygulanması, tohum çimlenme oranını arttırmıştır. Yapılan denemelerden sonra en iyi sürgün gelişim oranı (eksplant başına 3,5 sürgün) 0.5 mg/l BA ilavesi ile *in vitro* çoğaltımla sağlanmıştır. Köklendirme denemeleri için Indol Butirik Asit (IBA) ve Naftalen Asetik Asit (NAA) eklemelerinden sonra, fazla sayıda ve uzunlukta kökler 0.5 mg/l NAA uygulaması ile elde edilmiştir (Mascarello et al., 2007).

P. lentiscus L. ile yapılan bir çalışmada, öncelikle farklı sterilizasyon yöntemleri kullanılarak, sakız ağacında doku kültürü uygulamasında sterilizasyon prosedürünün oturtulması ve dokularda meydana gelen kararma ve kontaminasyon problemlerinin çözülmesi

amaçlanmıştır. Ayrıca, kullanılan *in vitro* kültür ortamlarında rejenerasyon tipleri de incelenmiştir. En yüksek sterilizasyon başarısı (%60) eksplantlara, %70'lik etil alkol (10 dakika) ve %5'lik NaOCl (7 dakika) uygulanan sterilizasyon yöntemiyle elde edilmiştir. 5 mg/l BAP ve 45 g sakkaroz içeren MS ortamında %10'luk başarı ile en fazla sürgün oluşumu sağlanmıştır (Kuddar, 2007).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

Çeşme-Alaçatı koşullarında yetişmekte olan iyi gelişmiş erkek bir *Pistacia lentiscus* bitkisinin (Şekil 3.1) sürgün nod eksplantları ve Ege Ormancılık ve Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen tek dişi ağaca ait tohumlar (Şekil 3.2) materyal olarak kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Araştırmada kullanılan erkek sakız ağacı.



Şekil 3.2. *P. lentiscus* L. bitkisine ait çiçekler ve tohumları.

3.2. Metod

Araştırmada, erkek ağaçtan alınan sürgün nod eksplantlarının yüzey sterilizasyonları, sürgün oluşturma ortamlarına aktarılmaları ve ayrıca dişi sakız ağacından sağlanan tohumların sterilizasyonu, çimlendirilmeleri, sürgün gelişim ortamlarına transferleri ve köklenmeleri şeklinde iki ayrı deneme olarak çalışılmıştır. Yapılan çalışmada farklı sterilizasyon yöntemleri kullanılmıştır. Steril materyaller, değişik bitki büyüme düzenleyicileri kombinasyonlarına ve/veya adsorban maddelere sahip MS (Murashige ve Skoog, 1962) ve WPM (Lloyd ve McCown, 1980) ortamlarında kültüre alınmışlardır.

3.2.1. Besin ortamlarının hazırlanması

Araştırmada mineral maddeler, vitaminler, bitki büyüme düzenleyicileri ve agar içeren MS ve WPM besin ortamları kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. MS ve WPM besin ortamlarının içerik ve miktarları.

Maddeler	MS besin ortamındaki miktarlar (mg/l)	WPM besin ortamındaki miktarlar (mg/l)
NH ₄ NO ₃	1650	400
KNO ₃	1900	-
K ₂ SO ₄	-	999
Ca(NO ₃) ₂	-	386
MgSO ₄ .7H ₂ O	370	180.7
MnSO ₄ .4H ₂ O	22,3	22,3
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6	8,6
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025	0.25
H ₃ BO ₃	6,2	6,2
KH ₂ PO ₄	170	170
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25	0.25
CaCl ₂ .2H ₂ O	440	72.2
KI	0.83	-
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025	-
myo-Inositol	100	100
Tris(İn) (Na ₂ EDTA)	37,3	37,3
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8	27,9
Nikotinic asit	0.5	0.5
Pridoksin-HCl	0.5	0.5
Tiamin-HCl	0.1	1.0

Sürgün gelişimi için kullanılan besin ortamlarını hazırlamak üzere, önceden oluşturulmuş stok solüsyonlardan 1 litre için gerekli olan miktarlar beherlere aktarıldıktan sonra ortamlara, büyüme düzenleyicileri ve/veya adsorbanlar Çizelge 3.2’de belirtilen miktarlarda ilave edilmiştir.

30 g/l sukroz eklenen ortamlar, distile su ile 1 litreye tamamlanmıştır. Sukroz iyice eridikten sonra seyreltilmiş NaOH (sodyum hidroksit) ve HCl (hidrojen klorür) kullanılarak pH= 5.8'e ayarlanmıştır. 7 g/l agar ilave edildikten sonra devamlı karıştırılarak kaynama sıcaklığına kadar ısıtılan ortamlar, sıcak olarak cam kavanozlara, her biri yaklaşık 30'ar ml olmak üzere dökülmüştür. Ağzuları çok sıkı olmayacak şekilde kapatılan kavanozlar, otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilmişlerdir.

Çizelge 3.2. Erkek ağaçtan temin edilen nod eksplantlarının aktarıldıkları besin ortamları.

Ortam	Besin Ortamları	Bitki Büyüme Düzenleyicileri	Adsorban Maddeler
1	MS	5 mg/l BAP	-
2	MS	5 mg/l BAP	0,1 g/l Askorbik asit
3	MS	3 mg/l BAP	0,1 g/l Askorbik asit
4	MS	5 mg/l BAP	1 g/l Aktif karbon
5	WPM	3 mg/l BAP	1 g/l Aktif karbon
6	WPM	3 mg/l BAP	0,1 g/l Askorbik asit
7	WPM	5 mg/l BAP	0,1 g/l Askorbik asit
8	WPM	3 mg/l BAP	-
9	WPM	3 mg/l BAP	0,01 g/l PVP 40
10	WPM	3 mg/l BAP	50 µM L-Cystein

Tohumları çimlendirmek için distile su ile ıslatılmış pamuk içeren kavanozlar kullanılmıştır. Kapakları kapatılan kavanozlar, otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmişlerdir

Çimlenmiş tohumlardan sürgün gelişimi için bitki büyüme düzenleyicilerinin ve/veya adsorban maddelerin farklı kombinasyonlarını içeren MS ve WPM ortamları denenmiştir (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Tohumların çimlenmeleri ile elde edilen nod eksplantlarının aktarıldıkları besin ortamları.

ORTAM	BESİN ORTAMLARI	BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİ
WPM 1	WPM	0,5 mg/l BAP
WPM 2	WPM	0,5 mg/l IBA
MS 1	MS	0,1 mg/l BAP
MS 2	MS	0,5 mg/l BAP

Eksplant Hazırlığı: Çalışmamızda, yıl içinde farklı aylarda olmak üzere erkek bitkinin dallarına ait sürgünlerden 2,5-3 cm boyundaki 2-3 nodlu eksplantlar kullanılmıştır. Yaprakları temizlenen sürgünlerin farklı ortamlarda gösterdikleri tepkiler ve ortamların sürgün oluşumu üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Gerçekleştirilen denemeler (Çizelge 3.4) ışığında farklı ortamların yanı sıra, farklı sterilizasyon yöntemleri de uygulanarak en iyi sonucu veren yöntem kullanılarak ve haftada bir alt kültürlenme 2-3 kere yapılarak çalışmalara devam edilmiştir. Eksplantlar, erkek bitkiden Eylül 2006-Haziran 2008 dönemleri arasında temin edilmişlerdir.

Çizelge 3.4. Eylül 2006- Haziran 2008 dönemlerinde erkek bitkiden alınan sürgün nod eksplantlarının aktarıldıkları besin ortamları.

Aylar		Eylül		Ekim		Kasım		Aralık		Ocak		Şubat		Mart		Nisan		Mayıs		Haziran	
		06	07	06	07	06	07	06	07	07	08	07	08	07	08	07	08	07	08	2007	2008
Eksplant sayısı		69	60	69	60	60	60	75	75	69	75	75	78	-	69	-	60	-	90	75	90
Ortam Adı		1	6	2	7	3	6	4	7	2	8	5	6		6		6		9	6	10
Ortam	MS	X		X		X		X		X		X		-		-		-			
	WPM		X		X		X		X		X		X	-	X	-	X	-	X	X	X
BBD***	3BAP*		X			X	X					X	X	-	X	-	X	-	X	X	X
	5BAP**	X		X	X			X	X	X	X			-		-		-			
Adsorban Madde	Askorbik asit	-	X	X	X	X	X		X	X	-		X	-	X	-	X	-		X	
	Aktif karbon	-	-					X			-	X		-		-		-			
	PVP 40	-	-								-			-		-		-	X		
	Cystein	-	-								-			-		-		-			X

* 3 mg/l BAP, ** 5 mg/l BAP, ***Bitki Büyüme Düzenleyicisi.

