ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İpek DEĞİRMENCİ

UCB -1 ANTEPFISTIĞI ANACININ *IN VITRO* KOŞULLARDA KİTLESEL ÜRETİMİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ADANA-2017

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

UCB-1 ANTEPFISTIĞI ANACININ *IN VİTRO* KOŞULLARDA KİTLESEL ÜRETİMİ

İpek DEĞİRMENCİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI

Bu Tez 28/07/2017 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği ile Kabul Edilmiştir.

Prof. Dr. Ebru KAFKAS	Prof. Dr. SALİH KAFKAS	Prof.Dr.Bekir EROL AK
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümler tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

UCB-1 ANTEPFISTIĞI ANACININ *IN VİTRO* KOŞULLARDA KİTLESEL ÜRETİMİ

İpek DEĞİRMENCİ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Nesibe Ebru KAFKAS
Yıl: 2017, Sayfa: 83
Jüri : Prof. Dr. Nesibe Ebru KAFKAS
: Prof. Dr. Salih KAFKAS
: Prof. Dr. Bekir Erol AK

Pistacia türlerinin tohumlarında çimlenme oranının çok düşük düzeyde olduğu ve bu durumun özellikle fidan üreticileri için önemli bir problem olduğu bilinmektedir. Bu amaçla mikroçoğaltma teknikleri *Pistacia* türlerinin üretimi için büyük avantaj sağlamaktadır. Ülkemizde antepfıstığı fidanının *in vitro* koşullarda üretimi özellikle hastalıklardan ari olması ve çoğaltma katsayısının yüksek olması, bitki karantinasında kolaylık sağlaması yurt dışından ülkemize yeni getirilen anaç ya da çeşitlerin toprak hastalıkları ve zararlılarından ari olması bakımından büyük önem taşımaktadır. Bu tezde *Pistacia atlantica* ve *Pistacia integerrima* melezi olan UCB-1 anacının *in vitro* koşullarda kitlesel üretim olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır. Nodal segmentlerin eksplant olarak kullanıldığı, farklı yüzey sterilizasyon, sürgün geliştirme, kardeşlenme ve köklenmeleri ile ilgili farklı bitki büyümeyi düzenleyiciler ve kimyasallar kullanarak UCB-1 anacının kitlesel üretimi için en uygun uygulamalar ve ortamlar belirlenmiştir. Yüzey sterilizasyonunda sodyumhipoklorit (%5,%7,%10) dozlarında kullanılmış en iyi sterilizasyon başarısı %10 sodyumhipoklorit dozuyla 10dakika muamele yapılan işlemden elde edilmiştir. Temel besin ortamı olarak Gamborg B5 Vitaminlerini içeren DKW temel besin ortamı ve Woody Plant Medium (WPM, after Lloyd & McCowns) ile bitki büyümeyi düzenleyicilerden BAP(0, 1, 2, 3 mg/L), IBA(0, 0.1, 0.2, 0.3 mg/L), NAA(0,0.1,0.2,0.3 mg/L), GA_3 (0,05 mg/L), MT'nın(0, 1,2,3 mg/L) farklı dozları denenemiştir. En iyi sürgün gelişimi ve en fazla kardeşlenmenin 2 mg/L BAP + 0. 1 mg/L l IBA+0.05 mg/L GA_3 kombinasyonundan elde edilmiştir. Köklenme için Gamborg B5 Vitaminlerini içeren ½ DKW temel besin ortamı ve IBA (1, 2 ve 3 mg/L) ve NAA'(0.01, 0.1, 1, 0.02, 0.2 ve 2 mg/L) dozlarında kullanılmış ancak bu ortamlarla kök gelişimi elde edilememiştir.

Anahtar Kelimeler: Antepfıstığı, mikroçoğaltma, BBD, kardeşlenme, köklenme

ABSTRACT

MASTER THESIS

MASS PROPAGATION OF UCB-1 PISTACHIO ROOTSTOCK THROUGH *IN VITRO* PROPAGATION

İpek DEĞİRMENCİ

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF HORTICULTURE

Supervisor : Prof. Dr. Nesibe Ebru KAFKAS
Yıl: 2017, Pages: 83
Jury : Prof. Dr. Nesibe Ebru KAFKAS
: Prof. Dr. SALİH KAFKAS
: Prof. Dr. BEKİR EROL AK

The low rate of germination in the seeds of Pistacia species is known as an important problem especially for the seedlings producers. So, micropropagation methods are becoming as a very important tool in *pistachio* production. In Turkey, disease free and having high multiplication coefficient, facilitating plant quarantine especially in seedlings which come frome abroad to be free from soil diseases and harmful ones make in vitro production of pistachio so important. The aim of this thesis is to investigate the mass production possibilities of UCB-1 rootstock, the hybrid of *Pistacia atlantica* and *Pistacia integerrima* in *in vitro* conditions. For this purpose, the most appropriate applications and environments for the mass production of UCB-1 rootstock were selected by applying different PGR and chemicals related to different surface sterilization which are used for shoot development, budding, and rooting of explants as nodal segments. Sodium hypochlorite (5%, 7%, 10%) was used in surface sterilization and the best sterilization success was obtained by 10 minutes treatment with 10% sodium hypochlorite. To determine the most appropriate shoot development and rooting environments, DKW and Woody Plant Medium as the basic nutrient medium containing Gamborg B5 vitamines and diffrent doses of PGR such as BAP(0, 1, 2, 3 mg/L), IBA (0, 0.1, 0.2, 0.3 mg/L l), NAA(0,0.1,0.2,0.3 mg/L), GA3 (0,05 mg/L), MT (0, 1,2,3 mg/L l) were tested. The best shoot development and maximum shooting were obtained from the combination of 2 mg/L BAP + 0.1 mg/L IBA + 0.05 mg/L GA3. As for the rooting, ½ DKW basic nutrient medium containing Gamborg B5 Vitamins and doses of IBA (1, 2 and 3 mg/L) and NAA '(0.01, 0.1, 1, 0.02, 0.2 and 2 mg/L) was used but root development could not be achieved in these meduim.

Key words: *Pistacia*, micropropagation, PGR, shooting, rooting.

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Antepfıstığı dioik bir bitki olup, tozlanma, rüzgarla gerçekleşir. *Pistacia* türlerinde, bugüne kadar monoik *Pistacia* genotiplerine de rastlanmıştır. Antepfıstığı sıcak ve uzun yazları (30°C'nin üzerinde 98-110 gün) ve +7°C'nin altında 1000 saatlik bir soğuklama isteyen ılık kış mevsimlerinde sorunsuz yetişebilmektedir (Ayfer, 1960). Tohumları ekildiğinde %50 dişi %50 erkek olma olasılığı bulunmaktadır. Tohumla üretimle oluşan bireylerde genetik farklılıklar görülmekte ve oluşan yavru bireyler arasında morfolojik farklılıklar çok belirgin görülmektedir. Öte yandan, anaç-kalem kombinasyonlarının aşı tutma performansları da düşük seviyede olmaktadır. Bitkinin uzun ömürlü olup olmaması, canlılığı, verimliliği anaç özelliklerine bağlıdır. Bu yüzden anaç seçimi önemlidir (Tarango Rivero,1993). Ayrıca, antepfıstığu üretiminde aşı başarı yüzdesinde anaç seçimi büyük önem arz etmekte ve anaç seçerken dikkatli karar verilmelidir.

Geleneksel olarak antepfıstığı anaçları tohum ile çoğaltılmaktadır. *Pistacia* türlerinin tohumlarında çimlenme oranının çok düşük düzeyde olduğu ve bu durumun özellikle fidan üreticileri için önemli bir problem olduğu bilinmektedir. Nitekim bazı araştırıcılar, antepfıstığı tohumlarının çimlenme ve köklenme sorunları nedeniyle anaç çoğaltımında büyük engel teşkil ettiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, geleneksel metotlar ile üretilen tohumdan yetiştirilen anacın istenen özelliği taşıyıp taşımadığının belirlenmesinin uzun yıllar aldığı ve bitkilerde istenmeyen çeşitliliklere neden olduğu ve tohumdan yetişen bir anacın hangi özelliklere sahip olacağının önceden bilinmesinin mümkün olmadığı bilinmektedir. Zira antepfıstığı üretiminde uygun anaçların seçimi ve bu anaçların verim ve kalite üzerindeki etkilerinin araştırılması büyük önem taşımaktadır.

Pistacia türlerinin tohumları kurumaya hassastır ve canlılığını uzun süre muhafaza edemez ve bu sebeple ölümler meydana gelmektedir. Bu nedenle doku kültürü yöntemi *Pistacia* türlerinin üretimi için alternatif bir metottur.

Kaliforniya Üniversitesi Berkeley kampüsünde yapılan araştırmalar sonucunda *Pistacia atlantica* ve *Pistacia integerrima* melezi olan hızlı büyüme ve üzerine aşılanan çeşidin erken meyveye yatırma özelliklerine sahip olan UCB-1 anacının *Verticillium* hastalığına dayanım gösterdiği, tuzlu topraklara daha toleranslı olduğu hem de soğuklara dayanıklı olduğu belirlenmiştir. Antepfıstığı dioik bir bitki olması nedeniyle zigotik kökenli tohumlardan yetişen çöğürlerde açılım söz konusu olduğundan tohum kullanarak homojen anaç elde etmek mümkün değildir. Bu sorun ismine doğru hızlı ve kitlesel anaç üretimine imkân veren doku kültürü teknikleri ile çözümlenebilmektedir. Modern yetiştiricilikte klonal anaçların kullanımı öncelikle tercih edilmektedir. Klonal anaç üretiminde kullanılan en önemli tekniklerden biri bitki doku kültürü tekniğidir. Bu nedenlerle son yıllarda doku kültürü yöntemleri ile *Pistacia* türlerinin üretimi ile ilgili dünyada ve ülkemizde araştırmalar yoğunluk kazanmıştır. Dünyada antepfıstığının doku kültürü teknikleri ile üretimine 1980'li yıllarda Bargchi (1982) tarafından başlanmış olup, çalışmalar daha çok *P.vera* türü üzerinde yoğunlaşmıştır.

Ülkemizde antepfıstığı fidanı yetiştiriciliği öteki meyve türlerinde olduğu gibi özellikle hastalıklardan ari olması ve çoğaltma katsayısının yüksek olması, bitki karantinasında kolaylık sağlanması özellikle yurt dışından ülkemize yeni getirilen anaç ya da çeşitlerin toprak hastalıkları ve zararlıları ile öteki hastalıklardan ari olması bakımından *in vitro* koşullarda üretimi büyük önem taşımaktadır.

Bazı araştırıcılar, *Pistacia* türlerinin vejetatif olarak çelikle çoğaltımında başarı elde edilemediği için *in vitro* koşullarda klonal çoğaltma yöntemleri ile kitlesel anaç üretiminin en ideal yöntem olduğu bilinmektedir. Bu amaçla bu tezde *Pistacia atlantica* ve *Pistacia integerrima* melezi olan UCB-1 anacının *in vitro*

koşullarda kitlesel üretim olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla nodal segmentlerin eksplant olarak kullanıldığı, farklı yüzey sterilizasyon, sürgün geliştirme, kardeşlenme ve köklenmeleri ile ilgili farklı bitki büyümeyi düzenleyiciler ve kimyasallar kullanarak UCB-1 anacının kitlesel üretimi için en uygun uygulamalar ve ortamlar belirlenmiştir.

Bu amaçla bu araştırmada yüzey sterilizasyonunda sodyumhipoklorit (%5,%7,%10) dozlarında 10 ar dakika muamele edilmiştir En iyi sterilazsyon başarısı NaOCl' ün %10 dozundan elde edilmiştir. Başlangıç ve kardeşlenme ortamı olarak Gamborg B5 Vitaminlerini içeren DKW besin ortamı ile Woody Plant Medium besin ortamı kullanılmıştır. Bitki büyümeyi düzenleyicilerden ise BAP(0, 1, 2, 3 mg/L), IBA (0, 0.1, 0.2, 0.3 mg/L), NAA (0,0.1,0.2,0.3 mg/L), GA_3 (0,05 mg/L), MT'nın (0, 1,2,3 mg/L) farklı dozları denenerek söz konusu anaç için en uygun sürgün geliştirme, kardeşlenme ortamları belirlenmiştir. En iyi sürgün gelişimi ve en fazla kardeşlenmenin 2 mg/L BAP + 0. 1 mg/L IBA+0.05 mg/L GA3 kombinasyonunda %80 olarak bulunmuştur. Köklenme çalışmalarında Gamborg B5 Vitaminlerini içeren ½ DKW temel besin ortamı ve IBA (1, 2 ve 3 mg/L) ve NAA'(0.01, 0.1, 1, 0.02, 0.2 ve 2 mg/L) dozlarında kullanılmış ancak bu ortamlarla kök gelişimi elde edilememiştir.

TEŞEKKÜR

Öncelikle bana antepfıstığında doku kültürü yöntemiyle kitlesel üretimi ile ilgili bu tez konusunu veren beni sürekli araştırmaya teşvik eden, tezimin tüm aşamaları boyunca katkılarını ve her türlü bilgisini esirgemeyen, tezim süresince fikir ve yorumlarıyla bana destek olan, şefkati ve güler yüzü ile yaklaşan ve çok sabırlı olan kıymetli hocam Prof. Dr. Nesibe Ebru KAFKAS'a yürekten teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tez çalışmam süresince, bilgisini esirgemeyen Prof. Dr. Salih KAFKAS hocama teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tezimde yardımlarını esirgemeyen ve gerekli alt yapıda kolaylıklar sağlayan Beta Fidan Doku Kültürü Islah Arge Ziraat Tarım Sulama Hayvancılık Gıda Turizm İnşaat Sanayi Ve Ticaret Limited Şirketi ve çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca bilgisi ile sürekli yönlendirmelerde bulunan değerli arkadaşım Ziraat Yüksek Mühendisi İsmail Varol'a içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez yazım çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Mozhgan Zarifikoskorahi ve Sina Kefayati'ye içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu tezin yapılmasında ve yürütülmesinde maddi destek veren Beta Fidan Doku Kültürü Islah Arge Ziraat Tarım Sulama Hayvancılık Gıda Turizm İnşaat Sanayi Ve Ticaret Limited Şirketi ve TUBİTAK (TEYDEP 7150542)'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ve maddi manevi her zaman yanımda olan annem ve babam 'Nermin - Doğan DEĞİRMENCİ'ye çok teşekkür ederim**.**

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ I
ABSTRACT II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET III
TEŞEKKÜR VII
İÇİNDEKİLER VII
ÇİZELGELER DİZİNİ X
ŞEKİLLER DİZİNİ XII
SİMGELER VE KISALTMALAR XIV
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 13
2.1. Antepfıstığı yetiştiriciliğinde kullanılan anaçların klasik yöntemlerle üretilmesi ile ilgili yapılan çalışmalarklı 14
2.2. Antepfıstığı yetiştiriciliğinde kullanılan anaçların doku kültürü tekniği ile üretimine yönelik yapılan çalışmalar 18
3. MATERYAL VE METOT 31
3.1. Materyal 31
3.2. Metod 32
3.2.1. Materyallerin Alınması ve Yüzey Sterilizasyonu 32
3.2.2. Besin Ortamının İçeriği ve Hazırlanması 34
3.2.3 Fenolik Bileşiklerin Neden Olduğu Kararmaların Engellenmesine Yönelik Uygulamalar 36
3.2.4. Aktif karbon ve Gümüş Nitratın Farklı Dozlarının Sürgün Rejenerasyonu ve Fenolik Bileşik Oluşumuna Etkilerinin Belirlenmesine Yönelik UygulamalarHistolojik İncelemeler 37
3.2.5. Farklı Sitokinin Kaynaklarının Kardeşlenme Üzerine Etkisinin Belirlenmesine Yönelik Uygulamalar 38

3.2.6. Farklı Oksin Kaynaklarının Köklenmeye Etkisi kök 40
3.3. İstatiksel Analizler 41
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 43
4.1. Materyalların Yüzey Sterilizasyonu Denemelerinden Elde Edilen Bulgular 43
4.2. Fenolik Bileşiklerin Neden Olduğu Kararmaların Engellenmesine Yönelik Uygulamalardan Elde Edilen Bulgular 46
4.3. Aktif karbon ve Gümüş Nitratın Farklı Dozlarının Sürgün Rejenerasyonu ve Fenolik Bileşik Oluşumuna Etkilerinin Belirlenmesine Yönelik Uygulamalardan Elde Edilen Bulgular 49
4.4. Farklı Sitokinin Kaynaklarının Eksplant Başına Düşen Kardeş Sayısının Belirlenmesine Yönelik Yapılan Uygulamalardan Elde Edilen Bulgular .. 51
4.4.1. Farklı BAP ve IBA dozlarının Kardeş Sayısına Etkisi 52
4.4.2. Farklı dozlarda BAP ve NAA kombinasyonlarının eksplant başına kardeş sayısına etkisi 56
4.4.3. Farklı MT ve IBA kombinasyonlarının eksplant başına kardeş sayısının belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular 58
4.5. Farklı Oksin Kaynaklarının Köklenmeye Etkisi Üzerine Yapılan Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular 60
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 61
KAYNAKLAR 65
ÖZGEÇMİŞ 83

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 1.1. Yıllara göre dünya antepfıstığı üretimi (ton) 4
Çizelge 1.2. Ülkelere göre dünya antepfıstığı dışsatımı (1000 $)..... 5
Çizelge 3.1. Gamborg B5 ortamı Vitamin içeriği..... 34
Çizelge 3.2. DKW Besin Ortam İçeriği 35
Çizelge 3.3. McCown Woody Plant Medium ortam içeriği..... 35
Çizelge 3.4. DKW besin ortamında sitokinin kaynağı olarak BAP ve oksin kaynağı olarak IBA ve 0.05 mg/L GA3 'ün ilave olarak kullanıldığı kombinasyonlar 39
Çizelge 3.5. DKW besin ortamında sitokinin kaynağı olarak MTve oksin kaynağı olarak IBA'nın kullanıldığı kombinasyonlar 40
Çizelge 3.6. MCCOWN besin ortamında sitokinin kaynağı olarak BAP ve oksin kaynağı olarak IBA'nın kullanıldığı kombinasyonlar..... 40
Çizelge 4.1. Farklı NaOCl doz uygulamalarının UCB-1 antepfıstığı anacının eksplantlarındaki yüzey sterilizasyon başarısı (%)..... 44
Çizelge 4.2. Farklı dozlarda L-cysteine uygulamalarının UCB-1 antepfıstığı anacı eksplantlarında fenolik bileşiklerin neden olduğu kararmalara etkisinin belirlenmesi (%)..... 47
Çizelge 4.3. Farklı dozlarda Glutathion uygulamalarının UCB-1 antepfıstığı anacı eksplantlarında fenolik bileşiklerin neden olduğu kararmalara etkisinin belirlenmesi (%)..... 48
Çizelge 4.4. Aktif Karbon ve AgNO3 uygulamalarının kararmalara etkisinin belirlenmesi (%)..... 51
Çizelge 4.5. DKW temel besin ortamında farklı BAP ve IBA konsantrasyonlarından elde edilen kombinasyonlarda eksplant başına ortalama kardeş sayısı (adet) 54

Çizelge 4.6. DKW temel besin ortamında farklı BAP ve NAA konsantrasyonlarının eksplant başına ortalma kardeş sayısı..... 57
Çizelge 4.7. Farklı dozlardaki MT ve IBA kombinasyonlarının UCB-1 antepfıstığı anacının eksplantlarındaki ortalama bitki başına düşen kardeş sayısına (OBBKS) etkisi 59

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 1.1. Dünya Antepfıstığı Üretim Miktarının (Ton) Yıllara Göre Dağılımı 5
Şekil 3.1. Kontrollü Serada Bulunan Eksplantların Alındığı "UCB-1" Anaçlarından Genel Görüntüler 31
Şekil 3.2. UCB-1 Bitkisinden Alınan Yeşil Çeliklerden Bir Görünüm. 33
Şekli 3.3. Yaprakları Temizlenmiş (A) Ve 1-3 Cm Boyutlarında Kesilmiş (B) Eksplantlara Ait Görünümler 33
Şekil 3.4. Yüzey Sterilizasyonu Aşamalarından Görünümler 33
Şekil 3.5. Doku Kültürü Ortam Denemelerinin Hazırlanması Aşamasından Görüntüler 34
Şekil 3.6. Bitki İklimldendirme Odasından Bir Görünüm 36
Şekil 3.7. Fenolik Bileşiklerin Neden Olduğu Kararmalardan Görüntüler 37
Şekil 3.8. UCB-1 Antepfıstığı Anacının Kardeş Ortamına Aktarımından Bir Görünüm 38
Şekil 3.9. UCB-1 Antepfıstığı Anacının Nodal Segmentlerinden Rejenere Olan Bitkilerden Görünümler 39
Şekil 4.1. Kontamine Olan Eksplantlardan Görünümler 46
Şekil 4.2. Fenolik Bileşiklerin Neden Olduğu Kararma Görülen Eksplantlardan Bir Görünüm 49
Şekil 4.3. DKW Besin Ortamlarından Elde Edilen Bitkilere Ait Görüntüler 53
Şekil 4.4. Mccown Woody Plant Medium Besin Ortamlarından Elde Edilen Bitki Ölümlerine Ait Görüntüler 55
Şekil 4.5. Farklı BAP ve NAA Kombinasyonlarından Elde Edilen Kardeş Bitkilerinden Bir Görünüm 58
Şekil 4.6. Köklenme Ortamına Alınmış Kültürlerden Bir Görünüm 60

SİMGELER VE KISALTMALAR

AVG	: Aminoethoxyvinlyglycine
$AgNO_3$	: Gümüş nitrat
B	: Bor
BBD	: Bitki Büyüme Düzenleyici
BA	: 6-benzyladenine
BAP	: 6-benzylaminopurine
Ca	: Kalsiyum
CaCl2	: Kalsiyumklorür
$Ca(NO_3)_2.2H_2O$	: Kalsiyum nitrat
Cm	: Santimetre
$CuSO_4.5H_2O$	: Bakır sülfat
DKW	: Juglans medium
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations
Fe	: Demir
FAA	: Fenil asetik asit
FOAA	: Fenoksi asetik asit
FeNaEDTA	: EDTA ferric sodyum
G	: Gram
GA3	: Giberellik asit
H_2O_2	: Hidrojen peroksit
H_3BO_3	: Borik asit
$HgCl_2$	: Civa klorür
IAA	: Indol-3- asetik asit
IBA	: Indol bütirik asit
kg	: Kilogram
K	: Potasyum

KN	: Kinetin
KH_2PO_4	: Potasyum fosfat
K_2SO_4	: Kalsiyum sülfat
M	: Mol
MS	: Dr. Toshio Murashige ve Dr. Skoog
McCown	: McCown Woody Plant Medium
mM	: Milimol
m	: Metre
mg	: Miligram
Mg	: Magnezyum
$MgSO_4$	: Magnezyum sülfat
$MnSO_4.H_2O$	: Mangan sülfat
NaOH	: Sodyum Hiroksit
NAA	: Naftalin asetik asit
NaOCl	: Sondyum klorür
NH_4NO_3	: Amonyum Nitrat
MT	: Metatopolin
Ö.D	: Önemli değil
PAL	: Fenil alanin amonyak liyaz
Ppm	: Part per million
STN	: Sürgün ucu kararması
PVP	: Polyvinylpyrrolidone
TUİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
TDZ	: Thidiazuron
$ZnSO_4.7H_2O$	: Çinko sülfat
µmol	: Mikromol
µg	: Mikrogram
4-CPA	: Parakloro fenoksi asetik asit

1. GİRİŞ

Anacardiacea familyasının önemli üyesi olan *Pistacia* cinsi içerisinde yer alan kuruyemiş olarak meyveleri tüketilen ve yeşil altın olarak bilinen antepfıstığı (*Pistacia vera* L)'nın anavatanının Anadolu, İran, Suriye ve Afganistan olduğu bilinmektedir. *Pistacia* türleri Anacardiacea familyasına ait olup *Pistacia* cinsi yaklaşık 13'ten daha fazla tür içermekle birlikte sadece *Pistacia vera* L. türü ekonomik değere sahiptir. Diğer türler yabani türler olup bazıları antepfıstığına anaç olarak kullanılmaktadır (Zohari, 1952). Türkiye'de en fazla rastlanılan başlıca yabani *Pistacia* türleri; *P. terebinthus* L, *P. eurycarpa* L, *P. khinjuk* L, *P. palaestina* L, *P. atlantica* L ve *P. lentiscus* L'dur. Kafkas ve Perl-Treves (2002), RAPD tekniğini kullanarak 9 *Pistacia* türünde, türler arası akrabalıkları incelemişler ve aynı araştırıcılar *Pistacia* cinsini çalı formunda *(P. terebinthus, P. palaestina, P. mexicana ve P. lentiscus*) ve büyük ağaç formundaki türler *(P. vera, P. khinjuk, P. eurycarpa, P. atlantica)* olarak iki gruba ayırmışlardır. Aynı araştırıcılar *P. terebinthus* ile *P. palaestina* türlerinin ise birbirlerine çok yakın akraba olduklarını bildirmişler ve bunların aynı tür olabileceği kanısına varmışlardır. Ayrıca *P. integerrima* türünü iki grubun arasında olduğunu saptamışlardır. (Kafkas ve Perl-Treves, 2002; Kafkas, 2006a; Kafkas, 2006b).

