

T.C.
ISPARTA UYGULAMALI BİLİMLER ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ORMAN MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DOĞAL OLARAK YAŞLANMIŞ KARAÇAM (*Pinus nigra* subsp.
pallasiana) TOHUMLARINDA PRİMİNG UYGULAMALARININ
YAŞLANMA ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Ayşe ORUÇ

Danışman
Doç. Dr. Fatih TONGUÇ

ISPARTA - 2023



© 2023 [Ayşe ORUÇ]

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM	15
3.1. Materyal	15
3.1.1. Tohum temini	15
3.2. Yöntem	15
3.2.1. Priming uygulanacak tohumların seçimi için yapılan ön çalışmalar	15
3.2.1.1. 1000 tohum ağırlığının belirlenmesi	15
3.2.1.2. Tohum yağ oranının tespiti	16
3.2.1.3. Tohum eni ve tohum boyunun belirlenmesi.....	16
3.2.1.4. Tohum yüzey sterilizasyonu	17
3.2.1.5. Çimlendirme testi ve çimlenme parametrelerinin hesaplanması	17
3.2.1.6. Fide boyu ve kök uzunluğunun tespiti	18
3.2.2. Priming uygulamaları.....	19
3.2.3. Priming uygulamaları sonucu tohumlarda meydana gelen biyokimyasal ve enzimatik değişimlerin belirlenmesi	22
3.2.3.1. Toplam çözünebilir protein miktarının belirlenmesi.....	22
3.2.3.2. Toplam serbest yağ asitleri miktarının belirlenmesi	23
3.2.3.3. Toplam tokoferol miktarının belirlenmesi	24
3.2.3.4. Hidrojen peroksit miktarının belirlenmesi	25
3.2.3.5. Malondealdehit (MDA) miktarının belirlenmesi	25
3.2.3.6. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi	26
3.2.3.7. Peroksidaz (POD) aktivitesinin belirlenmesi	27
3.2.4. İstatistikî analizler	27
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	28
4.1. Priming Uygulanacak Tohumların Seçimi İçin Yapılan Ön Çalışmalar.....	28
4.1.1. Karaçam tohumlarının 1000 tohum ağırlıkları.....	28
4.1.2. Karaçam tohumlarının yağ oranları	29
4.1.3. Karaçam tohumlarının en ve boyları.....	29
4.1.4. Orijinlere ait tohumların çimlendirme testi sonuçları	30
4.1.4.1. Karaçam tohumlarının çimlenme oranları	30
4.1.4.2. Karaçam tohumlarının ortalama çimlenme süreleri.....	32
4.1.4.3. Fide boyu ve kök uzunluğu	32
4.1.4.4. Çimlendirme testleri sonrası karaçam tohumlarının normal ve anormal fide oranları.....	34
4.2. Priming Uygulamaları.....	35
4.2.1. Priming uygulamaları sonrası çimlenme oranlarında gözlenen değişimler	36
4.2.2. Tohum uygulamaları sonrası ortalama çimlenme süresindeki değişimler.....	38
4.2.3. Tohum uygulamalarının fide boyu ve kök uzunluğuna etkileri	41
4.2.4. Tohum uygulamalarının normal ve anormal fide oranlarına etkileri	44

4.3. Priming Uygulamaları Sonucu Karaçam Tohumlarında Meydana Gelen	
Biyokimyasal ve Enzimatik Değişimlerin Belirlenmesi	47
4.3.1. Priming uygulamalarının toplam çözünebilir protein miktarına olan etkileri..	49
4.3.2. Priming uygulamalarının toplam serbest yağ asidi miktarına olan etkileri.....	51
4.3.3. Priming uygulamalarının toplam tokoferol miktarına olan etkileri	52
4.3.4. Priming uygulamalarının hidrojen peroksit miktarına olan etkileri.....	54
4.3.5. Priming uygulamalarının MDA miktarına olan etkileri.....	56
4.3.6. Priming uygulamalarının SOD aktivitesi üzerindeki etkileri.....	58
4.3.7. Priming uygulamalarının POD aktivitesi üzerindeki etkileri.....	60
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
KAYNAKLAR	65
ÖZGEÇMİŞ	78



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DOĞAL OLARAK YAŞLANMIŞ KARAÇAM (*Pinus nigra* subsp. *pallasiana*) TOHUMLARINDA PRIMİNG UYGULAMALARININ YAŞLANMA ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Ayşe ORUÇ

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Orman Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fatih TONGUÇ

Mevcut çalışmada doğal olarak yaşlanmış karaçam (*Pinus nigra* subsp. *pallasiana*) tohumlarına priming uygulamaları ile yaşlanma etkilerinin giderilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada kullanılan 9 farklı karaçam tohumu Eğirdir Orman Fidanlık Müdürlüğünden temin edilmiş ve 2008-2019 yılları arasında Gölhisar, Eğirdir, Isparta ve Dinar lokasyonlarından toplanmıştır. Çalışmalar Isparta Uygulama Bilimler Üniversitesi Orman Fakültesi ve Ziraat Fakültesi, laboratuvarlarında yürütülmüştür. Çimlendirme çalışmalarında çimlenme oranı, ortalama çimlenme süresi, normal ve anormal fide oranları ile fide uzunluğu ve kök uzunluğu ölçülmüştür. Depolama zamanının çimlenme ve fide özellikleri üzerindeki etkilerini tayin etmek için karaçam tohumları 25°C sıcaklıkta 14 gün boyunca çimlendirilmiş ve 3 adedi (2008, 2015, 2019) çimlenme oranlarına göre ayrılarak priming çalışmaları için kullanılmıştır. Priming uygulamaları 6, 12 ve 24 saat boyunca, 3 farklı uygulama (askorbik asit, kalsiyum klorür, potasyum klorür) ve 2 farklı doz (%2, %3) şeklinde uygulanmıştır.

Priming uygulamaları süreleri arasında 24 saat uygulamanın 6 ve 12 saat uygulama süresine göre daha etkili olduğu bulunmuştur. Priming uygulamalarında ise askorbik asit ve kalsiyum klorür uygulamalarının potasyum klorür uygulamasına göre çimlenme üzerinde daha etkin oldukları bulunmuştur. Uygulama dozlarında ise %3 askorbik asit ve %2 kalsiyum klorür uygulamaları diğer dozlara göre daha etkin olmuştur.

Priming uygulamalarının tohumlar üzerindeki etkilerini belirlemek için, toplam çözünebilir protein, tokoferol, serbest yağ asitleri, malondialdehit, hidrojen peroksit içeriğindeki değişimler ve superoksit dismutaz ve peroksidaz enzim aktiviteleri de incelenmiştir. İncelenen tüm özelliklerin tohum depolama süresi ve uygulamalardan önemli oranda etkilendiği bulunmuş ve askorbik asit ile kalsiyum klorür uygulamalarının etkilerinin farklı oldukları bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Priming, Tohum, Çimlenme, Antioksidant enzim, Karaçam

2023, 78 sayfa

ABSTRACT

Master's Thesis

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF PRIMING TREATMENTS ON NATURALLY AGED ANATOLIAN BLACK PINE (*Pinus nigra* subsp. *pallasiana*) SEEDS

Ayşe ORUÇ

**Isparta University of Applied Sciences
The Institute of Graduate Education
Department of Forest Engineering**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Fatih TONGUÇ

The present study was carried out to reverse the effects of natural aging due to storage by priming applications in black pine (*Pinus nigra* subsp. *pallasiana*) seeds. Total of 9 different black pine seeds, which were collected from Gölhisar, Eğirdir, Isparta and Dinar locations between 2008-2019, were obtained from Eğirdir Forest Nursery Directorate. The study was carried out in the laboratories of Faculty of Forestry and Faculty of Agriculture of Isparta University of Applied Sciences. Germination percentage, mean germination time, normal and abnormal seedling percentages, seedling and root lengths were determined during the germination studies. To determine the effects of storage time on germination and seedling characteristics, pine seeds were germinated at 25 °C for 14 days, three of which (2008, 2015, 2019) were chosen based on their germination percentages, and used for priming studies. Priming applications consisted of 3 applications (ascorbic acid, calcium chloride, potassium chloride) with 2 doses (2%, 3%) applied for 6, 12 and 24 h.

Among the application times, 24 h application time was found to be more effective than 6 and 12 h application times. Among the priming applications, ascorbic acid and calcium chloride applications were more effective than potassium chloride application based on germination results. Between the application doses, 3% ascorbic acid and 2% calcium chloride applications were more effective than other doses.

To determine the effects of priming applications on seeds, total soluble protein, tocopherol, free fatty acids, malondialdehyde, hydrogen peroxide contents, and superoxide dismutase and peroxidase enzyme activities were investigated. All investigated parameters were significantly affected by the storage time and priming applications, and it was also found that the effects of ascorbic acid and calcium chloride applications were different.

Key Words: Priming, Seed, Germination, Antioksidant enzyme, Black pine

2023, 78 pages

TEŞEKKÜR

Tezimin yürütülmesinde desteğini ve emeğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım sayın Doç. Dr. Fatih TONGUÇ'a, laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Muhammet TONGUÇ'a ve Arş. Gör. Sercan ÖNDER'e teşekkürlerimi sunarım.

2021-YL1-0115 No'lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleşmesinde tohum temini sağlayan Eğirdir Fidanlık Müdürlüğüne ve Eğirdir Fidanlık Şefi Ayşe BEYAZ'a teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan, yardımlarını esirgemeyerek yön gösteren aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Ayşe ORUÇ
ISPARTA, 2023

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1. Tohumlarda 1000 tohum ağırlığının belirlenmesi	16
Şekil 3.2. Tohum eni (A) ve boyunun tespiti (B).....	17
Şekil 3.3. Tohum çimlenmesini değerlendirmek için iki filtre kâğıdı arasına sarılarak çimlendirme testine alınan karaçam tohumları	18
Şekil 3.4. Kök uzunluğu (A) ve Fide boyu (B) tespiti	19
Şekil 3.5. 2019 yılına ait normal (A) ve anormal (B) fideler	19
Şekil 3.6. AsA, CaCl ₂ ve KCl priming uygulama işlemleri.....	20
Şekil 3.7. Priming uygulamaları sonrası 2019 yılına ait karaçam tohumlarında gerçekleştirilen standart çimlendirme testi	20
Şekil 3.8. Priming uygulamaları sonucu 2019 yılına ait karaçam tohumlarında anormal gelişme gösteren (A) ve normal gelişme gösteren(B) fideler.....	21
Şekil 3.9. Priming uygulamaları sonucu 2008 yılına ait karaçam tohumlarında anormal gelişme gösteren (A) ve normal gelişme gösteren (B) fideler.....	21
Şekil 3.10. Priming uygulamaları sonucu 2015 yılına ait karaçam tohumlarında anormal gelişme gösteren (A) ve normal gelişme gösteren (B) fideler ...	22
Şekil 3.11. Karaçam tohumlarındaki çözünebilir protein miktarının belirlenmesi	23
Şekil 3.12. Tohumlardaki serbest yağ asitlerinin belirlenmesi	24
Şekil 3.13. Tohumlardaki toplam tokoferol miktarının belirlenmesi.....	25
Şekil 3.14. Tohum örneklerinde MDA analizi	26
Şekil 3.15. Tohum örneklerinde POD aktivitesinin belirlenmesi	27
Şekil 4.1. Karaçam tohumlarında AsA ve CaCl ₂ uygulamaları sonucu toplam çözünebilir protein miktarındaki değişimleri	50
Şekil 4.2. Priming uygulamalarının karaçam tohumlarında toplam serbest yağ asidi miktarı üzerine olan etkileri	52
Şekil 4.3. 2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait karaçam tohumlarında AsA ve CaCl ₂ uygulamaları sonucu toplam tokoferol miktarı	54
Şekil 4.4. Karaçam tohumların yapılan uygulamalar sonucu hidrojen peroksit miktarındaki değişimler	55
Şekil 4.5. 2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait karaçam tohumlarında AsA ve CaCl ₂ uygulamaları sonucu MDA miktarı	57
Şekil 4.6. 2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait karaçam tohumlarında AsA ve CaCl ₂ uygulamaları sonucu SOD aktivitesi	59
Şekil 4.7. 2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait karaçam tohumlarında AsA ve CaCl ₂ uygulamaları sonucu POD aktivitesinde gözlenen değişimler	61

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3.1. Karaçam tohumlarının toplanma yılları, koordinatları ve orijinleri.....	15
Çizelge 4.1. Farklı toplama yıllarına ve farklı orijinlere ait karaçam tohumlarının 1000 tohum ağırlıkları (g) ve yağ oranları (%).....	28
Çizelge 4.2. Farklı toplama yıllarına ve orijinlere ait karaçam tohumlarının en ve boy değerleri	29
Çizelge 4.3. Farklı toplama yıllarına ve orijinlere ait karaçam tohumlarının çimlenme yüzdeleri.....	31
Çizelge 4.4. Farklı toplama yıllarına ve farklı orijinlere ait karaçam tohumlarına ait fide boyu ve kök uzunluğu ortalamaları	33
Çizelge 4.5. Farklı toplama yıllarına ve farklı orijinlere ait karaçam tohumlarının normal ve anormal fide oranları (%).....	34
Çizelge 4.6. Farklı sürelerde ve farklı konsantrasyonlarda AsA, CaCl ₂ ve KCl uygulanan karaçam tohumlarının çimlenme oranları (%)	36
Çizelge 4.7. Çizelge Farklı sürelerde AsA, CaCl ₂ ve KCl primingleri uygulanan karaçam tohumlarının ortalama çimlenme süreleri (gün).....	39
Çizelge 4.8. Priming uygulamalarının karaçam tohumlarının fide boylarına (cm) olan etkileri	41
Çizelge 4.9. Priming uygulamalarının karaçam tohumlarının kök uzunluğuna (cm) olan etkileri.....	42
Çizelge 4.10. Priming uygulamalarının karaçam tohumlarında normal fide oranlarına olan etkileri	44
Çizelge 4.11. Priming uygulamalarının karaçam tohumlarında anormal fide oranlarına olan etkileri	46
Çizelge 4.12. Priming uygulamaları sonucu karaçam tohumlarının çözünebilir protein miktarında meydana gelen değişimler	49
Çizelge 4.13. Priming uygulamaları sonucunda karaçam tohumlarında toplam serbest yağ asit miktarlarının değişimi	51
Çizelge 4.14. Priming uygulamaları sonucunda karaçam tohumlarında toplam tokoferol miktarlarındaki değişimler	53
Çizelge 4.15. Priming uygulamaları sonucunda karaçam tohumlarının hidrojen peroksit içeriklerinde meydana gelen değişimler	54
Çizelge 4.16. Priming uygulamaları sonucunda karaçam tohumlarındaki MDA seviyelerinin değişimi	56
Çizelge 4.17. Farklı toplama yıllarına ve farklı orijinlere ait karaçam tohumlarının SOD aktivitesi	58
Çizelge 4.18. Farklı toplama yıllarına ve farklı orijinlere ait karaçam tohumlarının POD aktiviteleri.....	60

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AsA	Askorbik asit
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
cm	Santimetre
ÇY	Çimlenme yüzdesi
dk	Dakika
g	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
KCl	Potasyum klorür
l	Litre
MDA	Molandialdehit
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Minimolar
nm	Nanometre
OÇS	Ortalama çimlenme süresi
POD	Peroksidaz
s	Saat
sn	Saniye
SOD	Süperoksit dismutaz
µg	Mikrogram
µM	Mikromolar

1. GİRİŞ

Anadolu karaçamı (*Pinus nigra* subsp. *pallasiana*) Batı ve Orta Karadeniz Bölgelerimizde 400-1400 m'lerde saf meşcereler halinde, 1400-1700 m'lerde sarıçamla birlikte görülür. Batı Karadeniz'de özellikle göknar ve meşe türleri ile karışık meşcereler kurar. İç Anadolu step sınırlarında 900 m'ye kadar meşcere halinde, yaylalarda 1400 m'ye kadar münferit halde yayılım gösterir. Akdeniz Bölgesinde Toroslarda 1200-2100 m arasında yayılım göstermektedir (Saatçioğlu, 1976). Bununla birlikte, 2300 m'ye kadar çıktığı yerlerde mevcuttur. Ege ve Marmara bölgelerinde genellikle 800-1000 m arasında kızılçam ile 1000 m'den sonra saf meşcereler halinde bulunmaktadır (Genç, 2020). İbrelili ağaç türlerimiz içinde yayılım alanı olarak kızılçamdan sonra ikinci sırada yer alan karaçam, hem kuraklığa hem de kış soğuklarına karşı dayanıklı bir tür olduğundan, ülkemizde değişik yetiştirme ortamlarında geniş bir yayılım göstermektedir. Bu nedenle en çok ağaçlandırması yapılan ve fidanı üretilen türlerimiz arasında olan karaçam ülkemizin tüm coğrafik bölgelerinde ağaçlandırma çalışmalarında kullanılmaktadır. Ayrıca, karaçam ibrelilerden Türkiye'de bozkıra en çok sokulan asli orman ağacı türümüz arasında yer almasından dolayı da çok geniş alanlarda ağaçlandırma çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Tonguç vd., 2013). Yayılım alanında daima denize bakan yamaçlardan kaçır, denize kapalı kısımları tercih etmektedir (Saatçioğlu, 1976).

Karaçamın çok farklı iklim bölgelerinde yetiştirilmesi, genetik çeşitliliğinin yüksek, bunun sonucunda ekolojik hoşgörölölük sınırlarının geniş olmasıyla ilgilidir. Saf karaçam ormanının üst toprak katında 5.83-6.04 arasında olan pH, karaçam ve kayın ormanında 6.58-6.82 arasında değişir. Kireçtaşı üzerindeki kumlu killi topraklarda 7.6-7.92 olan pH, killi yumuşak kireçtaşıda 7.8-8.0 arasında seyretmektedir (Atalay ve Efe, 2010). Birçok araştırmacı tarafından karasal iklim koşullarının hakim olduğu kurak ve yarı kurak alanlarda yapılacak ağaçlandırma çalışmalarında toprağın derinliklerine inebilen kazık kök yapma özelliğine sahip, yetiştirme ortamı istekleri açısından kanaatkar bir tür olan karaçamın kullanılması önerilmektedir (Ürgenç, 1998).

Karaçam, Türkiye'deki diğer orman ağacı türleri arasında meşe ve kızılçamdan sonra üçüncü en büyük alansal dağılıma (4.6 milyon ha) sahiptir (OGM, 2014). Karaçam, Türkiye'de ağaçlandırma ve rehabilitasyon çalışmalarında yaygın ve çok olarak kullanılan ağaç türleri arasında yer almaktadır. Türkiye'de yüksek Anadolu steplerinin ağaçlandırılması için kullanılabilecek ilk türdür ve bu nedenle büyük öneme sahiptir (Koski ve Antola 1993; Kaya ve Temerit, 1994).

Rehabilitasyon çalışmaları için gerekli fideleri üretmek amacıyla yakın zamanda birçok klonal tohum bahçesi kurulmuştur (Kaya vd., 2003). Tohum bahçelerinin kullanımı, toplanması uygun, yüksek ve tekdüze tohum üretimine bağlıdır. Tohum bahçelerinde büyüme ve tohumla ilgili özelliklerdeki farklılıklar, toplanan tohum ve fideler üzerinde etkili olacaktır (Ürgeç, 1986).