3.2.2. Kültüre alınan nod eksplantların sterilizasyonu

Yukarıda belirtilen bitkilerin sağlıklı dallarından alınan sürgün nod örnekleri, öncelikle sabunlu su ile iyice yıkanıp akan çeşme suyuyla durulanmış ve en son olarak distile ılık suya 1 gr/l askorbik asit ilave edilerek 1 saat bekletilmişlerdir. Daha sonra steril kabin içerisinde Çizelge 3.5’de gösterilen farklı yüzey sterilizasyon ajanları uygulanmıştır. Bu işlemlerin ardından, 3 kez steril suda çalkalanan örnekler, steril filtre kağıdı üzerinde bırakılmış, fazla sularından arındırıldıktan sonra kültüre alınmışlardır. Sterilizasyonu tamamlanan 2-3 nodlu sürgün nod eksplantları, steril kabin içerisinde her bir kültür kabında tek bir eksplant olacak şekilde sürgün gelişim ortamlarına aktarılmıştır.

Çizelge 3.5. Sürgün nod eksplantlarının sterilizasyonu.

UYGULAMA	I	II	III
Fungusit (Agro-Captan 50 WP) Uygulaması	-	-	1 g/l 24 saat
Etil Alkol Uygulaması	%70’lik 3 dakika	-	%70’lik 3 dakika
Tween 20 İlavesi	2 damla	2 damla	2 damla
NaOCl Uygulaması	%1’lik 10 dakika	%0,5’lik 10 dakika	%0,75’lik 10 dakika
H₂O₂ Uygulaması	-	%5’lik 5 dakika	-

3.2.3. Tohumların sterilizasyonu

Ege Ormancılık ve Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen tek dişli bitkiye ait tohumlar, etli kısımlarının soyulması için 4 dakika derişik H_2SO_4 (sülfirik asit)'de bekletilmiştir. Etili kısımları soyulan tohumlar daha sonra sert olan dış kabuklarının biraz açılması için 3 gün süreyle suda bırakılmışlardır. Sabunlu su ile iyice yıkanıp akan çeşme suyuyla durulanmalarının ardından steril kabin içerisinde %70'lik etil alkolde 2 dakika ve %1'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisinde 7 dakika bekletilmişlerdir. Daha sonra yine steril kabin içerisinde tohumlar, 3 kez steril sudan geçirilerek, steril filtre kağıdı üzerine alınmışlar ve fazla suları uzaklaştırıldıktan sonra pamuklu ortamlara aktarılmışlardır.

3.2.4. Nod eksplantlarının sürgün teşvik ortamına alınması

Sürgün teşviki için hazırlanmış olan sitokinin (BAP) ve/veya adsorban maddeler (askorbik asit, aktif karbon, PVP 40, L-Cystein) içeren farklı MS ve WPM besin ortamlarını bulunduran kültür kavanozlarına, hazırlanan nod eksplantları aktarılmışlardır. Kültür kapları daha sonra gelişimleri incelenmek üzere fotoperiyot koşullarında tutulmuşlardır.

3.2.5. Tohumların çimlenme ortamına alınması

Tohumlar, bir kavanozda 3 tane olmak üzere toplam 120 tohum, aralarında mesafe bırakılarak, nemli pamuklu ortama aktarıldıktan sonra fotoperiyot koşullarında gelişimleri incelenmiştir.

3.2.6. Tohumdan çimlenen fidelerin sürgün gelişim ortamlarında kültüre alınması

In vitro koşullarda çimlendirilen *P. lentiscus* L. tohumlarından gelişen steril bitkiciklere ait sürgünler her bir kavanozda bir eksplant olacak şekilde, sürgün gelişim ortamlarını içeren kültür kavanozlarına aktarılmışlardır. Sürgün gelişimi için daha önce de belirtilen, Çizelge 3.2'deki farklı WPM ve MS ortamları kullanılmıştır.

3.2.7. Kültür koşulları

Kültürler, flouresan ışığında 4000 lux aydınlatmada, 16 saat aydınlık/8 saat karanlık fotoperiyotta ve $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta tutulmuşlardır.

3.2.8. Denemenin kurulması ve verilerin değerlendirilmesi

Araştırmamız, erkek bitkiden elde edilen nod eksplantları ile tohumlardan geliştirilen bitkiciklerin sürgün ve nod gelişimlerinin incelendiği iki ayrı deneme şeklinde kurulmuştur. Tek faktör olarak besin ortamlarının (Çizelge 3.2 ve 3.3) ele alındığı denememiz 3 tekerrürlü olarak, tesadüf parselleri deneme desenine göre oluşturulmuştur. Seçilen deneme desenine uygun olarak elde edilen verilerin değerlendirilmesinde TARİST istatistiksel analiz programı kullanılmıştır. Tüm değerlendirmelerde farklılıkların önem düzeylerinin ve boyutlarının saptanabilmesi için asgari önemli fark (AÖF) testi uygulanmıştır. (Açıkgöz, 1998).

Çalışmada, oransal olarak ifade edilen verilerin değerlendirilmesinde “0” değerleri içeren verilere log transformasyonu uygulanmıştır. Bu transformasyon tipinde sıfır değerlerinin her birine “1” değeri eklendikten sonra transformasyon yapılmıştır. Orijinal verilerin “1”den küçük olduğu durumlarda tüm veriler sabit bir sayı (100) ile çarpılarak negatif sonuç önlenmiş ve 10 tabanlı logaritma uygulanmıştır (Açıkgöz, 1988).

4. BULGULAR

4.1. Tohumlarda gözlenen kontaminasyon durumu

Pamuklu ortamda çimlenen tohumlarda kontaminasyona rastlanmamıştır.

4.2.P. *lentiscus* L. bitkisinden kültüre alınan eksplantlarda kontaminasyon durumu

Çalışmamızdaki yıllık denemelerde, ana bitkiden her bir deneme için farklı sayıda eksplant kullanılmıştır. Eksplantlar besin ortamına dik olacak şekilde yerleştirilmiştir. Farklı besin ortamlarında değişik sterilizasyon yöntemi uygulandığından, besin ortamlarına göre sterilizasyon yöntemleri Çizelge 4.1, Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3’de ayrı ayrı ifade edilmiştir. I. Sterilizasyon yöntemi sonucu elde edilen %40,6 oranındaki kontamine bitki sayısı çok fazla olduğundan II. sterilizasyon yöntemi uygulanmış, ancak daha düşük oranda (%18,6) kontaminasyon oluşmasına rağmen, bitkilerde kararma oranının (%59,3) oldukça arttığı gözlenmiştir. Daha sonra uygulanan III. sterilizasyon yöntemi ile elde edilen %28,7’lik kontaminasyon oranı, sterilizasyonun yanı sıra kararan eksplant oranında (%26,3) da azalma sağladığından, çalışmalara bu yöntemle devam edilmiştir.

Sterilizasyon yöntemlerine göre, sürgün eksplantlarında gözlenen kontaminasyon ve kararma belirtilerine ait yüzde grafikleri Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3’de gösterilmiştir.

Erkek bitkiden elde edilen nod eksplantları için kullanılan besin ortamlarında görülen eksplant kararmaları ile ilgili olarak yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda, ortamlar arasındaki fark I. ve II. sterilizasyon yöntemlerine göre önemsiz bulunmuştur ($F = 0,595$; $F = 0,051$). III. sterilizasyon yönteminde ise besin ortamları arasında %5 önem seviyesinde fark olduğu belirlenmiştir ($F = 5,758$). İstatistiksel açıdan ilk grupta yer alan 8 no'lu besin ortamı (3 mg/l BAP içeren WPM ortamı) %56,7 oranı ile en fazla kararmanın gözleendiğı ortam olmuştur. III. sterilizasyon yönteminin kullanıldığı diğer besin ortamları ise ikinci grupta yer almaktadırlar. 9 no'lu besin ortamında % 34,6, 6 no'lu besin ortamında %33,3, 10 no'lu besin ortamında %29,7 oranında kararma gözlenmiştir. 7 no'lu besin ortamı (5 mg/l BAP ve 0,1 g/l askorbik asit içeren WPM ortamı) ise %26,7 oranı ile en az kararmanın gözleendiğı ortamdır ($LSD = 15,585$).

