

**T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇINAR AĞAÇLARINDA (*Platanus orientalis* L.) YAŞA BAĞLI
OLARAK BAZI KİMYASAL BİLEŞENLERİN BELİRLENMESİ**

Mehtap ALAY

**Danışman Dr. Öğr. Üyesi Nezahat TURFAN
Jüri Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Dursun KISA
Jüri Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Gamze SAVACI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

KASTAMONU - 2018

TEZ ONAYI

Mehtap ALAY tarafından hazırlanan "**Çınar Ağaçlarında (*Platanus orientalis* L.) Yaşa Bağlı Olarak Bazı Kimyasal Bileşenlerin Belirlenmesi**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy birliği** ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Ana Bilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Nezahat TURFAN
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Dursun KISA
Bartın Üniversitesi



Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Gamze SAVACI
Kastamonu Üniversitesi



.../.../2018

Enstitü Müdür V.

Doç. Dr. Mehmet Altan KURNAZ



TAAHHÜTNAME

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildirir ve taahhüt ederim.



Mehtap ALAY

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÇINAR AĞAÇLARINDA (*Platanus orientalis* L.) YAŞA BAĞLI OLARAK BAZI KİMYASAL BİLEŞENLERİN BELİRLENMESİ

Mehtap ALAY

Kastamonu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Nezahat TURFAN

Bu çalışmada, Kastamonu Abana Harmason Mevkii'nde bulunan değişik yaşlı çınar ağaçlarının (*Platanus orientalis* L.) gelişim fizyolojisi araştırılmıştır. Bu amaçla anıt ağaç (≥ 500) ve çevresinde bulunan farklı yaş gruplarındaki ağaçlardan (≥ 200 , ≥ 100 , ≥ 50) toplanan yaprak örneklerinde fotosentetik pigmentler, prolin, protein, glikoz, sukroz ve toplam çözünen karbonhidrat, malondialdehit (MDA), hidrojen peroksit (H_2O_2) konsantrasyonu, askorbat peroksidaz (APX), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivite değişimleri ölçülmüştür.

Klorofil b, toplam klorofil ve toplam karotenoid miktarları yaşla birlikte artmıştır. Klorofil a en yüksek 200 yaş üzeri ağaçta en düşük ise 50 yaş üzeri ağaçta saptanmıştır. Klorofil a: klorofil b oranı en yüksek 100 yaş üzeri ağaçta en düşük anıt ağaçta belirlenmiştir. Sukroz ve protein yaşlı ağaçlarda yüksek, genç ağaçlarda düşüktür. Prolin miktarı 50 yaş üzeri ağaçta yüksek, 100 yaş üzeri ağaçta düşüktür. Toplam karbonhidrat orta yaş grubu ağaçlarda yüksek iken, genç yaş gruplarında düşüktür. Glikoz miktarı 200 yaş üzeri ağaçta yüksek, 500 yaş üzeri ağaçta düşüktür. MDA içeriği yaşla birlikte azalmıştır. H_2O_2 içeriği yaşla birlikte artmıştır. CAT ve SOD aktiviteleri 200 yaş üzeri ağaçta, APX aktivitesi ise anıt ağaçta yüksektir.

Çalışma sonuçlarına göre çınar ağaçlarının uzun ömürlü olmasında toplam klorofil, karotenoid, sukroz, protein, H_2O_2 içerikleri ve APX aktivitesinin etkili olduğu sonucuna varılabileceği ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Gelişim fizyolojisi, çınar ağacı, anıt ağaç, Kastamonu.

2018, 76 sayfa

Bilim Kodu: 203

ABSTRACT

MSc. Thesis

İNVESTİAGTİNG OF CHANGİNG OF SOME CHEMICAL COMPOUND İN SYCAMORE (*Platanus orientalis* L.) LEAF DEPEND ON TREE AGE

Mehtap ALAY

Kastamonu University
Institute of Science
Department of Biology

Supervisor: Dr. Nezahat TURFAN

In this study, the developmental physiology of various senile sycamore trees (*Platanus orientalis* L.) at Kastamonu Abana Harmason Region is investigated. For this purpose, photosynthetic pigments, proline, protein, glucose, sucrose and total soluble carbohydrate, malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide (H₂O₂) concentration, ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) enzyme activity changes are measured from in the leaf samples collected from the big tree (≥ 500) and the trees near here at different groups of age (≥ 200 , ≥ 100 , ≥ 50).

Chlorophyll b, total chlorophyll and total carotenoid amounts increased with age. Chlorophyll a is highest degree in the tree above 200 years, and the lowest degree in the tree is in the tree over 50 years. Chlorophyll a: chlorophyll b ratio is highest in the tree over 100 years old and lowest in the big tree. Sucrose and protein degrees are high in old trees but low in young trees. The amount of proline is higher in trees above 50 years, lower in trees above 100 years. While the total carbohydrate is high in the middle age groups of trees, it is low degrees in the young age groups of trees. The amount of glucose is high in trees above 200 years, lower in trees above 500 years. MDA content decreased with age. H₂O₂ content increased with age. CAT and SOD activities are higher at the age of 200 over and APX activity is higher in the big tree.

According to the results of the study, the long life of plane trees reveals that the total chlorophyll, carotenoid, sucrose, protein, H₂O₂ contents and APX activity are effective.

Key Words: Developmental physiology, Sycamore tree, ancient tree, Kastamonu.

2018, pages 76

Science Code: 203

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütülmesi sırasında desteğini esirgemeyen danışman hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Nezahat TURFAN'a, teşekkürler ederim.

Tez yazma sürecinde her türlü yardımları ve destekleri için sevgili meslektaşlarım, arkadaşlarım; Uzman Biyolog Belma BERBER'e, Biyolog Sevilay TOKMAKOĞLU'na, ayrıca Mustafa YALÇIN ve Semra ÖZEN'e teşekkür ederim.

Hayatımın her evresinde bana olan sevgilerini, desteklerini ve güvenlerini eksik etmeyen babam Hasan ALAY'a, annem Emine ALAY'a, kardeşim Mesut ALAY'a teşekkür ederim. Bu ailenin bir bireyi olmaktan gurur duyuyorum, hayattaki en büyük şansım sizlersiniz.

Mehtap ALAY
Kastamonu, Mayıs, 2018

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
GRAFİKLER DİZİNİ.....	xi
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Bitkilerde Büyüme ve Gelişmede Rol Oynayan Metabolik Reaksiyonlar	4
1.1.1. Fotosentez Metabolizması	4
1.1.1.1. <i>Fotosentetik Pigmentlerin Yapısı ve İşlevi</i>	5
1.1.2. Solunum Metabolizması	10
1.2. Azot Metabolizması	12
1.3. Oksidatif Etki ve Antioksidan Metabolizma	12
1.4. ROS Çeşitleri ve Oluşum Mekanizmaları	13
1.4.1. Singlet Oksijen (${}^1O^2$)	14
1.4.2. Süperoksit anyonu (O_2^-)	14
1.4.3. Hidrojen peroksit (H_2O_2)	15
1.4.4. Hidroksil radikal (OH^\cdot)	15
1.5. Lipit Peroksidasyonu.....	16
1.6. Antioksidan Savunma Sistemi.....	17
1.6.1. Enzimatik Antioksidanlar	17
1.6.1.1. <i>Askorbat Peroksidaz</i>	17
1.6.1.2. <i>Katalaz</i>	17
1.6.1.3. <i>Süperoksit Dismutaz</i>	18
1.6.2. Nonenzimatik Antioksidanlar	18

1.6.2.1. <i>Karotenoidler</i>	18
1.6.2.2. <i>Prolin</i>	18
2. LİTERATÜR ÖZETİ	20
3. MATERYAL VE METOT	26
3.1.Çalışma Alanının Genel Özellikleri	26
3.2. Laboratuvarda Yapılan Çalışmalar	31
3.2.1. Kimyasal Maddeler ve Cihazlar	31
3.2.1.1. <i>Kullanılan Kimyasal Çözeltiler</i>	32
3.2.2. Klorofil ve Karotenoid Miktarının Tayini	34
3.2.3. Prolin Miktar Tayini	34
3.2.4. Protein Miktarının Belirlenmesi	35
3.2.5. Malondialdehit Miktar Tayini	36
3.2.6. Hidrojen Peroksit Miktar Tayini	37
3.2.7. Glikoz, Sukroz ve Toplam Çözünür Karbohidrat Tayini	38
3.2.8. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi ve Ekstraktların Hazırlanması	40
3.2.8.1. <i>Askorbat Peroksidaz Aktivitesinin Belirlenmesi</i>	40
3.2.8.2. <i>Katalaz Aktivite Tayini</i>	40
3.2.8.3. <i>Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi</i>	41
3.2.9. İstatiksel Yöntemler.....	41
4. BULGULAR.....	42
4.1. Fotosentetik Pigment Miktar Değişimleri	42
4.2. Glikoz, Sukroz ve Toplam Çözünür Şeker Miktar Değişimleri.....	44
4.3. Malondialdehit ve Hidrojen Peroksit Miktar Değişimleri.....	45
4.4. Prolin ve Toplam Çözünür Protein Miktar Değişimleri.....	46
4.5. Askorbat Peroksidaz, Katalaz ve Süperoksit Dismutaz Aktivite Değişimleri.....	48
5. TARTIŞMA	50
6. SONUÇ	58
KAYNAKLAR	59
ÖZGEÇMİŞ	75

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1.1. Reaktif Oksijen Türlerinin DNA (Deoksiribonükleik Asit), Protein ve Lipitlerle Etkileşimleri	13
Tablo 3.1. Çalışma Alanın 1960-2014 Yılları Arasındaki Ortalama Yağış ve Sıcaklık Verileri	27
Tablo 3.2. Farklı Yaşlı Çınar Ağaçların Bazı Silvikültürel Özelliklerinin Belirlenmesi	31
Tablo 4.1. Farklı Yaş Gruplarındaki <i>Platanus Orientalis</i> L. Ağaçlarında Klorofil a, Klorofil b, Toplam Klorofil, Klorofil a: Klorofil b, Toplam Karotenoid, Glikoz, Sukroz, Toplam Çözünür Karbonhidrat, Prolin, Protein, MDA, H ₂ O ₂ , APX, CAT, SOD Değişimleri	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Kloroplasta Enerji Akışı	4
Şekil 1.2. Pigmentlerin Kimyasal Yapısı	6
Şekil 1.3. Fotosistemlerdeki Elektron Akışı	7
Şekil 1.4. Tilakoitlerdeki Proton ve Elektron Akışını, ATP ve NADPH Sentezini Gösteren Model	8
Şekil 1.5. Calvin Çemberi	10
Şekil 1.6. Moleküler Oksijen (O ₂) ile Triplets Klorofilin (T*) Etkileşimi Sonucu Singlet Oksijenin (¹ O ₂) Oluşumu	14
Şekil 1.7. Prolinin Kimyasal Yapısı	19
Şekil 3.1. Çalışma Alanın Google Earth Görüntüsü ve Türkiye Haritasındaki Konumu.....	26
Şekil 3.2. Çalışma Alanın Jeolojik Haritası	28

GRAFİKLER DİZİNİ

	Sayfa
Grafik 3.1. Prolin Standart Grafiği	35
Grafik 3.2. Protein Standart Grafiği	36
Grafik 3.3. MDA Standart Grafiği	37
Grafik 3.4. H ₂ O ₂ Standart Grafiği	38
Grafik 3.5. Glikoz Standart Grafiği	39
Grafik 3.6. Sukroz Standart Grafiği	39
Grafik 4.1. Klorofil a, Klorofil b, Toplam Klorofil Miktar Değişimleri.....	43
Grafik 4.2. Klorofil a: Klorofil b	43
Grafik 4.3. Toplam Karotenoid Miktar Değişimleri	44
Grafik 4.4. Glikoz, Sukroz, Toplam Karbonhidrat Miktar Değişimleri	45
Grafik 4.5. MDA Miktar Değişimleri	46
Grafik 4.6. Hidrojen Peroksit Miktar Değişimleri	46
Grafik 4.7. Prolin Miktar Değişimleri	47
Grafik 4.8. Protein Miktar Değişimleri	47
Grafik 4.9. APX ve CAT Enzim Aktiviteleri Değişimleri	48
Grafik 4.10. SOD Enzimi Aktivite Değişimi	48

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

	Sayfa
Fotoğraf 3.1. a., b., c., d., 500 Yaş Üzeri Ağacın Çeşitli Açılardan Genel Görüntüsü	29
Fotoğraf 3.2. 200 Yaş Üzeri Ağacın Genel Görüntüsü	29
Fotoğraf 3.3. a.100 Yaş Üzeri Ağacın Genel Görüntüsü, b. 100 ve 200 Yaş Üzeri Ağaçların Görüntüsü	30
Fotoğraf 3.4. Çalışma Alanının Genel Görüntüsü	30



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
¹ O ₂	Singlet oksijen
3-PGA	Fosfogliserat
APX	Askorbat Peroksidaz
AsA	Askorbik Asit
ATP	Adenozin Trifosfat
BSA	Bovin Serum Albümin
Ca ⁺²	Kalsiyum
CAT	Katalaz
CO ₂	Karbondioksit
Cu	Bakır
DHA	Dehidroaskorbik Asit
DHAR	Dehidroaskorbat Redüktaz
Dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik Asit
e ⁻	Elektron
EDTA	Etilendiamintetraasetikasit
Fe	Demir
gr	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
KH ₂ PO ₄	Mono Potasyum Fosfat
KI	Potasyum İyodür
Klo a	Klorofil a
Klo b	Klorofil b
L	Litre
M	Molar
MDA	Malondialdehit
MDHAR	Monodehidro Askorbat Redüktaz
Mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
Mn	Mangan
Na	Sodyum
Na ₂ HPO ₄	Disodyum Fosfat
NADPH +H ⁺	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NaH ₂ PO ₄	Monosodyum Fosfat
NaOH	Sodyum Hidroksit
NBT	Nitro Blue Tetrazolium Kloridin
NH ₄ ⁺	Amonyum
Nm	Nanometre
NO ₃ ⁻	Nitrat
O ₂	Oksijen

O ₂ ⁻	Süperoksit Molekülü
OH•	Hidroksil Radikalleri
Pi	İnorganik Fosfat
Proton	H ⁺
PS II-P680	Pigment Sistemi II, Fotosistem II
PS I-P700	Pigment Sistemi I, Fotosistem I
ROS	Reaktif Oksijen Türevleri
Rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
RuBP	Ribuloz 1,5 Bifosfat
SA	Spesifik Aktivite
SOD	Süperoksit Dismutaz
TBA	Thiobarbütirik Asit
TCA	Trichloro Asetik Asit
Zn	Çinko



1. GİRİŞ

Büyüme, canlılığın en önemli özelliklerinden bir tanesidir. Yaşlanma ise canlı organizmanın zamana karşı geliştirdiği biyolojik bir cevaptır. Ağaçlar da diğer canlılar gibi zaman içerisinde boy, çap ve hacimlerini artırarak büyürler, gelişirler ve ölürlür. Araştırmacılar bu süreçte ağacın çimlenmesinden ölümüne kadar ontogenezinin (embriyolojik yapı benzerlikleri) tek düze olmadığını, bilakis bitkilerin kalitatif ve kantitatif özelliklerinden yola çıkılarak ayrımlanmış latent periyot (tohum), pregeneratif faz (fide, juvenilite, olgunluk öncesi), generatif periyot (gençlik, olgunluk ve yaşlanma) ve postgeneratif (yaşlılık ve ölüm) periyot olmak üzere dört farklı safhayı kapsadığını bildirmişlerdir (Hackett, 1985; Evstigneev ve Korotkov, 2016). Kalitatif özellikler arasında, embriyonik, juvenilite, yarı yetişkin ve yetişkin yapılar; tohum yetiştirme veya vejetatif olarak çoğalma kapasitesi; sürgün ve kök sistemlerinde büyüme ve ölme proseslerinin oranı; asli ve tali türlerin tepe tacı şekillerinin olup olmamasıdır. Kantitatif özellikler ise ağaç yaşı; ağaç boyu, göğüs yüksekliğindeki çap (1,30 m), ağacın dip çapı (0,30 m), alt dal olmaksızın gövde uzunluğu/yüksekliğini içermektedir. Ayrıca ağacın kabuk kalınlığı; tepe tacı genişliği ve uzunluğu; gövdeye göre dallanma şekli; ana eksen ve yan dallar üzerindeki sürgün uzunluğu; üzerindeki yıllık sürgün ve ovül sayısı gibi parametreler de kantitatif özellikler arasında bulunmaktadır (Heuret, Gue'Don, Gue'Rard ve Barthe'Le'My, 2003; Perales ve Reddy, 2012). Latent periyot (uyku-dormant) tohum oluşumuyla başlayıp çimlenme ile sona ermektedir. Bu safhada eksensel olarak kurulmuş (kök-gövde) büyüme aksislerinde, bitkinin hayatı boyunca bölünme yeteneğini koruyan primer meristemler bulunur (García, De Blas ve Carabaño, 2005; Becraft, Cohan, Köhl, Jensen ve Ward, 2011). Enine büyümeyi sağlayan sekonder meristemler pregeneratif fazda primer meristemlerin farklılaşması oluşur (Dehon, Macheix ve Durand, 2002; Weijers, De Rybel ve Breda, 2014). Yapılan çalışmalarda primer ve sekonder meristemlerin aktivitesinin söz konusu dört fazda değiştiği belirtilmiştir (Barbaroux, Breda ve Dufrene, 2003; De Rybel, Adibi ve Breda, 2014). Generatif faz çiçek, meyve ve tohum gibi üreme organlarının oluştuğu, genellikle de tepe tacının üst yarısında yoğunlaştığı, tohum üretiminin en fazla

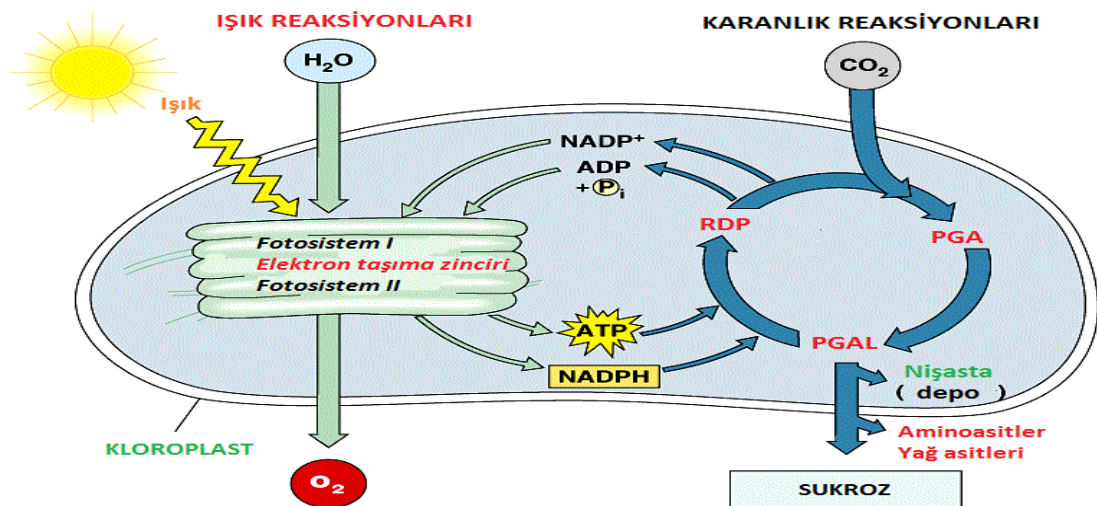
olduğu safhadır. Toprak üstü hacim ve boy bu safha diğerlerine safhalara oranla 3-4 kat fazla olmaktadır. Örneğin *Pinus sylvestris* Linnaeus (L.) ve *Quercus robur* L. bu safhada 80 cm, *Picea abies* L. ve *Acer platanoides* L. 90 cm, *Betula pendula* Roth. 120 cm, *Ulmus glabra* L. ve *Alnus glutinosa* L. ise 130 cm ile maksimum boy göstermişlerdir. Post-generatif fazda ise ağaçlar üreme organları açısından zayıfladığı; abiyotik stres etmenlerine, böcek ya da patojen saldırılarına, viral ve bakteriyel hastalıklara toleransın oldukça zayıfladığı bir safhadır (Mitchell ve Kirby, 1990; Boddy ve Rayner, 1983; Reed, 1996). Yaşlılık fazı ise tepe tacından geri dal, gövde kurumaları, yaprak sayısı ve alanlarında azalmalar, gövde odununda çürümeler gibi fenomenler ile karakterize olan yaşlanma semptomlarının arttığı safhadır (Wall, 1991; Winter, 1993; Scheidegger, Frey ve Zoller, 1995). Yapılan başka çalışmalarda ağaçlarda büyüme, gelişme modeli ve süresinin sabit olmadığı, bazı ağaçların anıt (yaşlılık) safhasına gelmeden öldüğü, bazılarının yaşlılık safhalarının çok uzun sürdüğü bildirilmiştir (Doorenbos, 1965; Ally, Ritland ve Otto, 2010). Bu araştırmacılara göre ağaçların yaşam döngüsü formatif (meristematik aktivitenin en yüksek olduğu safha), olgunluk ve yaşlanma fazı olmak üzere üç kısma ayrılmaktadır (Alexander, Green ve Key, 1998; Wang vd., 2011; Poethig, 2013). Ayrıca her bir safhanın süresi ağaç türü, çevresel etmenlerin değişimi, silvikültürel müdahaleler, gelişim fizyolojisindeki değişimlere bağlı olarak farklılaştığı da belirlenmiştir (Mund, 2004; Esper, Niederer, Bebi ve Frank, 2008). Formatif fazda büyümenin hızlı oluşması nedeniyle enerji tüketimi de maksimumdur. Tepe tacı; yaprak genişliği ve kapalılık tamamen kurulana kadar her yıl artar. Ayrıca yaş halkalarının sayısı ve genişliği de artar. Toprak üstü ve toprak altı organların hacmi ve kütlesi de artar (Bryant ve Julkunen-Tiitto, 1995; Gower, Mcmurtrie ve Murty, 1996). Olgunlaşma fazında ağaçlar optimal tepe tacına ulaşmıştır. Bu safhada yapraklarda fotosentetik aktiviteye bağlı olarak yıllık karbon kazancı sabit kalır değişmez ancak fotosentetik ürün az ya da çok oranda odun kütlesinde depolanır. Bununla birlikte yıllık büyüme oranı arttığı için odun hacminde karbon veya biyokütle birikiminin dağılım şekli azalır ve buna bağlı olarak da yıllık halka genişlikleri düşer (Lacointe, 2000; Köörner, 2003). Yaşlılık; yaşlılık öncesi, orta yaşlılık ve senesens olmak üzere üç safhada gerçekleşir. Birinci safhada aşırı tepe tacından geri ölüm oranı büyüme ve gelişmeyi baskılayacak niteliktedir (Wardle,

1984; Stewart, Rose ve Veblen, 1991). Yaşlılık ortası ya da orta yaşlılık safhasında gövdede yıllık halka gelişimi aynı oranda oluşmadığı için yıllık halka düzeninde kesintiler veya kopukluklar başlar (Boddy ve Rayner, 1983; Lacoite, Kajji, Daudet, Archer ve Frossard, 1993). Senesens safhası ise ağacın öldüğü safhadır (Thomas, Ougham, Wagstaff ve Stead, 2003). Araştırmacılar ağaçlarda büyüme, gelişme modelleri ve sürelerinin değişimi üzerinde; fotosentez metabolizması, karbon, azot metabolizması, solunum gibi büyüme ve gelişmede etkin fizyolojik proseslerin hızının önemli olduğunu vurgulamışlardır (Haffner, Enjalric, Lardet ve Carron, 1991). Birçok araştırmacı ağaçların, olgunlaşma sonrası ve senesens süresince biyokimyasal, fizyolojik, morfolojik proseslerini değiştirerek zamana karşı direndiklerini ifade etmişlerdir (Weiner ve Thomas, 2001; Steppe, Niinemets ve Teskey, 2011). Örneğin olgunluk sonrası fazda gövde ve kök orantısının sağlanması, asimilatların dengeli dağılması için vasküler dokularda fiziksel, kimyasal değişimler olmaktadır (Wodzicki, 2001). Bu süreçte kambiyal aktivitenin değişmesi (Ros Barceló, 1998a; Schuetz, Smith ve Ellis, 2013), yaş halkalarda deformasyonlara neden olarak iletim demetlerindeki koordinasyonun bozulmasına neden olmaktadır (Secchi ve Zwieniecki, 2011). Bu da tepe tacından gövdeye geri ölümlerin başlamasına sebep olur. Tepe tacındaki değişim; kök-gövde koordinasyonunun kurulmasında, asimilat üretimi ve dağılımı için kaynak alanların yüzey alanlarının düzenlenmesi önemli rol oynamaktadır (Barbaroux ve Bréda, 2002; Würth Mirjam, Peláez-Riedl, Wright ve Körner, 2005). Araştırmacılar, ağaç yaşına bağlı olarak meristematik ve metabolik aktivitenin, fotosentetik aktivitenin, fotosentetik aktif dokularda pigment miktarının, azotlu bileşikler, glikoz, fruktoz ve sukroz gibi basit şekerler, çözümlü karbohidratlar, nişasta miktarının değiştiğini saptamışlardır (Monselise, Fishler, Bravdo ve Goldschmidt, 1986; Reich, Walters ve Ellsworth, 1991; Lebaube, Le Goff, Ottorini ve Granier, 2000). Ayrıca hücre ve doku farklılaşmaları (Fukuda, 2000; Cosgrove, 2005), senesens (Finkel ve Holbrook, 2000), optimal koşullardan sapmalar hücrelerde oksidatif stresi uyarmakta reaktif oksijen türevleri (ROS) ve MDA birikimini artırmaktadır (Gechev ve Hille, 2005; Halliwell, 2006). Oksidatif strese karşı geliştirilen antioksidan savunmada ağaç yaşına bağlı olarak değişmekte ve ağacın ömrünü etkilemektedir (Kreslavski, Los, Allakhverdiev ve Kuznetsov, 2012; Juvany, Müler, Pintó- Marijuan ve Munné-Bosch, 2014).

1.1. Bitkilerde Büyüme ve Gelişmede Rol Oynayan Metabolik Reaksiyonlar

1.1.1. Fotosentez Metabolizması

Bitkilerin, fotosentetik pigmentler ile güneş ışığını yakalayıp bazı mekanizmalar ile kullanılabilir kimyasal enerjiye dönüştürmesine “fotosentez” denir. Güneş ışınları kloroplastlarda bulunan ve fotosentetik pigmentler olarak ifade edilen pigmentler tarafından absorbe edilir. Işık ve karanlık safha reaksiyonları ile Adenozin Trifosfat (ATP) ve Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat ($\text{NADPH} + \text{H}^+$) olarak bilinen yüksek enerjili bileşikler şeklinde tutulur. Daha sonra bu bileşikler, karbondioksitten karbonhidrat sentezinde rol oynarlar. Oluşan karbonhidratlar da hücrede enerji kaynağı olarak, lipitlerin, proteinlerin ve benzeri ürünlerin sentezinde kullanılırlar (primer metabolitler). Fotosentezin ışıkta gerçekleşen tüm reaksiyonları, tilakoit zar sisteminde özellikle grana üzerinde daha yoğun yerleşim gösteren fotosistemler (kuantozom) etkinliğinde oluşmaktadır (Arnon, 1949; Duysens ve Pearson, 1976). Fotosentezin ışığa bağımlı olmayan evresi ise stromada gerçekleşir (Arnon, Allen ve Whatley, 1950). Stromada Calvin döngüsü reaksiyonlarının hiçbir basamağı doğrudan ışığa gereksinim duymadığı için bu safha karanlık reaksiyonlar olarak ta tanımlanır (Şekil 1.1.) (Benson ve Calvin, 1947).



Şekil 1.1. Kloroplastta Enerji Akışı (URL-1).