Yüksek ekonomik getirisinden dolayı antepfıstığı (*Pistacia vera* L.) altın ağaç olarak da bilinir. *P.vera* yenilebilir olmasından dolayı meyveler arasında insan sağlığı ve beslenme açısından önemi olan bir türdür. Meyveleri oldukça lezzetli ve besleyicidir. Protein, karbonhidrat, mineraller ve vitaminler bakımından zengindir. (Tekin ve ark., 2001). Antepfıstığı yetiştiriciliğine olan talebin her geçen gün artmasında rol oynayan etkenlerden biri de antepfıstığının lezzetli ve insan sağlığı ve beslenme açısından öneminin bilimsel olarak anlaşılmasından kaynaklanmaktadır. Nitekim 100 g antepfıstığı 594 kalori, 20.8 g protein, 51.6 g yağ ve 16.4 g karbonhidrat ve 0 kolesterol içeriğine sahip olup, 500 mg fosfor,

1020 mg potasyum, 136 mg kalsiyum, 158 mg magnezyum, 7.3 mg demir, 5.2 mg vitamin E, 7 mg vitamin C, 0.62 mg vitamin B1, 0.20 mg B2 ve 1.45 mg nikotinamide içermektedir (Tunalıoğlu, 2003). Antepfıstığı meyvesi protein, karbonhidrat ve kalori değerleri bakımından fındık, badem ve yerfıstığı gibi yağlı meyvelerle karşılaştırıldığında birinci, yağ oranı açısından ise fındıktan sonra ikinci sıradadır. Antepfıstığı aynı zamanda şeker ve şekerli ürünler sanayinde de (pasta, dondurma ve baklava) kullanılmaktadır. Ayrıca, antepfıstığı tüketiminin kandaki kolesterol düzeyini düşürüp kalp krizi riskini azalttığı ve kan şekerinin yükselmesini önlediği belirlenmiştir (Tunalıoğlu, 2003). Antepfıstığı meyvelerinin gıda ve farklı endüstri kollarında değerlendirilmesi yanında sakızlarının özellikle son yıllarda anti-mikrobiyal, anti-viral, anti-insektisit, antifungal, anti-kanser özelliklerine sahip olduğu da bilimsel olarak ispatlanması nedeniyle tıbbi ilaç olarak da değerlendirilebilmektedir (Rezaei ve ark., 2011; Aghaei ve ark., 2013).

Antepfıstığı dünya kabuklu meyve üretiminde ilk 5 arasındadır ve dünya çapında üretimi her geçen gün artış göstermektedir. Uluslararası Sert Kabuklu ve Kuru Meyve Konseyi'nin verilerine göre; 2016 yılı itibariyle dünyada Antepfıstığı üretiminde lider durumda bulunan ülke ABD'dir. ABD son zamanlarda üretim ve sulama tekniklerini geliştirmek suretiyle üretim hacmini devamlı artırmış ve İran'a rakip konuma gelmiştir. Ülkemiz ise dalgalı üretim yapısı ile rekoltenin yüksek olduğu sezonlarda bu ülkelerin ardından üçüncü sırada yer almaktadır.

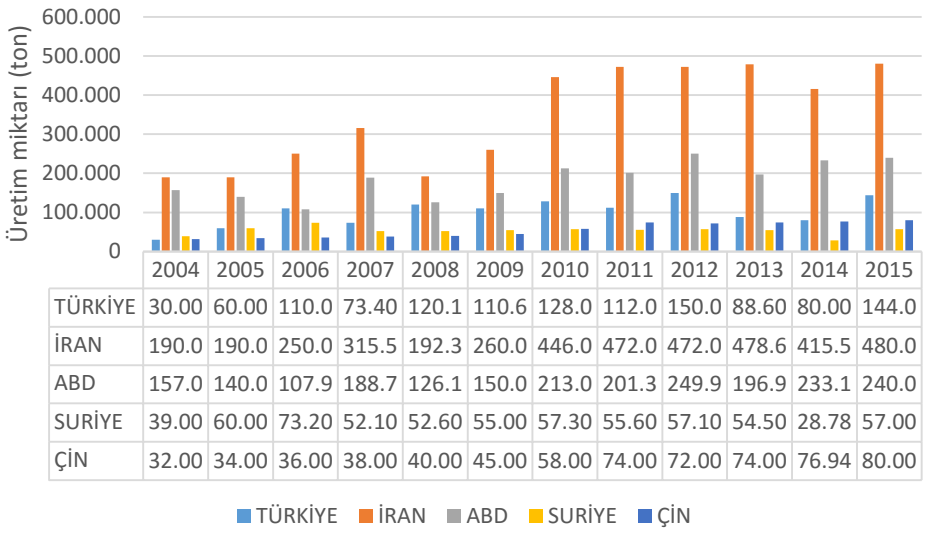
Antepfıstığını en fazla üreten ülkeler İran ve Amerika olup, adı geçen ülkeler dünya toplam üretiminin %70 den fazlasını karşılamaktadır (Faostat, 2013). Birçok ülkede önemli bitki konumundadır. Bu ülkeler; İspanya, Türkiye, Yunanistan, İran, Irak, Hindistan, Amerika Birleşik Devletleridir. Yıllara göre dünyada en fazla antepfıstığı üretimi yapan ülkeler ve üretim değerleri (2004 yılından itibaren) Çizelge 1.1'de verilmiştir. Söz konusu Çizelge incelendiğinde İran, A.B.D. ve Türkiye üretim miktarı yönünden uzun yıllar ilk üç sırayı paylaşırken, son yıllarda ABD'de antepfıstığı üretiminde büyük artış olduğu

dikkati çekmektedir. Yine aynı şekilde üretim miktarında artış gösteren bir diğer ülkenin ise Çin olduğu görülmektedir. Dünya antepfıstığı üretiminde 3. sırada yer alan Türkiye'nin üretimi 1990 yılında 35.000 ton iken 2000 yılında 50.000 tona yükselmiş, 2012 yılında 150.000 ton, 2016 yılında ise 170.000 ton olmuştur. 2015 yılı dünya toplam antepfıstığı üretimi 1.023.000 ton olmuştur. Toplam dünya üretiminin yaklaşık yarısını (%49.69) İran gerçekleştirmektedir. Ülkemizde üretim miktarının artmasına paralel olarak ihracat miktarımız yeterince artmamaktadır. 2015 yılı "International Trade Center" ("Uluslarası Ticaret Merkezi)" verilerine göre dünyada yaklaşık 2 milyar ABD dolarına ulaşan dünya antepfıstığı ihracatında en büyük payın 773 milyon dolar ile İran'da olduğu, bu ülkeyi 756 milyon dolar ile ABD'nin takip ettiği görülmektedir. Ülkemizin ise yakın dönemde 7'nci sıraya yükseldiği ancak üretim ve ekili alan miktarları ile karşılaştırıldığında potansiyel ihraç miktarı bakımından çok gerisinde olduğu söylenebilir. Antepfıstığı üretiminde Avrupa ülkeleri içerisinde Yunanistan ilk sırada İtalya ise 2. sırada gelmektedir. Yunanistan'da antepfıstığı üretiminin yoğun olarak yapıldığı bölge Attica(Aegina adası ve Megara) bölgesidir. Aegina adasının spesifik iklim özellikleri bölgede yetişen antepfıstıklarının yüksek kalitede olmasını teşvik etmektedir. İklim özellikleri sayesinde elde edilen mükemmel lezzet ve albenili görünüm ile Avrupa pazarında yüksek fiyatla yer alabilmektedir. Ülke toplam antepfıstığı üretiminin %11 i bu bölgeden karşılanmaktadır (HSA,2012).

Çizelge 1.1. Yıllara göre dünya antepfıstığı üretimi(Ton)

ÜLKELER	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
TÜRKİYE	30.000	60.000	110.000	73.400	120.100	110.600	128.000	112.000	150.000	88.600	80.000	144.000
İRAN	190.000	190.000	250.000	315.500	192.300	260.000	446.000	472.000	472.000	478.600	415.531	480.000
ABD	157.000	140.000	107.900	188.700	126.100	150.000	213.000	201.300	249.900	196.900	233.146	240.000
SURİYE	39.000	60.000	73.200	52.100	52.600	55.000	57.300	55.600	57.100	54.500	28.786	57.000
ÇİN	32.000	34.000	36.000	38.000	40.000	45.000	58.000	74.000	72.000	74.000	76.943	80.000

Kaynak: Uluslararası Ticaret Merkezi (Trademap) 2015



	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
TÜRKİYE	30.00	60.00	110.0	73.40	120.1	110.6	128.0	112.0	150.0	88.60	80.00	144.0
İRAN	190.0	190.0	250.0	315.5	192.3	260.0	446.0	472.0	472.0	478.6	415.5	480.0
ABD	157.0	140.0	107.9	188.7	126.1	150.0	213.0	201.3	249.9	196.9	233.1	240.0
SURİYE	39.00	60.00	73.20	52.10	52.60	55.00	57.30	55.60	57.10	54.50	28.78	57.00
ÇİN	32.00	34.00	36.00	38.00	40.00	45.00	58.00	74.00	72.00	74.00	76.94	80.00

Şekil 1.1. Dünyada en fazla antepfıstığı üretimi yapan ülkelerin üretim miktarının (ton) yıllara göre dağılımı

Çizelge 1.2. Ülkelere göre dünya antepfıstığı dışsatımı (1000 $)

ÜLKELER	DIŞ SATIM
İRAN	772.600
ABD	755.749
ÇİN	264.862
ALMANYA	159.076
HOLLANDA	95.186
BELÇİKA	74.272
TÜRKİYE	51.341

Kaynak: Uluslararası Ticaret Merkezi (Trademap) , 2015

Antepfıstığı bitkisinin gen merkezlerinden biri olan ülkemizde antepfıstığı üretimi çok uzun bir geçmişe sahiptir. Kültüre alınışından itibaren antepfıstığı üretimi ülkemizde hızla artmış ve ihracatta önemli oranda döviz kaynağı yaratmıştır. Özellikle Gaziantep bölgesi kışları tomurcuk dinlenmesini kıracak

kadar soğuk ve yazları da sağlıklı meyve gelişimi için gerekli olan oldukça uzun süren sıcak günlere sahip olduğu için yetiştiricilik yaygın olarak yapılmaktadır (Onay, 2003). Fakat hala üretim miktarı tüketicinin talebini karşılamamaktadır. Antepfıstğında 50 nin üzerinde kültür çeşidi bulunmuştur. Bu çeşitler arasında morfolojik ve fizyolojik olarak özellikle tohum boyutu, çiçeklenme süresi ve verim özellikleri bakımından farklılıklar karşımıza çıkmaktadır (Spina,1984). Ülkemizde üretim bölgelerine bağlı olarak, birçok antepfıstığı çeşidi mevcut olup, başlıca çeşitlerimiz; Uzun, Kırmızı, Siirt, Halebi ve Ohadi'dir. Uzun çeşidi küçük meyveli olmasına karşın, dünya çapında lezzeti ile tanınmaktadır. Söz konusu çeşit diğer çeşitlere göre daha geç olgunlaşmakta fakat verimi daha yüksek olarak gerçekleşmektedir. Gıda sanayiinde özellikle baklava yapımında kullanımı oldukça yaygındır. Ülkemizde bulunan en yaygın çeşittir. Kırmızı çeşidi ağırlıklı olarak Gaziantep yöresinin yüksek kesimlerinde yetişmekte olup, erken olgunlaşması nedeniyle tercih edilmektedir. Siirt çeşidi Siirt ve Şanlıurfa'da yoğun olarak yetiştirilen, iri meyveli ve yüksek çıtlak oranı nedeniyle önemli bir popüleriteye sahiptir. Halebi çeşidi hem kuruyemiş hem de gıda sanayinde kullanılmakta iken, geç olgunlaşan Ohadi çeşidi ise büyük ebatları nedeniyle daha çok kuruyemiş olarak tüketilmektedir. Antepfıstığı yetiştirilen toplam il sayımız 44 olup, bu iller Güneydoğu, Akdeniz, Ege ve hatta İç Anadolu Bölgelerimizde bulunmakla birlikte, üretimde en çok söz sahibi olan iller Gaziantep, Kahramanmaraş, Adıyaman, Şanlıurfa, Mardin, Kilis, Diyarbakır ve Siirt'tir. Güneydoğu Anadolu Bölgemizde en yoğun yetiştiricilik yapılan iller arasında, Şanlıurfa, Gaziantep, Siirt, Adıyaman ve Kahramanmaraş illeri yer almakta ve üretimimizin de yaklaşık %94'ü bu illerden karşılanmaktadır (Anonim, 2001). Diğer kültür bitkilerinin üretimi için elverişli olmayan kıraç, taşlık ve meyilli arazilerin de değerlendirilmesine olanak sağlaması, aşılanabilir çok sayıda değişik anaçlara sahip olması, GAP sahasının sulu tarıma açılması ile sulanabilir alanların artması nedenleriyle antepfıstığı yetiştiriciliği ülkemizde son yıllarda giderek artış göstermiştir.

İran fıstık çeşitlerinin fiyatlarının göreceli olarak Türk fıstıklarına göre daha düşük ve fıstıkların iri taneli ve çıtlak olması İran fıstıklarının dünya çapında talep edilmesine neden olmaktadır. Ancak üretim esnasında hastalık etmeninin neden olduğu aflatoksin *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*) ithalatçı ülkelerin zaman zaman İran fıstığı ithalatına engel koymalarına neden olmuş ve geçtiğimiz yıllarda özellikle Avrupa Birliği ile ABD bu konuda ciddi önlemler almaya başlamışlardır. Çin Halk Cumhuriyeti'nde *Pistacia chinensis* yoğun olarak yetişmekte olup, söz konusu ağacın meyveleri insan tüketimine elverişli değildir. Çin Halk Cumhuriyeti'nde söz konusu bitkinin üretimine son yıllarda ağırlık verilmiş olup, bu bitki biyodizel yakıt üretimi çalışmaları için yetiştirilmektedir. ABD'de antepfıstığı ağırlıklı olarak Kaliforniya eyaletinde yetişmektedir. Bu ülkeye fıstık ilk olarak İran'dan 1848 yılında getirilmiştir. ABD'de "Kerman" ve "Peters" ağırlıklı olarak yetişen çeşitler olup, bu çeşitlere ilave olarak "Ibrahmim", "Ohadi", "Safidi", "Şasti" ve "Vahidi" çeşitleri de vardır. Dünya antepfıstığı pazarı incelendiğinde, ürünün geniş ölçekte dışsatımının olduğu bu çerçevede Hong Kong, Almanya, Hollanda, Lüksemburg gibi üretici olmayan ülkelere dışsatımın yapıldığı bilinmektedir.

Hormaza ve Wünsch (2007), çeşit ıslah çalışmalarının daha çok klasik melezleme ıslahı ve tür olarak *P. vera* türünde yoğunlaştığını bildirmişlerdir. Dünyada antepfıstığı ile ilgili ıslah çalışmalarına Kaliforniya Üniversitesi'nde başlanmıştır (Parfitt ve ark. 1995, Chao ve ark. 2003). İspanya'da IRTA Mas Bove (Vargas ve ark. 2002) ve Türkiye' de de Çukurova Üniversitesi ve Antepfıstığı Araştırma İstasyonu'nda ıslah çalışmaları yürütülmektedir (Kafkas ve ark., 2014). Kaliforniya'da antepfıstığı üretimi "Kerman" isimli dişi ve "Peters" isimli erkek antepfıstığı çeşitleri ile uzun yıllardan beri gerçekleşmektedir (Dollo ve ark.,1995).

Uluslararası pazarlarda İran ve ABD menşeli fıstıkların fiyatlarının düşük, meyvesinin iri taneli ve çıtlaklık oranının yüksek olması daha çok tercih edilmesine neden olmaktadır. Ülkemiz menşeli fıstıkların daha küçük ve fiyatının yüksek

olması uluslararası pazarlarda rekabetçilik anlamında zorluk yaratmakla birlikte, ülkemiz fıstıklarının tadının daha yoğun olması uluslararası pazarlarda önemli bir avantaj sağlamaktadır. Bu bağlamda söz konusu ürünlerin tanıtımında bu özelliğin vurgulanmasının pazarlamada büyük önem arz etmektedir.

Ülkemizde antepfıstığı üretimi genel olarak kuru koşullarda yapılırken, sulama imkanlarının artması ve sulamanın öneminin anlaşılması ile sulanan alanlarda da antepfıstığı üretilmeye başlanmıştır. Bu durum antepfıstığı üretimimizin önümüzdeki yıllarda daha da artıracağını göstermektedir. Dünya antepfıstığı üretiminde öncü olan İran ve ABD'de üretim sulu koşullarda yapılmakta ve aflatoksin bu ülkelerin ürünlerinde daha fazla görülmektedir. Bu nedenle erken çıtlayan antepfıstığı meyvelerine bulaşmalar daha fazla olmaktadır.

Antepfıstığının dünya genelindeki üretim ve tüketimi arasında bir denge olduğu bilinmekte, üretim artışına paralel olarak yıllara göre tüketimde de bir artış görülmektedir. ABD ve Batı Avrupa gibi gelişmiş ülkelerde fazla miktarda tüketilmekte, son yıllarda Arap Ülkelerinde de antepfıstığı tüketimi artmaktadır Özellikle iç olarak kullanıldığı yerlerde renk ve lezzet üstünlüğü yönünden Türk fıstıkları tercih edilmektedir. Üretici ülkelerde antepfıstığının yaklaşık %60-70'i tuzlu kavrulmuş kuru yemiş olarak %30-40'ı tatlı, pasta ve şekerlemede kullanılırken, ABD ve Avrupa'da %90'ı kuru yemiş olarak tüketilmektedir (Anonim, 2001).

Ülkemizde antepfıstığının iç tüketimi kesin olarak bilinmemektedir, üretimden ihracat ve stok miktarının düşülmesiyle hesaplanmaktadır. Buda genelde Türkiye üretiminin % 70 'i civarında olmaktadır. Antepfıstığı lüks bir meyve sayıldığı için, fiyatı da yüksektir. Bu nedenle yurt içi tüketiminde İstanbul, Ankara, İzmir ve Bursa gibi alım gücü yüksek olan iller başta gelmektedir, Gaziantep ve Şanlıurfa gibi üretici illerde de daha çok yaş olarak tüketimi görülmektedir. Antepfıstığı periyodisite (ağacın bir yıl ürün vermesi bir yıl daha az vermesi ya da

hiç vermemesi) eğilimi olan bir tür olması nedeniyle üretimde her yıl dalgalanmalar meydana gelmektedir (Anonim, 2001).

Antepfıstığı dioik bir bitki olup, tozlanma, rüzgarla gerçekleşir. *Pistacia* türlerinde, bugüne kadar monoik *Pistacia* genotiplerine de rastlanmıştır (Kafkas ve ark., 2000). Antepfıstığı sıcak ve uzun yazları (30 °C'nin üzerinde 98-110 gün) ve +7°C'nin altında 1000 saatlik bir soğuklama isteyen ılık kış mevsimlerinde sorunsuz yetişebilmektedir (Ayfer, 1960). Tohumları ekildiğinde dişi, erkek olma olasılığı hemen hemen eşittir. Tohumla üretimle oluşan bireylerde genetik farklılıklar görülmekte ve oluşan yavru bireyler arasında morfolojik farklılıklar çok belirgin görülmektedir. Öte yandan, anaç-kalem kombinasyonlarının aşı tutma performansları da düşük seviyede olmaktadır. Bitkinin uzun ömürlü olup olmaması, canlılığı, verimliliği anaç özelliklerine bağlıdır. Bu yüzden anaçların bir örnek olması büyük önem arz etmektedir. (Tarango Rivero,1993). Ayrıca, antepfıstığı üretiminde aşı başarı yüzdesinde anaç seçimi büyük önem arz etmekte ve anaç seçerken dikkatli karar verilmelidir (Ferguson ve ark., 2005a).

Geleneksel olarak antepfıstığı anaçları tohum ile çoğaltılmaktadır. *Pistacia* türlerinin tohumlarında çimlenme oranının çok düşük düzeyde olduğu ve bu durumun özellikle fidan üreticileri için önemli bir problem olduğu bilinmektedir (Ayfer ve Serr.,1961). Nitekim bazı araştırıcılar, antepfıstığı tohumlarının çimlenme ve köklenme sorunları nedeniyle anaç çoğaltımında büyük engel teşkil ettiğini bildirmişlerdir (Rahemi ve Baninasab 2000). Ayrıca, geleneksel metotlar ile üretilen tohumdan yetiştirilen anacın istenen özelliği taşıyıp taşımadığının belirlenmesinin uzun yıllar aldığı ve bitkilerde istenmeyen çeşitliliklere neden olduğu bilirilmrktrdir (Graham ve ark., 2003). Zira, antepfıstığı üretiminde uygun anaçların seçimi ve bu anaçların verim ve kalite üzerindeki etkilerinin araştırılması büyük önem taşımaktadır (Ayfer, 1990). *Pistacia* türlerinin tohumdan üretimi oldukça zor olup, tohumlar kurumaya hassastır ve canlılığını uzun süre muhafaza

edememektedir. Bu nedenle doku kültürü yöntemi *Pistacia* türlerinin üretimi için alternatif bir metottur.