Çizelge 4.1. Sürgün nod eksplantlarına uygulanan I. sterilizasyon yöntemi sonucunda eksplantların durumları.

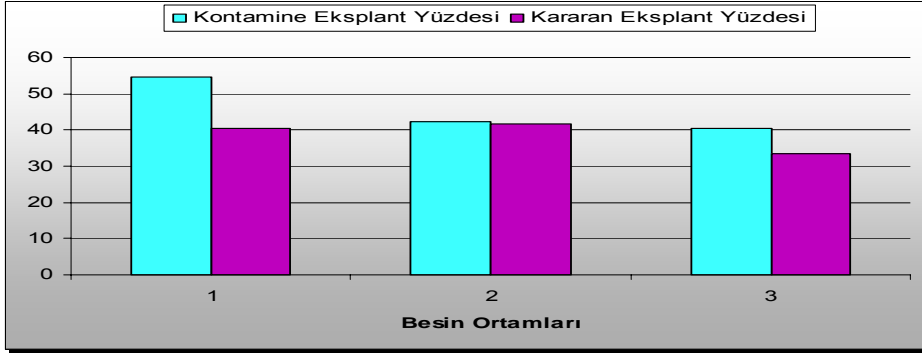
Besin Ortamları	Kültüre Alınan Eksplant Sayısı			Kontamine Eksplant Sayısı			Kontamine Eksplant Yüzdesi (%)				Kararan Eksplant Sayısı			Kararan Eksplant Yüzdesi (%)			
	T. 1	T.2	T.3	T. 1	T.2	T.3	T.1	T.2	T.3	Ort.	T.1	T.2	T.3	T.1	T.2	T.3	Ort.
1	28	28	28	14	15	17	50	53,6	60,7	54,7	12	12	10	42,9	42,9	35,7	40,5
2	48	48	48	24	21	16	50	43,8	33,3	42,4	18	18	24	37,5	37,5	50	41,6
3	23	23	23	9	9	10	39,1	39,1	43,5	40,6	6	5	12	26,1	21,7	52,2	33,3

Çizelge 4.2. Sürgün nod eksplantlarına uygulanan II. sterilizasyon yöntemi sonucunda eksplantların durumları.

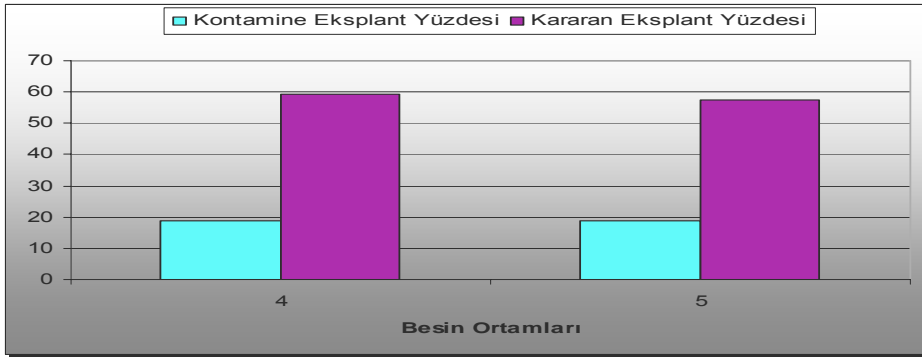
Besin Ortamları	Kültüre Alınan Eksplant Sayısı			Kontamine Eksplant Sayısı			Kontamine Eksplant Yüzdesi (%)				Kararan Eksplant Sayısı			Kararan Eksplant Yüzdesi (%)			
	T. 1	T.2	T.3	T. 1	T.2	T.3	T.1	T.2	T.3	Ort.	T.1	T.2	T.3	T.1	T.2	T.3	Ort.
4	50	50	50	8	8	12	16	16	24	18,6	29	27	33	58	54	66	59,3
5	25	25	25	6	5	3	24	20	12	18,6	18	11	14	72	44	56	57,3

Çizelge 4.3. Sürgün nod eksplantlarına uygulanan III. sterilizasyon yöntemi sonucunda eksplantların durumları.

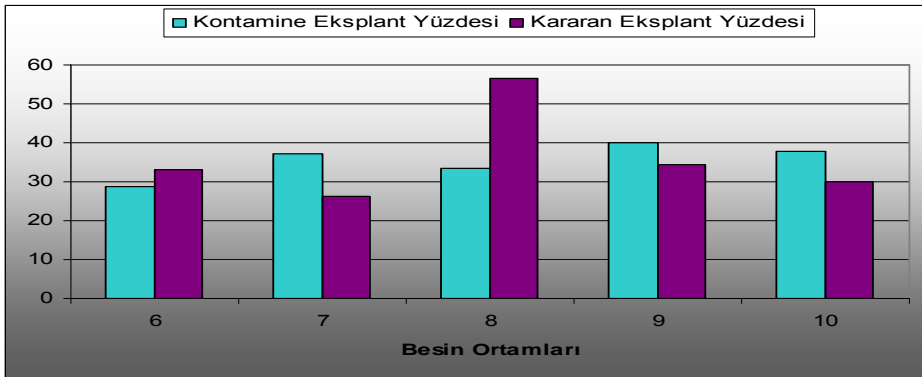
Besin Ortamları	Kültüre Alınan Eksplant Sayısı			Kontamine Eksplant Sayısı			Kontamine Eksplant Yüzdesi (%)				Kararan Eksplant Sayısı			Kararan Eksplant Yüzdesi (%)			
	T. 1	T.2	T.3	T. 1	T.2	T.3	T.1	T.2	T.3	Ort.	T.1	T.2	T.3	T.1	T.2	T.3	Ort.
6	161	161	161	48	44	47	29,8	27,3	29,1	28,7	61	48	51	37,9	29,8	31,7	33,1
7	43	43	43	20	15	13	46,5	34,8	30,2	37,1	9	14	11	20,9	32,5	25,6	26,3
8	20	20	20	6	6	8	30	30	40	33,3	14	12	8	70	60	40	56,6
9	30	30	30	14	10	12	46,4	33,3	40	39,9	8	12	11	26,6	40	36,6	34,4
10	30	30	30	11	9	14	36,6	30	46,6	37,7	10	7	10	33,3	23,3	33,3	29,9



Şekil 4.1. Sürgün nod eksplantlarına uygulanan I. sterilizasyon yöntemi sonucunda eksplantlardaki kontaminasyon ve kararma durumları.



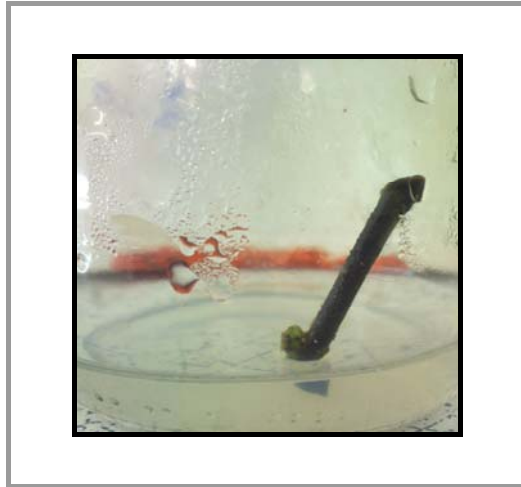
Şekil 4.2. Sürgün nod eksplantlarına uygulanan II. sterilizasyon yöntemi sonucunda eksplantlardaki kontaminasyon ve kararma durumları.



Şekil 4.3. Sürgün nod eksplantlarına uygulanan III. sterilizasyon yöntemi sonucunda eksplantlardaki kontaminasyon ve kararma durumları.

