



**T.C.
BATMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**FARKLI SÜRELERDE VE KOŞULLARDA BEKLETİLEN
BUTTUM (*Pistacia khinjuk* Stocks) TOHUMLARINDA
FİZYOLOJİK DORMANSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Muazzez AYDIN SEVİM

Kasım-2025

BATMAN

T.C.
BATMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI SÜRELERDE VE KOŞULLARDA BEKLETİLEN
BUTTUM (*Pistacia khinjuk* Stocks) TOHUMLARINDA
FİZYOLOJİK DORMANSİNİN ARAŞTIRILMASI

Muazzez AYDIN SEVİM

Danışman

Doç. Dr. Yusuf ERSALİ

Diğer Jüri Üyeleri

Doç.Dr. İbrahim Selçuk KURU

Dr. Öğr. Üyesi Hilal SURMUŞ ASAN

Kasım-2025

BATMAN

TEZ KABUL VE ONAYI

Muazzez Aydın Sevim tarafından hazırlanan “Farklı Sürelerde ve Koşullarda Bekletilen Buttum (*Pistacia khinjuk* Stocks) Tohumlarında Fizyolojik Dormansinin Araştırılması” adlı tez çalışması 28/11/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Batman Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Dr. Öğr. Üyesi Hilal SURMUŞ ASAN

.....

Üye

Doç. Dr. İbrahim Selçuk KURU

.....

Üye

Doç. Dr. Yusuf ERSALI

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Dr. Öğr. Üyesi Ömer Murat ÖTER
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışması tarafından Batman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından BTÜBAP-2024-YL-06 nolu proje ile desteklenmiştir.

ETİK BEYANI

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sorumluluğu kabullendiğimi bildiririm.

ETHICAL DECLARATION

I declare that all the information in this thesis has been obtained within the framework of ethical behavior and academic rules, and that the source of any statements and information that do not belong to me in this study prepared in accordance with the thesis writing rules has been fully cited, and I declare that I accept all kinds of legal responsibility in case of any contrary situation.

İmza

Muazzez AYDIN SEVİM

Tarih: 28/11/2025

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI SÜRELERDE VE KOŞULLARDA BEKLETİLEN BUTTUM (*Pistacia khinjuk* Stocks) TOHUMLARINDA FİZYOLOJİK DORMANSİNİN ARAŞTIRILMASI

Muazzez AYDIN SEVİM

Batman Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Yusuf ERSALİ

2025, 40 Sayfa

Olumsuz çevresel faktörlerin, canlı yaşamı için zorlayıcı boyutlara ulaştığı dönemlerde, hayatta kalmayı başarabilecek adaptasyonlar geliştirmek, tür neslinin devamı bakımından kritik önem taşımaktadır. Bitkilerde bu davranış canlılık fonksiyonlarının minimum düzeye indirildiği dormansi ile sağlanır. Tohumların bekletilme koşulları ve süresinin fizyolojik dormansi üzerinde etkisinin olduğu bilinmektedir. Yabani *Pistacia* türleri ülkemizde özellikle *Pistacia khinjuk* Stocks (buttum) fıstık anacı olarak kullanılmaktadır ve düşük çimlenme oranları günümüzde istenilen anaç sayısını elde etmede hala bir sorun olarak devam etmektedir. Bu çalışmada fizyolojik dormansinin değerlendirilmesi amacıyla yeni hasat edilen ve 1, 2, 3 ve 4 yıllık tohumlar 4 °C ve 25 °C de bekletilerek çimlendirilmiştir. Bu çimlenme verileri endospermde, nişasta miktarı ve beta amilaz aktivitesi embriyoda, absisik asit (ABA) giberellik asit (GA₃) miktarı ile desteklenerek fizyolojik dormansi anlaşılmasına çalışılmıştır. Çalışmamızda tohumlara herhangi bir dormansi kırıcı ön işlem uygulanmamıştır. Bu koşullarda en yüksek çimlenme oranı (%81) yeni hasat edilen tohumlarda görülmüştür. Nişasta miktarı en yüksek (56 mg/g) yeni hasat, en düşük (29.71 mg/g) değeri ile 25 °C 4 yıl bekletilen tohum endospermelerinde tespit edilmiştir. Beta amilaz aktivitesi en yüksek (26.86 EU/g) 4 yıl 25 °C, en düşük (10.95 EU/g) yeni hasat tohumu endospermelerinde görülmüştür. ABA/GA₃ oranı en yüksek (5.05 ng/g) yeni hasat, en düşük (0.89 ng/g) değeri ile 3 yıl bekletilen tohum embriyolarında bulunmuştur. Tohumların bekletilme sıcaklığının tohum çimlenmesinde fark edilir bir etkiye sahip olmadığı görülmektedir. Bekletilme süresince ABA/GA₃ oranında azalma olmasına rağmen çimlenme oranında fark edilir derecede çimlenme artışı olmamıştır. Bekletilme süresince ABA/GA₃ değerinin azalması ile beta amilaz aktivitesinde artma ve nişasta miktarında azalma görülürken çimlenme oranının artmadığı tespit edilmiştir. Bu bulgular, *P. khinjuk* tohumlarında fizyolojik dormansisinin belirlenmesi için alternatif parametrelerin araştırılması gerektiğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: *Pistacia Khinjuk*, Beta amilaz, ABA, Nişasta, Dormansi

ABSTRACT

MASTER THESIS

INVESTIGATION OF PHYSIOLOGICAL DORMANCY IN BUTTUM (*Pistacia khinjuk* Stocks) SEEDS STORED IN DIFFERENT PERIODS AND CONDITIONS

Muazzez AYDIN SEVİM

Batman University Graduate Education Institute

Biology Department of Science

Advisor: Doç. Dr. Yusuf ERSALI

2025, 40 Pages

During periods when adverse environmental factors reach challenging levels for life, developing adaptations that enable survival is a critical behavior for the survival of species. In plants, this behavior is achieved through dormancy, in which vital functions are reduced to a minimum. It is known that seed storage conditions and duration affect physiological dormancy. Wild *Pistacia* species, particularly *Pistacia khinjuk* Stocks (buttum), are used as pistachio rootstocks in our country, and low germination rates continue to be a problem in obtaining the desired number of rootstocks. In this study, newly harvested seeds, 1, 2, 3, and 4-year-old, were germinated at 4°C and 25°C to assess physiological dormancy. These germination data were supplemented with measurements of starch content and beta amylase activity in the endosperm, and abscisic acid (ABA), and gibberellic acid (GA₃) in the embryo to understand physiological dormancy. In our study, the highest germination rate (81%) was obtained in newly harvested seeds germinated without any dormancy-breaking pretreatment. The highest starch amount (56 mg/g) in new ly harvest and the lowest (29.71 mg/g) were detected stored at 25 °C for 4 years in the endosperms of seeds. The highest beta amylase activity (26.86 EU/g) was observed in the endosperms of seeds stored at 25 oC for 4 years, and the lowest (10.95 EU/g) was observed in the endosperms of seeds stored at 25 oC for 3 years. The highest ABA/GA₃ ratio (5.05 ng/g) was found in newly harvested seed in the embryos and the lowest (0.89 ng/g) was found in embryos that were stored for 3 years. It was observed that the storage temperature of the seeds did not have a noticeable effect on seed germination. Although there was a decrease in the ABA/GA₃ ratio during storage, there was no noticeable increase in the germination rate. It was determined that with the decrease in ABA/GA₃ value during storage, beta amylase activity increased and the starch amount decreased, but the germination rate did not increase. These findings suggest that alternative parameters should be investigated to determine physiological dormancy in *P. khinjuk* seeds.

Keywords: *Pistacia Khinjuk*, Beta amylase, ABA, Starch, Dormancy

ÖN SÖZ

Bu tezimi genç yaşta aramızdan ayrılan canım abim Fevzi Aydın'a adıyorum. Bu çalışmada fizyolojik dormansinin değerlendirilmesi amacıyla yeni hasat edilen ve 1, 2, 3 ve 4 yıllık tohumlar 4 °C ve 25 °C de bekletilerek çimlendirilmiştir. Bu çimlenme verileri endospermde, nişasta miktarı ve beta amilaz aktivitesi embriyoda, absisik asit (ABA) giberellik asit (GA₃) ile desteklenerek fizyolojik dormansi anlaşılmaya çalışılmıştır. Bu çalışma Batman Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Doç. Dr. Yusuf ERSALI hocam'ın danışmanlığında yürütülmüştür. Bu imkânı sağladıklarından ve her türlü yakın ilgilerinden ve engin bilgilerini benden esirgemediğinden dolayı kendilerine teşekkürü bir borç bilirim. Laboratuvar çalışmalarım esnasında çok değerli yardım, destek ve sıcaklıklarını gördüğüm sayın hocam Doç. Dr. İbrahim Selçuk KURU'ya da ayrıca teşekkür ederim. Her anımda yanımda olan, en iyi dostum ve ruh eşim Behzat SEVİM'e ve sevgili çocuklarım Adar SEVİM ve Rodan SEVİM'e sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Muazzez AYDIN SEVİM

BATMAN-2025

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖN SÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Buttum (<i>P. khinjuk</i>)’un Biyolojik ve Morfolojik Özellikleri.....	1
1.2. Buttum (<i>P. khinjuk</i>)’un Kullanım Alanları	5
1.3. Tohumda Dormansi ve Çimlenme Kavramları.....	6
1.4. Tohum Yaşının Fizyolojik Özelliklere ve Çimlenmeye Etkisi.....	7
1.5. Araştırmanın Amacı, Hedefi ve Önemi	8
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	9
3. YÖNTEM	13
3.1. Bitki Materyali	13
3.2. Tetrazolium Testi	13
3.3. Çimlendirme Teknikleri.....	14
3.4. Nişasta İçeriğinin Belirlenmesi.....	15
3.5. β -Amilaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	16
3.6. Hormon Ekstraksiyonu ve Analiz İşlemleri.....	19
3.6.1. <i>P. khinjuk</i> embriyo hormonlarının (GA_3 ve ABA) ekstraksiyon ve saflaştırma metodolojisi:	19
3.6.2. Ekstraksiyon aşaması	19
3.7. İstatistiksel Veri Sonuçlarının Analizi ve Değerlendirilmesi	21
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	23
4.1. Tetrazolium Testi	23
4.2. Çimlenme Verileri	24
4.3. <i>P. khinjuk</i> Endosperminde Nişasta Değerleri	26
4.4. <i>P. khinjuk</i> Endosperminde β -Amilaz Enzim Değerleri	27
4.5. <i>P. khinjuk</i> Embriyosunda Hormon Değerleri	28
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	33
5.1. Sonuçlar	33
5.2. Öneriler	33

KAYNAKLAR	35
------------------------	-----------



ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 4.1. Tohumların bekletilme yılı ve sıcaklığa göre çimlenme oranları.....	25
Çizelge 4.2. <i>P. khinjuk</i> endospermünde nişasta değerleri.....	26
Çizelge 4.3. <i>P. khinjuk</i> endospermünde beta amilaz aktivite değerleri.....	27
Çizelge 4.4. <i>P. khinjuk</i> embriyosunda ABA ve GA ₃ değerleri.....	28



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. <i>P. khinjuk</i> 'un meyveli tohumunun genel görünüşü.....	2
Şekil 1.2. <i>P. khinjuk</i> 'un meyvesiz tohumunun genel görünüşü.....	3
Şekil 1.3. <i>P. khinjuk</i> bitkisinin coğrafik dağılışı.....	4
Şekil 3.1. Tohum gömleği ayırma işlemi	14
Şekil 3.2. Nişasta örneklerinin inkübasyonu	15
Şekil 3.3. Nişasta peletlerinin DEMSO:HCl(4:1) karışımında süspanse edilmesi.....	16
Şekil 3.4. <i>P. khinjuk</i> tohum endosperminden alınan örnekler	17
Şekil 3.5. Enzim analiz örnekleri.....	18
Şekil 3.6. Endospermlerden embriyo ayırma işlemi.....	19
Şekil 3.7. Emriyoların gruplandırılarak homojenizatöre hazırlanması.....	20
Şekil 3.8. Örneklerin homojenize edilmesi	20
Şekil 4.1. Tetrazolium uygulaması sonucunda tohumlarda boyanma	23
Şekil 4.2. <i>P. khinjuk</i> tohumlarında çimlenme.....	24
Şekil 4.3. Tohumların bekletilme yıllarına göre sıcaklığa bağlı çimlenme oranları	25
Şekil 4.4. <i>P. khinjuk</i> endospermde nişasta değerleri	26
Şekil 4.5. <i>P. khinjuk</i> endospermde beta amilaz aktivite değerleri.....	27
Şekil 4.6. <i>P. khinjuk</i> embriyosunda ABA değerleri.....	28
Şekil 4.7. <i>P. khinjuk</i> embriyosunda GA ₃ değerleri.....	29
Şekil 4.8. <i>P. khinjuk</i> embriyosunda ABA /GA ₃ oranları	29

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
dk	Dakika
g	Gram
kg	Kilogram
m	Metre
mg	Miligram
µg	Mikrogram
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
mM	Milimolar
µmol	Mikromol
M	Molar
nm	Nanometre
ppm	Milyonda bir
rpm	Dakikadaki devir sayısı

ABA	Absisik asit
ANOVA	Tek yönlü varyans analizi
EU	Enzim ünitesi
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik Asit
GA ₃	Giberellik asit
HCl	Hidroklorik asit
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
ICC	Uluslararası Hububat Kimyası Komisyonu
ISTA	Uluslararası Tohum Testi Derneği
KH ₂ PO ₄	Potasyum dihidrojen fosfat
KI	Potasyum iyodür
NaN ₃	Sodyum azid
NaOCl	Sodyum hipoklorit
PH	Hidrojen iyonu derişimi
PTFE	Politetrafloroetilen
PVPP	Polivinilpolipirolidon
RCBD	Tesadüf Blokları Deneme Deseni
TÜVİBES	Tübitak Bitki Islah ve Tohumculuk Veri Sistemi
TZ	Tetrazolium

1. GİRİŞ

1.1. Buttum (*P. khinjuk*)'un Biyolojik ve Morfolojik Özellikleri

Pistacia L., Sapindales takımına ait, Anacardiaceae (sakız ağacıgiller) familyasında yer alan bir cinstir (Stevens, 2008). *P. khinjuk*'un sistematik sınıflandırmadaki yeri aşağıda verilmiştir (TÜBİVES, 2014):

Alem (Regnum): Plantae (Bitkiler)

Bölüm (Divisio): Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)

Sınıf (Classis): Magnoliopsida (Çift çenekliler)

Takım (Ordo): Sapindales

Familiya (Familia): Anacardiaceae (Sakız ağacıgiller)

Cins (Genus): *Pistacia*

Tür (Species): *Pistacia khinjuk* Stocks

P. khinjuk (Buttum), kurak iklim koşullarına adaptasyon göstermiş, kışın yaprak dökken, dioik (iki evcikli) karakterde ve genellikle 2–5 metre boylanabilen, nadiren 10 metreye ulaşabilen bir türdür. (Yaltırık, 1967b). İlkbaharda çiçek açar, meyveleri sonbaharda olgunlaşır. *Pistacia* cinsi üyeleri, belirgin şekilde gelişmiş ve dikey doğrultuda organize olmuş reçine kanallarına sahiptir (Al-Saghir, 2006).