Karaçam, iğne yapraklı türler arasında da büyük bir genetik çeşitliliğe sahiptir. Araştırmalar, popülasyonlar arası ve popülasyonlar arası çeşitliliğin bu türdeki genetik çeşitlilik için önemli kaynaklar olduğunu göstermiştir (Bonnet-Masimbert ve Bikay, 1978; Nikolic ve Tucic, 1983; Alptekin, 1986; Velioğlu vd., 1998). Türkiye içinde kalan popülasyonlar arasındaki varyasyon, büyük ölçüde popülasyon içindeki çeşitliliğe bağlıdır (Kaya ve Temerit, 1994). Rehabilitasyon çalışmaları için klonal tohum bankaları kurulmaktadır ancak bunlar şu anda gerekli tohum üretimi için yeterli değildir (Sıvacıoğlu vd., 2009). Ancak antropolojik koşullar bu türün doğal yayılışına zarar vermiş ve İç Anadolu'da bu türün meşcereleri yok olmuştur (Uslu, 1958). Bu nedenle, klonal tohum bankalarından fide üretimi için gerekli olan büyük miktarlarda tohum temininde yaşanan zorluklar ve bu popülasyonların bölgeye adaptasyon kabiliyetleri nedeniyle kalan popülasyonları tohum bankası olarak kullanmak gerekmektedir.

Karaçam her yıl bol tohum vermemektedir. Karaçam 15-20 yaşlarından itibaren kozalak tutmaya başlar. Bol tohum yılları 2-3 yılda tekerrür eder. Tohumlar oluştuktan sonra takip eden 2. yılın Eylül-Ekim aylarında olgunlaşır. Olgunlaşan tohumlar hava durumu ve rakıma bağlı olarak aynı yılın Aralık, ertesi yılın Ocak-Nisan aylarında kozalaklardan dökülürler. Bol tohum yılı, tohumların olgunlaştığı yıl olarak kabul edilir. Bu nedenle, bol tohum yılında toplanan tohumlar, soğuk hava depolarında ileriiki

yıllar için saklanmaktadır. Bununla birlikte, fidan yetiştirmek için saklanan tohumların çimlenme yetenekleri de zaman içerisinde azalmaktadır.

Tohum, döllenmeden sonra olgunlaşıp gelişmiş ovulum ve içerisindeki embriyodan ve depo besinlerini çevreleyen integümentlerden türetilmiş bir koruyucu tohum kabuğun'dan (testa) meydana gelen yapılardır. Tohum dıştan içeriye doğru tohum kabuğu, endosperm ve embriyodan oluşmaktadır. Tohum kabuğu, integümentlerin gelişimi ile meydana gelen ve bitki türüne göre değişerek farklı kalınlıklarda olabilen, aynı zamanda embriyo ve dış çevre arasında bulunan tek koruyucu bariyerdir. Tohum kabuğunun diğer bir yapısal özelliği ise embriyo ve dış çevre arasındaki gaz alışverişini düzenlemektir. Endosperm, olgun tohumlarda bulunur ve depo organı olarak görev yapar (Algan ve Toker, 2004). Bazı tür tohumlarda ise nusellus besin dokusu olarak gelişir ve buna perisperm adı verilir. Embriyo ise yeni bitkiyi meydana getirecek esas kısımdır. Embriyo kotiledonlar (ilk gerçek yapraklar), epikotil-hipokotil (bitki gövdesinin temel sistemleri) ve radikula (embriyonik kök) olmak üzere üç kısma ayrılır.

Tohum bozulması ve yaşlanması, tohumların çimlenme hızı (vigor) ve daha sonrada canlılığına etki ederek tohum canlılığının zamanla azalması ve daha sonra tohumun ölümüyle sonlanan bir durumdur. Tohumlar doğal olarak depolandıkları andan itibaren bozulma ve yaşlanmaya başlarlar. Tohum yaşlanması bitkilerin türlerine, tohum çeşitlerine (orthodox ve recalcitrant), genetik faktörlere, tohumların toplandıkları andaki olgunluk durumlarına ve çevre şartlarına; özellikle sıcaklık ve neme göre değişmektedir (Algan ve Toker, 2004). Tohum yaşlanması sonucunda tohumların vigor ve canlılığında azalma, ortalama çimlenme süresinde uzama, anormal fideciklerin sayısında çoğalma ve biyotik ve abiyotik streslere karşı koymada azalma meydana gelir. Tohumların yaşlanmaya bağlı olarak yastıklardan çıkış hızlarının azalması, fide gelişimini etkileyerek verimi olumsuz yönde etkiler (Sivritepe, 2012).

Yaşlanmadan dolayı olumsuz yönde etkilenen tohumlardan daha iyi çimlenme performans elde edebilmek için farklı priming uygulamaları yapılmaktadır (Javanmaer ve Tabari, 2017; Shatpathy vd., 2018). Mevcut araştırmada Askorbik asit (AsA), kalsiyum klorür (CaCl_2) ve potasyum klorür (KCl) uygulamalarının depolama sırasında yaşlanan tohumların çimlenmesi üzerine olan etkilerinin araştırılması

amaçlanmıştır ve yukarıdaki uygulamalar farklı priming uygulamaları arasında yer almaktadır (Wang vd., 2018; Hozayn ve Ahmed, 2019; Silveira vd., 2020).

Askorbik asitin abiyotik stres koşullarına karşı etkili bitki büyüme düzenleyicilerden biri olduğu bilinmektedir (Akram vd., 2017). Askorbik asit bir antioksidan kaynağıdır aynı zamanda bitkilerin antioksidant savunma mekanizmasına katıldığı bilinmektedir (Noctor ve Foyer, 1998; Boubakri, 2017). Bitkilerin tamamında sentezlenebilen askorbik asit bir monosakkarit türevi olup yapıca glikoza ve diğer altı karbonlu monosakkaritlere benzer. Askorbik asit, kök uzamasında, hücre duvarı genişlemesinde rol oyandığı gibi oksidatif stres altında DNA replikasyonunda da etkili olduğu bilinmektedir (Noctor ve Foyer, 1998).

Tohumların ana bileşenlerinden olan proteinlerin oluşumunda ve karbonhidratların bitki içerisinde taşınmasında kalsiyumun (Ca) önemli derecede yeri vardır (Bolat ve Kara, 2017). Bitki hücre duvarının tamamlayıcı bir parçasıdır ve bu yüzden hücre duvarı yapısını düzenleyen bitki besin elementi olarak bilinmektedir (Bolat ve Kara, 2017). Bitkilerde kalsiyum noksanlığı, meristem dokuların büyümesini yavaşlatır. Sürgün ucu tomurcuklarında ve köklerin büyüme uçlarında gelişme durur ve dolayısıyla bitkinin gelişmesi de durur. Ayrıca çam embiriyosuna uygulanan kalsiyumun klorofil sentezinde rol aldığı bilinmektedir (Lechowski ve Bialczyk, 1993).

Potasyum, kalsiyum gibi tohum çimlenme ve fide gelişimi sırasında önemli rol oynamakta, tohumun olgunlaşmasını ve bitkinin kök sisteminin gelişmesini sağlamaktadır. Çok sayıda enzim ve koenzimlerin aktivasyonunda, fotosentez, protein sentezi, nişasta oluşumu ve şeker transferi olaylarında bitkiler tarafından kullanılmaktadır. Hücre özsuyu ve dolayısıyla bitkinin su dengesini sağlayarak kuraklığa karşı dayanma gücünü artırmaktadır. Yaz kuraklığının atlatılmasında ve donlara karşı dayanıklılıkta olumlu etkiler yapmaktadır (Bolat ve Kara, 2017).

Yağlar, karbonhidratlar, proteinler ve vitaminler tohumların ana bileşenleri arasında yer almaktadır. Ayrıca hücre içinde nükleik asitlerde bulunmaktadır. Her bir makro molekülün varlığı bitki türü ve çeşidine göre farklılık göstermektedir. Hücresel seviyede tohum yaşlanması, yukarıda belirtilen depo bileşenlerinin üzerine etki

etmekte ve bunun sonucunda hücre zarlarında bozulmalara, enerji metabolizmasında değişimler, protein ve enzimlerin yapısında değişim ve bozulmalara, yağların ve karbonhidratların yıkılmasına ve reaktif oksijen türleri ile toksik bileşiklerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Tüm fizyolojik olaylar ise DNA'nın yapısında bozulmalar ve RNA-protein sentezinin yavaşlaması veya durmasına neden olabilmektedir. Tohum canlılığının yitirilmesi, hücrenin yapısında bulunan tüm makromoleküllerin etkilenmesinin bir sonucudur. Bozulmuş veya yaşlanmış tohumlarda biriken bileşikler bozulmaya tabi tutulmamış tohumların çimlenmesini olumsuz yönde etkilemektedir (Priestly, 1986).

Fotosentez sonucu oluşan oksijen türevleri, bitkilerde biyosentez reaksiyonlarda DNA, RNA, karbonhidrat, protein gibi biyolojik ana bileşenlerden serbest radikalleri oluşturabilir (Bellani vd., 2012). Reaktif oksijen birikimi hücresel membranların yıkımı, protein ve nükleik asitlere zarar veren çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek tohum bozulmalarına neden olur (Hu vd., 2012; Wojtyla vd., 2016).

Tohumlarda yaşlanma ile birlikte reaktif oksijenlerden olan $O^{\cdot -}$ indirgenmesi ile birlikte oluşan superoksit dismutaz (SOD) hücrelerde kloroplast, mitokondri gibi organellerde bulunarak hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumunu katalizler (Büyük vd., 2012).

Yağların parçalanması lipid peroksidasyonu yolu ile olmaktadır. Tohumda stres sonucu meydana gelen serbest radikaller membranlardaki doymamış yağ asitlerine etki ederek lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır. Lipid peroksidasyonu oksidatif veya enzimatik (lipazlar) olarak meydana gelmektedir. Oksidatif peroksidasyon tohum nem içeriği düşük fakat ortam sıcaklığı yüksek olduğu zaman gözlenmektedir. Oksidatif peroksidasyonun başlaması, metil grubuna ($-CH_2-$) bir çift bağla bağlı hidrojenin ($H^{\cdot}$) ayrılmasıyla gerçekleşir. Hidrojen ayrılmasından sonra dien-konjugasyon ve oksijen ilave edilmesiyle bir peroksil radikali ($ROO^{\cdot}$) elde edilir. $ROO^{\cdot}$ başka bir doymamış asit (RH) ile reaksiyona girmesi suretiyle birincil oksidasyon ürünü olarak lipid hidroperoksit ($ROOH$) formları oluşur (Devasagayam vd., 2004; Karabulut ve Gülay, 2016).

Bu aşamadaki tepkimeler doymamış yağ asitlerinin miktarına bağlı olarak sürekli devam etmekte ve ne zaman sona ereceği ise ortamda bulunan oksijen ve antioksidan

miktarına bağlıdır. Oluşan lipid hidroperoksitlerin aldehit ve diğer karbonil bileşikler ile etan, pentan gibi uçucu gazlara dönüşmesi ile reaksiyon son bulur (Gutteridge, 1995). Lipid peroksidasyonun önlenmesi ise üç şekilde olur (Comporti, 1993). Birincisi, serbest oksijen gruplarının etkinliğinin azaltılmasıyla; ikincisi, lipid peroksidasyon zincir oluşumunun engellenmesi veya bu aşamayı durduran yapılarla; üçüncüsü, diğer tamir edici mekanizmalar ile gerçekleşir. Malondialdehit (MDA) içeriği lipid peroksidasyonunun bir işareti olarak stres üzerine yapılan araştırmalarda çok önemli bir yere sahiptir. MDA akışkanlık, iyon taşınması, enzim aktivitesinin kaybı ve protein çapraz bağlanması gibi nihayetinde hücre ölümü ile sonuçlanabilen zararın metabolik değişimlerini içeren hücre zarı hasarından sorumlu, yağların oksidatif modifikasyonunun son ürünüdür (Labudda, 2013).

Tohumların ana bileşenleri yağlar, karbonhidratlar, proteinler ve vitaminlerdir. Bunlardan farklı olarak tohumlarda fenolik maddeler, glikozitler gibi sekonder metabolitlerde bulunmaktadır. Tohumların içerisindeki ana bileşiklerin varlığı bitki türü ve çeşidine göre farklılık göstermektedir. Çam tohumlarındaki yağ oranı türlere bağlı olarak %22-68 arasında değişim göstermektedir (Wolff ve Bayard, 1995; Bağcı ve Karaağaçlı, 2004). Kızılçam için bildirilen yağ oranı %23.1'dir ve yağın %85'i doymamış yağ asitlerinden meydana gelmektedir. Ayrıca çam tohumları yemeklik yağlık tohum olarak kullanılan bitkilerden farklı olarak çok miktarda farklı tipte ve konfigürasyonda yağ asitleri içermektedir. Fıstık çamının tohumları %31 oranında protein ve %14 oranında karbonhidrat içermektedir. Bunun %5'i toplam çözünebilir şeker iken %0.7'si indirgenebilir şekerdir (Nergiz ve Dönmez, 2004).

Tohumların uzun yıllar depolanması sonucunda tohum canlılığının korunmasında, monosakkarit, disakkarit, oligosakkarit, çözünür şekerler, spesifik proteinlerin varlığı ve miktarının yeterliliği çok önemli rol oynamaktadır (Kaur vd., 2015). Bu koruyucu mekanizmalar superoksit dismutaz, peroksidaz, gibi birkaç serbest radikal, peroksit tutucu enzimlerin çalışmasına katılarak tohum canlılığını korur (Sung, 1996). Toplam çözünebilir şekerler, tohumların kurumasında (dessikasyon) tohum canlılığının korunması için gereklidirler (Koster ve Leopold, 1988). Tohumlardaki protein içeriğinin farklı *P. pinaster* (sahil çamı) populasyonlarında 14.6-19.1 mg/g arasında değiştiği ve protein içeriğinin tohum çimlenmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (Wahid ve Bounoua, 2013).

Karaçam tohumlarının protein, tokoferol, çözünebilir ve indirgenebilir şeker, karoten ve ksantofil içerikleri hakkında bir çalışma ve bu depo moleküllerinin yükseltiye bağlı olarak değişimi ve çimlenme ile olan ilişkilerini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Tokoferoller yağda çözünen vitamin E'yi meydana getiren bileşiklerdir. Bitkilerde 4 tip tokoferol mevcuttur (alfa, beta, gama ve delta). Bitkilerin depoladıkları tokoferol miktarı türler arasında değişim göstermektedir. Vitamin E önemli bir antioksidandır ve hücrede oluşan serbest radikallerin hücre zarına zarar vermesini engellemektedir (Barbas, 2001). Vitamin E ve tokoferoller en çok tohumlarda birikir ve farklı bitkilere ait tohumlar farklı tokoferoller için iyi birer kaynaktır. Tokoferoller enzimatik olmayan yağ bozulmasını engelleyerek tohumların canlılığının korunmasında ve çimlenme sırasında yağ asitlerinin yıkımı sonucu oluşan serbest radikallerin etkisizleştirilmesinde görev almaktadırlar. Vitamin E sentezleyemeyen Arabidopsis mutantlarının tohumları hızla canlılığını kaybetmekte ve tohumların çimlenmesinde anormal bitkiler oluşurmaktadırlar (Settler vd., 2004). Karaçam ve diğer tüm çam tohumları α ve γ -tokoferol bakımından zengindirler ve γ -tokoferol miktarı daha fazladır (Bağcı ve Karaağaçlı, 2004). Sarıçam'da (*Pinus sylvestris*) yapılan depolama çalışmasında, depolama süresi boyunca tokoferol miktarı azalmış ve buna bağlı olarak tohumların çimlenmesi de azalmıştır (Tammela vd., 2005).

Yaşlanmayla birlikte tohumlarda bazı hücresel mekanizmalar ve stres oluşumu tohum canlılığını negatif yönde etkiler. Bu olumsuzlukları engellemek amacıyla tohumlara çeşitli ön uygulamalar yapılmaktadır (Walters, 1998; Lopez-Fernandez vd., 2018). Askorbik asit, ön uygulamada kullanılan ve önemli rolü olan bir antioksidandır. Özellikle hidrojen peroksit, superoksit gibi radikalleri nötralize eder. Ayrıca tokoferol ve diğer uçucu yağların yeniden üretilmesinde ikincil antioksidan görevi gördüğü bilinmektedir (Yazdanpanah vd., 2011; Fazlali ve Moradi, 2013).

Askorbik asit oksidatif strese toleransta önemli rol oynar (Khan vd., 2011). ASA uygulamasının yapılan çalışmalarda tohumlarda canlılık ve kaliteyi arttığı bilinmektedir (Saba Anwar vd., 2013; Ghiyasi vd., 2015; Ahmed vd., 2018). CaCl_2 ve KCl uygulamalarının da tohum canlılığını ve tohum kalitesini arttırdığı birçok çalışma

ile kanıtlanmıştır (Farooq vd., 2008; Hussain vd., 2016; Çelik ve Kenanoğlu, 2020; Gao ve Yan, 2020).

Depolanan tohumlarda zaman ilerledikçe çimlenme oran ve hızları düşmekte, bu da fidanların ekim yastıklarından çıkma başarısını etkilemekte ve yapılan masrafları arttırmaktadır (Temel vd., 2011; Yılmaz vd., 2014). Depolanan tohumlarda bazı biyokimyasal değişimler meydana gelmektedir. Bu değişimler tohum orijinine göre de değişebilmektedir. Tohumlarda meydana gelen değişimlerin her bir orijin için belirlenebilmesi de önem arz etmektedir (Hsu vd., 2003; Paul vd., 2021; Miladinov vd., 2021; Tonguç vd., 2022).

Mevcut çalışmanın amacı karaçam tohumlarında depolanma süresince meydana gelen doğal bozulmaların farklı tohum primingleri ile önlenip önlenemeyeceğini ve de tohum priminglerinden seçilen tohumların fizyolojik özellikleri, biyokimyasal içerikleri ve antioksidant enzim aktiviteleri üzerindeki etkilerini araştırmaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Alvarez vd. (2007), sahilçamı, sarıçam ve karaçam tohumlarının laboratuvar koşullarında yangın etkisiyle artan sıcaklıklara bağlı termal şoklardan sonra çimlenme ve fide gelişimini incelemişlerdir. Sahilçamı tohumlarının 150°C'den fazla sıcaklıklara 5 dk maruz kalmasının çimlenme yüzdesi üzerinde olumsuz etkiler gösterdiğini belirtmişlerdir. Sarıçam ve karaçam tohumlarının 110°C'nin üzerindeki sıcaklıklara 5 dk fazla dayanamadığını, her üç türünde tohumlarının çimlenme başlangıcının termal şoklar etkisiyle geciktiğini ve sahil çamı tohumlarının diğerlerine göre daha geç çimlendiğini rapor etmişlerdir. Termal şokların sarıçam türünde gövde gelişimine nazaran kök gelişimini daha fazla azalttığını bildirmişlerdir.

Ayan vd. (2021), araştırmalarında 1dk ve 5 dk'lık yüksek sıcaklık şoku uygulamalarının (70, 90, 110 ve 130°C) dört farklı ıslah zonundan toplanan 15 farklı Anadolu karaçamı tohumlarında tohum canlılığı ve çimlenmesi üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Karaçam tohumlarının 70, 90 ve 110°C sıcaklıktan etkilenmediğini, ayrıca 1 dk'lık sıcaklık şoku uygulamasında, 5 dk'lık uygulamaya göre çimlenme yüzdesi ve hızının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Feurtado vd. (2004), *P. monticola* Dougl. tohumlarının yüksek oranda dormansi gösteren ve farklı dormansi kırma yöntemlerinin tohumlarda düzensiz çimlenmeye yol açtığını bildirmişlerdir. Dormansiyi kırmak ve düzgün çimlenmeyi sağlamak için, farklı dormansi kırma yöntemleri *P. monticola* tohumlarına uygulanmıştır. Islak katlama ile birlikte yapılan hormon uygulamaları dormansiyi kırmada etkili değilken katı madde priming uygulamaları dormansiyi kırmamış ayrıca tohum canlılığını azaltmıştır. Yüksek sıcaklıkta suda bekletmeden sonra uygulanan ıslak katlama *P. monticola* dormansi kırmada en etkili yöntem olarak bulunmuştur. 12 gün boyunca 27°C'de bekletmeden sonra uygulanacak ıslak katlama gün sayısı 96 günden 60 güne inmiştir.