1.1.1.1. Fotosentetik pigmentlerin yapısı ve işlevleri

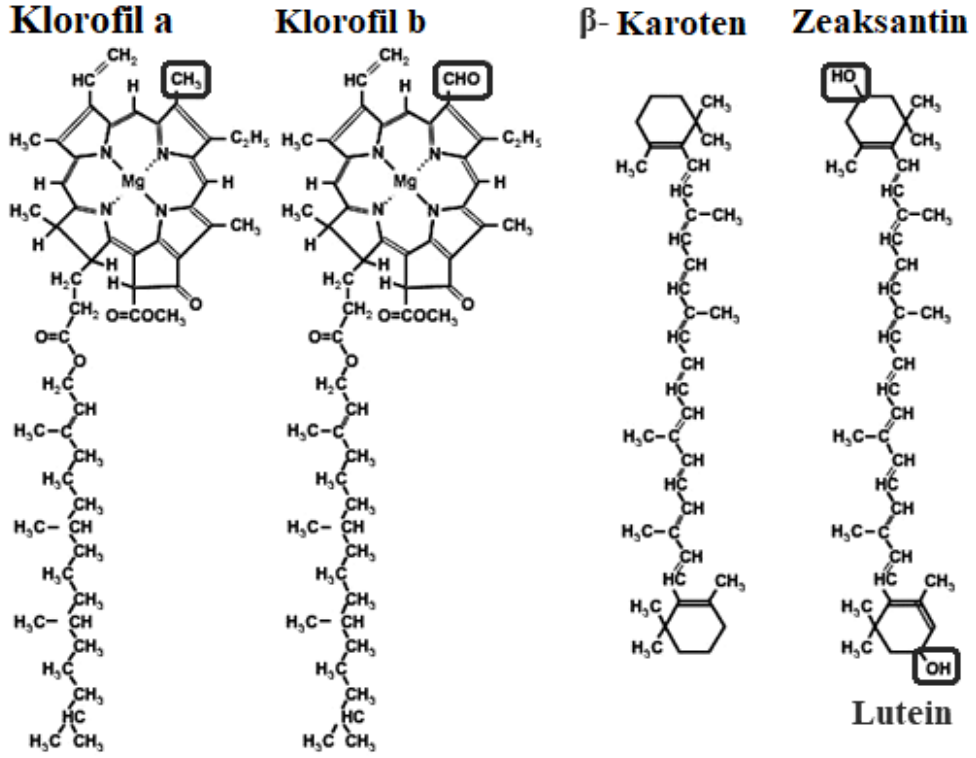
Işığa bağımlı reaksiyonlarda güneş ışığının yakalanması ve enerjisinin tutulmasında, klorofiller (klorofil a (klo a) ve klorofil b (klo b)) ve karotenoidler iş görmektedir. Yapılan çalışmalarda, fotosentezin ışık reaksiyonlarının tillakoidal zarlarda Pigment sistemi I (PS I- P700) ve Pigment sistemi II (PS II- P680) olmak üzere iki pigment sistemi (kuantozomlar) tarafından yürütüldüğünü ortaya koymuştur. Bu pigment toplulukları, özellikle 400-500 ve 600-700 nm dalga boylarındaki hemen hemen her tür görünür ışığı soğururlar. Fotosistem I (PS I), P700 olarak düzenlenmiş bir reaksiyon merkezi ve klorofil b'ye göre daha yüksek oranda klorofil a molekülüne sahiptir. P680 reaksiyon merkezli Fotosistem II (PS II) ise, tamamen eşit miktarda klorofil a ve b'ye sahiptir. Bu kompleks "fotokimyasal reaksiyon merkezi" olarak tanımlanır. Bu ışık kuantum enerjisinin taşınımı bir klorofil a molekülünden diğerine, klorofil b'den klorofil a'ya, karotenoidlerden klorofil a'ya veya fikobilinlerden klorofil a'ya doğru olabilmektedir (Şekil 1.2.).

Buna göre, pigment sistemi I'de ışık enerjisi;

Karotenler → kl b → kl a₆₈₃ → P 700'e aktarılırken,

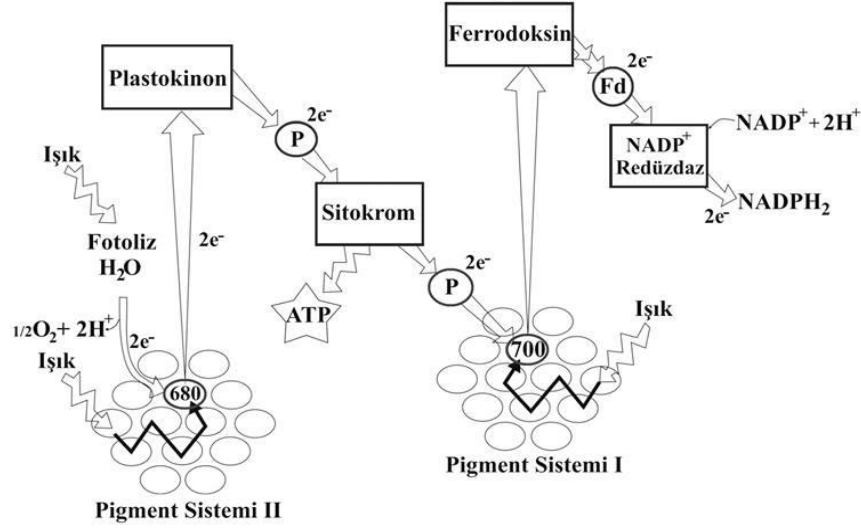
Pigment sistemi II'de ışık enerjisi;

Ksantofiller → kl b → kl a₆₇₃ → P 680'e aktarılmaktadır.



Şekil 1.2. Pigmentlerin kimyasal yapısı (URL-2'den değiştirilerek alınmıştır).

Bir fotosistemde klorofil a dışındaki pigment molekülleri, radyo antenlerindeki gibi, görünür ışığı yakaladıkları için “anten sistemleri” ya da “ışık hasat sistemleri” olarak da adlandırılmaktadır. Bunların görevleri, ışık enerjisini soğurmak ve bu enerjiyi, çok kısa sürede fotokimyasal reaksiyonun olduğu reaksiyon merkezine (klorofil a) iletmektir. Ayrıca yüksek ışık şiddetinin neden olduğu aşırı O_2 çıkışından kaynaklanan oksijen radikallerinin yıkıcı etkilerine karşı, klorofil a molekülü ve kloroplastın bütünlüğünün korunmasında da antioksidan rolleri bulunmaktadır (Şekil 1.3.) (Krüger, Hanisch, Kwade, Winterm ve Nowak, 2014).

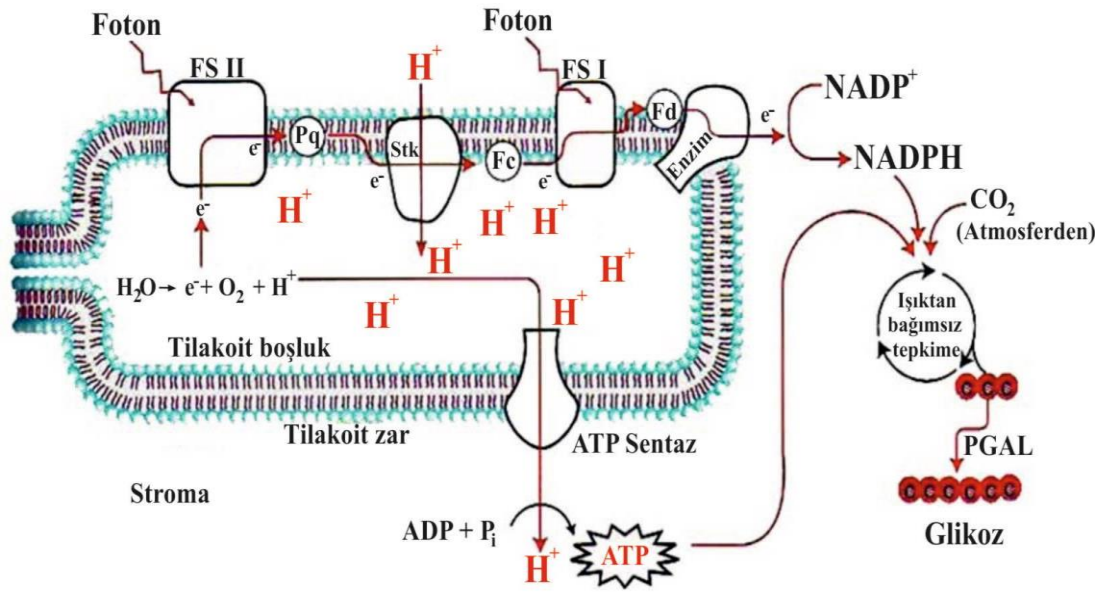


Şekil 1.3. Fotosistemlerdeki elektron akışı: PS I ve PS II elektronları sudan NADP^{++} ye taşımakta birlikte çalışır. Her iki fotosistem, fotosentezin O_2 oluşturan ışık reaksiyonlarında birlikte iş görmektedir. Doğada gündüzleri her iki fotosistem birlikte uyarılıp, fotonlar soğurulduğunda, PSI reaksiyon merkezinden elektron (e^-) A_0 , A_1 ve Fe-S proteinleri yoluyla uzaklaştırılır ve stromada bir elektron taşıyıcı olan ferrodoksin (Fd) iletilir. Her iki sistem birlikte uyarıldığı için, gerekli indirgeyici potansiyel sağlandığından, Fd bu elektronu, yine stromada elektron taşıyıcı bir flavoprotein olan Ferrodoksin- NADP^+ redüktaz (FNR) etkinliğinde NADP^{++} e aktararak, onu $\text{NADPH} + \text{H}^+$ şeklinde indirger. (Elrad, Niyogi ve Grossman, 2002'den değiştirilerek alınmıştır).

Kloroplastlarda, devresel ve devresel olmayan elektron taşınması ile ATP sentezi gerçekleşmektedir. Her iki elektron taşınması yolunda, plastokinin mekiği işleriyle, stromadan granum lümenine taşınan protonların yanı sıra, oksijen oluşturuucu kompleksin suyun fotolizinden lümenine saldıgı protonlar, lümen ile stroma arasında önemli bir elektrokimyasal potansiyel farkı oluşturur (Lemaire ve Wollman, 1989; Shinohara vd., 1999). Granum lümeninde bu yollarla konsantrasyonu artan protonların, tilakoit zarın lipit yatağından geçmeleri olanaksızdır (Delvin ve Witham, 1983; Salisbury ve Ross, 1985; Maruyama vd., 2003).

Bu protonlar, ATP sentezin transmembran kanalı içinden daha düşük bir elektrokimyasal gradiyente doğru akarken saldıkları akış enerjisi, zarın stroma

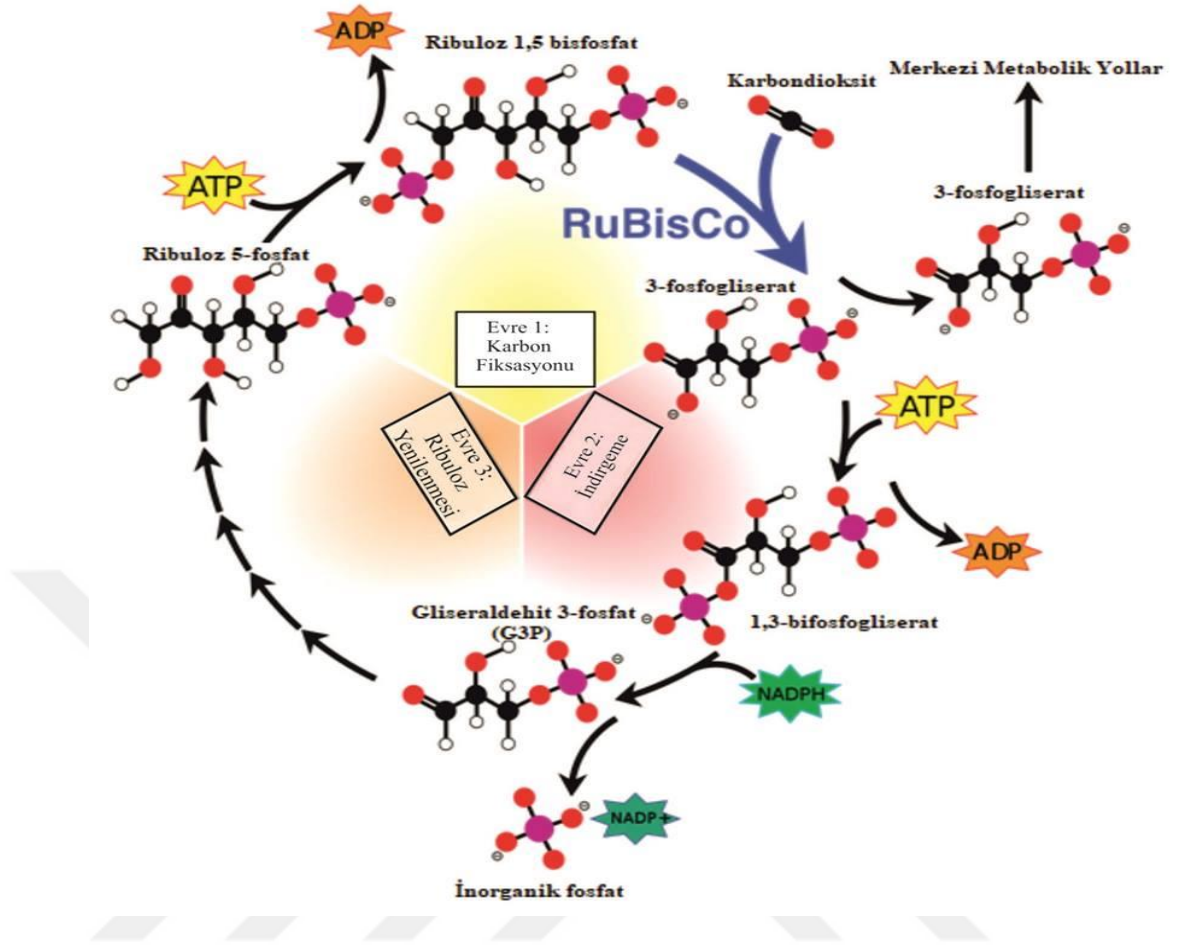
tarafında ATP senteziyle yakalanır. Devresel elektron akışı ve devresel olmayan elektron akışı ile sağlanan proton hareket gücü, devresel fotofosforilasyon ve devresel olmayan fotofosforilasyonla ATP sentezini sağlamaktadır (Arnon vd., 1950; Barber ve Archer, 2001). Böylece PS I etkinliği sadece ATP sentezini sonuçlandırırken, PS II etkinliği, aerobik yaşam için gerekli olan oksijen çıkışının yanında, ATP ve indirgenmiş NADPH oluşumunu sağlamaktadır (Rurainski, Theiss ve Zimmermann, 1977; Moss ve Bendall, 1984). Işık tepkimeleri, güneş enerjisini kullanarak suyu parçalar ve elektronlar (e^-), protonlar (H^+), ve oksijen (O_2) serbest kalır. Bu elektron ve protonlar biyolojik sistem için önemli ATP ve NADPH sentezinde kullanılır. ATP ve NADPH oluşumu ile bitki artık atmosferin karbondioksitini karbonhidratlar biçiminde indirgemeye, yani karanlık reaksiyonlar sürecine hazır duruma gelmiştir (Şekil 1.4.).



Şekil 1.4. Tilakoitlerdeki proton ve elektron akışını, ATP ve NADPH sentezini gösteren model (URL-3'ten değiştirilerek alınmıştır).

Calvin çemberi kloroplastların stromasında karboksilasyon (karbon tutulması), indirgenme (redüksiyon) ve karbondioksit (CO_2) alıcısının (Ribuloz 1,5-bifosfat-RuBP) yenilenmesi (rejenerasyon) olarak üç safhada gerçekleşir (Benson ve Calvin, 1947). Karboksilasyon safhasında atmosferin CO_2 'i Rubisco enzimi etkinliğinde beş karbonlu bir bileşik olan RuBP ile yakalanır ve su katılımı ile ya

da indirgenerek kararlı ürün olan 2 molekül 3-fosfogliserat (3-PGA) oluşur. Calvin çemberinin tek indirgen reaksiyonunda oluşan PGAL moleküllerinden bir kısmı kloroplastlarda nişasta oluşumunda kullanılarak, pek çok bitki türünde ana fotosentetik ürünü oluştururlar. Bazı 3-PGA molekülleri ise kloroplast dışında, yani sitosole taşınırlar. Bazıları da üç karbonlu triozfosfatlara benzer şekilde, dihidroksiaseton fosfata dönüşerek, kloroplast dışına taşınmaktadır. Bu triozfosfatlar, sitosolde heksoz fosfatları oluşturur. Bunlar da fruktozanların, sakkarozun ve hücre çeperi polisakkaritlerinin sentezinde öncül madde olarak ve ayrıca bitkinin diğer yüzlerce bileşiğinin yapımında kullanılmaktadır. RuBP yenilenmesinde oluşan pentoz fosfatlardan ksiluloz-5-P bir epimeraz ile riboz-5-P ise bir izomeraz ile ribuloz-5-P haline izomerize olurlar. Bu fosforile şeker de ATP tarafından yeniden fosforile edilerek, Calvin çemberi reaksiyonlarının başlangıç maddesi olan ve çemberin sürekliliğini sağlayan molekül olan ribuloz-1,5- bisfosfat haline dönüşür. Böylece, sonuç olarak Calvin çemberinde RuBP yeniden oluşur ve bu molekülün yeniden bir CO₂ molekülü yakalaması ile çember reaksiyonları tekrar dönmeye başlar (Şekil 1.5.). Calvin çemberi reaksiyonlarıyla CO₂ bağlaması ve indirgemesi yapan bitki türlerine, karanlık reaksiyonlarda oluşan ilk kararlı ürün 3 karbonlu bir madde fosfogliserat olduğundan, C-3 bitkileri adı verilmiştir (Benson ve Calvin, 1947).



Şekil 1.5. Calvin çemberi (URL-4'ten değiştirilerek alınmıştır).

1.1.2. Solunum Metabolizması

Canlı hücrede gerçekleşen tüm metabolik olaylar enerji gerektirir. Fotosentez ürünleri, büyüme ve gelişmede kullanılacak yapı taşları ve enerjiye ancak solunum reaksiyonları ile dönüşebileceği için, büyüme ve gelişme fotosentez ve solunum dengesi ile yakından ilişkilidir. Gündüz fotosentez ve solunum birlikte gerçekleşir ve ışık varlığında fotosentez hızı genel olarak solunum hızından daha yüksektir. Hızlı büyüme ve gelişim aşamasındaki genç doku ve organlardaki solunum hızı olgun, yavaş büyüyen doku ve organlarda gerçekleşen solunum oranına göre daha yüksektir. Çünkü bu dokularda enerji, aminoasitler, pürin bazları, pirimidin bazları, şeker fosfatları, organik asitler ve diğer metabolitler gibi yapı taşları ve öncü moleküllerin gereksinimi daha yüksektir (Van Oijen, Bastiaans ve de Goey, 2010; Atkinson ve Urwin, 2012).

Görüldüğü gibi solunum ile ATP ve öncü bileşikler sentezlenmektedir. Oluşan bu bileşiklerde ise anabolik reaksiyonlar ile nükleik asitler, proteinler, depo maddeler, hücre çeperi materyali, klorofil pigmentleri sentezlenir. Solunumda temel yakıt molekülü veya solunum substratı heksoz şekerler ve özellikle de glikozdur. Bundan başka nişasta, fruktozanlar, sakkaroz ve diğer şekerler, yağlar, organik asitler ve bazen proteinler de solunum substratı olarak kullanılan önemli organik bileşiklerdir. Bununla birlikte floemde esas olarak taşınan bileşik sukroz olduğu için solunumun temel substratı olarak kabul edilmektedir. Solunum substratları özellikle de karbohidratlar, solunum reaksiyonlarına girmeden önce heksoz şekerlere dönüşmek zorundadır. Hücre, hücresel yapıların zarar görmesini önlemek için, bir dizi aşamalı reaksiyonla sukroz oksidasyonundan serbest kalan büyük miktardaki serbest enerjiyi dağıtır. Söz konusu bu reaksiyonlar “glikolizis, sitrik asit döngüsü, pentoz fosfat yolu ve oksidatif fosforilasyon” olmak üzere dört ana grupta toplanır (Kuptz, Fleischmann, Matyssek, Grams ve Tee, 2011).

Bitkilerde fotosentez sadece yeşil doku ve organlarda gerçekleşirken, solunum tüm dokularda oluşabilmektedir. Fotosentez ve solunum olayları gündüz birlikte işlemektedir. Bu nedenle solunum ile fotosentez ürünlerinin bir kısmı kaybolur. Otsu bitkiler ile yapılan çalışmalarda, fotosentez ile günlük olarak kazanılan karbonun %30-60'ının solunumla kaybedildiği belirlenmiştir. Ancak yaşlı bitkilerde bu değerler daha düşüktür (Poorter, Remkes ve Lambers, 1990).

Genç ağaçlar fotosentezle yaptıkları üretimin yaklaşık 1/3'ünü solunum ile tüketebilirler ancak olgun ve yaşlı ağaçlarda fotosentetik aktif alanların da fotosentetik olmayan doku ve organlara oranının azalmasıyla bu miktar artış gösterebilir. Bununla birlikte ağaçlarda solunum hızı genotip, solunumun gerçekleştiği organın yaşı ve tipi, dış oksijen konsantrasyonu, sıcaklık, besin ve su ilavesi gibi çevresel değişkenlere bağlı olarak da değişebilmektedir (Delucia, Drake, Thomas ve Gonzalez-Meler, 2007).

1.2. Azot Metabolizması

Bitkilerin yapısında karbon, hidrojen ve oksijenden sonra en bol bulunan elementlerden biri azottur. Yüksek bitkiler azotu topraktan inorganik formda alabilirler. İnorganik azot toprakta nitrat (NO_3^-) ve amonyum (NH_4^+) halinde bulunur. Bitkiler tarafından alınan bu azot formları, indirgeme reaksiyonları ile bitkilerin kullanabileceği form olan amonyağa dönüştürülür. Köklerdeki amonyum ve nitratın asimilasyonunun aminoasit ürünleri ya köklerdeki proteinlerde toplanırlar veya ksilem içinde gövdeye taşınırlar. Birçok bitkide köklerden diğer organlara taşınan temel aminoasit glutamin (Pilbeam ve Kirkby, 1992), bazı türlerde ise asparagindir (McClures ve Israel, 1979). Amino grubu halindeki azot sonradan diğer transaminasyon reaksiyonlarıyla çeşitli aminoasitlere transfer edilir ve aminoasitler proteinlere katılır. Bitkilerdeki azotlu bileşiklerin en önemlileri aminoasitlerdir. Bu bileşikler hücrel komponentlerin ve hücre çeperi matriksinin elemanı olarak yapıya katılma (Paungfoo-Lonhienne vd., 2008), bazı hormonlar (oksin, etilen), pigment ve ayrıca sekonder bileşiklerin öncülerini oluşturma (Karkonen ve Koutaniemi, 2010), hücre içi redoks dengesi ve ozmotik dengenin düzenlenmesi (Poulin, Dishion ve Haas, 1999), asimilatların taşınması (Lacointe vd., 1993; Brugieres, 1999), mineral ve bazı organik bileşiklerin şelatlanması gibi rolleri ile bitki büyüme ve gelişiminde önemli rol oynamaktadır (Sharma ve Dietz, 2006; Simon-Sarkadi, Kocsy, Varhegyi, Galiba ve Ronde, 2006).

1.3. Oksidatif Etki ve Antioksidan Metabolizma

Oksidatif stres, singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), süperoksit molekülü ($\text{O}_2^{\bullet-}$), H_2O_2 ve hidroksil radikalleri (OH^{\bullet}) gibi serbest radikallerin sentezi ve oldukça toksik olan bu moleküllerin bitkisel dokularda oluşturduğu hasar olarak tanımlanmaktadır (Deepak, Shailasree, Kini, Shetty ve Mitho, 2007). Serbest radikaller, eşleşmemiş elektron içeren moleküllerdir. Radikal olmayan molekül ya da atomdan bir elektron (e^-) çıkarılmasıyla veya bir elektron eklenmesiyle oluşabilir. Başka moleküllerde e^- alışverişi yapabildiklerinden organizmada yükseltgeyici veya indirgeyici olarak rol oynarlar. ROS'lar bitkilerde; kloroplastlarda fotosentez

reaksiyonlarında, plastit ve peroksizomlarda; mitokondride sitrik asit döngüsünde hücre çeperi peroksidazları, amino oksidazlar, NADPH oksidaz gibi enzimlerin etkisiyle oluşan en önemli serbest radikallerdir (Dacosta ve Huang, 2007). Bununla birlikte bitkilerde en önemli hücre içi serbest radikal üretim bölgesi kloroplasttır (Kumaran ve Karunakaran, 2006). Bu bileşikler normal koşullarda da sentezlenirler ancak normal koşullarda hücre içerisindeki ROS miktarı antioksidan savunma sistemi ile denge halindedir. Ancak bitkilerin büyüdüğü ortam koşulları tek düze değildir (Singleton, Orthofer ve Lamuela-Raventós, 1999; Das ve Roychoudhury, 2014). Çevresel koşulların değişimi ya da optimal koşullardan sapma, ROS miktarının artmasına ve bitkilerde oksidatif hasarın uyarılmasına neden olmaktadır. Araştırmacılar toleranslı tür ve çeşitlerde ROS miktarının düşük, antioksidan savunma sisteminin ise daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Halliwell, 2006; Kısa, 2018).

1.4. ROS Çeşitleri ve Oluşum Mekanizmaları

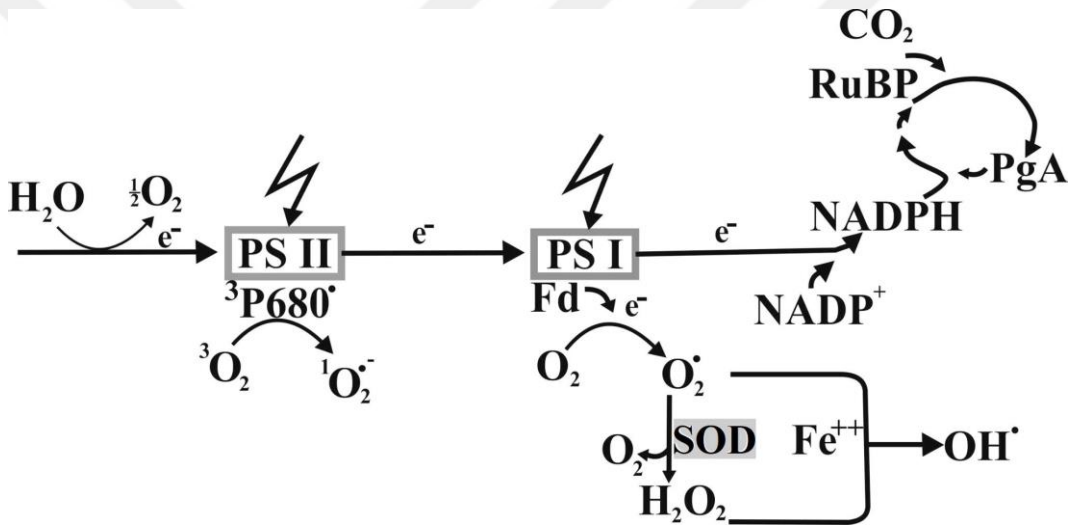
Bitkilerde oksijenden türevlenmiş en yaygın serbest radikaller arasında süperoksit anyonu (O_2^-), singlet oksijen (1O_2), H_2O_2 ve hidroksil radikali (OH^-) bulunmaktadır. Süperoksit anyonu O_2 'ye bir elektron eklenmesi ile oluşurken; H_2O_2 iki elektron eklenmesi, OH^- üç elektron eklenmesi son olarak dört elektron eklenmesiyle su oluşabilir (Tablo 1.1.) (Liu, Borchert, Surazynski, Hu ve Phang, 2006).

Tablo 1.1. *Reaktif oksijen türlerinin DNA (Deoksiribonükleik asit), protein ve lipitlerle etkileşimleri* (Büyük, 2002'den değiştirilerek alınmıştır).

Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	Etkileşim		
	DNA	Protein	Lipit
Hidroksil radikal (OH^-)	Evet, (Guanin, 5' C şeker)	Hızlıca	Hızlıca
Singlet oksijen (1O_2)	Evet (Guanin)	Trp, His, Tyr, Met, Cys	Çoklu doymamış yağ asitleri
Hidrojen peroksit (H_2O_2)	Var	Evet	Güçlülükle (Sistein)
Süperoksit anyon (O_2^-)	Yok	Evet, (Demir-sülfür merkezi)	Güçlülükle

1.4.1. Singlet Oksijen (1O_2)

Yüksek ışık şiddeti koşullarında Fotosistem II’de (PS II) uyarılmış tipler formundaki klorofil moleküllerinden moleküler oksijene geçebilir. Oksijenin eşleşmemiş elektronlarından birinin bulunduğu orbitalden başka bir orbitale veya kendi spin yönünün tersine yer değiştirmesi sonucunda 1O_2 oluşabilir (Barber, Morris ve Buchel, 2000). Araştırmacılar singlet oksijenin kolayca reaksiyona girme ve lipoksigenaz özellikleri ile bazı aminoasitlerin çifte karbon bağları ve sülfidril grupları ile reaksiyona girerek oksidasyona neden olduğunu bildirmişlerdir (Şekil 1.6.) (Fischer, Hideg ve Krieger-Liszkay, 2013).