Yapraklar imparipennat, 11-17.7 cm uzunluğunda 8–15.5 cm genişliğinde ve zarsızdır; yaprak sapı köşeli ya da yuvarlaktır. Yaprak eksenini kanatsız, yaprakçık sayısı 1–9 arasındadır. Yaprakçıklar, 4.5–8.5 cm uzunluğunda ve 1.5–4 cm genişliğinde olup, ortalama değerleri sırasıyla 2.3 cm ve 1 cm civarındadır. Yaprakçıklar karşılıklı olarak dizilmiş olup, şekil olarak ovattan geniş ovata kadar değişkenlik gösterir; tepesi akuminat ve tüysüzdür. Uçta yer alan yaprakçıklar 2.9–8.5 cm uzunluğunda, 1.2–4 cm genişliğinde olup, genellikle yan yaprakçıktan daha büyük boyutlara sahiptir.

Stamenli çiçekler, bileşik salkım formunda, zayıf dallanmış ve 9 cm'ye kadar ulaşabilen yapıda olup; büyük ve beyaz tüylü braktelere sahiptir. Çiçekler koyu kırmızı renktedir. Pistilli çiçekler ise tabandan dallanmış, bileşik salkım şeklinde ve 16 cm'ye kadar boylanabilen, toplu yerleşimli bir yapı sergiler; genellikle tüysüz olup, nadiren çok

az tüy taşırlar. Meyveler, koyu yeşil renkte ve hafif basık küremsi formda olan drupa (eriksi meyve) tipindedir. Boyutları 6.6–12.3 mm uzunluk ve 4.8–9.6 mm genişlik aralığında değişmektedir (Yaltırık, 1967b).

Pistacia L. cinsi, yaklaşık 70 cins ve 600' n üzerinde türü içeren, kozmopolit yayılışa sahip Anacardiaceae familyası içerisinde yer almaktadır. *Pistacia* cinsine ait farklı türlerin çeşitli bitkisel kısımları, geleneksel tıpta tonik, afrodisyak, diüretik, antiseptik ve antihipertansif özellikleri nedeniyle; gastrointestinal, hepatik, üriner ve solunum sistemi hastalıklarının yanı sıra diş ve diş eti rahatsızlıklarının tedavisinde yaygın biçimde kullanılmıştır. Ayrıca literatürde, bu türlere ait çeşitli ekstrelerin antioksidan, antimikrobiyal, antiviral, antikolinesteraz, anti-inflamatuar, antidiyabetik, antitümör etkileri ile gastrointestinal bozukluklara karşı faydalı etkilerini ve geniş farmakolojik aktivitelerini ortaya koyan çok sayıda bilimsel çalışma bulunmaktadır. *Pistacia* türlerinin farklı morfolojik kısımlarından terpenoidler, fenolik bileşikler, yağ asitleri ve steroller gibi çok sayıda fitokimyasal bileşen izole edilmiş ve yapısal olarak karakterize edilmiştir (Bozorgi et al., 2013)



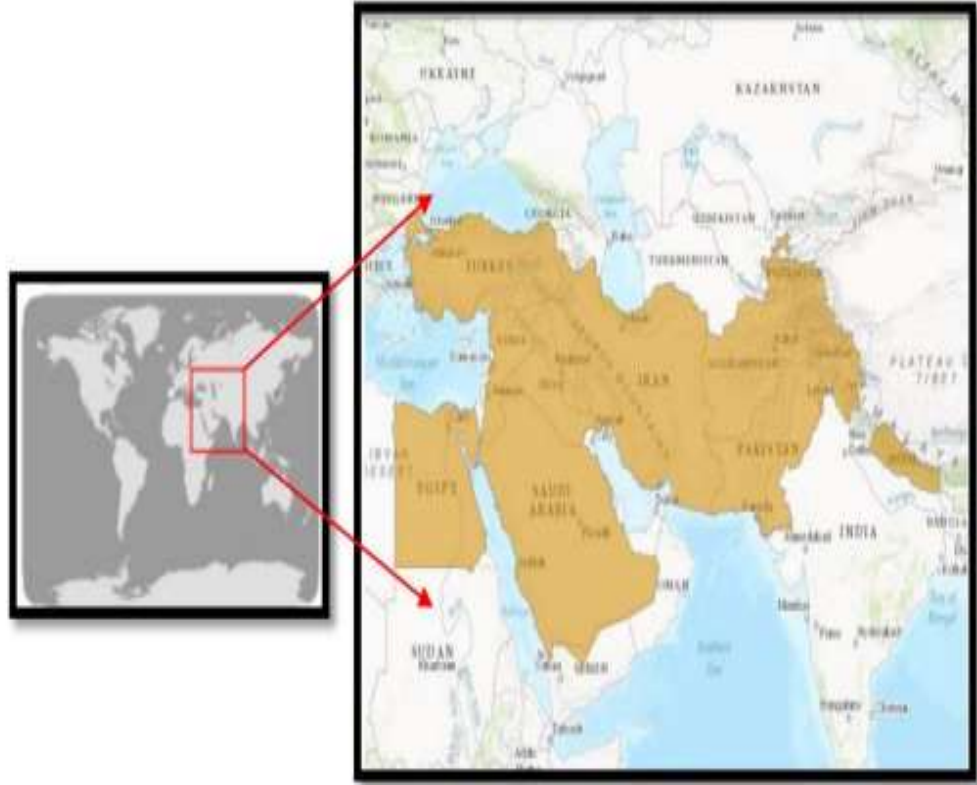
şekil 1.1. *P. khinjuk*'un meyveli tohumunun genel görünüşü



Şekil 1.2. *P. khinjak*'un meyvesiz tohumunun genel görünüşü

Çeşitli bölgelerden derlenen etnobotanik kayıtlara göre, söz konusu türün kullanım biçimleri coğrafyaya göre farklılık göstermektedir. Thesiger'in (1760) aktardığına göre, bitkinin tohumlarından yağ elde edilmekte ve bu yağ özellikle aydınlatma amacıyla kullanılmaktadır. Irak'tan bildirilen bir başka kayıta, meyvenin etli perikarpının acı olması nedeniyle tüketilmediği, ancak çekirdek içinin gıda olarak değerlendirildiği belirtilmektedir (Just 1643). Benzer şekilde, Pakistan'da yapılan gözlemlerde tohumların doğrudan yenilebilir nitelikte olduğu ifade edilmiştir (Ghafoor & Goodman 4586). Suudi Arabistan'dan Collenette'in (710) çalışması ise, ovaryumdan gelişen ve henüz tam anlamıyla çekirdek tarafından çevrelenmemiş tohum içeren yumuşak meyvelerin özellikle kırmızı renkli olanlarının tüketildiğini göstermektedir. Bu veriler, türün yenilebilir kısımları ile kullanım amaçlarının bölgesel farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır.

P. khinjuk , 400 ile 2400 metre arasında değişen rakımlarda; kayalık, kireçli, eğimli, kumlu ve verimli topraklarda yetişmektedir. Tür, Suudi Arabistan, Türkiye, Mısır'ın güneyi, Afganistan, Tacikistan, Pakistan ve Nepal'in doğu bölgelerinde doğal yayılış göstermektedir (Al-Saghir et al., 2006).



Şekil 1.3. *P. khinjuk* bitkisinin coğrafik dağılışı

P. khinjuk, Türkiye'nin farklı bölgelerinde 'Bıdım', 'Bıtım', 'Bıttım', 'Buddum', 'Butum' ve özellikle Mardin yöresinde 'Gizven' gibi farklı adlarla anılmaktadır. Tür, morfolojik ve genetik özellikleri bakımından *Pistacia vera*, *P. terebinthus* ve *P. atlantica* türleriyle yakın ilişki içerisinde (Tilkat et al., 2005).

1.2. Buttum (*P. khinjuk*)'un Kullanım Alanları

Antep fıstığı hem üretim hem de ihracat kapasitesi açısından Türkiye'nin önemli tarım ürünlerinden biridir. Bunun başlıca sebeplerinden biri, Anadolu'nun antepfıstığının gen merkezlerinden biri olması ve Türkiye'nin ekolojik koşullarına yüksek düzeyde uyum sağlamasıdır. Özellikle, diğer kültür bitkilerinin yetişemediği veya ekonomik açıdan yetiştiriciliğinin mümkün olmadığı kıraç, taşlık, kayalık ve meyilli arazilerde başarılı bir şekilde yetişebilmesi, türün ülkemizdeki önemini daha da artırmaktadır. Antepfıstığı üretiminin artırılması, bölgesel kalkınma ve ekonomik büyüme için önemli bir kaynak teşkil etmektedir. (Kuru & Özsabuncuoğlu, 1990). *Pistacia* cinsine ait tüm türler ile bu türler arasında oluşan melezlerin, *Pistacia vera* (antepfıstığı) yetiştiriciliğinde anaç olarak kullanılabileceği bildirilmektedir. *P. khinjuk*'un kültür çeşitleriyle yüksek düzeyde aşı uyumu göstermesi, aşı noktasında şişkinlik ya da gelişme farklılığı gibi olumsuzlukların gözlenmemesi, bu türü antepfıstığı yetiştiriciliği açısından tercih edilen bir anaç haline getirmektedir (Özbek, 1978; Tekin et al. 2001). Ayrıca, *P. khinjuk* anacı kuvvetli bir kök sistemine sahip olup, özellikle killi ve kireçli topraklarda iyi gelişim göstermekte ve kök ur nematodlarına karşı yüksek derecede dayanıklılık sergilemektedir (Gökçe & Akçay, 1993).

P. khinjuk'un farklı bitkisel kısımlarından elde edilen özütlerin, çeşitli farmakolojik etkilere sahip, değerli biyoaktif bileşenler içerdiği bilimsel çalışmalarla ortaya konmuştur (Taran et al., 2010). Çeşitli araştırma grupları, *Pistacia khinjuk* tohumlarının antibakteriyel, antioksidan ve antikolinesteraz özelliklerini incelemişlerdir (Hacıbekiroğlu et al., 2015; Tohidi et al., 2011; Shojaei et al., 2011). Ayrıca, bitkinin toprak üstü organları, yaprak ve gövde kısımlarındaki flavonoid içeriği (Kawashty et al., 2000), genel kimyasal bileşimi ve oksidasyon kararlılığı ile kabuk ve çekirdek yağının antioksidan kapasitesi de çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. (Tavakoli et al., 2013; Asnaashari et al., 2015; Hashemi et al., 2015).

1.3.Tohumda Dormansi ve Çimlenme Kavramları

Dormansi (uyku hali), tohumların çevresel koşullar uygun olmasına rağmen içsel (hormonal) ve dışsal (tohum kabuğu) faktörlerin etkisiyle çimlenememesi durumudur. (Baskin & Baskin, 2014)

Bitkilerin tomurcuk, yumru, rizom ve tohum gibi koruyucu dokular içinde yer alan yapılarında metabolik aktivitenin düşük seviyede seyrettiği, özel çevresel sinyaller veya işaretler alınana kadar büyüme ve benzeri fizyolojik faaliyetlerin durduğu döneme dormansi (uyku hali) denir. Durgun yaşam olarak da adlandırılan dormansi, özellikle tohumlarda, elverişsiz çevre koşullarına ve olumsuz mevsimsel değişimlere karşı dayanıklılık sağlayan bir adaptasyon mekanizmasıdır (Akman & Darıcı, 1998). Genel olarak tüm tohumlar, dormansi evresini tamamladıktan sonra çimlenme yetisi kazanırlar (Kadioğlu, 1999).

