

Erkek ve Dişi Sakız Ağaçlarının (*Pistacia lentiscus* L.) Çeliklerinden Zorlama Teknikleri Yoluyla *in Vitro* Kültürlerin Başlatılması

Nazan Çalar¹, Hakan Yıldırım², Ahmet Onay¹

¹ Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Diyarbakır

² Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Diyarbakır
e-posta: nazancaclar1@gmail.com

Özet

Bu çalışmanın amacı, sakız ağacı (*Pistacia lentiscus* L.) bitkisinde *in vitro* kültür başlatma amacıyla kullanılabilen sürgünlerin elde edilmesidir. Materyal olarak Çeşme yöresinde iyi kalitede sakız verdiği tespit edilen erkek ve dişi sakız ağaçlarının 1-2 yaşlı dallarından alınan 20-25 cm uzunluğundaki çelikleri kullanılmıştır. Uygulanan zorlama teknikleri genel olarak iki grupta ele alınmış olup: (1) Katı ortam; a.Torfa dikim, b.Torfa yüzey daldırması, c. Perlite yüzey daldırması ve (2) Sıvı ortam; a. Steril saf su, b. 30 gl⁻¹ sukroz içeren steril saf su, c. 100 ml MS makro elementlerini içeren steril saf su. Hem erkek hem dişi varyeteler için katı ortam içerisinde en iyi sonucu; canlı kalan eksplant bakımından perlite yüzey daldırması uygulaması vermiştir. Dişi varyetelerde yaklaşık %70, erkek varyetelerde ise yaklaşık %55 oranında çelikten *in vitro* kültür başlatılmasında kullanılabilen sürgünler elde edilmiştir. Katı ortamlardan elde edilen sürgünlerin sterilizasyonu uygun ve yeterli miktarda sterilant ile yapılmış olmasına rağmen, karşılaşılan endojen kaynaklı bakteriyel enfeksiyon nedeniyle kullanılabilen temiz eksplant elde edilememiştir. Fakat sıvı ortamda yapılan zorlama çalışmalarında ise, en iyi sonucu steril saf su uygulaması vermiştir. Yaklaşık %40-50 oranında sürgün oluşturan çelik elde edilen uygulamayla gelişen sürgünler kullanılarak *in vitro* kültür başlatılabilecek materyal elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Çelik, daldırma yöntemleri, *Pistacia lentiscus* L., zorlama teknikleri

Establishment of In Vitro Culture Techniques from Forced Scion Cuttings of Male and Female Lentisk (*Pistacia lentiscus* L.)

Abstract

The aim of this study was to obtain freshly growing shoots for the *in vitro* culture initiation from lentisk (*Pistacia lentiscus* L.). As plant material, lignified stem sections, 20-25 cm long cuttings were used from the 1 or 2 year-old-branches of male and female gum mastic trees. The base of the stems was cut back, and two types of method were used for the forcing. These were: (1) Solid composts; (a) potted in peat, (b) dipped in peat, (c) potted in perlite, and (2) Liquid medium: (1) Sterile purified water, (b). Sterile distilled water containing 30 gl⁻¹ sucrose and (c). 100 ml sterile distilled water containing 100 ml MS macro elements. The best results in both male and female varieties in solid media were obtained from the explants potted in perlite in terms of surviving explant rates. For the initiation of *in vitro* culture, 70% and 55% of the forced cuttings were produced new shoots in male and female genotype, respectively. Axenic regenerants were not obtained from the shoots grown on the solid media because of the endogenous bacterial infection despite appropriate and adequate amounts of sterilants was used for the disinfection. Among in the liquid media tested for the shoot forcing, the best result was obtained from the explants grown in the sterile distilled water. *In vitro* culture initiation material was obtained using the shoots derived from the forced buds regenerating by 40-50%.