Bourgeois ve Malek (1991), *P. banksiana* Lamb. ile yaptığı çalışmada %10'luk poly ethylene glycol (PEG) 8000 solusyonunda 2-6 gün arasında priming uygulanan ve uygulanmayan tohumlardaki çimlenme, protein, aminoasit ve ATP miktarları

incelenmiştir. Priming uygulanan tohumlar, uygulanmayan tohumlara göre 2 gün erken çimlenmişler ve daha yüksek ATP miktarına sahip olmuşlardır.

Boydak vd. (2003), su stresinin kıvılcım tohumlarının çimlenmesi üzerine etkilerini ve farklı biyoklimatik bölgelere ait kıvılcım tohumlarının kuraklık toleransı bakımından önemli tür içi farklılıklara sahip olup olmadığını incelemişlerdir. Çimlenme ortamının su potansiyelinin 0, -2, -4, -6 ve -8 bar PEG-6000 çözeltisiyle oluşturulduğu çalışma, günlük 12 s ışıklandırma altında 28 gün sürmüştür. Genel olarak -6 bar osmotik basınçtan daha yüksek basınçlarda çam tohumlarının çimlenme oranı ve değerlerinin azaldığını ve farklı biyoklimatik bölgelere ait tohumlar arasında istatistiksel olarak farklılıklar olduğunu gözlemlemişlerdir.

Chen vd. (2021), araştırmalarında sorgum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) tohumlarına KCl (50, 100 ve 150 mM) ve CaCl₂ (50, 100 ve 150 mM) uygulamalarının çimlenme üzerine etkilerini incelemişlerdir. Araştırmaları sonucunda artan KCl dozları ile birlikte çimlenme oranının arttığını, 50 mM CaCl₂ uygulamasının, diğer CaCl₂ uygulamalarına göre istatistiksel olarak çimlenme oranını artırdığını ifade etmişlerdir.

Shen ve Oden (1999), embriyo büyüklüğüne göre ayrılan iki farklı sarıçam tohum grubunda çimlenme yüzdesi ve ortalama çimlenme süreleri tespit etmiştir. Örneklerin çimlenme yüzdesi %91.5 ve %49.5 ve ortalama çimlenme zamanları ise 6.6 ve 8.5 gün olarak bulunmuştur. Her iki örnek %30 nem içeriğinde gibberelik asit (GA₃) ve 6-Benzilaminopürin (6-BAP) ile priming uygulamasına tabi tutulmuştur. Priming uygulamalarından sonra tohumlardaki süktroz sentaz, asit invertaz ve fumaraz aktiviteleri ölçülmüştür. Priming uygulaması ortalama çimlenme süresini 3 gün azaltmıştır. GA₃ uygulaması ile çimlenme yüzdesi %49.5'ten %57.4'e çıkmıştır. Süktroz sentaz aktivitesi az gelişmiş tohumlarda, iyi gelişmiş tohumlara göre iki kat fazla çıkmıştır. Bunun sebebinin tohum toplanması sırasında embriyo gelişiminin tamamlanamamasından dolayı süktrozun asimilasyonunun devam etmesi olduğu ifade edilmiştir. Fumaraz aktivitesi priming uygulaması ile artmıştır. Fumaraz aktivitesinin artması embriyoda depolanan yağların mitokondride parçalanması ilişkilidir. Fumaraz aktivitesinin tohum vigorunu belirlemek için kullanılabileceği bildirilmiştir

Ghildiyal vd. (2009), *P. roxburghii* türüne ait farklı orjinli tohumların çimlenmesinde hidrojen peroksit (H_2O_2) ve GA_3 uygulamalarının etkisini araştırmışlardır. Kontrolde %70.8, %1 H_2O_2 uygulamasında %82.4 ve 10 mg l⁻¹ GA_3 uygulamasında ise %78.2 çimlenme oranı elde ettiklerini ifade etmişlerdir. GA_3 uygulamasında ortalama çimlenme süresini 8 gün, H_2O_2 uygulamasında ise ortalama çimlenme süresini 10 gün olarak tespit ettiklerini belirtmişlerdir.

Ghiyasi vd. (2014), yaptıkları bir çalışmada 4 farklı konsantrasyonda askorbik asit uygulamasının (0, 25, 50, 75 ve 100 ppm) 5 yıl boyunca doğal olarak yaşlandırılmış soya tohumlarının bazı çimlenme özellikleri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışma sonucunda artan askorbik asit dozları ile çimlenme indeksinde arttığını belirtmişlerdir.

Guangwu ve Xuwen (2014), *P. massoniana* tohumlarını GA_3 ve indole-3-asetik asit (IAA) çözeltilerinde 12, 18, 24, 30 ve 36 s boyunca beklettikten sonra tohumların bazı çimlenme özelliklerini incelemişlerdir. Araştırmaları sonucunda, 0,05 mM GA_3 uygulamasında 24 s süre ile bekletilmesi sonucunda IAA ve kontrole göre çimlenme indeksi, fide uzunluğu ve fide ağırlığı bakımından en yüksek sonuçların elde edildiğini bildirmişlerdir.

Guo vd. (2012), bazı priming uygulamalarının *P. bungeana* tohumlarının çimlenmesi ve fizyolojisi üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Saf su ile hidropriming, -0.3, -0.6 ve -1.2 M Pa potasyum nitrat (KNO_3) dozları ile halopriming uygulaması yaptıklarını belirtmişlerdir. Kontrole göre hidropriming ve halopriming uygulamalarının her ikisinin de çimlenme oranı ve çimlenme indeksini artırdığını, ortalama çimlenme süresini ve tohumların %50'sinin çimlenmesi için gerekli olan süreyi kısalttığını rapor etmişlerdir. Uygulama yapılan *P. bungeana* tohumlarının bağıl iletkenlik ve MDA miktarlarının önemli ölçüde azaldığını, -0.3 MPa KNO_3 uygulamasından %65 olarak en yüksek çimlenme oranı, 18.8 gün ile en kısa ortalama çimlenme süresini elde ettiklerini ifade etmişlerdir.

Hadinezhad vd. (2013), yaptıkları bir çalışmada KNO_3 (kontrol, %1.0, %1.5 ve %3.0) çözeltilerinde 12, 24 ve 48 s süre ile beklettikleri kestane yapraklı meşe tohumlarının çimlenme yüzdesi ve fide büyümesi üzerine etkisini araştırdıklarını belirtmişlerdir.

Çalışmaları sonucunda kontrole göre %1.5 KNO₃ priming uygulanan tohumların çimlenme indeksinin daha yüksek olduğu ve ortalama çimlenme süresinin daha kısa olduğunu ifade etmişlerdir.

Houskova vd. (2021), sarıçam tohumlarının canlılığını korunmasında kullanılan bazı yöntemlerin verimliliğini doğrulamak için yaptıkları bir çalışmada çimlendirme öncesi sarıçam tohumlarını 48 s boyunca 5°C suda beklettikleri, tohumların bir kısmını 21 gün boyunca polietilen bir torba içerisinde 21 gün boyunca yine 5°C’de muhafaza ettiklerini bildirmişlerdir. Diğer tohum grubunu ise 3 gün boyunca 10°C’de bekletmişlerdir. En yüksek çimlenme oranını ve çimlenme enerjisini suda bekletildikten sonra 21 gün boyunca soğuk katlama yapılan tohumlardan, en kısa çimlenme süresinin de yine aynı uygulama grubundan elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Kumar vd. (2014), 0, 75 ve 150 ppm GA₃ çözeltilerinde 8, 16 ve 24 s, 15 ve 25°C’de beklettikleri *P. gerardiana* tohumlarının bazı çimlenme özelliklerini incelemişlerdir. En yüksek çimlenme değerlerinin 75 ppm GA₃ 15°C sıcaklıkta 24 s süre ile bekletilen tohumlardan elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Kumar vd. (2013), 100 ppm IAA, 100 ppm IBA (Indol-3-butirik asit), 100 ppm GA₃, 100 ppm NAA (Naftalen asetik asit), 100 ppm KIN (Kinetin), 100 ppm Ethrel, %1 KNO₃ ve %1 Magnezyum sülfat (MgSO₄) çözeltilerinde 12 ve 24 s beklettikleri *P. gerardiana* tohumlarının çimlenme özelliklerini incelediklerini belirtmişlerdir. En yüksek çimlenme değerlerini 100 ppm GA₃ uygulamasından elde ettiklerini, 24 s bekletme süresinin 12 s göre daha etkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Liu vd. (2011), *P. massoniana* Lamb. ve *P. armandii* Franch. türleri tohumlarına 0.1, 2.0 ve 20.0 mmol l⁻¹ CaCl₂ ön uygulaması sonucunda, *P. armandii* türünde 0.1 mmol l⁻¹ ile en yüksek çimlenme oranı değerlerini elde ederken, *P. massoniana* türünde istatistiksel olarak uygulamalar arasında çimlenme oranı bakımından bir farklılık olmadığını rapor etmişlerdir. Fidelerin radikula uzunlukları üzerinde her iki tür içinde en yüksek değeri 20 mmol l⁻¹ CaCl₂ ön uygulaması ile elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Şevik ve Ertürk (2015), farklı menşeilere ait kızılçam tohumları arasında su stresi altında çimlenme performansları bakımından tohumların farklılıklarını

araştırmışlardır. Çimlenme ortamının su potansiyelinin 0, -2, -4, -6 ve -8 bar PEG-6000 çözeltisiyle oluşturulduğunu, tohumların 14 farklı lokasyondan elde edildiğini, çalışmanın da 35 gün sürdüğünü bildirmişlerdir. Araştırmaları sonucunda, menşeleri farklı olan tohumlar arasında önemli çeşitlilikler olduğunu, tüm türlerde -8 bar su stresi altında çimlenmenin diğer dozlara göre en az olduğunu belirtmişlerdir.

Temel vd. (2011), Göller bölgesinde Anadolu karaçam ağaçlarının 23 farklı popülasyona ait taze ve 10 yıl depoda bekletilen tohumların çimlenme oranları arasındaki farkları incelemişlerdir. Çalışmaları sonucunda depoda bekletilen tohumların taze tohumlara oranla çimlenme yüzdesinin %37.6 daha az olduğunu belirtmişlerdir. Yedinci güne kadar çimlenen tohum sayısının 10 yıllık tohumlarda taze tohumlara göre daha az olduğunu bildirmişlerdir.

Wu vd. (2003), katı madde priming uygulanan *P. taeda* tohumlarında meydana gelen fizyolojik değişimleri incelemişlerdir. Embriyolarda priming sonucu osmotik potansiyel 0.65 MPa'ya düşmüştür. Kristal halindeki proteinlerin varlığı %62 oranında düşerken; suda çözünebilen proteinlerin oranı %22, serbest aminoasitlerin oranı ise %166 oranında artmıştır. Elektron mikroskopisi ile yapılan gözlemlerde protein depolarının mobilize edildiği bulunmuştur. Endopeptidazların proteinleri parçalayarak serbest aminoasitleri oluşturduğu bulunmuştur. Klonlanan endopeptidaz enzimlerinin su stresi altında üretilen mRNA'lara benzediği bulunmuştur. Endopeptidaz inhibitörleri ile muamele edilen primed embriyolarda protein yapısında bir değişim gözlenmemiştir. Proteinlerin radikula çıkışında önce endopeptidazlar ile parçalanması katı madde primingin uygulanan *P. taeda* tohumlarında gözlenen çimlenme engelini ortadan kaldırdığı ileri sürülmüştür.

Xiao vd. (2011), çalışmalarında GA₃ ve askorbik asit çözeltilerinde 24 s bekletilen ve doğal yaşlanmış dut tohumlarına yapılan uygulamaların dut tohumlarının çimlenme yeteneği ve canlılığına olan etkilerini incelemişlerdir. Araştırmaları sonucunda kontrole göre 500 mg l⁻¹ askorbik asit ve 50 mg l⁻¹ GA₃ uygulanan tohumların çimlenme oranı ve çimlenme indekslerinin daha yüksek olduğunu ve çözünür protein ile çözünür şekerinde uygulamalar ile artış gösterdiğini ifade etmişlerdir. Ayrıca 50 mg l⁻¹ GA₃ uygulamasının, 500 mg l⁻¹ askorbik asit uygulamasına göre MDA miktarını yaklaşık %30 oranında azalttığını rapor etmişlerdir.

Yılmaz vd. (2014), endemik bir tür olan Toros dişbudağı (*Fraxinus ornus* subsp. *cilicica*) tohumlarının nem içerikleri ve depolama sıcaklığı arttıkça canlılıklarının azaldığını tespit etmişlerdir. Aynı zamanda çalışmalarında depolama süresinin tohum canlılığı üzerinde olumsuz etkilerinin olduğunu ve tohum canlılığını düşürdüğünü de belirlemişlerdir.

Uzun süre depolanan tohumlarda doğal yollardan bozulmaların gerçekleşmesi sonucunda tohumların canlılığı, çimlenme yeteneği azalmakta ve çimlenme sürelerinde gecikme olduğu birçok araştırma sonucu gözlemlenmiştir. Mevcut çalışmada, doğal olarak yaşlanmadan kaynaklanan çimlenme engellerinin etkilerinin priming uygulamaları ile azaltılması amaçlanmıştır. Priming uygulamaları ile karaçam tohumlarında gözlenen bozulmaların etkileri azaltılarak; daha kısa sürede ve daha yüksek oranda çimlenebilen tohumların elde edilmesi amaçlanmaktadır. Ayrıca, tohum bozulmasında gözlenebilecek olan lipid peroksidasyon hasarının ve hücresel hasarın etkilerinin azaltılabileceği düşünülmektedir. Bunların haricinde yaşlanmaya yol açan bazı kimyasal değişimler hem yaşlanmış hem de yaşlanmamış tohumlarda ve priming uygulanmış tohumlara incelenmiştir. Bu sayede yaşlanmanın fizyolojisi hakkında da bilgi edinilmiş olacak ve daha sonraki çalışmalarda kullanılabilecektir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Tohum temini

Çalışmada kullanılan karaçam tohumları Eğirdir Orman Fidanlık Müdürlüğünden temin edilmiştir. Farklı yıllarda ve farklı orijinlerden toplanan karaçam tohumlarının orijinleri Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Karaçam tohumlarının toplanma yılları, koordinatları ve orijinleri

Toplanma Yılı	Koordinatlar	Orjinler
2008	37°02'08"N / 29°27'52"E	Göhlisar
2010	37°47'30"N / 30°56'40"E	Eğirdir
2011	37°02'08"N / 29°27'52"E	Göhlisar
2012	37°02'08"N / 29°27'52"E	Göhlisar
2014	37°47'30"N / 30°56'40"E	Eğirdir
2015	37°02'08"N / 29°27'52"E	Göhlisar
2016	38°05'23"N / 30°42'20"E	Isparta
2018	38°04'19"N / 30°05'46"E	Dinar
2019	38°05'23"N / 30°42'20"E	Isparta

3.2. Yöntem

Toplanan karaçam tohumları standart çimlenme testlerine alınarak çimlenme oranları ile ortalama çimlenme süreleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre çimlenme oranı düşük ve çimlenme oranı yüksek tohumlar ayrılmış ve tohumlara farklı priming uygulamaları yapılmıştır.

3.2.1. Priming uygulanacak tohumların seçimi için yapılan ön çalışmalar

3.2.1.1. 1000 tohum ağırlığının belirlenmesi

Tohumların 1000 tohum ağırlığı International Seed Testing Association (ISTA) (2009) tarafından belirtildiği şekilde yapılmıştır. Tesadüfi olarak 100 adet tohum alınarak, 8

tekerrürlü (100x8) şekilde sayılarak hassas terazide ağırlıkları belirlenmiştir. Daha sonra 8 tartımın ortalaması alınarak 1000 tohum ağırlığı tespit edilmiştir (Şekil 3.1).



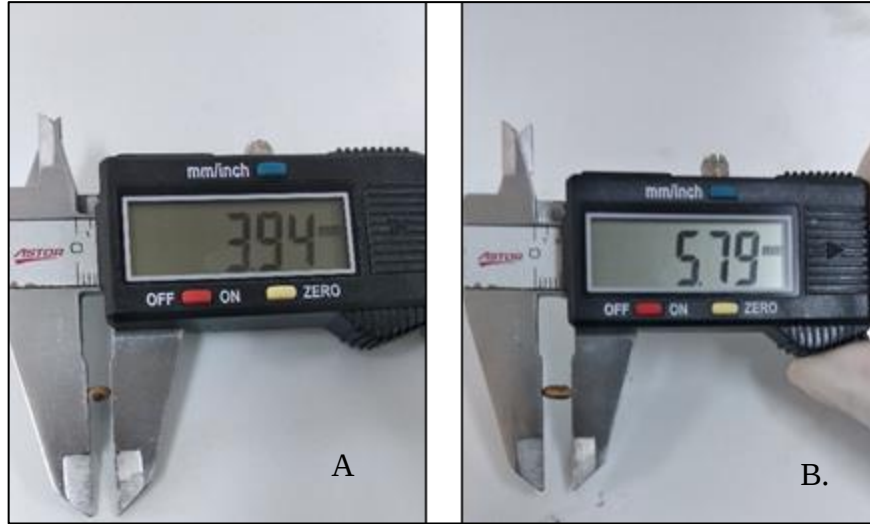
Şekil 3.1. Tohumlarda 1000 tohum ağırlığının belirlenmesi

3.2.1.2. Tohum yağ oranının tespiti

Farklı yıllarda ve farklı orijinlerden toplanan tohumlardan tesadüfi olarak 4 g karaçam tohumu seçilmiştir. Tohumların yağ oranı tespitinde nükleer manyetik rezonans (NMR) cihazı kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar % olarak belirlenmiştir.

3.2.1.3. Tohum eni ve tohum boyunun belirlenmesi

Tesadüfi olarak seçilen 100 adet tohumda 3 tekrarlı şekilde (100 x 3) tohumların en ve boy ölçümleri hassas kumpas ile yapılmış ve tohum boyu ve tohum eni tespit edilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Tohum eni (A) ve boyunun tespiti (B)

3.2.1.4. Tohum yüzey sterilizasyonu

Tohumlar 10 dk boyunca %1'lik sodyum hipoklorit ve %1'lik fungusit içerisinde bekletilmiştir. Ardından tohumlar saf su altında iyice durulanarak kurutma kâğıtları üzerine serilmiştir. Kurutma kâğıdı üzerine serilen tohumlar oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan tohumlar kullanılıncaya kadar 4°C'de ağzı kapalı polietilen torbalar içinde saklanmıştır.

3.2.1.5. Çimlendirme testi ve çimlenme parametrelerinin hesaplanması

Çimlendirme testleri ISTA (2009) tarafından belirtildiği şekilde yapılmıştır. Tohum çimlenmesini değerlendirmek için iki filtre kâğıdı arasına 50 adet tohum konularak 4 tekerrür (4x50) olmak üzere kapağı kilitli kaplara yerleştirilerek 25°C'ye ayarlanmış çimlenme dolabında 14 gün boyunca çimlendirilmiştir (Şekil 3.3).