Tanım olarak çimlenme, hareketsiz ve kuru haldeki bir tohumun su alımıyla başlamakta ve embriyonik eksenin (genellikle kökçük) uzamasıyla sonlanan fizyolojik ve morfolojik olaylar dizisini kapsamaktadır (Bewley & Black, 1994). Su alımıyla birlikte, tohumun olgunlaşma sürecinde oluşturulan ve tohumda metabolik aktivitenin yeniden başlatılması için gerekli olan yapı ve enzimler de yeniden aktive olurlar (Bewley, 1997a). Çimlenmenin tamamlandığını gösteren en belirgin morfolojik işaret, embriyonun çevresindeki dokuların kökçük tarafından delinmesidir; bu aşama, genellikle 'görünür çimlenme' olarak adlandırılmaktadır. (Bewley et al. 2013; Bentsink & Koornneef 2008) Çimlenmenin tamamlanmasıyla birlikte fidenin büyümesini destekleyen büyük rezerv maddelerinin mobilizasyonu gibi süreçler devreye girmektedir. Ancak, çimlenmenin tamamlanmasından önce gözlenen pek çok hücrel ve metabolik olay, su almış fakat hâlâ dormansi durumunda bulunan tohumlarda da meydana gelmektedir. Hareketsiz tohumlarda gözlenen metabolik aktiviteler, aktif çimlenme sürecindeki tohumlara kıyasla yalnızca çok küçük farklılıklar göstermektedir. (Bewley et al. 2013) Bu durum, hareketsiz bir tohumun çimlenmeyi tamamlamak için gerekli olan metabolik adımların büyük bir kısmını yerine getirebilme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, embriyonik eksenin, özellikle de köküğün uzamasının engellenmesi, çimlenmenin gerçekleşmemesine neden olmaktadır ve bu durumun kesin mekanizması hâlen tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. (Dekkers et al. 2013; Nonogaki et al. 2010)

Birçok araştırmacı tohum dormansisini incelemiş olmasına rağmen, bu olgunun üzerinde fikir birliğine varılmış kesin bir tanımı bulunmamaktadır. Bu durumun nedeni,

dormansinin farklı bitki türlerinde farklı şekillerde ortaya çıkması ve çeşitli yollarla ortadan kalkması olabilir (Bewley & Black, 1994; Vleeshouwers at al. 1995; Lang, 1996). Ancak basitlik açısından, bu çalışmada tohum dormansisi; canlılığını koruyan ve sağlam bir tohumun, uygun çevresel koşullara rağmen çimlenmeyi tamamlayamaması durumu olarak tanımlanacaktır.

1.4.Tohum Yaşının Fizyolojik Özelliklere ve Çimlenmeye Etkisi

Tohum yaşının çimlenme başarısı üzerindeki etkisi, bitki türü, tohumun saklama koşulları, fizyolojik özellikleri ve dormansi durumu gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Genel olarak, tohumlar yaşlandıkça canlılıkları ve çimlenme oranları azalma eğilimi gösterir. Bu süreç, "tohum yaşlanması" veya "fizyolojik bozulma" olarak tanımlanmakta olup, metabolik aktivitede yavaşlama, enzimlerin inaktivasyonu, hücresel zararda artış ve DNA ile protein yapılarında meydana gelen bozulmalar gibi bir dizi biyokimyasal değişimle karakterizedir. Tohum yaşlanması, tohumun saklama süresi boyunca canlılık ve çimlenme kabiliyetinde meydana gelen kademeli azalmayı ifade eder. Bu süreç, tohumun metabolik aktivitesinde genel bir yavaşlamanın ortaya çıkması, enzimlerin kademeli olarak inaktive olması, hücresel yapılarda oksidatif stres kaynaklı hasarın birikmesi ve buna bağlı olarak genetik materyal ile protein yapılarında bozulmaların meydana gelmesi ile ilişkilendirilen bir durumdur. (McDonald, 1999; Walters et al., 2010).

Yaşlanan tohumlarda, hücre zarlarının geçirgenliğinde artış meydana gelmekte ve bu durum hücre bütünlüğünün bozulmasına yol açmaktadır. Ayrıca, lipid peroksidasyonu kaynaklı değişikliklerin hız ve şiddeti, tohumun saklama koşulları (örneğin sıcaklık ve nem) ile tür özelliklerine bağlı olarak farklılık göstermektedir (Ellis & Roberts, 1980).

1.5.Araştırmanın Amacı, Hedefi ve Önemi

Bu çalışmanın temel amacı, *P. khinjak* (Buttum) türüne ait tohumların yaşa bağlı olarak fizyolojik dormansi düzeyi ile çimlenme potansiyelini belirlemektir. Yeni hasat edilen ve 1, 2, 3 ve 4 yıllık Buttum tohumlarının çimlenme oranları karşılaştırılarak, tohum yaşının fizyolojik aktivite üzerindeki etkisi incelenmiştir.

Fizyolojik dormansinin süresini belirlemek amacıyla, 4 °C ve 25 °C’de bekletilen yeni hasat ve 1, 2, 3, 4 yıllık tohumlarda absisik asit (ABA), giberellik asit (GA₃), β-amilaz aktivitesi ve total nişasta değerleri ile birlikte çimlenme yüzdesi ve tetrazolyum (2, 3, 5-Triphenyl Tetrazolium Chloride) canlılık testleri gerçekleştirilmiştir. Uygun bekletme süresinin belirlenmesiyle fizyolojik dormansinin olgunlaşma süreci tespit edilerek, 4 yıllık tohumlar içerisinde türe özgü en yüksek çimlenme oranlarının elde edilmesi amaçlanmıştır.

Elde edilen veriler doğrultusunda, fidan üretimi için en uygun tohum yaş grubunun ve tohum saklama koşullarının belirlenmesi ve bu doğrultuda uygulanabilecek önerilerin geliştirilmesi amaçlanmaktadır. Bu çalışmanın önemi, farklı yaşlardaki Buttum tohumlarının dormansi durumunu bilimsel olarak ortaya koyarak, hangi yaş grubundaki tohumların daha yüksek çimlenme başarısı sağladığını belirlemeye dayanır. Ayrıca, yaşlanan tohumların tamamen kullanılamaz olup olmadığını ortaya koymak, fidanlık üretim sistemlerine önemli katkılar sunacaktır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Kalmbacher ve ark. (1999) tarafından yapılan çalışmada *Paspalum atratum* Swallen bitkisinde Hasat yılı, hasat sırasında ısı ve hava kurutma yöntemiyle tohum kurutma, depolama ortamı ve yaşlanmanın dormansi üzerlerine etkileri araştırılmıştır. Hasat sırasında fırında kurutma (24 saat boyunca 40 °C), 5 yılın ilk iki yılında çimlenmeyi artırdığı rapor edilmiştir. Ayrıca 3 °C'de depolanan tohumlar için çimlenme, hasattan 28 gün sonra ortalama %55 olmuş ve 4 yıla kadar çok az değiştiği bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada, yeni hasat tohumlarında fırında kurutulan tohum, hava ile kurutulan tohuma kıyasla uykuda kalma süresinin sona ermesini yaklaşık 1 ay geciktirdiği vurgulanmıştır. Buna ek olarak yeni hasat edilmiş tohumun 6 dakika boyunca H₂SO₄ ile yaşlandırılması işlenmesi (41°C'de 48 saat, %100 bağıl nem) çimlenmeyi sırasıyla %29'dan %68'e çıkardığı bildirilmiştir.

72 saat boyunca 43°C sıcaklıkta ve %90'dan fazla bağıl nemde tutularak yapay olarak yaşlandırılan buğday (*Triticum aestivum*) tohumunda yaşlandırılan tohumların dormansi süresinin kısaldığı bildirilmiştir (Zhang at al. 2021).

9 ay boyunca 15°C ve 30°C depolanan *Excoecaria bussei*'nin üç çeşit (Kisalu, Maktupa ve Ilola) tohumunda çimlenme üzerine yapılan bir çalışmada; Düşük sıcaklıkta (15°C) depolanan tohumlarda Kisalu için 20.6, Maktupa için 30.4 ve Ilola için 33.1 ortalama çimlenme yüzdesi ortaya koymuştur. 30°C'de depolanan tohumlar sırasıyla 5.5, 8.6 ve 11.6 çimlenme yüzdesi göstermiştir. Bu çalışmada sıcaklık ve depolama süresinin, çimlenme oranı üzerinde oldukça önemli bir fark yarattığı ortaya konmuştur (Genes & Nyomora, 2018).

12 ay boyunca depolanan üç buğday çeşidinin çimlenme ve canlılığındaki değişimlerin incelendiği bir araştırmada. Depolamanın ilk 3 ayı boyunca 40 °C, 25 °C sıcaklıklarda ve %45 bağıl nemde çeşitlerin tohumları çimlenme yeteneklerini ve canlılıklarını yalnızca yüksek depolama sıcaklığında (40 °C) kaybetmiştir. Bir yıllık depolamadan sonra çimlenme ve canlılık kaybı çeşitler arasında farklılık göstermiş, 40 °C'deki tohumlar %55-94 arasında 25 °C'de tutulan tohumlar %15-22 oranında çimlenme yeteneklerini kaybetmişlerdir. Elde edilen veriler, buğday tohumlarının depolanması sırasında, çimlenme ve canlılık değişimleri üzerinde depolama koşullarının önemli bir etkiye sahip olduğunu, ayrıca tohum canlılığının çeşide bağlı olduğu ortaya konmuştur (Strelec at al. 2010).

Çimlenme yüzdesi, fide canlılığı, lipid bileşimi ve karbonhidrat bileşimi ve ilgili enzimler, 180 günlük depolama süresince soya fasulyesi kotiledonlarında belirlenmiştir. Soya fasulyesi tohumlarının çimlenme yüzdesi ve canlılık indeksi 180 günlük depolama süresiyle azalmış ve 15°C'de polietilen veya jüt torbalarda depolanan tohumlar, oda sıcaklığında depolananlara kıyasla daha yüksek çimlenme potansiyeli ve canlılık oranı göstermiştir. Kotiledonlardaki nişasta içeriği tüm uygulamalarda 90 gün ve 180 günlük bekletilme aralığında düşerken, toplam çözünür şekerler, sakaroz ve indirgen şeker içeriği 90 günlük depolama süresi boyunca azalmıştır. Amilaz aktivitesi 90 güne kadar azalmış ve sonrasında depolama sıcaklığından bağımsız olarak kademeli artış göstermiştir. Veriler, 15°C'de saklanan tohumların canlılığını 90 güne kadar koruduğunu bildirilmiştir (Sharma at al. 2011).

İndica pirinci üzerinde yapılan bir çalışmada pirinç tohumları 0, 1 ve 2 yıl depolarda yaz aylarında 20-25 °C, diğer mevsimlerde ise 10-15 °C sıcaklıkta bekletilmiştir. Depolarda bekleme süresinin nişastaya etki etmediği vurgulanmıştır. Depolama süresi uzadıkça çimlenmenin ortalama %70.8'den %2.4'e düştüğü ve yağ asitlerinin artışı görülmüştür (Hu at al. 2022).

Eriochloa villosa (Thunb.) Kunth tohumlarının 6 yıllık depolama süresince alfa amilaz aktivitesi değişimi analiz edilmiştir. Hasat yılında (0 yıl) alfa amilaz aktivitesi en yüksek çıkmış ve ilk üç yıl boyunca azalmıştır. Üç yıllık depolamadan sonra sabitlenmiş ve dört, beş ve altı yıl sonra önemli ölçüde değişmemiştir. Altıncı yıldaki en düşük alfa amilaz aktivitesi, tohumların ilk toplandıkları dönemdekinden %29.70 daha düşük tespit edilmiştir (Han at al. 2023).

Lallemantia iberica tohumları, farklı sıcaklıklarda (15 °C, 25 °C, 35 °C ve 45 °C) ve sürelerde (0, 30, 60, 90 ve 120 gün) depolandığında, sıcaklık ve depolama süresinin artırılmasıyla tohum çimlenebilirliği %100'den %0'a düşerken, toplam çözünür şekerin, α -amilaz ve β -amilaz aktivitelerinin azaldığı tespit edilmiştir. 15 °C'de depolanan tohumlardaki toplam çözünür şeker, 45 °C'ye depolanan tohumlara göre kademeli olarak düşmüştür. Depolama sıcaklığı ve süresinin artmasıyla, toplam çözünür şeker α -amilaz ve β -amilaz aktivitelerinin önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Sonuçlar olarak depolama sıcaklık ve sürenin artması tohum kalitesinde bozulmaya neden olduğu bildirilmiştir (Paravar at al. 2023).

Ourominas ve Caravera pirinç çeşitleri 5, 12, 18°C ve doğal ortamda 3, 6, 9 ve 12 ay süreyle tutularak alfa amilaz aktiviteleri değerlendirilmiştir. Her iki çeşitte 4 farklı sıcaklık değerlerinde de alfa amilaz aktivitesinin önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir.

12 ayın sonunda depolama sıcaklığı fark etmeksizin her iki çeşitte de alfa amilaz aktivitesi değerlerinin neredeyse eşit seviyede olduğu görülmüştür. Depolama sürelerinde Caravera çeşidinde çimlenme oranı önemli ölçüde değişiklik göstermezken Ourominas çeşidinde ilk hasat zamanına göre ilk altı ay da önce artmış sonra yaklaşık olarak hasat dönemi seviyelerine yaklaşmıştır. Depolama süresince alfa amilaz aktivitesinde meydana gelen değişiklik çimlenme oranına yansımamıştır (Marquez at al. 2014).

Endemik bir meyve ağacı olan *Caryocar brasiliense* tohumlarının uyku hali ve uzun ömürlülüğü ile (Absisik asit) ABA dinamikleri arasındaki ilişkilerin değerlendirildiği bir çalışmada; Bir yıllık ve yeni hasat edilen tohumlar oda sıcaklığında saklanmıştır. Yeni hasat edilen tohumlarda yüksek ABA ve düşük çimlenme oranı görülürken bir yıllık tohumlarda ABA sentezi ve birikiminde azalmalar ve dormansinin kırıldığı görülmüştür. ABA sentezinin ve birikiminin kademeli olarak azalması tohum çimlenmelerinde artışa neden olmuştur. Özellikle depolama süresinin ikinci ve üçüncü aylarında ABA seviyesinin azalması yüksek çimlenme oranları ile karakterize olduğu bildirilmiştir (Pinto at al. 2025).