Keywords: Cutting, *in vitro* culture initiation, lentisk, forcing

Giriş

Bugün sadece Yunanistan'ın Sakız Adası'nda ticari olarak üretimi gerçekleştirilen sakız reçinesi, yakın geçmişe kadar Çeşme yarımadasının belli yörelerindeki plantasyonlarından da üretimi yapıldığı bilinmektedir. Ancak son yıllarda yörede hızla artan turizm yatırımları nedeniyle tarım alanları daralmış sonuçta sakız üreticiliği ekonomik önemini yitirmiş ve mevcut ağaç varlığı da yok olma tehlikesiyle karşı karşıya kalmıştır. Sakız ağacının geleneksel çoğaltım yöntemi, iki veya

daha yaşlı dallardan hazırlanan odun çeliklerinin kış aylarında doğrudan bahçe tesis edilecek araziye dikilmesine dayanmaktadır. Bu yöntemde hem köklenme uzun sürmekte hem de başarı oranı çok düşük olmaktadır. Sakız ağacı fidesi çoğaltımı için kullanılan bu geleneksel yöntemlerin, bu türe olan fidan taleplerini karşılamakta yetersiz kalacağı aşikârdır. Yapılacak ıslah çalışmalarının desteklenmesi ve elde edilen hibrit bireylerin *in vitro* mikro aşılama yoluyla daha hızlı ve güvenli bir şekilde çoğaltılabilmesi ve araziye aktarılabilir forma

daha hızlı dönüştürülebilmesi için mikro aşılama yöntemi önemli bir çözüm yolu gibi görülmektedir. Bu çalışmanın amacı fazla miktarda ve zengin aromada sakız reçinesi veren ağaçların çoğaltılabilmesi için tüm çoğaltım basamaklarının optimize edildiği ve rutin olarak kullanılabilir bir *in vitro* mikro aşılama protokolünün geliştirilmesidir.

Materyal ve Yöntem

Olgun sakız ağaçlarından alınan eksplantların yüzey sterilizasyonu ve kültür başlatılmasının optimizasyonu için geliştirilen metod aşağıda ayrıntılı bir şekilde verilmiştir.

Bitkisel Materyal ve Genel Kültür Koşulları

Bitkisel materyal olarak, Çeşme Çiftlikköy civarında yetişen sakız ağacına ait 20 yaşındaki olgun dişi ve erkek ağaçlarından 2011 yılının Ocak ayında alınan sürgünler kullanılmıştır (Resim 1 a,b). 30 gl⁻¹ sukroz, 5.5 gl⁻¹ agar ve Gamborg vitaminleriyle destekli MS besi ortamı tüm deneyler için temel kültür besi ortamı olarak kullanılmıştır.

Sakız Ağaçları Çeliklerinden Zorlama Yoluyla Alınan Sürgün Uçlarından Yüze Sterilizasyon Metodunun Geliştirilmesi

Bu bölümde sakız ağaçlarından alınan apikal ya da nodal sürgünlerden aksenik kültür başlatma materyali elde edilmesinde, NaOCl'nin etkisini belirlemek üzere aşağıdaki deneyler yapılmıştır: Verilen bütün sterilizasyon deneylerinde çalkalama işlemi 150 rpm'de çalışan bir çalkalayıcıda, yıkama işlemleri ise elle yapılmıştır. Araştırma kapsamındaki sterilizasyon çalışmalarında, NaOCl (ticari sterilant Ace) kullanılmıştır. Tüm sterilizasyon işlemleri steril kültür odasında yapılmış olup, çalışmalarda genellikle Magenta GA-7 kültür kapları kullanılmıştır. Standart MS besi ortamına 1mg l⁻¹ BA, 30 gl⁻¹ sukroz ve 6.5 gl⁻¹ agar ilave edilmiştir. Tüm sterilizasyon çalışmalarında yapılan gözlemler ve alınan ölçümler aşağıda belirtilmiştir;

Enfekte Olan Kültür (%); eksplantların gelişmeleri dikkate alınarak 14 günlük kültür sonunda, enfekte olan eksplant sayısının tüm eksplantlara oranı hesaplanarak yüzde olarak ifade edilmiştir.

Canlı Kalan Eksplant (%); kültürün 14. gününe kadar enfekte olmadan gelişen eksplant sayısının, tüm eksplantlara oranı hesaplanarak yüzde olarak ifade edilmiştir.

Kahverengileşme (%); kültürün 14. gününe kadar herhangi bir gelişme olmayıp, kahverengileşerek bozulan eksplant sayısının tüm eksplant sayısına oranı hesaplanarak yüzde olarak ifade edilmiştir.