4.3.Kültüre alınan sürgün nod eksplantlarında görülen gelişmeler

Çalışmamızda yapılan denemeler sonucunda, bitkinin yıl boyunca fenolik salgılamasından dolayı ortam ve bitki kararmasının (Şekil 4.6) önüne geçilememiştir. Kültür ortamına aktarılan sürgün nod eksplantlarında, ortalama 1 hafta içinde eksplant kararması gözlenmiştir. En iyi sonuçlar, 0,1 g/l Askorbik asit ve 0.01 g/l PVP 40 adsorbanlarını içeren ortamlarda elde edilmiştir. 3 mg/l BAP ve 0,1 g/l askorbik asit içeren WPM ortamında canlı kalan (kararma gözlenmeyen, yeşil kalan) bitki sayısı en fazladır. Çizelge 4.4’de ortamların bitki büyüme düzenleyicisi ve Çizelge 4.5’de adsorban madde çeşit ve miktarlarına göre canlılık oranları gösterilmiştir. Sadece Haziran ayında yapılan denemelerde sürgün (Şekil 4.4, 4.5) oluşumu gözlenmiştir. Ancak alt kültürlerde canlılıklarını yitirmişlerdir.



Şekil 4.4. *P. lentiscus* L’de elde edilen küçük sürgün oluşumu.



Şekil 4.5. *P. lentiscus* L’de elde edilen küçük sürgün oluşumu.

Sürgün eksplantlarında, besin ortamlarının içerdiği bitki büyüme düzenleyicilerinin (BAP) eksplantlardaki kararma ($F= 0,784$), canlılık ($F= 0,926$) ve sürgün gelişimi ($F= 0,830$) üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada, yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, besin ortamları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır.



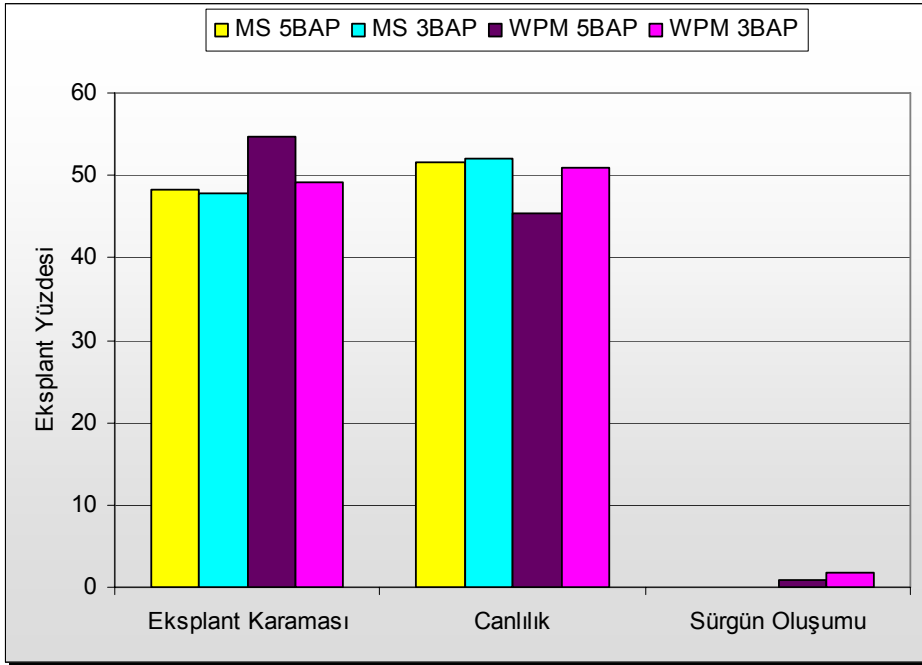
Şekil 4.6. *P. lentiscus* L’de gözlenen eksplant kararması.

Çizelge 4.4. Farklı besin ortamları ve BAP dozlarının, *P. lentiscus* L. sürgün eksplantlarında sürgün rejenerasyonu üzerine etkisi.

BESİN ORTAMI	BAP DOZLARI (mg/l)	EKSPLANT SAYISI (ADET)			KARARAN EKSPLANT SAYISI (ADET)			E.K.* (%)	CANLILIK GÖSTEREN EKSPLANT SAYISI (ADET)			CANL.** (%)	SÜRGÜN OLUŞTURAN EKSPLANT SAYISI (ADET)			S.O.*** (%)
		T.1	T.2	T.3	T.1	T.2	T.3		T.1	T.2	T.3		T.1	T.2	T.3	
MS	5	124	124	124	69	66	45	48,3	76	59	57	51,6	0	0	0	0
MS	3	23	23	23	12	10	11	47,9	11	13	12	52,1	0	0	0	0
WPM	5	120	120	120	65	64	68	54,7	55	56	52	45,3	0	0	3	0,8
WPM	3	145	145	145	70	73	71	49,1	75	72	74	50,9	1	2	0	1,8

*Eksplant Kararması, **Canlılık, ***Sürgün Oluşumu.

Farklı besin ortamlarındaki BAP konsantrasyonları ve adsorban maddelerin, *P. lentiscus* L.'de sürgün rejenerasyonu üzerine etkisine ait yüzde grafikleri Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de gösterilmiştir.



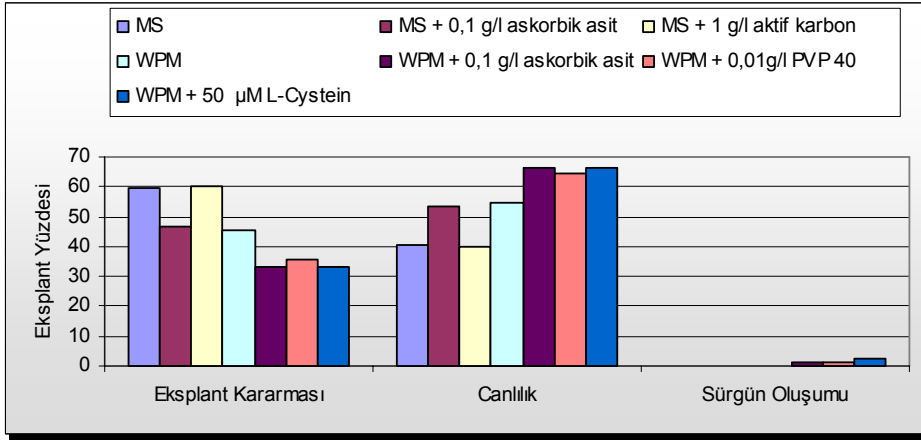
Şekil 4.7. Farklı besin ortamları ve BAP konsantrasyonlarının *P. lentiscus* L. sürgün nod eksplantlarında sürgün rejenerasyonu üzerine etkisi.

Sürgün eksplantlarında, besin ortamlarına ilave edilen adsorban madde miktar ve çeşitlerine göre gözlenen sürgün gelişimleri ($F= 0,732$) ve eksplant kararması ($F=1,461$) için yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, besin ortamları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır.

Çizelge 4.5. Farklı besin ortamları ve adsorban madde miktarlarının *P. lentiscus* L. sürgün eksplantlarında sürgün rejenerasyonu üzerine etkisi.

BESİN ORTAMI	ADSORBAN MADDE MİKTARLARI	EKSPLANT SAYISI (ADET)			KARARAN EKSPLANT SAYISI (ADET)			E.K.* (%)	CANLILIK GÖSTEREN EKSPLANT SAYISI (ADET)			CANL.** (%)	SÜRGÜN OLUŞTURAN EKSPLANT SAYISI (ADET)			(%).***.O.S
		T.1	T.2	T.3	T.1	T.2	T.3		T.1	T.2	T.3		T.1	T.2	T.3	
MS	-	51	51	51	30	33	28	59,5	21	18	23	40,5	0	0	0	0
MS	0.1 g/l A.A.~	63	63	63	35	37	30	46,6	28	26	33	53,4	0	0	0	0
MS	1 g/l A. K.~~	50	50	50	31	30	29	60	19	20	21	40	0	0	0	0
WPM	-	106	106	106	56	41	47	45,3	50	65	59	54,7	0	0	0	0
WPM	0.1 g/l A.A.	65	65	65	23	20	22	33,3	42	45	43	66,7	0	0	3	1,5
WPM	50 µM L-Cystein	30	30	30	11	12	9	35,6	19	18	21	64,4	1	0	0	1,1
WPM	0,01 g/l PVP40	30	30	30	10	7	13	33,3	20	23	17	66,6	0	2	0	2,2

*Eksplant Kararması, **Canlılık, ***Sürgün Oluşumu, ~ Askorbik asit, ~~ Aktif karbon



Şekil 4.8. Farklı besin ortamları ve adsorban madde miktarlarının *P. lentiscus L.* sürgün nod eksplantlarında sürgün rejenerasyonu üzerine etkisi.