Aynı soydan gelen ve sekiz ay doğal koşullarda bekletilen 10 tatlı mısır hattı üzerinde yapılan bir çalışmada; 8 ay doğal koşullarda bekletilen tohumlarda GA, ABA, toplam protein, toplam nişasta seviyelerinde önemli ölçüde azalma olmuştur. Fakat farklı hatlarda farklı azalma miktarları izlenmiştir. Ayrıca, düşük canlılığa sahip tohumların endosperminde amilaz aktivitesinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (Yue at al. 2024). Yue ve ark. (2024) benzer başka bir çalışmada 4, 6 ve 8 ay oda sıcaklığında bekletilen 19 tatlı mısır hattı tohumlarında 8 ayda önemli derecede (nerdeyse %50 azalma) çimlenmede azalma görülmüştür. Fakat ABA ve GA seviyelerinde 8 aylık bekletme süresince önemli bir farklılığın görülmediği vurgulanmıştır.

Gibberellinler, tohum dormansisinin kalkmasında rol oynar, böylece çimlenmenin başlamasını kolaylaştırırlar. Çiçeklenme sürecini hızlandırır ve meyve gelişimini olumlu yönde etkilerler. Ayrıca, kök büyümesini ve kök hücrelerinin farklılaşmasını düzenleyerek bitkinin besin ve su alım kapasitesini artırır (Campbell ve Reece, 2008). Gibberellinlerin tohum çimlenmesini teşvik edici etkisi, çok sayıda araştırmacı tarafından kapsamlı şekilde rapor edilmiştir (Karssen at al. 1989; Karssen, 1995; Sharma at al. 2004).

Absisik asit (ABA), bitkilerde tohum dormansisini teşvik eden ve çimlenmeyi engelleyen önemli bir fitohormondur. Tohum olgunlaşma sürecinde ABA seviyeleri yükselerek tohumun dormansiye girmesini sağlar ve böylece çimlenmenin uygun olmayan çevre koşullarında başlamasını önler (Finkelstein et al., 2008). ABA, tohumların

su alımını sınırlayarak metabolik aktivitelerin yavaşlamasına ve embriyo gelişiminin durmasına neden olur (Kermode, 2005).

ABA, genellikle stres hormonudur. Su stresi altında stoma kapanmasını uyarır, tohum dormansisini sürdürür ve embriyo gelişimini düzenler. Çimlenmenin geciktirilmesinde ve çevresel streslere karşı savunma mekanizmalarının tetiklenmesinde önemli rol oynar (Cutler et al., 2010).

Dormansiyi koruyarak, tohumun olumsuz çevresel koşullara karşı dayanıklılığını artıran ABA, çevresel stres sinyallerine yanıt olarak da düzeyleri artabilir. Dormansinin kırılması için ABA konsantrasyonunun azalması ve büyümeyi teşvik eden hormonların (gibberellin gibi) artması gereklidir (Finkelstein, 2013). Bu denge, tohum çimlenmesini kontrol eden kompleks bir hormon ağı içinde kritik bir role sahiptir.

Tohumda absisik asit (ABA) seviyelerinin azalması, çimlenme sürecinin başlamasında kritik bir rol oynar. Yüksek ABA konsantrasyonları tohum dormansisini koruyarak çimlenmeyi engellerken, ABA seviyelerinin düşmesiyle birlikte büyümeyi teşvik eden hormonların (örneğin gibberellinlerin) etkisi artar ve tohum metabolizması aktive olarak çimlenme başlar (Weitbrecht vd., 2011). Bu hormonal dengenin değişimi, tohumun çevresel koşullara uygun yanıt vermesini sağlayarak, çimlenmenin zamanlamasını kontrol eder.

Mevsimsel değişiklikler, özellikle ilkbaharın gelmesiyle birlikte toprak sıcaklığının artması, bitkilerde absisik asit (ABA) seviyelerinde azalmaya yol açar. Bu durum, ABA katabolizmasını sağlayan genlerin ve gibberellin (GA) sentez genlerinin ekspresyonundaki artışla paralel olarak gerçekleşir. Sonuç olarak, dormansi seviyesi düşer ve tohum çimlenmesi için uygun koşullar oluşur (Finch-Savage ve Footitt, 2017). Bu mekanizma, bitkilerin çevresel sinyallere adaptasyonunu sağlayarak yaşam döngüsünün devamlılığını destekler.

Dormansi halindeki bir tohum, fizyolojik olarak ölü değildir; ancak yaşamını minimum düzeyde sürdüren, bazal metabolik faaliyetlerin görüldüğü canlı bir formdadır. Bu form tohumun enerji tasarrufu yapmasına yardımcı olur. Endospermli tohumlarda tohumun enerji kaynağı, nişastadan α -amilaz ile çözünür oligosakkaritlerle üretilir ve bunlar daha sonra β -amilaz tarafından hidrolize edilerek maltozu açığa çıkarır (Nomura et al. 1969) Son olarak, α -glukozidaz maltozu glukoza parçalar. Tohumun yaşam döngüsünde, metabolik aktivitenin en aza indirildiği ve dolayısıyla organizmanın enerji tasarrufu yapmasına yardımcı olduğu bu dormant dönemde beta amilazın aktif rol aldığı bilinmektedir (Farashah, et al. 2011)

3. YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Bu araştırmada bitki materyali olarak kullanılan *P. khinjak* tohumları, Ekim-Kasım aylarında, 2019, 2020, 2021, 2022 ve 2023 yıllarında toplanmıştır. Türkiye'nin güneydoğusunda yer alan Hakkâri ili, Çimenli köyünde (37°29'06"N enlemi, 43°37'57"E boylamı, 1144 m rakım) bulunan doğal popülasyondaki ağaçlardan rastgele hasat edilmiştir. Tohumlar, arazi ortamında herhangi bir ön işleme tabi tutulmadan, hava almayan plastik kaplarda laboratuvara taşınmış ve deneylerde kullanılmak üzere saklanmıştır. Hasat edilen tohumlar, depolama sıcaklığının çimlenme performansı üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla düşük sıcaklık koşullarını temsilen 4 °C'de ve oda sıcaklığına yakın değerlerde olan 25 °de olmak üzere iki farklı sıcaklık koşullarında muhafaza edilmiştir.

3.2. Tetrazolium Testi

Embriyoyu çevreleyen ince dış zarın (tohum gömleği) kolayca ayrılabilmesi için tohumlar 24 saat süreyle saf suda bekletilmiştir. Bu işlem hem hidrasyon sağlamış hem de TZ çözeltisinin embriyo dokularına etkin şekilde penetre olmasına olanak tanımıştır (Verma & Majee, 2013)

TZ çözeltisi, 100 ml otoklavlanmış damıtılmış su içerisinde 1 g 2,3,5-trifenil tetrazolyum klorür çözündürülerek hazırlanmış ve pH değeri 6.0'ya ayarlanmıştır. Ardından, yüzey sterilizasyonu için tohumlar %20'lik ticari sodyum hipoklorit çözeltisinde 10 dakika tutulmuş ve dezenfektan artıklarının uzaklaştırılması için üç kez steril damıtılmış su ile yıkanmıştır. Sterilizasyon sonrası yüzeyleri kurutulan tohumlar, %1'lik TZ çözeltisi içerisinde, 30 °C'de ve karanlık koşullarda 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Canlılık değerlendirmeleri, renkleşme Amerikan Tohum Test Derneği (AOSA, 2005) kriterlerine uygun şekilde yapılmıştır. Canlı tohumlar, embriyonun soluk pembe-kırmızı renk alması temelinde belirlenmiştir.



Şekil 3.1. Tohum gömleği ayırma işlemi

3.3. Çimlendirme Teknikleri

Her bir grup için 50 adet tohum kullanılmış ve 3 tekrarlı olarak yapılmıştır

Bu tohumlar, her biri 10×10×10 cm boyutlarında olan 10 adet alüminyum kaba (her gruba ait) yerleştirilmiştir.

Kapların tabanına, önceden saf suyla nemlendirilmiş pamuk serilmiştir. Tohumlar, bu nemli pamuk tabakası üzerine homojen biçimde yerleştirilmiştir. Kapların üzeri nemli pamukla örtülmüş ve bu sayede sabit nemli mikro ortam sağlanmıştır. Kaplar, 25 ± 1 °C sıcaklıkta, tamamen karanlık bir dolap içerisinde çimlenmeye bırakılmıştır.

Denemeler 45 gün boyunca izlenmiş, her gün tohumlardan çıkan radikula sayısı kayıt altına alınmıştır. Çimlenme ölçütü olarak yalnızca radikula (kökçük) çıkışı dikkate alınmıştır.

Pamukların nemi düzenli olarak kontrol edilmiş, gerek görüldüğünde steril saf suyla yeniden nemlendirme yapılmıştır.

3.4. Nişasta İçeriğinin Belirlenmesi

P. khinjak tohum örneklerindeki nişasta miktarının belirlenmesi amacıyla kolorimetrik yöntem uygulanmıştır. İlk olarak, *P. khinjak* tohum endosperminden 0.3 g numune alınarak, 5 mL 0.1 M fosfat tamponu (pH 7.5) içeren bir havanda, 4 °C’de homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenatlar 12.000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilmiş ve oluşan peletler nişasta analizi için kullanılmıştır. Peletler, DMSO (dimetil sülfoksit) ve 8 M hidroklorik asit karışımı (4:1 v/v) içerisinde yeniden süspanse edilmiştir. Nişasta çözünmesi için bu süspansiyon, 60 °C’de 30 dakika boyunca 60 rpm’de çalkalanmıştır. Çözünme sonrası, örnekler 12.000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilmiş ve elde edilen üst fazdan 100 µL alınarak, 100 µL iyot-HCl çözeltisi (%0.06 KI ve %0.003 I, 0.05 M HCl içinde hazırlanmış) ve 1 mL damıtılmış su ile karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilen karışımların absorbansı 600 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri, standart nişasta eğrisinden elde edilen formülle hesaplanarak sonuçlar mg/g olarak ifade edilmiştir (Barka at al. 2006).

Analizler üç tekerrürlü olarak yürütülmüş ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata şeklinde değerlendirilmiştir.



Şekil 3.2. Nişasta örneklerinin inkübasyonu



Şekil 3.3. Nişasta peletlerinin DEMSO:HCl(4:1) karışımında süspansiyon edilmesi

3.5. β -Amilaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

β -amilaz aktivitesi, Betamyl-3® enzim analiz kiti (Megazyme International Ireland Ltd., Bray, İrlanda) kullanılarak Uluslararası Hububat Kimyası Komisyonu (ICC) standart yöntemlerine uygun şekilde belirlenmiştir (ICC, 1998). Analiz için öğütülmüş *P. khinjak* tohum endosperminden 0.5 g örnek alınmış ve 5 mL ekstraksiyon tamponu (1 M Tris/HCl, pH 8.0; içeriğinde 20 mM sodyum EDTA, %0.02 (w/v) sodyum azid (NaN_3) ve 100 mM sistein HCl bulunan) ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışım, 1 saat süreyle oda sıcaklığında ekstrakte edilmiştir.



Şekil 3.4. *P. khinjak* tohum endosperminden alınan örnekler

Ekstraksiyon işleminin ardından örnekler santrifüj edilmiş ve elde edilen üst faz (süpernatant) enzim çözeltisi olarak kullanılmıştır. Analiz aşamasında, süpernatanttan 0.2 mL alınarak, önceden 40 °C’de inkübe edilmiş 0.2 mL substrat çözeltisi [p-nitrofenil- β -D-maltotriozid (PNP β -G3)] ile karıştırılmıştır. Karışım, 40 °C’de 10 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Reaksiyon, 3 ml %1 Tris tamponu (pH 8.5) eklenerek durdurulmuş ve absorbans değerleri 400 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Bir birim enzim aktivitesi, 40 °C’de dakikada 1 μ mol p-nitrofenol serbestleştiren enzim miktarı olarak tanımlanmıştır.



Şekil 3.5. Enzim analiz örnekleri

3.6. Hormon Ekstraksiyonu ve Analiz İşlemleri

3.6.1. *P. khinjak* embriyo hormonlarının (GA₃ ve ABA) ekstraksiyon ve saflaştırma metodolojisi:

Bu metodoloji, bitki materyalinden Gibberellinler (GA) ve Absciscic Acid (ABA) gibi endojen fitohormonların Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile nicel analizine hazırlık amacıyla uygulanmıştır. Prosedür, Kuraishi ve ark. (1991) ile Battal ve Tileklioğlu (2001) tarafından tanımlanan yöntemle temel olarak, hedef bileşikleri izole etmeyi hedeflemektedir.

3.6.2. Ekstraksiyon aşaması

Analiz edilecek tohum endosperm örneklerinden embriyolar çıkarılmış ve öncelikle toz haline getirilerek ekstraksiyon sürecine tabi tutulmuştur.



Şekil 3.6. Endospermlerden embriyo ayırma işlemi



Şekil 3.7. Embriyoların gruplandırılarak homojenizatöre hazırlanması

Her gruptan eşit miktarda alınan embriyo örnekleri üzerine +4 C'de saklanan %80'lik metanol çözücüsü ilave edilmiştir. Numuneler 10 dakika süreyle ultra doku parçalayıcı (homojenizatör) kullanılarak homojenize edilmiştir.



Şekil 3.8. Örneklerin homojenize edilmesi

Elde edilen homojenat, bileşiklerin çözücüye tam difüzyonunu sağlamak amacıyla +4 °C'de ve karanlık koşullarda 24 saat bekletilmiştir. Daha sonra süspansiyon, önce Whatman No:1 filtre kağıdından daha sonra 0.45 µm'lik politetrafloroetilen (PTFE) filtrelerden (Milipore) geçirilmiş ve süpernatant elde edilmiştir. Süpernatantın çözücü kısmı evaporatör (döner buharlaştırıcı) kullanılarak 35°C'de buharlaştırıldı. Geriye kalan ekstraktlar, 0.1 M'lık KH₂PO₄ (pH:8) tampon çözeltisi içinde tekrar çözülmüştür. Çözünen ekstraktlarda var olan yağ asitleri gibi apolar bileşikleri ayırmak için örnekler +4 °C 5000 rpm'de 1 saat santrifüj edilmiştir (Palni at al. 1983). Fenolik bileşikleri ve renk pigmentlerini gidermek için süpernatant, 1g çözünmeyen Polivinilpolipirrolidon (PVPP) ile muamele edilmiştir (Mooney & Staden 1984; Hernandez-Miana, 1991). PVPP (önceden 0.1 M asetik asit ile süspanse edilerek hazırlanmıştır) filtreleme yoluyla uzaklaştırılmıştır.