Türkiye, İran ve diğer Ortadoğu ülkelerinde antepfıstığına anaç olarak *P. atlantica* ve *P.vera* kullanılmaktadır. Ülkemizde antepfıstığına anaç olarak *P. khinjuk, P. atlantica ve P. vera* türlerinin anaçlık özellikleri konusunda çok sayıda araştırmalar yapılmıştır. *P. atlantica* ve *P.vera* türlerinin saçak kök yapma ve kalın gövdeye sahip olma özellikleri nedeniyle kısa sürede aşıya gelme avantajlarına sahip olduğu belirlenmiştir. *P. vera* anacının ise; üzerine aşı yapılmasa da kaliteli meyve verme özelliğine sahip olduğu ancak büyüme gücünün yüksek olmadığı saptanmıştır. Ancak *P. vera* ve *P. atlantica* anaçlarının sulanan koşullarda *Verticillium* hastalığına duyarlı oldukları belirlenmiştir (Ayfer, 1990). *P. khinjuk* Türkiye, Suriye, Irak, İran, Mısır, Afganistan ve Pakistan'da doğal olarak ve genellikle taşlı yerlerde ve kayalık arazilerde, kuru step-orman veya bozkır oluşumlarının olduğu kurak ve yarı kurak bölgelerde yetişmektedir (Padulosi ve Hadj-Hassan 2001, Mehrnejad 2003). *Pistacia khinjuk* Stocks (buttum) özellikle kök boğazı ve topraktan 10 cm yükseklikteki aşı noktası diğer türlere göre daha kalın olduğundan aşılamada kolaylık sağlaması, kültür çeşitleri ile iyi uyuşması, üzerine aşılanan çeşitleri geliştirme özellikleri bakımından iyi sonuç vermesi ve düzgün gövde oluşturması nedeniyle tercih edilmektedir. Türkiye'de buttumun anaç olarak kullanılmasının başka nedeni su stresine iyi direnç göstermesi, kök-ur nematodlarına (*Meloidogyne* cinsi) tolerans göstermesi, zayıf topraklara kolay adaptasyonu gibi özellikleridir (Tilkat ve ark., 2005). Toprak istekleri bakımından daha seçici olan *P.atlantica*'ya oranla *P. khinjuk* anaçlarının taşlı, kireçli, toprak koşullarına uyumu daha iyi olup, yavaş büyüme özelliğine sahiptir (Ayfer ve ark., 1990). *P. vera* ve *Pistacia atlantica* çöğürleri daha uzun boylu olmalarına rağmen, aşı yerinde gövde çapları fazla gelişmemektedir (Tekin ve ark., 2001). Kaliforniya Üniversitesi Berkeley kampüsünde yapılan araştırmalar sonucunda *Pistacia atlantica* ve *Pistacia integerrima* melezi olan hızlı büyüme ve üzerine aşılanan

çeşidin erken meyveye yatırma özelliklerine sahip olan UCB-1 anacının hem *Verticillium* hastalığına dayanım gösterdiği hem tuzlu topraklara daha toleranslı olduğu hem de soğuklara da dayanıklı olduğu belirlenmiştir. Antepfıstığı dioik bir bitki olması nedeniyle zigotik kökenli tohumlardan yetişen çöğürlerde açılım söz konusu olduğundan tohum kullanarak homojen anaç elde etmek mümkün değildir. Bu durum ismine doğru hızlı ve kitlesel anaç üretimine imkân veren doku kültürü teknikleri ile çözümlenebilmektedir. Modern yetiştiricilikte klonal anaçların kullanımı öncelikle tercih edilmektedir. Ülkemizde antepfıstığı fidanı yetiştiriciliği öteki meyve türlerinde olduğu gibi özellikle hastalıklardan ari olması ve çoğaltma katsayısının yüksek olması, bitki karantinasında kolaylık sağlanması özellikle yurt dışından ülkemize yeni getirilen anaç ya da çeşitlerin toprak hastalıkları ve zararlıları ile öteki hastalıklardan ari olması bakımından *in vitro* koşullarda üretimi büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla bu tezde *Pistacia atlantica* ve *Pistacia integerrima* melezi olan UCB-1 anacının *in vitro* koşullarda kitlesel üretim olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla nodal segmentlerin eksplant olarak kullanıldığı, farklı yüzey sterilizasyon, sürgün geliştirme, kardeşlenme ve köklenmeleri ile ilgili farklı temel besin ortamları, bitki büyümeyi düzenleyiciler ve kimyasallar kullanarak UCB-1 anacının kitlesel üretimi için en uygun uygulamalar ve ortamlar belirlenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Sert kabuklu meyve olarak bilinen antepfıstığı özellikle kalp sağlığı için faydalı olan yağ asitleri, bitkisel steroller, bazı metaller, fenolik bileşikler ve diğer önemli fitokimyasallar bakımından zengin bir kaynaktır. Antepfıstığının insan sağlığı ve beslenme açısından öneminin bilimsel olarak anlaşılmasıyla üretimi ve tüketimi geçmiş yıllara göre her geçen gün giderek artış göstermektedir (Dreher,2012). Ancak her ülkenin kendine göre yetiştiricilikte karşılaştığı problemler bulunmaktadır. İran, Türkiye ve diğer fıstık üreticisi olan ülkelerde karşılaşılan en büyük üretim problemleri tozlayıcı olarak kullanılan erkek çeşitlerden kaynaklanmaktadır. Antepfıstığında genelde birçok erkek ağaç, dişi ağaca göre daha erken çiçek açar. Dişi ve erkek ağaçlar farklı zamanlarda çiçek açtığında döllenmenin gerçekleşememesi nedeniyle ürün elde edilememektedir (Pontikis, 1975). Bu durumun daha çok erkek ağaçların uzun süre canlı kalabilen çiçek tozuna sahip olmaması ve dişi bitki ile çiçeklenme zamanlarının çakışmamasından kaynaklandığı belirtilmiştir (Martinez-Palle ve Harrero,1994). Böyle durumlarda ise boş meyve oluşumunun daha sık görülmesi, düşük kalitede meyve oluşumları ve albenisi olmayan meyve oluşumunu teşvik etmektedir.

Antepfıstığı İran'da yetiştiriciliği yapılan çok önemli bir bahçe bitkisidir. Antepfıstığı üretiminin çok büyük kısmı toprak tuzluluğu olan kurak ve yarı kurak bölgelerde yapılmaktadır. Bu nedenle anaç seçiminde tuza ve kurağa dayanıklı olmasına dikkat edilmelidir. Doğru anaç seçimi üründen alınan verim ve kaliteyi arttırmaktadır. Bitki büyümesinde en önemli faktörlerden biri toprak tuzluluğudur. Tuzlu topraklarda bitkinin suyu bünyesine alma yeteneği zayıflar ve bitkinin büyüme hızı yavaşlar. Eğer bitki bünyesine aşırı miktarda tuz girişi olursa bu tuz yapraklardaki tranpirasyon yoluyla toksik madde seviyesinin yükselerek, yapraklarda erken yaşlanma ve yaprak dökümüne sebep olmaktadır (Karimi ve Hasanpour, 2014).

2.1. Antepfıstığı yetiştiriciliğinde kullanılan anaçların klasik yöntemlerle üretilmesi ile ilgili yapılan çalışmalar

Antepfıstığı anaçları tuzluluğa dayanıklılığına göre sınıflandırılmasına rağmen araştırmalar sonucunda dayanıklı anaçların bile topraktaki sodyum klorid (NaCl) miktarının artması ile antepfıstığı bitkilerinde büyüme ve gelişmenin azaldığı belirlenmiştir (Sepaskhah ve Maftoun, 1988:Picchioni ve ark.,1990;Karimi ve ark.,2011; Karimi ve ark.,2012;Karimi ve Maleki Kuhbanani,2015). Bazı araştırıcılar, 4 farklı antepfıstığı anacının (Badami-e-Zarand A, Badami-e-Zarand B, Ghazvini ve Sarakhs) tuzluluk stresine karşı tepkileri üzerinde çalışmışlardır. Aynı araştırıcılar, bitkinin doku hücrelerinde ve kök hücrelerinde tutunmuş olan maximum Na miktarının 15 ds m^{-1} olduğu ve bu yeteneğin "Sarakhs" anacında düşük olduğu saptanmıştır (Karimi ve ark.,2012). Bir diğer çalışma tuzluluk stresinin yabani antepfıstığı anaçlarındaki (*P.atlantica, P. atlantica* subsp. *kurdica, P.atlantica* subsp. *mutica,* ve *P.atlantica* subsp. *cabulica*) etkisinin belirlenmesi üzerine yapılmış ve tuzluluğun artmasının bitki hücrelerinde bulunan azot (N) ve potasyum (K) konsantrasyonlarının artmasına sebep olduğu ve bu durumun özellikle *P. atlantica* subsp.kurdica anacında daha belirgin olduğu bildirilmiştir (Suleman ve ark.,2011). Erkek ve dişi bitkilerin tuzluk ve kuraklık streslerine karşı tolerans seviyeleri arasında farklılıklar olduğu da ayrıca belirtilmiştir (Bohlenius ve ark.2006; Zhao ve ark., 2009; Zhang ve ark.,2012; Jiang ve ark., 2012; Karimi ve Nasrolahpour-Moghadam, 2016).

İran'da "Badami-Riz-e-Zarand" çeşidinin antepfıstığı yetiştiriciliğinin yapıldığı birçok alanda kötü çevre koşullarına karşı dayanıklı olması, tuzlu topraklara yüksek dayanıklılığının olması, az sulanmış topraklara dayanıklı olması nedenleri ile anaç olarak kullanılmaktadır (Karimi ve ark.,2011).

Antepfıstığı (*Pistacia vera* L.) İspanyada yüksek ilgi görmeye başlamıştır. Ama mevcut üretim, talebi karşılamaya yetmemektedir. Bu problemin asıl nedeni *P.terebinthus* anacında aşılamanın zor olmasıdır. Menengiç (*Pistacia terebinthus*

L.) tohumdan üretilen yerli bir çeşittir. İspanyanın soğuk bölgelerine ve toprak hastalıklarına karşı dayanıklıdır. (Guerrero ve ark., 2002). Bu sebeple antepfıstığı için iyi bir anaçtır. Ayrıca fıstık çeşitlerinin tomurcuk büyüklüğü anaç tomurcuğu ile eşleşebilmelidir. (Guerrero ve ark., 2004). Aşılama işlemi iki yıllık anaç büyümesinden sonra yapılmaktadır. Aşı başarısızlığı düzensiz meyve bahçeleri ve sık sık aşılama zorunluğu problemlerini yaratmaktadır.

Türkiye'de genellikle *P.atlantica* anacı kullanılsa da İran ve diğer Orta Doğu ülkelerinde *P.vera* anacı ticari üretimlerde kullanılmaktadır. (Ayfer,1990). *P. atlantica* ve *P. khinjuk* anaçlarının *P. vera*'ya göre kuru koşullarda üzerine aşılanan çeşitleri geliştirme ve taç oluşturma özellikleri bakımından daha iyi sonuç verdiği saptanmıştır (Ulusaraç, 1992).

Antepfıstığı anaçları ülkemizde geleneksel olarak tohum ile çoğaltılmaktadır. Ancak tohumla çoğaltmanın pek çok dezanvantajları vardır. *Pistacia* türlerinin tohumlarında çimlenme oranının çok düşük düzeyde olması nedeniyle tohumların ekimden önce kabuklarının soyulması, soğuklama ihtiyacının giderilmesi için suda ve soğukta bekletme, sülfirik asit ile aşındırma ve gibberellinler gibi bitki büyümeyi düzenleyiciler ile ön muamele uygulamalarına ihtiyaç göstermesi nedeniyle genaratif çoğaltma oldukça zor ve özen gerektirmektedir (Ayfer ve Serr, 1961).

Pistacia vera tohumlarından elde edilen fidanların toprak nematodlarına dayanıklı olduğu ancak *Verticillium* hastalığına hassas olması nedeniyle son yıllarda anaç olarak önerilmediği bilinmektedir. *P. vera* ve *P. atlantica* çöğürleri daha uzun boylu olmalarına rağmen aşı yerinde gövde çaplarını fazla geliştiremedikleri ancak *P. khinjuk* anaçlarının aşı yerinde düzgün gövde oluşturduğu bildirilmiştir (Tekin ve ark., 2001).

Ülkemizde en çok *P. vera'*nın "Uzun" ve "Kırmızı" çeşitlerinin tohumlarının çimlendirilmesiyle elde edilen anaçlarla fidan üretimi yapılmaktadır (Ayfer ve ark., 1990). Türkiye'de yetişen çeşitler arasında, "Siirt" çeşidinin aşı

kalınlığına öteki çeşitlere göre daha hızlı ulaştığı saptanmıştır (Tekin ve ark., 2001).

Tohumlara uygulanan skarifikasyon, stratifikasyon ve giberalik asite daldırma uygulamalarının *Pistacia* anaçlarının tohum çimlendirme başarılarında artışın olduğunu göstermiştir (Abu- Qaoud, 2007).

Pistacia chinensis (Dunn ve ark., 1996a,b) ve *P. vera* (Al Barazi ve Schwabe, 1982) çelik ile çoğaltma denemelerinde başarılı sonuçlar alınırken, *P. atlantica*, *P.integerrima*, ve *P.atlantica* x *P.integerrima* melezi olan ve Amerika'da yaygın olarak kullanılan UCB-1 anacının üretiminde sorunlar olduğu bildirilmiştir. UCB-1 anacının çelikle köklenmesinde yaşanan problemin diğer türlerde olduğu gibi; genotipten kaynaklanabildiği (Kester ve Sartori, 1966; Fancher ve Tauer, 1981; Cunningham, 1986), uygulanan indol butyric acid (IBA) konsantrasyonundan (Al Barazi ve Schwabe, 1982), çelik alma zamanından da (Dunn ve ark., 1996b) kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Almehdi ve ark., (2002), 11 yaşındaki UCB-1 ağaçlarından 0, 60, ve 90 cm uzunluğunda sürgün almışlar ve sisleme ünitesinde gece boyunca +4°C'de bekletmişlerdir. Sürgünleri üst, orta ve alt kısımlarından örnekler alınarak 30 sn süre ile içerisinde Spermine hydrochloride (800 mg/L) içeren 0, 40 ve 80 mg/L IBA solüsyonla muamaele etmişler ve en iyi köklenmenin %40 civarında olduğunu ve UCB-1 anacının çeliklerinin çürümeye meyilli olduklarını saptamışlardır. *P. atlantica* X *P. integerrima* anaçlarının kontrollü melezlenmesiyle elde edilen (UCB-1) melezine ait 5 ağaç kuvvetli bir şekilde budanmış ve budamadan sonra elde edilen yeni sürgünler köklendirilmeye çalışılmıştır. Bu sürgünlerin uzunlukları, çelik pozisyonları ve genotiplerinin köklenme üzerindeki etkileri değişik IBA konsantrasyonlarıyla (0.40-80 g/1) araştırılmıştır. Araştırıcılar, sürgün uzunluğu, çelik pozisyonu ve IBA konsantrasyonunun köklendirmeye etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir (Almehdi ve ark. 2002).

Türkiye'de *P. vera, P.atlantica, P. terebinthus ve P. eurycarpa* gibi farklı türler kullanılarak anaç ıslah programları yürütülmektedir (Kafkas ve ark., 2006c, Atlı ve Kaşka 2002).

Zhang (2006), Avusturalya'da anaçların %58'inin *P. terebinthus*, %38.5'unun "Pioneer Gold 1" (*P. integerrima*) ve % 3.4'ünün ise; *P. atlantica* türlerinin oluşturduğunu bildirmiştir. Araştırıcı, *P. atlantica* anacının üzerine aşılanan çeşidin kuvvetli ağaçlar geliştirme özelliğine sahip olduğunu ve yüksek verim elde edildiğini belirtmiştir. Ancak söz konusu anacın *Verticillium* solgunluk hastalığına duyarlılık gösterdiğini vurgulamıştır. Kaliforniya'da söz konusu hastalığın hızla ilerlemesiyle *P. integerrima* tohumlarından seçilen Pioneer Gold 1 anacının bu hastalığa dayanıklı olduğu Kaliforniya Üniversitesindeki bazı araştırıcılar tarafından belirlenmiştir (Epstein ve Morgan, 1990). Aynı üniversitede *P. atlantica* ve *P. integerrima*'nın melezlenmesi ile *Verticillium* hastalığına dayanıklı UCB-1 anacı elde edilmiştir. Zhang (2006), Pioneer Gold, *P.terebinthus* ve UCB-1 anaçlarının gövde çapı, ağaç boyu ve sürgün verme yeteneğine göre karşılaştırdığında en iyi gövde çapının ve ağaç boyunun sırasıyla "*P.terebinthus*", "UCB-1" ve "Pioneer Gold" anaçlarından elde edildiğini, ancak en iyi sürgün gelişiminin UCB-1 anacından elde edildiğini saptamıştır.

Kaliforniya'nın Arizona eyaletinde de son yıllarda klonal olarak doku kültürü teknikleri ile üretilen UCB-1 anacı ile çok sayıda yeni meyve bahçeleri kurulmuştur. Bahçelerdeki antepfıstığı ağaçlarında gözlemlenen türe has özellikler; kısa boğum araları, bodur ağaç yapısı, kabarık yan tomurcuklar, hızlı büyüme şekli ve köklerin yüzlek yapıda olmasıdır (Stamler ve ark., 2015).

Antepfıstığının çoğaltımı ve özellikle köklenmesi sert kabuklu meyveler içerisinde en zor olan türdür. *Pistacia* anaçlarının büyük bir bölümü generatif olarak tohumla üretilmektedir. *Pistacia* türleri yabancı tozlanma özelliğine sahip olmaları nedeniyle tohumdan çıkan bireyler genetik çeşitlilik göstermekte ve bir örnek materyal elde edilememektedir. Bu durum morfolojik olarak bireyler

arasında farklılıkların olması ile kalmayıp anaç-kalem arasında da performansların farklı olmasına neden olmaktadır. *Pistacia* türlerinin tohumdan üretiminin zor olmasının en önemli nedenlerinden biri de tohumların kurumaya karşı hassas olup, canlılıklarını uzun süre muhafaza edememeleri ve bu sebeple ölümlerin meydana gelmesidir. Klonal anaç üretiminde kullanılan en önemli tekniklerden biri bitki doku kültürü tekniğidir. Bu nedenlerle son yıllara doku kültürü yöntemleri ile *Pistacia* türlerinin üretimi ile ilgili dünyada ve ülkemizde araştırmalar yoğunluk kazanmıştır.

UCB-1 anacı Amerika Birleşik Devletlerinde en fazla kullanılan anaçtır. Söz konusu anacın üretimi *P. atlantica*'nın ana ebeveyn *P. integerrima*'nın ise tozlayıcı ebeveyn olarak kontrollü koşullarda melezlenmesiyle gerçekleşmektedir. Her ne kadar kontrollü koşullarda melezlemeler yapılsa da bir örnek materyal elde edilmesinde zaman zaman sıkıntılar yaşanmakta bu nedenle söz konusu anacın klonal olarak üretilmesi büyük önem arz etmektedir. UCB-1, *P. vera, P.atlantica* ve *P. terebinthus* anaçlarının doku kültürü ile üretilmesi mümkündür. Fakat birçok işletmenin mikro çoğaltım yapılacak tesis olanakları, teknik eleman ve donanım eksiği olduğu bildirilmiştir (Picchioni ve Davis,1990).

Bazı araştırıcılar, *Pistacia* türlerinin vejetatif olarak çelikle çoğaltımında başarı elde edilemediği için *in vitro* koşullarda klonal çoğaltma yöntemleri ile kitlesel anaç üretiminin en ideal yöntem olduğu bildirilmiştir. (Guerrero ve ark. 2002, Gijón ve ark. 2010).

2.2. Antepfıstığı yetiştiriciliğinde kullanılan anaçların doku kültürü tekniği ile üretimine yönelik yapılan çalışmalar

Bitki doku kültürü; kontrol edilebilen ışık ve sıcaklık koşulları altında kültür kapları içinde, yapay besin ortamında bütün bir bitki, hücre, doku veya organ gibi bitki kısımlarından yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin üretilmesidir. Aynı zamanda doku kültürü teknikleri ile doğal koşullarda nesli tükenmekte olan

ve üstün özellik gösteren bitkileri muhafaza ederek ıslah programları için istenilen bitkileri geliştirmek ve bitkilerden virüsleri elimine etmek de mümkündür.

Bitkilerin *in vitro* kültürü ilk defa Haberlandt (1902) tarafından *Eichhornia crassipes* (su sümbülü) bitkisinin izole edilmiş yaprak hücrelerinde çalışmıştır. *In vitro* ortamda bitki üretimi ise, Knudson (1920) tarafından orkide tohumlarının çimlendirilmesi ve kültürü ile başlamıştır. 1970'li yıllarda Kaliforniya üniversitesinden Dr. Toshio Murashige ve Dr. Skoog'un MS adıyla bilinen kültür besin ortamını geliştirmesiyle beraber ticari olarak bitkilerin mikroçoğaltımı yapılmaya başlanmıştır.

Bitki gelişmesi için güneş ışığına, CO_2'iye su, mineral ve diğer besin maddelerine ihtiyaç duyar. Normal büyüme ve gelişmenin meydana gelebilmesi için bir takım iç ve dış faktörler bitkide birlikte rol oynamaktadır. Bitki bünyesinde oluşup, büyüme ve gelişmeyi (fizyolojik olayları) düzenleyen bu maddelere hormonlar ya da fitohormonlar (bitki hormonları) adı verilmektedir. Bitki büyüme düzenleyicilerinin (BBD) önemi ilk kez 1930'lu yıllarda anlaşılmış, bu tarihten itibaren bunların tarımsal ürünlerdeki fonksiyonları araştırılmaya çalışılmıştır. Bitki fizyolojisi konularında yapılan çalışmalar, BBD'nin bitki büyüme ve gelişmesindeki rollerini ortaya koymuş ve zamanla bitki bünyesinde sadece büyümeyi teşvik eden maddelerin değil, aynı zamanda büyümeyi engelleyen maddelerin de sentezlendiği bildirilmiştir. (Güleryüz, 1982; Raven ve ark.,1992). Bitkilere bu maddelerin dışsal uygulanmasında amaca uygun kimyasalın seçimi, uygun konsantrasyonun ve uygulama zamanının belirlenmesi istenilen etki için oldukça önemlidir (Palavan-Ünsal, 1993, Buban, 2000).

Bitki büyümeyi düzenleyiciler; çelikle çoğaltmayı sağlamak, tohumların çimlenme gücünü artırmak, çiçeklenmeyi teşvik etmek veya geciktirmek, soğuğa dayanıklılığı artırmak, meyvelerde tohum oluşumunu artırmak, meyve iriliğini artırmak, meyve muhafaza süresini uzatmak, bitkilerin hastalık ve zararlılara dayanıklılığını artırmak, yabancı ot kontrolünü sağlamak, pamuk ve tahıllarda

yatmayı önlemek, hasat öncesi meyve dökülmesine engel olmak, makinalı hasadı kolaylaştırmak için tüm bitkilerin aynı zamanda olgunlaşmasını sağlamak ve hasatta iş gücünü azaltmak, olgunlaşmayı hızlandırarak yatmayı engellemek, dormansiyi kırmak, özellikle doku kültürü çalışmalarında kök-sürgün ve yumru oluşumunu teşvik etmek amacıyla kullanılmaktadır. (Asghari, 2006; Budak ve ark., 1994; Kaynak ve Ersoy, 1997).