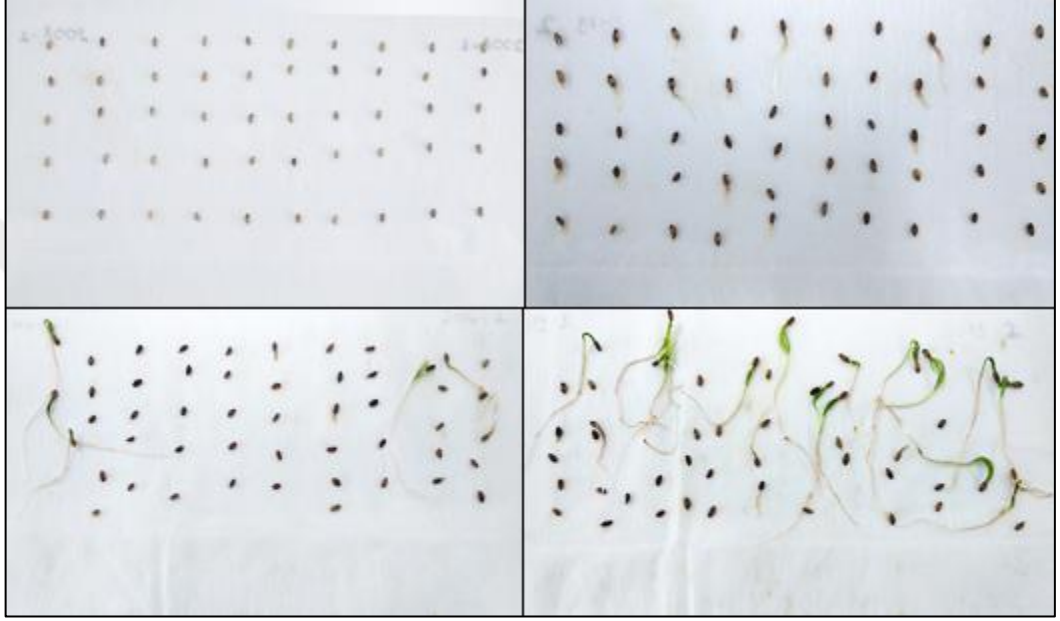
Çimlenme ölçütü olarak tohumlarda en az 2 mm uzunluğunda radikula çıkışının görülmesi esas alınmıştır. Her 24 s bir yapılan sayımlar, çimlenme ortalaması (ÇO %) ve ortalama çimlenme süresini (OÇS) (gün) hesaplamakta kullanılmıştır. ÇO ve OÇS aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır (Yılmaz vd., 2013).

$$\text{ÇO (\%)} = \sum (n_i/N) \times 100 \quad (3.1)$$

ÇO= çimlenme yüzdesi, n_i = i günündeki çimlenme sayısı, N= teste konulan toplam tohum sayısı

$$OÇS= \frac{\sum (t_i \times n_i)}{\sum n_i} \quad (3.2)$$

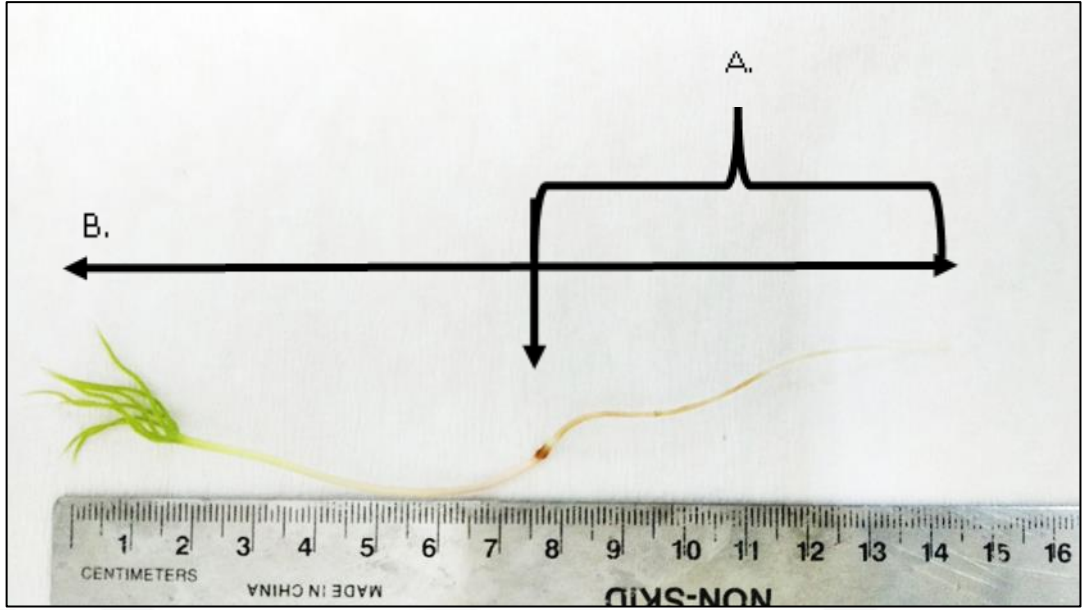
t_i = testin başlangıcından itibaren geçen süre, n_i = t_i günündeki çimlenen tohum sayısı



Şekil 3.3. Tohum çimlenmesini değerlendirmek için iki filtre kâğıdı arasında sarılarak çimlendirme testine alınan karaçam tohumları

3.2.1.6. Fide boyu ve kök uzunluğunun tespiti

Çimlendirme testi sonrası çimlenen fidelerin kök ve boy uzunlukları cetvel ile ölçülerek fidelerin kök ve boy uzunlukları hesaplanmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Kök uzunluğu (A) ve Fide boyu (B) tespiti

3.2.1.7. Normal ve anormal fidelerin belirlenmesi

Çimlendirme testi sonrası, çimlenen fideler normal veya anormal fide olarak tespit edilmiştir. Uygun şartlar altında çimlenmeye alınmasına rağmen, gelişim göstermeyerek çimlenmeyi tamamlayamayan ya da deforme olmuş fideler anormal fide olarak belirlenmiştir (Şekil 3.5).

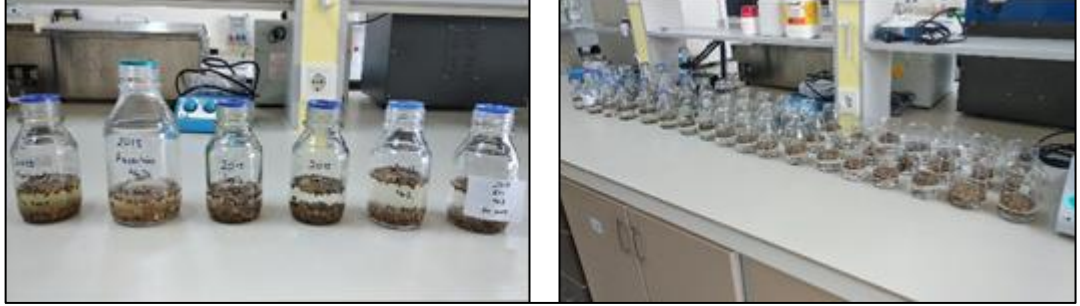


Şekil 3.5. 2019 yılına ait normal (A) ve anormal (B) fideler

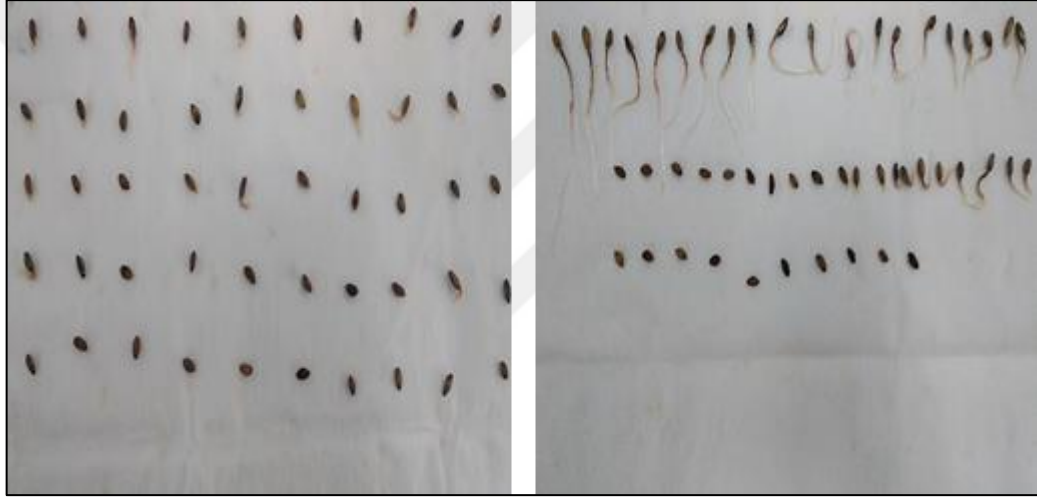
3.2.2. Priming uygulamaları

Çimlendirme testi sonucunda ön deneme niteliğinde 2008, 2015 ve 2019 olmak üzere üç farklı yıla ait tohumlara AsA (%2 ve %3), CaCl_2 (%2 ve %3), KCl (%2 ve %3) 6, 12 ve 24 s olmak üzere üç farklı zaman diliminde priming uygulanmıştır (Şekil 3.6).

Priming uygulanan tohumlar oda sıcaklığında kurutularak tekrar çimlenme testine alınmış (Şekil 3.7) ve çimlenme parametreleri Formül 3.1 ve 3.2 kullanılarak belirlenmiştir.



Şekil 3.6. AsA, CaCl₂ ve KCl priming uygulama işlemleri



Şekil 3.7. Priming uygulamaları sonrası 2019 yılına ait karaçam tohumlarında gerçekleştirilen standart çimlendirme testi

Priming uygulaması yapılan karaçam tohumlarında standart çimlendirme testi yapılarak, fide boyu ve kök uzunluğu (3.2.1.6) ile normal ve anormal fidelerin tespiti (3.2.1.7)'de anlatıldığı şekilde yapılmış ve sonuçları hesaplanmıştır. Bu sayede karaçam tohumlarında priming uygulamalarının fide boyu ve kök uzunluğu ile normal ve anormal fide oranlarına etkileri belirlenmiştir. Priming uygulamaları ile gözlenen normal ve anormal fidelere ait örnekler Şekil 3.8, Şekil 3.9 ve Şekil 3.10'da verilmiştir.



Şekil 3.8. Priming uygulamaları sonucu 2019 yılına ait karaçam tohumlarında anormal gelişme gösteren (A) ve normal gelişme gösteren(B) fideler



Şekil 3.9. Priming uygulamaları sonucu 2008 yılına ait karaçam tohumlarında anormal gelişme gösteren (A) ve normal gelişme gösteren (B) fideler



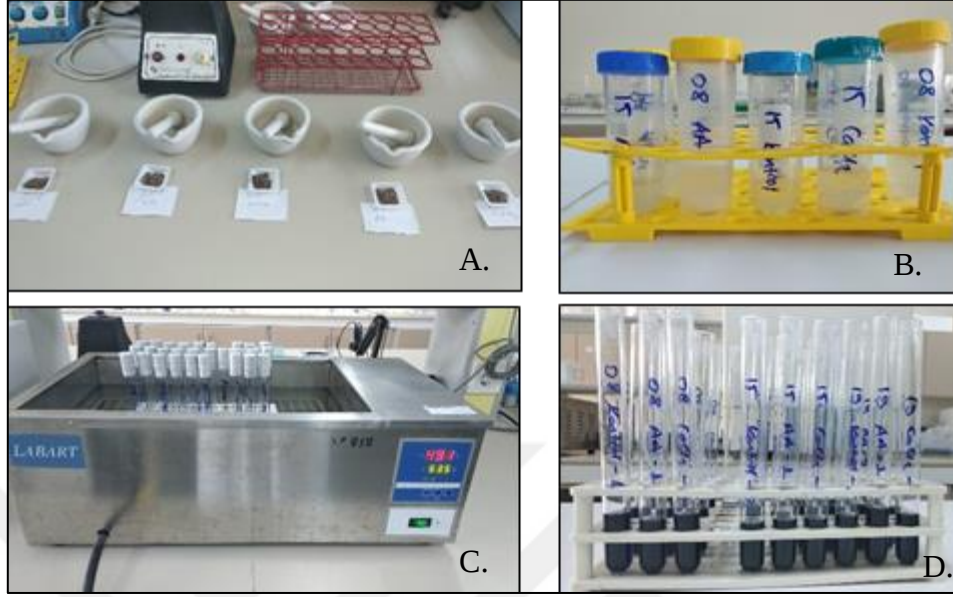
Şekil 3.10. Priming uygulamaları sonucu 2015 yılına ait karaçam tohumlarında anormal gelişme gösteren (A) ve normal gelişme gösteren (B) fideler

3.2.3. Priming uygulamaları sonucu tohumlarda meydana gelen biyokimyasal ve enzimatik değişimlerin belirlenmesi

3.2.3.1. Toplam çözünebilir protein miktarının belirlenmesi

Tohumların protein miktarının belirlenmesi Hatree (1972)'ye göre yapılmıştır. Priming uygulanarak kahve değirmeninde öğütülen tohum örneklerinin (1 g) üzerine 5 ml absolut etanol eklenmiştir. Örnekler vortekslenmiş ve ardından 15 000 x g, 4°C'de 20 dk santrifüj edilmiştir. Örneklerin sıvı kısmı atılarak pelet elde edilmiş ve peletin üzerine %80'lik 8.33 ml etanol eklenerek çözdürülmüş ve aynı şekilde santrifüj edilmiş ve sıvı kısmı uzaklaştırılmıştır. Peletin üzerine 5 ml 50 mM Tris + 1.2 M NaCl₂ içeren protein ekstraksiyon çözeltisi eklenerek pelet çözdürülmüştür. Örnekler buzda 30 dk bekletilmiştir. Ardından 15 000 x g 4°C'de 20 dk santrifüj edilmiş ve miracloth bezi ile süzölmüştür. Elde edilen ekstraktın üzerine (1 ml) 0.81 M sodyum karbonat, 0.5 N sodyum hidroksit ve 900 µl 7 mM potasyum-sodyum tartarat eklenerek 50°C'lik su banyosunda 10 dk boyunca bekletilmiştir. Ardından örneklerin her birine 100 µl 70 mM potasyum-sodyum tartarat ve 40 mM bakır sülfat eklenerek oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiştir. Hemen ardından seri şekilde örneklerin her birine 3 ml Folin-Ciocalteu reagent (2N) eklenerek örnekler 50°C'lik su banyosunda 10 dk boyunca

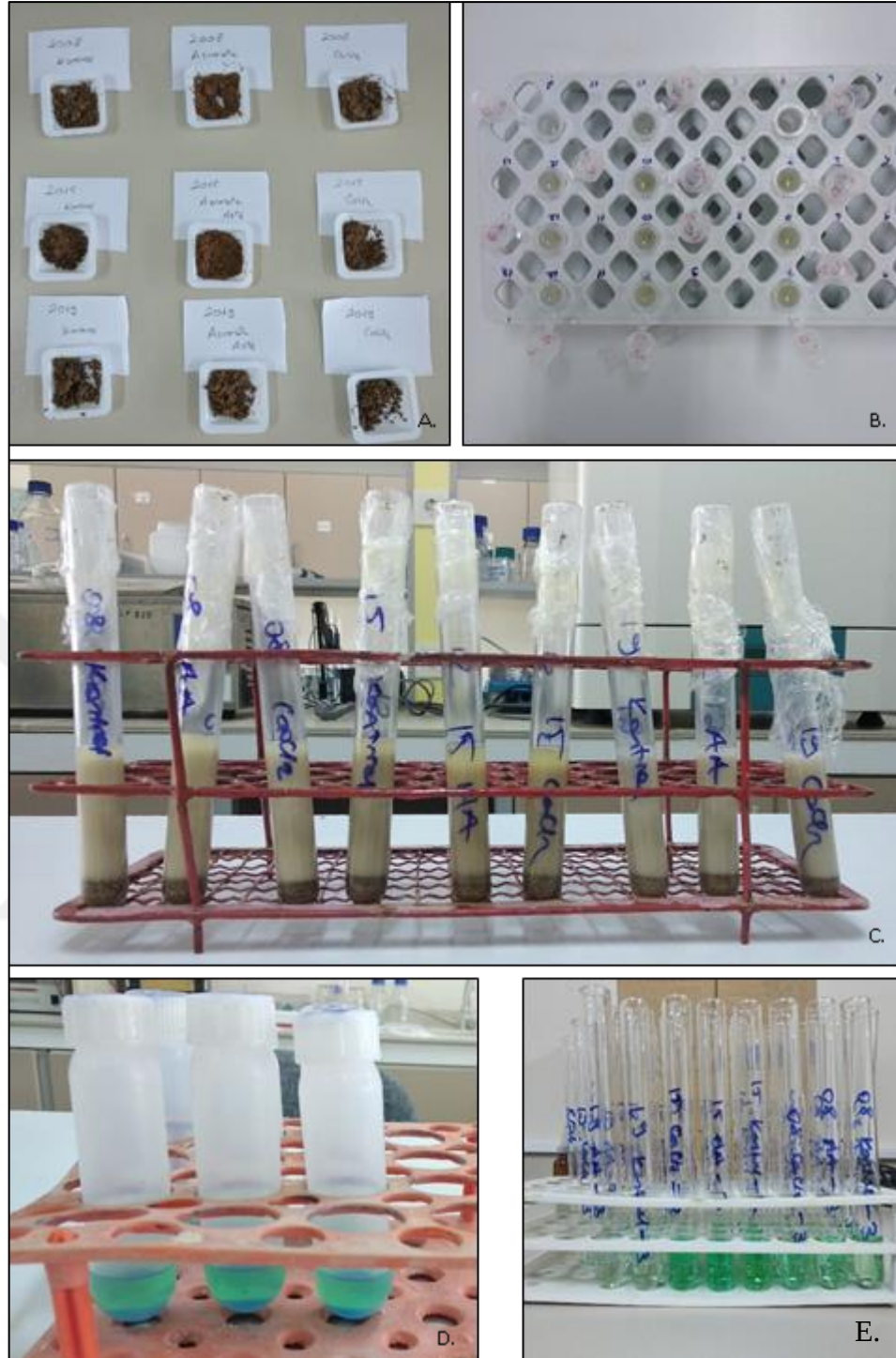
bekletilmiştir. Örneklerin absorbans değeri 650 nm dalga boyunda tespit edilmiştir. Bovine serum albümin (BSA) kullanılarak standart eğri hesaplanmıştır (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Karaçam tohumlarındaki çözünebilir protein miktarının belirlenmesi

3.2.3.2. Toplam serbest yağ asitleri miktarının belirlenmesi

Öğütülmüş tohum örneklerinden 2 g alınarak üzerine 10 ml n-hekzan eklenmiştir ve örnekler vortekslenerek karıştırılmıştır. Homojenatların olduğu tüpler streç film ile kapatılarak bir gece oda sıcaklığında bekletilmiştir. Örneklerden hekzanın uçurulması için ependorf tüplerin ağızları açık şekilde oda sıcaklığında bir gece bekletilmiştir. Hekzan uçurularak elde edilen karaçam tohumlarının yağından 80 µl alınarak üzerine 5 ml benzen ve 1 ml %5'lik bakır asetat eklenerek vortekslenmiştir. Ardından örnekler 1500 x g'de 5 dk boyunca santrifüj edilmişlerdir. Örneklerdeki üst faz alınarak absorbans değerleri 715 nm'de tespit edilmiştir. Saf oleik asit standart eğri hazırlamak için kullanılmıştır (Şekil 3.12) (Lowry ve Tinsley, 1976).