Analitik hassasiyeti artırmak amacıyla, hedef hormonlar son bir ayırıştırma aşamasına tabi tutulmuştur. Sep-Pak C18 kartuşları (Waters) 2.5 mL %80'lik metanol ve ardından 2.5 mL saf su ile yıkanarak şartlandırılmıştır (Machackova at al. 1993). Önceden saflaştırılmış süpernatant, 5 ml'lik enjektör kullanılarak şartlandırılmış Sep-Pak C18 kartuşlarından düşük akış hızında (1 ml/dk) geçirilmiştir. Kartuş, apolar matriksteki kirleticileri ayırırken hormonları (daha az polar olanları) adsorbe etmiştir. Adsorbe edilen hormonlar, 1 g taze numune eşdeğeri için 2.5 mL %80'lik metanol kullanılarak kartuşlardan elüe edilmiş ve viallere alınmıştır (Qamaruddin at al. 1990). Bu elüat, doğrudan HPLC analizi için nihai numune çözeltisi olarak kullanılmıştır.

3.7.İstatiksel Veri Sonuçlarının Analizi ve Değerlendirilmesi

Tüm deneysel çalışmalar, tesadüf blokları deneme desenine göre yürütülmüştür. Elde edilen verilerdeki değişkenliğin hızlı ve etkili bir şekilde değerlendirilebilmesi amacıyla, tüm sonuçlar IBM SPSS 25.0 statik paket programı kullanılarak tanımlayıcı grafik ve analizlere tabi tutulmuştur.

İşlemler arasındaki farkların istatistiksel olarak belirlenebilmesi için veriler üzerinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. ANOVA sonucunda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunan durumlarda, hangi grupların birbirinden farklı olduğunu belirlemek amacıyla Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmış ve farklılıklar $P < 0.05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

Oransal veriler için ise Ki-kare (χ^2) testi kullanılmıştır.

Analizlerde kullanılan istatistiksel anlamlılık düzeyleri aşağıdaki gibidir:

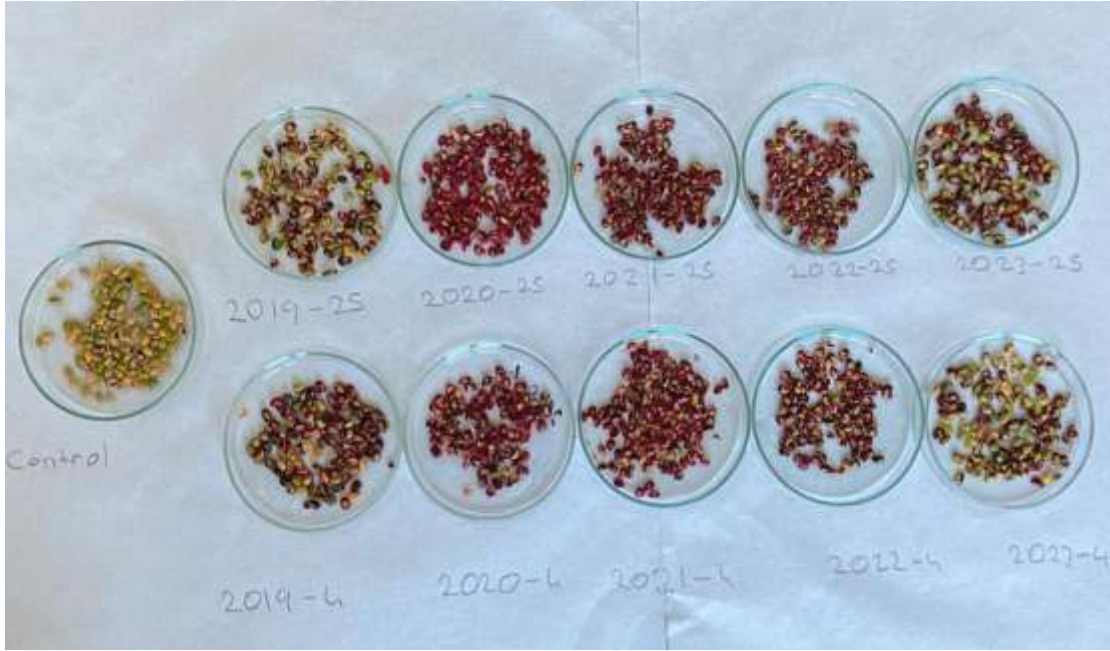
- **P > 0.05** = Önemsiz
- **P < 0.05** = Önemli
- **P < 0.01** = Çok önemli
- **P < 0.001** = Son derece önemli



4.BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Tetrazolium Testi

Tohumların bir kısmı, kontrol grubu oluşturmak amacıyla 100 °C’de bir saat süreyle etüvde inkübe edilmiştir. Kontrol grubunda herhangi bir boyanma gözlemlenmemiş olup, bu gruptaki tüm tohumlar ölü olarak değerlendirilmiştir. Diğer gruplarda ise embriyo dokularında belirgin kırmızımsı-pembe renk oluşumu gözlenmiş ve tohumların büyük oranda canlı olduğu tespit edilmiştir. TZ boyanma testine göre, 25 °C’de üç yıl süreyle depolanan tohumlarda yüksek düzeyde canlılık tespit edilmiştir. Buna karşılık, en düşük canlılık oranının yeni hasat edilen ve 4 °C’de muhafaza edilen tohumlarda olduğu belirlenmiştir. (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Tetrazolium uygulaması sonucunda tohumlarda boyanma

TZ testinin amacı tohum canlılığını hızlı bir şekilde belirlemek ve daha sonra, tohum canlılığını tahmin etmeye çalışmaktır (França-Neto & Krzyzanowski 2022). Test, tohum dokularını oluşturan hücrelerin mitokondrilerinde meydana gelen solunum

süreçlerinin hidrojen iyonlarının sayısını artırmaya dayanmaktadır. Hidrojen iyonları TZ solüsyonunu formazan olarak adlandırılan kırmızı renkli bir kimyasal maddeye dönüştürür. Formazan canlı hücreleri kırmızı renge boyar, ölü hücreler solunum yapamayacağı için renksiz kalır (ISTA, 2011).

Çalışmamızda TZ testi boyama sonuçlarına göre 3 yıl 25°C bekletilen tohumlarda yüksek oranda boyanma olduğundan canlılık görülmektedir. Fakat çalışmamızın çimlenme sonuçları yeni hasat ürünlerinde belirgin şekilde çimlenmenin yüksek olduğu göstermiştir. Tohumların bekletilmesi süresince ve çimlenme esnasında mikroorganizma faaliyeti sonucu meydana gelen kontaminasyonlardan dolayı bu sonuçların elde edildiği tahmin edilmektedir. Nitekim França-Neto ve Krzyzanowski (2022) ve Ersali (2017) depolama ve çimlenme esnasında TZ testi ve doğal çimlendirme koşullarındaki çimlenme oranlarının testle uyumsuz sonuçlar verebileceğine değinmişlerdir.

4.2. Çimlenme Verileri

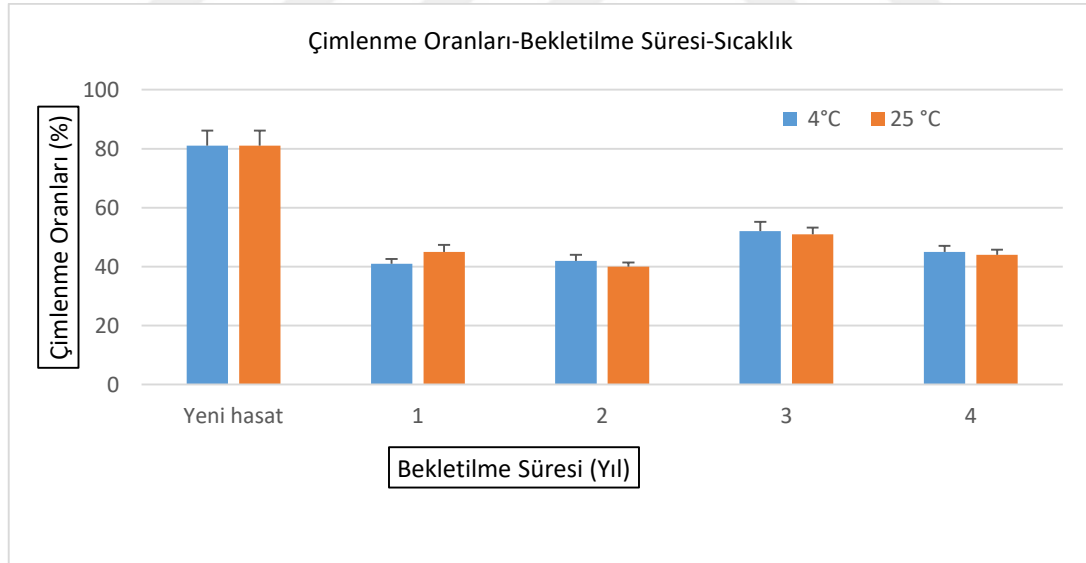


Şekil 4.2. *P. khinjak* tohumlarında çimlenme

Çizelge 4.1. Tohumların bekletilme yılı ve sıcaklığa göre çimlenme oranları*

Bekletilme Süresi (Yıl)	Çimlenme (%) [*]
0 (Yeni hasat)	81± 5.1 ^a
4°C	
1	41± 1.55 ^b
2	42± 2.00 ^b
3	52± 3.18 ^b
4	45± 2.05 ^b
25°C	
1	45± 2.40 ^b
2	40± 1.43 ^c
3	51± 2.26 ^b
4	44± 1.70 ^b

*Değerler üç paralel ölçümün ortalama ± standart sapması olarak verilmiştir. Veriler iki yönlü ANOVA testi analizine tabi tutulmuştur.



Şekil 4.3. Tohumların bekletilme yıllarına göre sıcaklığa bağlı çimlenme oranları

Yeni hasat (0 yıllık) tohumların, en yüksek çimlenme oranına (%81) sahip olduğu tespit edilmiştir. Yeni hasat tohumların dışında kalan (4, 3, 2 ve 1 yıllık) tohumlarda bekletilme sıcaklığının önemli derecede fark göstermediği tespit edilmiştir. 3 yıllık tohumlarda çimlenme 1 ve 2 yıllık tohumlardan daha yüksek değerlerde çıkmıştır. 1 ve 2

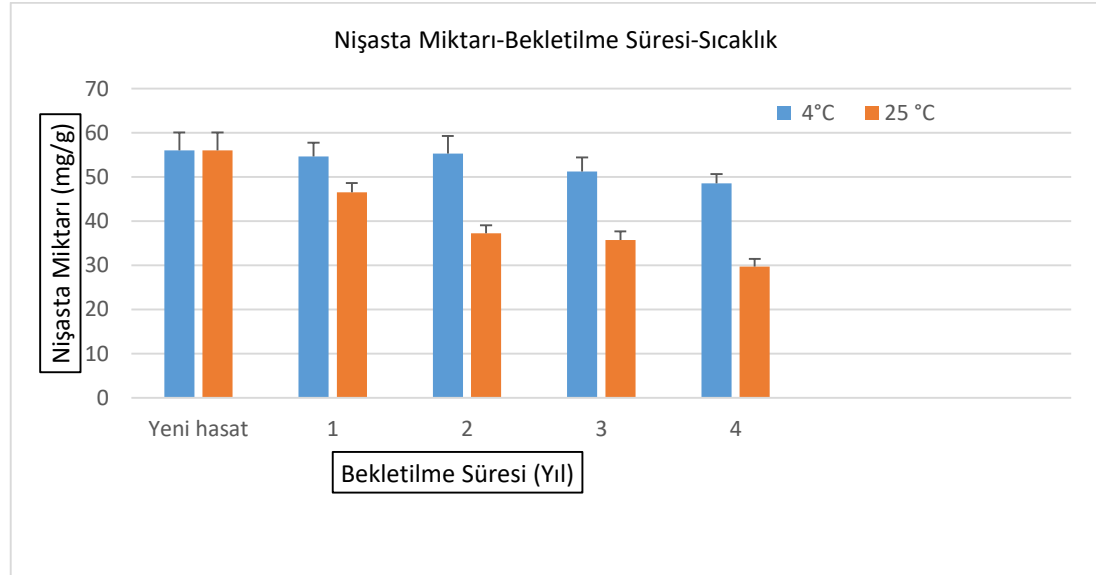
yıllık tohumlarının çimlenme oranları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. (Çizelge 4.1). Çalışmamızdaki çimlenme verilerine göre; *P. khinjuk* tohumlarında bekletilme sıcaklığı (4 °C ve 25 °C) ve yılının (1, 2, 3 ve 4 yıl) çimlenme oranına dikkat çekici bir şekilde etki etmediği ve zamanla çimlenme oranında azalma veya artmanın olmadığı görülmüştür.

4.3. *P. khinjuk* Endosperminde Nişasta Değerleri

Çizelge 4.2. *P. khinjuk* endosperminde nişasta değerleri*

Bekletilme Süresi (Yıl)	Nişasta miktarı (mg/g)*
0 (Yeni hasat)	56± 4.10a
4 °C	
1	54.63±3.12a
2	55.25±4.05a
3	51.20±3.25b
4	48.52±2.15b
25 °C	
1	46.52±2.10b
2	37.45±1.82c
3	35.75±1.92c
4	29.71±1.70c

*Değerler üç paralel ölçümün ortalama ± standart sapması olarak verilmiştir. Bu veriler iki yönlü ANOVA testi ile analiz edilmiştir.