Doğal BBD'ler arasında etilen %23'lük oranla dünyada en yaygın kullanılan bitkisel hormonu teşkil ederken, oksinler %20 ile ikinci, Gibberellinler %17 ile üçüncü sırada yer almaktadır. Sitokinin ve dorminler ise dünyada henüz yaygın olarak kullanılmamaktadırlar (Barut, 1995). Bunlardan oksinler, sitokininler ve gibberellinler büyümeyi teşvik ediciler; dorminler engelleyiciler olarak gruplandırılır, etilen ise daha çok meyve olgunlaşmasında düzenleyici rol oynamaktadır. (Fırat, 1998; Walsh, 2003).

Oksin tipindeki BBD'ler tarımda en eski kullanılan hormonlardır (Halloran ve Kasım, 2002). Bunlar daha ziyade hücre genişlemesine ve büyümeye neden olan bileşikler olup, hücre uzaması, doku gelişimi ve kök oluşumunda rol alırlar. Bitki hormonu olan oksin bütün yüksek bitkiler tarafından sentezlenir ve en çok bulunan oksin formu ise Indol-3-asetik asit (IAA)'tir (Grunewald ve ark., 2009).

IAA bitkinin büyüme gösteren uç kısımlarında (tomurcuk, yaprak ve kök ucu) oldukça fazla bulunmaktadır. IAA dışında en yaygın bulunan oksinler; indol bütirik asit (IBA), naftalin asetik asit (NAA), naftoksi asetik asit (NOAA), fenoksi asetik asit (FOAA), 2,4-D, fenil asetik asit (FAA), parakloro fenoksi asetik asit (4-CPA) ve 2,4,5-triklorofenoksi asetik asittir.

FAA bitkilerde hücre bölünmesini, büyümeyi ve gelişmeyi hızlandırma yönünden etkilidir Adventif kök gelişimini sağlama, partenokarpik meyvelerin elde edilmesi, yaprak ve meyve dökülmesinin engellenmesi yabancı otların kontrolünde etkilidir. 2,4-D ve pikloram gibi bazı sentetik oksinler, tarım alanlarındaki yabancı otların kontrolünde kullanılmaktadır. (Raven ve ark., 1992; Salisbury ve Ross

1992; Kaynak ve Ersoy, 1997; Kaynak ve Memiş, 1997; Halloran ve Kasım, 2002). Oksin ailesinden olan IBA çeliklerin köklendirilmesinde en yaygın olarak kullanılan sentetik hormondur. (Kaynak ve Ersoy, 1997). Özellikle zor köklenen türlerde çeliklerin kök oluşumunu hızlandırmak, çelik başına kök sayısını ve kalitesini arttırmak için köklendirmede en yaygın kullanılan büyüme düzenleyici madde, oksin gurubundan IBA'dır. IBA, oksini yıkan enzim sistemleri tarafından yavaş parçalandığından köklenmeyi teşvik etmekte, etkisi sürekli ve oldukça fazladır (Zenginbal ve ark., 2006)

Sitokininler bitki dokularında özellikle hücre bölünmeleri esnasında ortaya çıkan, diğer hormonların aksine, hem bitkilerde, hem de hayvanlarda bulunan kinin yapısındaki organik maddelerdir. Sitokininler sentetik phenylurea türevleri, thidiazuron (TDZ) ve N-(2-chloro-4-pyridyl)-N'- phenylurea (CPPU) olarak bilinen1-phenyl-3-(1,2,3-thiadiazol- 5-yl) üre ve doğal olarak meydana gelen adenin türevleri; kinetin (KN) ve 6-benzyladenine (BA)'dır. Sentetik phenylurea türevleri özellikle TDZ adenin türevlerinden daha yüksek etki düzeyine sahiptirler (Te-chato ve ark., 2008).

Kinetin, benzil adenin ve zeatin sitokininlerin en yaygın olanlarıdır. Hücre bölünmesinde etkili olan ve yaşlanmayı geciktirme özelliğine sahiplerdir. Oksinlerin kök oluşumunu teşvik etmelerine karşın, sitokininler sürgün oluşumunu teşvik ederler. Sitokininler ayrıca dormansinin kırılmasında, karbonhidrat transferinin hızlandırılmasında, tepe sürgünü baskınlığının engellenmesinde de etkilidir. Doku kültürü çalışmalarında besin ortamlarına ilave edilen en önemli organik bileşikler oksin ve sitokininlerdir. Bu iki bileşiğin dengesine bağlı olarak kök ve sürgün oluşumu kontrol edilebilmektedir. IAA+Kinetin uygulaması hızlı hücre bölünmesine ve hücrelerin sürekli meristematik halde kalmasına sebep olur. Oksin ve stokininin kabaca eşit konsantrasyonlarda olması durumunda, kallus dokusunda organize olmamış yeni hücreler oluşmaya devam eder.

Gibberellinler ilk defa Japonya'da *Gibberella fujikuroi* mantarlarından izole edilmiş, bu mantarın çeltikte aşırı boy uzamasına neden olmasıyla fark edilmiştir (Seçer,1989). Ticari amaçla en yaygın kullanılanı giberellik asit GA_3'tür (Güleryüz, 1982; Walsh, 2003; Westwood, 1993).

Gibberellinler genetik olarak bodur bitkilerde uzamayı sağlar, bazı bitki türlerinde erken çiçeklenmeyi teşvik ettiğinden çiçeklenme ve melezleme erkene alınabilmekte ve ıslah çalışmalarında sürenin kısaltılması mümkün olabilmektedir. Bazı tomurcuklarda veya yumrularda dormansinin kırılmasını sağlama, apikal tohumlarda da dormansiyi kırararak çimlenmeyi arttırma özelliğine sahiptir. Uzun gün şartları ve soğuklama ihtiyacı gösteren bitkilerde, giberellin uygulanması halinde bu şartlar sağlanmasa da çiçeklenme sağlanabilir.

Oksinlerde olduğu gibi bazı meyve türlerinde partenokarpik meyve gelişimini sağlar (özellikle oksinlerin etkili olmadığı türlerde etkili). Gibberellinler çiçeklenmeden belirli bir süre önce verildiğinde çekirdeksizliği, çiçeklenmeden sonra verildiğinde ise dane irileşmesini sağladığı bilinmektedir. Işığa hassas olan tohumlarda çimlenmeyi teşvik eder ve büyümenin geniş devresini uzatarak bitkilerin uzun süre yeşil kalmasını sağlamaktadır. (Budak, 1994; Kaynak ve Ersoy, 1997; Kaynak ve İmamgiller, 1997; Kaynak ve Memiş, 1997).

Doku kültürü teknikleri geleneksel üretim yöntemlerine göre yüksek oranda kontrol olanağı sağlamaktadır. Bu yöntem ilk önceleri sadece bilimsel çalışmalarda ve araştırmalarda kullanılmış daha sonra pratik anlamda üreticiler tarafından yeni çeşit geliştirmek ve mevcut çeşitlerde genetik çeşitlilik oluşturmak, kitlesel bitki üretirken; zamandan, yerden ve anaçlık bitki materyalinden tasarruf etmek ayrıca virüsten ve hastalıklardan ari, yüksek kalitede bitki yetiştirme amaçlı kullanılmaktadır. (Ulus ve Seyidoğlu, 2006).

Doku kültürünün temel prensibi bitki rejenerasyonudur. Bitki rejenerasyonu, meristematik hücreleri içeren somatik dokulardan, meristematik olmayan somatik hücrelerden ve mayoz bölünme geçirmiş gametik hücrelerden

elde edilebilir. Mikro çoğaltım; bir bitkiden alınan ve tam bir bitkiyi oluşturabilme potansiyeline (totipotensi) sahip bitki kısımlarından yapay besin ortamlarında ve aseptik koşullar altında yeni bitkilerin elde edilmesidir (Babaoğlu ve ark. 2002). Klonal çoğaltım amacı ile kullanılan *in vitro* teknikler mikroçoğaltım teknikleri olarak da ifade edilmektedir. Amaç aynı genetik yapıda bitkiler üretmektir. Mikroçoğaltma ilk defa Cornell Universitesi botanikçilerinden Frederick Campion Steward tarafından 1950'li yıllarda havuç bitkisinin tek hücresinden bitkilerin üretilebilmesi ile başlamıştır (Cocking 1993).

Ancak bu tekniklerde beklenmeyen ve kontrol edilemeyen varyasyonlar da ortaya çıkmaktadır. Bu tür varyasyonlar doğal olarak meydana gelmektedir ve bunlar ya hücredeki genetik değişimler ya da hücre ve dokulardaki geçici değişimler olarak ifade edilmektedir. Mikroçoğaltım ile yapılan üretimlerde varyasyonlar istenmez. Bu nedenle mikroçoğaltımda en güvenilir doku kültürü tekniklerinin kullanılması büyük önem taşımaktadır (George 1993). Somaklonal varyasyon, *in vitro* koşullarda rejenere olan bitkiler arasında ortaya çıkabilen, genetik veya epigenetik değişikliklerdir (Evans 1988). Oluşabilecek somaklonal varyasyonları belirlemek amacıyla, DNA temelli birçok farklı moleküler yöntem kullanılmaktadır. Genom dizisinde oluşan farklılıkların tespit edilmesi için en çok kullanılan yöntemler; RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA, Williams ve ark. 1990), ISSR (Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizmi, Zietkiewicz ve ark. 1994) ve AFLP (Çoğaltılmış Parçaların Uzunluk Polimorfizmi) teknikleridir (Vos ve ark., 1995).

Antepfıstığının farklı türlerinin mikroçoğatılması üzerine yapılan *in vitro* çalışmalar ilk defa Alderson ve Barghchi (1982) tarafından başlatılmıştır. Üstün antepfıstığı genotiplerinin *in vitro* çoğaltılması için farklı eksplantlar kullanılmış, çok sayıda organogenezis ve embriyogenesis protokolleri tanımlanmıştır. (Onay, 1996; Onay, 2000; Tilkat, 2006; Tilkat ve ark. 2008).

Antepfıstığının *in vitro* çoğaltım denemeleri ilk olarak yerli Türk çeşitleri olan "Siirt" ve "Antep"çeşitlerinden eksplantlar alınarak gerçekleştirilmiştir.(Barghchi ve Alderson, 1989; Ozden-Tokatli ve ark., 2005; Benmahioul ve ark., 2009; Yıldırım, 2012) (Onay, 2000; Tilkat ve ark., 2009a) Bu çeşitler ile yapılan çalışmalar da başarılı sonuçlar alınamamıştır. Antep fıstığının mikroçoğaltımındaki temel kısıtlamalar kontaminasyon ve fenolik bileşiklerin neden olduğu kararmalar olup, bu kararmalar eksplant ölümlerine neden olmaktadır (Tabiyeh ve ark., 2006; Onay ve ark., 2007). Ayrıca *in vitro* mikroaşı ile "Mateur" ve "Siirt "çeşitleri ile bitkisel materyali gençleştirme denemeleri yapılmıştır (Abousalim ve Mantell, 1992; Onay ve ark., 2004).

Diğer meyve türlerinde olduğu gibi antepfıstığının *in vitro* koşullarda üretilmesi sırasında pek çok sorunla karşılaşılmaktadır. Bunlardan en önemlisi antepfıstığı bitkisinin fenolik bileşik içeriğinin yüksek olması ve bu bileşiklerin oksidasyonundan kaynaklanan kararmalardır. Besin ortamında meydana gelen kararmalar bitkinin kesim yerlerinden açığa çıkan fenolik bileşiklerin oksidasyonundan kaynaklanmaktadır (Kumar ve ark., 1998).

Antepfıstığında fenolik bileşiklerin oksidasyonundan kaynaklanan kararmaları engellemek amacıyla glutathione, askorbik asit, sitrik asit, çözülebilir PVP, Lcys HCL, sodyum diethyldithiocarbamate, rosmanol (100 mikromolar) gibi bazı antioksidantlarla 15-20 dakika ya da 2-3 gün sürelerle denemeler yapılmıştır. Nitekim, Mederos-Molina ve Trujillo (1999), *P. vera* türüne giren "Mateur" çeşidinde ve *P. atlantica* türünde boğumlarının eksplant olarak kullanıldığı araştrmada 20 dakika L-cysteine HCI (100 mikromolar) solüsyonunda bekletmenin kontrole göre sürme yeteneğini %100 artırdığını ve bu sürede fenolik bileşiklerin oksidasyonunun gerçekleşmemesi nedeniyle kararmanın olmadığını bildirmişlerdir. Aynı araştırıcılar, MS temel besin ortamına ek olarak 400 mg/L NH_4NO_3 eklendiğinde sürgün gelişimin en iyi olduğunu, besin ortamına 1 ya da 3 g/L aktif

karbon ilavesinin 4 ve 8 gün karanlıkta bekletilen uygulamalardan en iyi sonucun alındığını bildirmişlerdir.

Dokularda kesim yerlerinden yaralanmayla birlikte ve phenyl propanoid pathway' inde bir anahtar enzim olarak bilinen fenil alanin amonyak liyaz (PAL) enzimi aktivitesinin fenolik bileşiklerin neden olduğu kararmayı teşvik ettiği bilinmektedir (Lopez-Galvez ve ark., 1996). Fenolik bileşiklerin neden olduğu bu kararmaların engellenmesi için öncelikle PAL enzim aktivitesinin engellenmesi gerekmektedir. Glutathione gibi bazı antioksidantların PAL aktivitesini azalttığı bildirilmiştir.

Kültür ortamlarında oluşan kahverengileşmenin derecesinin genotipe bağlı olduğu yüksek düzeyde tanenler veya diğer hidroksifenolleri içeren genotiplerde kahverengileşmenin daha şiddetli olduğu saptanmıştır. Bu özellik bakımından tür içindeki çeşitler arasında da farklılıklar bulunabilmektedir (George, 1996). İlk sürgün oluşumu ve alt kültürlerde sürgünlerin çoğalması sırasında kahverengileşme problemi büyümenin engellenmesine de yol açmaktadır (Onay, 2003).

Fenolik bileşiklerin neden olduğu kararmaların önlenmesi için antioksidanların veya spesifik olmayan emici maddelerin temel besin ortamına dahil edilmesi gibi bazı araştırmalar çeşitli türlerde denenmiştir (Zaid, 1987; Bharadwaj ve Ramawat, 1993; Madhusudhanan ve Rahiman,2000). Ancak bu araştırmalardan olumlu sonuç alınamamış ve fenolik asitlerin oksidasyonunu azaltmak için bu maddelerin yetersiz olduğu belirtilmiş ve bazı araştırıcılar bu durumun etilen biyosentezi ile ilgili olduğunu ve etilen biyosentezini inhibe eden aminoethoxyvinlyglycine (AVG) yada gümüş nitrat ($AgNO_3$) bileşiklerinin kahverengileşmeyi sınırlayabileceğini bildirmişlerdir (Onay, 2003; Ozden-Tokatli ve ark., 2004). Bazı araştırıcılar ise; gümüş nitrat kullanımının bitki doku kültüründe başka önemli etkilere de neden olduğunu (Bayer ve ark., 1984; Goh ve ark.,1997) ve somatik embriyogenesisi teşvik ettiğini ve birçok bitki türünde mikro çoğaltımda çoğaltım katsayısını arttırdığını bildirmişlerdir (Kong ve Yeung,

1995; Al-Khayri ve Al- Bahrany,2001; Zhang ve ark., 2001; Naik ve Chand, 2003; Kotsias ve Roussos, 2001).

Mederos (1991), doku kültürü teknikleri ile *Pistacia vera* cv. *Mateur*, *P. atlantica* ve *P. terebinthus*'a ait tohumların rejenerasyonu üzerinde çalışmış ancak alınan materyallerin yüksek oranda *Fusarium* (*Fusarium oxysporium schl.f.sp.)* hastalık etmeni ile bulaşık olduğunu ve *in vitro* üretim esnasında oluşan fenol salgısından dolayı kararmaların olduğunu bildirmiştir. Hastalık etmenleri ile bulaşıklık ve fenolik bileşiklerin neden olduğu kararmalarla ilgili problemler antepfıstığı anaçlarının *in vitro* üretiminde en büyük problem olarak bazı araştırıcılar tarafından da bildirilmiştir (Barghchi ve Alderson,1989; Dolcet-Sanjuan ve Claveria,1995; Bustamante-Garcia,1984; Barghchi ve Alderson, 1985; Martinelli ve Loretti, 1988; Abousalim, 1990; Onay, 2000).Fungal ve bakteriyel kontaminasyonların antepfıstığının doku kültürü ile üretiminde en büyük problem olduğu, doğru sterilizasyon metotları ile eksplant olarak meristem ucu kullanıldığı zaman da kontaminasyon daha az görüldüğü bildirilmiştir (Onay,1996;Tilkat ve ark., 2008).

Vitrifikasyon (camlaşma) ve sürgün ucu kararması (STN) antepfıstığının doku kültürü ile üretiminde karşılaşılan diğer önemli problemlerdendir. (Barghchi ve Alderson,1985; Abousalim,1990). Kültürde kullanılan standart MS ortamına bor ve kalsiyum miktarları arttırılarak eklendiği zaman sürgün ucu kararma (STN) probleminin seviyesinin azaldığı bildirilmiştir (Mason ve Guttridge, 1974; Sha ve ark., 1985; McCown ve Sellmer, 1987)

Dünyada antepfıstığının doku kültürü teknikleri ile üretimine 1980'li yıllarda Bargchi (1982) tarafından başlanmış olup, çalışmalar daha çok *P.vera* türü üzerinde yoğunlaşmıştır. Bazı araştırıcılar, antepfıstığını organogenesis, somatik embriyogenesis, mikroaşılama tekniklerini kullanarak çoğaltma yöntemleri geliştirmeye çalışmışlardır (Gübbük ve Pekmezci, 2004; Aasim ve ark., 2013; Safari ve ark., 2013). Nitekim, *P. atlantica* x *P. intergerrima* melezi olan UCB-1

anacının klonal çoğaltımı yaprak disklerinin rejenere edilmesi ile gerçekleştirilerek Kaliforniya'da yaygın olarak kullanılmaktadır (Almehdi ve ark. 2002).

UCB-1 ve *P. vera* anacının Parfitt ve Almehdi, (1994), *P. atlantica* anacını Picchioni ve Davis, (1990) ve *P. terebinthus* anacını Pontikis, (1984) doku kültürü teknikleri kullanarak üretimine yönelik araştırmalar yapmışlar ancak pratikte bu tekniğin uygulanabilmesi için fidan üreticilerinin alt yapısının ve bu konuda teknik personelin olmaması nedeniyle bu tekniğin pratik bir yöntem olmadığını bildirmişlerdir. Ancak son yıllarda söz konusu teknikle üretime başlandığı ve bu bitkilerle bahçelerin kurulduğu bilinmektedir.

Behboodi (2002), bazı *P. atlantica, P. vera* ve *P. khinjuk* gibi bazı *Pistacia* türlerinde yüzey sterilizasyonunda en iyi sonucu %1 civa klorür ile 15 dakika muamele sonucu aldıklarını ve bu uygulamanın aynı zamanda fenoliklerin okside olmasını engellediğini bildirmişlerdir. Aynı araştırıcılar, ayrıca karanlık uygulaması ile eksplantların ortamının sık sık değiştirilmesinin fenoliklerin olumsuz etkisini ortadan kaldırdığını belirtmişlerdir.

Ülkemizde antepfıstığında doku kültürü yöntemiyle araştırmalar ise; Onay ve ark. (1995; 1996; 2000; 2000a) ve Özden-Tokatlı ve ark. (2010) tarafından yoğun olarak yapılmıştır. Söz konusu araştırıcılar sadece *P. vera* türü değil yabani türlerde de araştırmalar yapmışlardır.

Özden-Tokatlı ve ark., (2005), *Pistacia vera* L. türüne giren *"Kırmızı"* çeşidinde nodal segmentlerin eksplant olarak kullanıldığı ortamlarda gümüş nitrat uygulamasının sürgün gelişimi üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırıcılar, Murashige and Skoog (MS) temel besin ortamına 6-benzyladenine (BA), kinetin (KIN), gibberellic acid (GA_3) ve gümüş nitrarın ($AgNO_3$) farklı konsantrasyonlarını denemişlerdir. En iyi sürgün oluşumunun 9.0 mM BA, 0.2 mM GA_3 ve 24.0 ya da 48.0 mM $AgNO_3$ kombinasyonundan elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Ülkemizdeki araştırmacılardan Tilkat ve Onay (2009), *Pistacia vera* L. cv. 'Atlı' çeşidinde MS ve Gamborg B5 vitaminlerini içeren 2mg/L BAP ve 1 mg/L IAA içeren ortamlarda 2-3 haftada en iyi sürgün rejenerasyonun olduğunu bildirmişlerdir.

Antepfıstığı İran'da yetiştiriciliği yapılan en önemli bahçe bitkisi olup, büyük ekonomik öneme sahiptir. Bu amaçla antepfıstığının kitlesel üretimi üzerinde yapılan araştırmalar söz konusu ülkede de her geçen gün giderek önem kazanmaktadır. Bu araştırmaların büyük bir bölümü antepfıstığının *in vitro* koşullarda kitlesel üretimine yöneliktir. Ancak *in vitro* koşullarda üretimde en önemli problemlerden biri sürgün uçlarından kültür ortamına salınan fenolik bileşiklerin neden olduğu kararmalar, bakteri enfeksiyonları ve bitki ölümleridir. Kararmalar fenolik bileşiklerin oksidasyonu sonucu oluşmaktadır. Bu amaçla Tabiyeh ve ark. (2006), glutathione, salisilik asit ve GA_3 ün antepfıstığı (*Pistacia vera*) sürgün uçlarındaki boğumların eksplant olarak kullanıldığında ortamdaki kahverengileşme üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırıcılar, glutathione uygulamasının öteki uygulamalara göre PAL ve POD aktivitesini azalttığını ve dolayısıyla daha az kararma oluştuğunu bildirmişlerdir.

Yunxian ve ark. (2011), *Pistacia chinensis Bunge*'de bir yıllık bitkilerin sürgünlerinden elde edilen boğumların *in vitro* koşullarda rejenerasyon ve hızlı çoğaltma yöntemlerini araştırmışlardır. Araştırıcılar, en iyi sterilizasyon koşullarının %10 sodyum hipoklorür ile 10 dakika muameleden, ½ DKW temel besin ortamına 2mg/L BAP, 0.1 mg/L IBA ve 0.1 NAA'nın kullanıldığı ortamda en iyi kardeşlenme, 3 mg/L IBA ve 0.02 mg/L NAA'in kullanıldığı ½ Mc Cowns Woody Plants ortamında en iyi köklenmenin elde edildiğini bildirmişlerdir. Benmahioul ve ark., (2012), 1 cm uzunluğundaki boğumları eksplant olarak kullanarak en iyi sürgün rejenerasyon yüzdesini bulmak amacıyla; MS ve Gamborg B5 vitaminleri içeren temel besin ortamına 6-Benzyladenin, kinetin ve meta-topolinin 0.5 , 1, 2 ve 4 mg/L dozlarının %0.2 aktif karbon içeren ortamlarda

karşılaştırmışlardır. Araştırıcılar, metatopolinin 0.5, 1, 2 ve 4 mg/L dozlarının tamamında boğumlardan sürgün oluşum oranının %100 olduğu, BA'nın (%96) bu özellik bakımından ikinci sırada yer aldığını en düşük sürme yüzdesinin ise; kinetin (%44) kullanıldığında elde edildiği dikkati çekmiştir.