Adsorban madde içeren besin ortamlarında kültüre alınan sürgün eksplantlarının canlılık oranı için yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, besin ortamları arasındaki fark %1 seviyesinde önemli bulunmuştur ($F= 12,831$). 0,01 g/l PVP 40, 50µM L-Cystein ve 0,1 g/l askorbik asit içeren WPM ortamları sırasıyla %66,7, %66,6 ve %64,4 oranları ile istatistiksel açıdan canlılığın en fazla görüldüğü ilk grupta yer almaktadır. 0,1 g/l askorbik asit içeren MS ortamı ise %54,7 oranı ile ikinci gruptadır. Adsorban madde içermeyen WPM ve MS ortamları %46,1 ve %42,5 oranları ile istatistiksel açıdan üçüncü grupta yer alırken, 1 g/l aktif karbon içeren MS ortamı %40 oranı ile dördüncü grupta bulunmaktadır ($LSD=13,750$).

Erkek bitkiden alınan sürgün nod eksplantlarının kültüre alındığı besin ortamlarına ilave edilen adsorban maddelerin, eksplantlardaki

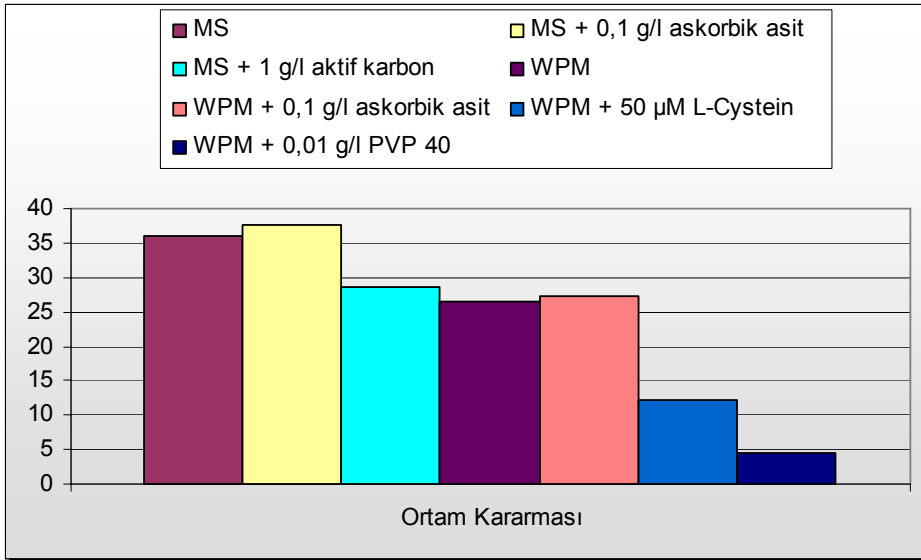
fenolik salgılanmasına olan etkisi de araştırılmıştır. Buna göre, fenolik salgılanmasından dolayı kararın ortam sayıları Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Adsorban maddelerin (askorbik asit, aktif karbon, PVP 40, L-Cystein), sürgün eksplantlarından kaynaklanan ortam kararına ilişkin yüzde grafiği Şekil 4.9'dadır. Fenolik salgılanmasından kaynaklanan ortam kararının gözlemlendiği ve gözlenmediği durumlar Şekil 4.10a ve Şekil 4.10b'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. *P.lentiscus* L. sürgün nod eksplantlarından kaynaklanan ortam kararlarına adsorban maddelerin etkisi.

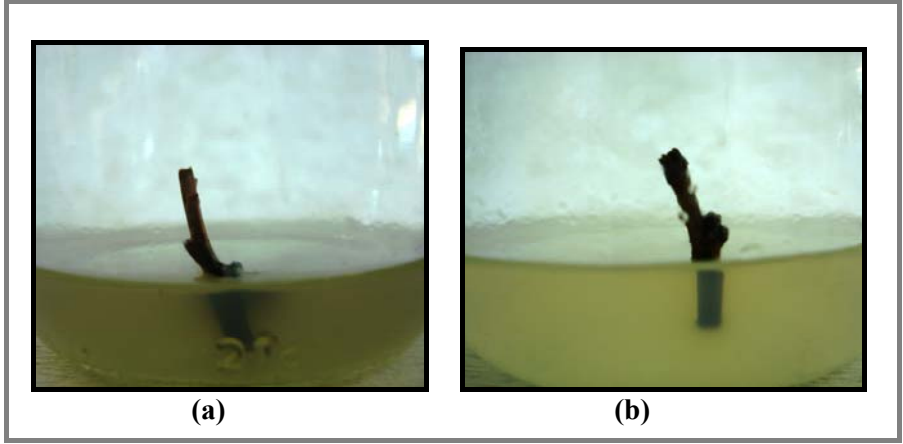
BESİN ORTAMLARI	ADSORBAN MADDE MİKTARLARI	BESİN ORTAMLARI İÇEREN KÜLTÜR KAP SAYILARI (ADET)			EKSPLANT TRANSFERİNDEN SONRA ORTAMLARIN KARARDIĞI KÜLTÜR KABI SAYISI (ADET)			O. K.*** (%)
		T.1	T.2	T.3	T.1	T.2	T.3	
MS	-	51	51	51	13	19	23	35,9
MS	0.1 g/l A.A*	63	63	63	26	26	23	37,6
MS	1 g/l A. K.**	50	50	50	11	15	17	28,7
WPM	-	106	106	106	30	25	29	26,4
WPM	0.1 g/l A.A.	65	65	65	20	19	14	27,2
WPM	50 µM L-Cystein	30	30	30	3	2	6	12,2
WPM	0,01 g/l PVP40	30	30	30	2	1	1	4,4

*Askorbik asit, ** Aktif karbon, *** Ortam Kararması.

Sürgün eksplantlarında, eksplantlardan kaynaklanan ortam kararmasına adsorban maddelerin etkisinin incelendiği çalışmada, yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, besin ortamları arasındaki fark %1 seviyesinde önemli bulunmuştur ($F= 11,956$). 0,1 g/l askorbik asit, 1 g/l aktif karbon ve adsorban madde içermeyen MS ortamları ile 1 g/l aktif karbon içeren WPM ortamı istatistiksel açıdan en çok ortam kararmasının görüldüğü ilk grupta yer almaktadır (%37,6; %35,9; %28,6; %27,2). Adsorban madde içermeyen WPM ortamı %26,4 oranı ile ikinci grubun içindedir. 50 μM L-Cystein içeren WPM ortamı %12,2 oranı ile istatistiksel açıdan en fazla kararmanın görüldüğü üçüncü grup olarak görülürken, %4,4 oranı ile 0,01 g/l PVP 40 içeren WPM ortamı en az ortam kararmasının görüldüğü, istatistiksel açıdan dördüncü grup olarak belirlenmiştir ($LSD= 14,768$).



Şekil 4.9. Farklı besin ortamları ve adsorban maddelerin *P. lentiscus* L. sürgün eksplantlarından kaynaklanan ortam kararması üzerine etkisi.



Şekil 4.10. (a) *P. lentiscus* L. sürgün eksplantlarında fenolik salgılanmasından kaynaklanan ortam kararmasının gözlemediği ve (b) ortam kararmasının gözlemediği durumlar.

4.4.Kültüre alınan tohumlarda görülen gelişmeler

Uygulanan sterilizasyon yöntemi sonucunda çimlendirilmek üzere kültüre alınan tohumlardan, % 67,5 çimlenme oranı sağlanmıştır (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Kültüre alınan tohumlarda çimlenme durumları.

	TOHUM SAYISI			
	Tek. 1	Tek. 2	Tek. 3	Ort.
Toplam Tohum Sayısı	40	40	40	40
Çimlenen Tohum Sayısı	31	26	28	28,3
Çimlenen Tohum Yüzdesi	77,5	65	70	67,5

Pamuklu ortamda kültüre alınan tohumlarda 1 hafta sonra çimlenme gözlenmiş (Şekil 4.11) ve hemen sürgün gelişim ortamlarına aktarılmışlardır.