Şekil 1.6. Moleküler oksijen (O_2) ile triplets klorofilin (T^*) etkileşimi sonucu singlet oksijenin (1O_2) oluşumu (Edreva, 2005’den değiştirilerek alınmıştır).

1.4.2. Süperoksit Anyonu (O_2^-)

Kloroplastın tillakoidal zarlarında lokalize olmuş Fotosistem I (PS I) ve Fotosistem II (PS II)’ de elektronlar ferrodoksin aracılığıyla $NADP^+$ verilmesi gerekirken oksijene verilebilir. O_2 ’nin elektron alarak indirgenmesi ile kararsız O_2^- radikali oluşur (Fridovich, 1986).



Elektronların NADP^+ yerine moleküler oksijene verilmesi NADPH^+ oluşumunu engellediği için fotosentezin karanlık reaksiyonlarında indirgen şekerlerin sentezlenmesi baskılanmaktadır (Ros Barceló, 1998b).

1.4.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

H_2O_2 , serbest radikal değildir ancak yapısında su içermesi nedeniyle zar yapısından kolayca geçebilen ve birçok oksidanın oluşumuna neden olabilen önemli bir bileşiktir (Ros-Barceló, Pomar, Lopez-Serrano, Martinez ve Pedreno, 2002). Bu bileşik moleküler oksijenin iki elektron alması ile oluşabildiği gibi süperoksit anyonunun bir elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki hidrojen atomuyla birleşmesinden de oluşabilir (Foyer ve Halliwell, 1976). Bunun yanı sıra iki süperoksit molekülü SOD aktivitesi ile iki proton (H^+) alarak H_2O_2 oluşumuna yol açabilmektedir (Ros Barceló, 1998a).



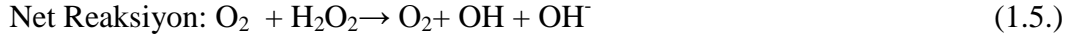
Oksitleyici olan türlerden biri de hidrojen peroksittir. Bu bileşik fenton reaksiyonu ile enzimlerin, proteinlerin, fosfolipidlerin, karbohidratların ve DNA yapısına zarar verebilmektedir (Slesak, Libik, Karpinska, Karpinski ve Miszalski, 2007).

1.4.4. Hidroksil Radikal (OH^-)

Biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü ve toksik oksidantlardır. Hücrelerin OH^- temizleyici enzimleri olmadığından lipitler, proteinler ve nükleik asitler dâhil tüm biyolojik bileşikler ve yapılar ile reaksiyona girerek oksidasyona neden olabilir (Fantel, 1996; Betteridge, 2000).

Hidroksil radikali oluşum reaksiyonları aşağıda özetlenmiştir (Halliwell, 1981; Song ve Hein, 2004).

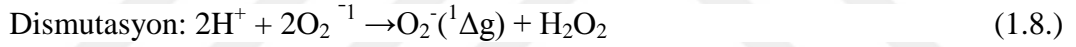
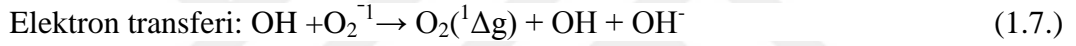
1. Geçiş metalleri etkisi ile oluşumu (Fenton Reaksiyonu)



2. Hidrojen peroksitin süperoksit radikali ile reaksiyonu (Haber-Weiss Reaksiyonu)



3. Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda



1.5. Lipit Peroksidasyonu

Lipitlerin peroksidasyonu, canlı hücrelerde gerçekleşen en zararlı süreçlerden biridir. Hücre ve organel membranlarında ROS değeri eşik değere ulaştığında meydana gelmektedir (Montillet vd., 2005). Membran yapısında bulunan doymamış yağ asidi zincirinden serbest radikallerin etkisi ile bir H^+ uzaklaştırılır ve böylece yağ asidi zinciri bir lipit radikali özelliği kazanır. Oluşan radikal O_2 ile tepkimeye girerek lipit peroksil radikalini oluşturur. Lipit peroksil radikali diğer lipitlerle zincir reaksiyonunu başlatır ve lipit hidroperoksitler oluşur ve MDA en önemli ürünüdür (Akkuş, 1995). MDA; hücre membranlarındaki elektron yük değişimine etki ederek, bileşiklerin çapraz bağlanmasına neden olur ve enzim aktivitesinin, iyon geçirgenliğinin değişimi gibi olumsuz durumlara sebep olur (Montillet vd., 2005). Lipit peroksidasyonu, membran bütünlüğünün bozulmasına ve elektrolit geçirgenliğinin artmasına neden olur. Kalsiyum (Ca^{+2})

ve Sodyum (Na^+) gibi iyonların geçişini ve enerji mekanizmalarını etkileyebilir (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

1.6. Antioksidan Savunma Sistemi

Bitkiler, oksidatif stresin oluşturacağı zarardan korunmak için antioksidan savunma sistemi içermektedir. Araştırmacılar bu sistemi “enzimatik ve enzimatik olmayan” bileşenler olarak iki gruba ayırmıştır. Enzimatik bileşenler arasında SOD, APX, monodehidro askorbat redüktaz (MDHAR), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR), glutatyon redüktaz (GR), CAT ve peroksidaz grubundan olan diğer enzimler bulunmaktadır. Askorbik asit (AsA), glutatyon, α -tokoferol, flavonoidler, fenolik bileşikler ve karotenoidler gibi bileşikler ise nonenzimatik antioksidanları oluşturmaktadır (Fryer, Oxborough, Mullineaux ve Baker, 2002; Foyer ve Shigeoka, 2011; Kısa, Elmastas, Öztürk ve Kayır, 2016).

1.6.1. Enzimatik Antioksidanlar

1.6.1.1. Askorbat peroksidaz

Doğrudan OH^\cdot , süperoksit ve singlet oksijen ile reaksiyona girmektedir. Fotosentezin düzenlenmesi ve ışığın zararlı etkilerine karşı metabolizmanın korunmasında önemli görevleri vardır. Prostetik grup olarak metal iyonu bulduran enzimlerin aktivitelerinin korunmasında da önemli bir role sahiptir. En az beş farklı izoformdan (tAPX, gmAPX, sAPX, cAPX gibi) oluşur. APX CAT'a kıyasla H_2O_2 'ye karşı daha yüksek bir affiniteye sahiptir (Hsu ve Kao, 2007; Singh, Khan, Nazar ve Anjum, 2008).

1.6.1.2. Katalaz

Oksijene maruz kalan canlılarda bulunan yaygın bir enzimdir. Esas olarak peroksizomlarda lokalize olmuştur. Yapısında 4 ‘hem’ grubu bulundurur. CAT, SOD tarafından inhibe edilmesi sırasında oluşan H_2O_2 'yi su ve moleküler oksijene parçalayarak elimine etmektedir (Granger, Rutili ve McCord, 1981;

Koltuksuz vd., 1999). CAT, H₂O₂'e spesifiktir, diğ er organik peroksitlere etki etmez (Siems, Van Kuijk ve Maas, 1994.).

1.6.1.3. Süperoksit dismutaz

SOD'lar oldukça yüksek katalitik etkinlikte ç alış an metalloproteinlerdir (Fridovich, 1986). O₂⁻'i H₂O₂'e dönüş türürler. Aktif merkezinde yer alan metal iyonlarına göre üç tane izoenzimi bulunmaktadır. Bunlar; mangan içeren mangan (Mn) SOD, bakır (Cu) ve ç inko (Zn) içeren Cu/ Zn SOD ve demir (Fe) içeren Fe SOD'lardır (Edreva, 2005). Yapılan araş tırmalarda SOD ifadelerindeki artış ın oksidatif stresle baş a ç ık mada ve bitkilerin stres koş ulları altında canlılığ ını sürdürmesinde önemli rolleri olduğu ileri sürülmüş tür (Harinasut, Poonsopa, Roengmongkol ve Charoensataporn, 2003; Gapinska, Sklodowska ve Gabara, 2008; Attia, Karray ve Lachaa, 2009).

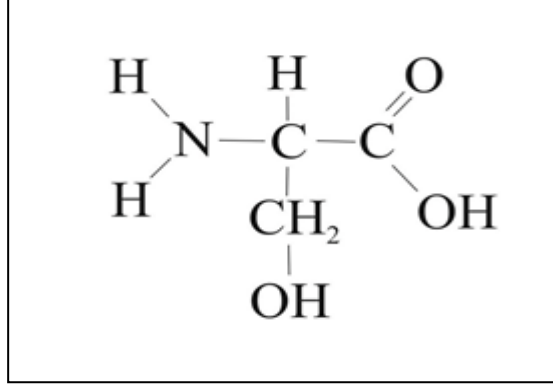
1.6.2. Nonenzimatik Antioksidanlar

1.6.2.1. Karotenoidler

Karotenoidler izopren birimlerinden oluş muş , fazla sayıda karbon-karbon ç ifte bağ ı içeren, lipit yapılı ve oldukça kararlı organik bileş iklerdir (Foyer, Lelandais ve Kunert, 1994). Kloroplastlarda, kromatoforlarda ve bitkinin diğ er plastitlerinde değ iş en oranlarda bulunabilirler. Fotosentetik aktif dokularda ış ıđ ın yakalanması, fotosentez sırasında oluş an serbest radikallerin ve radikalik klorofil moleküllerinin temizlenmesi ve ayrıca tillakoidal membranların kararlılığ ının sağ lanmasında rol almak üzere üç farklı görevi olduğu bildirilmektedir (Andersson ve Barber, 1996; Horton, 2012).

1.6.2.2. Prolin

Prolinin hidroksprolinde de olduğu gibi, karbon atomunda serbest amino grubu yerine imino grubu içeren bir aminoasit çeş ididir. Proteinlerin dü z zincirlerinde ř iş kinliklere neden olur. Yapısına katıldığ ı bileş iklerin esnekliğ ini azalttığ ı için gerilimlerin kırılmasını sağ lar (ř ekil 1.7.).



Şekil 1.7. Prolinin kimyasal yapısı.

Hücre bölünmesi, yeni doku ve organ oluşumu sırasında ve ayrıca bitki büyüme ve gelişimi için gerekli optimal koşullar değiştiğinde, doku ve organlardaki miktarının artış gösterdiği bildirilmektedir (Bernhardt ve Tierney, 2000; Ashraf ve Foolad, 2007). Hücre bölünmesi, genişlemesi ve fonksiyonlarına göre yeni dokulara farklılaşması sırasında hacmi, şekli ve yapısı, turgor nedeniyle değişmektedir. Bu nedenle plazma zarını kuşatan çeper materyalinin turgor basıncı değişimlerine karşı dirençli bir yapıda olması gerekmektedir (Heuer, 1999; Lamport, Kieliszewski, Chen ve Cannon, 2011). Bu da ancak çeper proteinleri dâhil çeper materyali bileşenlerinin kimyasal ve biyokimyasal modifikasyonları ile sağlanmaktadır. Araştırmacılar prolinin, deoksiribonükleik asit, protein ve enzimlerin stabilizasyonunu artırması nedeniyle strese toleransın artırılmasında katkısının çok büyük olduğunu ifade etmişlerdir (Szabados ve Savourè, 2009). Ayrıca membran yapısının korunması, serbest radikallerin sentezlenmesi, klorofil biyosentezine katılması, gerekli koşullarda glikoza çevrilerek enerji kaynağı sağlaması açısından da önemli olduğu bilinmektedir (Tanner, 2008; Mattioli, Costantino ve Trovato, 2009).

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Bir ağaç türünün yaşam süresini tahmin etmek ve onu etkileyen faktörlerin anlaşılmasında, büyüme ile ilgili neden-sonuç ilişkilerinin belirlenmesi önemli bir adımdır. Ağacın boyu, çapı, göğüs yüzeyi, hacmi ve ağırlığında görülen gelişmeler araştırma ve incelemelere konu olmuştur. Ancak ağaç türlerinde organik kütlenin oluşumunda rol oynayan kimyasal bileşenlerin yaşa bağlı olarak değişimi üzerine çok fazla çalışma yapılmamıştır. Ağaçlar da fenotip, metabolik ve kimyasal reaksiyonlar yaşa göre önemli değişiklikler gösterdiğinden, ağaçların kimyasal içeriklerinin yaşa bağlı olarak araştırılması büyük önem taşımaktadır. Bu kısımda yaşa bağlı olarak ağaçlarda çap, yaprak karakteristikleri, fotosentetik pigmentler, prolin, toplam çözünür protein, glikoz ve sukroz gibi indirgen şekerler, oksidatif metabolizma ve antioksidan bileşiklerin değişimine ilişkin yapılmış literatür özetleri verilmiştir.

Carsus ve Çatal, (2010), 1994-1997 yılları arasında Kastamonu, Zonguldak ve Sinop bölgelerinde yayılış gösteren Doğu kayını (*Fagus orientalis* L.) ağaçlarında yaş, boy ve çap değişimlerinin kabuk kalınlığı üzerine etkilerini belirlemek için tahmini modellerin gelişimini çalışmıştır. Bu amaçla, araştırmacılar 41 ile 260 yaş arası ağaçları 20'şer yıllık ara ile 11 gruba (1=41-60, 2=61-80; 3=81-100,, 11=241-260), 10 ile >30 m boy aralığındaki ağaçları ise 3 gruba (I =10- 19.9 m; II =20- 29.9 m ve III \geq 30) ayırmışlardır. Araştırmacılar çalışma sonucunda birinci boy grubunda bulunan ağaçların çap ve kabuk kalınlığının diğer gruplara göre (2 ve 3) daha ince olduğunu ve ayrıca 241-260 yaş aralığındaki ağaçlarda çap ve kabuk kalınlığının ise en yüksek değerde olduğunu saptamıştır.

Carsus ve Çiçek, (2007), dikim yoluyla oluşturulmuş, dişbudak (*Fraxinus angustifolia* Vahl.) ağaçlarında, tek ağaçta çap artımı tahmini modelini geliştirmek için 10 yıl boyunca gözlemler yapmışlardır. Araştırmacılar ortalama meşçere yaşı 28 olan ağaçlar için 27 farklı örnek alanı seçmiştir. Araştırmacıların çap artımına (mm/yıl) ilişkin bulgularında; erken gelişim safhalarında yıllık halkaların genişliğinin arttığını ancak çap arttıkça bu değer düşüğünü, çap artımı üzerinde

yaş ile birlikte meşçere sıklığı, bonitet ve iklimsel parametrelerin de etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Jiao, Jiang, Wang, Zhang ve Zhang, (2017), Schrenk ladinde (*Picea schrenkiana* Fisch.) üç farklı yaş sınıfı (<100, >100,>200) ağaçlarda, iklim değişikliğinin çap artımı üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, gövde artımı, çap gelişimi, yıllık gelişim halkası genişliği üzerinde en fazla kuraklık, yağış ve maksimum ortalama sıcaklığın etkili olduğunu ortaya koymuşlardır.

England ve Attiwill, (2006), farklı yaş (6-240) ve boylardaki (8-10 m) okaliptus (*Eucalyptus regnans* F. Muell) ağaçlarında yaş ve boya bağlı olarak yaprak morfolojisi ve anatomisinin değişimlerini incelemişlerdir. Araştırmacılar yaş ve boy arttıkça yaprak yüzey alanının indirgendiğini buna karşın sertliğin arttığını saptamışlardır. Ayrıca yaşlı ve uzun ağaçlarda yaprak uzunluğuna göre yaprak eninin çok darlaştığını da belirlemişlerdir.

Steppe vd., (2011), yaprak fizyolojisinin ağaç boyu ve yaşıyla nasıl değiştiğini araştırmak amacıyla hem gimnosperm (*Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl., *Sequoia giganteum* Lindley, *Picea abies* L., *Pinus sylvestris* L., *Picea rubens* Sargent, *Pinus aristata* Engelman) hem de angiosperm (*Acer amoenum* Thunb., *Acer japonicum* Thunb., *Quercus faginea* Trab. not Villar, *Quercus ilex* L.) yaş, boy, yaprakların gaz değişim kapasitesi ve yaprak yapısını incelemişlerdir. Araştırma sonucunda yaprak fizyolojisinde değişikliklerden sorumlu olan temel faktörlerin yaprak anatomisi, morfolojisi, kimyası, ağaç yaşı ve boyu olduğunu belirtmişlerdir.

Hutchison, Sherman, Weber, Smith Sssinger ve Greenwood, (1990), 1, 5, 17 ve 45 yaşlarındaki *Larix laricina* (Du Roi) K. Koch ağaçlarında, yaşın fotosentez ve gen ekspresyonları üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre yaş arttıkça yaprak ağırlığı, kalınlığı, eni, klorofil miktarı ve net fotosentez ürünü artış göstermiştir. Araştırmacılar 17 yaşındaki ağaçta yaprak eninin en yüksek olduğunu, 45 yaş grubundaki ağaçlarda ise yaprak kalınlığı, ağırlığı, klorofil miktarı ve net fotosentez ürünün maksimum olduğunu kaydetmişlerdir.

Turfan vd., (2016-2017), farklı yaş gruplarındaki (18-600) orman ağaçlarında karaçam (*Pinus nigra* L.), kayın (*Fagus orientalis* L.), ceviz (*Juglans regia* L.), kestane (*Castanea sativa* L.), Uludağ göknarı (*Abies nordmanniana* subsp. *bornmulleriana* Mattf.) ve sarıçam (*Pinus sylvestris* L.) fotosentetik pigment (klorofil a, klorofil b), toplam klorofil, toplam karotenoid miktarlarını incelemişlerdir. Araştırma sonuçlarına göre; klorofil-a, 400 yaş üzeri ceviz ağaçlarında yüksek bulunurken 200 yaş üzeri karaçam ağaçlarında düşük bulunmuştur. Klorofil-b miktarı en yüksek karaçam (50 yaş üzeri), en düşük ise kayın (25 yaş üzeri) ağaçlarında bulunmuştur. Toplam klorofil miktarının ise kestane ağaçlarında (400 yaş) en yüksek, karaçam ağaçlarında (100 yaş üzeri) en düşük değerde olduğu bulunmuştur.

Weiser vd., (2003), ağaç yaşı ve mikro iklimin antioksidan metabolizması ve oksidatif stres üzerine etkilerini incelemişlerdir. Bu doğrultuda, 5 yaşındaki *Fagus sylvatica* L. fidanlarının bir bölümü güneşte bırakılmış, kalan kısmı ise 55 yaşındaki ağaçların gölgesinde yetiştirmişlerdir. Araştırmacılar incelemeleri sonunda ağaç yaşına bağlı olmaksızın güneşte yetişen kayın fidelerinin yaprak yüzey alanlarının, pigment içeriklerinin ve antioksidan savunma sistemlerinin gölgede yetişen kayın ağaçlarına göre daha düşük olduğunu; ışıktaki yetişen kayın fidelerinde ise yaprak yüzey alanının yaşlı ağaçlara oranla daha geniş olduğunu gözlemlemişlerdir. Ağaç yaşı ve ışık etkisi temel alındığında ise ışıktaki yetişen olgun kayın ağaçlarında yaprak yüzey alanı ve klorofil pigmentlerin miktarı; ışıktaki yetişen genç kayın ağaçlarına göre daha yüksek olduğunu belirlenmiştir. Araştırmacılar yaprak yapısı ve kimyasal bileşiklerde gözlenen bu değişimlerin ağaç yaşına bağlı olarak artan yaprak yüzey alanıyla ilişkili olduğunu vurgulamışlardır.

Iglesias, Lliso, Tadeo ve Talon, (2002), turuncgillerin gelişimini tamamlamış yeni yaprakları, gelişimini tamamlamış yapraklar, olgun ve yaşlı yapraklarında fotoasimilat miktarı, fotoasimilatların kaynak-havuz oranına göre dağılımını incelemişlerdir. Araştırmacılar yeni oluşan olgunlaşmamış ve yaşlı yapraklarda fotosentez hızının düşük olduğunu, tamamen gelişmiş genç yapraklarda ise oldukça yüksek değerde olduğunu belirlemişlerdir. Bunun yanı sıra heksozlar olgunlaşmamış yapraklarda tamamen gelişmiş genç ve yaşlı yapraklara göre daha

yüksek bulunurken, sukroz içeriği tamamen gelişmiş yapraklarda, nişasta ise gelişmemiş ve yaşlı yapraklarda artış göstermiştir. Araştırmacılar fotosentez ürünlerinin dağılabilecek havuz oranından fazla olması durumunda ağaçlarda karbonhidrat birikimi (nişasta) olduğunu, aşırı biriken nişastanın kloroplast zarlarını tahrip ederek büyüme ve gelişmenin baskılanmasına neden olduğunu da ifade etmişlerdir.

Copenhaver ve Tinker, (2014), Kontorta çamı (*Pinus contorta* var. *Latifolia*) yetiştirme alanında çıkan yangın sonrası yerüstü biyokütlesini yaşa bağlı olarak araştırmışlardır. Bu amaçla 21 değişik bölgeden, 24 ile 60 yaşları arasında değişen ağaçlardan yaprak örneklerini toplamışlardır. Araştırma sonucuna göre 24 yaş grubu ağaçlarındaki toplam biyokütlenin ağaçların 60 yaş grubu ağaçlardan daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Genet, Bréda ve Dufrière, (2009), kayın (*Fagus sylvatica* L.) ve meşe (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl) ağaçlarında, ağaç yaşına bağlı olarak karbon miktarının değişimini araştırmışlardır. Çalışmalarında meşe için 30-134, kayın ağaçları için 14-175 yaş aralığındaki ağaç örneklerini kullanmışlardır. Araştırmacılar ağaç yaşına bağlı olarak karbonhidrat miktarının meşe ağaçlarında 12,5 g/kg'dan 70,7 g/kg'a çıktığını, kayın ağaçlarında ise 4,3 g/kg'dan 37,4 g/kg'a çıktığını belirlemiştir. Ayrıca, kayın ağaçlarında yaşa bağlı üreme ve gelişmenin daha fazla artması nedeniyle depolanabilir karbonhidrat miktarı daha düşük ancak kullanılabilir (çözünür) karbonhidrat miktarı ise daha yüksek kaydedilmiştir.

Turfan vd., (2016-2017), farklı yaş gruplarındaki (18-600) orman ağaçları olan karaçam (*Pinus nigra* L.), kayın (*Fagus orientalis* L.), ceviz (*Juglans regia* L.), kestane (*Castanea sativa* L.), Uludağ göknarı (*Abies nordmanniana* subsp. *bornmulleriana* Mattf.) ve sarıçam (*Pinus sylvestris* L.) ibre ve yaprak örneklerinde indirgen şeker, toplam karbonhidrat ve nişasta miktarlarının değişimlerini incelemiştir. 400 yaş grubundaki kestane ağaçlarında indirgen şekerler, toplam çözünür ve karbonhidrat değerlerinin, 25 grubu ağaçlarda ise nişastanın en yüksek değerde olduğu bulunmuştur.

Kasmani J. vd., (2011), 6, 8 ve 10 yaş aralığında değişen okaliptüs (*Eucalyptus camaldulensi* Lam. not Ten.) ağaçlarında selüloz, hemiselüloz, lignin ve kül miktarını araştırmışlardır. Araştırmacılar 10 yaşındaki ağaçlarda selüloz, lignin ve ekstaktif madde miktarının en yüksek, kül miktarının ise en düşük değerde olduğunu saptamışlardır. Hemiselüloz miktarı ise 6 yaşındaki ağaçlarda en yüksek olarak belirlenmiştir.

Literatürlerde oksidatif stres ve antioksidan metabolizma üzerine ağaç yaşının etkisine dair yapılmış bileşik fazla çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte bu kısımda ülkemizde yapılan çalışmaların özet bilgileri verilmiştir.

Weiser vd., (2003) mikro iklim ve ağaç yaşının oksidatif stres ve antioksidan metabolizması üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar bu amaçla 5 yaşındaki *Fagus sylvatica* L. fidanlarının bir kısmını güneşte bir kısmını da 55 yaşındaki ağaçların gölgesinde yetiştirmişlerdir. Araştırmacılar incelemeleri sonunda ağaç yaşına bağlı olmaksızın güneşte yetişen kayın fidelerinin antioksidan savunma sisteminin gölgede yetişen kayın ağaçlarına göre daha düşük olduğunu gözlemlemişlerdir. Ağaç yaşı ve ışık etkisi temel alındığında ise ışıktaki yetişen olgun kayın ağaçlarında karotenoidler (ksantofil, lutein, karoten), askorbat ve tokoferol içeriklerinin ise ışıktaki yetişen genç kayın ağaçlarına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar kimyasal bileşiklerle gözlenen bu değişimlerin ağaç yaşına bağlı olarak artan antioksidan kapasitesi yüksekliği ile ilişkili olduğunu vurgulamışlardır.

Nuñez, Gérant, Maillard ve Bréda, (2010), 40 yaşındaki meşe (*Quercus petraea* (Matts.) Liebl.) ve kayın (*Fagus sylvatica* L.) ağaçlarında protein miktarının mevsimsel değişimini incelemek amacıyla haziran ve ekim aylarında dal, kök ve gövdeden örnekler almışlardır. Araştırma sonuçlarına göre; meşe ağaçlarında haziran ayındaki protein içeriği daha yüksek bulunmuştur.

Turfan vd., (2016-2017), farklı yaş gruplarındaki (18-600) orman ağaçlarında karaçam (*Pinus nigra* L.), kayın (*Fagus orientalis* L.), ceviz (*Juglans regia* L.), kestane (*Castanea sativa* L.), Uludağ göknarı (*Abies nordmanniana* subsp.

bornmulleriana Mattf.) ve sarıçam (*Pinus sylvestris* L.) oksidatif stres (MDA, H₂O₂) ve enzim (APX, CAT, SOD), prolin ve protein aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre; en yüksek MDA göknar (60 yaş) ağaçlarında bulunurken en yüksek H₂O₂ kestane (≥100 yaş) ağaçlarında saptanmıştır. Araştırmacılar çalışmalarında, enzim aktivitelerinin yaşa bağlı olarak önemli değişim gösterdiğini saptamışlardır. Örneğin APX aktivitesi 18 yaşındaki kayın ağacında, CAT aktivitesini anıt karaçam (≥500 yaş), SOD aktivitesini ise 100 yaşındaki göknar ağaçlarında en yüksek belirlenmiştir. Prolin aktivitesi en yüksek göknar, en düşük kestane kayıt edilmiştir. Protein ise en yüksek değeri kestane, en düşük göknar ağaçlarında bulunmuştur.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Çalışma Alanının Genel Özellikleri

Bu çalışma, Kastamonu şehir merkezine 86 km uzaklıktaki Abana ilçesi Harmason mahallesinde gerçekleşmiştir (Şekil 3.1.). Bu alan coğrafi bölge olarak Karadeniz Bölgesi'nin Batı Karadeniz Bölümü'nde $41^{\circ} 58' 48''$ kuzey enlemleri ile $33^{\circ} 59' 54''$ doğu boylamları arasında yer almaktadır. Çalışma alanının bakışı kuzey bakılı ve 14 m yükseltisi bulunmaktadır. Çalışma alanının topografik haritada ve Google Earth'de genel görüntüleri Şekil 3.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışma Alanı Google Earth görüntüsü ve Türkiye haritasındaki konumu.

Meteoroloji istasyonundan alınan iklim verilerine (1960-2014) göre; alanda yıllık ortalama sıcaklığın en yüksek olduğu ay $30,2^{\circ}\text{C}$ ile temmuz ve ağustos, en soğuk ay ise $-3,5^{\circ}\text{C}$ ile ocak ve şubat aylarıdır (Tablo 3.1.). Yaz mevsiminin nemli geçtiği alanda, en yağışlı ay $142,2$ mm ile aralıktır. En kurak ay ise $48,1$ mm ile temmuzdur (DMİ, 2014; Sarıyıldız ve Savacı, 2016).

Tablo 3.1. Çalışma alanının 1960-2014 yılları arasındaki ortalama yağış ve sıcaklık verileri (DMİ, 2014).