Safari ve ark. (2013), MS ve Gamborg B5 vitaminlerini içeren temel besin ortamlarına BAP (2mg/L), ve TDZ (2mg/L) ile bunlara 1 mg/L IAA ile 3 g/L aktif karbon içeren ortamlarda sürgün ucu ve boğumların eksplant olarak kullandıkları araştırmada en iyi sürgün gelişminin BAP ve BAP + IAA'nın birlikte kullanıldığı ortamlardan elde etmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Bitkisel Materyal

Bu tezde bitkisel materyal olarak Beta Fidan Doku Kültürü Islah Arge Ziraat Tarım Sulama Hayvancılık Gıda Turizm İnşaat Sanayi Ve Ticaret Limited Şirketi araştırma seralarında topraksız kültür ortamında yetiştirilen UCB-1 antepfıstığı anacına ait 1 yaşlı fidanların sürgünlerinden elde edilen nodal segmentler (boğumlar) eksplant olarak kullanılmıştır (Şekil 3. 1).



Şekil 3.1. Kontrollü serada bulunan eksplantların alındığı “UCB-1” anaçlarından genel görüntüler

Doku kültürü ile ilgili ortam denemeleri Beta Fidan Doku Kültürü Islah Arge Ziraat Tarım Sulama Hayvancılık Gıda Turizm İnşaat Sanayi Ve Ticaret Limited Şirketi’ne ait araştırma ve kitlesel üretimin yapıldığı laboratuvarda ve

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesine ait bitki doku kültürü laboratuvarında yapılmıştır. Doku kültürü teknikleri ile elde edilen bitkiler yine aynı firmada yer alan tam otomasyonlu alıştırma seralarına aktarılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Materyallerin Alınması ve Yüzey Sterilizasyonu

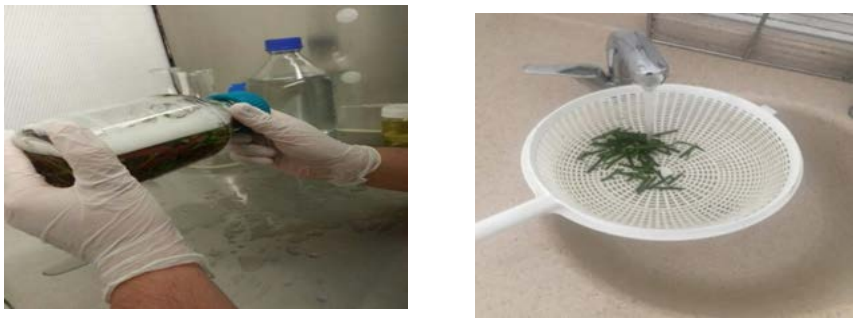
UCB-1 anacının 1 yaşlı fidanlarının 1-2 aylık sürgünlerinden 2015 yılı Nisan ayında alınan boğumlar başlangıç materyali olarak kullanılmıştır. Yeşil çelikler üzerindeki yapraklar temizlenmiş üzerinde koltuk tomurcukları bulunan eksplantlar her biri 1-3 cm boyunda kesilip yüzey sterilizasyonu işlemlerine başlanmıştır. Eksplantlar öncelikle akar musluk suyu altında 1-2 saat boyunca bekletilmiştir. Daha sonra antibakteriyel sıvı sabun ile 5 dakika boyunca yıkanmıştır. Daha sonra içerisine birkaç damla Tween 20 damlatılmış ve %5, %7 ve %10 sodyumhipoklorit solüsyonları içerisinde 10 dakika çalkalanmış ve daha sonra 3-4 kez steril saf su ile durulanmıştır. Her bir farklı doz solüsyon için 50 eksplant kullanılmıştır. Hemen ardından da %70 lik alkolde 2 dakika çalkalanıp her biri 1 er dakika olacak şekilde 3-4 kez steril saf su ile durulanmıştır. Sterilizasyon aşaması bu şekilde steril kabin içerisinde tamamlanmıştır. Tüm bu işlemlerden sonra eksplantlar bistüri ve pens kullanarak her biri 0.5-1 cm olacak şekilde kesilerek kültür ortamına dikime hazırlanmıştır.



Şekil 3.2. UCB-1 bitkisinden alınan yeşil çeliklerden bir görünüm.



Şekil 3.3. Yaprakları temizlenmiş (a) ve 1-3 cm boyutlarında kesilmiş (b) eksplantlara ait görünümler.



Şekil 3.4. Yüzey sterilizasyonu aşamalarından görünümler.

3.2.2. Besin Ortamının İçeriği ve Hazırlanması

Başlangıç ortamı Gamborg B5 Vitaminlerini içeren DKW temel besin ortamı, 30 g/L sakkaroz, 7. 5 g/L agar ve pH 5.7 olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan ortamlar 100°C' ye kadar karıştırıcılı ısıtıcı da kaynatılıp cam deney tüplerine her birinde yaklaşık 10 ml olacak şekilde paylaştırılarak otoklavda 121°C'de 20 dakika steril edilmiştir. $AgNO_3$ dışındaki tüm kimyasallar ve bitki büyümeyi düzenleyiciler besin ortamına otoklavlanmadan önce eklenmiştir. $AgNO_3$ ise steril filtrelerle aseptik koşullarda soğuk sterilizasyonu yapılarak ve ortamlara yine steril koşullarda eklenmiştir.



Şekil 3.5. Doku kültürü ortam denemelerinin hazırlanması aşamasından görüntüler

Çizelge 3.1. Gamborg B5 ortamı Vitamin içeriği

GAMBORG B5 VİTAMİNLERİ	**mg/L**
Myo- Inositol	100.00
Nicotinic acid	1.00
Pyridoxine HCl	1.00
Thiamine HCl	1.00

Çizelge 3.2. DKW Besin Ortam İçeriği

MİKROELEMENTLER	**mg/L**
$CuSo_4 5H_2O$	0.25
FeNaEDTA	44.63
H_3BO_3	4.80
$MnSO_4.H_2O$	33.80
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.39
$ZnSO_4.7H_2O$	17.00
MAKROELEMENTLER	**mg/L**
$CaCl_2$	112.5
$Ca(NO3)_2.2H_2O$	1664.64
KH_2PO_4	265.00
K_2SO_4	1559.00
$MgSO_4$	361.49
NH_4NO_3	1416.00

Çizelge 3.3. McCown Woody Plant Medium ortam içeriği

MİKROELEMENTLER	**mg/L**
$Cuso4.5H_2O$	0.25
FeNaEDTA	36.70
H_3BO_3	6.20
$MnSO_4.H_2O$	22.30
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$ZnSO_4.7H_2O$	8.60
MAKROELEMENTLER	**mg/L**
$CaCl_2$	72.50
$Ca(NO3)_2.2H_2O$	471.26
KH_2PO_4	170.00
K_2SO_4	990.00
$MgSO_4$	180.54
NH_4NO_3	400.00

Cam tüplerdeki besin ortamlarına, her tüpte bir eksplant olacak şekilde (100 tüp) dikim yapılmıştır. Dikimden sonra tüpler kontrollü koşulların sağlandiği bitki büyütme odasına yerleştirilmiştir. Büyütme odasının sıcaklığı 24±1° C, ışık koşulları ise 16/8 (aydınlık/karanlık) saat fotoperiyot olarak ayarlanmıştır.



Şekil 3.6. Bitki iklimldendirme odasından bir görünüm

3.2.3. Fenolik Bileşiklerin Neden Olduğu Kararmaların Engellenmesine Yönelik Uygulamalar

Eksplantların kesim yerlerinden ortama fenolik akışı olmakta ve kararmalar sürgün gelişimini engellemekte ve bu durum ileri aşamada ortama konulan eksplantın ölümüne neden olmaktadır. Bu amaçla yüzey sterilizasyonu tamamlandıktan sonra eksplantlar 0.1 milimolar Glutathione (%0,%5,%7 ve %10) dozlarında ve L-cysteine-HCl (0, 100 ve 200 mikromol) gibi antioksidantlar içeren solüsyonlarda kontrol olarak ise sadece saf su ve kimyasal içermeyen solüsyonlarda 15'er dakika bekletildikten sonra ortama konulmuş ve eksplantlardan ortama fenolik salgısı olup olmadığı gözlemlenmiş ve kararan eksplant sayısı yüzde olarak hesaplanmıştır. Bu amaçla her uygulma için 100 eksplant materyal olarak kullanılmıştır. Fenolik bileşenlerin salgılanmasının sebep olduğu kararmalar

belirlenerek uygulamada kullanılan eksplant sayısına oranlanarak % kararma oranı hesaplanmıştır.



Şekil 3.7. Fenolik bileşiklerin neden olduğu kararmalardan görüntüler

3.2.4. Aktif karbon ve Gümüş Nitratın Farklı Dozlarının Sürgün Rejenerasyonu ve Fenolik Bileşik Oluşumuna Etkilerinin Belirlenmesine Yönelik Uygulamalar

Nodal segmentlerden kısa sürede ve sağlıklı sürgün elde edilmesine yönelik yapılan bu çalışmada 1 mg/L BAP, 0.1 mg/L IBA ve 0.05 mg/L GA_3 içeren ve Gamborg B5 vitaminlerini içeren DKW temel besin ortamında; aktif karbon (0,0,5, 1 ve 2 g/L), $AgNO_3$ (15,30 ve 45 uM) olmak üzere 7 farklı ortam karşılaştırılmıştır. Aynı ortamlarla 3 tekerrür ve her tekerrürde 20 eksplant ile çalışılmıştır. Söz konusu ortamlarda nodal segmentlerin sürme süresi (gün), vitrifikasyon ve fenolik bileşiklerin neden olduğu kararmalarla ilgili gözlemler yapılmıştır. Büyütme odalarında 24°C ±1 ‘de 16 saatlik fotoperiyotta 16 saat ışık, 20-40 µmol/sn-1 m-2/8 saat karanlık koşulları sağlanmıştır. *In vitro* rejenerasyon sonucu oluşan bitkiler sayılmış ve ‘adet’ olarak bitkiye dönüşen eksplant sayısı (BDES) hesaplanmıştır.

3.2.5. Farklı Sitokinin Kaynaklarının Kardeşlenme Üzerine Etkisinin Belirlenmesine Yönelik Uygulamalar

Denemede Gamborg B5 Vitaminlerini içeren DKW temel besin ortamına GA_3 0.05 mg/L dozu sabit tutulup IBA (0, 0.1, 0.2, 0.3 mg/L), NAA (0,0.1,0,2,0.3 mg/L), BAP (0,1,2,3 mg/L) ve Meta-topolin (0,1,2,3 mg/L) gibi farklı bitki büyümeyi düzenleyicilerin (0, 1, 2 ve 3mg/L) dozlarının kardeşlenme üzerine etkisi karşılaştırılmıştır. DKW ortamının yanında McCown Woody Plant Medium besin ortamı da denemede kullanılmıştır. Denemeler 3 tekerrürlü olarak yapılmış ve her tekerrürde 20 bitki kullanılmıştır. Deneme sonuçlarına göre 16 farklı ortamda ortalama bitki başına kardeş sayısı (OBBKS) belirlenerek en iyi kardeşlenme ortamı belirlenmiştir.



Şekil 3.8. UCB-1 Antepfıstığı anacının kardeş ortamına aktarımından bir görünüm

Çizelge 3.4. DKW besin ortamında sitokinin kaynağı olarak BAP ve oksin kaynağı olarak IBA ve 0.05 mg/L GA_3 'ün ilave olarak kullanıldığı kombinasyonlar

DKW ortamı	**Uygulamalar BAP+IBA+0.05 GA_3**	**DKW ortamı**	**Uygulamalar BAP+IBA+0.05 GA3**
1	0 BAP+ 0 IBA+0.05 GA_3	9	2 BAP+ 0 IBA+0.05 GA_3
2	0 BAP+0.1 IBA+0.05 GA_3	10	2 BAP+0.1 IBA+0.05 GA_3
3	0 BAP+0.2 IBA+0.05 GA_3	11	2 BAP+0.2 IBA+0.05 GA_3
4	0 BAP+0.3 IBA+0.05 GA_3	12	2 BAP+0.3 IBA+0.05 GA_3
5	1 BAP+ 0 IBA+0.05 GA_3	13	3 BAP+ 0 IBA+0.05 GA_3
6	1 BAP+0.1 IBA+0.05 GA_3	14	3 BAP+0.1 IBA+0.05 GA_3
7	1BAP+0.2 IBA+0.05 GA_3	15	3 BAP+0.2 IBA+0.05 GA_3
8	1BAP+0.3 IBA+0.05 GA_3	16	3 BAP+0.3 IBA+0.05 GA_3



Şekil 3.9. UCB1 antepfıstığı anacının nodal segmentlerinden rejenere olan bitkilerden görünümler

Çizelge 3.5. DKW besin ortamında sitokinin kaynağı olarak MTve oksin kaynağı olarak IBA'nın kullanıldığı kombinasyonlar

DKW ortamı	**Uygulamalar MT + IBA + 0.05 GA_3**	**DKW ortamı**	**Uygulamalar MT + IBA + 0.05 GA_3**
1	0 MT+0 IBA+ 0.05 GA_3	9	2 MT+0 IBA+ 0.05 GA_3
2	0 MT+0.1 IBA+0.05 GA_3	10	2 MT+0.1 IBA+0.05 GA_3
3	0 MT+0.2 IBA+0.05 GA_3	11	2 MT+0.2 IBA+0.05 GA_3
4	0 MT+0.3 IBA+0.05 GA_3	12	2 MT+0.3 IBA+0.05 GA_3
5	1 MT+0 IBA+0.05 GA_3	13	3 MT+0 IBA+ 0.05 GA_3
6	1 MT+0.1 IBA+0.05 GA_3	14	3 MT+0.1 IBA+0.05 GA_3
7	1MT+0.2 IBA+0.05 GA_3	15	3 MT+0.2 IBA+0.05 GA_3
8	1MT+0.3 IBA+0.05 GA_3	16	3 MT+0.3 IBA+0.05 GA_3

Çizelge 3.6. MCCOWN besin ortamında sitokinin kaynağı olarak BAP ve oksin kaynağı olarak IBA'nın kullanıldığı kombinasyonlar

DKW ortamı	**Uygulamalar BAP+ IBA+ 0.05 GA_3**	**DKW ortamı**	**Uygulamalar BAP+ IBA+ 0.05 GA_3**
1	0 BAP+0 IBA+0.05 GA_3	9	2 BAP+0 IBA+0.05 GA_3
2	0 BAP+0.1 IBA+0.05 GA_3	10	2 BAP+0.1 IBA+0.05 GA_3
3	0 BAP+0.2 IBA+0.05 GA_3	11	2 BAP+0.2 IBA+0.05 GA_3
4	0 BAP+0.3 IBA+0.05 GA_3	12	2 BAP+0.3 IBA+0.05 GA_3
5	1 BAP+0 IBA+0.05 GA_3	13	3 BAP+0 IBA+0.05 GA_3
6	1 BAP+0.1 IBA+0.05 GA_3	14	3 BAP+0.1 IBA+0.05 GA_3
7	1BAP+0.2 IBA+0.05 GA_3	15	3 BAP+0.2 IBA+0.05 GA_3
8	1BAP+0.3 IBA+0.05 GA_3	16	3 BAP+0.3 IBA+0.05 GA_3

3.2.6. Farklı Oksin Kaynaklarının Köklenmeye Etkisi

Denemede Gamborg B5 Vitaminlerini içeren ½ DKW temel besin ortamına IBA (1, 2 ve 3 mg/L) ve NAA (0.01, 0.1, 1, 0.02, 0.2 ve 2 mg/L) nin farklı doz ve kombinasyonlardan oluşan 18 farklı ortamda kök sayısı ve kök uzunluğu bakımından en iyi köklenme ortamı belirlenmiştir. Ortamlarda sakkaroz %2 olarak kullanılmıştır.

Denemeler üç tekerrürlü olarak yapılmış olup her uygulamada 20 eksplant kullanılmıştır.

3.3. İstatistiksel Değerlendirmeler

Araştırmadan elde edilen tüm veriler "Tesadüf Parsellerinde Faktöriyel Düzen Deneme Deseni"ne göre JMP paket programı ile varyans analizine tabi tutulmuş ve uygulamalar arasındaki farklılıklar, "LSD çoklu karşılaştırma testi" ile α=0.05'e göre ortaya konulmuştur.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu bölümde UCB-1 antepfıstığı anacının *in vitro* koşullarda üretimi için en uygun ortamların ve uygulamaların belirlenmesine yönelik yapılan denemelerden elde edilen bulgular verilmiştir.

4.1. Yüzey Sterilizasyon Uygulamaları ile İlgili Elde Edilen Bulgular

UCB-1 antepfıstığı anacı diğer antepfıstığı anaçlarında olduğu gibi *in vitro* koşullarda çoğaltıldığında fungal ve özellikle bakteriyel hastalık etmenleri ile bulaşık olması nedeniyle doku kültürü ile çoğaltma tekniğinin ilk aşaması olan yüzey sterilizasyon koşullarının belirlenmesi büyük önem arz etmektedir.

Bu amaçla bu tezde UCB-1 anacının 1-2 aylık sürgünlerinden 2015 Nisan ayında alınan boğumların farklı NaOCl (sodyumhipoklorit) solüsyonları (%5, %7 ve %10) ile muamele edilmişlerdir. Yüzey sterilizasyonuna (%) ait elde edilen bulgular Çizelge 4.1'de verilmiştir. Çizelge 4.1 incelendiğinde NaOCl dozları arasında yaşayan kültür (%), kontamine olan kültür(%) ve kararan kültür (%) bakımından istatistiksel olarak farkların olduğu ve bu farkların %5 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Söz konusu Çizelge'de sadece %10 NaOCl kullanılan yüzey sterlizasyon ortamında sürgün gelişiminin olduğu %0, %5 ve %7 NaOCl uygulamalarında ise sürgün gelişiminin olmadığı görülmektedir. Farklı dozlarda sterilizant olarak NaOCl kullanılmadığı uygulamalarda kontamine olan kültür bakımından değerlendirildiğinde fungal ve bakteriyel sebeplerle ölümler olduğu bu ölümlerin NaOCl kullanıldığı zaman azaldığı saptanmıştır. Çizelge 4.1 incelendiğinde %5 ve %7 NaOCl doz uygulamalarında tüm eksplantların fungal veya bakteriyel hastalık etmenleri tarafından infekte olduğu ve bu eksplantlardan hiç rejenerasyon olmadığı belirlenmiştir. Söz konusu Çizelge incelendiğinde %10 NaOCl doz uygulamasındanen en yüksek rejenerasyon elde edildiği (%76.00) belirlenmiştir. Çizelge 4.1 incelendiğinde NaOCl uygulanmayan eksplantların

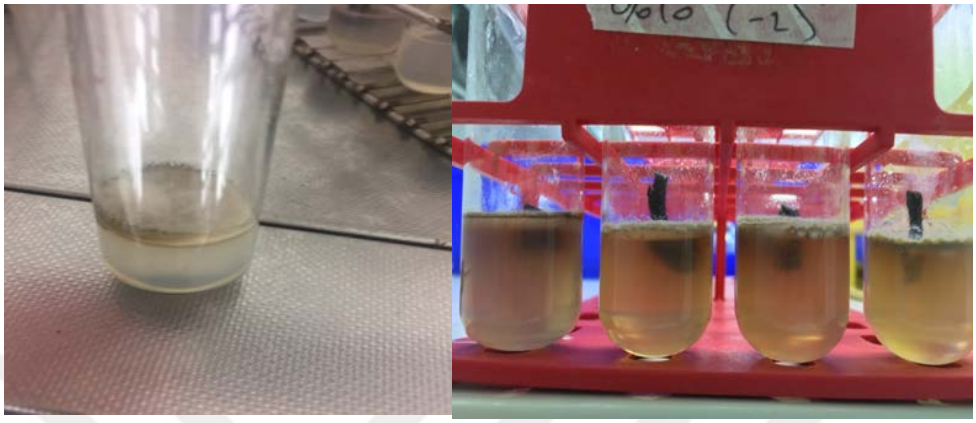
tamamının kontamine olduğu, ortamda yaşayamadığı açıkça görülmektedir. Söz konusu Çizelge incelendiğinde %5 NaOCl uygulamasında explantların tamamının kontamine olduğu ve eksplantlarda fenolik bileşiklerin neden olduğu kararma yüzdesinin de yüksek olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.1' de %7 NaOCl doz uygulamasında ortama konulan eksplantların tamamının fungal ve özellikle bakteriyel hastalık etmenlerinin neden olduğu kontaminasyon (bulaşıklık) nedeniyle öldüğü görülmektedir. Aynı uygulamada fenolik bileşiklerin neden olduğu kararmarın da yüksek olduğu (%71.67) belirlenmiştir. Yüzey sterilizasyon uygulamarında en yüksek başarı %10 NaOCl uygulamasından elde edilmiştir. Bu uygulamada ortama konulan eksplantlardan %76'sının canlılığını koruduğu ve fizyolojik olaylara devam ettiği %12.67'sinin fungal ve bakteriyel hastalık etmenleri ile bulaşık olduğu ve %11.33'ünün fenolik bileşiklerin neden olduğu kararma gösterdiği saptanmıştır.

Çizelge 4.1. Farklı NaOCl doz uygulamalarının UCB-1 antepfıstığı anacının eksplantlarındaki yüzey sterilizasyon başarısı (%)

Uygulama	Yaşayan kültür (%)	Kontamine olan kültür(%)	Kararan kültür (%)
%0 NaOCl	0.00 b (0.00)	100.00 a (90.05)	100.00 a (90.05)
%5 NaOCl	0.00 b (0.00)	100.00 a (90.05)	76.67 b (61.37)
%7 NaOCl	0.00 b (0.00)	100.00 a (90.05)	71.67 b (58.01)
%10 NaOCl	76.00 a (60.81)	12.67 b (20.85)	11.33 c (19.25)
Prob>f	0.0001	0.0001	0.0001
LSD%5	3.818	0.926	8.604

Benmahioul ve ark. (2009), antepfıstığı eksplantlarında kontaminasyonu azaltmak için %0.1 $HgCl_2$ kullanmışlar ancak yüksek dozlarda $HgCl_2$

kullanıldığında eksplantın canlılığını kaybettiğini bildirmişlerdir. Tilkat ve ark. (2013a), yaptıkları bir araştırmada *P.vera* türüne ait "Atlı" erkek antepfıstığı çeşidinin apikal ve lateral tomurcuklarının kullanıldığı NaOCl konsantrasyonunu %5'den %20'ye çıkardıklarında kontaminasyonun %15'den %5'e düştüğünü bildirmişlerdir. Tilkat ve ark., (2013b), yaptıkları bir başka araştırmada *P.vera* türüne ait "Atlı" erkek antepfıstığı çeşidinin apikal tomurcukları içeren sürgünlerde farklı NaOCl konsantrasyonunun % 0, 5, 10, 15 ve 20 konsantrasyonlarında en fazla kontaminasyonun %0 (%100) olduğunu, en düşük kontaminasyonun ise %20'de (%5) olduğunu bildirmişlerdir. Araştırıcılar, NaOCl'in dozunun artmasıyla materyallerde canlılık oranlarında azalmalar olduğunu vurgulamşılar ve en iyi konsantrasyonun %10 NaOCl ile 30 dakika bekletme süresinden elde ettiklerini belirtmişlerdir. Nezami ve ark. (2015), İran'da UCB-1 anaçlarının boğumlarını eksplant olarak kullanarak farklı NaOCl konsantrasyonlarının (%5, 10, 15 ve 20), farklı süreler (5, 10 ve 20 dakika) ile farklı $HgCl_2$ (%0.01, 0.1 0.5 ve 0.25) dozlarda ve farklı sürelerde (5, 10 ve 20 dakika) uygulamalarının sterilizasyon yüzdesine etkisini araştırmışlardır. Araştırıcılar, artan NaOCl konsantrasyonlarıyla uzun süre bekletmenin kontaminasyon oranını azalttığını bildirmişlerdir. Araştırıcılar, en yüksek kontaminasyonun (%63) en düşük NaOCl konsantrasyonu ve 5 dakika uygulamasından elde ettiklerini vurgulamışlardır. Aynı araştırıcılar farklı $HgCl_2$ konsantrasyonu ve bekletme süresinin bakteriyel kontaminasyon üzerine etkisinin istatistiksel olarak farklı olmadığını bildirmişlerdir. Araştırıcılar, en yüksek kontaminasyon oranının (%33) %0.01 $HgCl_2$'de 3 dakika bekletildiğinde elde edilirken, en düşük kontaminasyonu %0.01 $HgCl_2$'de 7 dakika bekletildiğinde elde etmişlerdir. Bu araştırma sonuçları ile önceki yıllarda yapılan benzer araştırma sonuçları karşılaştırıldığında yüzey sterilizasyon uygulamarı bakımından benzer sonuçlar alındığı söylenebilir. Ancak her bölgede fungal ve bakteriyel hastalık etmenleri ve bunların ırkları ve hatta eksplantların alındığı dönemde bile farklı olabileceği tahmin edilmektedir.