Şekil 3.12. Tohumlardaki serbest yağ asitlerinin belirlenmesi

3.2.3.3. Toplam tokoferol miktarının belirlenmesi

Toplam tokoferol tayini için modifiye edilmiş Emmerie-Engel metodu kullanılmıştır (Backer vd., 1980). Tokoferol ekstraktı için öğütülmüş tohum (0.5 g) örneği üzerine 10 ml aseton:metanol (7:3) çözeltisi eklenerek 15 dk boyunca karıştırılmıştır. 1 ml tokoferol içeren aseton:metanol çözeltisinin üzerine 1 ml %2'lik 2-2 bipyridine ve

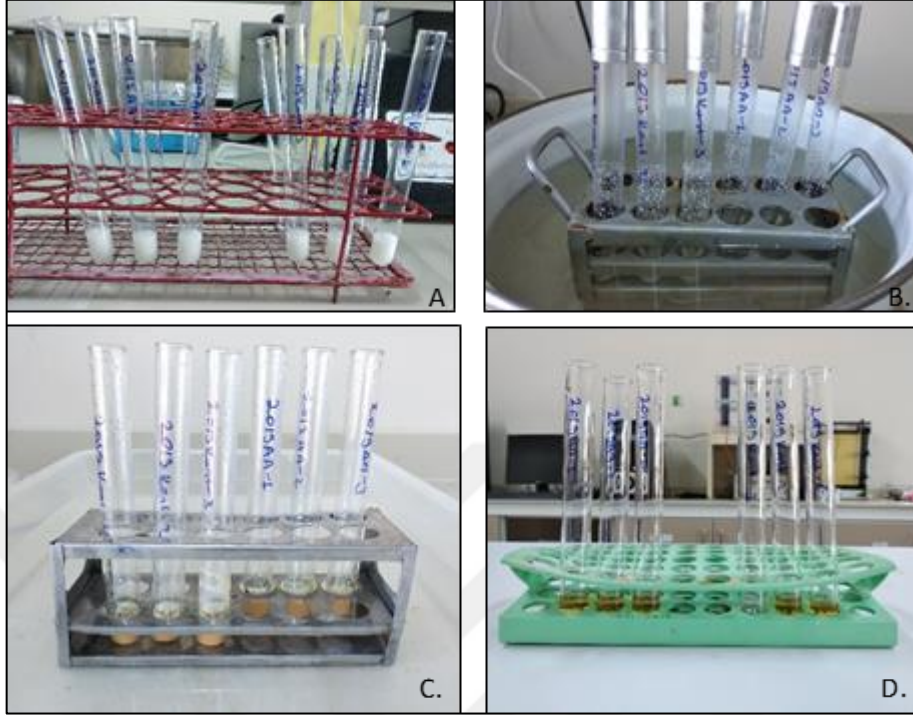
Şekil 3.13. Tohumlardaki toplam tokoferol miktarının belirlenmesi



3.2.3.5. Malondealdehit (MDA) miktarının belirlenmesi

25

örneklerdeki MDA miktarı tespit edilmiştir. MDA miktarı zayıflatma katsayısına (155 mM/cm) göre hesaplanmıştır (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. Tohum örneklerinde MDA analizi

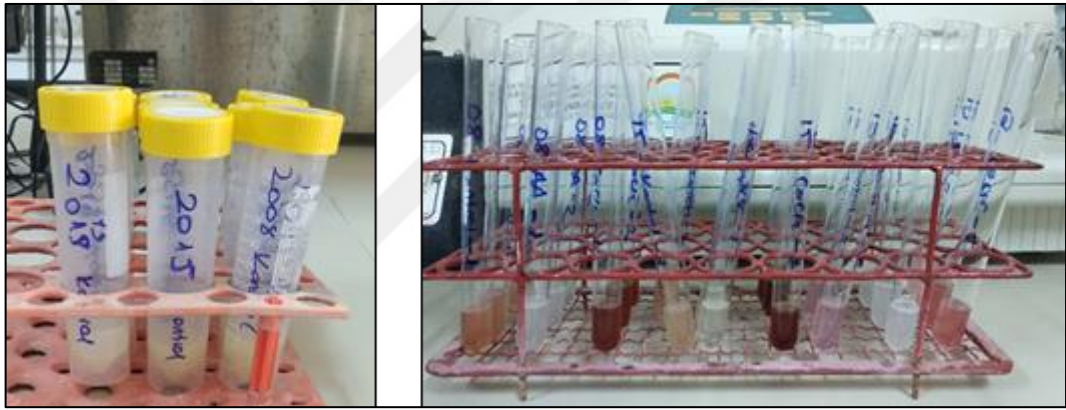
3.2.3.6. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi

Öğütülmüş tohumlardan 5 g alınarak üzerine 12.5 ml 100 mM sodyum fosfat (pH 6.4) tampon çözeltisi eklenmiştir. Elde edilen homojenat 4°C’de 50 dk boyunca 27 000 x g’de santrifüj edilmiştir. Ekstraktın 0.1 ml’si üzerine 50 mM sodyum fosfat (pH 7.8), 10 µM Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), 75 µM Nitro Blue Tetrazolium (NBT), 2 µM riboflavin ve 13 mM metiyonin eklenerek toplam 3 ml karışım elde edilmiştir. Karışım vortekslenerek absorbans değeri 560 nm’de okunmuştur. Ardından karışıma 10 dk ışık uygulanarak (60 µmol/m²/s) absorbansı 560 nm dalga boyunda tekrar okunmuştur. Enzim aktivitesi absorbansdaki %50 azalış miktarı olarak belirlenerek, SOD aktivitesi U mg⁻¹ protein olarak verilmiştir (Constantine ve Stanley, 1977).

3.2.3.7. Peroksidaz (POD) aktivitesinin belirlenmesi

Priming uygulanarak öğütülmüş tohumlardan 5 g alınarak üzerine 12.5 ml 100 mM sodyum fostat (pH 6.4) ilave edilerek karıştırılmıştır.

Homojenatlara 4°C’de 50 dk boyunca 27 000 x g’de santrifüj edilmiştir. POD analizi Jiang vd. (2002)’nin izledikleri metoda göre yapılmıştır. Elde edilen ekstraktın 0.5 ml’ine 100 mM sodyum fosfat (pH 6.4) ve 8 mM guaiacol eklenerek 5 dk 30°C’de bekletilmiştir. Karışım absorbansı 460 nm de okunmuştur. Ardından absorbans değeri belirlenen karışımlara 1 ml 24 mM hidrojen peroksit (H₂O₂) eklenerek 120 sn sonra tekrar 460 nm dalga boyunda absorbans değeri tespit edilerek POD aktivitesi $\Delta A_{460}/\text{min}/\text{mg}$ protein olarak belirlenmiştir (Şekil 3.15).



Şekil 3.15. Tohum örneklerinde POD aktivitesinin belirlenmesi

3.2.4. İstatistiki analizler

Elde edilen çimlenme verileri normalizasyonu sağlamak için transformasyona tabi tutulmuştur. Transformasyon sonucu elde edilen veriler varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur. Fizyolojik ve biyokimyasal veriler SAS (1999) programında Proc GLM işlemine göre analiz edilmiştir. Her analiz 3 tekrarlı olarak yapılmıştır ve ortalamalara ilişkin farklılıkların belirlenmesinde Duncan çoklu karşılaştırma testi ($p \leq 0.05$) kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Priming Uygulanacak Tohumların Seçimi İçin Yapılan Ön Çalışmalar

4.1.1. Karaçam tohumlarının 1000 tohum ağırlıkları

Farklı yıllarda ve farklı orijinlerden toplanmış karaçam tohumlarına ait 1000 tohum ağırlığı ve tohumlardaki yağ oranları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı toplama yıllarına ve farklı orijinlere ait karaçam tohumlarının 1000 tohum ağırlıkları (g) ve yağ oranları (%)

Yıl	Orijin	1000 tohum ağırlığı (g)	Tohum yağ oranı (%)
2008	Göhlhisar	24.82±0.05d	21.13±0.20f
2010	Eğirdir	24.01±0.06e	22.83±0.07de
2011	Göhlhisar	28.20±0.09a	25.38±0.25a
2012	Göhlhisar	23.05±0.07f	22.53±0.36e
2014	Eğirdir	23.07±0.06f	22.65±0.05de
2015	Göhlhisar	26.96±0.04b	22.60±0.10de
2016	Isparta	26.50±0.09bc	23.60±0.49c
2018	Dinar	22.08±0.08g	23.19±0.13cd
2019	Isparta	26.23±0.03c	24.40±0.47b

* Aynı sütun içinde aynı harfe sahip ortalamalar arasında istatistiki olarak önemli bir fark yoktur (p<0.05)

Meşcereler arasında 1000 tohum ağırlığı bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Çizelge 4.1 incelendiğinde tohumların 1000 tohum ağırlıklarının yaklaşık 22.08-28.20 g arasında değiştiği görülmektedir. En düşük 1000 tohum ağırlığı 22.08 g ile 2018 yılında Dinar’dan toplanan tohumlarda, en yüksek 1000 tohum ağırlığı 28.20 g ile 2011 yılında Göhlhisar’dan toplanan tohumlarda tespit edilmiştir. 1000 tohum ağırlığı Eğirdir lokasyonuna ait tohumlarda sırasıyla 2010 ve 2014 yılında, 24.0 g ve 23.0 g olarak tespit edilmiştir. Depolanma süresi en az olan 2019 yılına ait tohumlarda ise 1000 tohum ağırlığı 26.23 g olarak tespit edilmiştir. Tonguç vd. (2013) ve Erkan (2008), araştırmalarında karaçam 1000 tohum ağırlığının yaklaşık 20 g ile 29 g arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

4.1.2. Karaçam tohumlarının yağ oranları

Karaçam tohumlarının yağ oranlarının %25.38 ile %21.13 arasında değiştiği tespit edilmiştir. 2008 yılına ait tohumlar %21.13 ile en düşük yağ oranına sahipken; en yüksek yağ oranına sahip tohumların %25.38 ile 2011 yılına ait tohumlar olduğu tespit edilmiştir. Eğirdir orjinli 2010 ve 2014 yılına ait tohumların aralarında yağ oranı bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır (Çizelge 4.1).

Rakamsal ve istatistiksel olarak en büyük fark en uzun süre depolanan 2008 yılına ait tohumlar ile 2011 yılına ait tohumlar arasında olduğu tespit edilmiştir. Ahmed vd. (2018), araştırmalarında farklı lokasyonlara ait jathopra ağacı tohumların yağ oranlarının farklı olduğunu bildirmişlerdir. Ayerza vd. (2011), araştırmalarında farklı çeşit ve lokasyonlardaki moringa ağacı tohumlarının yağ oranlarının araştırmamızda olduğu gibi istatistiksel olarak farklı olduğunu ifade etmişlerdir.

4.1.3. Karaçam tohumlarının en ve boyları

Orijinlere ilişkin karaçam tohumlarının tohum eni ve tohum boyu Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı toplama yıllarına ve orijinlere ait karaçam tohumlarının en ve boy değerleri

Yıl	Orijin	Tohum boyu (mm)	Tohum eni (mm)
2008	Göhlhisar	6.75±0.55fg	3.71±0.44c
2010	Eğirdir	6.57±0.77gh	3.49±0.31d
2011	Göhlhisar	7.50±0.64a	4.07±0.36a
2012	Göhlhisar	6.47±0.79h	3.50±0.40d
2014	Eğirdir	7.15±0.52cd	3.87±0.29b
2015	Göhlhisar	7.41±0.73ab	3.84±0.60b
2016	Isparta	6.98±0.59de	3.79±0.30bc
2018	Dinar	6.81±0.62ef	3.70±0.35c
2019	Isparta	7.28±0.55bc	3.88±0.32b

*Aynı sütun içinde aynı harfe sahip ortalamalar arasında istatistiki olarak önemli bir fark yoktur (p<0.05)

Farklı yıllarda toplanan karaçam tohumlarında tohum eni ve boyu bakımından istatistiksel açıdan önemli farklılıklar olduğu görülmektedir. Karaçam tohumlarının boyları 6.47-7.50 mm arasında değişim göstermiştir. Gölhisar orjinli 2011 yılına ait tohumlar, 7.50 mm ile en uzun, 2012 yılına ait tohumlar ise 6.47 mm ile en kısa tohum boyuna sahip oldukları tespit edilmiştir. Eğirdir orjinli 2010 ve 2014 yılına ait tohumlarda sırasıyla 6.57 mm ve 7.15 mm tohum boylarına sahip oldukları ve aralarındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir.

Tohum eni en az 3.49 mm ile 2010 yılına ait tohumlarda, en çok ise 4.07 mm ile 2011 yılında toplanan tohumlara ait olduğu tespit edilmiştir. Depolama süresi en uzun olan 2008 yılına ait tohumlarda tohum eni 3.70 mm iken depolama süresi en az olan 2019 yılına ait tohumlarda 3.88 mm olarak tespit edilmiştir.

2011 yılına ait tohumlar istatistiksel olarak hem tohum boyu hem de tohum eni bakımından en yüksek değerlere sahip olmuştur. Skrzyszewska ve Chłanda (2009), araştırmalarında farklı lokasyonlara ait göknar tohumlarının farklı boyutlarda embriyo ve endospermilere sahip olduğunu bildirmişlerdir.

4.1.4. Orijinlere ait tohumların çimlendirme testi sonuçları

4.1.4.1. Karaçam tohumlarının çimlenme oranları

Farklı yıllarda ve farklı orijinlerden toplanmış karaçam tohumlarına ait çimlenme yüzdeleri Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı toplama yıllarına ve orijinlere ait karaçam tohumlarının çimlenme yüzdeleri

Yıl	Orijin	Çimlenme yüzdeleri (%)	Ortalama çimlenme süresi (gün)
2008	Göhlhisar	11.0±2.6ef	7.25±0.7a
2010	Eğirdir	15.5±6.6cde	6.31±1.0ab
2011	Göhlhisar	19.5±1.9cd	6.07±0.8ab
2012	Göhlhisar	7.0±2.6f	5.31±1.6bc
2014	Eğirdir	18.0±4.0cde	5.39±0.3bc
2015	Göhlhisar	28.5±6.4b	6.23±1.1ab
2016	Isparta	21.5±7.2c	5.81±0.4b
2018	Dinar	13.0±6.0def	4.21±0.2c
2019	Isparta	47.0±2.0a	5.41±0.7bc

*Aynı sütun içinde aynı harfe sahip ortalamalar arasında istatistiki olarak önemli bir fark yoktur ($p \leq 0.05$)

Farklı yıllarda toplanan karaçam tohumlarına ait çimlenme yüzdesi değerlerinin %7 ile %47 arasında değiştiği görülmektedir. 2008 ve 2012 yıllarına ait Göhlhisar'dan toplanan karaçam tohumlarını çimlenme yüzdeleri %11 ve %7 olarak bulunurken, çimlenme değerlerindeki fark istatistiki olarak önemsiz bulunmuş ve her ikisi de aynı grup içinde yer almıştır. Benzer şekilde 2010 ve 2014 yıllarında Eğirdir lokasyonundan toplanan tohumlarda çimlenme değerleri sırasıyla %15.5 ve %18.0 olarak bulunmuş ve çimlenme değerleri arasında istatistiki olarak fark önemsiz bulunmuştur. 2012 yılına ait tohumların çimlenme değeri %7 ile en az bulunurken, 2019 yılına ait tohumlarda çimlenme değeri %47 ile en yüksek değerde olduğu bulunmuştur.

Depolanma süresi en fazla olan 2008 yılına ait karaçam tohumlarında çimlenme %11 bulunurken, 2019 yılına ait tohumlarda ise %47 olarak bulunmuştur. 2019 ve 2008 yıllarına ait karaçam tohumlarda istatistiki olarak çimlenme değerleri arasındaki fark önemli bulunmuş olup çimlenme yüzdesi %76.5 oranında fark tespit edilmiştir. Priming uygulanacak ön çimlendirme testi için; depolama süresi en fazla olan 2008 yılı, depolama süresi en az olan 2019 yılı ve bunlardan istatistiki olarak farklı grupta yer alan 2015 yıllarına ait karaçam tohumları seçilmiştir.

Çimlenme oranı üzerine çevre, çeşit, dormansi gibi faktörlerin yanı sıra tohumun yaşının da etkili olduğu bilinmektedir (Valleriani ve Tielbörger, 2006; Easton ve Kleindorfer, 2008; Calama vd., 2017). Xu vd. (2015), farklı lokasyon ve yılda toplanan çam tohumlarında, araştırmamızda olduğu gibi çimlenme oranlarında önemli seviyede farklılık olduğu ve tohum bekleme süresinin çimlenme oranında azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir. Boydak vd. (2002), farklı lokasyonlardan topladıkları kızılçam tohumlarının çalışmamızda olduğu gibi çimlenme oranlarının da lokasyonlara göre farklılıklar gösterdiğini tespit etmişlerdir.

4.1.4.2. Karaçam tohumlarının ortalama çimlenme süreleri

Karaçam tohumlarının ortalama çimlenme sürelerinin (OÇS) 4.21– 7.25 gün arasında değiştiği görülmektedir. 2011 ve 2015 yıllarında Gölhisar'dan toplanan karaçam tohumlarının OÇS değerleri 6 gün olarak tespit edilmiş ve istatistiki olarak aralarında önemli bir fark bulunmamıştır. Ayrıca 2010, 2011, 2015 ve 2016 yıllarında toplanan karaçam tohumlarının OÇS değerlerinin istatistiki açıdan aralarında önemli fark bulunmamıştır. Benzer şekilde OÇS değerleri arasında istatistiki olarak 2012, 2014, 2018 ve 2019 yıllarında toplanan karaçam tohumlarında da aralarında önemli fark bulunmamıştır.

Depolanma süresi en uzun olan 2008 yılına ait karaçam tohumlarının OÇS değeri de en yüksek bulunmuştur. İstatistiki olarak depolanma süreleri azaldıkça OÇS değerleri de azalarak aynı grupta yer almışlardır. Torres ve Frutos (1989), çalışmalarında OÇS değerlerinin depolama süreleri ile doğru orantılı olduğunu belirtmişlerdir.

4.1.4.3. Fide boyu ve kök uzunluğu

Farklı yıllarda ve farklı orijinlerden toplanmış ve laboratuvar şartları altında 14 gün çimlendirilmiş karaçam tohumlarına ait fide boyu (cm) ve fide kök uzunluklarına (cm) ait değerler Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Farklı toplama yıllarına ve farklı orijinlere ait karaçam tohumlarına ait fide boyu ve kök uzunluğu ortalamaları

Yıl	Orijin	Fide boyu (cm)	Kök uzunluğu (cm)
2008	Göhlhisar	6.34±4.60 c	2.32±1.90c
2010	Eğirdir	8.48±1.58bc	3.45±1.32bc
2011	Göhlhisar	11.12±1.00ab	5.54±0.30a
2012	Göhlhisar	10.79±2.03ab	4.80±0.74ab
2014	Eğirdir	11.59±0.92ab	5.45±0.76a
2015	Göhlhisar	11.08±1.87ab	4.87±0.71ab
2016	Isparta	11.64±2.60ab	5.50±1.29a
2018	Dinar	12.16±0.66a	5.20±0.5a
2019	Isparta	12.07±0.36a	5.56±0.26a

*Aynı sütun içinde aynı harfe sahip ortalamalar arasında istatistiki olarak önemli bir fark yoktur ($p \leq 0.05$)

Fide boyları incelendiğinde 2008 ve 2010 yıllarına ait karaçam tohumları arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmayarak aynı grup içerisinde yer almıştır. 2011 ile 2019 yılları arasında toplanan karaçam tohumlarının fide boyu değerleri arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamıştır. En yüksek değerler ise en az depoan tohumlardan elde edilmiştir.

Fide kök uzunluğu 2.32-5.56 cm arasında değişim göstermiş, 2008 ve 2010 yıllarına ait karaçam tohumları arasında fide boyları değerleri gibi kök uzunluğu değerlerinde de istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. 2008 yılına ait karaçam tohumların ortalama kök uzunluğu 2.32 cm iken 2019 yılına ait tohumların ortalama kök uzunluğu 5.56 cm olarak bulunmuştur. 2011 ile 2019 yılları arasında toplanan karaçam tohumlarının ortalama kök uzunluğu değerlerinde önemli derecede fark bulunmamıştır (Çizelge 4.4).