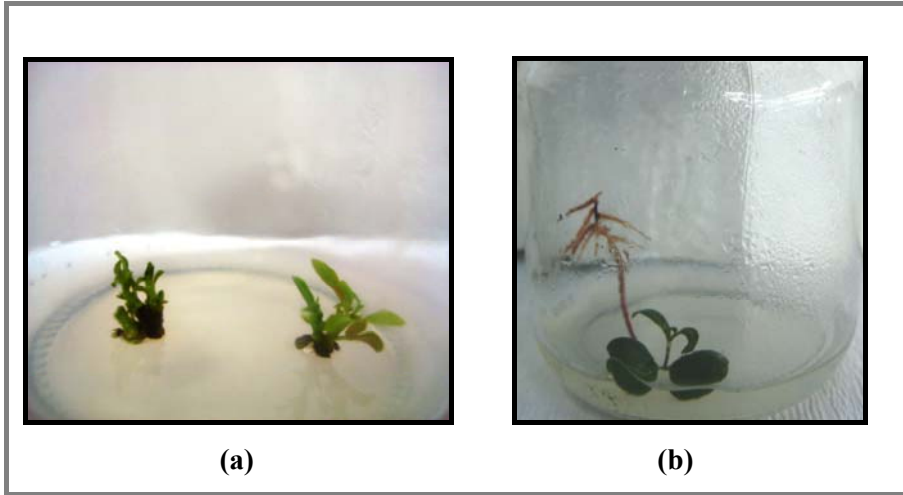
Şekil 4.11. Pamuklu ortamda çimlenen 1 haftalık *P. lentiscus* L bitkisi

4.5. Çimlenen *Pistacia lentiscus* L. bitkilerinde *in vitro* sürgün gelişimi

Çimlendirme ortamlarında kültüre alınan tohumlardan 1 hafta sonra gelişen sakız bitkilerine ait nodal eksplantlar kesilerek, sürgün geliştirme ortamlarına (Çizelge 3.2) aktarılmışlardır. Bu eksplantlarda 3 hafta sonra yapılan gözlemler sonucunda farklı gelişimler gözlenmiştir. WPM 1 ortamındaki bitkiler (Şekil 4.12a) MS 1 ortamındaki bitkilere (Şekil 4.12b) göre daha yavaş gelişim gösterirken, MS 2 ortamında bulunan bitkilerde (Şekil 4.13a) çoklu sürgünler elde edilmiştir. Oluşan çoklu sürgünler koyu yeşil renkte, ve 1-2cm uzunluklarındadır. WPM 2 ortamındaki bitkilerde (Şekil 4.13b) de kök gelişimleri gözlenmiştir.



Şekil 4.12. (a) WPM 1 ortamında gelişen tohum kökenli *P.lentiscus* L. sürgünleri **(b)** MS 1 ortamında gelişen tohum kökenli *P. lentiscus* L. sürgünleri.



Şekil 4.13. (a) MS 2 ortamında gelişen tohum kökenli *P. lentiscus* L. çoklu sürgüleri, **(b)** WPM 2 ortamında gelişim gösteren tohum kökenli *P. lentiscus* L. kökleri.

Sürgün gelişim ortamlarında kültüre alınan eksplantlarda oluşan sürgün ve nod sayıları Çizelge 4.8’de belirtilmiştir. Ayrıca Şekil 4.14’de, eksplantlardaki ortalama sürgün ve nod sayıları gösterilmiştir.

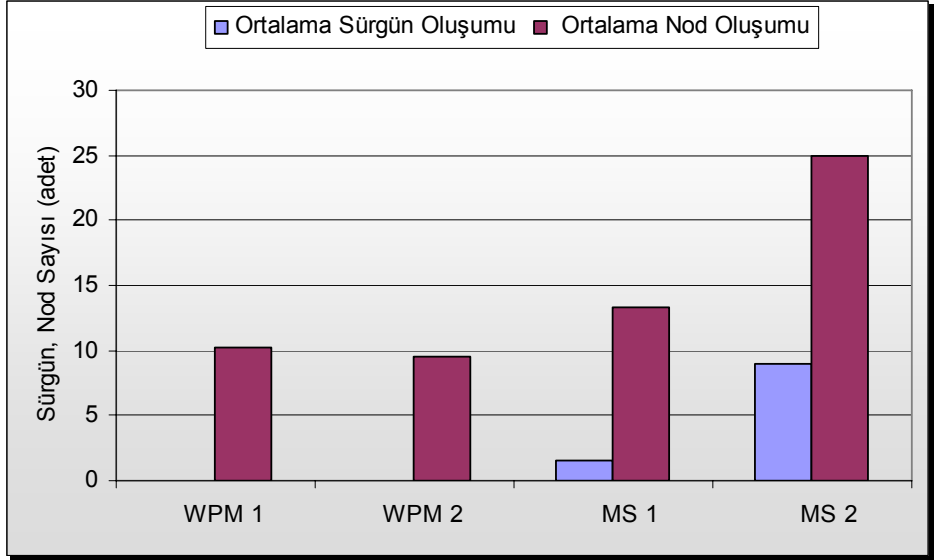
Tohumun çimlenmesiyle elde edilen nod eksplantlarında kullanılan besin ortamlarının, sürgün oluşumu üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, ortamlar arasındaki fark %5 seviyesinde önemli bulunmuştur ($F = 4,676$). 0,5 mg/l BAP içeren MS 2 ortamı, ortalama eksplant başına 1,3 sürgün sayısı ile en fazla sürgün oluşumunun gözleendiği birinci grupta yer almaktadır. 0,1 mg/l BAP içeren MS1 ortamı 0,5 ortalama sürgün sayısı ile istatistiksel açıdan ikinci gruptadır. 0,5 mg/l IBA ve 0,5 mg/l BAP içeren WPM 2 ve WPM 1 ortamlarında sürgün oluşumu gözlenmemiştir. ($LSD=0,509$)

Çizelge 4.8. Sürgün gelişim ortamlarında kültüre alınan nod eksplantlarında görülen gelişmeler.

Besin Ortamları	Toplam Bitki Sayısı			Eksplant Başına Oluşan Sürgün Sayısı* (adet)				Eksplant Başına Oluşan Nod Sayısı ** (adet)			
	T.1	T.2	T.3	T.1	T.2	T.3	Ort.	T.1	T.2	T.3	Ort.
WPM 1	7	7	7	0	0	0	0	1,8	1,4	1,1	1,5
WPM 2	7	7	7	0	0	0	0	1,7	1	1,4	1,4
MS 1	7	7	7	0,3	0,1	0	0,2	2,1	2	1,6	1,9
MS 2	7	7	7	1,3	1	1,6	1,3	3	3,7	4	3,6

* 3. haftada tohum kökenli nod eksplantlarında, eksplant başına oluşan sürgün sayıları.

** 3. haftada tohum kökenli nod eksplantlarında, eksplant başına oluşan toplam nod sayıları.



Şekil 4.14. Sürgün ortamlarında kültüre alınan tohum kökenli eksplantlarda görülen gelişmeler.

Sürgün gelişimi için kültüre alınan tohum kökenli nodal eksplantlarda 3 hafta sonra yapılan gözlemler sonucunda elde edilen sürgünlerdeki nod sayılarına yönelik yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, ortamlar arasında fark %1 seviyesinde önemli bulunmuştur ($F = 20,294$). Buna göre 0,5 mg/l BAP içeren MS 2 ortamı 3,6 ortalama nod sayısı (eksplant başına nod oluşumu) ile en fazla nod gelişiminin gözlemlendiği birinci grupta yer almıştır. 0,1 mg/l BAP içeren MS 1 ortamı ile 0,5 mg/l BAP ve 0,5 mg/l IBA içeren WPM 1 ve WPM 2 ortamları sırasıyla 1,9, 1,5 ve 1,4 ortalama nod sayıları ile istatistiksel açıdan ikinci grubun içindedir. (LSD: 1,072).

4.6. Çimlenen *Pistacia lentiscus* L. bitkilerinde *in vitro* kök gelişimi

Tohum kökenli *P. lentiscus* L. çoklu sürgünleri, 2 haftalık alt kültürlemelerle en iyi gelişim gösterdikleri 0,5 mg/l BAP içeren MS besin ortamlarında canlılıklarını sürdürmüşlerdir. Sürgünlerin, köklenme ortamlarına aktarılmadan önce 0,1 mg/l GA₃ içeren MS besin ortamlarında boylarının uzaması sağlanmıştır. Yaklaşık 10 gün sonunda yeterli boya (ort. 3,5 cm) ulaşan sürgünler (Şekil 4.15), 1 mg/l IBA ve 2 mg/l IBA içeren MS ortamlarına aktarılmıştır. İki farklı köklenme ortamlarına aktarılan 15'er materyalden, 1 mg/l IBA içeren MS ortamındaki 8 tane eksplantta, 15 gün sonra kök oluşumları (Şekil 4.16) gözlenmiştir. Bu sonuç, %53,3'lük bir başarıyla köklenmenin sağlanabildiğini göstermiştir.



