

Olgun Dişi Buttum (*Pistacia khinjuk* Stocks) Ağaçlarından *in vitro* Kültürlerin Başlatılması

Yusuf ERSALI¹, Engin TILKAT^{2*}, Hasan Çetin ÖZEN¹, Ahmet ONAY¹

¹Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü-Diyarbakır

²Batman Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü- Batman

*etilkat@gmail.com

Geliş Tarihi/Received

13.07.2016

Kabul Tarihi/Accepted

19.01.2017

Yayın Tarihi/Published

06.02.2017

ÖZ

Günümüzde antepfıstığı anaçları ile ilgili birçok *in vitro* mikroçoğaltım çalışması bulunmaktadır. Ancak, anaç çoğaltımının halen tohumlar ile yapılma nedeni, istenilen özelliklere sahip olgun bir anaçtan *in vitro* kültür başlatma güçlüğüdür. Olgun anaçlardan alınan eksplantlarda görülen kontaminasyon, fenolik salınımı ve kahverengileşme problemleri kültür başlatmanın önündeki en büyük engellerdendir. Bu araştırmada dişi buttum (*Pistacia khinjuk* Stocks) ağaçlarının sürgünlerinden alınan 1-2 cm boyundaki apikal ya da lateral uçlardan *in vitro* kültür başlatılması amaçlanmıştır. Eksplantların saldıgı fenolik bileşikler her hangi bir adsorbant bileşik kullanılmadan % 92 oranında uzaklaştırılmıştır. Çalışmamızın sonucunda, apikal sürgün uçlarının % 10'luk NaOCI (sodyum hipoklorit)'te 30 dakika boyunca bekletilmesiyle, %32.5 oranında yaşayan ve süren eksplant elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bitki doku kültürü, Buttum, Mikroçoğaltım, Sodyum hipoklorit

The Establishment of *In vitro* Cultures from Mature Khinjuk Pistachio (*Pistacia khinjuk* Stocks) Trees

ABSTRACT

Today, there are many *in vitro* micropropagation studies related to the pistachio rootstocks. However rootstock propagation still made with seeds the cause of difficulties to start *in vitro* cultures from mature trees with desired characteristics. The contamination, phenolic exudation and browning problems observed in explants taken from mature rootstocks are the biggest obstacles to initiate of the *in vitro* cultures. In this study, the aim was to develop an *in vitro* culture initiation methods for mature female khinjuk pistachio (*Pistacia khinjuk* Stocks) using 1-2 cm long apical or lateral buds. Phenolic compounds that exudated from the explants were removed without using any adsorbent compound rate of 92%. As a result of study, the best living and sprouted explant rate (32.5%) were obtained from apical shoot tips by treating for 30 minutes with 10% NaOCl.

Keywords: Plant tissue culture 1, Khinjuk pistachio 2, Micropropagation 3, Sodium Hypochlorite 4

1. GİRİŞ

Dünyada bahçecilik ve tarımda belli bir özellik ya da özellikleri gösteren, genetik olarak aynı yapıya sahip hatların kullanılması yetiştiriciler için istenen bir durumdur. Bu, çiçek rengi, ürün miktarı ve büyüklüğü ya da diğer pazarlanabilir ayırt edici özellikler olabilir. Bitkilerin bir nesilden diğerine genetik olarak değişmeden devam ettirilebilmesi sonucu aynı bitkilerin elde edileceğinin bilinmesi üreticiler için büyük bir avantajdır. Genetik olarak aynı özellikleri taşıyan bireyleri ya da klonları devam ettirmenin tek yolu vejetatif üremeye başvurmaktır. Bahçıvan ve bitki üreticileri düzenli olarak basit çelikler yapmayla bitkileri vejetatif olarak yeniden üretir. Çelikler kök oluşturmaya teşvik edilerek dikilir. Vejetatif üreme için diğer yaygın bir yöntem biyoteknolojik bir uygulama olan mikroçoğaltımdır. Mikroçoğaltımda bitki doku kültürü teknikleri kullanılır. Bitki doku kültürü; aseptik şartlarda, yapay bir besi ortamında hücre,

doku veya organ gibi bitki kısımlarından yeni doku bitki veya bitkisel ürünlerin yetiştirilmesidir. Bitki doku kültürü işlemlerinde kullanılan temel sistem bitki rejenerasyonudur. Bitki rejenerasyonu, meristematik hücreleri içeren somatik dokulardan, meristematik olmayan somatik hücrelerden ve mayoz bölünme geçirmiş gametik hücrelerden yapılabilir. Mikroçoğaltım; Bir bitkiden alınan ve tam bir bitkiyi oluşturabilme potansiyeline sahip bitki kısımlarından yapay besi ortamlarında ve aseptik koşullar altında yeni bitkilerin elde edilmesi olarak tanımlanır (Babaoğlu ve ark. 2002).