Depolama süresi en uzun olan 2008 yılına ait karaçam tohumlarının fide boyu 6.34 cm ile en kısa olarak bulunmuştur. Kök uzunluğu değerleri incelediğinde fide boyu değerleri gibi 2008 yılına ait kök uzunluğu 2.32 cm ile en kısa olarak bulunmuştur. Depolanma yılları azaldıkça fide boyu ve kök uzunluklarında genel bir artış söz konusu olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Shibata ve Coelho (2016), Brezilya çamı (*Araucaria angustifolia*) tohumlarının uzun süren depolamadan sonra yapılan çimlendirme çalışması sonucunda sürgün ve kök uzunluklarının depolama başlangıcına göre daha kısa olduğunu ifade etmişlerdir. Govindaraj vd. (2017), araştırmalarında yaşılandırılmış çeltik tohumlarının yaşlanma ile birlikte sürgün ve kök uzunluklarının azaldığını rapor etmişlerdir.

4.1.4.4. Çimlendirme testleri sonrası karaçam tohumlarının normal ve anormal fide oranları

Farklı yıllarda ve farklı orijinlerden toplanmış karaçam tohumlarına ait normal ve anormal fide oranları Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Farklı toplama yıllarına ve farklı orijinlere ait karaçam tohumlarının normal ve anormal fide oranları (%)

Yıl	Orijin	Normal fide oranı (%)	Anormal fide oranı (%)
2008	Göhlhisar	4.5±3.4 de	6.5±5.0 bc
2010	Eğirdir	6.5±1.0 cde	9.0±7.4 bc
2011	Göhlhisar	12.5±3.4 bc	7.0±2.6 bc
2012	Göhlhisar	3.5±1.0 e	3.5±1.9 c
2014	Eğirdir	10.5±1.9 bcd	7.5±3.4 bc
2015	Göhlhisar	15.5±7.6 b	13.0±3.1 ab
2016	Isparta	8.5±5.9 cde	13.0±3.5 ab
2018	Dinar	6.5±2.5 cde	6.5±4.1 bc
2019	Isparta	29.0±2.0 a	18.0±2.3a

*Aynı sütun içinde aynı harfe sahip ortalamalar arasında istatistiki olarak önemli bir fark yoktur ($p \leq 0.05$)

Çizelge 4.5. incelendiğinde normal fide oranı değerleri arasında en az %3.5 ile 2012 yılına ait tohumlarda tespit edilmiştir. 2008, 2010, 2012, 2016 ve 2018 yıllarına ait karaçam tohumları arasında normal fide oranı bakımından önemli bir fark bulunmamış ve aynı grupta yer almışlardır. Normal fide oranı en fazla %29.0 ile 2019 yılına ait karaçam tohumlarında tespit edilmiştir.

Anormal fide oranları, normal fide oranları değerlerine benzer şekilde %3.5 ile en düşük 2012 yılına ait karaçam tohumlarında bulunmuştur. 2008, 2010, 2011, 2012,

2014 ve 2018 yıllarına ait karaçam tohumlarında anormal fide oranı değerleri arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamıştır. Ancak çimlenme oranı ve normal fide oranı gibi anormal fide oranı da %18 ile en yüksek 2019 yılına ait karaçam tohumlarında olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.5). Daha sonra ise 2015 ve 2016 yıllarında toplanan karaçam tohumları en yüksek anormal fide oranlarına sahip orijinler olarak bulunmuştur. Kenanoğlu ve Demir (2018), depolanma süresi arttıkça tohumlardaki biyokimyasal bozulmaların normal fide çıkışlarını olumsuz yönde etkilediğini ifade etmişlerdir.

Yapılan ön değerlendirmeler sonucunda en uzun süre depoda bekletilen 2008 yılına ait tohumların çimlenme değerleri en düşük olarak bulunurken; ortalama çimlenme sürelerinin ise en uzun olduğu tespit edilmiştir. 2015 yılına ait tohumların çimlenme yüzdesi %28.5 olmuş ve ortalama çimlenme süreleri ise 6.23 gün olarak bulunmuştur. En az depoda bekleyen 2019 yılına ait tohumlar çalışmanın ön değerlendirme safhasında kullanılan tohumlar arasında en yüksek çimlenme değerlerine ve 5.41 gün ile ortalamaya yakın çimlenme sürelerine sahip olmuşlardır. Ayrıca bu yıllara ait tohumların ürettikleri normal fide oranları birbirlerinden önemli oranda farklı olarak bulunmuştur. Bu yıllara ait tohumların çimlenmesi ile elde edilen fide boylarının 2018 yılına ait tohumlarda en yüksek, 2008 yılına ait tohumlarda ise en düşük boya sahip olduğu bulunmuştur. 2015 ve 2019 yılları arasında fide boyu bakımından bir fark yok iken; 2008 yılına ait tohumlar ile aralarında önemli bir fark olduğu bulunmuştur. Bunun yanında, fide kök uzunlukları da fide boylarına benzer değerler göstermiştir. Ayrıca 1000 tohum ağırlıkları ve tohumların yağ oranları bakımından 2008, 2015 ve 2019 yılına ait tohumlar birbirlerinden farklı çıkmışlardır. Son olarak tohum eni ve boyu 2008 yılına ait tohumlarda 2015 ve 2019 yılına ait tohumlara nazaran daha düşük çıkmıştır. Bu sebeplerden dolayı priming uygulamaları için 2008, 2015 ve 2019 yılına ait tohumlar seçilmiş ve bu yıllara ait karaçam tohumlarına priming uygulamaları yapılarak uygulamaların tohumların çimlenme özelliklerine olan etkileri incelenmiştir.

4.2. Priming Uygulamaları

Depolama sürelerinin doğal yaşlanmış karaçam tohumlarına etkisini priming uygulamaları sonucunda değişimleri daha iyi gözlemleyebilmek için depolama süresi en fazla olan 2008 yılı, depolama süresi en az olan 2019 ve ön çalışma olarak yapılan

çimlendirme testi sonuçları baz alınarak 2015 yıllarına ait karaçam tohumları seçilmiştir. Seçilen karaçam tohumlarına farklı konsantrasyonlarda (%2 ve %3) ve sürelerde (0, 6, 12, 24 s) AsA, CaCl₂ ve KCl uygulanarak çimlenme oranı, OÇS, fide boyu, kök uzunluğu, normal çimlenme oranı ve anormal çimlenme oranları incelenmiştir.

4.2.1. Priming uygulamaları sonrası çimlenme oranlarında gözlenen değişimler

2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait AsA, CaCl₂ ve KCl uygulanan karaçam tohumlarına ait çimlenme oranları Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Farklı sürelerde ve farklı konsantrasyonlarda AsA, CaCl₂ ve KCl uygulanan karaçam tohumlarının çimlenme oranları (%)

Uygulama süresi (s)	Priming uygulamaları	2008	2015	2019
6	AsA (%2)	18.5±6.8abcd	29.0±4.8abcd	59.5±9.6cde
	AsA (%3)	19.0±2.6abcd	22.0±10.9cd	59.0±7.6de
	CaCl ₂ (%2)	23.0±5.8abc	34.5±7.2abc	72.0±1.6abcd
	CaCl ₂ (%3)	21.0±2.6abcd	26.0±4.9abcd	78.5±4.1ab
	KCl (%2)	16.5±8.7bcd	28.0±3.7abcd	65.5±6.0bcde
	KCl (%3)	19.5±5.9abcd	27.5±5.0abcd	64.0±3.3cde
12	AsA (%2)	22.0±6.9abcd	24.0±4.3bcd	60.5±7.6cde
	AsA (%3)	17.5±8.4bcd	20.5±6.6d	55.5±8.7ef
	CaCl ₂ (%2)	25.5±8.1abc	28.0±2.8abcd	73.0±2.6abc
	CaCl ₂ (%3)	26.5±6.8ab	33.5±6.1abcd	61.5±2.3cde
	KCl (%2)	19.0±7.8abcd	31.5±9.2abcd	60.5±6.4cde
	KCl (%3)	19.5±3.4ad	24.5±10.3bcd	65.5±3.4bcde
24	AsA (%2)	18.0±6.9abcd	24.0±8.3bcd	61.0±10.9cde
	AsA (%3)	18.5±4.1abcd	28.0±7.1abcd	68.5±11.1abcde
	CaCl ₂ (%2)	29.0±8.9a	39.0±8.1a	80.5±1.0a
	CaCl ₂ (%3)	26.0±5.4abc	36.0±3.7ab	79.5±5.7a
	KCl (%2)	18.5±6.4abcd	39.0±6.2a	69.0±5.0abcde
	KCl (%3)	15.0±8.7cd	33.5±3.4abcd	68.0±2.3abcde
0	Kontrol	11.00±2.6d	28.5±6.4abcd	47.0±2.0ef

*Aynı sütun içinde aynı harfe sahip ortalamalar arasında istatistiki olarak önemli bir fark yoktur (p<0.05)

Altı saat süre ile priming uygulaması yapılan karaçam tohumlarının çimleme oranları 2008 yılına ait tohumlarda %16.5-%23.0 arasında, 2015 yılına ait tohumlarda %22-%34.5 arasında, 2019 yılına ait tohumlarda ise %59.0-%78.5 arasında değişmiştir. 2008 yılına ait tohumlardan sadece %2 CaCl_2 uygulanan tohumların çimlenme oranları kontrole göre farklılık göstermiş, diğerleri kontrol grubu ile aynı önem seviyesine sahip olmuştur. 2015 yılına ait tohumlarda ise kontrol grubu ile priming uygulanan tohumlar arasında çimlenme oranları bakımından önemli bir fark elde edilmemiştir. 2019 yılına ait tohumlarda ise %2 ve %3'lük CaCl_2 uygulanan tohumların çimlenme oranlarında istatistiki olarak kontrole göre artış gözlenmiştir.

On iki saat priming uygulanan tohumların çimlenme oranları 2008 yılına ait tohumlarda %17.5-%26.5, 2015 yılına ait tohumlarda %20.5-%33.5 ve 2019 yılına ait tohumlarda ise %55.5-%73.0 arasında değişmiştir. Uygulamalar arasında 2008 yılı için CaCl_2 uygulamaları kontrole göre çimlenme oranını önemli miktarda artırmıştır. 2015 yılında ise priming uygulamaları ve kontrol arasında çimlenme oranları bakımından önemli bir fark bulunamamıştır. 2019 yılındaki uygulamalarda ise %2 CaCl_2 uygulaması kontrole nazaran önemli çıkmıştır.

Yirmi dört saat priming uygulanan karaçam tohumlarında 2008 yılındaki tohumlar için çimlenme oranları %15.0-%29.0, 2015 yılına ait tohumlarda %24.0-%39.0 ve 2019 yılına ait tohumlarda ise %61.0-%80.5 arasında değişmiştir. Priming uygulamaları ile kontrole göre 2008 yılına ait %2 ve %3'lük CaCl_2 uygulanan tohumlarda çimlenme oranları artış göstermiş ve istatistiki olarak farklı çıkmıştır. 2015 yılına ait tohumlarda %2 ve %3'lük CaCl_2 ve %2 KCl priming uygulamaları çimlenme oranlarının kontrole göre önemli oranda artırmıştır. 2019 yılına ait tohumlardaki çimlenme oranları hem kontrol hem de priming uygulamaları bakımından diğer yıllardaki çimlenme oranlarından yüksek çıkmıştır. Fakat istatistiki olarak önemli ve farklı çıkan çimlenme oranları sadece %2 ve %3'lük CaCl_2 uygulanan karaçam tohumlarından elde edilmiştir. AsA, CaCl_2 ve KCl uygulamaları kontrol grubuna göre çimlenme değerini arttırmış olup, %29 değeri ile en fazla %2 oranında CaCl_2 24 s uygulaması olduğu tespit edilmiştir.

Kalsiyum klorür uygulaması 2008, 2015 ve 2019 yıllarında sırasıyla kontrole grubuna kıyasla %18, %10.5 ve %32.5 oranında çimlenme oranlarını artırmıştır. Ayrıca CaCl_2

dışında kontrol grubuna göre en fazla farka sahip diğer primiglerden biri de %3 oranında AsA 24 s ve %2 oranında KCl 24 s uygulaması uygulaması olduğu bulunmuştur.

Tommasi vd. (2001) ve Xu vd. (2005), sırasıyla fıstık çamı ve soya tohumlarının çimlenmeye başladıktan 2 gün sonra tohumların AsA konsantrasyonlarının arttığını belirtmişlerdir. Afzal vd. (2006), araştırmalarında AsA uygulaması ile buğday tohumlarında çimlenme oranının yapılan bu çalışmada olduğu gibi kontrole göre önemli ölçüde artırdığını ifade etmişlerdir.

Saba Anwar vd. (2013), 20 ve 40 s AsA çözeltisinde beklettikleri çeltik tohumlarının kontrole göre 40 s AsA uygulaması ile en yüksek çimlenme oranına sahip olduklarını bildirmişlerdir. Yaptığımız bu araştırmada da 3 farklı süre içerisinde (6, 12 ve 24 s) 24 s uygulaması en yüksek çimlenme oranı değerlerini elde etmemizi sağlamıştır. Kheloufi vd. (2016), araştırmalarında akasya (*Acacia*) tohumlarına uyguladığı $CaCl_2$ çalışmamızın aksine kontrole göre çimlenme oranını azalttığını ifade etmişlerdir. Gao ve Yan (2020), adaçayı tohumlarında yaptığı $CaCl_2$ uygulaması bu çalışmayı destekleyici nitelikte arttırmıştır.

4.2.2. Tohum uygulamaları sonrası ortalama çimlenme süresindeki değişimler

2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait AsA, $CaCl_2$ ve KCl uygulanan karaçam tohumlarına ait OÇS değerleri Çizelge 4.7’de verilmiştir. Çizelge 4.7 incelendiğinde üç yıla ait karaçam tohumlarında priming uygulamaları, kontrol grubu değerlerine kıyasla OÇS değerlerini arttırmışlardır.

Çizelge 4.7. Çizelge Farklı sürelerde AsA, CaCl₂ ve KCl primingleri uygulanan karaçam tohumlarının ortalama çimlenme süreleri (gün)

Uygulama süresi (s)	Priming uygulamaları	2008	2015	2019
6	AsA (%2)	8.24±0.9ab	7.27±0.8ab	6.67±0.6bcd
	AsA (%3)	8.68±1.2ab	7.79±1.8a	7.22±0.5ab
	CaCl ₂ (%2)	8.81±0.8ab	6.64±0.5ab	7.38±0.4a
	CaCl ₂ (%3)	9.03±0.9ab	6.79±0.9ab	7.28±0.5ab
	KCl (%2)	10.72±5.2a	6.74±0.9ab	7.22±0.3ab
	KCl (%3)	8.60±0.7ab	7.39±0.7ab	7.11±0.3abc
12	AsA (%2)	7.51±0.9b	6.79±1.7ab	6.49±0.4cd
	AsA (%3)	9.04±0.8ab	7.69±1.0a	6.27±0.5d
	CaCl ₂ (%2)	8.71±0.6ab	6.57±1.0ab	6.65±0.2bcd
	CaCl ₂ (%3)	7.85±0.7b	5.85±0.4b	6.48±0.7cd
	KCl (%2)	8.78±1.1ab	6.78±0.8 ab	6.47±0.3 cd
	KCl (%3)	8.02±1.7b	7.03±1.8ab	6.47±0.4 cd
24	AsA (%2)	7.99±0.9b	6.02±0.5 ab	7.25±0.3 ab
	AsA (%3)	9.03±1.1ab	6.68±0.2 ab	7.07±0.2abc
	CaCl ₂ (%2)	8.19±0.6 ab	6.40±0.5ab	6.97±0.3abc
	CaCl ₂ (%3)	8.49±0.6ab	6.49±0.5 ab	7.24±0.3 ab
	KCl (%2)	8.68±1.4 ab	7.20±0.6 ab	6.53±0.1cd
	KCl (%3)	8.37±0.9 ab	7.75±1.8a	7.24±0.3ab
0	Kontrol	7.26±0.7b	6.23±1.1ab	5.41±0.7e

*Aynı sütun içinde aynı harfe sahip ortalamalar arasında istatistiki olarak önemli bir fark yoktur (p≤0.05)

2008 yılına ait karaçam tohumlarına 6 s olarak uygulanan AsA, CaCl₂ ve KCl uygulamaları arasında kontrol grubuna göre sadece %2'lik KCl uygulamasında istatistiki olarak önemli fark bulunmuş, diğer uygulamaların OÇS sonuçları kontrol grubu ile aynı istatistiki grupta yer alarak önemli derecede fark bulunmamıştır. OÇS süreleri 8.24-10.72 gün arasında değişmiş, kontrol grubunun OÇS süresi ise 7.26 gün olarak bulunmuştur. 2015 yılına ait tohumların OÇS'leri kontrol grubundan farklı olarak bulunmamış ve uygulamalar arasındaki OÇS süreleri 6.64-7.79 gün arasında değişmiştir. 2019 yılına ait tohumlarda kontrol grubunun OÇS'si 5.41 gün olarak bulunurken; priming uygulamaları arasında OÇS süresi 6.67-7.38 gün arasında

değişmiş ve uygulamaların tamamı ile kontrol grubu arasındaki farklar önemli olarak bulunmuştur.

On iki saat olarak uygulanan muameleler arasında 2008 yılına ait tohumların OÇS'leri 7.51-9.04 gün arasında değişmiş ve kontrole göre önemli bir fark bulunamamıştır. 2015 yılına ait tohumlarda da kontrol grubu ile priming uygulamaları arasında OÇS bakımından önemli bir fark çıkmamıştır. Uygulamalar arasında OÇS süresi 5.85-7.69 gün arasında değişmiştir. 2019 yılına ait tohumların kontrol grubunda OÇS 5.41 gün olarak bulunmuştur. Priming uygulamaları arasında OÇS süresi 6.27-6.65 gün arasında değişmiştir. Priming uygulamaları arasında OÇS bakımından önemli bir fark yok iken; priming uygulamalarının OÇS süresi kontrol grubuna göre önemli olarak değişmiştir.

Yirmi dört saat süren priming uygulamaları arasında 2008 yılına ait tohumlarda OÇS değerleri 7.99-9.03 gün olarak değişmiş, uygulamalar arasında ve uygulamalar ile kontrol arasında da önemli bir farklılık bulunmamıştır. 2015 yılına ait karaçam tohumları arasında OÇS değeri 6.02-7.75 gün arasında değişmiş, kontrol grubunun OÇS'si de 6.23 gün olarak bulunmuştur. Uygulamalar içinde ve uygulamalar ve kontrol arasında OÇS bakımından önemli bir fark gözlenmemiştir. Son olarak 2019 yılının tohumlarında OÇS süresi kontrol grubunda 5.41 gün çıkarken; uygulamalar arasında OÇS değeri 6.53-7.25 gün arasında değişmiştir. %2'lik KCl uygulaması ile %3'lük KCl, %2'lik AsA ve %3'lük CaCl₂ uygulamaları arasında önemli fark olduğu tespit edilmiş ve tüm uygulamaların OÇS süresi ile kontrol grubunun OÇS'si arasında istatistiki olarak önemli fark elde edilmiştir.

Karaman ve Kaya (2017), CaCl₂ uygulamalarının çalışmamızda olduğu gibi mercimek tohumlarının OÇS değerlerini artırdığını ifade etmişler ve bu sonucu tuz stresinin bitki gelişmesi üzerinde değişiklikler olabileceği gibi bitki tohumlarının OÇS, ÇO gibi özelliklerinin etkisi olduğunu, tuzun tohum canlılığının etkisi sonucu olduğunu belirtmişlerdir. Anwar vd. (2021), CaCl₂ ve KCl uyguladıkları çeltik tohumlarının OÇS değerleri kontrol grubuna göre bu çalışmada olduğu gibi arttığını rapor etmişlerdir.