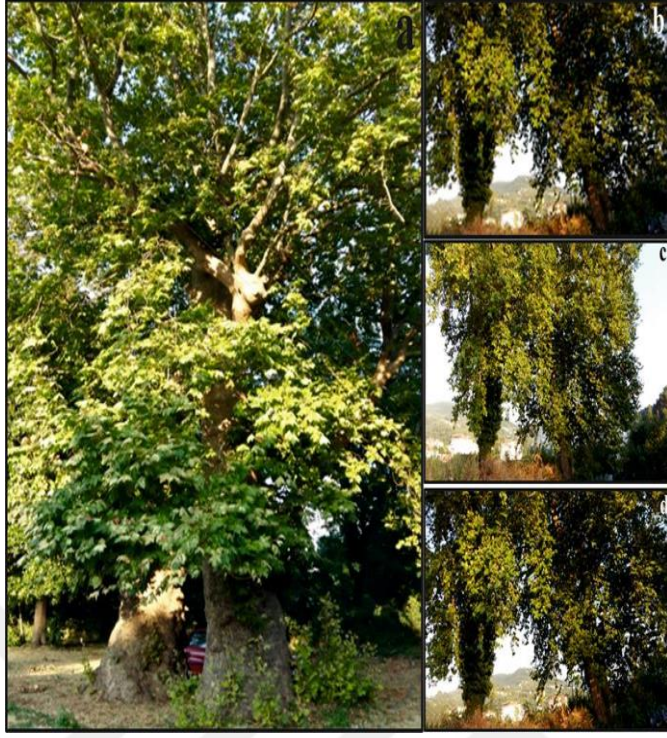
Meteorolojik Elemanlar	AYLAR												Yıllık
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Abana Max. Sıc (°C)	18.6	19.6	21.4	24.7	26.5	28.7	30.2	30.2	28.0	26.4	23.5	20.4	
Abana Min Sıc (°C)	-3.5	-3.5	-1.4	2.3	6.2	11.1	14.2	14.2	10.3	5.9	2.4	-0.6	
Abana Ort. Sıc(°C)	5.8	5.6	7.0	10.5	14.8	19.3	21.9	21.8	18.2	14.5	11.0	8.0	13.2
Abana Ort.yağış (mm)	108.9	85.0	77.7	49.7	51.8	48.9	48.1	59.1	91.8	137.7	124.4	142.2	1025.3

Maden Tetkik ve Arama (Akbaş vd., 2002)'ya göre alanın jeolojik anakayası Eoson zamanında oluşmuş, kırıntılılar ve karbonatlar (e1-2) olduğu görülmektedir (Şekil 3.2.). 2015 FAO'ya göre büyük toprak grup haritasına bakıldığında Abana ilçesindeki topraklar nemli, kambisol toprak özelliklerine sahiptir (URL-5).

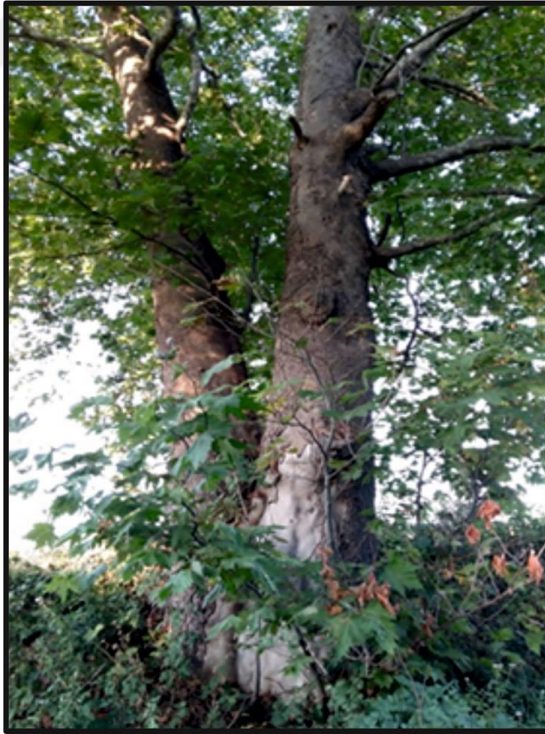


Şekil 3.2. Çalışma alanının jeolojik haritası.

Abana ilçesi Harmason mevkiisinde bulunan dört farklı yaş gruplarında çınar ağaçlarından (≥ 50 yıl, >100 yıl, >200 yıl ve >500 yıl) yaprak örnekleri (Fotoğraf 3.1.; 3.2.; 3.3. ve 3.4.) 2017 yılında Temmuz ayının 2. haftasında toplanılmıştır. Çalışma alanında bulunan 500 yaş üzeri anıt ağaçların bazı silvikültürel özellikleri ayrıntılı olarak Erik (2015) tarafından yapılan çalışmada verilmiştir. Bu çalışmaya göre, genel olarak 500 yaş üzeri anıt çınar ağaçlarının boyu yaklaşık 20 m, çevresi (130 cm göğüs yüksekliğinde) yaklaşık 550 cm ve dip çevresi ise 620 cm'dir (Erik, 2015). Çalışma alanında bizim yaptığımız ölçümler benzer sonuçlar vermiştir. Diğer yaş gruplarında yapılan ölçümlerde ise 200 yaş üzeri ağacın göğüs yüksekliğindeki (130 cm) çevresinin 191 cm, 100 yaş üzeri ağaçların çevresinin 165 cm ve 50 yaş üzeri ağaçların çevresini ise 68 cm olarak tespit edilmiştir (Tablo 3.2.).



Fotoğraf 3.1. a,b,c,d. 500 yaş üzeri ağacın çeşitli açılardan genel görüntüsü.



Fotoğraf 3.2. 200 yaş üzeri ağacın genel görüntüsü.



Fotoğraf 3.3. a 100 yaş üzeri ağacın genel görüntüsü, b. 100 ve 200 yaş üzeri ağaçların yan yana görüntüsü.



Fotoğraf 3.4. Çalışma alanının genel görüntüsü (soldan sağa 100 yaş üzeri ağaç, 200 yaş üzeri ağaç ve 500 yaş üzeri ağaç).

Tablo 3.2. Farklı yaşlı çınar ağaçlarının bazı silvikültürel özelliklerinin belirlenmesi.

≥ 500	Boy (m)	Çevre $(d_{1,30})$ (cm)	Dip Çevre $(d_{0,30})$ (cm)
	20	550	620
Yaş	≥ 200	≥ 100	≥ 50
Çevre $(d_{1,30})$ (cm)	191	165	68

Çalışma alanındaki farklı çınar ağaçlarının ortalama yaşı tayininde, 500 yaş üzeri anıt ağaç için Erik (2015) tarafından gerçekleştirilen çalışmadan faydalanılmıştır. 200, 100 ve 50 yaş üzeri çınar ağaçlarında ise her deneme alanındaki üç galip ağacın göğüs yüksekliğinden (1,30 m) Pressler artım burgusu yardımıyla alınan artım kalemleri üzerindeki yıllık halkalar sayılmıştır. Artım burgusu yardımıyla ağacın yaşı saptanırken; yıllık halka ölçümünde oluşabilecek hatayı önlemek amacıyla artım kalemlerinin birbirine dik iki yönde olmasına özen gösterilmiştir (Carus, 1995). Aynı galip ağaçların çapları ağacın üst yamacından olmak üzere, çapraz olarak cm duyarlılıkla göğüs yüzeyinden ağaç çap ölçer yardımıyla belirlenmiştir.

Çalışma alanında belirlenen, 500 yaş üzeri (2 ağaç), 200 yaş üzeri (1 ağaç), 100 yaş üzeri (1 ağaç) ve 50 yaş üzeri (2 ağaç) ağaçların alt kısımlardan ve baktığı her bir yönden tam gelişmiş ve sağlıklı taze yapraklar toplanmıştır. Taze yaprak örneklerinde fotosentetik pigment miktarları (klorofil a, klorofil b ve karotenoid), prolin, protein, lipit peroksidasyonu ve H_2O_2 , glikoz, sukroz, toplam çözünür karbohidrat içerikleri ile APX, CAT ve SOD enzim aktiviteleri belirlenmiştir.

3.2. Laboratuvarda Yapılan Çalışmalar

3.2.1. Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler analitik saflıkta olup Sigma ve Merck firmalarından satın alınmıştır. Deneylerde; analitik terazi (Precisa), ısıtmalı su banyosu (Nüve bath nb20), vortex (Velp Scientifica), spektrofotometre (T80 UV/VIS Spectrometer PG Instruments.), pH metre (Thermo Scientific Orion 4

Star), santrifüj (Elektro-mag M815 P), manyetik karıştırıcı (WisStir MSH-20A) ve mikro pipetler (Eppendorf) ile saf su cihazı (Zeneer Power) kullanılmıştır.

3.2.1.1. Kullanılan kimyasal çözeltiler

%80 Aseton: 80 ml aseton ile 20 ml saf su karıştırılmıştır.

%3 sülfosalisilik asit: 3 gr sülfosalisilik asit 100 ml saf suda çözündürülmüştür.

Asidik ninhidrin: 1,25 gr ninhidrin 30 ml glasiyel asetik asit (%96) içerisine konulmuş ve üzerine 20 ml 6 M ortofosforik asit ilave edilmiştir.

6 M orthofosforik asit: 100 ml saf su 1 000 ml balon jöjeye konulmuş, üzerine 405,5 ml ortofosforik asit ilave edilmiştir. Daha sonra 494,5 ml saf su ilave edilerek son hacim 1 000 ml'e tamamlanmıştır.

L-prolin standart stoğu: 0,025 gr L prolin tartılarak 250 ml %1' lik sülfosalisilik asit içerisinde eritilmiş ve stok hazırlanmıştır.

0,2 M Disodyum Fosfat (Na_2HPO_4). 12 H_2O : 71,64 gr tartılıp 1 000 ml saf suda eritilmiştir.

0,2 M Monosodyum Fosfat (NaH_2PO_4). 1 H_2O : 27,6 gr tartılıp 1 000 ml saf suda eritilmiştir.

50 mM NaH_2PO_4 tamponu: 0,2 M Na_2HPO_4 . 12 H_2O 'dan 43,5 ml, 0,2 M NaH_2PO_4 1 H_2O 'dan ise 6,5 ml alınmış, üzerine 0,0292 gr etilendiamintetraasetikasit (EDTA) eklenmiş ve saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Brillan Blue reaktifi: 100 mg Coomassie Brilliant Blue, 50 ml %95'lik etil alkolde çözülmüştür. Karışıma 100 ml %85'lik ortofosforik asit eklenerek 600ml'ye saf su ile tamamlanmıştır. Elde edilen çözelti filtre kâğıdından süzölmüştür.

Süzüntüye %85'lik gliserol eklenerek 1000 ml'ye saf su ile tamamlanmıştır (indikatör çözelti).

%0,1 Trichloro Asetik asit (TCA): 0,1 gr TCA, 100 ml saf su içerisinde çözündürülmüştür.

%20 TCA: 20 gr TCA 100 ml saf su içerisinde çözündürülmüştür.

Thiobarbütirik asit (TBA): 0,5 gr TBA, 100 ml %20 TCA içerisinde çözündürülmüştür.

50 mM Mono Potasyum Fosfat (KH_2PO_4) tamponu: 0,68 gr KH_2PO_4 , 100 ml saf suda eritilmiştir. 0,4 gr alınıp Sodyum Hidroksit (NaOH), 100 ml saf suda eritilmiştir. Daha sonra mM KH_2PO_4 tamponundan 50 ml alınmış üzerine 22 ml NaOH solusyonundan ilave edilmiştir. Karışım saf su ile 100 ml'e tamamlanmış pH 7 ayarlanmıştır. Bu karışım ise saf su ile 400 ml'e tamamlanmıştır.

Potasyum iyodür (KI): 16,6 gr KI, 100 ml saf suda eritilmiştir.

%1 TCA: 1 gr TCA, 100 ml saf suda çözülmüştür.

H_2O_2 tayininde kullanılan kör: 500 μl %1 TCA, 500 μl 50 mM KH_2PO_4 tamponu ve 1 000 μl KI solusyonu ile hazırlanmıştır.

H_2O_2 stoğu: 20 mg toz H_2O_2 , 40 ml %0,1 TCA içerisinde çözülmüştür.

%80 etanol: 80 ml etanol ile 20 ml saf su karıştırılmıştır.

Anthron reaktifi: 200 mg Anthron, 100 ml soğuk sülfürik asit (%96) içerisinde çözülmüştür.

%52 Perklorik asit: firmadan alınmıştır.

Glikoz stoğu: 1 gr glikoz 100 ml saf suda çözülmüştür.

Sukroz stoğu: 1 gr sukroz 100 ml saf suda çözülmüştür.

3.2.2. Klorofil ve Karotenoid Miktarının Tayini

Farklı çınar ağaçlarından toplanan yaprak örneklerinde klorofil miktarının belirlenmesi için 0,500 gr örnek 10 ml %80'lik aseton ile homojenize edilmiştir. Homojenatlar eppendorf tüplerine alınmış ve 3000 rpm'de 10 dakika santrüfuj edilmiştir. Süpernatantlar alınarak üç farklı spektrofotometre değerinde (450, 645, 663 nanometre (nm)) ölçümler yapılmıştır. Deneyle üç tekrarlı yapılmıştır. Arnon denklemi (Arnon, 1949) yardımıyla toplam klorofil miktarı, Jaspars formülü (Witham, Blaydes ve Devlin, 1971) ile de karotenoid miktarı hesaplanmıştır. Klorofil ve karotenoid miktarlarının belirlenmesinde aşağıdaki denklemler kullanılmıştır.

Klorofil a mg /gr örnek:

$$[(12,7 \times A663)] - [(2,69 \times A645)] \times [(V/1000 \times W)] \quad (3.1.)$$

Klorofil b mg/gr örnek:

$$[(22,9 \times A645)] - [(4,68 \times A663)] \times [(V/1000 \times W)] \quad (3.2.)$$

Toplam klorofil mg/gr örnek:

$$(a+b)=[(20,2 \times A645)] + [(8,02 \times A663)] \times (V/1000 \times W) \quad (3.3.)$$

Toplam karotenoid mg/gr örnek:

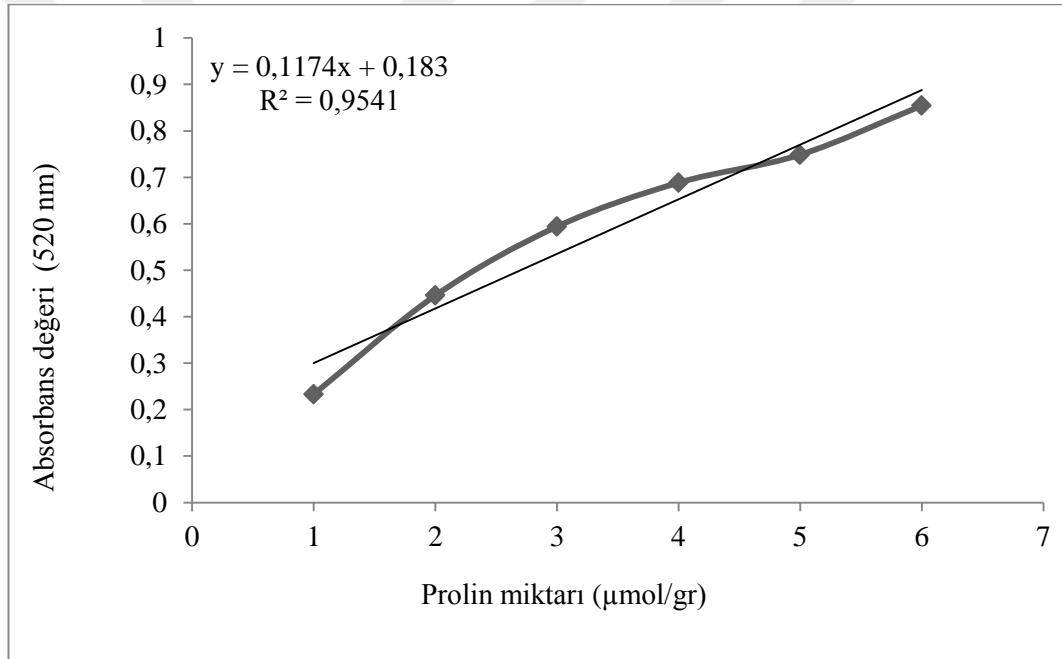
$$[(4,07 \times D450)] - [(0,0435 \times \text{klorofil a} + 0,367 \times \text{klorofil b})] \quad (3.4.)$$

3.2.3. Prolin Miktar Tayini

Prolin miktarı Bates, Waldern ve Teare, (1973) metodu kullanılarak yapılmıştır. 0,500 gr örnek, 7 ml %3'lük sülfosalisilik asitte homojenize edilmiş ve kısa süreli vortekslenmiştir. Homojenat çift kat kurutma kâğıdı ile süzölmüştür. Süzöntüden 2 ml alınarak cam tüplere (20 ml) konulmuş ve üzerine sırasıyla 2 ml glasiyel asetik asit (%96) ve 2 ml'de asidik ninhidrin ilave edilmiştir. Tüplerin ağzı

parafilm ile sıkıca kapatılmış ve toplu iğne ile küçük delikler açılmıştır. Bütün tüpler 100°C'de sıcak su banyosunda 60 dakika inkübasyona bırakılmıştır ve daha sonra tüpler buz banyosunda oda sıcaklığına soğutulmuştur. Soğuyan örnekler 4 ml soğuk toulen ilave edilerek vortekslenmiştir. Her tüpün üst kısmında oluşan pembe fazın 520 nm'de absorbansı ölçülerek kaydedilmiştir. Kör olarak ya da spektrofotometreyi dengelemek için toluen kullanılmıştır. Sonuçlar prolinden (Merck) hazırlanan standart grafik yardımıyla gr taze doku başına prolin miktarı olarak hesaplanmıştır (Grafik 3.1.)

$$\text{Prolin } \mu\text{mol: } \mu\text{g prolin} \times \text{ml (toluen)} / 115,5 / \text{örnek (gr)} / 5 \quad (3.5.)$$

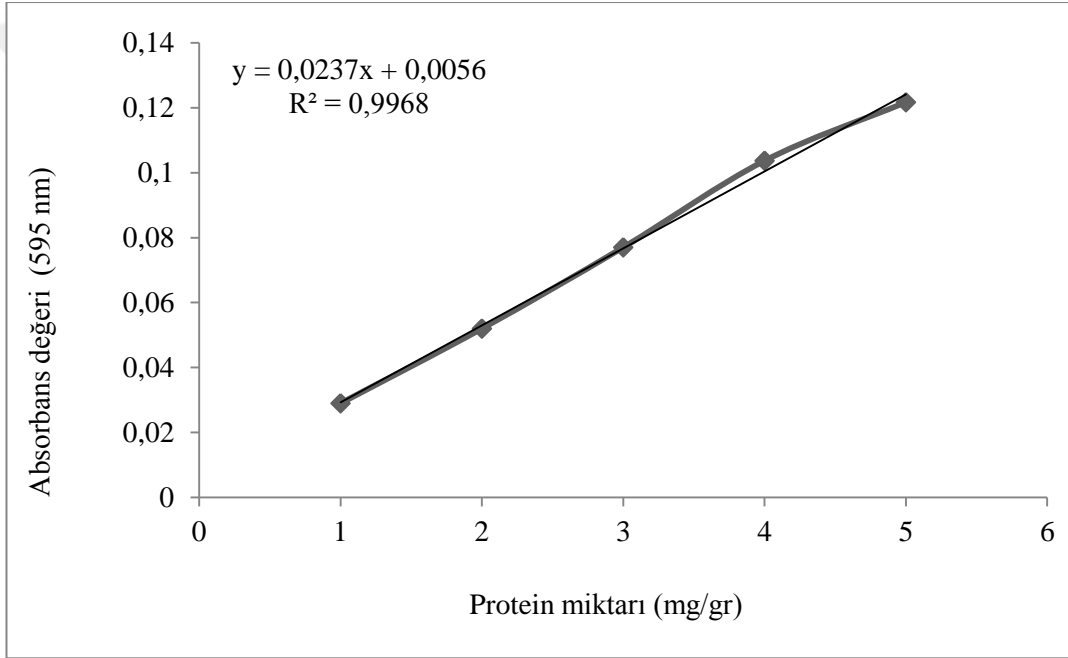


Grafik 3.1. Prolin standart grafiği.

3.2.4. Protein Miktarının Belirlenmesi

Yapraklardaki protein miktarı Bradford (1976) yöntemine göre belirlenmiştir. Yöntemde kullanılan Coomassie brilliant blue G-250 boyası negatif yüklüdür ve protein üzerindeki pozitif yüklere bağlanır. Bu boyanın kırmızı ve mavi olmak üzere çeşitli renk formları vardır. Boya ile protein bağlandığında kırmızı form mavi forma dönüşür. Protein miktarının belirlenebilmesi için 0,500 gr toz örnek, 5ml, 50 mM Nafosfat tamponu (pH 7,6) ile homojenize edilmiştir. Örneklerin

homejenizasyonu buzlu ortamda yapılmıştır. Ezilen örnek çift katlı tülbent bezi ile süzölmüş ve eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Örnekler +4 °C'te 10 000 g'de 15-20 dk santriföjlenmiştir. Süpernatantlardan 300 µl alınmış üzerine 200 µl saf su ve en son olarak da 500 µl Coomassie brilliant blue G-250 reaktifi eklenmiştir. Örnekler kısa süreli vortekslenmiş ve 10 dk karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra 595 nm de absorbanlar kaydedilmiş ve Bovin Serum Albümin (BSA) ile standartlar (0,01; 0,02; 0,04; 0,08; 0,16; 0,32 mg/ml) hazırlanmıştır. Standart grafik yardımıyla yapraklardaki protein miktarı mg/gr olarak belirlenmiştir (Grafik 3.2.).



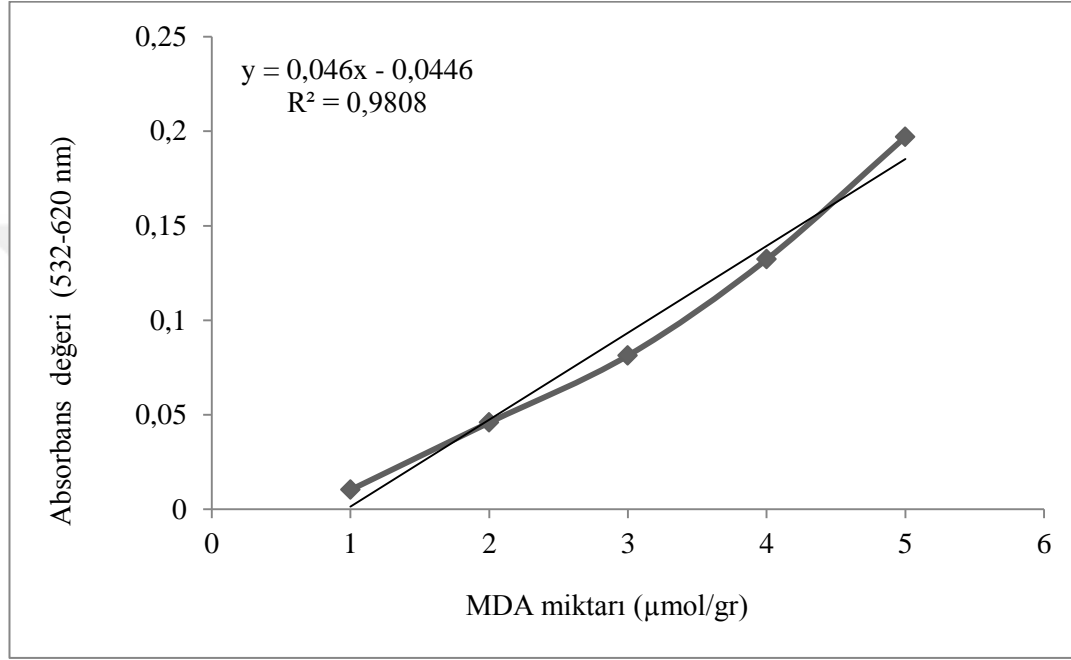
Grafik 3.2. Protein standart grafiği.

3.2.5. Malondialdehid Miktar Tayini

MDA miktarı Lutts, Kinet ve Bouharmont (1996) tarafından önerilen yöntem esas alınarak yapılmıştır. 0, 500 g örnek 5 ml %1'lik TCA eklenmiş, kısa süre vortekslenerek çift kat tülbent bezi ile süzölmüştür. Homojenat 10.000 rpm devir hızında 10 dakika süreyle santriföj edilmiştir. Süpernatanttan 1 ml alınarak 10 ml cam tüplere aktarılmış ve üzerine 1 ml TBA ilave edilmiştir. Karışım 95 °C' deki sıcak su banyosunda 60 dakika bekletilmiş ve buz banyosunda oda sıcaklığına soğutulmuştur. Örnekler spektrofotometrede (T80 UV/VIS Spectrometer PG

Instruments Ltd) 532 ve 600 nm’ de okutulmuştur. İçerisinde %20 TBA bulunan %0,1’lik TCA kullanılmıştır. Yapraklardaki MDA konsantrasyonu, 155 mMc⁻¹ olan “extinction (soğurma) katsayısı” kullanılarak µmol/g olarak belirlenmiştir (Grafik 3.3.).

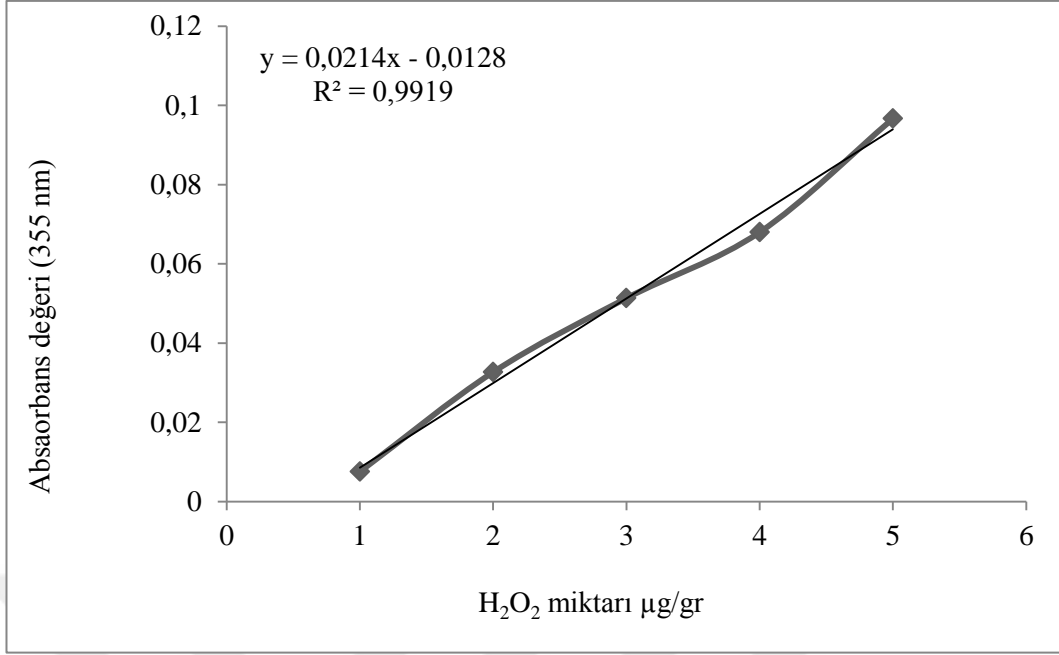
$$\text{MDA: } (A_{532}-A_{600}) \times \text{ekstrakt hacmi (ml)}/155/\text{cm} \times \text{örnek miktarı (mg)} \quad (3.6.)$$



Grafik 3.3. MDA standart grafiği.

3.2.6. Hidrojen Peroksit Miktar Tayini

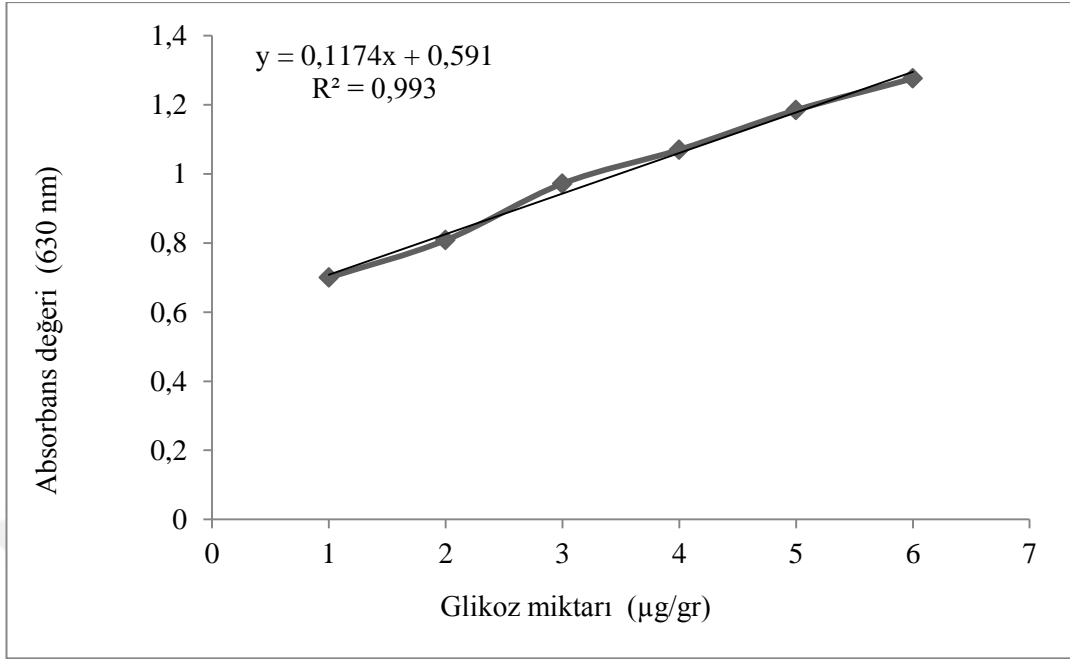
0,500 gr yaprak örneği 5 ml %1’lik (w/v) TCA’da homojenize edilmiştir. Homojenat 12 000 gr’de 10 dk santrifüjlenmiştir. 0,5 ml süpernatant üzerine 10 mM (pH 7) fosfat tamponu ve 1 M KI ilave edilerek 355 nm’de absorbans ölçülmüştür (Velikova, Yordanov ve Edrava, 2000). 2, 4, 8, 16, 20 ve 24 µl konsantrasyonlarında hazırlanan standartlardan elde edilen grafik yardımıyla H₂O₂ miktarı belirlenmiştir (Grafik 3.4.).