Şekil 4.4. *P. khinjuk* endosperminde nişasta değerleri

En yüksek nişasta miktarı yeni hasat tohumlarında 56 mg/g olarak tespit edilmiş ve en az nişasta miktarı 25°C de bekletilen 4 yıllık tohumlarda 29 mg/g olarak

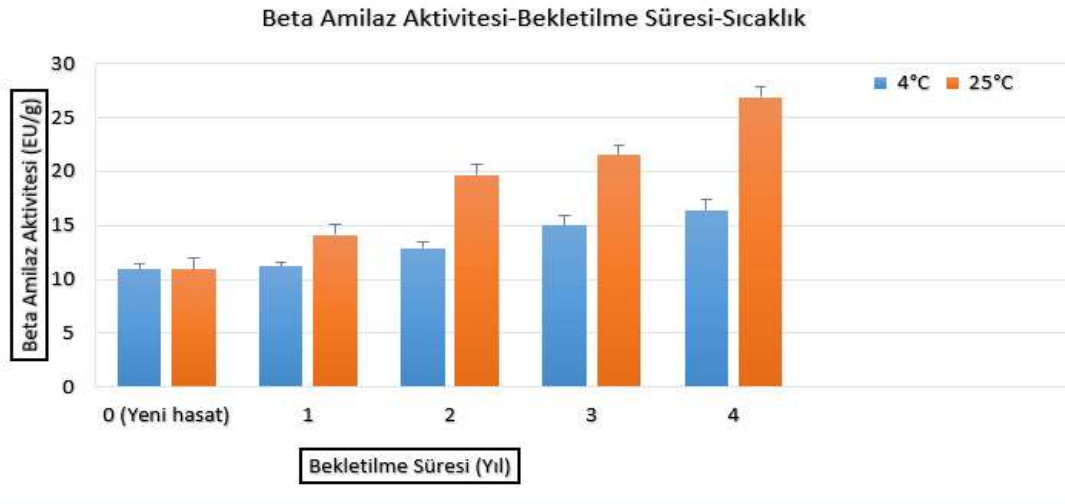
bulunmuştur. Nişasta değerlerinin 4°C daha yüksek ve yeni hasat ürünlerine yakın değerler olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2). Bekletilme süresi arttıkça nişasta içeriğindeki azalma yıllara göre önemli farklılıklar göstermektedir (Şekil 4.4.). Endospermde nişasta miktarı 25°C de daha hızlı düştüğünden 4°C de bekletmenin daha avantajlı olduğu görülmektedir. Nişasta değerlerine bakıldığında yeterince bekletildiğinde nişastanın tamamının çözülebilir şekerlere dönüşeceği düşünülmektedir.

4.4. *P. khinjuk* Endospermde β -Amilaz Enzim Değerleri

Çizelge 4.3. *P. khinjuk* endospermde beta amilaz aktivite değerleri*

Bekletilme Süresi (Yıl)	Beta amilaz aktivitesi (EU/g)*
0 (Yeni hasat)	10.95± 0.5c
4 °C	
1	11.21± 0.30c
2	12.90± 0.53c
3	15.01± 0.85b
4	16.45± 0.92b
25 °C	
1	14.12± 0.75b
2	19.72± 1.12a
3	21.49± 1.54a
4	26.86± 1.50a

*Değerler üç paralel ölçümün ortalama ± standart sapması olarak verilmiştir. Bu veriler iki yönlü ANOVA testi ile analiz edilmiştir.



Şekil 4.5. *P. khinjuk* endospermde beta amilaz aktivite değerleri

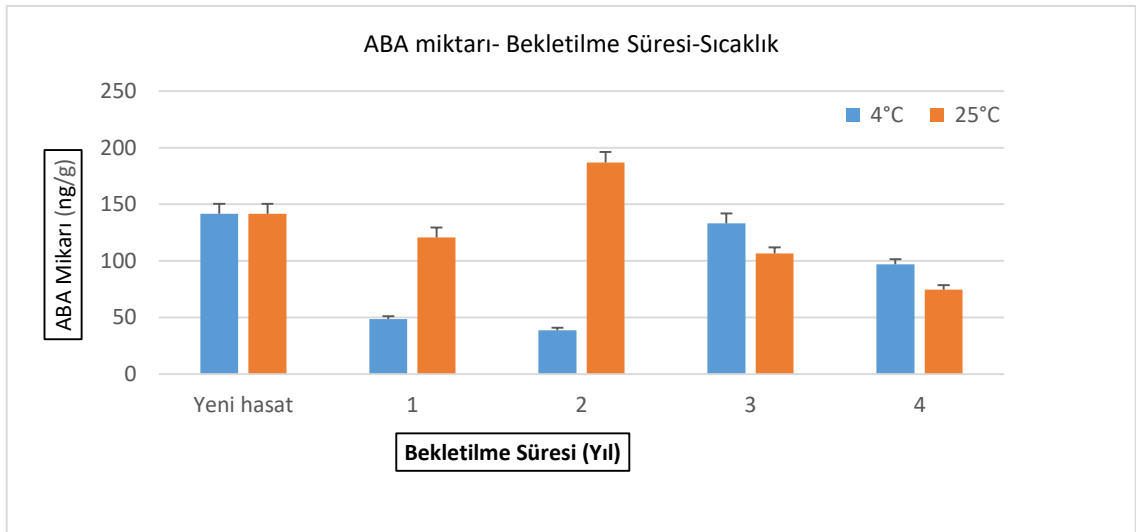
En yüksek enzim aktivitesi 25 °C de bekletilen 4 yıllık tohumlarda 26.86 EU/g, en düşük enzim aktivitesi yeni hasat tohumlarında 10.95 EU/g değerinde olduğu tespit edilmiştir. Beta amilaz enzim aktivitesinin tüm bekletilme sürelerinde yüksek sıcaklıkta (25 °C) daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3.). Bekletilme süresi arttıkça beta amilaz aktivitesinin arttığı görülmektedir (Şekil 4.5.). *P. khinjuk* tohumlarını sıcakta bekletmenin beta amilaz enzim aktivitesinde artışa neden olduğu belirgin bir şekilde görülmüştür. *P. khinjuk* tohumları soğukta (4 °C’de) bekletildiğinde bekletilme süresinin bir yıl ara ile belirleyici bir fark yaratmadığı ancak bekletilme yılı arttıkça tedrici olarak aktivitenin arttığı tespit edilmiştir.

4.5. *P. khinjuk* Embriyosunda Hormon Değerleri

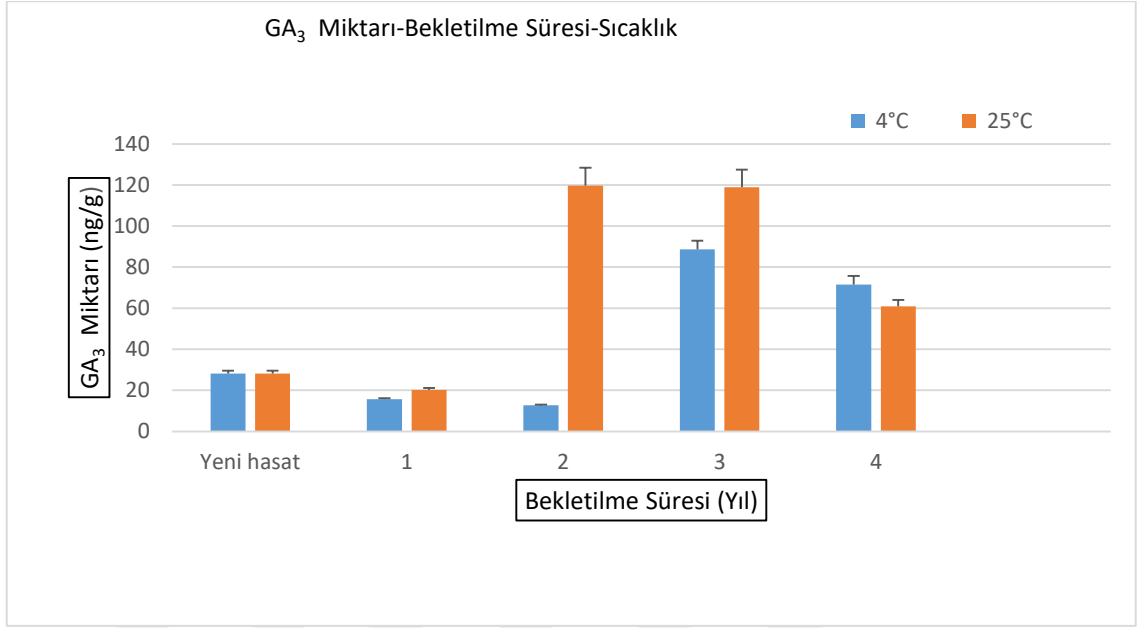
Çizelge 4.4. *P. khinjuk* embriyosunda ABA ve GA₃ değerleri*

Bekletilme Süresi (Yıl)	ABA(ng/g)	GA ₃ (ng/g)	ABA/ GA ₃
0 (Yeni hasat)	141.55±8.9 ^b	28.20±1.3 ^d	5.05 ^a
4 °C			
1	48.44 ±2.60 ^e	15.67 ± 0.5 ^d	3.09 ^b
2	38.79 ±2.25 ^e	12.78± 0.2 ^d	3.03 ^b
3	133.03±8.80 ^b	88.68 ± 4.1 ^b	1.50 ^c
4	97.03±4.55 ^c	71.44 ± 3.1 ^b	1.35 ^c
25 °C			
1	120.67±8.84 ^c	20.24±0.86 ^d	2.99 ^b
2	186.9 ± 9.20 ^a	119.63±8.75 ^a	1.56 ^c
3	106.45±5.60 ^c	118.92±8.50 ^a	0.89 ^d
4	74.69±3.75 ^d	60.94± 3 ^c	1.22 ^c

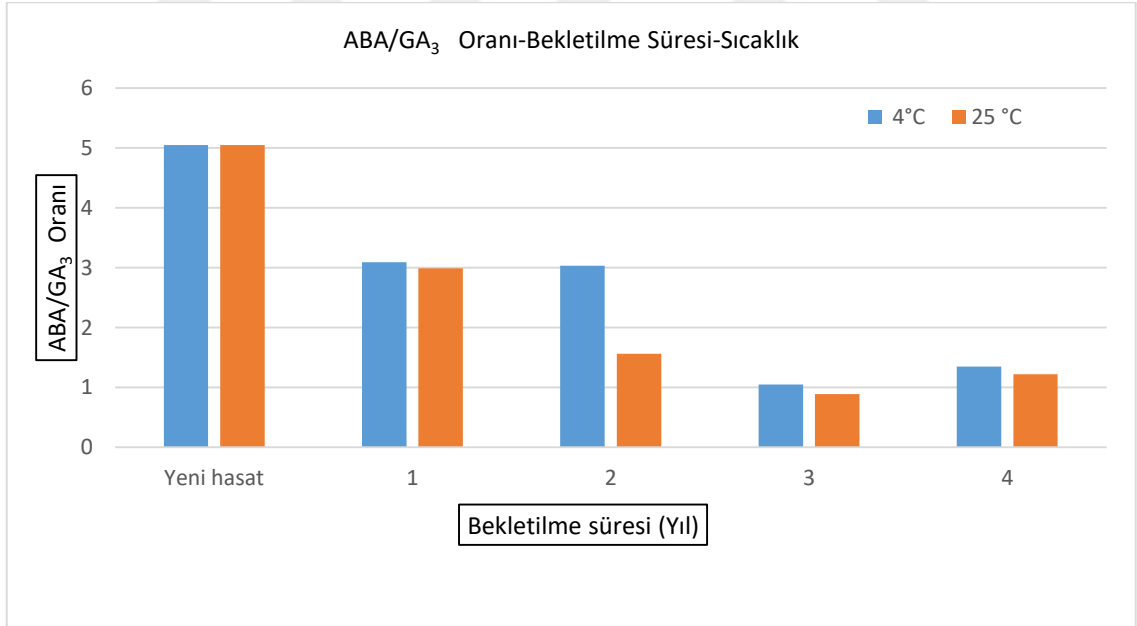
*Değerler üç paralel ölçümün ortalama ± standart sapması olarak verilmiştir. Bu veriler iki yönlü ANOVA testi ile analiz edilmiştir.