Doku kültüründe, küçük bir bitki parçası kesilerek aseptik ya da bakterisiz bir cam şişe ya da cam kabında sentetik bir kültür ortamında yerleştirilir. Ortam genellikle jelleştirici olarak agar ve karbon kaynağı olarak da sukrozla desteklenir. Ek olarak bazı vitaminler temel mineraller ve hormonları içerir. Bu şartlar altında hücreler bölünmeye başlar ve kallus olarak adlandırılan farklılaşmamış hücre yığını oluşturur. Hormon dengesinin sık sık değiştirilmesi ile kültür şartlarının ayarlanması kallusun sürgün ve kökten oluşan bitkiciklere dönüşmesini sağlar. İlk olarak kökler ve sürgünler oluşur bu bitkicikler cam şişeden alınarak serada dikilir. Bitkicikler serada büyür, çiçeklenir, tohum oluşturur ve normal olarak bitkilerin diğer yaptığı her şeyi yaparak yaşamını sürdürür. Mikroçoğaltımın mevsimsel engelleri ortadan kaldırarak yılın her gününde bitki üretimine imkan vermesi, az bir alana ihtiyaç duyması, sınırlı sayıda materyalle kısa sürede çok daha fazla bitki elde etmeye imkan vermesi ve kolaylıkla kontrol edilebilir ortamlar sunması nedeniyle, geleneksel bir yöntem olan çelikle çoğaltımdan daha avantajlıdır. Mikroçoğaltım ağaç türlerinin üretiminde de yaygın bir şekilde kullanılır çünkü, yöntemde tohumların toplanması ve çimlenmesi gibi zahmetli işlemler yoktur. Hatta üstün karakterli ağaçlar daha yüksek verimler için klonlanır (Hopkins 2006).

Bu çalışmadaki asıl amaç, olgun buttumağaçlarından alınan apikal ve lateral sürgün uçlarını sterilize ederek kültür başlatma koşullarını optimize etmektir.

İLGİLİ ÇALIŞMALAR

Buttum (*Pistacia khinjuk* Stocks), 2–5(10) m yüksekliğinde olabilen ve kışın yaprak döken dioik ve kurakçıl bir ağaçtır (Yaltırık, 1967 b). Bu ağaçlar iyi gelişmiş dikey reçine kanalları içerirler (Al-Saghir, 2006). Yapraklar imparipennat, 11-17.7 cm uzunluğunda 8–15.5 cm genişliğinde ve zarsıdır; yaprak sapı köşeli ya da yuvarlaktır. Yaprak eksenini kanatsız, yaprakçık sayısı 1–9 arasındadır. Yaprakçıklar 4.5–8.5 cm uzunluğunda 1.5–4 cm genişliğinde, ortalama değer 2.3–1, diziliş karşılıklı alt karşılıklı, yaprakçık şekli ovattan geniş ovata kadar, yaprakçık tepesi akuminat, yaprakçık tüysüzdür; uçta bulunan yaprakçık 2.9–8.5 cm uzunluğunda, 1.2 – 4 cm genişliğinde ve çoğunlukla yanda bulunan yaprakçıktan daha büyüktür. Stamenli çiçekler bileşik salkımlı 9 cm uzunluğa kadar olabilen zayıf dallanmış, brakteler büyük ve beyaz tüylüdür. Çiçekleri koyu kırmızı renktedir. Pistilli çiçekler bileşik salkımlı 16 cm uzunluğa kadar olabilen, tabandan dallanmış, toplu, tüysüz olabilecek kadar çok az tüylüdür. Meyveler drupadır (eriksi meyve). Koyu yeşil renkte olan meyveleri; biraz basık küremsi şekillidir ve 6.6- 12.3 mm uzunluğunda ve 4.8 - 9.6 mm genişliğindedir (Yaltırık, 1967b). Buttum Türkiye, Suriye, Irak, İran, Mısır, Afganistan ve Pakistan'da doğal olarak yayılış göstermektedir (Padulasi ve Hadj-Hassan, 2001; Mehrnejad, 2003).