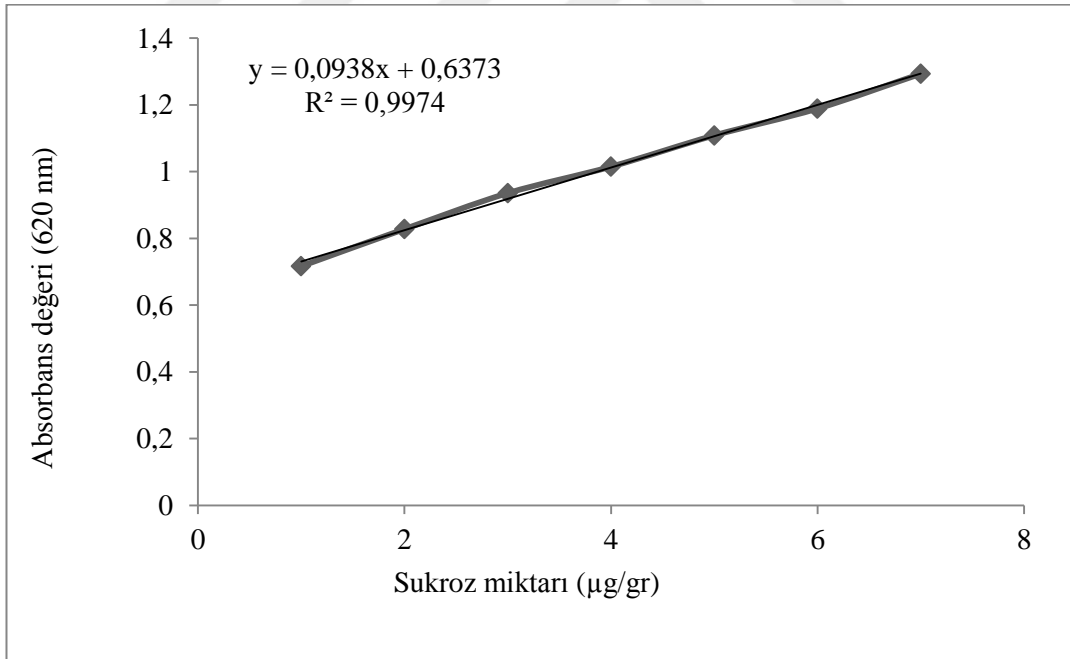
Grafik 3.4. H₂O₂ standart grafiği.

3.2.7. Glikoz, Sukroz ve Toplam Çözünür Karbonhidrat Tayini

Şekerler ve toplam çözünür karbohidrat miktarı anthron metodu (Pearson, Melon ve Ronald, 1976) kullanılarak yapılmıştır. 1 gr örnek içerisinde 50 ml %80'lik etanol olan balon jölelere konulmuş ve +4 °C'ta 24 saat inkübe edilmiştir. Homojenat çift katlı filtre kâğıdından (kaba kurutma kâğıdı da olur) süzölmüş (süzüntü 1) ve etanolü 2-3 ml kalacak şekilde 60 °C'lik su banyosunda buharlaştırılmıştır. Kalan posa ise 30 ml saf su içerisinde +4 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kalan posa ise 30 ml %52'lik periklorik asit ilave edilerek +4 °C'ta 24 saat inkübe edilmiştir. Karışım süzölmüş ve bu süzöntü de sukroz tayininde kullanılmıştır. Glikoz ve sukroza ait süzöntülerden 2 ml alınmış ve cam tüplere konulmuştur. Tüpler kısa süreli vortekslenmiş ve üzerin 5 ml anthron reaktifi ilave edilmiştir. Karışım 10 dk sıcak su banyosunda inkübasyona bırakılarak reaksiyonun başlaması sağlanmıştır. Tüpler buz banyosunda oda sıcaklığına soğutulmuş ve glikoz için 630 nm, sukroz için ise 620 nm'de absorbansları okunmuştur. Glikoz ve sukroz miktarları her bir bileşik için hazırlanmış standart grafikleri yardımıyla µg/gr olarak hesaplanmıştır (Grafik 3.5. ve 3.6.). Toplam çözünür karbohidrat miktarı glikoz miktarı esas alınarak ölçölmüştür.



Grafik 3.5. Glikoz standart grafiği.



Grafik 3.6. Sukroz standart grafiği.

3.2.8. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi ve Ekstraktların Hazırlanması

Enzim ekstraktlarını hazırlamak için; 0,500 gr 50 mM'lık (içinde 0,1 mM Na-EDTA bulunan, pH 7,6) fosfat tampon çözeltisi ile (5 ml) homojenize edilmiştir. Sonrasında örnekler 10 000 gr ve + 4'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatantta APX, CAT ve SOD enzimlerinin aktiviteleri ölçülmüştür.

3.2.8.1. Askorbat peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi

APX enzim aktivitesi Nakono ve Asada (1981)'ya göre belirlenmiştir. EDTA (0,1 mM), H₂O₂ (1 mM), AsA (0,25 mM) ve enzim örneği içeren 1 mL 25 mM (pH 7) fosfat tamponu kullanılarak reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. 290 nm dalga boyundaki absorbans değerleri kayıt edilmiş, 2,8 mM⁻¹ cm⁻¹ katsayısı kullanılarak APX aktivitesi hesaplanmıştır.

3.2.8.2. Katalaz aktivite tayini

CAT aktivitesi; Bergmeyer (1974) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenmiştir. Reaksiyon ortamında 50 mM sodyum fosfat (pH 7,4), 300 µl H₂O₂ ve 50 µl örnek ekstraktı kullanılmıştır. Küvet içindeki reaksiyon hacmi 2 ml olarak belirlenmiştir. Kör olarak H₂O₂ ve tampon kullanılmıştır. H₂O₂ eklenmesiyle reaksiyon başlatılmış ve 240 nm'de 2 dakika süresince absorbans değerindeki değişim kayıt edilmiştir. Reaksiyonun başlangıç ve bitiş anlarındaki absorbans değerleri aktivite hesaplamalarında kullanılmıştır. CAT'a ait ε değeri soğurma katsayısı olup 40 mM⁻¹cm⁻¹'dir. Aşağıdaki formülle, mililitredeki protein miktarına bölünerek spesifik aktivite (SA) değerleri hesaplanmıştır. SA'nın birimi µmol/ml/dakika: ünite/mg'dır.

$$SA: \Delta Abs(240) / \text{dakika} * V(\text{ml}) / \epsilon \text{ mM} * V(\text{enzim}) * C_{\text{protein}} \quad (3.7.)$$

3.2.8.3. Süperoksit dismutaz aktivitesinin belirlenmesi

SOD aktivitesi, Nitro blue tetrazolium kloridin (NBT) ışık altında O_2^- tarafından indirgenmesi yöntemine göre ölçülmüştür. Reaksiyon karışımı 50 mM sodyum fosfat (pH 7,8), 0,1 mM EDTA, 48,75 mM metionin, 180 μ M NBT, 60 μ M riboflavin içerecek şekilde hazırlanmıştır. NBT'nin ve riboflavinin ışıktan olumsuz etkilenebilecekleri ihtimali göz önünde bulundurularak solüsyon ışık geçirmeyen (amber) şişelerde hazırlanmış ve bu iki kimyasal, karışıma en son ilave edilmiştir. SOD ölçümünde tek dalga boyu kullanıldığı için, hata payını en aza indirmek amacıyla örnekler üç tekrarlı çalışılmıştır. Cam tüplere öncelikle 50, 100 ve 150 μ l olacak şekilde enzim örneklerinden ilave edilmiş ve son hacim 3 ml olacak şekilde tüplerin üzerine reaksiyon karışımı ilave edilerek vortekslenmiştir. Ağızları kapak ile kapatılan tüpler 30 dakika süre ile $300 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışığa maruz bırakılmıştır. Sürenin tamamlanmasının ardından örneklerin absorbans değerleri 560 nm'de spektrofotometrede okunmuş ve yüzde inhibisyon hesaplaması için kaydedilmiştir (Beyer ve Fridovich, 1987). SOD aktivitesi birimi EU/ mg Protein'dir.

3.2.9. İstatiksel Yöntemler

Farklı yaş gruplarındaki çınar ağacı yapraklarının kimyasal analizlerinde (fotosentetik pigment, prolin, toplam çözünür protein, glikoz ve toplam karbohidrat miktarları, MDA ve H_2O_2 konsantrasyonları, APX, CAT ve SOD aktiviteleri) denemeler 3 tekrarlı olarak yapılmıştır ve elde edilen veriler istatiksel olarak karşılaştırılmıştır. Özellikle, korelasyon testi kapsamında tekrar sayısı karşılaştırma için yeterli ve güvenilir sonuçlar sağlamayabilir. Yine de elde edilen sonuçlar tablolar halinde sunulmuştur.

Yapılan ölçümler sonucu elde edilen değerler Basit Varyans Analizi (ANOVA) ile %95 güven düzeyinde karşılaştırılmıştır. Ölçülen değerler bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunması ($p < 0,05$) durumunda gruplar arası ikili karşılaştırmalar için Tukey testinden yararlanılmıştır. İstatistik analizler IBM SPSS Statistics 20 programı kullanılarak yapılmıştır.

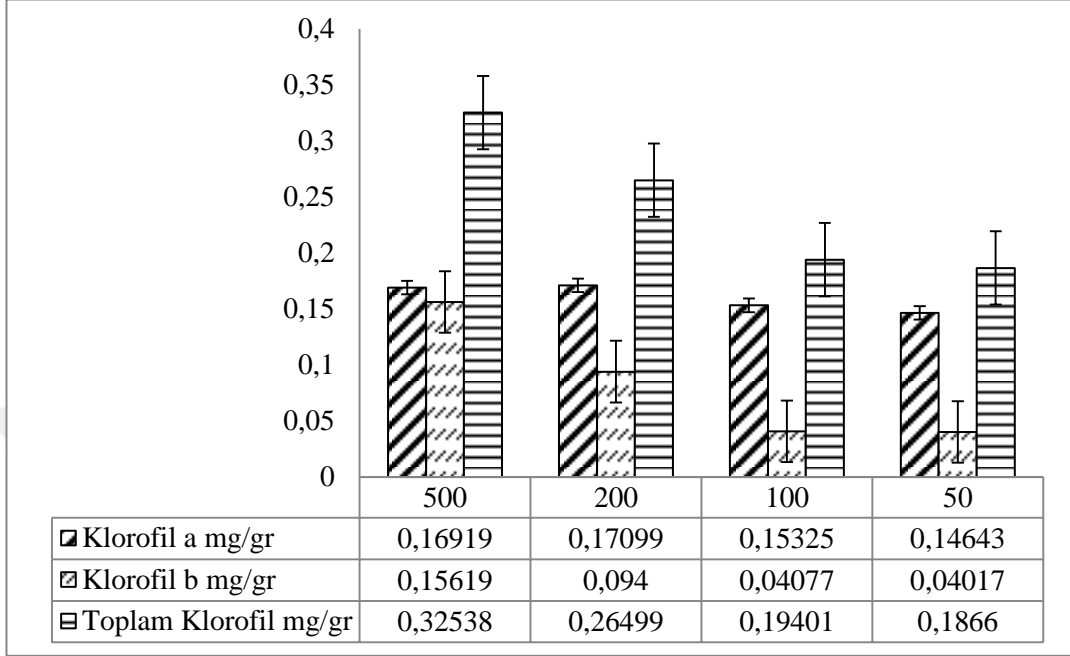
4. BULGULAR

Farklı yaş gruplarındaki çınar (*Platanus orientalis* L.) ağaçlarına ait yaprak örneklerinde belirlenen fotosentetik pigment (klorofil a, b, toplam ve karotenoid), prolin, toplam çözünür protein, glikoz, sukroz, toplam çözünür karbonhidrat miktarı, MDA ve H₂O₂ konsantrasyonu ve ayrıca APX, CAT ve SOD aktiviteleri Tablo 4.1.' de toplu halde, Grafik 4.1., 4.2., 4.3., 4.4., 4.5., 4.6., 4.7., 4.8., 4.9. ve 4.10.'da ayrı ayrı olarak verilmiştir. Verilere göre yaprak örneklerinde söz konusu bileşiklerin miktarları yaş grupları arasında önemli derecede farklılıklar göstermiştir (p< 0.05).

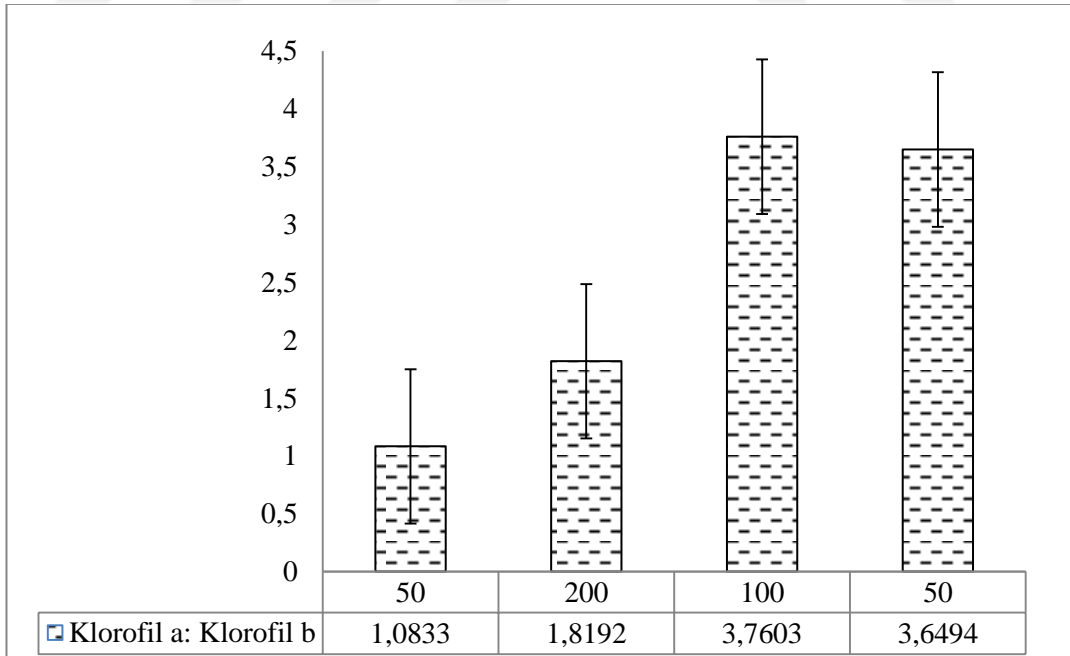
4.1. Fotosentetik Pigment Miktarı Değişimleri

Farklı yaş gruplarındaki çınar (*Platanus orientalis* L.) ağaçlarına ilişkin yaprak örneklerinde fotosentetik pigment miktarı (klorofil a, b, toplam klorofil, klorofil a: klorofil oranı ve karotenoid (mg/g) Tablo 4.1.'de verilmiştir. İstatistiksel olarak yaprak örneklerindeki fotosentetik pigment miktarları yaş grupları arasında önemli derecede farklılıklar göstermiştir (p< 0,05). Bulgulara göre ağaçlarda klorofil a, klorofil b, toplam klorofil, klorofil a: klorofil b ve karotenoid miktarı yaşlı ağaçlarda yüksek, genç ağaçlarda düşük bulunmuştur. Klorofil a miktarı sırasıyla 500 yaş üzeri anıt çınar ağacında 0,169 mg/gr, 200 yaş üzeri ağaçta 0,171 mg/gr, 100 yaş üzeri ağaçta 0,154 mg/gr ve 50 yaş üzeri ağaçta ise 0,147 mg/gr olarak belirlenmiştir. Çınar ağaçlarında en yüksek klorofil b değeri 500 yaş üzeri ağaçta (0,156 mg/gr), en düşük klorofil b içeriği ise 50 yaş üzeri ağaçta (0,040 mg/gr) saptanmıştır. Toplam klorofil miktarı 0,187 mg/gr ile 0,326 mg/gr arasında değişmiş olup, en yüksek klorofil içeriği 0,326 mg/gr ile 500 yaş üzeri anıt ağaçtan elde edilirken, en düşük miktar ise 0,187 mg/gr ile 200 yaş üzeri ağaçtan elde edilmiştir (Grafik 4.1.) Klorofil a: klorofil b oranı anıt ağaçta 1,08 kat, 200 yaş üzeri ağaçta 1,82 kat, 100 yaş üzeri 3,76 ve 50 yaş üzeri çınar ağacında da 3,64 kat olarak saptanmıştır (Grafik 4.2.). Çınar ağaçlarında toplam karotenoid miktarı 500 yaş üzeri ağaçta 13,75 mg/gr, 200 yaş üzeri ağaçta 12,11 mg/gr, 100

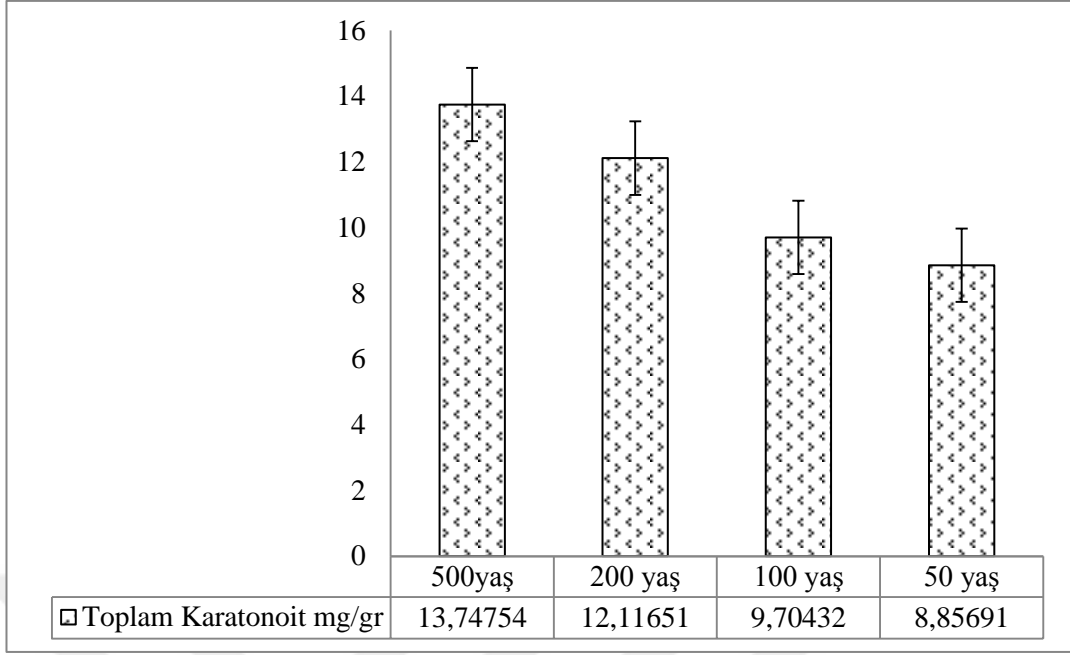
yaş üzeri ağaçta 9,70 mg/gr ve 50 yaş üzeri ağaçta 8,85 mg/gr olarak gözlenmiştir (Grafik 4.3.).



Grafik 4.1. Klorofil a, Klorofil b, Toplam klorofil miktar değişimleri.



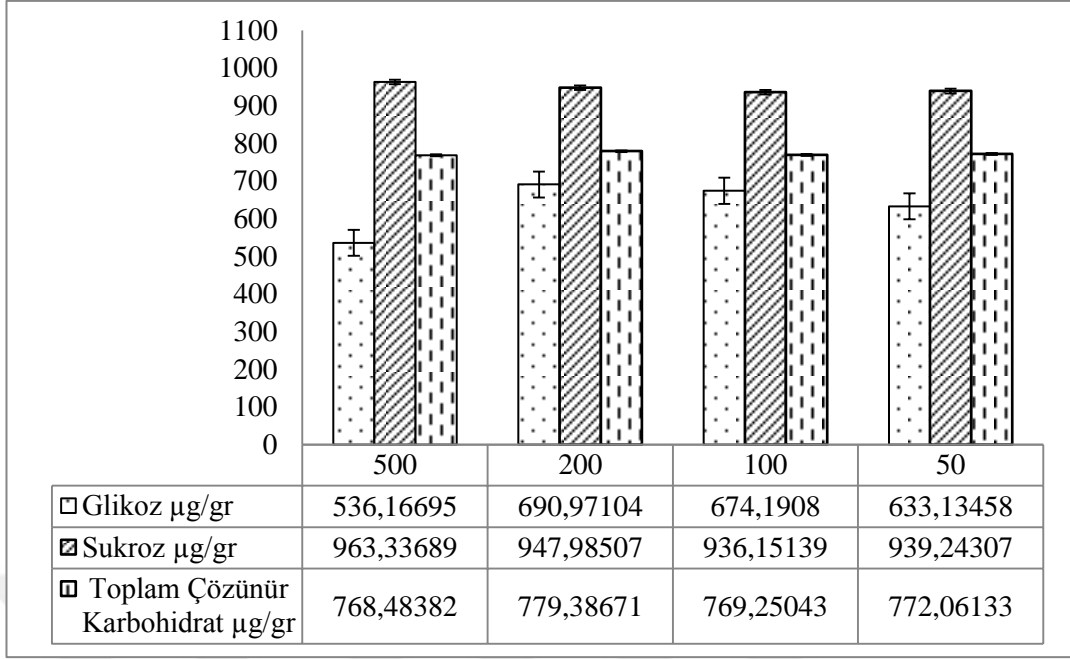
Grafik 4.2. Klorofil a: Klorofil b.



Grafik 4.3. Toplam karotenoid miktar değişimleri.

4.2. Glikoz, Sukroz ve Toplam Çözünür Şeker Miktar Değişimleri

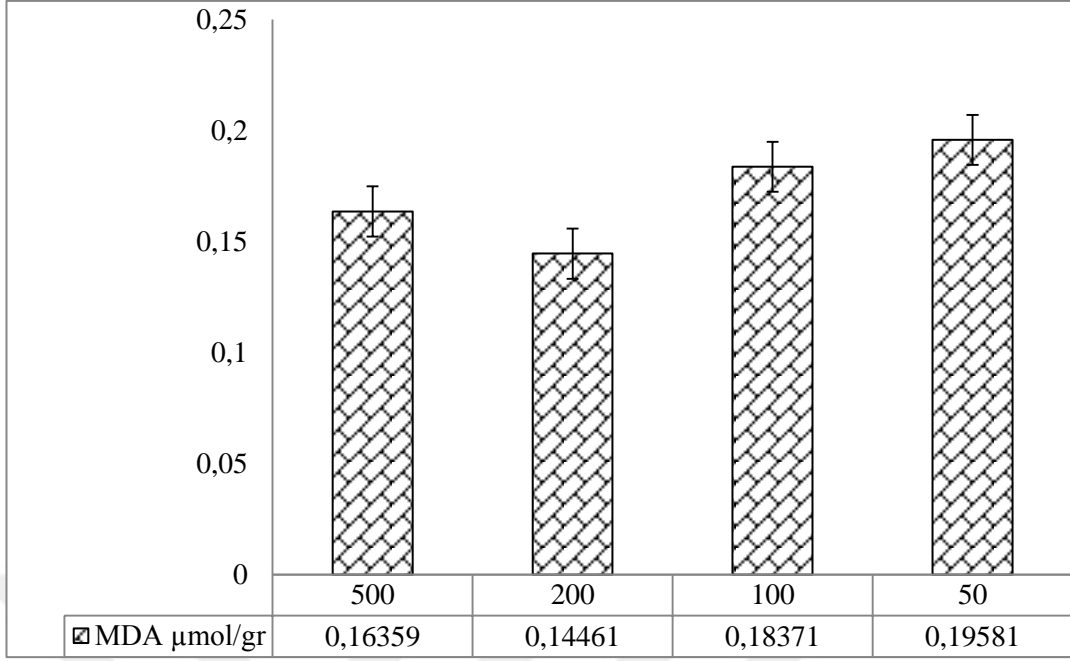
Çalışmada glikoz miktarı en yüksek 200 yaş üzeri ağaçta ($690,98 \mu\text{g}/\text{gr}$), en düşük 500 yaş üzeri ağaçta ($536,17 \mu\text{g}/\text{gr}$) bulunmuştur. Sukroz miktarı ise yaşlı ağaçlarda yüksek, genç ağaçlarda düşük belirlenmiştir. Ağaçlara ilişkin sukroz değeri sırasıyla 500 yaş üzeri anıt çınar ağacında $963,34 \mu\text{g}/\text{gr}$, 200 yaş üzeri ağaçta $947,99 \mu\text{g}/\text{gr}$, 100 yaş üzeri ağaçlarda $936,15 \mu\text{g}/\text{gr}$, 50 yaş üzeri ağaçta ise $939,24 \mu\text{g}/\text{gr}$ olarak ölçülmüştür. Toplam çözünür karbonhidrat miktarında önemli bir değişim kaydedilmekle beraber en yüksek toplam çözünür karbonhidrat miktarı 200 yaş üzeri ağaçta ($779,39 \mu\text{g}/\text{gr}$), en düşük karbonhidrat miktarı ise anıt ağaçta ($768,49 \mu\text{g}/\text{gr}$) saptanmıştır (Grafik 4.4., Tablo 4.1.).



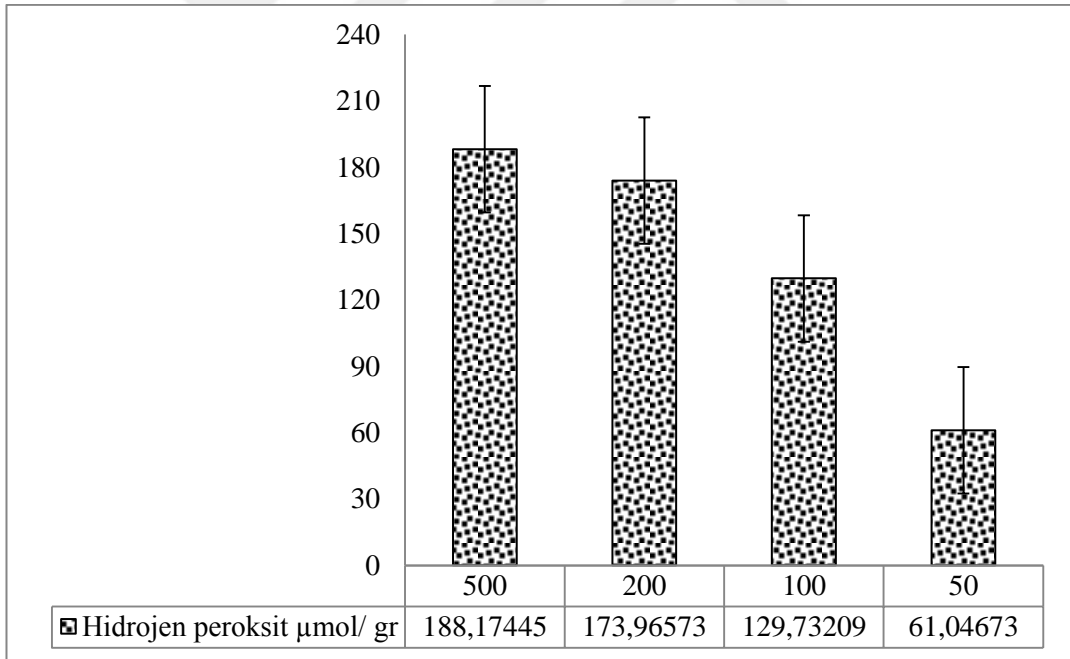
Grafik 4.4. Glikoz, sukroz, toplam karbonhidrat miktar değişimleri.