Şekil 4.15. *P. lentiscus* L. sürgünlerinde GA₃ ilavesinden sonra gözlenen boy uzaması.



Şekil 4.16. *P. lentiscus* L. sürgünlerinde gözlenen kök oluşumları.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

P. lentiscus L. bitkisinden alınan sürgün eksplantları için 3 farklı sterilizasyon yöntemi uygulanmıştır. Sürgün eksplantlarına uygulanan sterilizasyon yöntemleri arasında en az kontaminasyona neden olan yöntemin II no'lu yöntem olmasına rağmen bitkilerde gözlenen kararma oranının çok artmış olması, canlılığını yitiren bitki sayısının artmasına neden olmuştur. III no'lu sterilizasyon yöntemiyle sağlanan %28,7 kontaminasyon oranı en başarılı sonucu vermiştir.

Sterilizasyondaki sorunların temel nedeni olarak; mevsim farklılığı ve eksplant olarak kullanılan ağacın fizyolojik durumu düşünülmektedir. Ayrıca Garcia (1984), *Pistacia* türleri ile yaptığı çalışmada, olgun *Pistacia*'larda bakteriyel ve fungal problemlerin yok edilmesinin büyük bir sorun olduğunu ifade etmiştir (Bustamante-Garcia 1984).

Kültür ortamına aktarılan *P. lentiscus* L. sürgün eksplantları için 10 farklı sürgün gelişim ortamı kullanılmıştır. En fazla sürgün gelişimi ve canlılık oranı 3 mg/l BAP ve 0,1 g/ Askorbik asit içeren WPM ortamı ile 3 mg/l BAP ve 0,01 g/l PVP 40 içeren WPM besin ortamlarında sağlanmıştır. Sırasıyla %66,7 ve %66,6 canlılık oranı ve % 1,5 ve %2,2 sürgün gelişim oranı sağlanmıştır.

Kuddar (2007), yaptığı çalışmasında eksplantlara, %70'lik etil alkol (10 dakika) ve %5'lik NaOCl (7 dakika) uygulamasını içeren sterilizasyon yöntemiyle %60 başarı elde edilmiştir. Ayrıca 5 mg/l BAP

ve 45 g sakkaroz içeren MS ortamında %10'luk başarı ile en fazla sürgün oluşumu sağlanmıştır.

P. lentiscus L. sürgün eksplantlarının fenolik salgılamasından dolayı istenmeyen bir durum olan ortam kararması meydana gelmiştir. Ortamlarda adsorban madde içeriklerine göre en az ortam kararması (%4,4), 0,01 g/l PVP 40 içeren WPM ortamında sağlanmıştır. Kurulan denemelerde eksplant kararmasının ve eksplanttan kaynaklanan besin ortamı kararmasının birbirine paralel olduğu da gözlenmiştir.

Yıl boyunca bitkilerin fenolik salgılaması ve yaşlı bitkilerin daha yüksek oranda fenolik bileşik içermesinden dolayı eksplant ve ortam kararmasının önüne geçilememiş ve çok düşük oranlarda sürgün gelişimi ve canlılık sağlanabilmiştir. Çalışmamızda 2 haftada bir alt kültüre alınan steril eksplantlar, canlılıklarını kaybetmişlerdir.

Sakız bitkisi tohumlarının, *in vitro* koşullarda çimlendirilmesi için yapılan denemede, pamuklu ortamda %67,5 çimlenme başarısı elde edilmiştir. Bir hafta sonra pamuklu ortamlarda çimlenme gösteren tohumlardan gelişen steril bitkiler, sürgün gelişim ortamlarına aktarılmıştır.

Tohum kökenli nod eksplantlarında, sürgün gelişimi için farklı konsantrasyonlarda BAP ve IBA içeren MS ve WPM ortamları kullanılmıştır. BAP içeren tüm ortamlarda sürgün gelişimi sağlanmıştır. Elde edilen bulgulara göre, 0,5 mg/l BAP içeren MS ortamlarında en iyi sürgün ve nod gelişimi gerçekleşmiştir. Ortalama eksplant başına 1,3

sürgün sayısı ile 3,6 nod sayısı elde edilmiştir. 0,1 mg/l GA₃ içeren MS besin ortamlarında boyları uzayan bitkicikler, 1 mg/l IBA içeren MS besin ortamına aktarılmış; 15 gün sonra %53,3'lük bir başarı ile kök oluşturmuşlardır.

Geleneksel çelik yöntemi ile sakız bitkisinin çoğaltılması hem köklenmenin uzun sürmesi, hem de başarı oranının düşük olmasından dolayı tercih edilmemektedir. Ayrıca, adventif kök oluşumunun olmaması veya zayıf oluşması nedeniyle çeliklemede sorunlar olduğu ifade edilmiştir (Mascarello et al., 2007). Ancak, İsfendiyaroğlu (1999) sakız ağacının *in vivo* çelikle üretilmesi ile ilgili yaptığı çalışmalarda, sakız ağacının bir yıllık sürgünlerinden hazırladığı çelikleri değişik hormon kombinasyonları ile muamele ederek sisleme metoduyla köklendirmiş ve iki yıllık denemesinin ilk senesinde, Şubat ayındaki çeliklerde %76,6 köklenme başarısı sağlamıştır.

Pistacia türlerinde bitki çiçeklenene kadar cinsiyeti anlaşılabilir ve üretkenlik yaşı da 5 yıldan önce değildir. Ayrıca erkek bitkilerin sakız üretim potansiyeli dişilerden çok daha fazladır. Bu nedenle ticari açıdan erkek ağaç daha çok önem kazanmıştır. Hormaza ve ark., (1994), *Pistacia vera* bitkisine ait cinsiyete bağlı moleküler markörleri bulk segregant analizi ile belirlemişlerdir. Elde edilen bir RAPD markörü (OPO08945) diş genotipinde mevcutken, erkek genotipinde rastlanmamıştır. Daha sonra Kafkas et al., (2001) yaptığı çalışmada yabancı *Pistacia* türlerine ait cinsiyete bağlı RAPD markörlerini araştırmışlardır. Yapılan her iki çalışmada da belirlenen RAPD

markörleri tekrarlı sekanslıdır ve düşük frekansa cinsiyete bağlı polimorfizm gözlenmiştir. Bu bilgiler ışığında, tohumdan çimlendirerek elde ettiğimiz sürgün eksplantlarının bu markörleri taşıyıp taşımadığı daha sonra yapılacak araştırmalar kapsamında genetik testler yardımıyla belirlenebilir.

Araştırmamızda, erkek bitkiden elde edilen sürgün eksplantlarında %2,2 oranında sürgün oluşumu sağlanmış, ancak sürgün gelişimi sağlanamamıştır. Ayrıca, *Pistacia lentiscus* var. *L. chia* ağacından kaynaklanan fungal ve bakteriyel kontaminasyonların ortaya çıkması ve fenolik bileşiklerin oluşması, doku kültürlerinde rejenerasyon açısından büyük sorunlar yaratmaktadırlar. Bu sorunları azaltmak üzere, doku kültürüne uygun genotipler kullanılarak, başarılı modifiye ortamların ve kültür koşullarının belirlenmesine yönelik araştırmaların yapılması yerinde olacaktır.

KAYNAKLAR

Akay S., Kıvçak B., 2004, *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. *chia* ve *Pistacia terebinthus* Bitkilerinin Yaprakları Üzerinde Anatomik Çalışmalar, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, ISBN 975-94077-2-8

Anonim 2008a, http://www.ibiblio.org/pfaf/cgi-bin/arr_html?Pistacia+lentiscus

Anonim 2008b, http://www.nutricology.com/proddesc/discuss/NC_MasticGumPDFProductSheet031605.pdf

Barghchi M., Alderson P. G., 1983, *In vitro* propagation of *Pistacia* species, Acta Hort. (ISHS) 131:49-60.

Boztok Ş., 1999, Sakız Yetiştiriciliği, Ege Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi, İzmir.