Şekil 4.1. Kontamine olan eksplantlardan görünümler

4.2. Fenolik Bileşiklerin Neden Olduğu Kararmaların Engellenmesine Yönelik Yapılan Uygulamalar ile İlgili Elde Edilen Bulgular

Bitki dokularında ve besin ortamında meydana gelen kahverengileşme bitkinin bünyesinde bulundurduğu fenolik bileşiklerin oksidasyonundan kaynaklanmaktadır. Glutathione ve L-cysteine-HCl gibi redoks potansiyeline sahip antioksidanlar oksidasyon sürecini engelleyerek kahverengileşmeyi önlemektedir.

Eksplantların kesim yerlerinden ortama fenolik bileşik akışı olmakta ve kararmalar sürgün gelişimini engellemekte ve bu durum ileri aşamada ortama konulan eksplantın ölümüne neden olmaktadır. Bu amaçla yüzey sterilizasyonu tamamlandıktan sonra eksplantlar Glutathione ve L-cysteine-HCl gibi antioksidantlar içeren solüsyonlarda kontrol olarak ise sadece saf su ve kimyasal içermeyen solüsyonlarda 15'er dakika bekletildikten sonra ortama konulmuş ve eksplantlardan ortama fenolik salgısı olup olmadığı gözlemlenmiş ve kararan eksplant sayısı ile elde edilen yüzde değerler Çizelge 4.2 de verilmiştir. Bu amaçla her uygulma için 100 eksplant materyal olarak kullanılmıştır. Fenolik bileşenlerin salgılanmasına neden olan kararmalar belirlenmiş ve uygulamada kullanılan eksplant sayısına oranlanarak % kararma oranı hesaplanmıştır.

Çizelge 4.2 incelendiğinde farklı dozlarda L-cysteine uygulamalarının fenolik bileşiklerin salgılarının neden olduğu doku ya da ortam kararmaları üzerine etkisi her ne kadar rakamsal olarak farklı olsada bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı açıkça görülmektedir. Söz konusu Çizelge incelendiğinde L-cysteine kullanılmadığında hayatta kalan eksplant oranı %13.66 iken, 100 µm L-cysteine kullanıldığında bu oranın %20.66 ve 200 µm L-cysteine kullanıldığında ise %21.33 olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak L-cysteine solüsyonunda eksplantları muamele etmenin fenolik bileşenlerden kaynaklanan kararmaları önlemede istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte kontrol uygumalasına oranla hayatta kalan eksplant oranının artırdığı gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı dozlarda L-cysteine uygulamalarının UCB-1 antepfıstığı anacı eksplantlarında fenolik bileşiklerin neden olduğu kararmalara etkisinin belirlenmesi (%)

L-cysteine	Kararmayan eksplant (%)
0 µM	13.66 (21.51)
100 µM	20.66 (27.03)
200 µM	21.33 (27.47)
LSD (%5)	Ö.D

Farklı dozlarda Glutathion (%0, %5, %7) uygulamasının UCB-1 antepfıstığı anacının nodal eksplantlarında fenolik bileşiklerin neden olduğu kararmalara ve hayatta kalan eksplantların oranına etkisi belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Elde edilen bulgular incelendiğinde farklı dozlarda Glutathion uygulamalarının antepfıstığı eksplantlarında % hayatta kalma oranı üzerine istatistiksel olarak önemli (P<0.01) etkisinin olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.3). Söz konusu Çizelge incelendiğinde %0, %5, %7 dozlarında Glutathion

kullanımının fenolik bileşik kararmalarını nispeten önlediği ve en fazla hayatta kalan eksplant oranının %22 olduğu görülmektedir. UCB-1 antepfıstığı anacının nodal segmentlerinde %10 dozunda Glutathion uygulamasının en iyi sonucu verdiği gözlemlenmiştir.

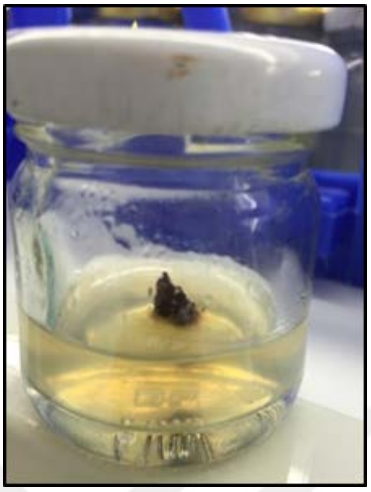
Tilkat ve ark. (2008), erkek antepfıstığı ağaçlarından aldıkları sürgün eksplantların %10'luk NaOCl'de 40 dakika yüzey sterilizasyonundan sonra %10 luk H_2O_2'de 5-10 dakikalık ikinci bir sterilant uygulamasının fenolik bileşiklerin besin ortamına salınmasını engellediğini gözlemlemişlerdir.

Onay (2000), yaptığı denemeler sonucu 2 dakikalık alkol ön işleminden sonra %20'lik NaOCl'de 30 dakika çalkalamanın kontaminasyonu azaltmada iyi sonuç verdiğini fakat fenolik salgılanmasını engelleyemediğini vurgulamıştır.

Barghchi (1985), fenolik bileşenlerden kaynaklanan kahverengileşmenin eksplantın kültür kabı içerisindeki yerinin veya kültür kabının değiştirilerek engellenebildiğini bildirmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı dozlarda Glutathion uygulamalarının UCB-1 antepfıstığı anacı eksplantlarında fenolik bileşiklerin neden olduğu kararmalara etkisinin belirlenmesi (%)

Glutathion	Kararmayan eksplant (%)
%0	12.18 b (20.44)
%5	15.21 b (22.97)
%7	18.25 b (25.30)
%10	22 a (27.85)
LSD (%5)	**2.506



Şekil 4.2. Fenolik bileşiklerin neden olduğu kararma görülen eksplantlardan bir görünüm

4.3. Farklı Dozlarda Aktif Karbon ve Gümüş Nitrat Uygulamalarının Sürgün Rejenerasyonu ve Fenolik Bileşik Oluşumuna Etkilerinin Belirlenmesine Yönelik Yapılan Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular

Besin ortamının ve dokuların kararmasını önlemek amacıyla fenolik bileşiklerin ortamdan uzaklaştırılması (aktif karbon veya polivinilpiroliden, PVP, gibi fenolik adsorbantların kullanımı ile) ve fenolaz enziminin inaktivite edilmesi ile mümkün olabilmektedir. Aktif karbon kullanımı besin ortamındaki toksik bileşikleri yok etmenin en etkin ve kolay yoludur. Fakat aktif karbon toksik bileşiklerin yanısıra ortamdaki oksin ve sitokin gibi organik bileşikler ile diğer birçok bileşiği de absorbe etmektedir (Mansuroğlu ve Gürel, 2001).

İn vitro koşullarda kitlesel bitki üretiminde en büyük sorunlardan biri fenolik bileşik salınımıdır. Fenolikler oksidasyon yolu ile bitki dokularının kahverengileşmesine ve nekrozuna neden olur (Ozyigit 2008; Reis ve ark., 2008). Polifenol oksidaz (PPO), aerobik oksidasyon yolu ile kininlere dönüşünlmesini kataliz eden bir enzimdir. Kininler otomatik oksitlenen kahverengi pigmentler olup

bitki hücresel büyümesini inhibe eder (Loomis ve Battaile 1966, Jain ve ark., 2014).

Ortamın kahverengileşmesinde etilen üretiminin katılımından dolayı, etilen biyosentezini inhibe eden bileşiklerin dahil edilmesi, kahverengileşmeyi sınırlamak için iyi bir alternatiftir (Özden-Tokatlı ve ark., 2005). Gümüş nitrat (AgNO3), çeşitli ekonomik açıdan önemli bitki türlerinde *in vitro* bitki gelişimini teşvik ettiği bildirilen güçlü bir etilen inhibitörüdür (Hyde ve Phillips 1996; Giridhar ve ark.2001; Naik ve Chand 2003; Özden -Tokatli ve ark., 2005; Cristea ve ark., 2012, Muruganantham ve Ganapathi 2014; Haque ve ark.2015; Tamimi 2015).

Çizelge 4.4'de görüldüğü gibi nodal segmentlerden kısa sürede ve sağlıklı sürgün elde edilmesine yönelik yapılan bu aşamada 1 mg/L BAP, 0.1 mg/L IBA ve 0.05 mg/L GA_3 ile Gamborg B5 vitaminlerini içeren DKW temel besin ortamında; farklı konsantrasyonlarda uygulamarın yapıldığı aktif karbon (0,0.5, 1.0 ve 2.0 g/L), $AgNO_3$ (15, 30, 45 µM) olmak üzere 7 farklı ortam karşılaştırılmıştır. Aktif karbon ve gümüş nitrat uygulamalarının fenolik bileşiklerin neden olduğu kararmalardan kaynaklı bitki ölümlerinden sonra hayatta kalan eksplant yüzdesi Çizelge 4.4'de verilmiştir. Söz konusu Çizelge incelendiğinde 15 µm $AgNO_3$ uygulamasından en yüksek hayattta kalan eksplant sayısının elde edildiği, en düşük değerin ise 0.5 g/L ve 1.0 g/L Aktif karbon uygulamasından elde edildiği gözlemlenmektedir. $AgNO_3$ uygulamasının aktif karbon uygulamasına göre daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir.

Housti ve ark., (1992)'de yaptıkları çalışmada etilenin fenolik bileşik aktivitesini arttırdığını ve böylece bitki dokularında kararmalara neden olduğunu bildirmişlerdir. Besin ortamında $AgNO_3$'ü 24 µm ve 48 µm dozlarında kullandıkları zaman fenolik bileşiklerden kaynaklanan kararmaları antepfıstığı dokularında tamamen yok ettiklerini belirtmişlerdir. Bu araştırmada 15 µm $AgNO_3$ dozunun kararmayan eksplant oranı en yüksek bulunmuştur.

Bu oranın az olmasından dolayı ilave uygulamalar denemeye alınmış olup aktif karbonun etkisi de farklı dozlarda kullanılmıştır. Ancak $AgNO_3$'ın daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. Aktif Karbon ve $AgNO_3$ uygulamalarının fenolik bileşiklerin neden olduğu kararmalara etkisinin belirlenmesi (%)

Uygulama	Kararmayan eksplant (%)
15 µm $AgNO_3$	7.33 a (15.7)
30 µm $AgNO_3$	4.33 ab (11.94)
45 µm $AgNO_3$	2.66 bc (9.26)
0.0 g/L Aktif karbon	0.33 d (1.91)
0.5 g/L Aktif karbon	0.33 d (1.91)
1.0 g/L Aktif karbon	0.33 d (1.91)
2.0 g/L Aktif karbon	1.66 c (7.33)
LSD (%5)	4.296**

4.4. Farklı Sitokinin Kaynaklarının Eksplant Başına Düşen Kardeş Sayısının Belirlenmesine Yönelik Yapılan Uygulamalardan Elde Edilen Bulgular

Bitkilerde doku kültürü teknikleri ile çoğaltma özellikle kitlesel üretim için büyük önem arz etmektedir. Bu amaçla eksplant başına düşen kardeş sayısının yüksek olması gerekmektedir. Sitokininlerin oksinlerle kombinasyonu özellikle dozlar ayarlandığında genelde iyi sonuçlar vermektedir. Bazı araştırmalarda GA_3'ün de eksplant başına düşen kardeş sayısını arttırdığı ve kardeş gelişimini hızlandırdığı bilinmektedir.

Bu amaçla tezin bu bölümünde sitokinin kaynağı olarak BAP ve Metatpolin, oksin kaynağı olarak IBA ve NAA'nın farklı dozlarının GA_3 ile kombinasyonları denenmiş ve elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

4.4.1. Farklı BAP ve IBA Kombinasyonlarının Eksplant Başına Düşen Kardeş Sayısına Etkisi

Denemede Gamborg B5 Vitaminlerini içeren DKW temel besin ortamına GA_3 0.05 mg/L dozu sabit tutulup IBA (0, 0.1, 0.2, 0.3) mg/L ve BAP (0,1,2,3 mg/L) gibi farklı bitki büyümeyi düzenleyicilerin kardeşlenme üzerine etkisi karşılaştırılmıştır. DKW ortamının yanında McCown Woody Plant Medium besin ortamı da denemede kullanılmıştır. Denemeler 3 tekerrürlü olarak yapılmış ve her tekerrürde 20 bitki kullanılmıştır. Deneme sonuçlarına göre ortalama bitki başına kardeş sayısı (OBBKS) belirlenerek en iyi kardeşlenme ortamı belirlenmiştir.

3 haftalık süreden sonra kullanılan DKW ortamı denemelerinde 0 mg/L BAP ve 0 mg/L IBA kombinasyonlarının kullanıldığı ortamlar dışında kalan tüm uygulamalarda bitki gelişimi gözlenmiştir. Çizelge 4.5'de DKW temel besin ortamını ile BAP (0, 1, 2 ve 3 mg/L) ve IBA (0, 0.1, 0.2 ve 0.3 mg/L) konsantrasyonlarından oluşan 16 farklı kobinasyondan elde edilen ortalama bitki başına kardeş sayısı verilmiştir. Söz konusu Çizelge incelendiğinde BAP ve IBA'nın kullanılmadığı kombinasyonlardan hiç kardeş elde edilmediği görülmektedir.

Çizelge 4.5 incelendiğinde BAP ve IBA'nın farklı konsantrasyonlarından oluşan 16 kombinasyonun istatistiksel olarak farklı olduğu ve bu farkın %5 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Çizelge'de en yüksek eksplant başına kardeş sayısının BAP'ın 2 mg/L ve IBA'nın 0.1 mg/L kullanıldığı uygulamadan elde edildiği görülmektedir. Bu özellik bakımından en yüksek ikinci değer 2 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA kombinasyonunda elde edilmiştir. Bu kombinasyonu 3 mg/L BAP + 0.1 mg/L IBA kombinasyonu izlemiştir.

Çizelge 4.5 incelendiğinde BAP kullanılmadığı zaman kardeş elde edilmediği BAP kullanımına başlanmasıyla kardeş elde edildiği açıkça görülmektedir. En yüksek kardeş sayısı ise BAP'ın 2 mg/L ile IBA'nın 0.1 mg/L kullanıldığı kombinasyondan elde edildiği bu bakımdan ikinci en yüksek kardeş

sayısının ise BAP'ın 2 mg/L ile IBA'nın 0.2 mg/L kullanıldığı kombinasyondan elde edildiği belirlenmiştir. BAP konsantrasyonun artmasıyla kardeş sayısında azalmalar olduğu belirlenmiştir.



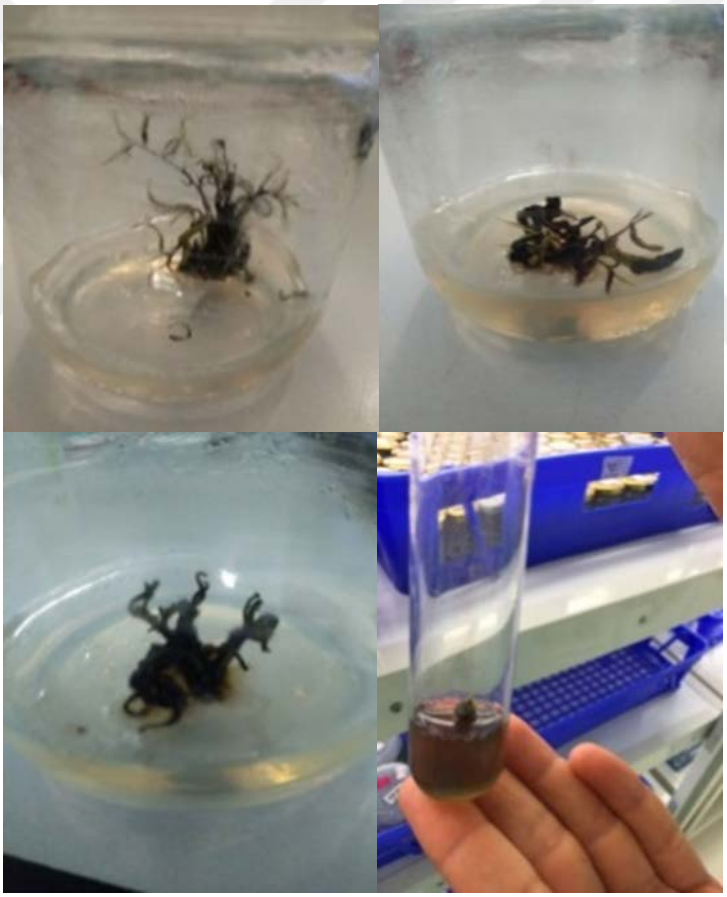
Şekil 4.3. DKW besin ortamlarından elde edilen bitkilere ait görüntüler

Çizelge 4.5. DKW temel besin ortamında farklı BAP ve IBA konsantrasyonlarından elde edilen kombinasyonlarda eksplant başına ortalama kardeş sayısı (adet)

BAP (mg/L)	IBA (mg/L)	OBBKS (kardeş sayısı) adet
0	0.0	0.00 f
	0.1	0.00 f
	0.2	0.00 f
	0.3	0.00 f
1	0.0	1.00 e
	0.1	1.50 cde
	0.2	1.33 de
	0.3	1.33 de
2	0.0	1.50 cde
	0.1	3.50 a
	0.2	2.50 b
	0.3	2.00 bcd
3	0.0	1.00 e
	0.1	2.17 bc
	0.2	1.83 bcd
	0.3	1.50 cde
Prob>f		*0.0001*
LSD%5		*0.665*

3 haftalık süre sonunda farklı sitokinin ve oksin kaynaklarının kardeşlenme üzerine etkileri gözlemlenmiştir. Denemede kullanılan McCown temel besin ortamında bitki gelişmesi gözlemlenememiştir. Bu nedenle MT denemelerine McCown ortamı ile devam edilmemiştir. Söz konusu ortam kullanıldığında Bitkilerde geriye ölümler olduğu, bitkilerin gelişemediği gözlemlenmiştir. Dolayısıyla farklı bitki büyümeyi düzenleyicilerinin etkileri belirlenememiştir. Tüm uygulamalarda bitkilerde kararmalar gözlenmiş ve ardından bitkiler ölmüştür. Bitkilerde özellikle sürgün ucunda meydana gelen kararmaların bitki büyüme düzenleyiciler ya da besin elementlerinin bitkiciklerde dağılımlarının ya da taşınmasının dengeli olarak

yapılamamasından kaynakladığı düşünülmektedir. Nitekim Vieifer ve ark. (1989) bu kararmaların belirtilen nedenlerden kaynaklandığını belirtmiştir. Garoosi ve ark., 2016 da *Pistacia vera* cv. Ghazvini de yaptıkları çalışmada en uygun kardeşlenme ortamını DKW ortamında 0.5 veya 1.0 mg/L BAP ve 0.1 mg/L IBA dozlarının kullanıldığı kombinasyonlarda 2.56 olarak belirlemişlerdir. Çizelge 4.5 incelendiğinde kullanılan temel besin ortamı aynı olmasına rağmen kullanılan BAP dozu arttırıldığında kardeşlenme sayısının da arttığı gözlemlenmektedir.



Şekil 4.4 McCown Woody Plant temel besin ortamının kullanıldığı ortamlarda meydana gelen bitki ölümlerine ait görüntüler.

4.4.2. Farklı BAP ve NAA Kombinasyonlarının Eksplant Başına Kardeş Sayısına Etkisi

DKW temel besin ortamında farklı dozlarda BAP ve NAA'dan oluşan kombinasyonlardan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6'da verilmiştir. Söz konusu Çizelge incelendiğinde BAP ve NAA'nın kullanılmadığı ortamlardan hiç kardeş elde edilmediği görülmektedir. Bu özellik bakımından en yüksek eksplant başına kardeş sayısı 2 mg/L BAP ve 0.1 mg/L NAA kombinasyonundan (3.83) elde edilmiştir. Bu bakımdan ikinci en yüksek değer ise 2 mg/L BAP + 0.2 mg/L NAA'nın kullanıldığı kombinasyondan (2.83) elde edilmiştir. Genelde 2 mg/L BAP'ın UCB-1 antepfıstığı anacının *in vitro* üretiminde en yüksek kardeş verdiği dikkati çekmiştir. Çizelge 4.5 ile karşılaştırıldığında benzer değerlerin elde edildiği görülmektedir.

Benmahioul ve ark., (2012)' de *Pistacia vera* L.'de yaptıkları bir çalışmada en yüksek çoğaltma katsayısının, Gamborg (B5) vitaminleri içeren ve 4 mg/L Benziladenin (BA) ile takviye edilmiş Murashige ve Skoog (MS) ortamında kültüre alınan boğum eksplantlarından 4.5 kardeş olarak elde etmişlerdir. 2 mg/L meta-topolin (MT) ilavesinin ise uygun morfolojik özelliklere sahip optimum sayıda elde ettiklerini belirtmişlerdir. Çizelge 4. 6 incelendiğinde en yüksek kardeş sayısını veren kombinasyon ile karşılaştırdığımızda elde edilen kardeş sayısındaki farklılıkların kullanılan temel besin ortamının farklı olmasından ve bitki büyüme düzenleyicilerin doz ve kombinasyon farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kalantar 2014'de *Pıstacia vera* L.'de yaptığı çalışmada kullanılan besin ortamına NAA eklenmesinin BAP'ın bitki tarafından alımını önleyip ve sonuçta büyümeyi engellediğini belirtmiştir. Antepfıstığının doku kültüründe çoğaltımında en iyi uygulamayı 2 mg/L BAP ve 0 mg/L NAA içeren DKW ortamından elde edildiğini saptamıştır. Benzer olarak bu araştırmada da NAA dozu arttığında kardeş sayısı azalmaktadır. Ancak 0.1 mg/L gibi çok düşük miktarlarda NAA kullanımı

BAP'a ilave olarak kullanıldığında kardeş sayısı üzerine olumlu sonuç vermiş ve Çizelge 4.6' da görüldüğü gibi 2mg/L BAP ve 0.1 mg/L NAA kombinasyonundan en yüksek kardeş sayısı olan 3.83değeri elde edilmiştir.