Antep fıstığı gerek üretim gerekse ihracat kapasitesi yönünden ülkemizin önemli ürünlerinden birisidir. Bunun en önemli nedenlerinden biri, Anadolu'nun antepfıstığının gen merkezinin üzerinde bulunması ve Türkiye'deki ekolojik şartlara çok iyi uyum sağlamasıdır. Özellikle diğer kültür bitkilerinin yetişmediği veya yetiştiriciliğinin ekonomik olarak yapılamadığı kıraç, taşlık, kayalık ve meyilli arazilerde yetişen bir bitki olması, bu türün ülkemizdeki önemini daha da artırmaktadır. Antepfıstığının üretiminin artırılması önemli bir ekonomik kaynaktır (Kuru ve Özşabuncuoğlu, 1990).

Buttum antepfıstığı gibi ekonomik açıdan çok önemli bir kültür bitkisinin doğal anacı olmasının yanında, aşılama kolaylıklar sunması, kültür çeşitleri ile iyi uyuşması, üzerine aşılanan çeşitleri iyi geliştirmesi bakımından önemli bir türdür. Buttum özellikle kök boğazı ve topraktan 10 cm yükseklikteki aşı noktası diğer türlere göre daha kalın olduğundan aşılama kolaylık sağlamaktadır. Buttum anaçları düzgün gövde oluştururlar. *Pistacia vera* L. ve *Pistacia atlantica* Desf. çöğürleri daha uzun boylu olmalarına rağmen, aşı yerinde gövde çapları fazla gelişmemektedir (Tekin vd., 2001) Buttum su stresine karşı olan direnci, kök-ur nematodlarına (*Meloidogyne* cinsi) karşı gösterdiği tolerans ve zayıf topraklara adaptasyon gibi karakteristik özellikleri bakımından Türkiye’de yaygın anaç olarak kullanılmaktadır (Tilkat vd., 2008). Kültür çeşitleriyle daha uyumlu bir gelişme gösteren buttum anaçları arasında aşıda uyuşmazlık bulunmamaktadır. Toprak istekleri bakımından daha seçici olan *P.atlantica*’ya oranla buttumanacıları taşlı ve kireçli, toprak koşullarına daha iyi uyum sağlar (Ayfer vd., 1990).

Mikroçoğaltımın mevsimsel engelleri ortadan kaldırarak yılın her gününde bitki üretimine imkan vermesi, az bir alana ihtiyaç duyması, sınırlı sayıda materyalle kısa sürede çok daha fazla bitki elde etmeye imkan vermesi ve kolaylıkla kontrol edilebilir ortamlar sunması nedeniyle avantajlıdır. Mikroçoğaltım ağaç türlerinin üretiminde de yaygın bir şekilde kullanılır çünkü, yöntemde tohumların toplanması ve çimlenmesi gibi zahmetli işlemler yoktur. Hatta üstün karakterli ağaçlar daha yüksek verimler için klonlanır (Hopkins, 2006).

Pistacia cinsinin vejetatif çoğaltımında karşılaşılan zorluklar nedeniyle ve ticari kullanımının genişletilmesi için vejetatif yöntemlerin biyoteknolojik teknikler ile desteklenmesi gerekmektedir. Biyoteknolojik çoğaltım yöntemlerinden biri olan mikroçoğaltım tekniği geleneksel vejetatif yöntemlerde karşılaşılan zorlukların aşılması ve klonal çoğaltım için etkili bir yöntemdir. İyi ürün veren sağlıklı ağaçlar, mikroçoğaltım teknikleri kullanılarak klonlanabilir.

2. YÖNTEM

2.1. Bitkisel Materyal

Araştırmada materyal olarak, Batman ilinin 16 km güney doğusundaki Batı Raman bölgesinde doğal olarak yayılış gösteren olgun dişi buttum (*P. khinjuk*) ağaçları kullanıldı. Sürgün ucu ve nodal tomurcuk kültürleri için, 20-30 cm boyunda kesilen sürgünler nemli bezlere sarılarak plastik kaplar içinde laboratuvara getirildi kültür başlatılana dek ve +4°C’ de buzdolabında saklandı.

Buttum ağacının farklı eksplantlarından etkili bir kültür başlatma protokolü geliştirmek için kullanılan eksplant tipleri şunlardır:

Sürgün ucu tomurcuk (apikal): Ağaçlardan alınan 1-2 cm uzunluğundaki gövde uçları.

Nodal tomurcuk (lateral): Vejetasyon dönemi içerisinde gelişen bir yaşındaki sürgünler üzerinde bulunan yan tomurcuklar.

2.2. Metot

Bu çalışmada, eksplantların fenolik bileşiklerden uzaklaştırılması işlemi, steril saf su ile yıkamayla gerçekleştirildi. Eksplant tiplerinde kullanılacak yüzey sterilizasyonu, antepfıstığı için Onay, (2000) tarafından kullanılan yüzey sterilizasyonu yöntemidir. Bütün deneylerde yüzey sterilizasyonu 150 rpm’de çalışan bir çalkalayıcıda, yıkama işlemleri ise elle yapıldı. Yüzey sterilizasyonu çalışmalarında 30 gl⁻¹sukroz ve 5.5 gl⁻¹agar ile 1 mg l⁻¹ BA içeren MS (Murshige ve Skoog, 1962) besi ortamı kullanıldı.

Fenolik salınımı çalışmalarında alınacak gözlemler:

Fenolik salan eksplant oranı (%): Kültür ortamına fenolik salan eksplantların, salmayan tüm eksplantlara oranını ifade etmektedir.

Yüzey sterilizasyon çalışmalarında alınacak gözlemler:

Enfekte Olan Kültür Oranı (%): Ondört günlük kültür sonunda, enfekte olan kültür sayısının toplam kültür sayısına olan oranını ifade etmektedir.

Canlı Kalan Eksplant Oranı (%): Kültürün 28. gününe kadar enfekte olmadan gelişen kültür sayısının, toplam kültür sayısına olan oranını ifade etmektedir.

Kahverengileşen Kültür Oranı (%): Kültürün 14. gününe kadar herhangi bir gelişme olmayıp, kahverengileşerek bozulan kültür sayısının toplam kültür sayısına olan oranını göstermektedir.

3. ANALİZ VE BULGULAR

3.1. Yıkama süresinin fenolik uzaklaştırmaya etkisi

Bu deneyde sürgün uçlarının (apikal yada lateral) kesilmesiyle salınan fenolik bileşiklerin uzaklaştırılmasına steril saf su ile yıkama etkisi araştırılmıştır. Fenolik bileşenlerin uzaklaştırılmasında yıkama süresinin önemli ölçüde etkili olduğu görülmüştür (Tablo 3.1). Steril saf su ile yıkanmadan besi ortamına inkübe edilen eksplantların (Kontrol grubu) tamamı (%100) besi ortamına fenolik salarken, yıkama süresi uzadıkça (30, 60, 120, 150, 180, 210 dakika) Fenolik bileşenlerin steril saf su ile yıkanarak uzaklaştığı tespit edilmiştir. 180 dakikalık yıkama işlemi süresinden sonra fenolik salınımında istatistiksel bir farkın olmadığı ortaya konmuştur. 180 dakikalık yıkama süresi sonunda eksplantların %92'sinden Fenolik bileşenler uzaklaştırılmıştır.

3.2. Olgun Dişi Buttum Ağaçlarından Alınan Sürgün Uçlarından Yüzey Sterilizasyon Metodunun Gelişimi

Bu alt bölümde yapılan deneylerin amacı, apikal ve lateral sürgün uçlarından alınan materyalden herhangi bir mikroorganizma ile bulaşık olmayan eksplantlar elde etmektir. Bu amaçla eksplantlar 5 dakika akan musluk suyunda bekletildikten sonra 40 saniye %70'lik etil alkolle inkübe edilmiştir. Sterilant olarak NaOCl'nin farklı konsantrasyonları ve eksplantların sterilantta bekletilme süreleri denenmiştir. NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarında enfekte olan, canlı kalan ve kahverengileşen eksplant yüzdeleri istatistiksel olarak önemli farklılıklar göstermiştir (Tablo 3.2). Tablo 3.2'deki sonuçlara göre, NaOCl'nin artan konsantrasyonuyla kontaminasyon yüzdesinin azaldığı ancak kahverengileşme (kararma) yüzdesinin arttığı görülmüştür. Canlı kalan eksplant oranının %10'luk NaOCl'de en yüksek (%30.50), kontrol grubunda ise en düşük (%1.92) olduğu tespit edilmiştir. %10'luk NaOCl'de bekletilme süresinin denendiği test grubunda 20-30 dakikalık sürenin daha yüksek oranlarda (%32) canlı eksplantların elde edilmesine neden olduğu görülmüştür (Tablo 3.3).

Tablo 3.1. Yıkama süresinin fenolik uzaklaştırmaya etkisi

İşlemler(dakika)	Fenolik Salan Ekplant (%)
Kontrol	100 g
30	78.25 f
60	51.50 e
90	35.25 d
120	25.50 c

150	15.50 b
180	8.00 a
210	8.00 a
240	8.50 a
$\chi^2(8df)$	P < 0.05

Rakamlar kültürün 28. gününde her bir deney için 80 eksplantın ortalamasıdır.

Yıkama işleminde her 5 dakikada bir steril saf su ve yıkama kabı (500cc'lik erlen) değiştirilmiştir

Tablo 3.2. NaOCl'nin değişik konsantrasyonlarının yüzey sterilizasyonu üzerine etkisi.

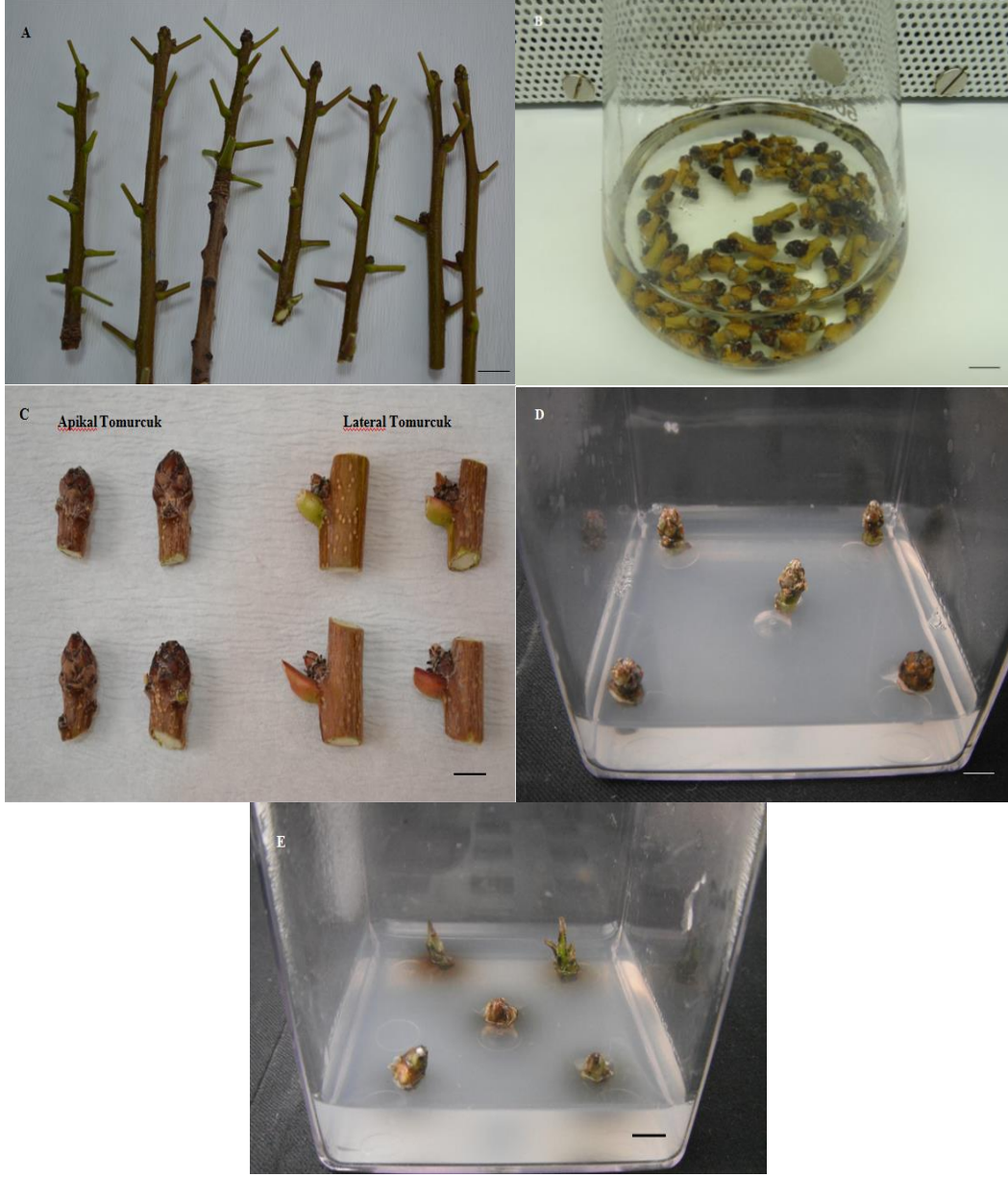
İşlemler(dakika)	Enfekte Olan Eksplant (%)	Canlı Kalan Eksplant (%)	Kahverengileşen (Kararan) Eksplant(%)
Kontrol	96.15 a	1.92 d	1.92 d
20 dk %5 NaOCl	75.00 b	19.23 b	5.76 c
20 dk %10 NaOCl	59.32 c	30.50 a	10.16 b
20 dk %15 NaOCl	56.07 c	12.14 c	34.57 a
20 dk %20 NaOCl	53.60 c	9.60 c	36.80 a
20 dk %30 NaOCl	48.38 d	12.90 c	38.70 a
$\chi^2(5df)$	P < 0.05	P < 0.05	P < 0.05

Rakamlar kültürün 28. gününde her bir deney için 80 eksplantın ortalamasıdır.

Tablo 3.3. NaOCl'debekletilme sürelerinin yüzey sterilizasyonu üzerine etkisi

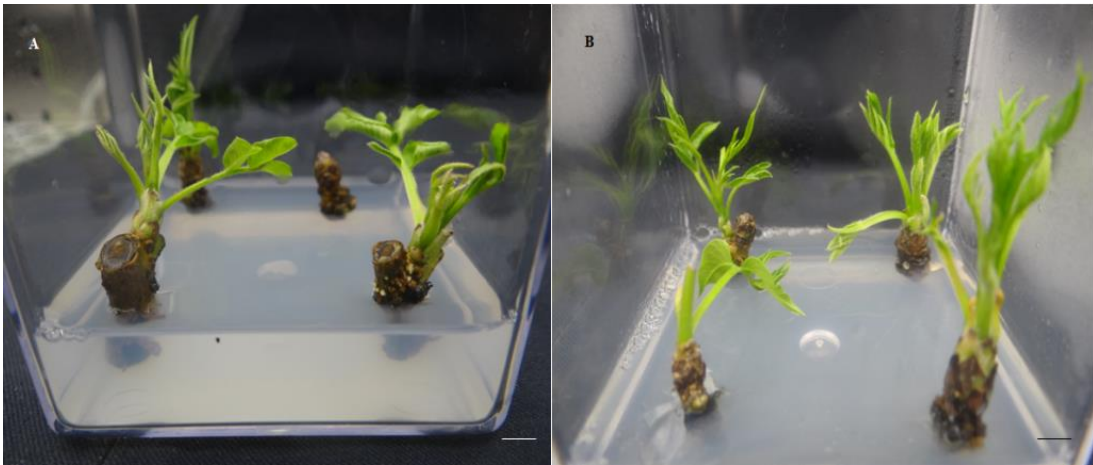
İşlemler (dakika)	Enfekte Olan Eksplant (%)	Canlı Kalan Eksplant (%)	Kahverengileşen (Kararan) Eksplant(%)
Kontrol	96.15 a	1.92 d	1.92 d
5 dk. %10 NaOCl	84.94 a	9.67 c	5.37 c
10 dk. %10 NaOCl	77.41 b	12.75 b	9.67 b
20 dk. %10 NaOCl	59.32 c	30.50 a	10.16 b
30 dk. %10 NaOCl	56.25 c	32.50 a	11.25 b
40 dk. %10 NaOCl	52.26 c	15.38 b	32.35 a
$\chi^2(5df)$	P < 0.05	P < 0.05	P < 0.05

Rakamlar kültürün 28. gününde her bir deney için 80 eksplantın ortalamasıdır.



Şekil 1. *P.khinjuk* Stocks in vitro kültürlerinin başlatılması

- A) sürgünler (Bar: 8.20 mm)
- B) Sodyum hipokloritten arındırma (Bar: 14.30 mm)
- C) Yatay hava akışlı kabinde sürgün apikal ve lateral uçları (Bar: 5.50 mm)
- D) Magenta kabında ekimiyapılmış apikalsürgünler (Bar: 5.40 mm)
- E) Fenolik salmış eksplantlar (Bar: 6.2 mm)



Şekil 2. Kültürün 21. gününde lateral ve apikal tomurcuklar

- A) Lateral tomurcuklar (Bar: 5.00 mm)
- B) Apikal tomurcuklar (Bar: 6.00 mm)

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Fenolik bileşikler ya da sekonder metabolitler, stres koşullarında bitkiler tarafından üretilen maddelerdir. Bitki doku kültüründe bitkilerin çeşitli aşamalarda kesilmesi fenolik salınımına neden olmaktadır. Salınan Fenolik bileşenler besi ortamını oksitlemekte ve besi ortamında kararmaya neden olmaktadır. Kararmış besi ortamında besinlerin alınması engellendiği için zamanla eksplantlar kahverengileşerek (karararak) ölmektedir (Ahmad vd., 2013). *Pistacia* türlerinde kültür başlatılması önündeki engellerden biri de fenolik salınımdır (Tilkat vd., 2008). Mikroçoğaltımı yapılan Anacardiaceae türlerinde, fenolik kaynaklı kahverengileşmeyi engellemek için askorbik asit, sitrik asit gibi fenolik adsorbantlar kullanılmıştır (Karishna vd, 2008). Fakat fenolik adsorbant kullanımı bitki dokularında hızlı bir şekilde ölüme neden olmakta (Nisyawati ve Kariyana, 2013) ve besin minerallerinin alınımını engellemektedir (Elmore vd., 1990). Tilkat vd., (2008) tarafından *Pistacia vera* türünde yapılan çalışmada fenolik bileşiklerin steril saf su ile yıkanarak uzaklaştırılabileceği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada besi ortamına her hangi bir fenolik adsorbant ekmeden fenolik bileşikler steril saf su ile yıkanarak %92 oranında uzaklaştırılmıştır.

Olgun materyallerden kültür başlatmanın önündeki diğer engeller, eksplantlarda görülen kahverengileşme (kararma) ve kontaminasyondur. Yüze sterilizasyonu doku kültürü işlemleri arasında en önemli aşamalardan biridir ve bu işlemde en çok kullanılan maddeler etil alkol, sodyum veya kalsiyum hipoklorit, civa klorür, gümüş nitrat ve hidrojen peroksittir (Babaoğlu vd., 2002).

Otuz yaşındaki antepfıstığı ağaçlarından alınan ve aktif olarak büyüyen sürgün uçlarının yüze sterilizasyonunun, % 20'lik cholorox ile 20 dakika çalkalama ve daha sonrasında ise 3 defa steril saf su ile çalkalama işlemi ile başarılı olduğunu bildirmiştir (Abousalim, 1990).

Olgun antepfıstığı dişi ağaçlarından alınan sürgün uçlarını saf alkolde 2 dakika çalkalama işleminden sonra %20'lik NaOCl'de 10-30 dakika çalkalayarak sterilize edilebileceği gösterilmiştir (Onay, 2000).

Serada büyütülen genç *P. vera* fidanlarından alınan sürgünler, 1 saat akan musluk suyu altında bekletildikten sonra sabunlu suyla 15 dakika çalkalanmıştır. Bu sürgünler %0.5'lik sistemik fungusit (benomil) bulunan bir ortamda 15 dakika çalkalanmıştır. Bu işlemden sonra %70'lik etil alkol ve bir damla tween-20 bulan bir ortamda 1 dakika sonra %1'lik sodyum hipokloritte 10 dakika çalkalanıp 3 defa steril saf su ile yıkandıktan sonra sterilize edilmiştir (Al-Safadi ve Elias, 2010).

Erkek antepfıstığı ağaçlarından alınan tomurcukların her hangi bir ön işleme maruz bırakılmadan %10'luk ticari NaOCl'te 20-45 dakika çalkalanarak etkili bir şekilde yüze sterilizasyonunun yapıldığı rapor edilmiştir (Tekin vd., 2001).

Erkek *P. vera* ağaçlarının sürgün uçları 5-10 dakika çeşme suyu ile yıkandıktan sonra %70'lik etil alkolde 30 saniye, %15'lik ticari NaOCl'de 40 dakika çalkalanarak dezenfekte edilmiştir (Ayaz- Tilkat vd., 2011).

Bu çalışmada eksplant kaynağı olarak dişi buttum ağaçlarının apikal ve lateral tomurcukları 40 saniye %70'lik etil alkolle yıkandıktan sonra ticari sodyum hipoklorit (ACE) ile sterilize edilmeye çalışılmıştır. Kullanılan ticari sodyum hipokloritin aktif klor oranı yaklaşık olarak %5 civarında olduğu Türk Standartlar Enstitüsü (TSE) kayıtlarından tespit edilmiştir. Aktif klor oranı belli olan ticari sodyum hipokloritin %10'luk konsantrasyonunda 30 dakika çalkalanmayla eksplantların %32 oranında kontamine olmadan kültür koşullarında yaşamaya devam ettiği ortaya konmuştur. Sodyum hipokloritin artan konsantrasyonları dezenfekte eksplant oranını artırmış fakat canlı kalan ve süren eksplant sayısında azalmaya neden olmuş ve kahverengileşen (kararan) eksplant yüzdesinde artışa neden olmuştur.

Olgun dişi *P. khinjuk* ağaçlarından alınan sürgünlerin saldıği fenolik bileşenler steril saf su ile başarılı bir şekilde uzaklaştırılmış ve ticari sodyum hipoklorit ile kontaminasyonun engellenebileceği

tespit edilmiştir. Ancak bitkisel materyalde kontaminasyona neden olan ajanlarla daha etkin bir mücadele için bakteri veya mantar ile temas yüzeyini artırarak etkili olan aynı zamanda bitki parçalarında özellikle tomurcuk pulları arasında sıkışmış bakteri ve mantarlara ulaşabilen nano boyutta sterilantlara ihtiyaç vardır.

Kaynakça

- Abousalim, 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.
- Ahmad, I., Hussain, T., Ashraf, I., Nafees, M., Rafay, M., Iqbal, M. 2013. Lethal effects of secondary metabolites on plant tissue culture. *American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci*, 13(4) : 539-547
- Al-Safadi, B., Elias, R. 2010. Enhancement of pistachio (*Pistacia vera* L.) Propagation *in vitro* utilizing the shoot and embryo culture techniques. *International Journal of Fruit Science*, 10(1): 96-108.
- Ayaz Tilkat, E., Namli, S., Işıkalan, Ç. 2011. Determination and assesment of the sex chromosomes of male trees of pistachio (*Pistacia vera* L.) using *in vitro* culture. *AJCS*, 5(3):291-295.
- Ayfer, M., Okay, Y., Erdogan, V. 1990. Antepfıstığı anaçları ve çoğaltılmaları. Türkiye 1. Antepfıstığı Sempozyumu Bildirileri (ss. 38-48). 11-12 Eylül 1990- Gaziantep
- Babaoğlu, S., Yorgancıoğlu, M., Akbudak, M.A. 2002. *Doku Kültürü: temel laboratuar teknikleri: bitki biyoteknolojisi-I, doku kültürü ve uygulamaları*. (Edt. Babaoğlu S., Gürel E., Özcan S.). Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları (ss. 1-3). Konya.
- Elmore, H.W., Samples, B., Sharma, S., Harrison, M. 1990. Influence of cultural and physiochemical factors on ascorbate stability in plant tissue culture media. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 20: 131--135.
- Hopkins, W.G. 2006. *Plant Biotechnology*. Chelsea House (pp. 630). Yayın No: 2006008157, New York.
- Krishna, H., Sairam, R.K., Singh, S.K., Patel, V.B., Sharma, R.R., Grover, M., Sachdev, A. 2008. Mango explant browning: Effect of ontogenic age, mycorrhization and pre-treatments. *Sci Horti*, 118(2), 132-138
- Kuru, C., Özşabuncuoğlu, İ.H. 1990. Yabani *Pistacia Türlerinin Aşılmasında sorunla ve çözüm Yolları*. Türkiye Birinci Antep Fıstığı Sempozyumu (ss. 49). Gazi Antep, Türkiye.
- Mehrnejad, M.R. 2003. Three *Pistachio* species evaluated for resistance to the common *Pistachio Psylla*, *Agonoscapista pistaciae*. Proceedings: "Forest Insect Population Dynamics and Host Influences" (pp. 58-62). IUFRO Kanazawa.
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15. 473-497.
- Nisyawati, A., Kusuma Kariyana, T. 2013. Effect of ascorbic acid, activated charcoal and light duration on shoot regeneration of banana cultivar barangan (*Musa acuminata* L.) *in vitro* culture. *IJRRAS*, 15 (1) :13-17
- Onay, A. 2000. Micropropagation of Pistachio from mature trees. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 60: 159–162.
- Padulosi, S., Hadj-Hassan, A. 2001. *Towards a comprehensive documentation and use of Pistacia genetic diversity in Central and West Asia, North Africa and Europe*. Report of the IPGRI Workshop (pp.14-17). Irbid, Jordan.
- Tekin, H., Arpacı, S., Atli, S., Açar, İ., Karadağ, S., Yükçeken, Y., Yaman, A. 2001. *Antepfıstığı yetiştiriciliği kitabı*. (ss. 9-38). Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Ankara,
- Tilkat, E., Onay, A., Yıldırım, H., Özen, H.Ç. 2008. Micropropagation of mature male pistachio *Pistacia vera* L. *The Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 83: 328-333.
- Yaltirik, F., 1967b. Anacardiaceae. Contribution to the taxonomy of woody plants in Turkey. Notes From the Royal Botanical Garden Edinburgh, 28: 11-12.