Sterilizasyon çalışmaları kapsamında aşağıdaki deneyler yapılmıştır.

Sürgün Uçlarının Yüze Sterilizasyonu Üzerine NaOCl'nin Etkisi

Bu deneyde sakız ağaçlarına ait çeliklerin farklı ortamlarda zorlanması sonucu elde edilen sürgün uçlarından aksenik kültür başlatılması ve yüzey sterilizasyonu için, NaOCl'nin %5, %10, %15 ve %20'lik konsantrasyonları bir kontrol grubu ile birlikte test edilmiştir. Resim 2'de su ortamında; Resim 3a'da ise perlitli ortamda zorlanmaya bırakılmış çelikler görülmektedir. 15-20 mm uzunluğundaki sürgünler, NaOCl'nin belirtilen konsantrasyonları içerisinde 20 dk çalkalanmıştır. Sterilanttan çıkarılan eksplantlar 3 defa 5'er dakika steril saf su ile iyice yıkanmıştır. İki haftalık kültür sonucu elde edilen sonuçlar Çizelge 1'de verilmiştir.

Sürgün Uçlarının Yüze Sterilizasyonu Üzerine NaOCl'de Bekletme Süresinin Etkisi

Önceki deneyde sakız ağacı sürgün uçlarının yüzey sterilizasyonu için %10'lik NaOCl seçilmiştir. Bu deneyde ise, %10'lik NaOCl'de en uygun bekletme süresini tespit etmek amacıyla, kontrol grubu ile birlikte 5, 10, 20 ve 30 dakika süreyle eksplantlar yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuş ve 1 mg l⁻¹ BA ile destekli MS besi ortamında kültüre alındı. İki haftalık kültür sonucu elde edilen veriler Çizelge 2'de verilmiştir.

Sakız Ağaçlarının Mikroçoğaltımında Başlangıç Materyalinin Eldesi İçin Zorlama Tekniklerinin Geliştirilmesi

Bu bölümde *in vivo* koşullardan alınan çelikler zorlanarak, *in vitro* çalışmalarda kullanılacak sürgün uçları elde edilmeye çalışılmıştır. Çalışmalarda hem erkek hem de dişi genotipler kullanılmıştır. Sürgünler hem sıvı hem de katı ortamlarda kültüre alınmıştır.

Olgun Sakız Ağaçlarından Alınan Çeliklerin Katı Ortamda Zorlanması

Bu bölümde olgun sakız ağaçlarından alınan çelikler aksenik kültür başlatma materyali elde edilmesinde, katı ortam çeşitlerinin (torfa dikim, torfa daldırma ve perlit daldırma) etkisini belirlemek üzere aşağıdaki deney yapılmıştır. Resim 3b'de, perlitli ortama 3 haftalık süreyle

daldırılan çeliklerden gelişen sürgünler görülmektedir. Çalışmalarda canlı çelik oranı ve süren çelik oranları 3 haftalık inkübasyon sonucu rapor edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3'de verilmiştir.

Olgun Sakız Ağaçlarından Alınan Çeliklerin Sıvı Ortamda Zorlanması

Aksenik kültürler elde etmek için, olgun sakız ağaçlarından zorlanarak geliştirilen apikal sürgünlerin farklı sıvı ortamlarda (Sukroz, MS, saf su) zorlanmıştır. Resim 4a, 3 haftalık suda daldırma sonucu gelişen sürgünleri, Resim 4b ise bu çeliklerden izole edilen sürgünleri göstermektedir. Çalışmalarda canlı çelik oranı ve süren çelik oranları 3 haftalık inkübasyon sonucu rapor edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4'de verilmiştir.