4.3. Malondialdehit ve Hidrojen Peroksit Miktar Değişimleri

Ağaçlarda MDA konsantrasyonu önemli bir değişim göstermemiştir. Ancak en yüksek MDA miktarı 50 yaş üzeri ağaçta ($0,20 \mu\text{mol}/\text{gr}$), en düşük MDA miktarı ise 200 yaş üzeri ağaçta ($0,14 \mu\text{mol}/\text{gr}$) bulunmuştur (Grafik 4.5., Tablo 4.1.). Hidrojen peroksit (H_2O_2) konsantrasyonu yaşa bağlı artış göstermiştir. Ağaçlardan elde edilen H_2O_2 miktarı sırasıyla 500 yaş üzeri ağaçta $188,18 \mu\text{mol}/\text{gr}$, 200 yaş üzeri ağaçta $173,97 \mu\text{mol}/\text{gr}$, 100 yaş üzeri ağaçta $129,74 \mu\text{mol}/\text{gr}$ ve 50 yaş üzeri ağaçta da $61,05 \mu\text{mol}/\text{gr}$ olarak belirlenmiştir. H_2O_2 miktarı anıt ağaca göre 50 yaş üzeri ağaçta %67,6, 100 yaş üzeri ağaçta %31,06, 200 yaş üzeri ağaçta %7,55 daha düşük gözlemlenmiştir (Grafik 4.6., Tablo 4.1.).



Grafik 4.5. MDA miktar değişimleri.

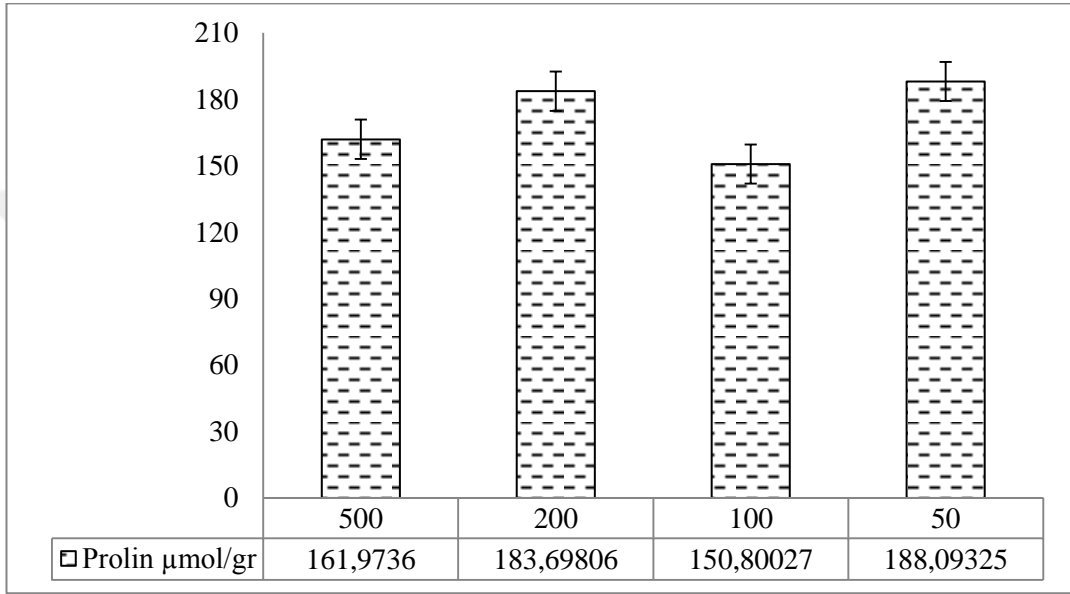


Grafik 4.6. Hidrojen peroksit miktar değişimleri.

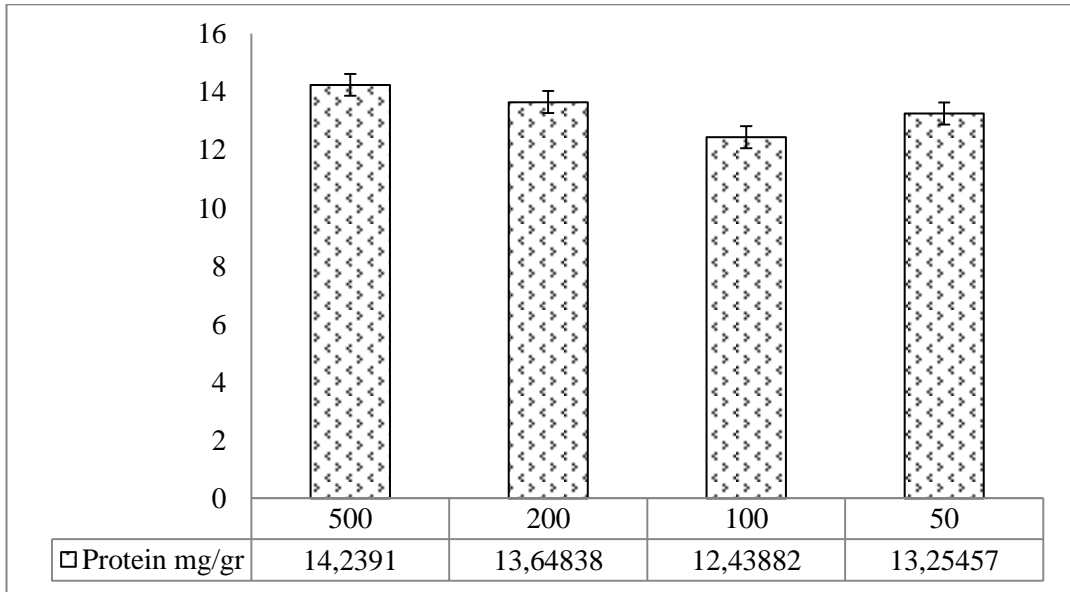
4.4. Prolin ve Toplam Çözünür Protein Miktar Değişimleri

Dört farklı yaş grubundaki çınar ağaçlarından elde edilen verilere göre prolin miktarı yaş grupları arasında farklılık göstermiştir. Prolin değeri 50 yaş üzeri ağaçta en yüksek (188,09 $\mu\text{mol/gr}$), 100 yaş üzeri ağaçta ise en düşük saptanmıştır

(150,80 $\mu\text{mol/gr}$). Anıt ağaca göre prolin miktarı ise 50 yaş üzeri ağaçta %16,13, 200 yaş üzeri ağaçta da %13,41 artış gösterirken, 100 yaş üzeri ağaçta ise % 6,9 azalmıştır (Grafik 4.7., Tablo 4.1.). Ağaçlarda toplam çözünür protein içeriği önemli bir değişim göstermemiştir. Bununla birlikte en yüksek protein miktarı 500 yaş üzeri ağaçta (14,24 $\mu\text{mol/gr}$) en düşük protein miktarı da 100 yaş üzeri ağaçta (12,44 $\mu\text{mol/gr}$) gözlenmiştir (Grafik 4.8., Tablo 4.1.).



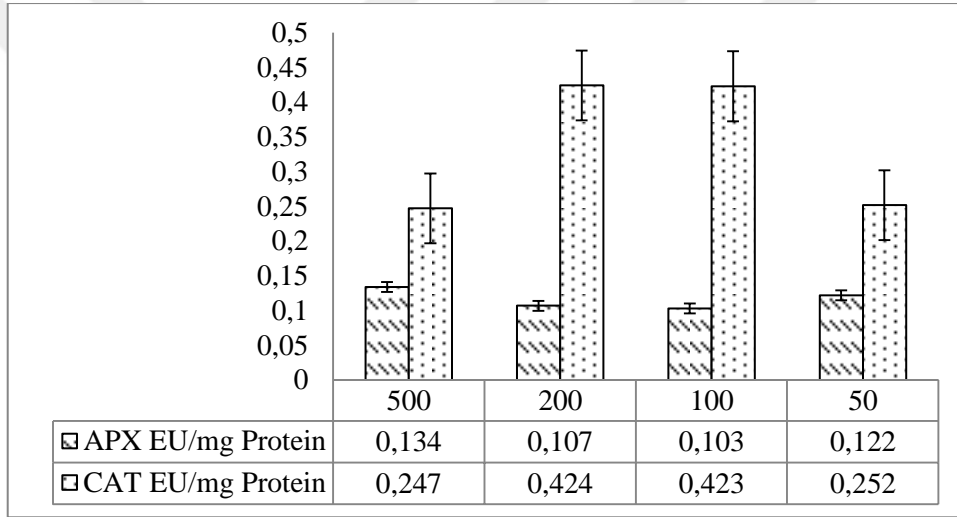
Grafik 4.7. Prolin miktar değişimleri.



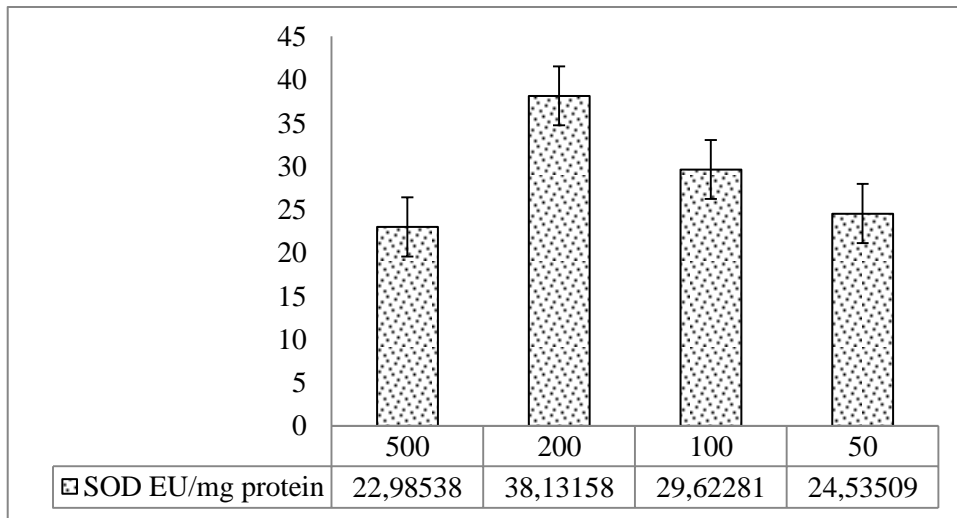
Grafik 4.8. Protein miktar değişimleri.

4.5. Askorbat Peroksidaz, Katalaz, Süperoksit Dismutaz Aktivite Değişimleri

APX aktivitesi 500 yaş üzeri ağaçta 0,135 EU/mg Protein, 200 yaş üzeri ağaçta 0,107 EU/mg Protein, 100 yaş üzeri ağaçta 0,104 EU/mg Protein ve 50 yaş üzeri ağaçta 0,123 EU/mg Protein olarak saptanmıştır. CAT aktivitesi 200 yaş üzeri ağaçta 0,425 EU/mg Protein ile en yüksek, 0,248 EU/mg Protein ile anıt ağaçta en düşük değerdedir (Grafik 4.9., Tablo 4.1.). Ağaçlarda SOD aktivitesi sırası ile anıt ağaçta 22,986 EU/mg Protein, 200 yaş üzeri ağaçta 38,132 EU/mg Protein, 100 yaş üzeri ağaçta 29,623 EU/mg Protein, 50 yaş üzeri ağaçta 24,535 EU/mg Protein olarak saptanmıştır (Grafik 4.10., Tablo 4.1.).



Grafik 4.9. APX ve CAT enzim aktiviteleri değişimleri.



Grafik 4.10. SOD enzimi aktivite değişimi.

Tablo 4.1. Farklı yaş gruplarındaki *Platanus orientalis* L. ağaçlarında klorofil a, klorofil b, toplam klorofil, Klorofil a: klorofil, toplam karotenoid, glikoz, sukroz, toplam çözümlü karbonhidrat, prolin, protein, MDA, H₂O₂, APX, CAT, SOD değişimleri.

	≥500	≥200	≥100	≥50	F	Önem Düzeyi
Klorofil a mg/gr	0,169±0,0004 ^c	0,171±0,001 ^c	0,154±0,0003 ^b	0,147±0,0010 ^a	203,62	0,002
Klorofil b mg/gr	0,156±0,0008 ^c	0,094±0,0005 ^b	0,041±0,0005 ^a	0,040±0,0010 ^a	6079,34	0,001
Toplam Klorofil mg/gr	0,326±0,0012 ^d	0,265±0,001 ^c	0,195±0,0003 ^b	0,187±0,0009 ^a	5466,16	0,002
Klorofila:Klorofilb	1,08±0,0035 ^a	1,82±0,022 ^b	3,76±0,05 ^c	3,64±0,1 ^c	555,17	0,002
Toplam Karotenoid mg/gr	13,75±0,105 ^d	12,11±0,073 ^c	9,70±0,184 ^b	8,85±0,036 ^a	385,87	0,001
Glikoz µg/gr	536,17±0,16 ^a	690,98±0,30 ^d	674,20±0,38 ^c	633,14±0,45 ^b	42531,363	0,002
Sukroz µg/gr	963,34 ±0,90 ^c	947,99 ±0,50 ^b	936,15 ±0,28 ^a	939,24 ±0,18 ^a	446,504	0,001
Toplam Çözümlü Karbonhidrat µg/gr	768,49±0,45 ^a	779,39±0,53 ^c	769,25±0,31 ^a	772,06±0,23 ^b	1847,017	0,002
Prolin µmol/gr	161,97±0,13 ^b	183,70±0,25 ^c	150,80±0,11 ^a	188,09±0,10 ^d	12947,583	0,002
Protein mg/gr	14,24±0,13 ^c	13,65±0,13 ^b	12,44±0,13 ^a	13,25±0,25 ^b	21,353	0,001
MDA µmol/gr	0,16±0,0001 ^b	0,14±0,0002 ^a	0,19±0,0001 ^c	0,20±0,0002 ^d	38765,005	0,002
H ₂ O ₂ µmol/gr	188,18±0,089 ^d	173,97±0,054 ^c	129,74±0,082 ^b	61,05±0,035 ^a	735811,236	0,002
APX EU/mg Protein	0,135±0,0010 ^d	0,107±0,0008 ^b	0,104±0,0003 ^a	0,123±0,0005 ^c	352,691	0,002
CAT EU/mg Protein	0,248±0,0013 ^a	0,425±0,0007 ^c	0,424±0,0020 ^c	0,252±0,0010 ^b	5261,057	0,001
SOD EU/mg Protein	22,99±0,13 ^a	38,13±0,05 ^d	29,63±0,22 ^c	24,54±0,18 ^b	1847,017	0,002

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemli değildir ($P<0,05$).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada farklı yaşlardaki çınar ağacı yapraklarında kimyasal bileşiklerin (fotosentetik pigment, prolin, toplam çözünür protein, glikoz, sukroz miktarı, lipit peroksidasyon seviyesi, H₂O₂ konsantrasyonu, APX, CAT ve SOD aktiviteleri değişimleri araştırılmıştır.

Bitkilerde temel yapı planı embriyogenez sırasında oluşur. Zigotun ilk asimetrik bölünmesi ile bitkilerde büyüme başlamaktadır (Jenik, Gillmor ve Lukowitz, 2007). Ardışık hücre bölünmeleri, yeni dokuların oluşumu, organ farklılaşması, kök gövde ve dallanma modellerine bağlı olarak ağaçta gelişim devam eder (Perilli, Di Mambro ve Sabatini, 2012). Morfolojik ve ortogenik süreçte bitki hücresinde en fazla değişime uğrayan yapılar; hücresel zarlar ve çeperlerdir (Berger, Hung, Dolan ve Schiefelbein, 1998; Fermer ve Muller, 2013). Bu nedenle doku ve organlardaki pigment, azotlu bileşikler, karbonlu bileşikler, enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar ve reaktif oksijen molekülleri gibi oksidatif stres ajanlarının içeriği de değişebilmektedir (Andersson ve Barber, 1996).

Klorofil a, klorofil b ve karotenoidlerden oluşan fotosentetik pigmentler ışık enerjisinin yakalanması, taşınması ve elektronların aktarılmasında rol oynayan fotoreseptörlerdir (Poethig, 2013). Ayrıca NADPH, ATP, glikoz, fruktoz, sukroz ve toplam çözünür karbohidratlar gibi karbonlu bileşiklerin sentezlenmesini de etkilemektedirler (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Yapılan çalışmalarda güneş ışığı enerjisinin aktarılmasında sadece klorofil a moleküllerinin etkin olduğu saptanmıştır. Karotenoidler ve klorofil b moleküllerinin ise fotooksidatif stresin engellenmesi, kloroplast zarlarının ve ayrıca klorofil a molekülünün yapısının korunmasında rol oynadıkları bildirilmiştir (Kommareddy ve Anderson, 2003).

Yapılan çalışmada farklı yaş grubundaki çınar ağaçlarında klorofil miktarı yaşa bağlı olarak önemli değişim göstermiştir. Klorofil a, 200 yaş üzeri ağaçta en yüksek, 50 yaş üzeri ağaçta en düşüktür. Klorofil b miktarı anıt çınar ağacında en yüksek, 50 yaş üzeri ağaçta ise en düşük belirlenmiştir (Grafik 4.1., Tablo 4.1.). Toplam karotenoid

miktarı ise yaşla birlikte artmıştır (Grafik 4.3., Tablo 4.1.). Klorofil moleküllerine ilişkin bulgular bu alanda yapılan çalışmalar ile uyum göstermiştir. Steppe vd. (2011) yaptıkları çalışmada klorofil a: klorofil b oranının yaşla bağlı olarak arttığını gözlemlemişlerdir. Bununla birlikte, ışık koşullarının doku ve organlarda pigment miktarını etkilediği de bildirilmiştir (Barber, Morris ve Buche, 2000). Turfan vd. (2016) ceviz ağaçlarında klorofil a miktarının ışık koşullarında yüksek, klorofil b miktarının ise düşük olduğunu saptamışlardır. Toplam klorofil miktarı ise genç ağaçlarda daha yüksektir.

Barnes vd. (1995) araştırmalarında kayın ağaçlarında klorofil b birikiminin güneşlenme süresince klorofil a' ya göre daha düşük olduğu saptamışlardır. Birçok araştırmacı klorofil miktarının azalmasında yaprağın gelişim durumu, morfolojisi ve fizyolojisinden de etkilendiğini ileri sürmüşlerdir (Balasubramanian vd., 2000; Baker, 2008). Örneğin Brown, Houghton ve Hendry (1991) tam gelişim göstermemiş yapraklarda pigment içeriğinin düşük olduğunu, gelişmiş yapraklarda ise arttığını gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar pigment içeriğinin azalmasında yapraktaki kloroplast zarlarının değişimleri, hücre içerisindeki radikal birikimlerinden kaynaklanmış olabileceğini de rapor etmişlerdir (Candan ve Tarhan, 2003). Bond (2000) kloroplast zarlarındaki bozulmaların, zarlarda lokalize olan pigment sistemleri ve enzimlerin yapısını, işlevlerini tahrip ettiğini ve bu nedenle de yaprak dokusunda pigment miktarlarını indirgediğini bulmuştur. Nitekim Atta vd. (2014) yüksek ışık şiddeti, deniz seviyesi, toprak özelliklerinin *Juniperus procera* Hochst. ex Endl. (Ardıç) ağaçlarında klorofil moleküllerinin kloroplast zarlarındaki bozulmalar nedeniyle azaldığını saptamışlardır.

Bond (2000), Day, Greenwood ve White (2001), Ray, Huang ve Tsuji (2012) ağaçlar yaşlandıkça solunumun arttığını, fotosentez metabolizmasının yavaşladığını saptamışlardır. Ayrıca fotosentezin yavaşlamasında klorofil miktarının azalmasının da etkili olduğunu bulmuşlardır. Barbaroux, Breda ve Dufrene (2003) genç ağaçlarda klorofilin daha yüksek olduğunu, bu ağaçlarda büyüme ve gelişme için fotosentez ürününe gereksinim olduğunu belirlemişlerdir. Bununla birlikte birçok araştırmacı yaşlı ağaçlarda da fotosentetik pigment içeriklerinin arttığını ileri sürmektedirler (Fluhr, 2009; Denness vd., 2011).

Turfan, Ayan ve Yer (2017) kayın ağacı ile yaptıkları çalışmada yaşlı ağaçlarda pigment içeriğinin genç ağaçlara oranla daha yüksek olduğunu kaydetmişlerdir. Turfan, Sarıyıldız ve Savacı 2017'de ceviz ağaçlarında yaptıkları araştırmalarında yaşlı ağaçlarda klorofil pigmentlerinin daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir. Araştırmacılara göre yaşlı ağaçlarda da fotosentetik pigmentlerin yüksek olması, yaşın yanı sıra yaprak özelliklerinden de kaynaklanmaktadır.

Bitkisel dokularda en fazla bulunan organik molekül, karbonlu bileşiklerdir. Bu bileşikler fotosentetik aktif dokularda (kaynak) sentezlenirler ve daha sonra büyüme ve gelişme olaylarında doğrudan kullanıldıkları gibi ileride kullanılmak üzere havuzlarda depolanırlar. Bu bileşikler bitkilerde genel olarak sukroz, glikoz ve fruktoz şeklinde bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda fotosentez ürünlerinin floemde sukroz olarak taşındığı bildirilmiştir (Benson ve Calvin, 1947). Çınar ağaçlarında sukroz miktarı yaşlı ağaçlarda, glikoz içeriği ise orta yaş grubu ve genç ağaçlarda yüksek olma eğilimindedir. Toplam çözünür karbohidrat miktarında ise ağaç yaşının etkili olmadığı görülmüştür (Grafik 4.4., Tablo 4.1.). Yapılan çalışmalarda karbonlu bileşiklerin doku ve organların gelişim durumu, yaş ve boy gibi faktörlere bağlı olarak değiştiği saptanmıştır (Chapin, Schulze ve Mooney, 1990; Winter, 1993). Iglesias vd. (2002), yaşlı Kantora Çamı yapraklarında glikoz, sukroz ve toplam karbohidrat gibi ozmolitlerin genç olanlara göre daha fazla bulunduğunu gözlemlemişlerdir. Hutchison vd. (1990) farklı yaş gruplarındaki (1, 5, 17 ve 45) *Larix laricina* ağaçları ile yaptıkları çalışmada sukroz, glikoz ve çözünür şekerlerin olgun ve yaşlı ağaçlarda yüksek olduğunu saptamışlardır. Ağaçların büyüme ve gelişmesinde, kök ve gövde koordinasyonu, toprak üstü/ toprak altı organların dengesi/kaynak havuz dengesi önemli rol oynamaktadır (Grove vd., 1996). Nitekim Barbaroux ve Breda (2002) yaşa bağlı olarak ağaçlarda toprak üstü ve toprak altı organların hacminin arttığını buna bağlı olarak ta su ve fotoasimilat dengesinin değiştiğini bildirmişlerdir. Yapılan diğer çalışmalarda sukroz, glikoz, fruktoz, prolin ve glisin, betain gibi ozmolitlerin turgor, ozmotik potansiyel, hidrolitik direnç gibi aktivitelerin kontrolünde iş gördüğü de bildirilmiştir. Dacosta ve Huang (2007), England ve Attiwill (2006) sukroz miktarının artan hacim ve boya bağlı olarak besin dağılımı, su iletimi ve turgorun sürdürülmesinde önemli olduğunu belirtmişlerdir.

Zar lipitlerinin fiziksel ve kimyasal yapısının enzimatik ve non-enzimatik olarak değişmesi lipid peroksidasyonu olarak isimlendirilen ve MDA, keton, aldehit gibi toksik birleşiklerin birikmesine neden olan reaksiyonları uyarmaktadır (Spiteller, 2003) ve membran yapısındaki yağ asitlerinin serbest radikallerle (ROS) (O_2^- , H_2O_2 , OH^- , $^1O^2$) etkileşimi sonucunda ortaya çıkmaktadır. Bazı araştırmacılar (de Azevedo Neto vd., 2006) doku ve hücrelerdeki MDA miktarının, zarlardaki bozulmanın bir göstergesi olabileceğini belirtmişlerdir. ROS'lar hücreyel zar yapılarını etkilediği gibi sinyal molekül olarak ta iş görmektedir. Örneğin trakeal doku farklılaşmalarında H_2O_2 'in iş gördüğü yapılan birçok çalışma ile kanıtlanmıştır (Fukuda, 2000; Foyer ve Noctor, 2011).

Çalışmada MDA miktarı yaşlı ağaçlarda düşük, genç ağaçlarda daha yüksektir (Grafik 4.5., Tablo 4.1.). H_2O_2 miktarı ise yaşla birlikte artmıştır (Grafik 4.6., Tablo 4.1.). MDA verilerine göre metabolik aktivite hızının MDA konsantrasyonunu etkilediği sonucuna varılmıştır. Mund (2004) genç ağaçlarda hücre, doku ve organ oluşumunun daha fazla olduğu için, hücrelerdeki MDA ve H_2O_2 konsantrasyonun da daha yüksek olabileceğini kaydetmiştir. Örneğin erken gelişim safhasındaki ağaçlarda kambiyal aktivite oldukça yüksek iken, ancak olgunlaşma ve yaşlanma ile birlikte bu hızın değiştiği bildirilmiştir (Walch-Liu, Neumannn, Bangerth ve Engels, 2000; Aitken ve Bemmels, 2016). Bununla birlikte ağaçlarda dengeli bir su ve asimilat iletimi, toprak üstü ve toprak altı organların hacmi ile orantılı gövde gelişimini zorunlu kılmaktadır. Birçok araştırmacı iletim demeti yoğunluğu ile trakeal farklılaşma kapasitesi arasında yakın ilişki bulunduğunu, kambiyal etkinliğin H_2O_2 , süperoksit anyonları gibi ROS türevleri ile kontrol edildiğini tespit etmişlerdir (Weijers vd., 2014). Nitekim ağaçların gövde ölçümleri bu sonucu doğrulamaktadır. Ayrıca yaşlı ağaçlarda gövde deformasyonları MDA içeriğinin daha düşük olmasında etkili olabileceği düşünülmüştür (Das ve Roychoudhury, 2014). Turfan vd. (2017) MDA ve H_2O_2 içeriğinin ağaç yaşına bağlı olarak önemli bir değişim gösterdiğini farklı yaş sınıfındaki kestane (*Castanea sativa* L.) ve kayın (*Fagus orientalis* L.) ağaçları ile yaptıkları çalışmalarında doğrulamışlardır. Araştırmacılar kayın ağacında MDA konsantrasyonu ve H_2O_2 miktarının yaşlı ağaçlarda yüksek, genç ağaçlarda düşük olduğunu saptamışlar ve bu sonucun yaprak dokusu ve gövdedeki trakeal aktiviteden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ağaçlarda topraktan yaprağa

sürekli bir su iletimi, ksilem hücrelerinin özelliklerine bağlıdır. Birçok araştırmacı suyun sütun şeklinde taşınımını sağlayan yapının, ksilemin parankimatik hücrelerinde oluşan çekirdek ölümleri ile gerçekleştirildiğini belirtmişlerdir (Koch, Sillet, Jennings ve Davis, 2004; Burg ve Ferraris, 2008; Turfan, Alay ve Sarıyıldız, 2018). Halliwell (1981), Heuer (1999) H₂O₂ üretiminin yapraklarda iletim demetlerine yakın hücrelerde yapıldığını, buradan iletim demetleri aracılığı ile diğer doku ve organlara taşındığını ifade etmişlerdir. Turfan vd. (2017) göknar ve sarıçam türleri ile gerçekleştirdikleri bir başka çalışmada ise her iki türde de MDA içeriğinin yaşlı ağaçlarda, H₂O₂ içeriğinin ise genç ağaçlarda daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Farklı yaşlardaki karaçam ağaçları ile yapılan çalışmada ise MDA ve H₂O₂ miktarının yaşla birlikte arttığı saptanmıştır (Turfan ve Alay, 2017). Ceviz ağaçlarıyla yapılan bir başka çalışmada ise sonuçlar benzerlik göstermiştir (Turfan vd., 2017). Bununla birlikte literatürlerde ağaç yaşının MDA ve H₂O₂ içeriği üzerine yapılmış fazla çalışma bulunmamaktadır. Antioksidan savunma sistemi, hücrel komponentlerin ROS'ların hasarından korunmasında iş gören birleşiklerden oluşmaktadır (Foyer ve Noctor, 2011).

Bu bileşikler normal koşullarda denge halindedir ancak yaşlanma, patojen saldırısı, yükselti ve toprak özellikleri gibi çevresel etmenlerin değişimi bu dengeyi bozmaktadır (Granger vd., 1981; Hackett, 1985). Antioksidanlar; APX, CAT, POX, GPOX gibi enzimatik ve prolin, protein, sukroz, fenolik bileşikler ve karotenoidler gibi non-enzimatik bileşikler olmak üzere iki sınıfta değerlendirilmektedir (Gill ve Tuteja, 2010). Yapılan çalışmalarda büyüme ve gelişme sürecinde bitkinin tamamında ya da farklı organlarında olgunlaşmayla birlikte hız kazanan yaşlanma süreci sonucunda hücre ve doku düzeyinde ROS miktarının arttığı gösterilmiştir (Ray vd., 2012).