Çizelge 4.6. DKW temel besin ortamında farklı dozlarda BAP ve NAA'dan oluşan kombinasyonardan elde edilen ortalama bitki başına kardeş sayısı (adet)

BAP (mg/L)	NAA (mg/L)	OBBKS (kardeş sayısı) adet
0	0.0	0.00 f
	0.1	0.00 f
	0.2	0.00 f
	0.3	0.00 f
1	0.0	1.50 d
	0.1	1.33 de
	0.2	1.00 e
	0.3	1.33 de
2	0.0	2.33 c
	0.1	3.83 a
	0.2	2.83 b
	0.3	2.33 c
3	0.0	1.33 de
	0.1	2.33 c
	0.2	1.17 de
	0.3	1.50 d
Prob>f		*0.0001*
LSD%5		*0.464*



Şekil 4.5. Farklı BAP ve NAA Kombinasyonlarından elde edilen kardeş bitkilerinden bir görünüm

4.4.3. Farklı MT ve IBA Kombinasyonlarının Eksplant Başına Kardeş Sayısının Belirlenmesine Yönelik Yapılan Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular

Çizelge 4.7'de farklı dozlarda Metatopolin ve IBA konsantrasyonlarından oluşan kombinasyonlardan elde edilen eksplant başına kardeş sayısı verilmiştir. Söz konusu Çizelge incelendiğinde DKW temel besin ortamında farklı dozlarda MT ve IBA'dan oluşan kombinasyonlardan elde edilen sonuçlar görülmektedir. Söz konusu Çizelge incelendiğinde MT'nin hiç kullanılmadığı ortamlardan kardeş elde edilmediği görülmektedir. Bunun yanında en yüksek eksplant başına kardeş sayısı 2 mg/L MT ve 0.1 mg/L IBA kombinasyonundan (2.66) elde edilmiştir MT'ninde BAP gibi 2mg/L dozunda UCB-1 antepfıstığı anacının *in vitro* üretiminde en yüksek kardeş sayısını verdiği görülmektedir.

Moyo ve ark.(2011) 'de antepfıstığı ile aynı familyadan olan *Sclerocarya birrea*'da yaptıkları çalışmada metatopolini üç farklı dozda (2-4-8 μM)

kullanmışlar, ortalama olarak en yüksek kardeş sayısı MT 'nin 8 µM dozundan 8 hafta sonra 2.4 kardeş olarak elde edilmiştir. Aynı araştırıcılar bitkileri aynı dozda MT ile 4 hafta kültüre alındığında ise 1.7 ortalama kardeş elde edilmiştir. Doku kültürü ile üretimde 8 hafta alt kültür süresi için çok uzun bir süre olup pratikte kullanışlı bulunmamaktadır. Bu çalışmada ise Çizelge 4.7'de de görüldüğü gibi en yüksek kardeş sayısının MT'nin 2 mg/L ve IBA'nın 0.1 mg/L dozlarının birlikte kullanılmasıyla 2.66 kardeş sayısı elde edilmiştir. Yaptığımız bu çalışmada ise 4 hafta sonunda en yüksek kardeş sayısı belirlenmiştir.

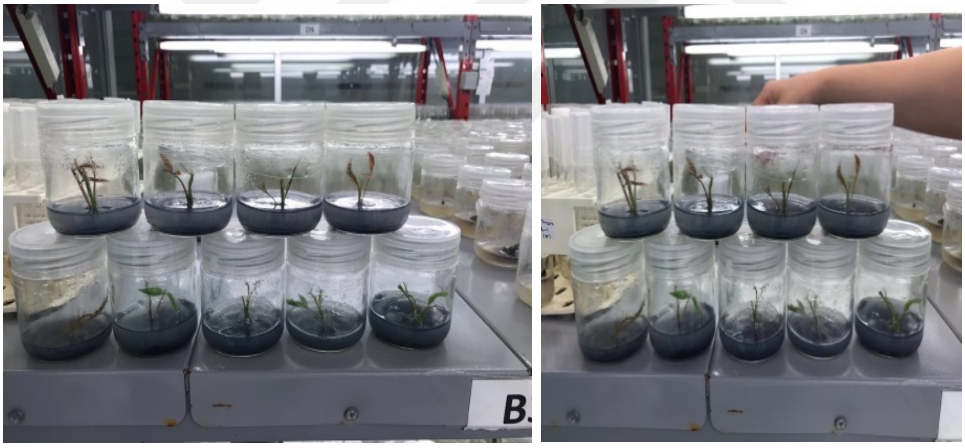
Çizelge 4.7. Farklı dozlarda MT ve IBA konsantrasyonlarından oluşan kombinasyonlardan elde edilen eksplant başına düşen ortalama kardeş sayısı (adet)

MT (mg/L)	IBA(mg/L)	OBBKS (kardeş sayısı) adet
0	0.0	0 c
	0.1	0 c
	0.2	0 c
	0.3	0 c
1	0.0	0.66 c
	0.1	1.66 b
	0.2	1.66 b
	0.3	2.33 ab
2	0.0	1.66 b
	0.1	2.66 a
	0.2	2.33 ab
	0.3	1.66 b
3	0.0	1.66 b
	0.1	2.33 ab
	0.2	2.33 ab
	0.3	1.66 b
Prob>f		*0.0001*
LSD%5		*0.0.588*

4.5. Farklı Oksin Kaynaklarının Köklenmeye Etkisinin Belirlenmesine Yönelik Yapılan Çalışmalardan Elde Edilen Bulgular

Denemede Gamborg B5 Vitaminlerini içeren ½ DKW temel besin ortamına IBA (1, 2 ve 3 mg/L) ve NAA'(0.01, 0.1, 1, 0.02, 0.2 ve 2 mg/L) nin farklı doz ve kombinasyonlarından oluşan 18 farklı ortamda köklenme durumları incelenmiştir. Ortamlarda sakkaroz %2 olarak kullanılmıştır

Denemeler üç tekerrürlü olarak yapılmış olup her uygulamada 20 bitki kullanılmıştır. Ancak bitkiler 18 farklı ortamda 4 hafta süre bekletilmiş olmalarına rağmen herhangi bir köklenmenin olmadığı, kök primordiumlarının oluşmadığı gözlemlenmiştir. Bu amaçla köklenme denemelerinde farklı bitki büyümeyi düzenleyiciler ve bunların farklı dozları, karanlıkta bekletme, *exvitro* köklendirme , aktif karbon gibi farklı yöntemlerin denenmesi önerilmektedir.



Şekil 4.6. Köklenme Ortamına Alınmış Kültürlerden Bir Görünüm

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırma 2015-2017 yılları arasında Beta Fidan Doku Kültürü Islah Arge Ziraat Tarım Sulama Hayvancılık Gıda Turizm İnşaat Sanayi Ve Ticaret Limited Şirketi'ne ait laboratuvar ve kontrollü seralarda gerçekleştirilmiştir.

Pistacia atlantica ve *Pistacia integerrima* melezi olan UCB-1 anacının hem *Verticillium* hastalığına dayanım gösterdiği hem de tuzlu topraklara daha toleranslı olduğu bununla birlikte soğuklara daha dayanıklı olduğu bilinmektedir. Zigotik kökenli tohumlardan yetişen çöğürlerde açılım söz konusu olduğunda tohumdan anaç elde etmenin oldukça zor olduğu bilinmektedir. Bu nedenle hızlı ve kitlesel anaç üretimine imkân veren doku kültürü tekniklerini kullanarak UCB-1 anacının çoğaltımına yönelik araştırmalar bu çalışmada gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında sürgün elde etmek amacıyla kontrollü sera koşullarında büyütülen saksılı materyallerden sürgünler alınmış ve farklı sterilizasyon denemeleri kurularak en iyi yüzey sterilizasyonu başarısının 10% NaOCl dozunun 10 dakika muamelesi ile elde edildiği (%76) belirlenmiştir.

Antepfıstığının bünyesinde bulunan fenolik bileşenlerden kaynaklanan kararmaları önlemek için yüzey sterilizasyonu aşamasından hemen sonra ve besin ortamlarına ilave olarak farklı kimyasallar denenmiştir. Eksplantlar yüzey sterilizasyonu aşamasından hemen sonra Glutathione ve L-cysteine-HCl gibi antioksidantlar içeren solüsyonlarda kontrol olarak ise sadece saf su ve kimyasal içermeyen solüsyonlarda 15'er dakika bekletilmiştir. L-cysteine-HCl'in 100 µM ve 200 µM dozları ile yapılan muamelelerde hayatta kalma oranı %20 civarlarında olarak belirlenmiştir. Glutathione ise %10 dozunda uygulandığında kararmaları önleyip bitkilerde hayatta kalma başarısı göstermiştir. Aktif karbon ve Gümüş Nitrat ise fenolik kararmaları önlemesi amacıyla besin ortamına ilave edilmiştir. En iyi sonuç 15 µm $AgNO_3$ kullanılan ortamdan elde edilmiştir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda $AgNO_3$'ü 24 µm veya 48 µm dozlarında kullanmak daha iyi

sonuçlar vereceği düşünülmektedir Aktif karbon uygulamalarından ise en iyi sonuç 2 g/L kullanılan ortamdan elde edilmiştir. Bundan sonraki yapılacak çalışmalarda aktif karbon daha yüksek miktarlarda denenebilir. Elde edilen materyalleri kullanarak yapılan kardeşlenme denemeleri DKW (Juglans Medium) ve WPM (Woody Plant Medium) gibi farklı besin ortamları kullanılarak UCB-1 antepfıstığı anacının mikro çoğaltımı optimize edilmeye çalışılmıştır. WPM (Woody Plant Medium) besin ortamı kullanıldığında bitkiciklerde kardeşlenme görülmemiş ayrıca geriye ölümler meydana gelmiştir. Bu ölümlerin nedeninin bitkinin bitki besin elementi ya da bitki büyüme düzenleyicilerin dengesini kuramadığından kaynaklandığı düşünülebilir. DKW ortamı kullanılan çalışmalarda ise uygun bitki büyüme düzenleyici kombinasyonlarında kardeşlenmeler gözlemlenmiştir. En yüksek bitki gelişimi 2 mg/L BAP + 0. 1 mg/L IBA + 0.05 mg/L GA_3 kombinasyonundan elde edilmiştir.

Köklendirme denemelerinde farklı oksin kaynakları kullanılmış ve temel besin ortamı olan DKW ½ dozunda kullanılmıştır. IBA'nın (1, 2 ve 3 mg/L), NAA'nın farklı (0.01, 0.1, 1, 0.02, 0.2 ve 2 mg/L) dozları ve kombinasyonlarının UCB-1 anacının köklenme üzerine etkili olmadığı ve köklenmenin bitkiler ortama konulduktan 4 hafta sonraya kadar meydana gelmediği tespit edilmiştir. Bundan sonraki araştırmalarda farklı sürelerde karanlıkta bekletme, farklı dozlarda aktif karbon uygulamaları, farklı agar konsantrasyonları ve tiplerinin köklenmeyi teşvik edici PEG (polietilen glikol) ve kazein gibi kimyasallarla denemelerin yapılması önerilmektedir.

Yapılan bu çalışmada UCB-1 antepfıstığı anacının *in vitro* kitlesel üretiminin uygun sterilizasyon yöntemleri ve uygun kombinasyonlarda bitki büyümeyi düzenleyici kullanımı ile gerçekleştirebildiği belirlenmiştir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda en iyi sterilizasyon metodu ve kardeşlenme için başarılı olan besin ortamları kullanılarak kolaylıkla kitlesel üretim yapılabilecektir. WPM ortamı sürgün geliştirme ve kardeşlenme ortamlarında başarısız bulunmuş,

bitkilerde geriye ölümlere sebep olmuştur. Bu nedenle bundan sonra yapılacak çalışmalarda WPM kullanımı önerilmemektedir.

Bundan sonraki araştırmalarda köklenme üzerine yoğunlaşılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Aasim, M., Day, S., Rezaei, F., and Hajyzadeh, M., 2013. Multiple shoot regeneration of plumular apices of chickpea. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 37(1), 33-39.

Abousalım,A., 1990. Micropropagation and micrografting of pistachio (*P. vera* L. And *Pistacia atlantica* Desf.) PhD Thesis, Department of Horticulture. Wye College, University of London, UK.

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

Abousalim, A., And Mantell, S.H., 1992. Micrografting of Pistachio (*Pistacia vera* L. cv. Mateur). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 29 (3), 231–234

Abu-Qaoud, H., 2007. Effect of scarification, gibberellic acid and stratification on seed germination of three *Pistacia* species. An-Najah Univ J Res (N Sc), 12, 1-11.

Aghaei, P., Bahramnejad, B., and Mozafari, A.A., 2013. Effect of different plant growth regulators on callus induction of stem eksplants in '*Pistacia atlantica'* subsp. kurdica. Plant Knowledge Journal, 2(3), 108.

Al Barazi, Z., Schwabe, W.W., 1982. Rooting Softwood Cuttings of Adult *Pistacia vera*. Journal of Horticultural Science, 57,247–252.

Alderson, P. G., and Barghchi, M., 1982. potential for *Pistacia* propagation through shoot, leaf and callus culture. In Plant tissue culture 1982: proceedings, 5th International Congress of Plant Tissue and Cell Culture held at Tokyo and Lake Yamanake, Japan.

Al-Khayri, J., Al- Bahrany, A.M., 2001. Silver Nitrate and 2-Isopentyladenine Promote Somatic Embryogenesis In Date Palm. Scientia Horticulturae, 89, 291-298.

Almehdi, A.A., Parfitt, D.E, Chan, H., 2002. Propagation of Pistachio Rootstock by Rooted Stem Cuttings. Scientia Horticulturae, 96, 359–363.

Anonim, 2001. Antepfıstığı Yetiştiriciliği. Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü Yayınları, Gaziantep, 13:1-132.

Asghari, B., 2006. Role of Growth Promoting Substances in Breaking Potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber dormancy. Journal of Agriculture & Social Sciences, 2 (3), 175–178.

Atli, H.S., Kaska, N., 2002. Pistachio Rootstocks Breeding By Crossing *Pistacia Vera* L. and *Pistacıa Khinjuk* Stocks. International Society for Horticultural Science, 591, 83-89.

Ayfer, M. and E. F. Serr. 1961. Effects of Gibberellin and other Factors on Seed Germination and Early Growth in *Pistacia* Species. Journal of the American Society for Horticultural Science, 77, 308-315.

Ayfer, M., 1990. Past, present and future of Pistachio nut. In: Proceedings of First Turkish Pistachio Symposium, September, Gaziantep, Turkey, 14-23.

Ayfer, M., Okay,Y. Anderdoğan, V., 1990. Antepfıstığı Anaçları ve Çoğaltımları. 1.Antepfıstığı Simpozyumu Bildirileri, 11-12 Eylül 1990, Antepfıstığı Araştırma Enstitütüsü, Gaziantep, 38-48.

Babaoğlu, S., Yorgancıoğlu, M., Akbudak, M.A., 2002. Doku Kültürü: Temel Laboratuar Teknikleri: Bitki Biyoteknolojisi-I, Doku Kültürü ve Uygulamaları. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 374, Konya.

Bargchi, M., 1985. *In vitro* Culture of Mature Commercial Varieties of *Pistacia vera* L. Proc.Int. Plant Prop. Soc. 35, 331-335.

Bargchi, M., Alderson, Pg., 1982. *In vitro* Propagation of *Pistacia* Species. Acta Horticulturae, 131, 1–6.

Bargchi, M., Alderson, Pg.,1985. *In Vitro* Propogation of *Pistacia vera* L. and The Commercial Cultivars Ohadi and Kalleghochi. Journal of Horticultural Science, 60,425-30.

Bargchi, M., Alderson, Pg.,1989. Pistachio (*Pistacia vera* L.).In: Bajaj,Y.P.S. (Ed) Biotechnology in Agriculture and Forestry, Trees 2 Iı.Springer- Verlag, Berlin, Germany. 5, 68-98.

Barghchi, M.,1986. *In vitro* Micropropagation of *Pistacia* Rootstocks. Proceeding of The International Plant Propagators Society, 35, 334-337.

Barut, E., 1995. Gelecekte Bahçe Bitkilerinde Büyüme Düzenleyici Maddelerin Kullanımı, Derim, 7, (2), 51-73.

Bayer, E.M., Morgan, J.P.W., Yang, S.F., 1984. Ethylene. In: Wilkins, Mb. (Ed.), Advanced Plant Physiology. Pitman Press, Bath, Uk, 111-126.

Behboodi, B., 2002. Tissue Culture Results of All Wild Pistacio Species and Some Cultivars in Iran. Acta Horticulturae, 591:399-403.

Benmahioul, B., Dorion, N., Kaid-Harche, M., Carlson F.D., 2012. Micropropagation and Ex vitro Rooting Of Pistachio (*Pistacia Vera* L.). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 108: 353-358.

Benmahioul, B., Kaid *In arche*, M., Dorion, N., and D

Embryo Germination and Proliferation of Pistachio (*Pistacia Vera* L.). Scientia Horticulturae, Amsterdam, 122, 3, 479–483.

Bharadwaj,L., Ramawat, K.G.,1993. Effect Of Antioxidants and Absorbents on Tissue Browning Associated Metabolism in Cocculus Pendulus Callus Cultures. Indian J. Exp. Biol. 31,715-718.

Bohlenius, H., Huang, T., Charbonnel-Campaa, L., Brunner, A.M., Jansson, S., Strauss, S.H., Nilsson, O., 2006. Co/Ft Regulatory Module Controls Iming of Flowering and Seasonal Growth Cessation in Trees.Science 312, 1040-1043.

Buban, T., 2000. The Use of Benzyladenine in Orchard Fruit Growing: A Mini Review. Plant Growth Regulation, 32, 381-390.

Budak, N., Çalışkan, C.F., Çaylak, Ö., 1994. Bitki Büyüme Regülatörleri ve Tarımsal Üretimde Kullanımı, Ege Üniv. Zir. Fak. Dergisi, 31, 289-296.

Bustamante-Garcia, M. A., 1984. Micropropagation and Rejuvenation of *Pistacia* Species, and the Mechanism by which Light Influences Root Initiation.

Chao, C. T., Parfitt, D. E., Ferguson, L., Kallsen, C., and Maranto, J., 2003. Genetic analyses of phenological traits of pistachio (*Pistacia vera* L.). Euphytica, 129(3), 345-349.

Cockıng, E. C., 1993. Obituary: Professor F. C. Steward. Independent online journal, news, people (London)..

Cristea T.O., Leonte, C., Brezeanu, C., Brezeanu, M., Ambarus, S., Calin, M., Prisecaru, M., 2012. Effect of AgNO3 on androgenesis of *Brassica oleracea* L. anthers cultivated *in vitro*. African Journal of Biotechnolgy. 11:13788–13795

Cunningham, M.W., 1986. Genetic Variation in Rooting Ability of American Sycamore Cuttings. In: Proc. Tappı Res. And Dev. Conf. Tappı Press, Atlanta, Ga, 1–6.

Dolcet-Sanjuan R., Cleveria E., 1995. Improved Shoot Tip Micropropagation of *Pistacia vera* L. and The Benefical Effects of Methyl Jasmonate. Journal of the American Society for Horticultural Scienc, 120, 938-942.

Dollo L, Hormaza J.I., Polito V.S., 1995. Rapd Polymorphism Among Pistachio (*Pistacia vera* L.) Cultivars. Fruit Varieties J., 49, 3, 147-152.

Dreher, M.L., 2012. Pistachio Nuts: Composition and Potential Health Benefits. Nutrition Reviews, 70, 234-240.

Dunn, E.D., Cole, J.C., Smith, M.W., 1996a. Position of Cut, Bud Retention an Auxin Influence Rooting of *Pistacia chinensis* Scientia Horticulturae, 67, 105–110.

Dunn, E.D., Cole, J.C., Smith, M.W., 1996b. Timing of *Pistacia chinensis* Bunge. Rooting Using Morphological Markers Associated with Calendar Date an Degree Days Journal of the American Society for Horticultural Science, 269–273.

Epstein. L. And Morgan, D., 1990. Resistance of *Pistacia* Rootstocks to *Verticillium daltliae*. California Pistachio Industrial Report, Crop Year 1989-90, 123-126.

Evans, J.R., 1988. Acclimation by The Thylakoid Membranes to Growth Irradiance and The Partitioning of Nitrogen Between Soluble And Thylakoid Proteins Australian Journal of Plant Physiology, 15, 93–106.

Fancher, G.A., Tauer, G.G., 1981. Natural Variation in Rooting Ability of Western Provenances of Short Leaf Pine. In: Proceedings 16th Southern Forest Tree Improvement Conference, 189–199.

Faostat-2013 Food and Agriculture Organization of The United Nations **(**FAO), Web Page. http://www.apps.fao.org

Ferguson, L., Sanden, B., Grattan, S., Epstein, L., Krueger, B., 2005a. Pistachio Rootstocks. In:Ferguson L (Ed), Pistachio Production University of California, 67-73.

Fırat, B., 1998. Bitki Nasıl Beslenir? Atlas Kitapevi, Konya, 292 S.

Garoosi, G., Delijam, M. A., Nezami-Alanagh, E., & Hosseini, R. (2016). Improving Pistacia vera micropropagation: with emphasis on the efficiency of minerals, vitamins and plant growth regulators. Journal of Plant Molecular Breeding, 4(1), 43-54.

George, E.E., 1996. Plant Propogation by Tissue Culture. Parts 1&2 Exegetics LTD. U.K..,799 pages.

Gijóna, M. D. C., Gimenez, C., Perez-Lópeza, D., Guerreroa, J., Couceiroa, J.F., Moriana, A., 2010. Rootstock Influences the Response of Pistachio (*Pistacia vera* L. Cv. Kerman) to Water Stress and Rehydration. Scientia Horticulturae, 125, 666-671.

Giridhar, P., Obul Reddy, B., Ravishankar, G.A., 2001. Silver nitrate influences *in vitro* shoot multiplication and root formation in *Vanilla planifolia* Andr. Curr Sci 81:1166–1170

Goh, C.J., Ng, S.K., Lakshmanan, P., Loh, C.S., 1997. The Ethylene on Direct Shoot Bud Regeneration from Mangosteen Leaves Cultured *in vitro*. Plant Science, 124, 193-202.

Graham, J.H., Bright, D.B., and McCoy, C.W., 2003. Phytophthora-Diaprepes weevil complex: *Phytophthora* spp. relationship with citrus rootstocks. Plant Disease, 87(1), 85-90.

Grunewald, W., Noorden, G.V., Isterdael, G.V., Beeckman, T., Gheysen, G., Mathesius, U., 2009. Manipulation Of Auxin Transport in Plant Roots During *Rhizobium Symbiosis* and Nematode Parasitism. The Plant Cell, 21, 2553–2562.

Gubbuk, H. And Pekmezci, M., 2004. *In vitro* Propagation of Some New Banana Types (*Musa* Spp.). Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 28: 355-361.

Guerrero, F., Gasco, J.M., Hernández-Apaolaza, L., 2002. Use of Pine Bark and Sewage Sludge Compost as Components of Substrates For *Pinus Pinea* and *Cupressus arizonica* Production Journal of Plant Nutrition, 25, 129–141.

Guerrero, J., Couceiro, J.F., and Moriana, A., 2002. Selection of Terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) Trees As Seed Producers for Pistachio (*Pistacia vera* L) Rootstocks in The Castilla La Mancha (Spain). Fao -Nucis- Newsletter 11, 25–29.