Sonuç

Sürgün Uçlarının Yüze Sterilizasyonu Üzerine NaOCl'nin Etkisi

Enfekte olan, canlı kalan ve kahverengileşen eksplantların yüzdeleri, NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarında istatistiksel olarak önemli farklılıklar göstermiştir (Çizelge 1, $P \leq 0.05$). Kontrol grubundaki eksplantların %90'ı enfekte olurken, sadece %10'u canlı kalmıştır. 14 günlük kültür sonucu %5'lik işlemden eksplantların %16.67'i, %10'luk işlemden %13.33'i, %15'lik işlemden %10'u ve %20'lik işlemden ise hiçbir eksplant enfekte olmamış, ancak %20'lik NaOCl işleminde eksplantların %56.67'si kahverengileşmiştir. Çizelge 1'deki sonuçlara göre en yüksek canlı olan eksplant oranları %5'lik (%83.33) ve %10'luk (%86.67) NaOCl işlemlerinde elde edilmiştir ve kontrol grubu ile birlikte her iki işlemde de kahverengileşme görülmemiştir. Buna göre zorlanmış sakız ağacı sürgünlerinin yüze sterilizasyonu için %5 veya %10'luk NaOCl'de 20 dakika çalkalamanın yeterli olduğu tespit edilmiştir.

Sürgün Uçlarının Yüze Sterilizasyonu Üzerine NaOCl'de Bekletme Süresinin Etkisi

%10'luk NaOCl'nin farklı çalkalama sürelerinde enfekte olan, canlı kalan ve kahverengileşen eksplantların yüzdeleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar görülmüştür (Çizelge 2, $P \leq 0.05$). Daldırma süresinin 5 dakikadan 10 ya da 30 dakikaya uzatılması, enfekte olan kültür sayısında önemli derecede azalmaya neden olurken, 30 dk'lık sürede hiçbir eksplant enfekte olmamıştır.

Ancak 30 dk'lık işlemden geçen yaşayan eksplant oranı %66.67 olarak gözlenmiştir.

Bununla birlikte 10 dk'lık işlemden geçen eksplantların %90'ı canlı kalırken, hiçbir eksplant kahverengileşmemiştir. Bu nedenle kontrollü büyüme odası koşullarında zorlanan taze sürgünlerin yüze sterilizasyonu %10'luk NaOCl içinde 10 dk süre ile çalkalanmak suretiyle gerçekleştirilmesi mümkün olabilecektir. Saf suda zorlandıktan sonra 1 mg/l BA içeren MS besi ortamında kültür alınmış (Resim 5a) aksenik sürgün uçları ve 2 alt kültürden sonra (Resim 5b) gelişen sürgünleri görülmektedir.

Olgun Sakız Ağaçlarından Alınan Çeliklerin Katı Ortamda Zorlanması

Sürgün geliştirmek için dişi ve erkek çeliklere uygulanan zorlama teknikleri sonucu elde edilen canlı çelik ve süren çelik oranları arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar görülmüştür (Çizelge 3, $P \leq 0.05$). Dişi çeliklerin perlitli ortamda 3 hafta inkübasyonundan sonra tamamı canlı kalırken, torfa daldırılan eksplantların %50'si canlı kalmıştır. Ancak torfa dikim yapılan çeliklerin ise sadece %70'i canlı kalmıştır. 3 haftalık inkübasyon sonucu süren çelik oranı %80 ile perlitte daldırma işleminden elde edilmiştir. Bu oran torfla yapılan işlemlere göre istatistiksel olarak daha önemlidir.

Erkek çeliklerde tıpkı dişi çelikler gibi perlitli ortamda 3 hafta inkübasyon sonucu %100'ü canlı kalırken, süren çelik oranı %63.33 olarak gözlenmiştir. Diğer daldırma işlemlerinden daha düşük oranlar elde edilmiştir.

Olgun Sakız Ağaçlarından Alınan Çeliklerin Sıvı Ortamda Zorlanması

Sürgün geliştirmek için, dişi ve erkek çeliklerin sıvı ortamda zorlanması sonucu rapor edilen canlı çelik ve süren çelik oranları arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar görülmüştür (Çizelge 4, $P \leq 0.05$). Buna göre, dişi ve erkek çeliklerin farklı sıvı ortamlarda 3 haftalık inkübasyon sonrasında canlı kalma oranı hem dişi hem de erkek genotipte saf sulu ortamda elde edilmiştir. Bu oran dişi genotip için %73.33 iken, erkek genotipte %76.67 olarak tespit edilmiştir. Saf sulu ortamda süren çelik oranları ise, dişi genotip için %50 iken, erkek genotipte %60 olduğu görülmüştür.

Kısaca özetlersek, katı ortamda zorlama yapıldığında canlı kalan ve sürgün veren çelik oranı bakımından en iyi sonuçlar perlitte

daldırma işleminden elde edildiği (Çizelge 3) görülürken, sıvı ortamda zorlama için en iyi sonucun saf su (Çizelge 4) ile elde edildiği görülmüştür. Katı ortamda zorlanarak elde edilen sürgünlerin aksenik hale getirilmesinde yüksek kontaminasyon oranlarından dolayı saf sulu ortamda zorlanarak elde edilen sürgünler için geliştirilen yüzey sterilizasyonu metodu aşağıda sunulmuştur.

Tartışma

In vitro klonal mikro çoğaltım protokolü geliştirmek için ilk ve en önemli aşama aksenik materyali elde edilmesidir. Çalışmamızda olgun sakız ağaçlarından zorlama teknikleri yoluyla elde edilen sürgün uçlarından aksenik kültürler geliştirmek için etkili bir yüzey sterilizasyon metodu geliştirilmiştir. *In vitro* klonal çoğaltım için, üzerinde çalışılan tüm bitki türlerinin yüzey sterilizasyonu piyasada kolaylıkla bulunan ve etkin maddesi ile klor iyon yüzdesi bilinen her türlü sterilant ile gerçekleştirilmesi mümkündür. Olgun sakız ağaçlarının apikal uçlarının yüzey sterilizasyonu ile ilgili çalışmalarda ayrıntılı bir çalışma bildirilmemiştir. Ancak *Anacardiaceae* familyasına bağlı diğer türlerde birçok araştırmacı tarafından tespit edilmiştir (Barghchi, 1982; Bustamante Garcia, 1984; Abousalim, 1990; Onay, 1996). Antepfıstığı ağaçlarından alınan eksplantlarda oluşan mantar ve bakteri kökenli bulaşmaların dezenfeksiyonu için etkili yüzey sterilizasyon protokolleri bulunmaktadır. Barghchi (1982) olgun Antepfıstığı tohumlarından yetiştirilen fidelerin yüzey sterilizasyonunun %70'lik etanolde 45 sn'lik bir ön işlemden sonra %20 w/v'lük NaOCl'te 25 dakika ile gerçekleştirildiğini bildirmiştir. Yine aynı araştırmacı tarafından serada yetiştirilen bitkilerden alınan sürgün ucu ve nodal tomurcukların yüzey sterilizasyonunun, %70'lik etanolde 45 saniyelik bir ön sterilizasyondan sonra, eksplantların %20'lik ticari NaOCl 'te 10-15 dakika bekletilmesi ve daha sonra ise 3 defa steril distile su ile çalkalanması yoluyla başarılı olduğu bildirilmektedir (Barghchi, 1985). Ayrıca, anaç olarak kullanılan diğer bir *Pistacia* türü *P. atlantica* 'nın olgun tohumlarının yüzey sterilizasyonunun üç aşamalı bir işlemle yapıldığı Onay (1999) tarafından rapor edilmiştir. Tilkat (2003) ise, Antepfıstığının diğer bir anacı olan *Pistacia khinjuk* Stocks'un olgun tohumlarının yüzey sterilizasyonunun, %20'lik NaOCl'de 30 dakika bekletilme işlemi sonucunda eksplantların 5'şer kez 5 defa steril

distile saf su ile çalkalanmasıyla başarılı olduğunu rapor etmiştir. Olgun Antepfıstığı ağaçlarından alınan materyallerin yüzey sterilizasyonu ile ilgili ilk veriler Abousalim (1990) tarafından rapor edilmiştir. Araştırmacı, 30 yıllık Antepfıstığı ağaçlarından alınan aktif olarak büyüyen sürgün uçlarının yüzey sterilizasyonunun, % 20'lik cholorex ile 20 dakika çalkalama ve daha sonrasında ise 3 defa steril saf su ile çalkalama işlemi ile başarılı olduğunu bildirmiştir. Parfitt ve Almehti (1994), *in vitro* ortamda yetişen bitkilerin fotosentezini teşvik etmek için ışık miktarını arttırarak %2'lik atmosferik CO₂ kullanılmasıyla kontaminasyonun kontrol edildiğini rapor etmişlerdir. Onay (2000), olgun Antepfıstığı dişi ağaçlarından sürgün uçlarının yüzey sterilizasyonunun, mutlak alkolde 2 dakikalık bir ön işlemden sonra %20'lik NaOCl' te 10-30 dakika çalkalanarak yapıldığını rapor etmiştir. Benzer şekilde gerek Antepfıstığında ve gerekse diğer türlerin *in vitro* kültürlerinde birçok eksplant türünün dekontaminasyonu için belirli oranlarda seyreltilmiş NaOCl (Axion ve Domestos gibi ticari çamaşır suları) içeren dezenfektanlar yüzey sterilizasyon işlemlerinde başarılı bir şekilde kullanılmışlardır. Barghchi (1982) %20'lik domestos (ticari çamaşır suyu) kullanarak yabancı Antepfıstığı tohumlarının (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. khinjuk* Stocks., *P. mutica*, *P. palaestina*), Onay (2000) ise %20'lik ticari çamaşır suyu kullanarak dişi Antepfıstığı meristematik dokularının yüzey sterilizasyonunun başarılı bir şekilde elde edildiğini rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda olgun sakız ağacını hem dişi hem de erkek genotipleri için, apikal uç ve nodal sürgün uçlarından itibaren aksenik kültür başlatılması için etkili bir yüzey sterilizasyonu geliştirilmiştir. Sonuç olarak, çalışmamızda *in vitro* ortamda kültüre alınan 4-6 mm arası apikal ve lateral olgun sakız ağacı sürgünlerinin yüzey sterilizasyonunun, %10'luk NaOCl'de 10 dakika çalkalanarak ve sonrasında 3 defa 5'er dakika steril saf su ile çalkalama işlemi ile başarılabileceği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, iyi kalitede ve yüksek miktarda sakız veren genotiplerin hızlı çoğaltılması için kullanılacak *in vitro* çoğaltma tekniklerinin geliştirilmesine zemin oluşturması anlamında büyük öneme sahiptir.

Kaynaklar

- Abousalim, A., 1990. Micropropagation and micrografting of pistachio (*P. vera* L. and *P. atlantica* Desf.). PhD Thesis. Department of Horticulture. Wye College, University of London, UK.
- Barghchi, M., 1982. In vitro propagation of Pistacia species. Ph.D. Thesis, Nottingham Univ. UK.
- Barghchi, M., 1985. In vitro culture of mature c commercial varieties of *Pistacia vera* L. Proceeding of International Plant Propagators Society 35: 331-333.
- Fascella, G., Airo, M., Zizzo, G.V., Ruffoni, B., 2004. Prime osservazioni sulla coltivazione in vitro di Lentisco (*Pistacia lentiscus* L.). Italus Hortus 11(4):141-143 (in Italian).
- Mascarello, C., Fascella, G., Zizzo, G.V., Mantovani, E., Ruffoni, B., 2007 *In Vivo* and *In Vitro* propagation of *Pistacia lentiscus* L. Acta Horticulturae, 764: 299-305.
- Mulas, M., Albentino, P., Brigaglia, N., 1998. Evaluation of *Pistacia lentiscus* L. genetic resources to select ecotypes having high efficiency in the colonisation of marginal lands. Acta Hort. 457:279-286.
- Onay, A., 1996. In vitro organogenesis and embryogenesis of pistachio, *Pistacia vera* L. PhD Thesis, University of Edinburgh, UK.
- Onay, A., 2000 Micropropagation of pistachio from mature trees. Plant Cell, Tissue Organ Cult. 60:159-162.
- Parfitt, D.E., Almehti, A., 1994. Use of high CO₂ atmosphere and medium modifications for the successful micropropagation of Pistachio. Scientia Horticulturae, 56:321-329.
- Piotto, B., 1995. Influence of scarification and prechilling on the germination of *Pistacia lentiscus*. Seed Science & Technology, 23:659-663.
- Taşkın, T., İnal, A., 2005. Sakız ağacı (*Pistacia lentiscus* var. chia Duhamel)'nın *in vitro* mikro çoğaltımı üzerine araştırmalar. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi 15(1): 14.
- Tilkat, E., 2003. *P. khinjuk* Stocks'un *in vitro* mikro çoğaltılması, Yüksek Lisans Tezi. Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 77s.

Çizelge 1. NaOCl'nin değişik konsantrasyonlarının olgun sakız ağaçlarının zorlanmış sürgünlerinin yüzey sterilizasyonu üzerine etkisi

İşlemler	Enfekte Olan Eksplant (%)	Canlı kalan Eksplant (%)	Kahverengileşme (%)
Kontrol	90.00 ± 5.57 a	10.00 ± 5.57 d	0.00 ± 0.00 c
% 5 NaOCl	16.67 ± 6.92 b	83.33 ± 6.92 ab	0.00 ± 0.00 c
% 10 NaOCl	13.33 ± 6.31 bc	86.67 ± 6.31 a	0.00 ± 0.00 c
% 15 NaOCl	10.00 ± 5.57 bc	63.33 ± 8.94 bc	26.67 ± 8.21 b
% 20 NaOCl	0.00 ± 0.00 c	43.33 ± 9.20 c	56.67 ± 9.20 a
$\chi^2(4df)$	P ≤ 0.05	P ≤ 0.05	P ≤ 0.05

Rakamlar kültürün 14. gününde toplam 30 eksplantın ortalamasıdır.

Çizelge 2. Olgun sakız ağaçlarından zorlanarak elde edilen sürgün uçlarının yüzey sterilizasyonu üzerine farklı bekleme sürelerinin etkisi

İşlemler	Enfekte olan Kültür (%)	Yaşayan Kültür (%)	Kahverengileşme (%)
Kontrol	93.33 ± 4.63 a	6.67 ± 4.63 c	0.00 ± 0.00 b
5 d. % 10 NaOCl	23.33 ± 4.85 b	76.67 ± 7.85 ab	0.00 ± 0.00 b
10 d. % 10 NaOCl	10.00 ± 5.57 c	90.00 ± 5.57 a	0.00 ± 0.00 b
20 d. % 10 NaOCl	6.67 ± 4.63 c	83.33 ± 6.92 ab	10.00 ± 5.57 b
30 d. % 10 NaOCl	00.00 ± 0.00 c	66.67 ± 8.75 b	33.33 ± 8.75 a
$\chi^2(4df)$	P ≤ 0.05	P ≤ 0.05	P ≤ 0.05

Rakamlar kültürün 14. gününde toplam 30 sürgün ucu eksplantın ortalamasıdır.

Çizelge 3.Katı ortamda zorlamanın sürgün gelişimine etkisi

Daldırma tipi	Dişi		Erkek	
	Canlı Çelik (%)	Süren Çelik (%)	Canlı Çelik (%)	Süren Çelik (%)
Torfa dikim	70±8.51b	6.67±4.63b	Torfa dikim	70±8.51b
Torfa daldırma	50±9.28b	13.33±6.3b	Torfa daldırma	50±9.28b
Perlit daldırma	100±0.00a	80.00±7.42a	Perlit daldırma	100±0.00a
F değeri	11.978	42.355	F değeri	11.978

Rakamlar inkübasyonun 21. gününde 30 eksplantın ortalamasıdır.

Çizelge 4. Sıvı ortamda zorlamanın sürgün gelişimin etkisi

Daldırma tipi	Dişi		Erkek	
	Canlı Çelik (%)	Süren Çelik (%)	Canlı Çelik (%)	Süren Çelik (%)
Sukroz	26.67±8.21b	16.67±6.92b	33.33±8.75b	23.33±7.85b
MS	33.33±8.75b	23.33±7.85b	40.00±9.09b	33.33±8.75b
Saf su	73.33±8.21a	50.00±9.28a	76.67±7.85a	60.00±9.09a
F Değeri	9.036	4.767	7.388	4.875

Rakamlar inkübasyonun 21. gününde 30 eksplantın ortalamasıdır.