4.2.3. Tohum uygulamalarının fide boyu ve kök uzunluğuna etkileri

2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait AsA, CaCl₂ ve KCl uygulanan karaçam tohumlarına ait fide boylarına ait değerler Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Priming uygulamalarının karaçam tohumlarının fide boylarına (cm) olan etkileri

Uygulama süresi (s)	Priming uygulamaları	2008	2015	2019
6	AsA (%2)	8.31±1.5abc	10.58±1.1a	11.32±0.5ab
	AsA (%3)	8.56±2.1abc	10.56±1.2a	10.82±0.7b
	CaCl ₂ (%2)	8.46±1.1abc	11.23±0.6a	11.34±1.5ab
	CaCl ₂ (%3)	9.24±0.9abc	11.49±0.8a	11.84±1.8ab
	KCl (%2)	7.70±1.4bc	11.72±1.9a	12.01±1.9ab
	KCl (%3)	7.63±1.2c	11.56±1.9a	12.35±1.5ab
12	AsA (%2)	10.92±0.9a	11.79±2.2a	12.00±0.9ab
	AsA (%3)	9.22±1.9abc	10.17±0.6a	11.38±0.5ab
	CaCl ₂ (%2)	8.97±0.9abc	12.45±1.2a	13.28±1.7a
	CaCl ₂ (%3)	10.89±2.0ab	11.96±0.5a	12.13±1.1ab
	KCl (%2)	9.21±0.9abc	12.08±1.7a	12.53±1.0ab
	KCl (%3)	8.94±2.3abc	11.64±0.9a	11.57±1.0ab
24	AsA (%2)	8.59±1.2abc	12.18±1.1a	11.12±1.6ab
	AsA (%3)	7.55±1.7c	12.20±0.6a	11.37±0.6ab
	CaCl ₂ (%2)	7.15±2.6c	11.00±1.2a	11.58±1.2ab
	CaCl ₂ (%3)	8.31±1.0abc	11.33±0.7a	11.01±1.3b
	KCl (%2)	7.78±2.0abc	10.25±2.2a	11.33±1.9ab
	KCl (%3)	7.53±1.8c	10.21±1.5a	10.41±2.1b
0	Kontrol	6.34±4.6c	11.08±1.8a	12.07±0.4ab

*Aynı sütun içinde aynı harfe sahip ortalamalar arasında istatistiki olarak önemli bir fark yoktur (p≤0.05)

Altı saat olarak yapılan tohum muameleleri, 2008 yılına ait karaçam tohumlarının uygulama sonucunda kontrol grubuna kıyasla istatistiki açıdan bir önemli bir fark bulunmamıştır fakat genel olarak uygulamaların fide boylarını arttığı gözlenmiştir. Fide boyları uygulamalar arasında 7.70-9.24 cm arasında değişirken; kontrol grubunda 6.34 cm olarak ölçülmüştür. 2015 yılına ait tohumlarda ise uygulamalar arasında ve uygulamalar ile kontrol arasında önemli bir fark gözlenmemiş ve hepsi aynı grup

içinde yer almıştır. Benzer şekilde 2019 yılına ait tohumlarda da uygulamalar arasında ve uygulamalar ile kontrol grubu arasında önemli bir fark bulunmamıştır.

On iki saat süresince yapılan uygulamalarda, 2008 yılına ait karaçam tohumlarının fide boyları 8.94-10.92 cm arasında değişmiştir. %2 oranında AsA ve %3 oranında CaCl₂ uygulanan 2008 yılına ait karaçam tohumlarında kontrol grubu değerleri ile karşılaştırıldığında fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Priming uygulanan 2015 ve 2019 yıllarına ait karaçam tohumlarında kontrol grubu değeri ile istatistiki olarak önemli fark bulunmamıştır. Benzer şekilde 24 s süresince priming uygulanan 2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait tohumlara yapılan uygulamalar arasında ve uygulamalar ile kontrol arasında istatistiki olarak önemli bir fark olmadığı bulunmuştur. 2019 yılında ait tohumlarda priming uygulamaları fide boyunu kontrole nazaran artıran veya azaltan bir etkiye sebep olmamışlardır.

Çizelge 4.9. Priming uygulamalarının karaçam tohumlarının kök uzunluğuna (cm) olan etkileri

Uygulama süresi (s)	Priming uygulamaları	2008	2015	2019
6	AsA (%2)	3.61±0.7bc	5.02±0.5ab	5.21±0.2b
	AsA (%3)	3.49±1.2bc	4.44±0.9b	5.31±0.5ab
	CaCl ₂ (%2)	4.11±0.3ab	5.11±0.4ab	5.57±0.6ab
	CaCl ₂ (%3)	4.53±0.5ab	5.36±0.6ab	6.22±0.9a
	KCl (%2)	3.85±0.8abc	6.15±2.4a	5.89±0.9ab
	KCl (%3)	3.43±0.8bc	5.10±1.0ab	6.04±0.4ab
12	AsA (%2)	5.26±1.0a	5.25±0.8ab	5.81±0.5ab
	AsA (%3)	4.28±1.1ab	4.47±0.7b	5.47±0.2ab
	CaCl ₂ (%2)	4.28±0.4ab	5.96±0.5a	5.71±0.2ab
	CaCl ₂ (%3)	5.35±1.1a	5.69±0.7ab	5.54±0.6ab
	KCl (%2)	4.54±0.7ab	5.55±0.6ab	5.92±0.6ab
	KCl (%3)	4.46±0.8ab	5.37±0.5ab	5.67±0.8ab
24	AsA (%2)	3.89±0.5abc	5.70±0.8ab	5.52±0.6ab
	AsA (%3)	3.44±0.8bc	5.71±0.2ab	5.54±0.1ab
	CaCl ₂ (%2)	3.60±1.3bc	5.06±0.4ab	6.10±0.5ab
	CaCl ₂ (%3)	3.81±0.6abc	5.51±0.2ab	5.80±0.5ab
	KCl (%2)	3.78±0.9abc	5.16±1.3ab	5.46±0.2ab
	KCl (%3)	4.12±1.2ab	4.97±0.5ab	5.58±1.0ab
0	Kontrol	2.32±1.9c	4.87±0.7ab	5.56±0.3ab

*Aynı sütun içinde aynı harfe sahip ortalamalar arasında istatistiki olarak önemli bir fark yoktur (p≤0.05)

En kısa fide kök uzunluğu 2008 yılına ait çimlenen tohumlarda bulunmuştur. Altı saat priming uygulamaları 2008 yılına ait tohumlarda fide kök uzunluğunu farklı oranlarda artırmış fakat %2 ve %3'lük CaCl_2 uygulamalarındaki artış istatistiki olarak önemli çıkmıştır. 2015 ve 2019 yıllarına ait tohumlarda ise kök uzunluğu bakımından uygulamalar arasında ve uygulamalar ile kontrol grupları arasında önemli bir fark çıkmamıştır. Genel olarak 2015 yılına ait tohumlardan çimlenen fidelerin kök uzunlukları kontrole göre artmıştır.

2008 yılına ait tohumların fide kök uzunlukları 12 s priming uygulamaları arasında farklı olarak bulunmazken; uygulamalar ve kontrol arasında farklı ve önemli olarak bulunmuştur. 2015 ve 2019 yıllarına ait tohumlardan elde edilen fidelerin kök uzunlukları ise hem uygulamalar arasında hem de uygulamalar ve kontrol arasında önemli bir fark göstermemiştir.

24 s priming uygulamalarında ise %3'lük KCl uygulaması 2008 yılına ait tohumlarda en yüksek kök uzunluğuna sahip olan uygulama olarak bulunmuş ve kontrole göre kök uzunluğu önemli oranda artmıştır. Fakat 6 s ve 12 s priming uygulamalarına benzer şekilde 24 s priming uygulamaları arasında 2015 ve 2019 yıllarına ait tohumların fide kök uzunluklarındaki artışlar, hem uygulamalar arasında hem de uygulamalar ve kontrol arasında önemsiz olarak bulunmuştur.

Ahmad vd. (2013), mısır tohumlarında AsA uygulamalarının kök uzunluğunu bu çalışmada olduğu gibi artırdığını, Orcan (2017), ise çalışmasında CaCl_2 uygulamalarının çeltik fidelerinin kök uzunluğunu azalttığını ifade bildirmişlerdir. Dehaghi vd. (2007), yonca tohumlarının CaCl_2 uygulaması ile fide kök uzunluğunun kontrole göre arttığını, Jam vd. (2012), ise CaCl_2 uygulaması ile hem fide uzunluğu hem de kök uzunluğunun bu çalışmamızın aksine azaldığını rapor etmişlerdir. Draganic ve Lekic (2012), yaşlandırılmış ayçiçeği tohumlarına AsA ile kombine edilmiş priming uygulamaları ile kontrole göre daha uzun sürgün ve kök uzunluğu elde ettiklerini belirtmişlerdir.

4.2.4. Tohum uygulamalarının normal ve anormal fide oranlarına etkileri

AsA, CaCl₂ ve KCl uygulanan karaçam tohumlarına ait normal fide oranları Çizelge 4.10'da, anormal fide oranları da Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.10. Priming uygulamalarının karaçam tohumlarında normal fide oranlarına olan etkileri

Uygulama süresi (s)	Priming uygulamaları	2008	2015	2019
6	AsA (%2)	10.5±2.2.abc	22.5±3.0abcd	55.5±3.4fg
	AsA (%3)	15.0±3.8ab	15.5±9.2d	53.5±3.4g
	CaCl ₂ (%2)	16.5±6.6ab	27.5±7.2abcd	67.0±2.0abcd
	CaCl ₂ (%3)	12.5±4.1abc	20.0±5.7bcd	71.0±3.8abc
	KCl (%2)	11.5±5.7abc	25.0±4.8abcd	63.0±6.0cdef
	KCl (%3)	14.0±5.4abc	22.5±4.1abcd	58.5±3.4defg
12	AsA (%2)	18.5±4.4ab	18.5±8.2cd	53.5±8.7g
	AsA (%3)	11.5±5.3abc	15.0±6.2d	50.0±9.8g
	CaCl ₂ (%2)	17.0±5.8ab	23.0±3.5abcd	67.0±2.6abcd
	CaCl ₂ (%3)	19.5±4.4ab	30.5±7.2abc	58.5±9.4defg
	KCl (%2)	11.5±5.3abc	26.5±1.9abcd	54.0±8.5fg
	KCl (%3)	15.0±2.6ab	20.0±2.5bcd	57.5±3.0efg
24	AsA (%2)	10.0±7.1bc	20.5±6.0bcd	56.5±5.7efg
	AsA (%3)	11.5±5.7abc	23.0±5.3abcd	63.0±3.8cdef
	CaCl ₂ (%2)	20.0±2.8a	35.0±6.6a	74.5±2.5a
	CaCl ₂ (%3)	17.5±6.2ab	31.5±3.0ab	73.5±6.4ab
	KCl (%2)	15.0±3.5ab	35.0±6.2a	65.0±6.0bcde
	KCl (%3)	12.5±7.7abc	29.0±7.4abc	63.0±2.0cdef
0	Kontrol	4.5±3.4c	15.5±7.6d	29.0±2.0h

*Aynı sütun içinde aynı harfe sahip ortalamalar arasında istatistiki olarak önemli bir fark yoktur (p≤0.05)

Tüm priming uygulamaları 2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait tohumlardan çimlendirilen fidelerdeki normal fide oranlarını artırmıştır. Artış miktarı az depolanan tohumlarda çimlenme yüzdesinin yüksek olmasına bağlı olarak çok daha yüksek oranda olmuştur.

2008 yılına ait karaçam tohumlarında 6 s priming uygulamaları ile kontrol grubu değeri kıyaslandığında %3 AsA ve %2 CaCl₂ uygulamaları ile kontrol arasındaki fark

istatistiki olarak önemli bulunmuştur. 2015 yılına ait tohumlarda en düşük normal fide oranları kontrol ile %3 AsA uygulamasından elde edilmiştir. Uygulamalar arasında ve uygulamalar ile kontrol arasında normal fide oranları bakımından önemli bir fark gözlenmemiştir. 2019 yılına ait tohumlara ise priming uygulamaları kontrol grubuna göre normal fide oranlarını önemli oranda artırmıştır. Uygulamaların tamamı kontrole göre önemli çıkmıştır. Uygulamalar arasında ise %2 ve %3'lük CaCl_2 uygulamaları en yüksek normal fide oranlarını veren uygulamalar olmuştur.

On iki saatlik priming uygulamaları da normal fide oranlarını artırmış fakat artış oranı depolama süresine bağlı olarak değişmiştir. 2008 yılına ait tohumlardaki uygulamalar arasında normal fide oranı %11.5-19.5 arasında değişmiştir. Uygulamalar arasında önemli bir fark gözlenmemiş fakat %2 AsA, %2 ve %3 CaCl_2 ve %3 KCl uygulamaları ile kontrol arasındaki farklar önemli olarak bulunmuştur. 2015 yılına ait tohumlarda ise %3'lük CaCl_2 uygulaması kontrole göre önemli çıkmıştır. 2019 yılına ait tohumlarda ise hem uygulamalar hem de uygulamalar ve kontrol arasında önemli farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. En yüksek normal fide oranları %2'lik CaCl_2 uygulamasından elde edilmiştir.

Yirmi dört saat priming uygulanan 2008 yılına ait tohumlarda normal fide oranları artmıştır. %2 CaCl_2 ve KCl ve %3 CaCl_2 uygulamalarında normal fide oranları kontrole göre önemli oranda artmıştır. 2015 yılına ait tohumlarda ise AsA uygulamaları ile kontrol uygulamaları arasında istatistiki olarak önemli fark gözlenmemiş ve bunlar aynı grup içinde yer almışlardır. En yüksek normal fide oranları %2 CaCl_2 , %2 KCl uygulamalarından elde edilmiştir. 2019 yılına ait tohumlarda ise tüm uygulamalar kontrolden daha iyi ve önemli olarak bulunmuştur. Kontrol uygulamasında normal fide oranı %29.0 iken; %2 CaCl_2 uygulanan tohumlarda normal fide oranı %74.5'e çıkmıştır. En düşük normal fide oranı ise %2 AsA uygulanan tohumlardan elde edilmiştir.

2008 yılına ait tohumlara 6 s süreyle uygulanan priming uygulamalarının anormal fide oranlarını azaltmada etkili olmadığı gözlenmiştir. Hatta %2 AsA ve %2 CaCl_2 ve %3 CaCl_2 uygulamalarının anormal fide oranlarını artırdığı gözlenmiş fakat artış miktarı kontrole göre önemsiz çıkmıştır ve tüm uygulamalar kontrolle aynı önemlilik derecesine sahip olmuştur (Çizelge 4.11). 2015 yılına ait tohumlarda ise priming

uygulamaları ile kontrol farklı gruplarda yer almış fakat priming uygulamalarının tamamı aynı grupta yer aldıkları için aralarında bir farklılık gözlenmemiştir. Priming uygulamaları bu yıla ait tohumların anormal fide oranlarını kontrole göre düşürmüştür. Son olarak 2019 yılı tohumlarında da priming uygulamaları anormal fide oranlarını düşürmüştür. Bu yıla ait tohumlarda en iyi priming uygulaması %2 KCl uygulaması olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.11. Priming uygulamalarının karaçam tohumlarında anormal fide oranlarına olan etkileri

Uygulama süresi (s)	Priming uygulamaları	2008	2015	2019
6	AsA (%2)	8.0±6.3a	6.5±2.5b	4.0±1.6bc
	AsA (%3)	4.0±3.3a	6.5±3.0b	5.5±2.0bc
	CaCl ₂ (%2)	6.5±1.0a	7.0±2.6b	5.0±2.6bc
	CaCl ₂ (%3)	8.5±1.6a	6.0±3.7b	7.5±4.1bc
	KCl (%2)	5.0±3.8a	3.0±2.0b	2.5±2.5c
	KCl (%3)	5.5±3.4a	5.0±3.4b	5.5±1.0bc
12	AsA (%2)	3.5±3.0a	5.5±1.0b	7.0±2.0bc
	AsA (%3)	6.0±3.3a	5.5±3.0b	5.5±2.5bc
	CaCl ₂ (%2)	8.5±2.5a	5.0±3.4b	6.0±1.6bc
	CaCl ₂ (%3)	7.0±4.2a	3.0±2.0b	3.0±2.0bc
	KCl (%2)	7.5±3.4a	5.0±3.8b	6.0±2.3bc
	KCl (%3)	4.5±3.0a	4.5±2.5b	8.0±1.6b
24	AsA (%2)	8.0±4.3a	3.5±2.5b	4.5±1.9bc
	AsA (%3)	7.0±2.6a	5.0±2.6b	5.5±3.8bc
	CaCl ₂ (%2)	9.0±2.3a	4.0±1.6b	6.0±3.3bc
	CaCl ₂ (%3)	8.5±1.9a	4.5±1.9b	6.0±4.3bc
	KCl (%2)	3.5±2.0a	4.0±2.8b	4.0±3.0bc
	KCl (%3)	2.5±1.8a	4.5±2.1b	3.0±1.8bc
0	Kontrol	6.5±5.0a	13.0±5.1a	18.0±2.3a

*Aynı sütun içinde aynı harfe sahip ortalamalar arasında istatistiki olarak önemli bir fark yoktur ($p \leq 0.05$)

On iki saat priming uygulanan 2008 yılına ait tohumlarda uygulamalar arasında ve uygulamalar ile kontrol arasında anormal fide oranları için istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamıştır. 2015 yılına ait tohumlarda uygulamaları arasında fark görülmezken uygulamalar ile kontrol arasında fark olduğu bulunmuştur. 2019 yılına

ait 12 s priming uygulanan tohumlarda anormal fide oranları kontrole göre önemli oranda azalmış fakat uygulamalar arasında önemli bir fark bulunmamıştır.

2008 yılındaki tohumlara 24 s priming uygulamasında diğer uygulama sürelerine benzer olarak uygulamalar arasında ve uygulamalar ve kontrol arasında önemli bir fark bulunmamıştır. 2015 yılı tohumlarında kontrol ve uygulamalar arasındaki fark önemli olarak bulunmuş fakat uygulamalar arasında bir fark bulunmamıştır. Son olarak 2019 yılı tohumlarında da uygulamalar ve kontrol arasındaki fark önemli olarak bulunmuş ve priming uygulamalarının anormal fide oranlarını azalttığı tespit edilmiştir. Fakat uygulamalar arasındaki farklı istatistiki olarak önemsiz olarak bulunmuş ve hepsi aynı grup içinde yer almıştır.

2008, 2015 ve 2019 yıllarında %2 CaCl₂ uygulaması sırasıyla kontrole göre %16.5, %19.5 ve %45.5 oranında normal fide oranı sayısını artırırken anormal fide sayısını 2015 ve 2019 yıllarında sırasıyla %9 ve % 12 oranında azaltmıştır. Tobe ve Omasa (2004), araştırmalarında CaCl₂ uygulaması ile anormal fide oranının bu çalışmada olduğu gibi arttığını ifade etmişlerdir.

4.3. Priming Uygulamaları Sonucu Karaçam Tohumlarında Meydana Gelen Biyokimyasal ve Enzimatik Değişimlerin Belirlenmesi

Karaçam tohumlarında priming uygulamaları sonucunda fizyolojik olarak hangi değişimlerin meydana geldiğinin anlaşılabilmesi için, uygulamalar arasında en iyi sonuçları verenler tespit edilip bunlar üzerinde biyokimyasal ve enzim aktivitesi analizleri yapılmıştır. Depo süreleri bakımından farklılık gösteren karaçam tohumlarına iki farklı dozda üç farklı priming uygulaması yapılmıştır. Karaçam tohumlarında priming uygulamaları sonucunda meydana gelen fizyolojik değişiklikleri belirlemek amacıyla priming uygulamalarının sonuçları esas alınarak iki farklı uygulama seçilmiş ve toplam çözünebilir protein miktarı, serbest yağ asitleri miktarı, toplam tokoferol miktarı, hidrojen peroksit ve malondialdehit miktarları belirlenmiştir. Bunlara ilave olarak tohum depolaması sırasında ortaya çıkan radikal oksijen türevlerinin temizlenmesinde görev alan ve tohum yaşlanmasını önleyen süperoksit dismutaz ve peroksidaz enzim aktivitelerinde meydana gelen değişimler belirlenmiştir. Kontrol olarak hiçbir muameleye tabi tutulmamış karaçam tohumları kullanılmıştır.