Çınar ağaçlarında APX, anıt ağaçta en yüksek aktivitede iken, 100 yaş üzeri ağaçta en düşük değerdedir. CAT aktivitesi orta yaş grubu ağaçlarda artmıştır, genç ağaçlarda daha ise azalmıştır (Grafik 4.9., Tablo 4.1.). SOD aktivitesi ise anıt ağaçta en düşük, 200 yaş ve üzeri ağaçta maksimum seviyededir (Grafik 4.10., Tablo 4.1.). Bu veriler Turfan (2017) kayın ağaçları üzerine yaptığı çalışma ile benzerlik

göstermiştir. APX, CAT ve SOD aktiviteleri orta yaş grubu ağaçlarda yüksek iken genç yaş grubu ağaçlarda düşüktür.

Turfan vd. (2017) farklı yaşlardaki kestane ağaçlarıyla yaptıkları çalışmada APX, CAT ve SOD enzimlerinin genç ağaçlarda (25 yaş ve 50 yaş) arttığını saptamışlardır. Farklı yaş grubundaki ceviz ağaçları ile gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise APX ve CAT aktivitesinin anıt ceviz ağacında, SOD aktivitesinin ise orta yaş grubu (>70 ve ≥ 25) ağaçlarda arttığı belirlenmiştir. Turfan vd. (2017) ibreli türler ile yaptıkları çalışmada enzim aktivitelerinin yaşa göre değiştiği gibi türe bağlı olarak önemli değişim gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Nitekim çalışma sonucuna göre APX ve SOD aktivitesi genel olarak sarıçam ağaçlarında, CAT aktivitesi ise göknar ağaçlarında yüksektir. Bununla birlikte ağaçlarda yaşa bağlı enzim aktivite değişimlerine göre APX ve CAT aktivitesi her iki tür için yaşlı ağaçlarda azalma eğilimi gösterirken SOD aktivitesi ise artma eğilimindedir. Karaçam ağaçlarının yaşa bağlı kimyasal değişiminin incelendiği çalışmada ise enzim aktivitelerinin yaşla birlikte arttığı kaydedilmiştir (Turfan ve Alay, 2017). Dichio, Xiloyannis Sofo ve Masia (2005) farklı konsantrasyonlarda kuraklık uygulanmış 2 yaşındaki zeytin (*Olea europaea* L.) ağaçlarında enzim aktivitelerinin stresin süresi ve şiddetine bağlı değişim gösterdiğini saptamışlardır. Araştırmacılar SOD aktivitesinin orta dereceli kuraklık uygulamasında, APX aktivitesinin yüksek konsantrasyonlu kuraklık uygulamasında ve CAT aktivitesinin ise tüm koşullarda arttığını belirlemişlerdir. Literatürlerde ağaç yaşına bağlı olarak enzim aktivite değişimlerine ilişkin yapılmış çok fazla çalışmaya rastlanmamıştır. Bununla birlikte birçok araştırmacı APX, CAT ve SOD enzimlerinin bitki büyüme ve gelişmesinde gerekli metabolizmalarda rol oynadığı, bu enzimlerin abiyotik ve biyotik stres koşullarına toleransın artırılmasında iş gördüğünü bildirmektedir (Damesin, 2003; Cosgrove, 2005; Dacosta ve Huang, 2007).

Bitkisel dokularda karbonlu moleküllerden sonra en fazla bulunan bir diğer molekül azotlu bileşiklerdir. Özellikle de gelişmekte olan doku ve organların meristematik hücrelerinde aminoasitler, prolin ve protein miktarı fazladır (Millard ve Grelet, 2010). Bu bileşikler büyüme ve gelişme sürecinde yapıya katılma, karbon, azot ve enerji kaynağı olarak kullanılma, ozmotik düzenlemenin sürdürülmesi ve antioksidan

özellikleri ile oksidatif stres hasarının indirgenmesinde rol oynamaktadırlar (Phang, Liu ve Zabirnyk, 2010; Yao vd., 2012). Çınar ağaçlarında prolin miktarı 50 yaş üzeri ağaçta en yüksek, 100 yaş üzeri ağaçta ise en düşüktür (Grafik 4.7., Tablo 4.1.). Protein miktarı ise yaşa bağlı önemli bir değişim göstermemiştir. Bununla birlikte, anıt ağaçta protein miktarı en yüksek değerdedir (Grafik 4.8., Tablo 4.1.).

Prolin ve protein değerlerinin yaşa bağlı değişimlerine ilişkin bulgularımız Turfan ve Alay (2017)'ın ibreli türlerden karaçam ağaçları ile yaptıkları çalışma sonuçları ile benzerlik göstermiştir. Araştırmacılar 200 yaş üzeri ağaçta prolin miktarının arttığını, 400 yaş üzeri ağaçta ise azaldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca çalışmada protein miktarının yaşa bağlı olarak önemli bir değişim göstermediği ancak genç ağaçlarda ise kısmi bir artış gösterdiği de belirlenmiştir. Farklı yaş grubundaki kayın ağaçlarında, prolin ve protein konsantrasyonu 200 yaş ve üzeri ağaçta yüksek, 50 yaş ve üzeri ağaçta düşük bulunmuştur (Turfan vd., 2017). Araştırmacılar dokulardaki prolin ve protein miktarı üzerinde toplam azot miktarının etkili olabileceğini belirtmişlerdir. Nitekim araştırmacılar 200 yaş ve üzeri kayın ağacında azot miktarının daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Kang, Ko ve Titus (1982), Malaguti vd. (2001) da bitkilerde prolin ve protein miktarının azot havuzu ile ilişkili olduğunu ileri sürülmüştür. Ayrıca olgun ve yaşlı ağaçlarda azotlu bileşiklerin yüksek olması, hidrolitik direncin artırılmasına yönelik fizyolojik bir cevap olabileceği de bildirilmektedir (Woodruff, Bond ve Meinzer, 2004; Davi, Barbaroux, François ve Dufrêne, 2009).

Ağaçlarda yaş ile birlikte toprak üstü ve toprak altı alanlar artmaktadır. Bu da turgor ve ozmotik potansiyel ile düzenlenen çeper aktivitelerinin hızını etkilemektedir (Woodruff vd., 2004). Turfan vd. (2017) anıt ceviz ağacının yaşa bağlı kimyasal değişimlerine ilişkin yaptıkları çalışmada prolin ve protein miktarlarının orta yaş grubu ağaçta daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar bu değişimin Mn elementi miktarından kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Çünkü yaşlı ağaçta Mn miktarının düşük olmasını bu sonucu desteklediğini düşünmüşlerdir. Araştırmacılar farklı yaşlardaki kestane ağaçlarında prolin içeriğinin 200 yaş ve üzeri ağaçta arttığını, en yaşlı anıt ağaçta ise azaldığı belirlemişlerdir (Turfan vd., 2017). Toplam çözünür protein miktarı ise 100 yaş ve üzeri kestane ağacında yüksek, 50 yaş ve üzeri

ağaçta ise düşük bulunmuştur. Farklı yaşlardaki Uludağ göknarı (38, 60, 90, 100) ve sarıçam (18, 30) ibreleri üzerine yapılan çalışmada prolin ve protein miktarlarını her iki tür içinde genç yaş grubu ağaçlarda yüksek olduğunu kaydetmişlerdir (Burg ve Ferrais, 2008; Turfan vd., 2017).

Farklı yaş grubundaki çınar ağaçlarında prolin ve protein miktarına ilişkin bulgular, yaş, doku ve organların gelişim durumu, çevresel faktörlerin değişimi gibi etmenlerin bu bileşiklerin bitki içerisindeki seviyesini etkileyebileceğini göstermiştir. Dacosta ve Huang (2007), Braun vd. (2008) hücre çeperi matriksinde yer alan ve bölünmesi, hücre genişlemesi, büyümesi ve çeper aktiviterinde rol oynayan ekteksin, ekspansin gibi proteinlerin prolin ve hidroksprolince zengin olduğunu ve bu bileşiklerin çeper içerisindeki miktarın yaş, senesens, biyotik ve biyotik stres koşullarına bağlı olarak değiştiğini ifade etmişlerdir.

6. SONUÇ

Farklı yaş grubundaki çınar ağaçlarında fotosentetik pigmentler, prolin, toplam çözünür protein, glikoz, sukroz, toplam karbohidrat ve ayrıca APX, CAT ve SOD aktiviteleri ağaç yaşına bağlı olarak değişim göstermiştir.

Klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve karotenoid 500 yaş üzeri ve 200 yaş üzeri çınar ağaçlarında yüksek bulunmuştur; klorofil a: klorofil b oranı ise bu ağaçlarda en düşük değerdedir. Buna karşın klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve karotenoid miktarı ise 50 yaş üzeri ve 100 yaş üzeri ağaçlarda düşük, klorofil a: klorofil b oranı ise yüksektir.

Bitkilerde ozmotik potansiyelin düzenlenmesinde önemli rol oynayan çözünür bileşiklerde (ozmolit) sukroz ve toplam çözünür protein yaşlı ağaçlarda yüksek, prolin ve toplam çözünür karbohidrat miktarı ise 200 yaş üzeri ve 50 yaş üzeri ağaçlarda yüksek belirlenmiştir.

H₂O₂ ağaçlarda yüksek bulunmuştur. Antioksidan enzimlerden CAT ve SOD 200 yaş üzeri ve 100 yaş üzeri ağaçlarda, APX ise en yaşlı ve en genç ağaçlarda yüksektir.

Çalışma sonuçlarına göre çınar ağaçlarının uzun ömürlü olmasında toplam klorofil, karotenoid, sukroz, protein, H₂O₂ içerikleri ve APX aktivitesinin etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Aitken, S. N., & Bemmels, J. B. (2016). Time to Get Moving: Assisted Gene Flow of Forest Trees. *Evolutionary Applications*, 9: 271-290.
- Akbaş B., Akdeniz N., Aksay A., Altun İ., Balcı V., Bilginer E., vd., (2002), 1/500.00 Ölçekli Türkiye Jeoloji Haritası, *Maden Tetkik ve Arama Genel Müdürlüğü Yayını*.
- Akkuş, İ. (1995). *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*, Konya, Mimoza Yay., 1-3.
- Alexander, K., Green, T., & Key, R. (1998). *Managing our Ancient Trees*. Tree News, Spring: 10-13.
- Ally, D., Ritland, K., & Otto, S. (2010). Aging in a Long-Lived Clonal Tree and a Reappraisal of the Expanded Concept of Tree Decay. *New Phytologist*, 94: 623-641.
- Andersson, B., & Barber, J. (1996). Mechanisms of Photodamage and Protein Degradation During Photoinhibition of Photosystem II. In Photosynthesis and the Environment, N.R. Baker, ed (*Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers*), pp. 101-121.
- Arnon, D. I. (1949). Copper Enzymes in Isolated Chloroplasts. Polyphenol Oxidase in *Beta Vulgaris*. *Plant Physiology*, 24: 1-15.
- Arnon, D. I., Allen , M. B., & Whatley, F. R. (1950). *Biochim Et Biophys Acta*, 20, 449.
- Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59(2): 206-216.
- Atkinson, N. J., & Urwin, P. E. (2012). The İnteraction of Plant Biotic and Abiotic Stresses: From Genes to the Field. *The Journal of Experimental Botany*, 63, 3523-3543.
- Atta, H., Aref, I., Khan, P., Iqbal, M., Obeid, M., & Ahmed, A. (2014). Effect of Water Stress on Relative Water and Chlorophyll Contents of *Juniperus Procera* Hochst. Ex Endlicher in Saudi Arabia. International Conference on Chemical, Agricultural annd Medical Sciences (CAMS-2014) Turkey.<http://dx.doi.org/10.15242/IICBE.C514081>.
- Attia, H., Karray, N., & Lachaa, M. (2009). Light Interacts with Salt Stress in Regulating Superoxide Dismutase Gene Expression in *Arabidopsis*. *Plant Science*, 177: 161-7.

- Baker, N. R. (2008). Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis in Vivo. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 89-13.
- Balasubramanian, V., Morales, A. C., Cruz, R. T., Thiyagarajan, T. M., Nagarajan, R., Babu, M., Abdulrachman, S., & Hai, L. H. (2000). Adaptation of the Chlorophyll Meter (SPAD) Technology for Real-Time N Management in Rice: a Review. *International Rice Research Institute*, 5, 25-26.
- Barbaroux, C., & Breda, N. (2002). Contrasting Distribution and Seasonal Dynamics of Carbohydrate Reserves in Stem Wood of Adult Ring-Porous Sessile Oak and Diffuse-Porous Beech Trees. *Tree Physiol*, 22(17): 1201-10.
- Barbaroux, C., Breda, N., & Dufrene, E. (2003). Distribution of Above-Ground and Below-Ground Carbohydrate Reserves in Adult Trees of two Contrasting Broad-Leaved Species (*Quercus Petraea* and *Fagus Sylvatica*). *New Phytologist*, 157: 605–615.
- Barber, J., & Archer, M. (2001). P680, The Primaryelectron Donor of Ps2. *Photochem Photobiola Chemistry*, 142: 97-106.
- Barber, J., Morris, E., & Buchel, C. (2000). Revealing the Structure of the Photosystem Chlorophyll Binding Proteins, Cp43 and Cp47. *Biochim. Biophysica Acta*, 145(9): 239-247.
- Barnes, J. D., Pfirmann, T., Steiner, K., Lütz, C., Busch, U., Küchenhoff, H., & Payer, H. D. (1995). Effects of Elevated CO₂, Elevated O₃ and Potassium Deficiency on Norway Spruce (*Picea abies* (L.) Karst.): Seasonal Changes in Photosynthesis and Nonstructural Carbohydrate Content. *Plant Cell Environ*, 18, 1345-1357.
- Bates, L., Waldern, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid Determination of Free Proline For Water-Stress Studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
- Becraft, E. D., Cohan, F. M., Köhl, M., Jensen, S. I., & Ward, D. M. (2011). Fine-Scale Distribution Patterns of *Synechococcus* Ecological Diversity in Microbial Mats of Mushroom Spring, Yellowstone National Park *Applied Environmental Microbiology*, 77: 7689–7697. doi: 10.1128/AEM.05927-11.
- Benson, A., & Calvin, M. (1947). The Dark Reactions of Phptpsynthesis. *Science*, 105: 648-649.
- Berger, F., Hung, C. Y., Dolan, L., & Schiefelbein, J. (1998). Control of Cell Division in the Root Epidermis of *Arabidopsis Thaliana*. *Developmental Biology*, 194, 235-245.
- Bergmeyer, H. (1974). Glucokinase in: 'Methoden der Enzymatischen Analyse.' I:502, Bergmeyer, H. (Eds). Verlag Chemie, Weinheim

- Bernhardt, C., & Tierney, M. L. (2000). Expression of AtPRP3, a Proline-Rich Structural Cell Wall Protein from Arabidopsis, is Regulated by Cell-Type-Specific Developmental Pathways Involved in Root Hair Formation1. *Plant Physiology*, 122, 705-714.
- Betteridge, D. J. (2000). What is Oxidative Stress?, *Metabolism*, 49: 3-8.
- Beyer, W. F. J. R., & Fridovich, I. (1987). Assaying for Superoxide Dismutase Activity: Some Large Consequences of Minor Changes in Conditions. *Analytical Biochemistry*, 161 (2): 559-566.
- Boddy, L., & Rayner, A. D. M. (1983). Origins of Decay in Living Deciduous Trees: The Role of Moisture Content. *New Phytologist*, 94-4; 263-641. doi:10.1111/j.1469-8137.1983.tb04871.x.
- Bond, B. J. (2000). Age-Related Changes in Photosynthesis of Woody Plants. *Trends Plant Science*, 5: 349-353.
- Bradford, M. M. (1976). 'A Rapid Sensitive Method for the Quantitation of Micro Program Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding'. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Braun, N., Wyrzykowska, J., Muller, P., David, K., Couch, D., Perrot-Rechenmann, C., & Fleming, A. J. (2008). Conditional Repression of Auxin Binding Protein1 Reveals that it Coordinates Cell Division and Cell Expansion During Postembryonic Shoot Development in *Arabidopsis* and *Tobacco*. *Plant Cell*, 20: 2746-2762.
- Brown, S. B., Houghton, J. D., & Hendry, G. A. F. (1991). Chlorophyll Breakdown. In Scheer H (Ed): Chlorophylls. *Boca Raton*, CRC Press, 465-489.
- Brugieres, V. (1999). Dynamic MRI in the Evaluation of Syringomyelic Cysts. *Neuro-Chirurgie*, 45(1): 115-129.
- Bryant, J., & Julkunen-Tiitto, R. (1995). Ontogenic Development of Chemical Defence by Seedling Resin Birch: Energy Cost of Defence Production. *Journal Chemical Ecology*, 21: 883-896.
- Burg, M. B., & Ferraris, J. D. (2008). Intracellular Organic Osmolytes: Function and Regulation. *The Journal of Biological Chemistry*, 283: 7309-7313.
- Candan, N., & Tarhan, L. (2003). Relationship Among Chlorophyll-Carotenoid Content, Antioxidant Enzyme Activities and Lipid Peroxidation Levels by Mg²⁺ Deficiency in The *Mentha Pulegium* Leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41, 35-40.
- Carus, S. (1995). Aynı Yaşlı Doğu Kayını (*Fagus Orientalis* L.) Meşcerelerinde Çap Artımının Meşcere Yaş ve Göğüs Yüzeyine Göre Değişimi, *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 45(3-4): 95-110.

- Carus, S., & Çatal, Y. (2010). Doğu Kayını'nın Kabuk Kalıgında Ağaç Yaşı, Göğüs Çapı, Göğüs Çapı ve Ağaç Boyunun Etkisi, *III. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi*, 372-380. Artvin.
- Carus, S., & Çiçek, E. (2007). Adapazarı-Süleymaniye Plantasyonlarında (*Fraxinus Angustifolia Vahl.*) Tek Ağaçlar için Bir Çap Artım Modeli, *Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi A*, 1, ISSN: 1302-7085, 34-48.
- Chapin, F. S., Schulze, E. D., & Mooney, H. A. (1990). The Ecology and Economics of Storage in Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21: 423-447.
- Copenhaver, P. E., & Tinker, D. B. (2014). Stand Density and Age Affect Tree-Level Structural and Functional Characteristics of Young, Postfire Lodgepole Pine in Yellowstone.
- Cosgrove, D. (2005). Growth of the Plant Cell Wall. *Nature Reviews*, 6: S850-861.
- Çepel, N. (1996). Toprak İlmî Ders Kitabı - *Orman Topraklarının Karakteristikleri, Toprak Oluşumu, Özellikleri ve Ekolojik Bakımından Değerlendirilmesi*. İstanbul Üniversitesi 3945.
- Çepel, N. (1996). *Toprak İlmî Ders Kitabı. İstanbul: Orman Fakültesi Yayınları*.
- Dacosta, M., & Huang, B. (2007). Changes in Antioxidant Enzyme Activities and Lipid Peroxidation for Bentgrass Species in Responses to Drought Stress. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132: 319-326.
- Damesin, C. (2003). Respiration and Photosynthesis Characteristics of Current-Year Stems Of *Fagus Sylvatica*: From The Seasonal Pattern to an Annual Balance. *New Phytologist*, 158: 465-475.
- DMİ, (2014), Kastamonu Meteoroloji İl Müdürlüğü, Kastamonu Meteoroloji İstasyonu Verileri, (1960-2014), Kastamonu.
- Das, K., & Roychoudhury, A. (2014). Reactive Oxygen Species (ROS) and Response of Antioxidants as Ros-Scavengers During Environmental Stress in Plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2. doi.org/10.3389/fenvs.2014.00053.
- Davi, H., Barbaroux, C., François, C., & Dufrêne, E. (2009). The Fundamental Role of Reserves and Hydraulic Constraints in Predicting LAI and Carbon Allocation in Forests. *Agricultural and Forest Meteorology*, 149: 349-361.
- Day, M. E., Greenwood, M. S., & White, A. S. (2001). Age-Related Changes in Foliar Morphology and Physiology in Red Spruce and their Influence on Declining Photosynthetic Rates and Productivity with Tree Age. *Tree Physiology*, 21: 1195-1204.

- De Azevedo Neto, A. D., Prisco, J. T., Enéas-Filho, J., de Abreu, C. E. B. & Gomes-Filho, E. (2006). Effect of Salt Stress on Antioxidative Enzymes and Lipid Peroxidation in Leaves and Roots of Salt-Tolerant and Salt-Sensitive Maize Genotypes, *Environmental and Experimental Botany*, 56, 87–94.
- De Rybel, B., Adibi, M., & Breda, A. (2014). Integration of Growth and Patterning During Vascular Tissue Formation in *Arabidopsis*. *Science*, 345, 1255215–1255215-8.
- Deepak, S., Shailasree, S., Kini, R., Shetty, H., & Mithofer, A. (2007). Role of Oxidative Cross-Link in Hydroxyproline Rich Glycoprotein in Pearl Millet Infected with Downy Mildews Disease. *Planta*, 226:323-333.
- Dehon, L., Macheix, J. J. & Durand, M. (2002). Involvement of Peroxidases in The Formation of the Brown Coloration of Heartwood in *Juglans Nigra*, *Journal of Experimental Botany*, 53, 303–311.
- Delucia, E., Drake, J., Thomas, R., & Gonzalez-Meler, M. (2007). Forest Carbon use Efficiency: Is Respiration a Constant Fraction of Gross Primary Production, *Global Change Biology*, 13: 1157-1167. doi:10.1111/j.1365-2486.2007.01365.x.
- Delvin, R. M., & Witham, F. H. (1983). *Plant Physiology*, 4th (Eds). Wadsworth Publishing Company, Belmont, Ca.
- Denness, L., McKenna, J. F., Segonzac, C., Wormit, A., Madhou, P., Bennett, M., Mansfield, J., Zipfel, C., & Hamann, T. (2011). Cell Wall Damage-Induced Lignin Biosynthesis is Regulated by a Reactive Oxygen Species- and Jasmonic Acid-dependent Process in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 156, 1364-1374.
- Dichio, B., Xiloyannis, C., Sofo, A., & Masia, A. (2005). Antioxidant Defences in Olive Trees During Drought Stress: Changes in Activity of some Antioxidant Enzymes. *Functional Plant Biology*, 32, 45–53.
- Doorenbos, J. (1965). Juvenile and Adult Phases in Woody Plants. *Encycl. Plant Physiology*, 15, 1222-1235.
- Duysens, J., & Pearson, K. (1976). The Role of Cutaneous Afferents from The Distal Hindlimb in The Regulation of The Step Cycle of Thalamic Cats. *Experimental Brain Research*, 24: 245–255.
- Edreva, A. (2005). Pathogenesis-Related Proteins: Research Progress in the Last 15 Years. *Gen. Applications in Plant Sciences*, 31: 105-124.
- Elrad, D., Niyogi, K., & Grossman, A. (2002). A Major Light Harvesting Polypeptide of Photosystem II Functions in Thermal Dissipation. *Plant Cell*, 14: 1801- 1816.

- England, J., & Attiwill, P. (2006). Changes in Leaf Morphology and Anatomy with Tree age and Height in the Broad Leaved Evergreen Species, *Eucalyptus Regnans*, 20: 79-90.
- Erik, S., (2015). Kastamonu Anıt Ağaçları 1-2. *Hacettepe Üniversitesi Yayınları*, 149.
- Esper, J., Niederer, R., Bebi, P., & Frank, D. (2008). Climate Signal age Effects- Evidence from Young and old Trees in the Swiss Engadin. *Forest Ecology Management*, 255: 3783-3789. doi: 10.1016/j.foreco.2008.03.015.
- Evstigneev, O., & Korotkov, N. V. (2016). Ontogenetic Stages of Trees. *Russian Journal of Ecosystem Ecology*, 1(2): 1-31.
- Fantel, A. G. (1996). Reactive Oxygen Species in Developmental Toxicity: Review and Hypotheses, *Teratology*, 53: 196-217.
- Fermer, E. F., Muller, & M. J. (2013). Reactive Oxygen Species Mediated Lipid Peroxidation and RES Activated Signalling. *Annual Review of Plant Biology*, 4, 429-450.
- Finkel, T., & Holbrook, N. (2000). Oxidants, Oxidative Stress and the Biology of Ageing, *Nature*, 408: 239–247. doi: 10.1038/35041687.
- Fischer, B. B., Hideg, É., & Krieger-Liszkay, A. (2013). Production, Detection, and Signaling of Singlet Oxygen in Photosynthetic Organisms. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(16), 2145-2162. doi: 10.1089/ars.2012.5124.
- Fluhr, R. (2009). Reactive Oxygen-Generating NAPDH Oxidases in Plants. In: del Rio, L. A., Puppo, A., eds. *Reactive Oxygen Species in Plant Signalling*. Berlin, Germany: Springer, 1-23.
- Foyer, C. H., & Noctor, G. (2011). Ascorbate and Glutathione: the Heart of there Doxhub. *Plant Physiology*, 155, 2-18.
- Foyer, C. H., & Halliwell, B. (1976). The Presence of Glutathione, Glutathion Reductase in Chloroplasts, a Proposed Role in Ascorbic Metabolism. *Planta*, 133: 21 25. doi: 10.1007/BF00386001.
- Foyer, C. H., & Shigeoka, S. (2011). Understanding Oxidative Stress and Antioxidant Functions to Enhance Photosynthesis. *Plant Physiology*, 155: 93-100.
- Foyer, C. H., Lelandais, M., & Kunert, K. J. (1994). Photooxidative Stress in Plants. *Physiologia Plantarum*, 92: 696-717.
- Fridovich, I. (1986). Biologicals Effect of Superoxide Radical. *Archives Biochemistry Biophysics*, 247: 1-11.

- Fryer, M., Oxborough, K., Mullineaux, P., & Baker, N. (2002). Imaging of Photooxidative Stress Responses in Leaves. *Journal of Experimental Botany*, *53*, 1249-1254.
- Fukuda, H. (2000). Programmed Cell Death of Tracheary Elements as a Paradigm in Plants. *Plant Molecular Biology*, *44*: 245-253.
- Gapinska, M., Sklodowska, M., & Gabara, B. (2008). Effect of Short- and Long-Term Salinity on the Activities of Antioxidative Enzymes and Lipid Peroxidation in Tomato Roots. *Acta Physiologiae Plantarum*, *30*: 11-8.
- García, A. I., De Blas, A. J. C., & Carabaño, R. (2005). Comparison of Different Methods for Nitrogen and Amino Acid Evaluation in Rabbit, *Animal Feed Science and Technology*, *80* (2): 169-178.
- Gechev, T. S., & Hille, J. (2005). Hydrogen Peroxide as a Signal Controlling Plant Programmed Cell Death. *The of Cell Biology*, *168*: 17-20.
- Genet, H., Bréda, N., & Dufrêne, E. (2009). Age-Related Variation in Carbon Allocation at Tree and Stand Scales in Beech (*Fagus Sylvatica* L.) and Sessile Oak (*Quercus Petraea* (Matt.) L.) Using a Chronosequence Approach. *Tree Physiology*, *30*: 177-192. doi: 10.1093/treephys/tpp105.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Machinery in Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. *Rev. Plant Physiology Biochem*, *48*: 909-930.
- Gower, S., Mcmurtrie, R., & Murty, D. (1996). Aboveground Net Primary Production Decline with Stand age: Potential Causes. *Trends Ecol Evols*, *11*: 378-382.
- Granger, D. N., Rutili, G. & McCord, J. M. (1981). Superoxide Radicals in Feline Intestinal Ischemia, *Gastroenterology*, *81*: 22-29.
- Hackett, W. (1985). Juvenility, Maturation and Rejuvenation in Woody Plants. *Horticultural Reviews*, *7*: 109-155. doi: 10.1002/9781118060735.ch3
- Haffner, V., Enjalric, L., Lardet, L., & Carron, M. (1991). Maturation of Woody Plants: a Review of Metabolic and Genomic Aspects. *Ann. Science Citation Index*, *48*: 615-630.
- Halliwell, B. (1981). *Free Radicals, Oxygen Toxicity and Aging. Age Pigments*. Sohal, R.S. (Eds). Elsevier, Pp. 1-62.
- Halliwell, B. (2006). Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology is a Fundamental Theme of Aerobic Life. *Plant Physiology*, *141*: 312-322. doi: 10.1104/pp.106.077073.

- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd (Eds). Oxford, Oxford University Press. doi.org/10.1016/0303-2647(91)90049-Q.
- Harinasut, P., Poonsopa, D., Roengmongkol, K., & Charoensataporn, R. (2003). Salinity Effects on Antioxidant Enzymes in Mulberry Cultivar. *Science Asia*, 29: 109-13.
- Heuer, B. (1999). Osmoregulatory Role of Proline in Plants Exposed to Environmental Stressed. In: Pessarakli, M. (Ed.), *Handbook of Plant and Crop Stress*. Marcel Dekker, New York, pp. 675-695.
- Heuret, P., Gue'Don, Y., Gue'Rard, N., & Barthe'Le'My, D. (2003). Analysing Branching Pattern in Plantations of Young Red Oak Trees (*Quercus Rubra* L., Fagaceae). *Annals of Botany*, 91: 479-492. doi: 10.1093/aob/mcg046
- Horton, P. (2012). Optimization of Light Harvesting and Photoprotection: Molecular Mechanisms and Physiological Consequences. *Philosophical Transactions of The Royal Society of London*, 367, 3455-3465.
- Hsu, Y., & Kao, C. (2007). Heat Shock-Mediated H₂O₂ Accumulation and Protection Against Cd Toxicity in Rice Seedlings. *Plant Soil*, 300: 137-47.
- Hutchison, K., Sherman, C., Weber, J., Smith Sssinger, P., & Greenwood, M. (1990). Effects of Age on Photosynthesis and Gene Expression in Developing Foliage. *Plants Physiology*, 94: 1308-1315.
- Iglesias, D., Lliso, I., Tadeo, F., & Talon, M. (2002). Regulation of Photosynthesis Through Source: Sink Imbalance in Citrus is Mediated by Carbohydrate Content in Leaves. *Physiologia Plantarum*, 116: 563-572. doi: 10.1093/treephys/tpq103.
- Jenik, P. D., Gillmor, C. S., & Lukowitz, W. (2007). Embryonic Patterning in *Arabidopsis Thaliana*. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 23: 207-236.
- Jiao, L., Jiang, Y., Wang, M., Zhang, W., & Zhang, Y. (2017) . Age Effect Radial Growth Responses of *Picea Schrenkiana* to Climate Change in The Eastern Tianshan Mountains, Northwest China, *Forest*, 8 (9): 294. doi:10.3390/f8090294.
- Juvany, M., Müller, M., Pintó-Marijuan, M., & Munné-Bosch, S. (2014). Sex-Related Differences in Lipid Peroxidation and Photoprotection in *Pistacia lentiscus*. *Journal of Experimental Botany*, 65(4): 1039-1049.
- Kang, S. M., Ko, K. C., & Titus, J. S. (1982). Mobilization and Metabolism of Protein and Soluble Nitrogen During Spring Growth of Apple-Trees. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 107:209-213.

- Karkonen, A., & Koutaniemi, S. (2010). Lignin Biosynthesis Studies in Plant Tissue Cultures. *J. Integr. Plant Biology*, *52*, 176-185.
- Kasmani, J. E., Chitsazi, H., Mohammadi, N. S., Nemati, M., Samariha, A., & Nosrati, H. (2011). Studying The Effect of The Age in Eucalyptus Camaldulensis Species on Wood Chemical Compounds Used in Pulping Process. Am-Euras. *Journal of Agriculture and Environmental Science*, *11* (6): 854-856.
- Kısa, D. (2018). The Response of Antioxidant System Against the Heavy Metal-Induced Stress in Tomato. *Journal of Natural and Applied Sciences*, *22*(1): 1-6.
- Kısa, D., Elmastas, M., Öztürk, L., & Kayır, Ö. (2016). Responses of the Phenolic Compounds of *Zea mays* Under Heavy Metal Stress. *Applied Biological Chemistry*, *59*(6):813-820.
- Koch, G. W., Sillett, S. C., Jennings, G. M., & Davis, S. D. (2004). The Limits to Tree Height. *Nature*, *428*, 851-854.
- Koltuksuz, U., Özen, S., Uz, E., Aydınç, M., Karaman, A., Gültek, A., Akyol, Ö., Gürsoy, M. H. & Aydın, E. (1999). Caffeic Acid Phenethyl Ester Prevents Intestinal Reperfusion Injury in Rats, *Journal of Pediatric Surgery*, *34*(10): 1458-1462.
- Kommareddy, A., & Anderson, G. (2003). Study of Light as a Parameter in the Growth of Algae in a Photo-Bio-Reactor (PBR). *Annual International Meeting Presentation*, *03*: 40-57.
- Köörner, C. (2003). Carbon Limitation in Trees. *Journal of Ecology*, *91*: 4-17.
- Kreslavski, V., Los, D., Allakhverdiev, S., & Kuznetsov, V. (2012). Signaling Role of Reactive Oxygen Species in Plants Under Stress. *Rus Journal Plant Physiology*, *59*: 163–178.
- Krüger, S., Hanisch, C., Kwade, A., Winterm, & Nowak, S. (2014). Effect of Impurities Caused by a Recycling Process on the Electrochemical Performance of LiO₂.
- Kumaran, A., & Karunakaran, R. (2006). Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of an Aqueous Extract of Coleus Aromaticus. *Food Chemistry*, *97*: 392-396. doi.org/10.1080/13880200701215141.
- Kuptz, D., Fleischmann, F., Matyssek, R., & Grams, T. (2011). Seasonal Patterns of Carbon Allocation to Respiratory Pools in 60 Years Old Deciduous (*Fagus Sylvatica*) and Evergreen (*Picea Abies*) Trees Assessed Via Whole-Tree Stable Carbon Isotope Labeling. *New Phytologist*, *191*: 160–172. doi: 10.1111/j.1469-8137.2011.03676.x.

- Lacointe, A. (2000). Carbon Allocation Among Tree Organs: a Review of Basic Processes and Representation in Functional-Structural Tree Models. *Annals of Forest Science*, 57: 521-533.
- Lacointe, A., Kajji, A., Daudet, Fa., Archer, P., & Frossard, J. (1993). Mobilization of Carbon Reserves in Young Walnut Trees. *Acta Botanica Gallica*, 140: 435-441. doi:10.1093/treephys/tpp103.
- Lamport, D., Kieliszewski M., Chen, Y., & Cannon, M. (2011). Role of the Extensin b Superfamily in Primary Cell Wall Architecture. *Plant Physiology*, 156, 11-19.
- Lebaube, S., Le Goff, N., Ottorini, J. M., & Granier, A. (2000). Growth and Carbon Balance in a *Fagus Sylvatica* Stand. *Annals Of Forest Science*, 57: 49-61. doi.org/10.1051/forest:2002062.
- Lemaire, C., & Wollman, F. A. (1989). The Chloroplast ATP Synthase in *Chlamydomonas Reinhardtii*. I. Characterization of its Nine Constitutive Subunits. *The Journal of Biological Chemistry*, 264: 10228–10234.
- Liu, Y., Borchert, G., Surazynski, A., Hu, C, & Phang, J. (2006). Proline Oxidase Activates Both Intrinsic and Extrinsic Pathways for Apoptosis: The Role of Ros/ Superoxides, Nfatand Mek/ Erk Signaling. *Oncogene*, 25: 5640–5647.
- Lutts, S., Kinet, JM., & Bouharmont, J. (1996). Effects of Various Salts and of Mannitol on Ion and Proline Accumulation in Relation to Osmotic Adjustment in Rice (*Oryza sativa* L.) Callus Cultures. *Journal Plant Physiology*, 149, 186-195.
- Malaguti, D., Millard, P., Wendler, R., Hepburn, A., & Tagliavini, M. (2001). Translocation of Amino Acids in the Xylem of Apple (*Malus Domestica* B.) Trees in Spring as a Consequence of Both N Remobilization and Root Uptake. *Journal of Experimental Botany*, 52: 1665-1671.
- Maruyama, K., Rabbani, M. A., Abe, H., Khan, M. A., Katsura, K., & Ito, Y. (2003). Monitoring Expression Profiles of Rice Genes Under Cold, Drought and High-Salinity Stresses and Abscisic Acid Application Using CDNA Microarray and RNA Gel-Blot Analyses. *Plant Physiology, Amc. Society of Plant Biologists*, 133(4): 1755-1767. doi: 10.1104/pp.103.025742.
- Mattioli R., Costantino P., & Trovato M. (2009). Proline Accumulation in Plants-Not Only Stress. *Plant Signaling and Behavior*, 4, 1016-1018.
- Mcclures, P. R., & Israel, D. W. (1979). Transport of Nitrogen in the Xylem of Soybean Plants, *Plant Physiology*, 64: 411-416.
- Mitchell, F. J .G., & Kirby, K. J. (1990). The Impact of Large Herbivores on the Conservation of Semi-Natural Woodlands in the British Uplands. *Forestry*, 63: 333-353. doi.org/10.1093/forestry/63.4.333.

- Millard, P., & Grelet, G. A. (2010). Nitrogen Storage and Remobilization by Trees: Ecophysiological Relevance in a Changing World. *Tree Physiology*, 30, 1083-1095.
- Monselise, S., Fishler, M., Bravdo, B., & Goldschmidt, E. (1986). Source Sink Relationship in Citrus: Whole Trees vs. Girdled Branches. In: Lakso An, Lenz F (Eds) *The Regulation of Photosynthesis in Fruit Trees*, Ny State Agric. Exp. Station, Geneva. 98-100.
- Montillet, J. L., Chamnongpol, S., Rusterucci, C., Dat, J., Van De Cotte, B., Agnel, J. P., Battesti, C., Inze, D., Van Breusegem, F., & Triantaphylides, C. (2005). Fatty Acid Hydroperoxides and H₂O₂ in the Execution of Hypersensitive Cell Death in Tobacco Leaves, *Plant Physiology*, 138: 1516-1526. doi: 10.1104/pp.105.059907.
- Moss, D., & Bendall, D. (1984). Cyclic Electron Transport in Chloroplasts: The Q-Cycle and the Site of Action of Antimycin. *Biochimica et Biophysica Acta*, 767: 389–395.
- Mund, M. (2004). Carbon Pools of European Beech Forests (*Fagus Sylvatica*) Under Different Silvicultural Management. Phd Thesis, Univ. Georg-August, Göttingen, 256 P.
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-Specific Peroxidase in Spinac Chloroplasts, *Plant Cell Physiology*, 22, 867-880.
- Nuñez, L. M. V., Gérant, D., Maillard, P., & Bréda, N. (2010). Seasonal Dynamics of Total Soluble Proteins in Adult Trees of *Quercus Petraea* (Matts.) Liebl. and *Fagus Sylvatica* L. Dinámicas Estacionales de Proteínas Totalmente Solubles en Árboles de *Quercus Petraea* (Matts.) Liebl. Y *Fagus Sylvatica* L. *Rev. Mex. CIEN Forestry*, 76: 1.11.
- Paungfoo-Lonhienne, C., Lonhienne, T., Rentsch, D., Robinson, N., Christie, M., Webb, R., Gamage, H., Carroll, B., Schenk, P., & Schmidt, S. (2008). Plants can use Protein as a Nitrogen Source Without Assistance from other Organisms. *Proceedings of The National Academy of Sciences*, 105(11): 4524–4529. doi: 10.1073/pnas.0712078105.
- Pearson, D., Melon, H., & Ronald, S. (1976). *Chemical Analysis of Food*, 8th edition. Churchill Livingstone, Pp 5-63.
- Perales, M., & Reddy, G. (2012). Stem Cell Maintenance in Shoot Apical Meristems. *Curr. Opin. Plant Biology*. 15, 10-16. doi: 10.1016/j.pbi.2011.10.008.
- Perilli, S., Di Mambro, R., & Sabatini, S. (2012). Growth and Development of the Root Apical Meristem. *Current Opinions in Plant Biology*, 15, 17-23.

- Phang, J. M., Liu, W., & Zabirnyk, O. (2010). Proline Metabolism and Microenvironmental Stress. *The Annual Review of Nutrition*, 30: 441-463.
- Pilbeam, D. J., & Kirkby, E. A. (1992). *Some Aspects of the Utilization of Nitrate and Amonium by Plants. Nitrogen Metabolism Ofplants*. Eds. K. Mengel, Dj. Pilbeam, 55-70, Oxford Univ. Press.
- Poethig, R. (2013). Vegetative Phase Change and Shoot Maturation in Plants. *Current Topics in Developmental Biology*, 105: 125-152.
- Poorter, H., Remkes, C., & Lambers, H. (1990). Carbon and Nitrogen Economy of 24 Wild Species Differing in Relative Growth Rate. *Plant Physiology*, 94: 621-627.
- Poulin, F., Dishion, T. J., & Haas, E. (1999). The Peer Influence Paradox: Friendship Quality and Deviancy Training with in Male Adolescent Friendships. *Merrill-Palmer Quarterly*, 45: 42–61.
- Ray, P. D., Huang, B. W., & Tsuji, Y. (2012). Reactive Oxygen Species (ROS) Homeostasis and Redox Regulation in Cellular Signaling. *Cell Signal*, 24: 981–990.
- Reed, P. (1996). *The Ecological Value of Tree Management and its Significance to Species of Epiphytic Moss*. in: *Pollard and Veteran Tree Management II*; Ed. By H.J. Read, 17-18, Corporation of London.
- Reich, P., Walters, M., & Ellsworth, D. (1991). Leaf Age and Season Influence the Relation Between Leaf Nitrogen, Leaf Mass Perarea and Photosynthesis in Maple and Oak Trees, *Plant Cell and Environment*, 14(3): 251-259. doi: 10.1111/j.1365-3040.1991.tb01499.x.
- Ros-Barceló, A. (1998a). Hydrogen Peroxide Production is a General Property of the Lignifying Xylem from Vascular Plants. *Annals of Botany*, 82: 97-103.
- Ros-Barceló, A. (1998b). The Generation of H₂O₂ in the Xylem of Zinnia Elegans is Mediated by an NADPH-Oxidase-Like Enzyme. *Planta*, 207, 207-216.
- Ros-Barceló, A., Pomar, F., Lopez-Serrano, M., Martinez, P., & Pedreno, M. (2002). Developmental Regulation of the H₂O₂-Producing Systems and of a Basic Peroxidase Isoenzyme in the Zinnia Elegans Lignifying Xylem. *Plant Physiol Biochem*, 40: 325–332.
- Rurainski, R. D., Theiss, H. J., & Zimmermann, W. (1977). Über das Vorkommen von Natürlichen und Synthetischen Oestrogenen im Trinkwasser (Concerning The Occurrence of Natural and Synthetic Estrogens in Drinking Water) *Gwf-Wasser Abwasser*, 118: 288-291.

- Salisbury, F. B., & Ross, C. W. (1985). *Photosynthesis: Environmental And Agricultural Aspects*, Pp. 216-228. *Plant Physiology*. 3rd Ed., Wadsworth, Belmont, California.
- Sarıyıldız, T., & Savacı, G. (2016). Kestaneenin Verimliliğinde Toprak ve İklim Özelliklerinin Kastamonu Yöresi için Değerlendirilmesi. *I. Uluslararası Abana Sempozyumu*, , Kastamonu.
- Scheidegger, C., Frey, B., & Zoller, S. (1995). *Transplantation of Symbiotic Propagules and Thallus Fragments: Methods for the Conservation of Epiphytic Lichen Populations*. IN: Mitt. Eidgenöss. Anst. Wald Schnee Landsch, Eds. By C. Scheidegger, P.A. Wolseley And G. Thor, 70: 41-62.
- Schuetz, M., Smith, R., & Ellis, B. (2013). Xylem Tissue Specification, Patterning, and Differentiation Mechanisms. *Journal of Experimental Botany*, 64: 11-31. doi: 10.1093/jxb/ers287
- Secchi, F., & Zwieniecki, M. A. (2011). Sensing Embolism in Xylem Vessels: The Role of Sucrose as a Trigger for Refilling. *Plant Cell Environ.* 34, 514-524.
- Sharma, S. S., & Dietz, K. J. (2006). The Significance of Amino Acids and Amino Acid-Derived Molecules in Plant Responses and Adaptation to Heavy Metal Stress. *Journal of Experimental Botany*, 57: 711-726.
- Shinohara, K., Yanagisawa, A., Kagota, Y., Gomi, A., Nemoto, K., Moriya, E., Furusawa, E., Furuya, K., & Tersawa, K. (1999). Physiological Changes in Pachinko Players; Beta-Endorphin, Catecholamininess, Immune System Substances And Heart Rate. *Appl. Human Science*, 18: 37-42.
- Siems, W. G., Van Kuijk, E. J. & Maas, R. (1994). Uric Acid and Glutathion Levels During Short Term Whole Body Cold Exposure. *Free Radical Biology and Medicine*, 16(3): 299-305.
- Simon-Sarkadi, L., Kocsy, G., Varhegyi, A., Galiba, G., & Ronde, J. (2006). Stres İnduced Changes in the Free Amino Acid Composition in Transgenic Soybean Plants Having Increased Proline Content. *Biologia Plantarum*, 50: 793-796.
- Singh, S., Khan, N., Nazar, R., & Anjum, N. (2008). Photosynthetic Traits and Activities of Antioxidant Enzymes in Blackgram (*Vigna Mungo* L. Hepper) Under Cadmium Stress, *Journal Plant Physiology*, 3: 25-32. doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. (1999). Analysis of Total Phenols and other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152-178.

- Slesak, I., Libik, M., Karpinska, B., Karpinski, S., & Miszalski, Z. (2007). The Role of Hydrogen Peroxide in Regulation of Plant Metabolism and Cellular Signaling in Response to Environmental Stresses. *Acta Biochimica Polonica*, 54 (1): 39-50.
- Song, Y., & Hein, J. (2004). On the Minimum Number of Recombination Events in the Evolutionary History of DNA Sequences. *Journal of Mathematical Biology*, 48(2): 160-186. doi: 10.1007/s00285-003-0227-5.
- Spiteller G. (2003). The Relationship Between Cell Wall, Lipid Peroxidation, Proliferation, Senescence And Cell Death. *Physiologia Plantarum*, 119, 5-18.
- Steppe, K., Niinemets, Ü., & Teskey, R. O. (2011) . Tree Size- and Age-Related Changes in Leaf Physiology and Their Influence on Carbon Gain F.C. Meinzer et al. (Eds.), *Size- and Age-Related Changes in Tree Structure 235 and Function, Tree Physiology*, 4. doi 10.1007/978-94-007-1242-3_9.
- Stewart, G., Rose, A. B., & Veblen, T. T. (1991). Forest Development in Canopy Gaps in old-Growth Beech (*Nothofagus*) Forests, New Zealand. *Journal of Vegetation Science*, 2: 679-690.
- Szabados, L., & Savouré, A. (2009). Proline: A Multifunctional Amino Acid Trends *Plant Science*. 15(2): 89-97. doi: 10.1016/j.tplants.2009.11.009.
- Tanner, J. (2008). Structural Biology of Proline Catabolism. *Amino Acids*, 35: 719-730.
- Thomas, H., Ougham, H. J., Wagstaff, C., & Stead, A. D. (2003). Defining Senescence and Death. *Journal of Experimental Botany*, 54: 1127-1132.
- Turfan, N. (2017). Anıt Kayın Ağacı Yapraklarının Bazı Kimyasal Bileşenlerinin Yaşa Bağlı Değişimi. 3rd. *International Congress on Zoology and Technology*, Afyon.
- Turfan, N., & Alay, M. (2017). Variation in Chemical Constituents of Ancient Black Pine Leaves: In Relation to Tree Age. *Uluslararası Ekoloji Kongresi*, Kayseri.
- Turfan, N., Alay, M., & Sarıyıldız (2018). Effect of Tree Age on Chemical Compounds of Ancient Anatolian Black Pine (*Pinus Nigra* Subsp. *Pallasiana*) Needles in Northwest Turkey, *Biogeosciences and Forestry*, 11, 406-410 doi: 10.3832/ifer2665-011.
- Turfan, N., Ayan, S., & Yer, E. N. (2017). Age-Related Change of Some Chemical Components in Leaves of Chestnut (*Castanea Sativa*) Trees. *International Forestry & Environment Symposium*, Trabzon.

- Turfan, N., Savacı, G., & Sarıyıldız, T. (2016). Anıt Ceviz Ağacı Yapraklarının Bazı Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi, *2nd International Agriculture Congress*, Bosna Hersek.
- Turfan, N., Savacı, G., & Sarıyıldız, T. (2016). Uludağ Göknarı ve Sarıçam İbrelerinin Bazı Kimyasal Bileşiklerinin Meşçere Yaşına ve Toprak Özelliklerine Bağlı Olarak Değişimi. *Kastamonu Üni. Orman Fakültesi Dergisi*, 16(2): 583-598. doi:10.17475/kastorman.289769.
- URL-1 Kloroplastta Enerji Akışı, 29/01/2018 tarihinde <http://www.Biyolojidefteri.Com/İndex.Php/İsiktan-Bagimsiz-Reaksiyonlar> adresinden alınmıştır.
- URL-2 Pigmentlerin kimyasal yapısı, 25/01/2018 tarihinde <http://Slideplayer.Com/Slide/735675/2/İmages/11/Photosynthetic+Pigments+Are> adresinden alınmıştır.
- URL-3 Tilakoitlerdeki proton ve elektron akışını, ATP ve NADPH sentezini gösteren model, 25/01/2018 tarihinde <http://www.Biyolojidersnotlari.Com/Wp-Content/Uploads/2013/02/İsik-Reaksiyonlari-Ve-Kemiozmozis.Jpg> adresinden alınmıştır.
- URL-4 Calvin döngüsü, 23/01/2018 tarihinde <http://Biyolojidersim.Com/O2li-Solunumda-Enerji-Hesabi/> adresinden alınmıştır.
- URL-5 20/01/2018 tarihinde <http://ref.data.fao.org/map?entryId=6fd05da0-853c-11db-b9b2-000d939bc5d8&tab=about> adresinden alınmıştır.
- Van Oijen, J. A., Bastiaans, R. J. M., & de Goey, L. P. H. (2010). Modelling Preferential Diffusion Effecte in Premixed Methane-Hydrogen-Air Flames by Using Flamelet- Generated Manifolds. .In: Sequeria, A., Pereira, J. C. F. (eds) *Fifth European Conference on Computational Fluid Dynamics*, Lisbon. Portugal.
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edrava, A. (2000). Oxidative Stress and Some Antioxidant Systems in Acid Rain-Treated Bean Plants. *Plant Science*, 151: 59-66.
- Walch-Liu, P., Neumann, G., Bangerth, F., & Engels, C. (2000). Rapid Effects of Nitrogen form on Leaf Morphogenesis in *Tobacco*. *Journal of Experimental Botany*, 51, 227-237.
- Wall, T. (1991). Managing Veteran Holly Trees - A Preliminary Note. In: *Pollard and Veteran Trees Management*; Ed. By H. J. Read, 51-52, Corporation Of London.
- Wang, J., Park, M., Wang, L., Koo, Y., Chen, X., Weigel, D., & Poethig, R. (2011). mRNA Control of Vegetative Phase Change in Trees. *Plosgenet*. 7, E1002012. doi:10,1016/j.cell.2009.06.014.

- Wardle, J. A. (1984). "*The New Zealand Beeches: Ecology, Utilisation and Management*". New Zealand F.
- Weijers, D., De Rybel, B., & Breda, A., (2014). Prenatal Plumbing- Vascular Tissue Formation in The Plant Embryo. *Physiology Plant*, 151, 126-133.
- Weiner, J., & Thomas, S. (2001). The Nature of Tree Growth and the "Age-Related Decline in Forest Productivity". *Oikos*, 94: 374-376. doi: 10.1034/j.1600-0706.2001.940219.x.
- Weiser, S., Wolfe, W., Bangsberg, D., Thior, I., Gilbert, P., Makhema, J., Kebaabetswe, P., Dickenson, D., Mompati, K., Essex, M., & Marlink, R. (2003). Barriers to Antiretroviral Adherence for Patients Living with HIV Infection and AIDS in Botswana. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 34(3): 281–288.
- Winter, T. (1993). Dead Wood - Is it a Threat to Commercial Forestry in: Dead Wood Matters: *The Ecology and Conservation of Saproxyllic Invertebrates in Britain*, Eds. By K.J. Kirby & C.M. Drake, *English Nature Science*, 7.
- Witham, F. H., Blaydes, D. F., & Devlin, R. M. (1971). *Experiments in Plant Physiology*, Pp 55-56. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Wodzicki, T. (2001). Natural Factors Affecting Wood Structure, *Wood Science and Technology*, 35: 5-26.
- Woodruff, D. R., Bond, B. J., & Meinzer, F. C. (2004). Does Turgor Limit Growth in Tall Trees? *Plant, Cell and Environment*, 27: 229-236.
- Würth Mirjam, K. R., Peláez-Riedl S., Wright, S. J., & Körner, C. (2005). Non-Structural Carbohydrate Pools in a Tropical Forest, *Oecologia*, 143(1): 11-24.
- Yao, D., Wei, Q., Xu W., Syrenne, R., Yuan, J. & Su, Z. (2012). Comparative Genomic Analysis of NAC Transcriptional Factors to Dissect the Regulatory Mechanisms for Cell Wall Biosynthesis. *BMC Bioinformatics*, 13, S10.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mehtap ALAY
Doğum Yeri ve Yılı : Taşköprü/ 1988
Medeni Hali : Bekâr
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : mehtapalay@mynet.com



Eğitim Durumu

Lise :Taşköprü Lisesi
Ön Lisans :Dumlupınar Üniversitesi, T.B.M.Y.O. -Kimya Teknolojisi
Lisans :Kastamonu Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi- Biyoloji
:Kastamonu Üniversitesi, Orman Fakültesi- Orman Müh.(ÇAP)
Formasyon :Kastamonu Üniversitesi, Eğitim fakültesi - Pedagojik
Formasyon
Yüksek Lisans :Kastamonu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji
Bölümü

Mesleki Deneyim

İş Yeri : Öğretmen, Taşköprü Bahri Alp İ. Ö. O. (2015-2016)
: Öğretmen, Şehit İlker Narin İ. H.O. (2015-2016)

Yayınlar ve Sempozyum Katılımları

Gürelli, G., Alay, M., & Koymalı, S. (2013). Kastamonu Civarında Dağılışı Gösteren *Helix lucorum* Linnaeus, 1758 (Mollusca: Pulmonata)'da Dicrocoeliid (Trematoda: Digenea) Larval Safhalarının Yaygınlığı Bu çalışma, 1. *Ulusal Zooloji Kongresi*, Nevşehir, Türkiye.

Gürelli, G., Alay, M., & Koymalı, S. (2013). The Prevalence of Dicrocoeliid (Trematoda: Digenea) Larval Stages in *Helix lucorum* Linnaeus 1758 (Mollusca: Pulmonata) in the Vicinity of Kastamonu. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi*, 38: 37-40.

Turfan, N., Topaloğlu, F. N., Alay, M., & Berber, B., (2015). Bazı Buğday Çeşitlerinin Farklı Abiyotik Stres Faktörlerine Tepkilerinin Belirlenmesi, *Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumu*, Erzurum, Türkiye.

- Turfan, N., Alay, M., Kurnaz, A., & Sarıyıldız, T. (2016). Farklı Koşullarda Saklanan Taşköprü Sarımsağında Bazı Kimyasal Özelliklerin Belirlenmesi. *Kastamonu Üniversitesi, Orman Fakültesi Dergisi*, 16 (2): 427-437.
- Gürelli, G., & Alay, M. (2016). First Record of the Natural İnfection of *Chondrus Tournefortianus* (Mollusca: Pulmonata) by Dicrocoeliidae (Digenea) Larval Stages in Kastamonu, *Turkey North-Western Journal of Zoology*, 12 (1): 188-191.
- Turfan, N., & Alay, M. (2017). Variation in Chemical Constituents of Ancient Black Pine Leaves: In Relation to Tree Age. *Uluslararası Ekoloji Kongresi*, Kayseri Erciyes Üniversitesi, Türkiye.
- Turfan, N., & Alay, M. (2017). Sedir ve Selvi Ağacının Yaşa Bağlı Gelişim Fizyolojisi, *Taşköprü Pompeipolis Bilim Kültür Sanat ve Araştırma Sempozyumu*, Kastamonu, Türkiye.
- Turfan, N., Alay, M., & Sarıyıldız, T. (2018). Effect of Tree Age on Chemical Compounds of Ancient Anatolian Black Pine (*Pinus Nigra* Subsp. *Pallasiana*) Needles in Northwest Turkey, *Biogeosciences and Forestry*, 11, 406-410, doi: 10.3832/ifor2665-011.
3. Aerobiyoloji, Palinoloji ve Alerjik Hastalıklarda Son Yenilikler Sempozyumu, 5-7 Kasım 2016, Kastamonu.

Proje

‘Kastamonu Civarında Dağılışı Gösteren *Chondrus tournefortianus* (Férussac, 1821) (Mollusca: Pulmonata)’ta Dicrocoeliid (Trematoda: Digenea) Larval Safhalarının Yaygınlığı’ TÜBİTAK, 2209/A-Üniversite Öğrencileri Yurt İçi Araştırma Projeleri Destek Programı, (2013-2014) tarafından desteklenmiştir (Proje Danışmanı: Doç. Dr. Gözde Gürelli).