Guerrero, J., Couceiro, J.F., Moriana, A., Gijon, M.C., And Rivero, A., 2007. El Pistachero (*P. Vera* L.) En Castilla -La Mancha. Comporta Secano De Diferentes Cultivares Y Portainjertos. Acta Horticulturae, 48, 635–638.

Guerrero, J., Moriana, A., And Couceiro, J.F., 2004. La Operación De İnjerto En Pistachero (*Pistacia vera* L.) Condicionantes En Castilla La Mancha. Fruticultura Profesional 140, 41–53.

Güleryüz, M., 1982. Bahçe Ziraatında Büyütücü Ve Engelleyici Maddelerin Kullanılması ve Önemi, Atatürk Üniversitesi Yayınları, No: 279.

Haberlandt, G., 1902. Culturversuche mit isolierten Pflanzenzellen. Sitz-Ber. Mat. Nat. KI. Kais. Akad. Wiss. Wien 111 69- 92.

Halloran, N., Kasım, M.U., 2002. Meyve Ve Sebzelerde Büyüme Düzenleyici Madde Kullanımı Ve Kalıntı Düzeyleri. Gıda, 27 (5): 351-359

Haque, M., Siddique, A.B., Shahinul Islam, S.M., 2015. Effect of silver nitrate and amino acids on high frequency plants regeneration in barley (*Hordeum vulgare* L.). Plant Tissue Cult Biotechnol 25:37–50

Hormaza, J. I., Wünsch, A., 2007. Genome Mapping And Molecular Breeding in Plants. 4, 12.

Housti,F., Coupe, M., d'Auzac,J.,1992. Effect of ethylene on enzymatic activities involved in the browning of *Hevea brasiliensis* callus. Physiol. Plant. 86,445-450.

Hsa (Hellenic Statistical Authority), 2012 Http://Www.Statistics.Gr/En/ Statistics/-/Publication/Spg06/2012 (Accessed 10.09.16).

Hyde, C.L., and Phillips, G.C., 1996. Silver nitrate promotes shoot development and plant regeneration of chile pepper (*Capsicum annuum* L.) via organogenesis. *In vitro* Cellular & Developmental Biology-Plant, 32(2), 72-80.

Jain, P., Kachhwaha, S., and Kothari, S.L., 2014. Chloroplast ultra structure, photosynthesis and enzyme activities in regenerated plants of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni as influenced by copper sulphate in the medium.

Jiang, H., Peng, S.M., Zhang,S., Li,X.G., Korpelainen, H., 2012. Transcriptional Profilling Analysis in Populus Yunnanensis Provides Insights Into Molecular Mechanisms of Sexual Differences in Salinity Tolerance. Journal of Experimental Botany, 63, 3709-3726.

Kafkas, S. And Perl-Treves, R., 2002. Interspecific Relationships in *Pistacia* Based On Rapd Fingerprinting. Hortscience, 37 (1): 168-171.

Kafkas, S., 2006a. Phylogenetic Analysis of The Genus *Pistacia* By AFLP Markers. Plant Systems and Evolution, 262(1–2): 113–124.

Kafkas, S., 2006b. Phylogeny, Evolution And Biodiversity in The Genus *Pistacia* (Anacardiaceae). (A.K. Sharma And A. Sharma, Editör). Plant Genome, Biodiversity and Evolution. Volume 1, Part C, Phanerogams (Angiosperm Dicotyledons), Science Publishers, Enfield(Nh), Jersey, Plymouth, Usa, 526-557.

Kafkas, S., Kaşka, N. and Perl-Treves, R., 2000. Unusual *Pistacia Atlantica* Desf. (Anacardiaceae) Monoecious Sex Types in The Yunt Mountains of The Manisa Province of Turkey. Israel Journal of Plant Sciences 48(4): 277-280.

Kafkas, S., Khodaeiaminjan, M., Güney, M., and Kafkas, E., 2015. Identification of sex-linked SNP markers using RAD sequencing suggests ZW/ZZ sex determination in *Pistacia vera* L. BMC genomics, 16(1), 98.

Kafkas, S., Ozkan, H., Ak, B.E., Acar, I., Atli, S., Koyuncu, S., 2006. Detecting DNA Polymorphism and Genetic Diversity in A Wide Pistachio Germplasm: Comparison of AFLP, Issr, And RAPD Markers. American Society For Horticultural Science, 131:522-529.

Karimi, H.K., Maleki Kuhbanani, A., 2015. The Evaluation Of Inter-Specific Hybrid of *P. atlantica* X *P.Vera* Cv."Badami Zarand" as a Pistachio Rootstock To Salinity Stress. Journal of Nuts, 6,113-122.

Karimi, H.K., Nasrolahpour-Moghadam, S., 2016. Study of Sex Related Differences in Growth İndices Andeco-Physiological Parameters Of Pistachio Seedlings (*Pistacia vera* Cv. Bademi-Riz-E-Zarand) Under Salinity Stress. Scientia Horticulturae, 202.165-172.

Karimi, H.R., Ebadi, A., Zamani, Z., Fatahi, R., 2011. Effect of Water Salinity on Growth Indices and Physiological Parameters in Some Pistachio Rootstocks. Journal of Plant Nutrition. 34, 935-944

Karimi, H.R., Hasanpour, Z., 2014. Effects of Salinity And Water Stress on Growth and Macronutriants Concentration of Pomegrante (*Punica Granattum* L.). Journal of Plant Nutrition. 37,1-15.

Karimi, H.R., Zamani, Z., Ebadi, A., Fatahi,R., 2012. Effect of Water Salinity On Growth İndices and Physiological Parameters in Some Wild Pistachio.J.Nuts 3,41-48.,

Kaynak, L., Ersoy, N., 1997. Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Genel Özellikleri ve Kullanım Alanları, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 10, 223-236.

Kaynak, L., İmamgiller, B., 1997. Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Fizyolojik Olaylardaki Rolleri, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 10, 289-299.

Kaynak, L., Memiş, M., 1997. Bitki Büyüme Engelleyici ve Geciktiricilerinin Etki Mekanizmaları, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi,10, 237-248.

Kester D.E,. And Sartori, E., 1966. Rooting Of Cuttings in Populations of Peach (*Prunus Persica* L.), Almond (*Prunus Amygdalus* Batsch) and Their F1 Hybrids. Proceedings of the American Society for Horticultural Science, 88:219-223.

Knudson, L., 1920. The secretion of invertase by plant roots. American Journal of Botany, 7(9), 371-379.

Kong, L., Yeung, E.C., 1995. Effect of Silver Nitrate and Polyethylene Glycol on White Spruce Somatic Embryo Development: Enhancing Cotyledonary Embryo Formation and Endogeneous ABA Content. Physiologia Plantarum. 93. 298-304.

Kotsias, D., Roussos, P.A., 2001. An Investigation on The Effect of Different Plant Growth Regulating Compounds *in vitro* Shoot Tip and Node Culture of Lemon Seedlings. Scientia Horticulturae, 83,115-128.

Kumar, P.P., Lakshmanan, P., Thorpe, T.A., 1998. Regulation of Morphogenesis in Plant Tissue Culture by Ethylene. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology, 34,94-103

Loomis, W. D., and Battaile, J., 1966. Plant phenolic compounds and the isolation of plant enzymes. Phytochemistry, 5(3), 423-438.

Lopez-Galvez,G., Salveıt, M., And Cantwell, M., 1996. Postharvest Biology and Technology, 9:223-233.

Madhusudhanan, K., Rahiman, B.A., 2000. The Effect of Activated Charcoal Supplemented Media to Browning of *in vitro* Cultures of *Piper* Species. Biologia Plantaru. 43 (2), 297-299.

Mansuroğlu, S., Gürel, E., 2001. Mikroçoğaltım. Bitki Biyoteknolojisi I. Doku Kültürü ve Uygulamaları, Babaoğlu, M., Gürel, E. ve Özcan, S. (edt.) 374 sayfa, 262- 281.

Martinelli, A., Loretti, F., 1988. Use of *in vitro* techniques for selection and cloning of different *Pictacia* species. Acta Hort. 227, 436- 437.

Martinez-Palle E, Herrero M., 1994. Male Performance in Pistachio (*Pistacia vera* L.). Journal of Horticultural Science, 69:1117-1122.

Mason, G.F., and Gutterıdge, C.G., 1974. The Role of Calcium, Boron, and Some Divalent Ions in Leaf Tipburn of Strawberry. Scienta Horticulture, 2, 299-308.

Mccown, B.H., and Sellmer, J.C., 1987. General Media and Vessels Suitable for Woody Plant Culture. In Cell and Tissue Culture in Forestry, Netherlands, 1, 4-16.

Mederos, S., 1991. Multiplicacion Vegetative *In vitro* De Especies Lenosas De İnteres Agronomico *Pistacia Atlantica* Desf *Pistacia Vera* Cv.Mateur. Phd University Of La Laguna.Tenerife Canary Islands, Spain, 392.

Mederos-Molina, S., & Trujillo, M. I., 1999. Elimination of browning exudate and *in vitro* development of shoots in *Pistacia vera* L. cv. Mateur and Pistacia atlantica desf. culture. Acta societatis botanicorum Poloniae, 68(1), 21-24.

Mehrnejad, M.R., 2003. Three Pistachio species evaluated for resistance to the common Pistachio *Psylla*, Agonoscenapistaciae. Proccedings: "Forest Insect Population Dynamics and Host Influences" (pp. 58-62). IUFRO Kanazawa.

Moyo, M., Finnie, J. F., and Van Staden, J. 2011. Recalcitrant effects associated with the development of basal callus-like tissue on caulogenesis and rhizogenesis in *Sclerocarya birrea*. Plant growth regulation, 63(2), 187-195.

Muruganantham, M., Amutha, S., Selvaraj, N., Vengadesan, G., Ganapathi, A., 2007. Efficient Agrobacterium-mediated transformation of Vigna mungo using immature cotyledonary-node eksplants and phosphinothricin as the selection agent. *In Vitro* Cell Dev Biol-Plant 43:550–557.

Naik, S.K., Chand, P.K, 2003. Silver nitrate and aminoethoxyvinylglycine promote *in vitro* adventitious shoot regeneration of pomegranate (*Punica granatum* L.). J Plant Physiol 160:423–430.

Naik, S.K., Chand, P.K., 2003. Silver Nitrate and Aminoethoxyvinylglycine Promote *in vitro* Adventitious Shoot Regeneration of Pomegrante. Journal of Plant Physiology, 160 (4), 423-430.

Onay, A., Jeffree, C.E., 2000. Somatic Embryogenesis in Pistachio. In: Jain, MS, Gupta,PK,Newton,RJ.(eds), Somatic Embryogenesis in woody plants, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.6:361-390.

Onay, A., 2000b. Somatic Embryogenesis From Mature Seed Cultures of *P. atlantica*. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 24: 465-473.

Onay, A., 2003. Micropropagation of Pistachio. In :Jain, M.S., Ishii, K.(Eds.), Micropropagation Of Woody Trees And Fruits, 75 Kluwer Acad. Press, Dordrecht, The Netherlands, 565-588.

Onay, A., 1996. *In vitro* Organogenesis and Embryogenesis of Pistachio, *Pistacia vera* L. Ph.D Thesis, University of Edinburgh, Edinburgh, Uk, 213.

Onay, A., 2000a. Micropropagation of Pistachio from Mature Trees. Plant Cell Tissue Organ Culture, 60: 159-162.

Onay, A., Jeffree, C.E., Theobald, C., Yeoman, M.M., 2000. Analysis of the effects of maturation treatments on the probabilities of somatic embryo germination and plantlet regeneration in pistachio using a linear logistic method. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 60(2), 121-129.

Onay, A., Jeffree, Ce., Yeoman, Mm., 1995. Somatic Embryogenesis In Cultured Immature Kernels of Pistachio, *P. vera* L. Plant Cell Reports., 15: 192-195

Onay, A., Jeffree, Ce., Yeoman, Mm., 1996. Plant Regeneration From Encapsulated Embryoids and an Embryogenic Mass of Pistachio. Plant Cell Reports, 15: 723-726.

Onay, A., Pirinç, V., Yıldırım, H., and Basaran, D., 2004. *In vitro* Micrografting of Mature Pistachio (*Pistacia vera* var. Siirt). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 77 (2), 215–219.

Onay, A., Tilkat, E., Isikalan, C., and Namli, S., 2007. Micrografting of Pistachio (*Pistacia vera* L. Cv. Siirt). In Protocols For Micropropagation of Woody Trees And Fruits, S.M. Jain, and H. Haggman, Eds., P.289–298.

Ozden-Tokatlı,Y., Ozudoğru, E.A. and Akcın, A., 2005. *In vitro* Response of Pistachio Nodal Eksplants to Silver Nitrate. Scientia Horticulturae, 106:415-26.

Ozden-Tokatlı,Y., Ozudoğru,E.A. and Akcın, A., 2004. *In vitro* Regeneration Of Pistachio Through Organogenesis: Effect of Silver Nitrate, Polyvinylpyrrolidone and Citric Acid. In: Proceedings Of "2004 World Congress On *In vitro* Biology", Vol.40,46, San Francisco, California, USA.

Ozyigit, I.I., 2008. Phenolic changes during *in vitro* organogenesis of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) shoot tips. African Journal of Biotechnology, 7(8), 1145.

Padulosi, S., & Hadj-Hassan, A., 2001. Project on Underutilized Mediterranean Species. *Pistacia*: towards a comprehensive documentation of distribution and use of its genetic diversity in Central & West Asia, North Africa and Mediterranean Europe. Report of the IPGRI Workshop, Irbid, Jordan.

Palavan-Ünsal, N., 1993. Hormonlar ve Meyvelenme. Bitki Büyüme Maddeleri. İstanbul Üni. Basım Evi Ve Film Merkezi. Üniversite Yayın No:3677, 197-211.

Parfitt, D.E., Almehdi, A.A., 1994. Use of a High Co2 Atmosphere and Medium Modifications For The Successful Micropropagation of Pistachio. Scientia Horticulturae, 56: 321-329.

Parfitt, D.E., Badenes M.l., Ferguson L., Marano, J., Almehdi, A., Guo Yang L., 1995. Pistachio Breeding and Genetics Programme at The University of California. Acta Horticulturae, 419:279-280.

Picchioni, G.A., Davis J.R., F.T., 1990. Micropropagation of *Pistacia atlantica* Shoots From Axillary Buds. Plant Prop. Nesl, 2,14-15.

Picchioni, G.A., Miyamoto, S., Storey, J.B., 1990. Salt Effects on Growth and Ion Uptake of Pistachio Rootstock Seedlings. Journal of the American Society for Horticultural Science, 115, 647-653.

Pontikis, C.A., 1984. *In Vitro* Propagation of *Pistacia terebenthus* L. Plant Propagation, 30,14-15.

Pontikis,C.A., 1975. Contribution to Studies on Pistachio Pollination Problems. The Effect of Sprays with Winter Oils (DNOC) on The Earliness of Flowering in Pistachio. Nea. Agro. Epith. 9:291-298.

Rahemi, M., and Baninasab, A., 2000. Effect of gibberellic acid on seedling growth in two wild species of pistachio. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 75(3), 336-339.

Raven, P.H., Evert, R.F., Eichhorn, S.E., 1992. Regulating Growthand Development: The Plant Hormones (In: Biology Of Plants) Pp 545-571, Worth Publishers, New York, Usa.

Reis, E., Batista, M. T., Canhoto, J. M., 2008. Effect and analysis of phenolic compounds during somatic embryogenesis induction in *Feijoa sellowiana* Berg. Protoplasma, 232(3), 193-202.

Rezaei, Pf., Fouladdel, S., Hassani, S., Yousefbeyk, F., Ghaffari, Sm., Amin, G., Azizi, E., 2011. Induction of Apoptosis and Cell Cycle Arrest by Pericarp Polyphenol-Rich Extract of Baneh In Human Colon Carcinoma Ht29 Cells. Food Chem Toxicology, 17:1054-1059.

Safari, Z., Mehrabi, A.A., Arminian, A., and Safari, S., 2013. Rapid micropropagation of P. atlantica subsp mutica. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 5(3), 280.

Salisbury, F.B., and Ross, C.W., 1992. Plant physiology. 4th. Wadsworth Pub. Co.

Sathyanarayana, B.N., 2007. Plant tissue culture: practices and new experimental protocols. IK International Pvt Ltd. 9.3. Common problems encoutered, 91.

Seçer, M., Doğal Büyüme Düzenleyicilerin (Bitkisel Hormonların) Bitkilerdeki Fizyolojik Etkileri ve Bu Alanda Yapılan Araştırmalar, Derim, 6: (3),109-124, 1989.

Sepaskhah, A.R., Maftoun, M., 1988. Relative Salt Tolerance of Pistachio Cultivars. Horticultural Science,.63,163-169.

Sha, L., Mccown, B.H., and Lloyd, A.P., 1985. Occurrence and Cause of Shoot-Tip Necrosis in Shoot Cultures. Journal of The American Society for Horticultural Science,110, 631-5.

Spina, P., 1984. El Pistachio. Mundi-Prensa, Madrid Suleman, N., Raja,S., Compton,G.S., 2011. A Comparsion Of Growth And Reproduction, Under Laboratory Condition, of Males And Females of A Dioecious Fig Tree. Plant Systematics and Evolution, 296,245-253.

Stamler, R., Et Al. 2015. Plant Dis. In Press.

Suleman, N., Raja, S., Compton,G.S., 2011. A comparioson of growth and reproduction, under laboratory condition,of males and females of a dioecious fig tree. Plant Syst. Evol. 296,245-253.

Tabiyeh, D.T., Bernard, F., and Shacker, H., 2006. Investigation of Glutathione, Salicylic Acid and Ga Effects on Browning in *Pistacia vera* Shoot Tips Culture. Acta Horticulturae, 726:201-203.

Tamimi, S.M, 2015. Effects of ethylene inhibitors, silver nitrate (AgNO3), cobalt chloride (CoCl2) and aminooxyacetic acid (AOA), on *in vitro* shoot induction and rooting of banana (Musa acuminata L.). Afr J Biotechnol 14:2510–2516

Tarango Rivero, S.H., 1993. El Cultivo Del Pistachero. Coleccion Agropecuaria, Departmento Editorial De La Universidad De Chihuahua, Mexico.

Te-Chato, S., Hilae, A., In-Peuy K., 2008. Effects of Cytokinin Types and Concentrations on Growth and Development of Cell Suspension Culture of oil Palm. Journal Of Agricultural Technology, 4(2): 157-163.

Tekin, H., Arpacı,S., Atli, H.S., Acar, I., Karadag, S., Yükceken, Y., 2001. Pistachio Breeding, Vol 13. Pistachio Research Center, Gaziantep, Turkey, 3-11.

Tilkat E., Özden Tokatli Y., Akdemir H., Onay A., Emine Ayaz 2012. Novel Methods in Micropropagation of Pistachio, in: Crop Production For Agricultural Improvement. Ashraf M.; Öztürk, M.; Ahmad, M.S.A.; Aksoy, A. (Eds.) 2012, 814 , 379-394.

Tilkat, E., Işıkalan, Ç., Onay, A., 2005. *In Vitro* Propagation of Khinjuk Pistachio (*P. khinjuk* Stocks) Through Seedling Apical Shoot Tip Culture. Propag Ornam Plants., 53: 1-5.

Tilkat, E., Onay A., Yıldırım, H., Özen, H.C., 2008. Micropropogation of Mature Male Pistachio *Pistacia vera* L. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 83:328-333.

Tilkat, E., Onay, A., Yildirim, H., and Ayaz, E., 2009a. Direct Plant Regeneration From Mature Leaf Eksplants of Pistachio, *Pistacia vera* L. Scientia Horticulturae, Amsterdam, 121 (3), 361–365.

Tilkat, E., Süzerer, V., Akdemir, H., Tilkat, E.A., Özden Çiftçi, Y., Onay, A., 2013. A Rapid and Effective Protocol for Surface Sterilization and *in vitro* Culture İnitiation of Adult Male Pistachio (*Pistacia vera* L. Cv. "Atlı"). Academia Journal Of Scientific Research, 1 (8), 134-141.

Tilkat, E.,2006 Erkek Antepfıstıgı (*Pistacia vera* L. Cv. "Atlı") Ağaçlarının Mikroçoğaltılması, Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, S.142.

Tunalıoğlu, R., Taşkaya, B., 2003. Antepfıstığı Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü T.E.A.E Bakış. 5(2): 1-4.

Ulus, A., ve Seyidoğlu, N., 2006. Bazı doğal geofitlerin doku kültürü ile üretimi. Journal of the Faculty of Forestry Istanbul University, İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 56(1), 71-80.

Ulusaraç, A., 1992. Antepfıstıklarına Anaç Seçimi, Ara Sonuç Raporu. Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü Gaziantep.

Vargas, F.J., Romero, M.A., Vargas, I., 2002. Flowering Precocity in Pistachio Progenies. Acta Horticulture, 591:297-303.

Walsh, C.S., 2003. Plant Hormones. Concise Encyclopedia of Temperate Tree Fruit. Edited By Baugher T. A And Singha, 245-250.

Westwood, M.N., 1993. Hormones And Growth Regulators, Temperate Zone Pomology: Physiology And Culture, Timber Press Inc, Portland, Oregon, USA.

Williams J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A.,Tingey, S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res 18:6531-6535.

Yıldırım, H., 2012. Micropropagation of *Pistacia lentiscus* L. from Axenic Seedling Explants. Scientia Horticulturae, Amsterdam, 137, 29-35.

Yunxian, L., Xuemin, Y., Zhanyuan, M., Fei, Q., Qingwei, G., & Ruiqing, Y., 2011. Succession of Platycladus orientalis Forests Promoted by Supplementary Planting of Native Tree Species and Its Short-term Effect. Journal of Northeast Forestry University, 6, 006.

Zaid, A., 1987. *In vitro* Browning of Tissues And Media With Special Emphasis To Date Palm Cultures. A Review. Acta Horticulturae. 212,561-566.

Zenginbal, H., Özcan, M., Haznedar, A., 2006. Kivi (*Actinidia deliciosa*, A. Chev.) Odun Çeliklerinin Köklenmesi Üzerine IBA Uygulamalarının Etkisi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 21(1):40-43.

Zhang, J., 2006. An update on pistachio rootstock trials - Comparing the performance of Pioneer Gold 1, UCB#1 and *Pistacia terbinthus* when grafted to Sirora. Australian Nutgrower. 20(3):22-24

Zhang, P., Phansiri, S., Puonti- Kaerlas, J., 2001. Improvement of Cassava Shoot Organogenesis by the Use of Silver Nitrate *in vitro*. Plant Cell Tissue Organ Culture, 67, 47-54.

Zhang, S., Chen, L., Duan, B., Korpelainen, H., Li, C., 2012. Populus Cathayana Males Exhibit More Efficient Protective Mechanisms Than Females Under Drought Stress. Forest Ecology Manage.275,68-78.

Zhao, H.X., Li,Y., Duan, B.L., Korpelainen, H., Lic, Y., 2009. Sex-Related Adaptive Responses of Populus cathayana to Photoperiod Transitions. Plant, Cell & Environment, 32, 1401-1411.

Zietkiewicz,E., Rafalski, A., Labuda, D., 1994. Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification Genomics, (20), 2:176–183.

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

ÖZGEÇMİŞ

01/01/1991 Tarihinde Adana'da doğdu. İlk, orta ve lise öğreniminin ardından 2009 yıllında başladığı Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri bölümünden 2014 yılında Ziraat Mühendisi ünvanıyla mezun oldu. Aynı sene Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitütüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı.