



*Araştırma makalesi*

**Menengiç (*Pistacia terebinthus* L.) Bitkisinin *In vitro* Çoğaltımı  
Üzerine Farklı Eksplant Kaynaklarının, Metatopolin ve PEG'in Etkisi <sup>a</sup>**

Ali TUNÇ<sup>1</sup> , Sevil SAĞLAM YILMAZ<sup>1\*</sup> 

<sup>1</sup> Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji A.B.D., 40100, Merkez,  
Kırşehir, Türkiye

<sup>2</sup> Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Bitkisel Biyoteknoloji  
A.B.D., 40100, Bağbaşı, Kırşehir, Türkiye

\* Sorumlu yazar (Corresponding author): [ssaglam@ahievran.edu.tr](mailto:ssaglam@ahievran.edu.tr)

Makale alınış (Received): 30.11.2023 / Kabul (Accepted): 18.12.2023 /Yayınlanma (Published): 31.12.2023

**ÖZ**

Anacardiaceae (Sakızağacıgiller) familyasından olan menengiç (*Pistacia terebinthus* L.) bitkisi küçükbaş hayvanların beslenmesinde, akaryakıt amaçlı biyodizel yapımında, kozmetik sanayinde, çevre kirleticilerinin önlenmesinde, kahve yapımında, kuruyemiş ve gıda boyası olarak gıda sanayinde, antibakteriyel ve antioksidan üretiminde tıbbi ve aromatik bitki olarak geniş bir kullanım alanına sahiptir. Ancak bu kadar çok alanda kullanıma sahip olan menengiç gerek bilinçsiz otlatma ve sökümler, gerekse küresel iklim değişiklikleri vb. sebeplerden dolayı yokolma tehlikesi altındadır. Yokolma tehlikesi altında olan bitki gen kaynaklarının gerek klasik yöntemlerle gerekse biyoteknolojik yöntemlerle çoğaltılması sağlanmalıdır. Ayrıca menengiç bitkisi ülkemizde yabani olarak yetişmekte olduğundan ve aşılansak Antep fıstığına dönüştürölme potansiyeli olmasından dolayı çoğaltma yöntemlerinin araştırılması ve geliştirilerek üretiminin sağlanması son derece önemlidir. Bu çalışmada menengiç tohumlarının *in vitro* ve *in vivo* koşullarda çimlendirme denemeleri kurulmuş ve PEG polimerinin çimlenmeye etkisi araştırılmıştır. Bitkinin sürgün ucu, boğum ve yaprak eksplantlarından sürgün rejenerasyonu üzerine 2,4,5-T (2,4,5-Triclorophenoxyacetic acid) ve metatopolinin etkileri araştırılmıştır. Elde edilen veriler menengiç bitkisinin gerek çoğaltım ve ıslah çalışmalarına gerekse sekonder metabolitlerin üretimi amacıyla yapılması planlanan yeni çalışmalara ışık tutacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Menengiç, mikroçoğaltım, doku kültürü, menengiç gen kaynağının korunması

© Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi

<sup>a</sup> **Atf bilgisi / Citation info:** Tunç A, Sağlam Yılmaz S (2023). Menengiç (*Pistacia terebinthus* L.) Bitkisinin *In vitro* Çoğaltımı Üzerine Farklı Eksplant Kaynaklarının, Metatopolin ve PEG'in Etkisi . Ahi Ziraat Der/J Ahi Agri 3(2): 200-212

## **Effect of Different Explant Sources, Metatoplin and PEG on *In Vitro* Propagation of Terebinth (*Pistacia terebinthus* L.)**

### **ABSTRACT**

Terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) plant, which is from the Anacardiaceae family, is used as a forage plant in the nutrition of small ruminants; as an industrial plant in the production of biodiesel for fuel oil, in the cosmetic industry, in the prevention of environmental pollutants; it has a wide range of uses in coffee making, in the food industry as nuts and food coloring, in the production of antibacterial and antioxidants, and as a medicinal and aromatic plant. However, terebinth, which is used in so many areas, can be affected by unconscious grazing and harvesting, global climate changes, etc. it is in danger of extinction for various reasons. Plant genetic resources that are in danger of extinction should be reproduced using both classical and biotechnological methods. In addition, since the terebinth plant grows wild in our country and has the potential to be transformed into pistachios by grafting, it is extremely important to research and develop propagation methods and ensure its production. In this study, firstly, terebinth seeds were tried to germinate both *in vitro* and *in vivo*. Then, the effect of Metatoplin and PEG polymer on *in vitro* regeneration were investigated with different explants of the plant (shoot tip, node, leaf). The data obtained will shed light on new studies planned to be carried out both in the propagation and breeding studies of the terebinth plant and in the production of secondary metabolites.

**Keywords:** Terebinth, micropropagation, tissue culture, protecting genetic resources of terebinth

© Kırşehir Ahi Evran University, Faculty of Agriculture

### **Giriş**

Menengiç (*Pistacia terebinthus* L.) 600 adetten fazla türe sahip olan Anacardiaceae familyasına dahil bir bitkidir. Çok yıllık, çalı ve küçük ağaç şeklindedir. Türkiyede İstanbul, Zonguldak, Balıkesir, Bursa, Çanakkale, Tekirdağ, İzmir, Isparta, Burdur, Antalya, Elazığ, Şırnak ve Türkiye'nin kuzey ve Batı Anadolu Bölgeleri ile Doğu ve Güney Anadolu bölgelerinde doğal olarak yetişmektedir (Tubives 2023; Gülsoy vd. 2013). Tıbbi amaçlı kullanımının yanında gıda sanayinde aroma verici madde ve atıştırılabilir yemiş olarak da kullanılmaktadır (Çakır ve Ergenekon 2021). Fenolik bileşikler, terpenoidler, monoterenler, flavonoidler, alkaloidler, saponinler, yağ asitleri, steroller ve lif açısından çok zengin olan bu cins, son zamanlarda farmasötik açıdan büyük ilgi görmeye başlamıştır (Çiftçi vd. 2009). Bilimsel çalışmalar bu türlerin geleneksel olarak astım, romatizma, hipertansiyon, diyabet, ishal ve hemoroid gibi pek çok yaygın hastalığın tedavisinde kullanıldığını göstermektedir. *Pistacia* türlerinin aynı

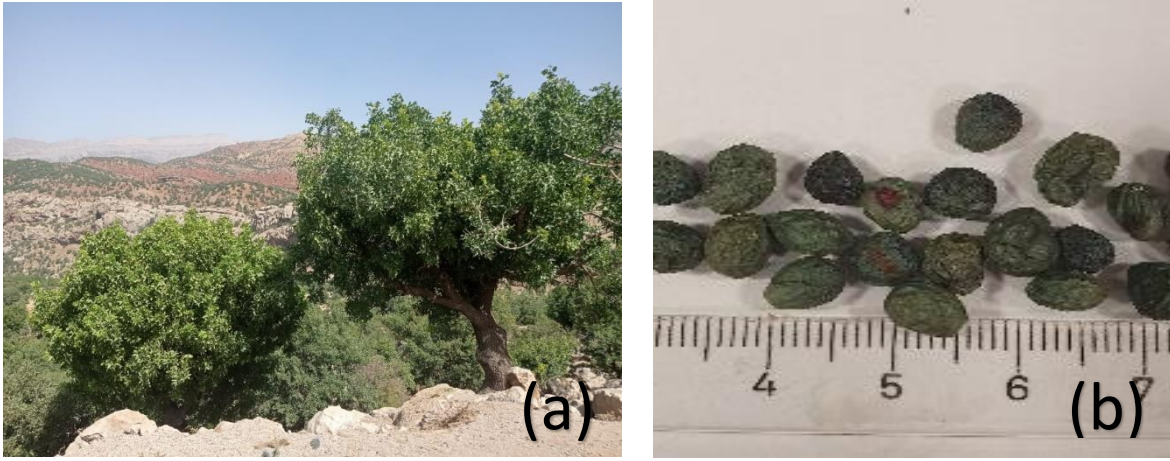
zamanda antibakteriyel, antioksidan, antimikrobiyal, antiviral, antikolinesteraz, antiinflamatuvar, antinosiseptif, antidiyabetik, antitümör, antihiperlipidemik, antiaterosklerotik ve hepatoprotektif aktivitelere de sahip olduğu bildirilmiştir (Abdulrahman 2017; Akpulat vd. 2021; Altunova 2016; Çoban vd. 2017; Özyurt vd. 2021). *Pistacia* türleri dünya ekonomisinde önemli bir ticari değere sahip olup, Türkiye; uygun ekolojik koşulları nedeniyle dünyanın önemli fıstık (*Pistacia vera*) üreten ülkeleri arasında yer almaktadır. Menengiç pekçok faydası yanında Antepfıstığı için iyi bir anaçtır (Guerrero vd. 2004). Aşılama işlemi iki yıllık anaç büyümesinden sonra yapılmaktadır. Menengiç tohumdan üretilen ve soğuk bölgelere uyumu ve aynı zamanda toprak hastalıklarına karşı dayanıklılığı bilinen bir türdür (Guerrero vd. 2002). Türkiye’de *P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus* ve *P. eurycarpa* gibi farklı türler kullanılarak anaç ıslah programları yürütülmektedir (Kafkas vd. 2006, Atlı ve Kaşka 2002). Avusturalya’da fıstık anaçlarının %58’i *P. terebinthus* türünden oluşmaktadır (Zhang 2006). *Pistacia* türlerinin çoğaltımı, köklenmesi oldukça zordur. Anaçlarının büyük bir bölümü generatif olarak tohumla üretilmekte ancak türün yabancı tozlanmasından dolayı tohumdan üretimlerde genetik açılmalar meydana gelmektedir. Bu durum morfolojik olarak farklı bireylerin meydana gelmesinin yanında anaç-kalem performansını da düşürmektedir. 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. Bazı araştırmacılar, *pistacia* türlerinin vejetatif olarak çelikle çoğaltımında başarı elde edilemediği için *in vitro* koşullarda klonal çoğaltma yöntemleri ile kitlesel anaç üretiminin en ideal yöntem olduğunu bildirmişlerdir (Guerrero vd. 2002a; Gijón vd. 2010). Bu çalışmada, oldukça önemli bir tür olan menengicin hem *in vitro* hem *in vivo* koşullarda çoğaltılabilme olanakları araştırılmış ve sonuçlar karşılaştırmalı olarak gözden geçirilmiştir.

## **Materyal ve Yöntem**

Çalışma Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarında 2022-2023 yıllarında yürütülmüştür.

## **Bitki Materyali**

Menengiç (*Pistacia terebinthus* L.) doğada 4-5 metreye kadar boylanabilen, çalı veya küçük ağaç formunda herdem yeşil bir bitkidir. Bu çalışmada Şırnak ili Yeniaslanbaşı köyü vejetasyonunda doğal olarak bulunan olgun menengiç ağaçlarından elde edilen tohum ve çeliklerden alınan sürgün ucu eksplantları ile iklim odasında viyollerde çimlendirilen iki aylık bitkiciklerden izole edilen boğum ve yaprak eksplantları eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır. Araziden çelikler Mart, Mayıs ve Temmuz aylarında olmak üzere üç farklı dönemde alınmıştır. *In vitro* ve *in vivo* ortamlarda çimlendirme amacıyla kullanılan tohumlar çeliklerin alındığı aynı ağaca ait bir önceki yılın tohumlarıdır. Bitki materyallerine ait görüntüler Şekil 1.’de verilmiştir. Tohumların bir kısmı denemeler kuruluncaya kadar laboratuvarında oda sıcaklığında, bir kısmı da soğuklamanın çimlenmeye etkisini gözlemlemek amacıyla +4 °C’de buzdolabında saklanmıştır.



**Şekil 1.** (a) Şırnak ili Yeniaslanbaşar köyü vejetasyonunda doğal olarak bulunan menengiç ağaçları (b) menengiç tohumları

### **Besin Ortamlarının Hazırlanması**

Besin ortamı olarak MS, MS Gamborg B5 ve WPM ortamları kullanılmıştır. Besin ortamlarına karbon kaynağı olarak 30 g/l sukroz, jelleştirici olarak ise 6 g/l plant agar ilave edilmiştir. Ortam pH'sı 5.6-5.8'e ayarlanmıştır. Hazırlanan ortamlar 121 °C'de 20 dk otoklavda steril edilmiştir. Gibereellik asit (GA<sub>3</sub>) ve metatopolin dışındaki tüm kimyasallar ve bitki büyüme düzenleyiciler besin ortamına otoklavlanmadan önce eklenmiştir. GA<sub>3</sub> ve metatopolin ise sıcaklıkla bozulma özelliğine sahip olmaları sebebi ile filtre sterilizasyonundan sonra ortamlara ilave edilmiştir.

### **Tohumların *in vivo* Koşullarda Çimlendirilmesi**

Tohumların *in vivo* çimlendirilmesinde altı farklı uygulama denenmiştir. Bu uygulamalara ait bilgiler Tablo 1.'de verilmiştir. Bütün uygulamalarda ekimden önce bir gece tohumlar su içinde bekletilmiş ve meyve kabuğu uzaklaştırıldıktan sonra her uygulama için 200'er adet tohum kullanılmıştır. Yalnızca altıncı uygulamada her altı uygulama için 20 adet tohum olmak üzere toplam 120 adet tohum kullanılmıştır. Dördüncü uygulama hariç diğer bütün uygulamalarda tohumlar haftada iki kez musluk suyu ile sulanmıştır. Yine dördüncü uygulamada 0.1 gr GA<sub>3</sub> bir kaç damla etanol ile çözdürüldükten sonra saf su ile 100 ml'ye tamamlanarak kullanılmıştır.

### **Tohumların *in vitro* Yüzeysel Sterilizasyonu ve Çimlendirilmesi**

Tohumların *in vitro* yüzeysel sterilizasyonunda yedi farklı uygulama denenmiştir. Bu uygulamalara ait bilgiler Tablo 2.'de verilmiştir. Bütün uygulamalarda ekimden önce bir gece tohumlar su içinde bekletilmiş ve meyve kabuğu uzaklaştırıldıktan sonra kullanılmış ve tohumlar yüzeysel sterilizasyonundan sonra 1.-5. uygulamalarda MS; 6. ve 7. uygulamalarda WPM besin ortamlarına ekilmiştir. Her uygulamada en az 20 adet tohum kullanılmıştır.

**Tablo 1.** Menengiç tohumlarının *in vivo* çimlendirilmesinde kullanılan yöntemler

Yöntem No	Yöntemin Uygulanışı
1	Tohumlar iklim odasında torf: bahçe toprağı (1:1) içeren plastik viyollere doğrudan ekilmiştir.
2	Tohumlar +4 °C'de iki (2) ay soğuk katlanmaya tabi tutulmuş ve çatlamış tohumlar iklim odasında torf: bahçe toprağı (1:1) içeren plastik viyollere doğrudan ekilmiştir.
3	Tohumlar herhangi bir işleme tabi tutulmadan arazi şartlarında toprağı ekilmiştir.
4	GA <sub>3</sub> petri kaplarında filtre kâğıtları arasında bulunan tohumlara uygulanmıştır.
5	Tohumlar +4 °C'de iki (2) ay soğuk katlanmaya tabi tutulmuş ve GA <sub>3</sub> ile 24 saat muamele edilmiştir. Ardından %100 ticari çiçek toprağı bulunan viyollara ekimi yapılmıştır.
6	Tohumlar PEG-6000 (-1.0 MPa -273 gr/L) ile 0, 1, 2, 3, 4, 5 gün süreyle muamele edildikten sonra iklim odasında torf: bahçe toprağı (1:1) içeren plastik viyollere ekilmiştir.

**Tablo 2.** Menengiç tohumlarının *in vitro* yüzey sterilizasyonunda kullanılan yöntemler

Yöntem No	Yöntemin Uygulanışı
1	%20 NaOCl solüsyonunda 1, 5, 10 ve 20 dakika sterilizasyon yapılmıştır. Aynı uygulamada bu doz ve sürelerle ilave olarak ortamlara otoklavdan sonra 1 ml/l eklenmiştir.
2	2 ay +4 °C'de soğuk katlanmaya tabi tutulan ve çatlamış tohumlar %50 NaOCl ile 5 dk muamele edilmiş ve 5'er dk 3 kez durulama yapılmıştır. Besin ortamlarına 200 µl/100 ml eklenmiştir.
3	3 ay +4 °C'de soğuk katlanmaya tabi tutulan ve çatlamış tohumlar %50 NaOCl ile 5 dk muamele edilmiş ve 5'er dk 3 kez durulama yapılmıştır.
4	3 ay +4 °C'de soğuk katlanmaya tabi tutulan ve çatlamış tohumlar %70 etanolde 1 dk bekletilmiştir. %100 NaOCl ile 5 dk muamele edilmiş ve 5'er dk 3 kez durulama yapılmıştır. Besin ortamlarına 1.0 ml/l eklenmiştir.
5	3 ay +4 °C'de soğuk katlanmaya tabi tutulan çatlamış tohumlar %70 etanolde 1 dk bekletilmiştir. % 0.1 HgCl <sub>2</sub> ile 10 dk muamele edilmiştir. % 0.3 CaCl <sub>2</sub> ile 10 dk 2 kez muamele edilmiştir. 5'er dk 3 kez durulama yapılmıştır. Tohumlar 24 saat bidistile su içerisinde bekletildikten sonra embriyoları çıkarılarak ekimi yapılmıştır.
6	4 ay +4 °C'de soğuk katlanmaya tabi tutulan tohumlar %70 etanolde 2 dk. muamele edilmiştir. % 0.1 HgCl <sub>2</sub> 'de 10 dk daha sonra % 0.3 CaCl <sub>2</sub> 'de 10 dk. çalkalanarak 5'er dk. 3 kez durulama yapılmıştır.
7	Soğuk katlanmaya tabi tutulmaksızın tohumlar, %70 etanolde 2 dk., % 0.1 HgCl <sub>2</sub> 'de 10 dk., % 0.3 CaCl <sub>2</sub> 'de 10 dk. çalkalandıktan sonra 5'er dk 3 kez durulama yapılmıştır.

### Çeliklerden İzole Edilen Eksplantların *in vitro* Yüzey Sterilizasyon

Yaklaşık otuz yaşında ya da daha yaşlı olduğu tahmin edilen menengiç ağacından alınan çelikler 2022 yılının Mart, Mayıs ve Temmuz aylarında toplanmış ve bu çeliklerden izole edilen sürgün ucu eksplantları başlangıç materyali olarak kullanılmıştır. İlk olarak laboratuvara getirilen yeşil çelikler üzerindeki yapraklar temizlenmiş ve musluk suyu altında yıkanarak ön sterilizasyona tabi tutulmuştur. Ardından biyogüvenlik kabininde asıl sterilizasyon ve steril saf su ile 5'er dakika 3 kez durulama işlemi yapılmıştır. Her bir uygulama için 20 adet eksplant kullanılmıştır. Tüm sterilizasyon işlemlerinden sonra eksplantlar bistüri ve pens yardımıyla yaklaşık 1-2 cm uzunluğunda kesilerek kültür ortamlarına dikilmiştir. Dikimden sonra

---

eksplantlar  $24 \pm 1$  °C’de 3000 lüks ışık şiddetinde 16/8 h fotoperiyodunda iklim dolabına alınmıştır.

Mart çeliklerinden izole edilen eksplantların *in vitro* yüzey sterilizasyonunda altı farklı uygulama denenmiştir. Çelikler 5-10 dk. akan musluk suyu altında ön yıkamaya tabi tutulmuştur. Bulaşık deterjanı ile yıkanmış ve durulanmıştır. Sürgün ucu eksplantları budama makası ile izole edilmiş ve ön sterilizasyon amacıyla % 70 etanolde 1 dk tutulmuştur. Her sterilizasyon uygulamasında 100 ml’ye 2 damla Tween-20 eklenmiştir. MS Gamborg B5 ortamına ekim yapılmıştır (Tablo 4.)

Mayıs çeliklerinden izole edilen eksplantların *in vitro* yüzey sterilizasyonunda eksplantlar 5-10 dk akan musluk suyu altında 5 dk. deterjanlı su ile yıkanmış ve durulanmıştır. Eksplantlar önce 1 gr/l (%50 Captan WP) fungusit ile 20 dk. muamele edilmiştir. Sonar 2 gr/l başka bir fungusit (Moncera) ile 20 dk. muamele edilmiştir. %70 etanolde 1 dk tutulmuştur. Ardından 6 farklı yüzey sterilizasyonu protokolü uygulanmıştır. 5’er dk 3 kez durulama yapılmıştır. MS Gamborg B5 ortamına ekim yapılmıştır (Tablo 4).

Temmuz çeliklerinden izole edilen eksplantların *in vitro* yüzey sterilizasyonunda çelikler akan musluk suyu altında 1 saat yıkanmıştır. Ardından eksplantlar 1 gr/l Captan WP ve 1 gr/l Moncera karışımı ile ilk üç uygulamada sırasıyla 20, 10 ve 5 dk. fungusit ile muamele edildikten sonra %70 etanolde 30 sn. bekletilmiş ve asıl sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Ancak 6., 7. ve 8. uygulamalarda fungusit uygulaması 10 dk. yapılmış ve eksplantlar daha sonra benzer şekilde %70 etanolde 30 sn tutulmuştur. 4. ve 5. uygulamalarda ön sterilizasyon yalnızca %70 etanolde 30 sn. bekletilerek sağlanmıştır. Asıl sterilizasyondan sonra eksplantlar 5’er dk. 3 kez durulandıktan sonra filtre kağıtları üzerinde kurutulduktan sonra MS besin ortamına dikilmiştir. Kararmayı önlemek için ortamlara 5 gr/l aktif karbon eklenmiştir (Tablo 4.).

### **PEG-6000 Uygulaması**

Tohumların *in vivo* çimlendirme denemelerinden biri olan PEG uygulamasında tohumlar PEG-6000 (-1.0 MPa-273 gr/L) ile 0, 1, 2, 3, 4, 5 gün süreyle muamele edilmiş ardından viyollere ekilerek iklim odasına alınmıştır. Ekimden önce bir gece tohumlar su içinde bekletilmiş ve meyve kabuğu uzaklaştırıldıktan sonra her uygulamada 20 adet tohum olacak şekilde kullanılmıştır. Tohumlar haftada iki kez musluk suyu ile sulanmıştır. Haftalık ve aylık gözlemleri yapılmıştır.

### ***In vitro* Köklendirme ve Aklimatizasyon**

Denemede MS besin ortamlarına köklendirme amacıyla 2.0 mg/l 2,4,5-T (2,4,5-Triclorophenoxyacetic acid) ilave edilmiştir. Kültür başlangıcından iki hafta sonra genç bitkicikler şeffaf plastic bardaklarda bahçe toprağı:torf (1:1) karışımına dikilerek ve dışına şeffaf poşet geçirilerek aklimatizasyonu sağlanmaya çalışılmıştır. Tüm kültürler  $24 \pm 1$ °C’de 3000 lüks ışık şiddetine ayarlı iklim odasında 16/8 h fotoperiyodunda tutulmuştur.

## Bulgular ve Tartışma

### Çimlendirme Bulguları

*In vivo* çimlendirmede meyve kabukları uzaklaştırılmış olan tohumlar (Şekil 2a.) kullanılmış ve bir ay sonunda gözlemler yapılarak veriler elde edilmiştir. 1. uygulamada bir (1) adet bitki elde edilmiştir (Şekil 2b.). 2., 3. ve 5. uygulamalarda herhangi bir çimlenme gözlemlenmemiştir. 4. uygulamada petri kaplarında kontaminasyon meydana gelmiştir. Kontaminasyonu engellemek için tohumlar %70 etanol ile muamele edilmiş ancak kontaminasyon sorununun ortadan kalkmadığı görülmüştür. Kontaminasyonu aşmak için tohumlar biyogüvenlik kabinde % 20 NaOCl ile 20 dk muamele edilip 5'er dk 3 kez durulanmış ve aynı uygulama tekrarlanmış ancak kontaminasyon engellenememiştir. Abu-Qaoud (2007), pistacia anaçlarının tohum çimlendirmesinde tohumlara uygulanan skarifikasyon, stratifikasyon ve gibereellik asite daldırma uygulamalarının çimlenme başarısını artırdığını ifade etmiş olsa da, bizim çalışmamızda bu uygulamada kontaminasyondan dolayı herhangi bir çimlenme gözlenmemiştir. 6. uygulamada kontrol grubunda 5, 1. gün uygulamasında 3, 2. gün uygulamasında 4, 3. gün uygulamasında 1, 4. gün uygulamasında 1 ve 5. gün uygulamasında 0 adet olmak üzere toplam 14 adet tohum çimlenmiştir. Uygulamaların genelinde toplam ekili tohumların yalnızca %11.6'sının çimlendiği gözlenmiştir (Şekil 2c). Çalışmamızdan elde edilen çimlendirme verileri Hashim (2017)'in çalışması ile benzerlik göstermektedir.



**Şekil 2.** (a) Meyve kabukları uzaklaştırılmış ve ekime hazır menengiç tohumları (b) iklim odasında torf:bahçe toprağı (1:1) içeren saksıda çimlenen bir aylık menengiç bitkisi (c) PEG uygulamasında viyollerde çimlenen bir aylık menengiç bitkileri

### Tohumların *In Vitro* Yüzey Sterilizasyonuna Ait Bulgular

Meyve kabukları bir gün önceden suda ıslatılarak uzaklaştırılmış tohumlar yüzey sterilizasyonu amacıyla NaOCl ve ppm (Plant Preservative Mixture) ile birlikte ve ayrı ayrı 1, 5, 10 ve 20'şer dk. muamale edilmiştir (Şekil 3a.). Uygulamalar içinde en az kontaminasyon (% 26 kontaminasyon) 6. uygulamada gözlenmiştir (%20 NaOCl solüsyonunda 5 dk. ve ppm ilave edilmiş uygulama). Ancak bir ay sonunda yapılan gözlemlerde tohumlarda herhangi bir çimlenme meydana gelmemiştir. 1. ve 4. uygulamalar yani ppm'in kullanılmadığı yalnızca NaOCl solüsyonunda sterilizasyon yapılmış olan uygulamalarda %100 oranında kontaminasyon gözlemlenmiştir. Bir hafta sonunda yapılan gözlemlerde en düşük ve en yüksek kontaminasyon oranlara %26-100 arasında değişmiştir. Ancak uygulamaların hiçbirinde tohum çimlenmesi

meydana gelmemiştir. Tohumların *in vitro* yüzey sterilizasyonuna ait veriler Tablo 3.'te verilmiştir.

**Tablo 3.** Tohumların *in vitro* yüzey sterilizasyonunda meydana gelen kontaminasyon oranları (%)

Uygulama No	NaOCl (%)	Süre (dk.)	1 ml/l ppm (% 0.1)	Kontaminasyon Oranı (%)
1	20	1	-	100
2	20	5	-	100
3	20	10	-	100
4	20	20	-	100
5	20	1	+	86
6	20	5	+	26
7	20	10	+	86
8	20	20	+	93

### **Sürgün Ucu Eksplantlarının *In Vitro* Yüzey Sterilizasyonuna Ait Bulgular**

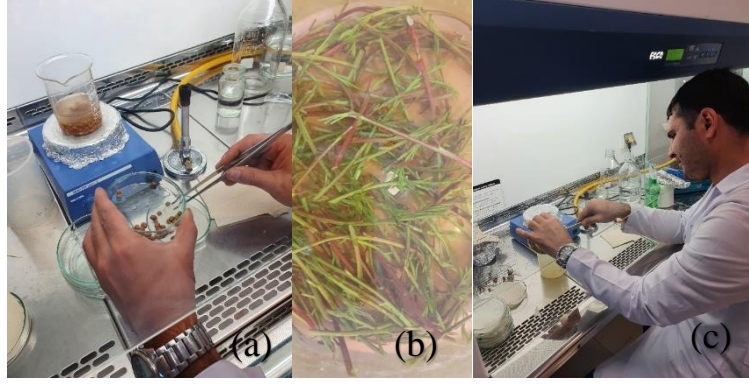
Çeliklerden izole edilen sürgün ucu eksplantlarının *in vitro* yüzey sterilizasyonuna ön sterilizasyon ile başlanmış ve bir haftalık veriler kayıt altına alınmıştır. Mart, Mayıs ve Temmuz aylarına ait kontaminasyon ve kararma sonuçlarına ait veriler Tablo 4.'te verilmiştir.

Tabloya göre, Mart ayında alınan çeliklerden izole edilen eksplantlarda en düşük kontaminasyon % 60 ile 15 dk. % 100 NaOCl uygulamasından elde edilmiştir. En az kararma ise 10 dk. % 100 NaOCl ardından 24 h 4 °C'de bekletme uygulamasında %6.66 olarak gözlemlenmiştir. Mayıs ayında alınan çeliklerden izole edilen eksplantlarda, %0.1'lik HgCl<sub>2</sub>'de 1 ve 10 dk. uygulamalarında hiç kontaminasyon meydana gelmemiş, en az kararma %20.0 ile % 0.1'lik HgCl<sub>2</sub>'de 10 dk. uygulamasında gözlenmiştir. Temmuz ayında alınan çeliklerden izole edilen eksplantlarda ise %6.6 oranında kontaminasyon oranı ile en iyi sonucu veren uygulama birinci uygulama (5 dk. %50 NaOCl) olmuştur. Bütün uygulamalarda %100 kararma meydana gelmiştir.



**Tablo 4.** Çeliklerin alınma zamanına göre sürgün ucu eksplantlarının yüzey sterilizasyonunda meydana gelen kontaminasyon ve kararma oranları (%)

No	Mart	Kont. oranı (%)	Kararma oranı (%)	Mayıs	Kont. oranı (%)	Kararma oranı (%)	Temmuz	Kont. oranı (%)	Kararma oranı (%)
1	5 dk. % 100 NaOCl	100.00	21.43	10 dk. % 10 NaOCl	20.0	20.0	5 dk. %50 NaOCl	6.6	100
2	5 dk. % 100 NaOCl suda bekletme	100.00	21.43	20 dk. % 10 NaOCl	80.0	100.0	10 dk. %50 NaOCl	26.6	100
3	5 dk. %100 NaOCl +4 °C bekletme	100.00	7.14	30 dk. % 10 NaOCl	60.0	100.0	20 dk. %50 NaOCl	46.6	100
4	10 dk. % 100 NaOCl	83.33	41.66	1 dk. % 0.1 HgCl <sub>2</sub>	0.0	33.3	5 dk. % 0.1 HgCl <sub>2</sub> + 5 dk. % 0.3 CaCl <sub>2</sub>	20.0	100
5	10 dk. % 100 NaOCl suda bekletme	93.33	26.66	5 dk. % 0.1 HgCl <sub>2</sub>	33.3	100.0	5 dk. % 0.2 HgCl <sub>2</sub> + 5 dk. % 0.3 CaCl <sub>2</sub>	26.6	100
6	10 dk. % 100 NaOCl +4 °C bekletme	86.66	6.66	10 dk. % 0.1 HgCl <sub>2</sub>	0.0	20.0	1 dk. %100 NaOCl	80.0	100
7	15 dk. % 100 NaOCl	60.00	60.00				5 dk. %100 NaOCl	53.3	100
8	15 dk. % 100 NaOCl suda bekletme	80.00	20.00				10 dk. %100 NaOCl	73.3	100
9	15 dk. % 100 NaOCl +4 °C bekletme	66.66	26.66						



**Şekil 3.** (a) Yeşil meyve kabukları uzaklaştırılmış menengiç tohumlarının biyogüvenlik kabininde yüzey sterilizasyonu (b) Yaprakları uzaklaştırılmış genç menengiç sürgünlerinin ön sterilizasyonu (c) Sürgünlerin biyogüvenlik kabininde asıl sterilizasyonu

### PEG 6000 Uygulaması'nın Çimlenmeye Etkisine Dair Bulgular

Tohumlara PEG-6000 (-1.0 MPa-273 gr/l) 0, 1, 2, 3, 4, 5 gün süreyle uygulanmış ve uygulama süresi sona eren tohumlar aynı gün toprağa ekilmiştir. 1 ay sonunda elde edilen veriler Tablo 5.'de verilmiştir.

**Tablo 5.** Tohumlara PEG 6000 uygulamasında çimlenen tohum sayısı (adet), çimlenme oranı (%), bitki boyu (cm) ve yaprak sayısına (adet) ait veriler

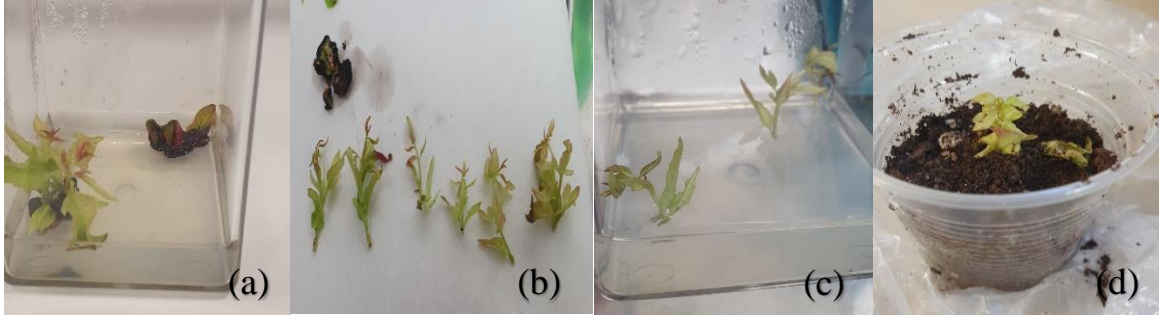
Uygulama No	Uygulama Süresi	Çimlenen Tohum Sayısı (adet)	Çimlenme Oranı (%)	Ortalama Bitki Boyu (cm)	Ortalama Yaprak Sayısı (adet)
Kontrol	0 gün	5	25.0	6.4	2.4
1	1 gün	3	15.0	4.0	1.6
2	2 gün	4	20.0	3.5	2.8
3	3 gün	1	5.0	2.0	2.0
4	4 gün	1	5.0	6.5	5.0
5	5 gün	0	0.0	0.0	0.0

PEG-6000 uygulamasında kontrole en yakın çimlenme oranına sahip uygulama olan 2 gün uygulaması tekrarlanarak elde edilen iki aylık bitkiciklerden izole edilen boğum ve yaprak eksplantları ile önce yüzey sterilizasyonu yapılmış ardından rejenerasyon denemesi kurulmuştur.

### 2,4,5-T ile Metatopolinin Yaprak ve Boğum Eksplantlarının Sürgün Rejenerasyonuna Etkisine Ait Bulgular

Boğum ve yaprak eksplantlarının yüzey sterilizasyonunda eksplantlar %70 etanolde 5 sn tutulmuş ardından steril saf su ile üçkez durulanmıştır. Rejenerasyon denemesinde ise; 0.5 mg/l 2,4,5-T tüm uygulamalarda sabit tutularak metatopolinin 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 ve 5.0 mg/ l dozlarının birlikte etkileri incelenmiştir. Boğum eksplantından rejenerasyon sağlanamazken, yaprak eksplantlarından yalnızca 0.5 mg/l 2,4,5-T ve 4.0 mg/l metatopolin içeren MS besin

ortamından %40 oranında sürgün rejenerasyonu gözlemlenmiştir. Elde edilen sürgünler 2.0 mg/l 2,4,5-T içeren MS besin ortamında köklendirmeye alınmıştır. Köklenen sürgünler saksılarda iklim odasında aklimatizasyon amacıyla dış koşullara alınmıştır (Şekil 4.).



**Şekil 4.** (a) Yaprak eksplantından sürgün rejenerasyonu (b) 0.5 mg/l 2,4,5-T ve 4.0 mg/l metatopolin içeren MS besin ortamından elde edilen sürgünler (c) 2.0 mg/l 2,4,5-T içeren MS besin ortamında köklenmeye alınmış sürgünler (d) Köklenmiş sürgünlerin aklimatizasyonu

## Sonuç

*In vitro* koşullarda doku kültürü teknikleri vasıtasıyla menengiç bitkisinin çoğaltımına yönelik denemelerin yapıldığı bu çalışmada tohumlar hem *in vivo* hem *in vitro* koşullarda çimlendirmeye çalışılmış ancak *in vivo* koşullarda çimlendirmenin daha başarılı olduğu gözlemlenmiştir. En başarılı bulunan *in vivo* çimlendirme uygulaması olan PEG-6000 denemesinden elde edilen veriler ışığında boğum ve yaprak eksplantları kullanılmış ancak bu eksplantlardan yalnızca yaprak eksplantından sürgün rejenerasyonu sağlanmıştır. Şırnak Yeniaslanbaşar köyünden temin edilen ve otuz yaş civarında olan menengiç ağaçlarından temin edilen çeliklerden sürgün ucu eksplantları izole edilmiş ancak kontaminasyon ve yoğun kararmanın etkisi ile sürgün rejenerasyonu sağlanamamıştır. Bu çalışma bize *in vitro* koşullarda menengiç bitkisinin mikroçoğaltımında yaşlı bitkilere göre genç bitkilerin tercih edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Denemelerde kullanılan MS, MS Gamborg B5 ve WPM besin ortamları arasındaki fark sterilizasyon aşamasında kontaminasyonun aşılammış olmasından dolayı ortaya konulamamıştır. Rejenerasyon çalışmasında ise yalnızca MS temel besin ortamı kullanılarak çalışmalara devam edilmiştir. Rejenerasyona etkisi gözlemlenmeye çalışılan metatopolinin ise en uygun dozunun 0.5 mg/l 2,4,5-T ilave edilmiş 4.0 mg/l metatopolin dozu olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan bu çalışmada menengiç bitkisinin *in vitro* kitlesel üretiminin uygun çimlendirme, sterilizasyon yöntemleri ve uygun konsantrasyon ve kombinasyonlarda bitki büyüme düzenleyicilerin kullanımı ile mümkün olabileceği belirlenmiştir.

## Teşekkür

Bu çalışma Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (ZRT.A4.23.014 numaralı proje) desteklenmiştir. Destekleri için teşekkür ediyoruz. Çalışma Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji A.B.D.'nda devam eden "Menengiç (*Pistacia terebinthus* L.)'in *In Vitro* Rejenerasyonu Üzerine Araştırmalar" adlı Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

---

## Çıkar Çatışması

Makalenin hiç bir yazarı için bilinen ya da olası bir çıkar çatışması yoktur.

## Kaynaklar

Abdulrahman N T (2017). A histopathological, immunohistochemical and biochemical investigation on the antidiabetic effects of the pistacia terebinthus in diabetic rats. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van.

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

Akpulat S, Tıraş M, Şahinkaya M S, Akpulat H A (2021). *Pistacia terebinthus* (menengiç) gallerinin antimikrobiyal etkisi ve GC-MS analizi. Turkish Journal of Biodiversity 4(2): 98-104

Altunova H (2016). Menengiç (*Pistacia terebinthus* L.) meyve ekstresinin metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve vankomisine dirençli *Enterococcus* (VRE)a karşı antibakteriyel aktivitesi. Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi, Gaziantep

Atli H S, Kaska N (2002). Pistachio Rootstocks Breeding By Crossing *Pistacia vera* L. and *Pistacia khinjuk* Stocks. International Society for Horticultural Science 591:83-89

Çakır Ç A. ve Ergenekon M (2021). Farklı oranlarda menengiç ilavesinin dondurmanın fiziksel, kimyasal, duyuşal özellikleri ve antioksidan aktivitesi üzerine etkisi. ISPEC Journal of Agricultural Sciences 5(3):704-713

Çiftçi H, Özkaya A, Kariptaş E (2009). Determination of fatty acids, vitamins and trace elements in pistacia terebinthus coffee. Gıda, Tarım ve Çevre Dergisi 7(3):72-74

Çoban E P, Biyik H, Törün B, Yaman F (2017). Evaluation the antimicrobial effects of Pistacia Terebinthus L. and Papaver Rhoëas L. extracts against some pathogen microorganisms. Indian J Pharm Education Research 51(3):377-380

Gijóna M D C, Gimenez C, Perez-López 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

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

Guerrero J, Couceiro J F, Moriana A (2002a). 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, Moriana A, Couceiro J F (2004). La Operación De Injerto En Pistachero (*Pistacia vera* L.) Condicionantes En Castilla La Mancha. Fruticultura Profesional 140:41-53

---

Gülsoy S, Özkan G, Özkan K, Genç, M (2013). Menengiç (*Pistacia terebinthus* L. subsp. palaestina (Boiss.) Engler) meyvelerinin bazı fiziksel ve fizikokimyasal özellikleri üzerine ekolojik faktörlerin etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi 14:15-23

Hashım I F (2017). Bazı uygulamaların menengiç (*Pistacia terebinthus* L.) tohumların çimlenmesi ve çıkışı üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta

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

Özyurt M, Kopar H, Özyurt S, Demirhan İ, Kurutaş E B (2021). Menengiç, Işgın ve çiriş otu'nda antioksidan aktivitenin araştırılması. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi 24(4):733-737

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

Stamler R (2015). Plant Dis. In Press

Tubives (2023). Türkiye Bitkileri Veri Sitesi. Erişim tarihi: Kasım, 23, 2023 [http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax\\_id=2381](http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=2381)

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