Şekil 4.6. *P. khinjuk* embriyosunda ABA değerleri



Şekil 4.7. *P. khinjak* embriyosunda GA₃ değerleri



Şekil 4.8. *P. khinjak* embriyosunda ABA /GA₃ oranları

Yeni hasat tohumu embriyosunda ABA/GA₃ değerinin (5.05) en yüksek değer olduğu görülmektedir. Ayrıca 25 °C bekletilen 1, 2, 3 ve 4 yıl bekletilmiş tohum embriyolarında ABA/GA₃ değerinin her geçen yılda kademeli olarak azaldığı söylenebilmektedir. En düşük ABA/GA₃ değeri (0.89) 25 °C'de 3 yıl bekletilen

tohumlarda görülmüştür. 4 °C de bekletilen tohum embriyolarında ABA/GA₃ değeri en yüksek 1 ve 2 yıl bekletilmiş tohumlarda (sırasıyla 3.09, 3.03), en düşük değer ise (1.35) 4 yıl bekletilen tohumlarda çıkmıştır. 4 °C bekletilen tohum embriyolarında ABA/GA₃ değerinin 3 ve 4 yıl bekletilen tohumlarda çok belirgin bir şekilde düştüğü göze çarpmaktadır. (Çizelge 4.4.). Ancak bu durum çimlenme oranlarına yansımamıştır. Bekletilme yıllarına göre ABA/GA₃ değerinin düşme hızı 25 °C de bekletilen tohum embriyolarında daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Paspalum atratum tohumunda 3 °C'de 5 yıl bekletilen tohumlarda bekletme süresinin çimlenmeyi çok az etkilediği rapor edilmiştir (Kalmbacher at al. 1999). Ancak, oda sıcaklığında bekletilmiş pirinç tohumları üzerinde yapılan bir çalışmada 2 yıl sonunda tohumların çimlenmesinde %40'lık bir azalmanın olduğu Hu ve ark. (2022) tarafından bildirilmiştir. Başka bir çalışmada, buğday tohumları 40 °C ve 25 °C sıcaklıklarda 12 ay boyunca depolanmıştır. Depolama süresi sonunda 40 °C'de tutulan tohumların çimlenme yeteneklerinde %55–94, 25 °C'de depolananlarda ise %15–22 oranında azalma meydana geldiği belirlenmiştir. Araştırmacılar, çimlenme ve canlılık değişimleri üzerinde depolama koşullarının önemli bir etkiye sahip olduğunu ve tohum canlılığının çeşide bağlı olarak farklılık gösterdiğini vurgulamışlardır (Strelec at al. 2010). Literatürdeki bu sonuçlar tohum türünün ve bekletilme koşulların önemli olduğunu vurgulamaktadır. Aynı şekilde Çalışmamızda, en fazla 4 yıl bekletilmiş *P. khinjak* tohumlarında, bu sürenin tohumun çimlenmesi için gerekli olan optimal faktörlerin (besin elementi ve düzenleyici ajanlar) alt sınırına erişmediği varsayılabilir. Endosperm büyüklüğünün tohum canlı kalma süresini ve çimlenme oranını etkilediğinin Díaz at al. (2015) tarafından vurgulanması *P. khinjak* tohum embriyosu ve endosperm oranı bu varsayımımızı destekleyebilecek düzeydedir.

P. khinjak tohumlarında, 4 yıl boyunca yıl bazlı beta amilaz aktivitesinde artma ve nişasta miktarında azalmaya neden olduğu ortaya çıkmıştır. 25 °C'de bekletilen tohumlarda beta amilaz aktivitesinin daha yüksek olduğu bununla beraber nişasta miktarında azalmanın daha yüksek miktarda olduğu görülmüştür. Endospermli tohumlarda tohumun enerji kaynağı, beta amilaz tarafından nişastanın hidrolize edilerek maltozu açığa çıkardığını ve nişasta miktarındaki azalmanın amilaz aktivitesi ile ilgili olduğu Nomura ve ark. (1969) tarafından vurgulanmıştır. Bu çalışmada nişasta ve amilaz aktivitesine benzer sonuçlar Sharma ve ark. (2010) tarafından soya fasulyesinde elde edilmiştir. Soya fasulyesinde, endospermdeki nişasta içeriğinin bekletilme süresince düşerken, amilaz aktivitesinde artış görüldüğü ve oda sıcaklığında depolanmanın nişasta

içeriğini daha çok düşürürken amilaz aktivitesinde artışın daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Sharma at al. 2010). Benzer şekilde *Cyclocarya paliurus* tohumlarının uyku halinin kırılması sırasında nişastanın yaklaşık %45'i tükenirken, amilaz aktivitesinin %60 arttığı rapor edilmiştir (Fang at al. 2007). Buna karşın, 2 yıl boyunca depolanan *İndica* pirinci tohumlarında nişasta miktarında bir değişimin olmadığı da Hu ve ark. (2022) tarafından vurgulanmıştır. Tohumlar, depolama süresi boyunca metabolik aktivite durumunu koruduğu ve solunum yoluyla karşılanan bir enerji harcaması devam ettiği ve solunum hızının sıcaklık, nem içeriği ve tohumun yapısal bütünlüğü ile ilgili olduğu belirtilmiştir (Chidananda at al. 2014). Depolama sırasında artan metabolik aktivite, nişasta rezervlerinin kullanılması nedeniyle azalması ile sonuçlanır ve bu da çimlenen tohumda solunum için gerekli olan substratların azalmasına belkide zamanla tükenmesine yol açar (Sharma at al. 2010). Tohum çimlenmesinin %0 olduğu durumlarda bile α -amilaz ve β -amilaz aktivitelerinin azaldığı ancak devam ettiği Paravar ve ark. (2023) tarafından bildirilmiştir. Ayrıca depolama süresince alfa amilaz aktivitesinde meydana gelen değişiklik çimlenme oranına yansımadağı Marques ve ark. (2014) tarafından bildirilmiştir. Nitekim bu çalışmada beta amilaz aktivitesinin en düşük olduğu zamanda çimlenme oranının en yüksek olduğu tersi olarak da beta amilaz aktivitesinin en yüksek olduğu zamanlarda çimlenmenin en yüksek olmadığı tespit edilmiştir. Bu sonuç *P. khinjuk* tohumunda çimlenme için nişasta dışında yağ ve protein rezervlerinin de kullanılabileceği fikrini ortaya koymaktadır. Beta amilaz etkinliği ya da diğer hidrolitik enzimlerin aktivitesinin ne kadar devam edebileceği diğer bir deyişle rezervlerin ne kadar uzun süre *P. khinjuk* tohumunu besleyebileceği tam olarak bilinmemektedir. Öte yandan 4 yıllık depolama süresinin nişasta rezervlerin tükenme zamanı için yetersiz bir süre olduğu söylenebilmektedir.

Yeni hasat edilen *Caryocar brasiliense* tohumları (Pinto ve ark. 2025) ve mısır tohumlarında (Yue ve ark. 2024) yüksek ABA/GA₃ oranı ve düşük çimlenme oranı görülürken *Caryocar brasiliense* tohumlarının bir yıl bekletilmesi ve mısır tohumlarının da sekiz ay bekletilmesi ile ABA/GA₃ oranında azalmalar olduğu ve çimlenmenin arttığı bildirilmiştir. Buna karşın mısır bitkisinde sekiz aylık bekletme sonunda ABA/GA₃ oranında değişim olmadığı halde çimlenmede %50 azalmanın olduğu bildirilmiştir (Wang at al. (2022)). Bu çalışmada *P. khinjuk* yeni hasat tohumu embriyolarında ABA/GA₃ oranı en yüksek olmasına rağmen çimlenmenin en yüksek olması düşündürücüdür. Buna ek olarak bekletilen tohumlar içerisinde en düşük ABA/GA₃ oranının 3 yıllık tohumlarda tespit edildiği ve bu durumun çimlenmeye yansıdığı

görülmüştür. Bu çalışmamızdaki sonuçlarla örtüşen sonuçlar *Idesia polycarpa* Maxim (Yanmei at al. 2018) ve soya fasulyesi tohumlarında (Shuai at al. 2017) da görülmüştür. Ancak hem yüksek ABA/GA₃ hem de düşük ABA/GA₃ oranında yüksek çimlenmenin görülmesi, *P. khinjak* tohumunda sadece ABA/GA₃ oranı göz önünde bulunarak çimlenme ile ilgili bir çıkarımın yapılamayacağı ve bekletilme süresinin embriyoda gerçekleşen çimlenmede etkili olan başka faktörlerin farklı genetik tepkilere neden olduğu varsayılmaktadır. Malviya ve Gayen, (2025) tohumların canlılığını ve kalitesini sürdürmek için, tohum ömrüyle ilgili genler, hormon sinyalleri ve alt sistemler arasındaki etkileşimlerin anlaşılması gerektiği vurgulanmıştır ve tahminlerimizi desteklemiştir. Yeni hasat tohumlarından çimlenen bireylerin ve bekletilerek çimlenen bireylerin biyotik ve abiyotik streslere karşı ne kadar rekabetçi olduğunu belkide bu genetik tepkiler belirleyebilecektir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu çalışmada, yeni hasat edilen *P. khinjuk* tohumları herhangi bir işleme tabii tutulmadan nemli ve karanlık pamuk ortamında %81'lik çimlenme oranı göstermiştir. Bekletilme süresi (1, 2, 3 ve 4 yıl) çimlenmeyi olumsuz etkilemiştir. Literatürde yeni hasat tohumlarının dormansi kırıcı bir yöntem uygulanmadan bu oranda yüksek çimlenme değerlerine rastlanmamıştır. Ayrıca bekletilme sıcaklığının tohum çimlenmesinde çok etkili olmadığı görülmektedir.

Bekletilme süresince beta amilaz aktivitesi artarken nişasta miktarı azalmış fakat bu durum çimlenmeye yansımadığından endospermdeki nişasta rezervi ve beta amilaz aktivitesi rolü belirlenememiştir.

Bekletilme süresince ABA/GA₃ oranında azalma olmasına rağmen çimlenme oranında fark edilir derecede çimlenme artışı olmamıştır. Aksine literatür çalışmalarında büyük ekseriyetle ABA/GA₃ oranındaki azalma çimlenme oranı artışıyla sonuçlanmıştır. ABA/GA₃ değerinin azalması ile beta amilaz aktivitesinde artma ve nişasta miktarında azalma görülürken çimlenme oranının artmadığı tespit edilmiştir.

P. khinjuk türü için dört yıllık bekletilme süresi ve bekletilme sıcaklığının çimlenmeye bağlı olarak fizyolojik dormansi durumu tespitinde nişasta miktarı, beta amilaz aktivitesi ve ABA/GA₃ değeri arasında bir korelasyon kurulamamıştır.

5.2. Öneriler

Bekletilerek çimlenen tohumların yeni hasat tohumlarına göre doğal ortamında maruz kaldığı abiyotik ve biyotik streslere karşı test edilerek rekabet gücünün ortaya konması önem arz etmektedir. Çünkü asıl olan aslında çimlenme oranı değil çimlendikten sonra rekabetçi olup yaşamaya devam eden bireylerin tespit edilmesidir.

Çimlenmede fizyolojik olayların özellikle rezervlerin kullanılması nişasta miktarı ve beta amilaz aktivitesi yerine diğer hidrolitik enzimlerin değerlendirilmesi özellikle yağ asitleri miktarı ve lipaz aktivitesi değerlendirilebilir.

Uyku halindeki tohumu besleyen rezervlerden (nişasta, yağ ve protein) hangi rezervin çimlenmede belirleyici bir parametre olarak kullanılacağı belirlenmelidir.

Bekletilme süresince protein hasarları, proteaz enzim aktivitesi ve bunların oksinlerle (β -indoleasetik asit) ilişkisi ya da etilen ve Brassinosteroidler ile ABA arasındaki parametreler *P. khinjak* tohumlarının fizyolojik dormansisinin belirlenmesinde alternatif parametreler olarak kullanılabilir.



KAYNAKLAR

- AL-Saghir, M.G. (2006). Phylogenetic Analysis of the Genus Pistacia (Anacardiaceae). Ph. D. Thesis, the Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia, 14.
- Akman, Y. & Darıcı, C., (1998), Bitki Fizyolojisi, Ankara
- Asnaashari, S., Abbasi, S., & Barzegar, M. (2015). Lipid composition and oxidative stability of Pistacia khinjuk seed oil. *Food Chemistry*, 187, 150–157.
- AOSA (Association of Official Seed Analysts). (2005). *Tetrazolium Testing Handbook*. Contribution No.29 to the Handbook on Seed Testing.
- Barka, E.A., Nowak, J. & Clement, C. (2006). Enhancement of Chilling Resistance of Inoculated Grapevine Plantlets with a Plant Growth-Promoting Rhizobacterium, *Burkholderia phytofirmans* Strain PsJN. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(11), 7246-7252.
- Baskin, CC. & Baskin, JM. (2014) *Seeds, ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. 2nd edn. Elsevier/Academic Press, San Diego, CA, USA.
- Battal, P., Tileklioglu, B. (2001). The Effects of different mineral nutrients on the levels of cytokinins in maize (*Zea mays* L.). *Turkish Journal of Botany*, 25: 123-130.
- Bewley, J.D. ve Black, M. (1994). Tohumlar: Gelişim ve Çimlenme Fizyolojisi. (New York: Plenum Press).
- Bewley JD. (1997a). Seed germination and dormancy. *Plant cell*, 9: 1055-1066.
- Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W. M., & Nonogaki, H. (2013). *Seeds: Physiology, development, and germination* (3rd ed.). Springer.
- Bentsink, L., & Koornneef, M. (2008). Seed dormancy and germination. *The Arabidopsis Book*, 6, e0119.
- Bozorgi, M., Memariani, Z., Mobli, M., Surmaghi, M. H. S., Shams-Ardekani, M. R., & Rahimi, R. (2013). Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk* and *P. lentiscus*): A review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *The Scientific World Journal*, 2013, Article 219815, 1–33.
- Chidananda K, Chelladurai V, Jayas D, Alagusundaram K, White N, Fields P (2014) Respiration of pulses stored under different storage conditions. *J Stored Prod Res* 59:42–47.
- Collenette, S. (n.d.). *[Etnobotanik gözlemler]* (Çalışma no. 710).