Browicz K., 1986, *Pistacia lentiscus* cv. Chia (Anacardiaceae) on Chios island, Pl. Syst. Evol. 155, 189 -195.

Bustamante-Garcia M. A., 1984, Micropropagation and Rejuvenation of *Pistacia* Species and Mechanism by which Light Influences Root Initiation, Phd Thesis, University of California, Davis USA.

KAYNAKLAR (devam)

- Chryssavgi G., Vassiliki P., Athanasios M., Kibouris T., Komaitis M.,** 2007, Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts, *Food Chemistry*, 107 (2008) 1120–1130.
- Compton M. E., Preece J. E.** 1986, Exudation and Explant Establishment. Newsletter IAPTC, 50: 9-18.
- Congiu R., Falconieri D., Marongiu B., Piras A., Porcedda S.,** 2001, Extraction and isolation of *Pistacia lentiscus* L. essential oil by supercritical CO₂, *Flavour Fragr. J.* 17: 239–244.
- Correia1 O., Barradas M. C. D.,** 2000, Ecophysiological differences between male and female plants of *Pistacia lentiscus* L., *Plant Ecology* 149: 131–142.
- Cortina J., Green J.J.,Baddeley J. A., Watson C. A.,** 2007, Root morphology and water transport of *Pistacia lentiscus* seedlings under contrasting water supply: A test of the pipe stem theory, *Environmental and Experimental Botany* 62, 343–350.
- Doğan Y., Başlar S., Aydın H., Mert H. H.,** 2003, A study of the soil-plant interactions of *Pistacia lentiscus* L. distributed in the western Anatolian part of Turkey, *Acta Bot. Croat.* 62 (2), 73–88.

KAYNAKLAR (devam)

- Fascella G., Airò M., Zizzo G., Ruffoni B.,** 2004, Preliminary studies on *in vitro* cultivation of lentisk (*Pistacia lentiscus* L.), Italus Hortus (Vol. 11) (No. 4) 141–143.
- Fayos P. G., Verdu M.,** 1998, Soil seed bank, factors controlling germination and establishment of a Mediterranean shrub: *Pistacia lentiscus* L., Acta Oecologica 19 (4), 351-366.
- He M., Chen W., Zhang P., Jiang A., Fan W., Yuan H., Liu W., Zhang J.,** 2007, Gum mastic increases maspin expression in prostate cancer cells, Acta Pharmacol; 28 (4): 567–572.
- Hormaza J. I., Dollo L., Polito V. S.,** 1994, Identification of a RAPD marker linked to sex determination in *Pistacia vera* using Bulk Segregant Analysis. Theoretical and Applied Genetics, 89: 9–13.
- Hu C.Y., Wang P. J.,** 1983, Handbook of Plant Cell Culture: Techniques for Propagation and Breeding. Vol. 1. Macmillan Publishing Co., pp. 177-227.
- İsfendiyaroğlu M.,** 1999, Sakız Ağacının (*Pistacia lentiscus* var. *chia*) Çelikle Çoğaltılması ve Kök Oluşumunun Anatomik-Fizyolojik İncelenmesi Üzerine Araştırmalar, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İzmir.

KAYNAKLAR (devam)

Kafkas S., Çetiner M. S., Perl-Treves R., 2001, RAPD markers linked to sex in the genus *Pistacia*, Cahiers Options Mediterraneennes V. 56, 1022-1379.

Kaliora A. C., Mylona A., Chiou A., Petsios D. G., Andrikopoulos N. K., 2005, Detection and Identification of Simple Phenolics in *Pistacia lentiscus* Resin, Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 27(2), 289-300.

Kıvçak B., Akay S., 2002, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. *chia* bitkilerinin sitotoksik aktivitesi, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, ISBN 975–94077–2–8.

Kıvçak B., Akay S., 2004, Quantitative determination of α -tocopherol in *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. *chia*, and *Pistacia terebinthus* by TLC-densitometry and colorimetry, Fitoterapia 76, 62–66.

Kıvçak B., Akay S., Demirci B., Baş K. H. C., Chemical Composition of Essential Oils from Leaves and Twigs of *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. *chia*, and *Pistacia terebinthus* from Turkey, 2004, Pharmaceutical Biology, Vol.42, Nos. 4–5, 360–366.

KAYNAKLAR (devam)

Kordalı S., Çakır A., Zengin H., Duru M. E., 2003, Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey, *Fitoterapia* 74, 164–167.

Kuddar Ö., 2007, Sakız Ağacı (*Pistacia lentiscus* L.)’nda *in vitro* Koşullarda Rejenerasyon Çalışmaları, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, Lisans Tezi, İzmir.

Kyte L., Kleyn J., 1996, Plants from test tubes: An Introduction to Micropropagation, 3rd edition, Timber Press, 240 p. ISBN 0-88192-361-3.

Ljubuncic P., Song H., Cogan U., Azaizeh H., Bomzon A., 2005, The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease, *Journal of Ethnopharmacology* 100 (2005) 198–204.

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, *Nutrition and Cancer*, 55(1), 86–93.

KAYNAKLAR (devam)

Lule S. U., Xia W., 2005, Food Phenolics, Pros and Cons., Food Reviews International, 21:367–388.

Mascarello C., Fascella G., Zizzo G.V., Mantovani E., Ruffoni B., 2007, *În vitro* and *În vivo* Propagation of *Pistacia lentiscus* L., Acta Hort.(ISHS) 764: 299-306.

Mattia C., Bischetti G. B., Gentile F., 2005, Biotechnical characteristics of root systems of typical Mediterranean species, Plant and Soil 278 (1-2), 23-32(10).

Nicotra A. B., Chazdon R. L., Montgomery R. A., 2003,. Sexes Show Contrasting Patterns of Leaf and Crown Carbon Gain In a Dioecious Rainforest Shrub, American Journal of Botany 90(3): 347–355.

Ostos J., Garrido R. L., Murillo J. M., Lopez R., 2007, Substitution of peat for municipal solid waste- and sewage sludge-based composts in nursery growing media: Effects on growth and nutrition of the native shrub *Pistacia lentiscus* L., Bioresource Technology 99, 1793–1800.

KAYNAKLAR (devam)

- Palacio S., Milla R., Marti G. M.,** 2005, A phenological hypothesis on the thermophilous distribution of *Pistacia lentiscus* L., *Flora* 200, 527–534.
- Palli E. M., Aronne G.,** 2000, Reproductive cycle in Southern Italy of *Pistacia lentiscus* (*Anacardiaceae*), *Plant Biosystems*, 134 (3) 365-371.
- Paraschos S., Magiatis P., Mitakou S., Petraki K., Kalliaropoulos A., Maragkoudakis P., Mentis A., Sgouras d., Skaltsounis A. L.,** 2006, *In Vitro* and *In Vivo* Activities of Chios Mastic Gum Extracts and Constituents against *Helicobacter pylori*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 51, No. 2, 551–559.
- Savidis T., Dafnis S., Weryzko-Chmielewska E.,** 1998, Distribution, development and structure of resin ducts in *Pistacia lentiscus* var. *chia* DUHAMEL, *Flora* 195, 83 -94.
- Taşkın T., İnal A.,** 2005, Sakız Ağacı (*Pistacia lentiscus* var. *chia* Duhamel)'nın *in vitro* Mikroçoğaltımı Üzerine Araştırmalar, *Anadolu J.of AARI* 15(1), 1- 15.

KAYNAKLAR (devam)

- Tokatlı Y., Özüdoğru E. A., Akçın A.,** 2004, *In vitro* response of pistachio nodal explants to silver nitrate, *Scientia Horticulturae* 106, 415–42.
- Triantafyllou A., Chaviaras N., Sergentanis T. N., Protopapa E., Tsaknis J.,** 2006, *Chios mastic* gum modulates serum biochemical parameters in a human population, *Journal of Ethnopharmacology* 111, 43–49.
- Verdu M., Fayos P. G.,** 1997, Female biased sex ratios in *Pistacia lentiscus* L. (*Anacardiaceae*), *Plant Ecology* 135: 95–101.

ÖZGEÇMİŞ

17.11.1981 İzmir doğumlu Deniz Şenyay orta ve lise öğrenimini İzmir'de tamamladıktan sonra 2000 yılında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandı. 2005 yılında lisans öğrenimini tamamlayarak mezun oldu. 2005 yılında Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik bölümünde yüksek lisansa başladı.