- Cutler, S. R., Rodriguez, P. L., Finkelstein, R. R., & Abrams, S. R. (2010). Absciscic acid: emergence of a core signaling network. *Annual Review of Plant Biology*, 61, 651–679.
- Dekkers, B. J. W., Pearce, S., van Bolderen-Veldkamp, R. P., Marshall, A., Widera, P., Gilbert, J., & Hilhorst, H.W.M. (2013). Transcriptional dynamics of Arabidopsis seed germination. *Plant Physiology*, 163(3), 1239–1253.
- Ellis, R.H., & Roberts, E.H. (1980). Improved equations for the prediction of seed longevity. *Annals of Botany*, 45(1), 13-30.
- Ersalı, Y. (2015). Pistacia türlerinde (*Pistacia vera* L., *Pistacia khinjuk* Stocks, *Pistacia terebinthus* L.) tetrazolium (TZ) testi ile canlılık tespiti çalışmaları. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 5(2), 217–226
- Fang, J., Zhang, L., Chen, X., & Wang, Y. (2007). Starch depletion and α -amylase activity during dormancy break of *Cyclocarya paliurus* seeds. *Seed Science and Technology*, 35(3), 491–498.
- Farashah H.D., Tavakkol Afshari R. , Sharifzadeh F., Chavoshinasab S. 2011. Germination improvement and alpha-amylase and beta-1,3-glucanase activity in dormant and non-dormant seeds of Oregano (*Origanum vulgare*). *Australian Journal of Crop Science*, 5(4):421-427
- Finch-Savage, W. E., & Leubner-Metzger, G. (2006). Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist*, 171(3), 501–523. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x>
- Finch-Savage, W. E. & Footitt, S. (2017). *Seed dormancy cycling and the regulation of dormancy mechanisms to time germination in variable field environments*. *Journal of Experimental Botany*, 68(4), 843–856. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw477>
- Finkelstein, R., Reeves, W., Ariizumi, T., & Steber, C. (2008). Molecular aspects of seed dormancy. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 387–415. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092740>
- Finkelstein, R. (2010). The role of hormones during seed development and germination. In *Plant Hormones* (pp. 135-156). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2686-7_24
- Finkelstein, R. (2013). *Abscisic acid synthesis and response*. In J. K. Seto & R. K. Bajwa (Eds.), *Plant hormones: Biosynthesis, signal transduction, action!* (pp. 75–108). Springer.
- França-Neto and Krzyzanowski (2022). *Seed Science and Technology*, 50, 1, Suppl., 31-44. <https://doi.org/10.15258/sst.2022.50.1.s.03>
- Genes F, Nyomora A (2018) Effect of storage time and temperature on germination ability of *Escoecaria bussei*. *Tanzania J Sci* 44(1):123–133

- Ghafoor, A., & Goodman, S. M. (n.d.). *[Pakistan'da tohumların kullanımı üzerine gözlemler]* (s. 4586).
- Gökçe, M. H., Akçay, M. 1993. Tarım ve Köy işleri Bakanlığı Tarımsal Üretim ve Geliştirme Gen.
- Hacıbekiroğlu, İ., Koca, U., Demirci, F. (2015). *Pistacia khinjuk* tohumlarının kimyasal bileşimi ve biyolojik aktiviteleri. *Industrial Crops and Products*, 67, 422–429.
- Han, Y., Gao, H., Wang, Y., Zhang, L., Jia, J., & Ma, H. (2023). Storage Time Affects the Viability, Longevity, and Germination of *Eriochloa villosa* (Thunb.) Kunth Seeds. *Sustainability*, 15(11), 8576. <https://doi.org/10.3390/su15118576>
- Hashemi, S., Hamidi, Z., & Razavi, S. H. (2015). Antioxidant properties and chemical profile of *Pistacia khinjuk* hull and kernel oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(12), 3178–3185.
- Hernandez-Miana, F.M. 1991. Identification of cytokinins and the changes in their endogenous levels in developing *Citrus sinensis* leaves. *Journal of Horticultural Science*, 66(4): 505-511.
- Hu, H., Li, S., Pan, D., Wang, K., Qiu, M., Qiu, Z., Liu, X., & Zhang, J. (2022). The Variation of Rice Quality and Relevant Starch Structure during Long-Term Storage. *Agriculture*, 12(8), 1211. <https://doi.org/10.3390/agriculture12081211>
- Just, J. (1643). *[Irak'tan bildirilen etnobotanik kayıtlar]*.
- Kadıoğlu, A. (1999). *Tohum biyolojisi ve çimlenme fizyolojisi*. Ankara: Çukurova Üniversitesi Yayınları.
- Karssen, C. M., et al. (1989). The role of gibberellins in seed dormancy and germination. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 40, 453-484.
- Karssen, C. M. (1995). Gibberellins and dormancy release. In: Davies, P.J. (Ed.), *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*, pp. 455–484.
- Kalmbacher R. S., West S. H., Martin F. G. 1999. *Seed Dormancy and Aging in Atriplex*. *Paspalum Crop Sci.* 39:1847–1852. <https://doi.org/10.2135/cropsci1999.3961847x>
- Kawashty, S. A., Mosharafa, S. A. M., El-Gibali, M., & Saleh, N. A. M. (2000). *The flavonoids of four Pistacia species in Egypt*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(9), 915–917. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(99\)00113-1](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(99)00113-1)
- Kermode, A. R. (2005). Role of abscisic acid in seed dormancy. *Journal of Plant Growth Regulation*, 24(4), 319-344.
- Kuraishi, S., Tasaki, K., Sakurai, N., Sadatoku, K. 1991. Changes in levels of cytokinins in etiolated squash seedlings after illumination. *Plant and Cell Physiology*, 32(5): 585-591.

- Kuru, C. ve Özşabuncuoğlu, G. H., (1990). *Yabani Pistacia türlerinin aşılmasında sorunlar ve çözüm yolları*, Türkiye 1. Antepfıstığı Sempozyumu Bildirileri, Gaziantep, 49-57.
- Lang, A. (1996). Seed dormancy and germination. In M. Black & J. D. Bewley (Eds.), *Seed Technology and its Biological Basis* (pp. 11–34). Sheffield Academic Press.
- Larkindale, J., & Huang, B. (2004). *Changes of lipid composition and saturation level in leaves and roots for heat-stressed and heat-acclimated creeping bentgrass (Agrostis stolonifera)*. *Environmental and Experimental Botany*, 51(1), 57–67.
- Macháčková, I., Krekule, J., Eder, J., Seidlová, F. & Strnad, M. (1993). *Cytokinins in photoperiodic induction of flowering in Chenopodium species*. *Physiologia Plantarum*, 87, 160–166. ueb.cas.cz+1
- Malviya, R., Gayen, D. Seed Deterioration: Unraveling the Role of Phytohormones on Seed Germination Under Aging Condition. *J Plant Growth Regul* 44, 1886–1902 (2025). <https://doi.org/10.1007/s00344-024-11560-z>
- Marques, E. R., Araújo, R. F., Araújo, E. F., Filho, S. M., Soares, P. C., & Mendonça, E. G. d. (2014). Dormancy and enzymatic activity of rice cultivars seeds stored in different environments. *Journal of Seed Science*, 36(4), 435-442. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v36n41031>
- McDonald, M.B. (1999). Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology*, 27(1), 177-237.
- Mooney, P.A., Staden, J.V. (1984). Seasonal changes in the levels of endogenous cytokinins in *Sargassum heterophyllum* (Phaeophyceae). *Botanica Marina*, 27(9): 437-442.
- Nomura, T., Kono, Y. & Akazawa, T. (1969). Enzyme mechanism of starch breakdown in germinating rice seeds. II. Scutellum as the site of sucrose synthesis. *Plant Physiol.* 44, 765–769.
- Nonogaki, H., Bassel, G. W., & Bewley, J. D. (2010). Germination—still a mystery. *Plant Science*, 179(6), 574–581.
- Palni, L.M.S., Summons, R.E., Letham, D.S. 1983. Mass spectro analysis of cytokinins in plant tissues. *Plant Physiology*, 72: 858-863.
- Paravar, A., Farahani, S. M. & Rezazadeh, A. (2025). Influence of seed moisture content and storage period on germination and biochemical indices: *Lallemantia iberica* and *Lallemantia royleana*. *Scientific Reports*, 15, 4462.
- Pinto, V.d., Ribeiro, L.M., Martins, C.S. et al. Oxidative Stress and ABA Dynamics Modulate Dormancy and Longevity of Stored Caryocar brasiliense (Caryocaraceae) Seeds. *J Plant Growth Regul* 44, 3012–3024 (2025). <https://doi.org/10.1007/s00344-024-11592-5>

- Özbek, S., (1978). Özel Meyvecilik. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları 128, Ders Kitabı: 11, 486
- Qamaruddin, M., Dormling, I. & Eliasson, L. (1990). Increase in cytokinin levels in Scots pine in relation to chilling and bud burst. *Physiologia Plantarum*, 79, 236–241.
- Sharma, S., et al. (2004). Effect of gibberellic acid on seed germination. *Seed Science and Technology*, 32(3), 611-617.10488. <https://doi.org/10.1039/D2RA00809B>
- Sharma, S., Kaur, A., Bansal, A., & Gill, B. S. (2010). Changes in germination, biochemical composition and enzyme activities of soybean seeds during storage. *Journal of Food Science and Technology*, 47(5), 556–561.
- Sharma, S., Kaur, A., Bansal, A., & Gill, B. S. (2011). Possional effects on soybean seed composition during storage. *Journal of Food Science and Technology*, 50(2), 353–359.
- Shojaei, A., Javidnia, K., & Miri, R. (2011). *Antioxidant and antimicrobial activity of ethanolic extract of Pistacia khinjuk (Anacardiaceae)*.
- Shuai, H., Meng, Y., Luo, X. et al. Exogenous auxin represses soybean seed germination through decreasing the gibberellin/abscisic acid (GA/ABA) ratio. *Sci Rep* 7, 12620 (2017). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13093-w>
- Strelec I, Popović R, Ivanišić I, Jurković V, Jurković Z, Ugarčić-Hardi Ž, Sabo M (2010) Influence of temperature and relative humidity on grain moisture, germination and vigour of three wheat cultivars during one year storage. *Poljoprivreda* 16(2):20–24
- Taran, M., Sharifi, M., Azizi, E., & Khanahmadi, M. (2010). Antimicrobial activity of the leaves of *Pistacia khinjuk*. *Journal of Medicinal Plants*, 9(6), 81–85.
- Tavakoli, J., & Haddad Khodaparast, M. H. (2013). *Chemical properties of the oil from Pistacia khinjuk fruits growing wild in Iran*. *Chemistry of Natural Compounds*, 49(3), 546–550.
- Tekin, H., Arpacı, S., Atlı, H.S., Açar, Ğ., Karadağ, S., Yükçeken, Y., ve Yaman, A., (2001). Antepfıstığı Yetiştiriciliği (Kitap). Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, Gaziantep, No: 13, 132s.
- Thesiger, W. (1760). *[Bitki tohumlarından yağ elde edilmesine dair kayıtlar]*.
- Tilkat, E., Işıkalın, Ç. & Onay, A. (2005). Invitro Propagation of Khinjuk Pistachio (*Pistacia khinjuk* Stocks) Through Seedling Apical Shoot Tip Culture. *Propagation of Ornamental Plants*, 5(3): 1-5.
- Tohidi, M., Rahimmalek, M., & Arzani. (2011). Antioxidant activity and phenolic content of *Pistacia khinjuk* seeds. *Food Chemistry*, 126(4), 1827–1831.
- TUBİVES, 2014. Erişim: [http://tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=2379]. Erişim Tarihi: 10.04.2024

- Valencia-Diazi, S., Flores-Morales, A., Flores-Palacia, A., Perea-arango, I. 2015. How does the presence of endosperm affect seed size and germination? *Botanical Sciences* 93 (4): 783-789, 2015DOI: 10.17129/botsoci.251
- Verma, P., & Majee, M. (2013). Seed viability and stress tolerance: Tetrazolium-based testing. In M. M. Reddy (Ed.), *Seed Biology and Biotechnology* (pp. 205–218). CRC Press.
- Vleeshouwers, L. M., Bouwmeester, H. J., & Karssen, C. M. (1995). Seed dormancy and germination: The role of abscisic acid and gibberellins. *Plant Growth Regulation*, 17(2), 125–144
- Walters, C., Wheeler, L.M., & Grotenhuis, J.M. (2010). Longevity of seeds stored in a genebank: species traits and storage methods. *Seed Science Research*, 20(1), 1-20.
- Wang, K. L. C., Li, H., & Ecker, J. R. (2002). Ethylene biosynthesis and signaling networks. *The Plant Cell*, 14(suppl 1), S131–S151.
- Wang, X., Li, Y., Zuo, M., & Chen, Q. (2014). Temperature stress induces ABA accumulation by regulating the carotenoid biosynthesis pathway. *Plant Physiology*, 165(3), 1118–1126.
- Wang, B., Yang, R., Ji, Z., Zhang, H., Zheng, W., Zhang, H., & Feng, F. (2022). Evaluation of biochemical and physiological changes in sweet corn seeds under natural aging and artificial accelerated aging. *Agronomy*, 12(5), 1028.
- Weitbrecht, K., Müller, K., & Leubner-Metzger, G. (2011). First off the mark: Early seed germination. *Journal of Experimental Botany*, 62(10), 3289–3309.
- Yaltirik, F., 1967, Anacardiaceae, In: P. H. Davis, Ed., *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburgh University Press, Edin
- Yaltirik, F., 1967b. Anacardiaceae. Contribution to the taxonomy of woody plants in Turkey. *Notes From the Royal Botanical Garden Edinburgh*, 28: 11-12.
- Yanmei, W., Lijun, W., Bing, Y., Zhen, L. & Fei, L. (2018). Changes in ABA, IAA, GA3, and ZR Levels during Seed Dormancy Release in *Idesia polycarpa* Maxim from Jiyuan. *Polish Journal of Environmental Studies*, 27(4), 1833–1839. <https://doi.org/10.15244/pjoes/78041>
- Yue G, Yang R, Lei D, Du Y, Li Y & Feng F. (2024) Physiological, Biochemical, and Ultrastructural Changes in Naturally Aged Sweet Corn Seeds. *Agriculture*. 14(7):1039. <https://doi.org/10.3390/agriculture14071039>
- Zhang, J., Xiang, S. J., & Wan, H. S. (2021). Negative association between seed dormancy and seed longevity in bread wheat. *American Journal of Plant Sciences*, 12, 347–365.
- Zohary, M. A., (1952). A Monographical Study of the Genus *Pistacia*. *Palaestina Journal of Botany*, Jerusalem series, V. :187-228