2008 yılına ait karaçam tohumlarında altı saatlik uygulamalar arasında kontrol grubuna kıyasla çimlenme oranına %2 CaCl_2 uygulaması en etkiliyken on iki ve yirmi dört saatlik uygulamalar arasında %2 ve %3'lük CaCl_2 uygulaması etkili olduğu gözlemlenmiştir. 2015 yılına ait karaçam tohumlarında altı saatlik uygulamalar arasında kontrol grubuna kıyasla çimlenme oranında %2 CaCl_2 uygulaması en etkili, on iki saatlik uygulamaların istatistiksel olarak farklı olmadığı, yirmi dört saatlik uygulamaların ise %2 ve %3 CaCl_2 uygulaması ile %2 KCl uygulamasının en etkili olduğu tespit edilmiştir. 2019 yılına ait karaçam tohumları uygulamalar sonucu incelendiğinde ise kontrol grubuna kıyasla on iki saatlik %3 AsA uygulaması haricinde bütün uygulamalar arasında istatistiksel olarak fark bulunurken en etkili yirmi dört saatlik %2 CaCl_2 uygulaması tespit edilmiştir.

Depolama süresi azaldıkça priming uygulamalarının etkinlikleri artmıştır ve en yüksek çimlenme yüzdeleri 24 s süresince priming uygulanan tohumlardan elde edilmiştir. Benzer analiz normal fide oranları için de yapılmış ve yine en iyi oranların 24 s priming uygulamalarından elde edildiği gözlenmiştir. Bundan dolayı 24 s süresi tohumlardaki fizyolojik ve enzimatik değişimleri tespit etmek için kullanılacak priming süresi olarak seçilmiştir.

Uygulamalar arasında en iyi sonuçları depolanma süreleri farklı olan karaçam tohumlarında CaCl_2 uygulamalarının verdiği görülmüştür. %2'lik CaCl_2 uygulaması özellikle 2008 yılına ait tohumların çimlenme oranlarını %3'lük CaCl_2 uygulamasına göre ve diğer uygulamardan daha iyi etki etmiştir. Genel olarak %2'lik CaCl_2 uygulaması %3'lük uygulamaya göre daha iyi çimlenme yüzdeleri vermiştir. KCl uygulaması AsA uygulamalarına göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Fakat hem CaCl_2 'nin hem de KCl'nin kimyasal tuzlar olmasından dolayı ve KCl uygulamaları sonuçlarının, özellikle de 24 s priming uygulama süresince, KCl sonuçlarına benzer çıkmasından dolayı AsA uygulamalarının fizyolojik etkilerinin incelenmesi kararlaştırılmıştır. Ayrıca diğer priming ajanlarından farklı olarak AsA bir antioksidant olarak diğer tuzlardan farklıdır. AsA dozları arasında istatistiki olarak çimlenme oranları arasında bir fark yoksa da, sayısal olarak %3'lük dozların daha etkili olduğu Çizelge 4.6 incelenmesi ile anlaşılmaktadır. Bu sebeplerden dolayı diğer priming uygulaması olarak %3'lük AsA uygulaması depolanan karaçam tohumlarına

uygulanmış ve bu uygulamanın tohum fizyolojisi üzerine olan etkisi de çalışma kapsamında araştırılmıştır.

4.3.1. Priming uygulamalarının toplam çözünebilir protein miktarına olan etkileri

Farklı yıllarda toplanarak farklı sürelerde depolanan karaçam tohumlarına ait toplam çözünebilir protein miktarları Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Priming uygulamaları sonucu karaçam tohumlarının çözünebilir protein miktarında meydana gelen değişimler

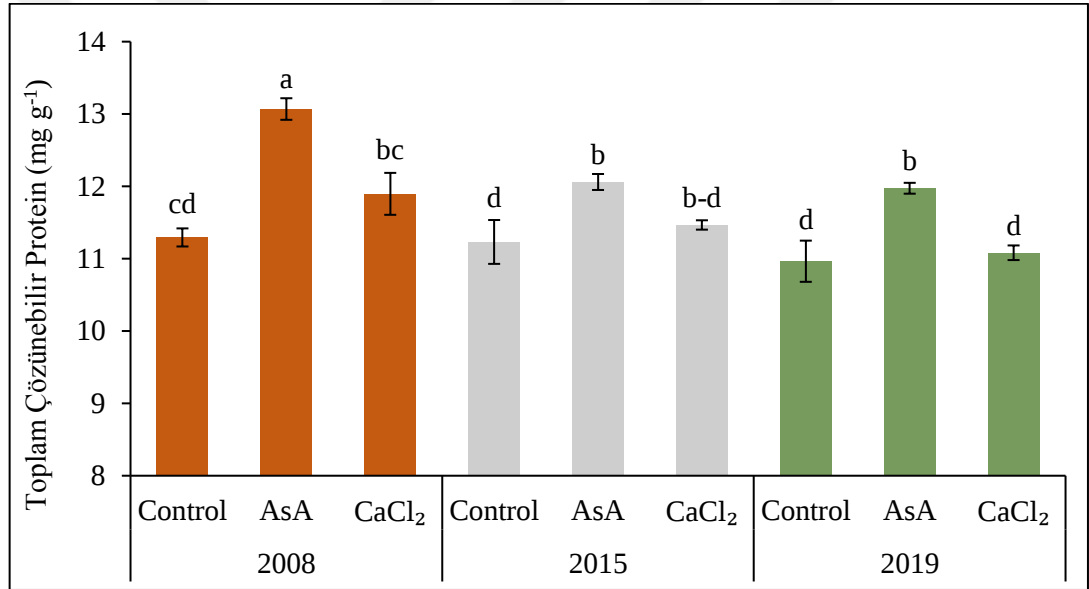
Yıl	Priming uygulamaları	Toplam çözünebilir protein (mg g ⁻¹)
2008	AsA (%3)	13.069±0.15 a
	CaCl ₂ (%2)	11.896±0.29b
	Kontrol	11.294±0.12cd
2015	AsA (%3)	12.060±0.11b
	CaCl ₂ (%2)	11.466±0.06c
	Kontrol	11.231±0.30cd
2019	AsA (%3)	11.973±0.08b
	CaCl ₂ (%2)	11.082±0.10cd
	Kontrol	10.965±0.28d

*Aynı harfe sahip değerler arasında istatistik olarak önemli bir fark yoktur (p≤0.05)

2008, 2015 ve 2019 yıllarında toplanan tohumların çözünebilir protein miktarları aynı önem seviyesinde bulunmuş ve aralarında istatistiki olarak önemli fark bulunmamıştır. 2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait tohumlarda AsA uygulaması çözünebilir protein miktarını kontrole ve CaCl₂ uygulamalarına göre önemli oranda artırmıştır. CaCl₂ uygulamasının depolanan karaçam tohumlarının çözünebilir protein içeriğine etkisi kontrole benzer çıkmış ve her 3 yıl içinde önemsiz bulunmuştur. Depolama süresi en fazla olan 2008 yılına ait kontrol grubundaki tohumların toplam çözünebilir protein miktarı 11.294 mg g⁻¹ iken depolanma süresi en az olan 2019 yılına ait kontrol grubundaki tohumların toplam çözünebilir protein miktarı 10.965 mg g⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Her yıl kendi içerisinde incelendiğinde; 2008, 2015 ve 2019 yılına ait karaçam tohumları kontrol grubu değerini, AsA uygulaması toplam çözünebilir protein miktarını sırasıyla yaklaşık olarak %15.7, %7.3 ve %9.2 oranında arttırmıştır.

Benzer şekilde 2008, 2015 ve 2019 yılına ait karaçam tohumları kontrol grubu değerine kıyasla CaCl_2 uygulamaları karaçam tohumlarındaki toplam çözünebilir protein miktarını sırasıyla yaklaşık olarak %5.3, %2 ve %1 oranında arttırdığı belirlenmiştir.

Karaçam tohumları yıllar bakımından karşılaştırıldığında AsA ve CaCl_2 uygulamaları yıllar attıkça çözünebilir protein miktarına etkisi oransal olarak azalttığı tespit edilmiştir. AsA uygulaması karaçam tohumlarının toplam çözünebilir protein miktarını CaCl_2 uygulamasına kıyasla 2008 yılına ait tohumlarda 1.173 mg g^{-1} , 2015 yılına ait tohumlarda 0.594 mg g^{-1} ve 2019 yılına ait tohumlarda ise 0.891 mg g^{-1} daha fazla arttırdığı belirlenmiştir.



Şekil 4.1. Karaçam tohumlarında AsA ve CaCl_2 uygulamaları sonucu toplam çözünebilir protein miktarındaki değişimleri

Şekil 4.1’de kontrol grubu kendi arasında incelendiğinde 2008 ve 2015 yıllarına ait karaçam tohumlarının çözünebilir protein miktarları arasında rakamsal fark bulunsa da istatistiksel olarak önemli düzeyde fark bulunmamıştır. Benzer şekilde AsA uygulaması kendi içinde incelendiğinde 2015 ve 2019 yıllarına ait karaçam tohumlarının çözünebilir toplam protein miktarında istatistiksel olarak önemli düzeyde fark bulunmamıştır. Vishwanath vd. (2007) ve Önder vd. (2020), bu çalışmada olduğu gibi yaşlanma ile birlikte sırasıyla domates ve aspir tohumlarının toplam çözünebilir protein miktarının arttırdığını ifade etmişlerdir.

Moori ve Eisvand (2017), çalışmalarında yaşlandırılmış buğday tohumlarına uyguladıkları AsA ile toplam çözünebilir protein miktarının bu çalışmada olduğu gibi kontrole göre arttığını ifade etmişlerdir. Arun vd. (2017), yaşlandırılmış börülce tohumlarına uyguladıkları CaCl_2 primingi ile bu çalışmanın aksine kontrole göre toplam çözünebilir protein miktarının azaldığını ifade etmişlerdir.

4.3.2. Priming uygulamalarının toplam serbest yağ asidi miktarına olan etkileri

Farklı yıllarda ve farklı orijinlerden toplanmış karaçam tohumlarına ait serbest yağ asit miktarları Çizelge 4.13’de verilmiştir.

Çizelge 4.13. Priming uygulamaları sonucunda karaçam tohumlarında toplam serbest yağ asit miktarlarının değişimi

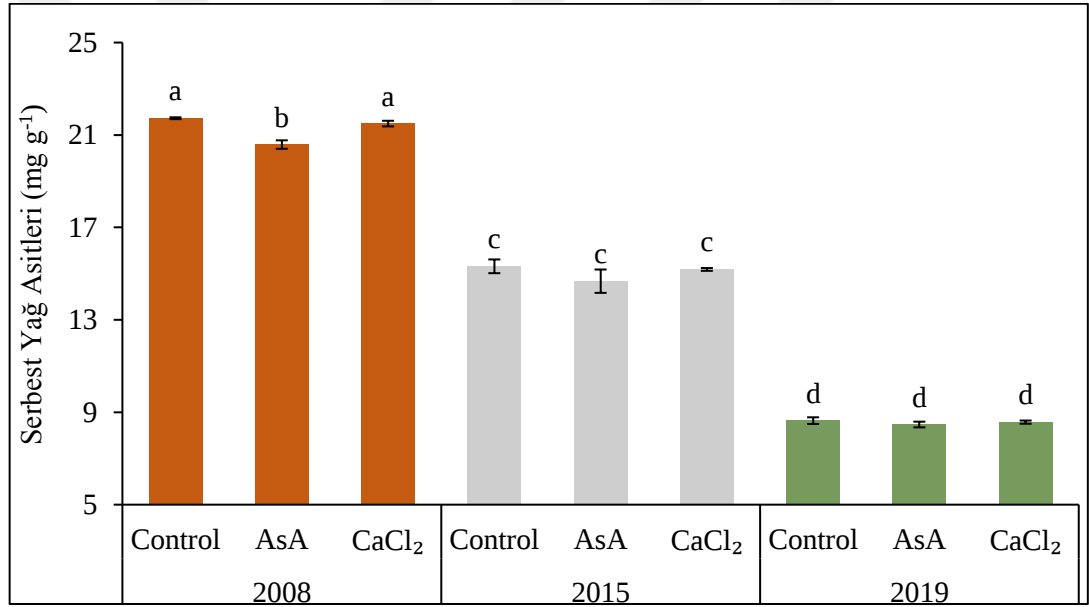
Yıl	Priming uygulamaları	Toplam serbest yağ asitleri (mg g^{-1})
2008	AsA (%3)	20.586±0.18b
	CaCl_2 (%2)	21.493±0.12a
	Kontrol	21.725±0.04a
2015	AsA (%3)	14.672±0.51d
	CaCl_2 (%2)	15.180±0.06c
	Kontrol	15.315±0.30c
2019	AsA (%3)	8.468±0.12e
	CaCl_2 (%2)	8.571±0.07e
	Kontrol	8.636±0.14e

*Aynı harfe sahip değerler arasında istatistik olarak önemli bir fark yoktur ($p \leq 0.05$)

Karaçam tohumlarının kontrol grubunda serbest yağ asit miktarı 21.725 ile 8.636 mg g^{-1} arasında değişmektedir. Depolama yılları arttıkça serbest yağ asit miktarlarında arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.2). AsA uygulaması 2008 ve 2015 yıllarına ait tohumlarda serbest yağ asidi miktarlarını kontrol grubuna kıyasla azaltırken 2019 yılına ait tohumlarda istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. CaCl_2 uygulaması üç yıla ait doğal olarak yaşlanmış karaçam tohumlarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak fark gözlemlenmemiştir (Çizelge 4.13).

2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait karaçam tohumlarında AsA uygulaması değerleri ile kontrol grubu değerleri kıyaslandığında serbest yağ asit miktarını sırasıyla %5.2, %4.2

ve %1.9 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde 2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait karaçam tohumlarının serbest yağ asit miktarının kontrole göre CaCl_2 uygulaması sırasıyla %1, %0.8 ve %0.7 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Ancak 2019 yılına ait karaçam tohumlarına uygulanan AsA ve CaCl_2 ile kontrol grubu değerleri arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamıştır. 2015 ve 2008 yıllarına ait karaçam tohumlarına yapılan priming uygulamaları arasında AsA uygulaması istatistiki olarak kontrol grubu değeri ile önemli fark bulunurken CaCl_2 uygulaması ile fark önemsiz bulunmuştur. Tohum yaşlandıkça CaCl_2 uygulamasının serbest yağ asit miktarına etkisi artmıştır. Basra vd. (2000), yaşlanan pamuk tohumlarının başlangıça göre serbest yağ asidi oranlarının bu çalışmada olduğu gibi arttığını ifade etmişlerdir.



Şekil 4.2. Priming uygulamalarının karaçam tohumlarında toplam serbest yağ asidi miktarı üzerine olan etkileri

4.3.3. Priming uygulamalarının toplam tokoferol miktarına olan etkileri

Farklı yıllarda ve farklı orijinlerden toplanmış karaçam tohumlarına ve yapılan uygulamalara ait toplam tokoferol miktarları Çizelge 4.14’de verilmiştir.

Çizelge 4.14. Priming uygulamaları sonucunda karaçam tohumlarında toplam tokoferol miktarlarındaki değişimler

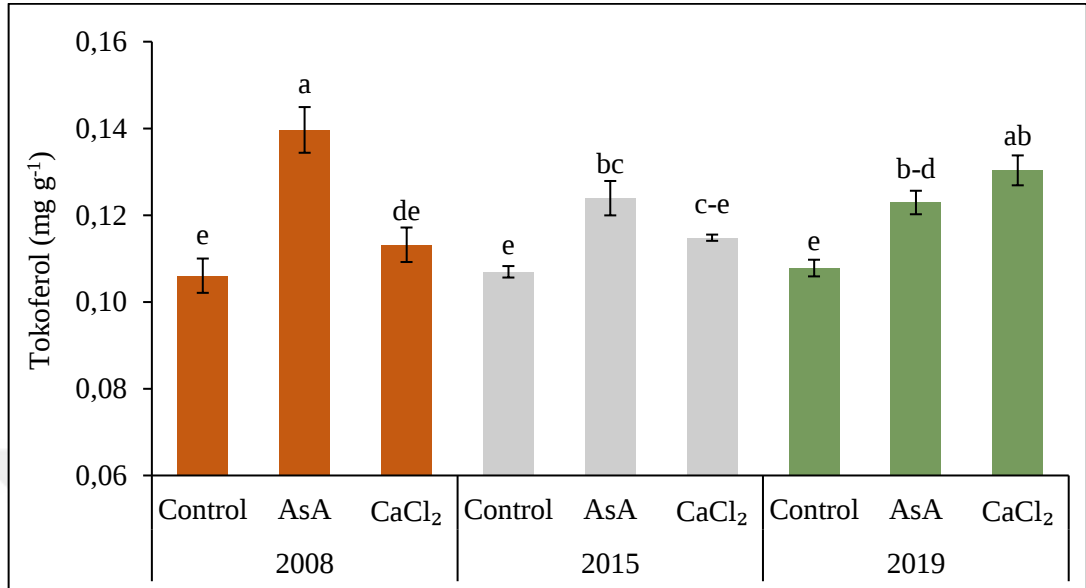
Yıl	Priming uygulamaları	Toplam tokoferol miktarı (mg g ⁻¹)
2008	AsA (%3)	0.140±0.005a
	CaCl ₂ (%2)	0.113±0.004de
	Kontrol	0.106±0.004f
2015	AsA (%3)	0.124±0.004c
	CaCl ₂ (%2)	0.115±0.001d
	Kontrol	0.107±0.001ef
2019	AsA (%3)	0.123±0.003c
	CaCl ₂ (%2)	0.130±0.003b
	Kontrol	0.108±0.002ef

*Aynı harfe sahip değerler arasında istatistik olarak önemli bir fark yoktur (p≤0.05)

2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait karaçam tohumlarının kontrol grubu değerleri sırasıyla 0.106 mg g⁻¹, 0.107 mg g⁻¹ ve 0.108 mg g⁻¹ olarak bulunmuştur. Ancak kontrol gruplarının karaçam tohumlarını toplanma yılı ile arasında fark istatistiki olarak önemli bulunmayarak aynı grupta yer almıştır. 2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait karaçam tohumlarına AsA ve CaCl₂ uygulaması sonucunda kontrol grubu ile fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur. AsA ve CaCl₂ uygulamalarının karaçam tohumlardaki toplam tokoferol miktarını arttırdıkları tespit edilmiştir. 2008 ve 2015 yılına ait karaçam tohumlarında AsA uygulaması, CaCl₂ uygulamasına göre toplam tokoferol miktarını daha fazla arttırırken 2019 yılına ait karaçam tohumlarında ise CaCl₂ uygulaması, AsA uygulamasına göre toplam tokoferol miktarını daha fazla arttırdığı tespit edilmiştir. Şekil 4.3'deki tüm grupları incelediğimizde kontrol gruplarına kıyasla karaçam tohumlarında toplam tokokferol miktarını istatistiki fark en fazla 2008 yılına ait AsA uygulaması sonucunda elde edilmiştir.

Tokoferol tohumun hücresel yapısı içinde özellikle kloroplast membranlarının ve diğer membranların reaktif oksijen türlerine karşı korunmasında önemli rol oynar (Büyük vd., 2012). Doria vd. (2009), Önder vd. (2020), sırasıyla yaşlanmış mısır ve aspir tohumların tokoferol içeriklerinin azaldığını rapor etmişlerdir. Draganiç vd. (2011), bu çalışmanın aksine ayçiçeği tohumlarında AsA uygulaması ile tokoferol içeriklerinde azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Arafa vd. (2010), biber tohumlarına uygulanan

CaCl₂ uygulamasının bu çalışmada olduğu gibi tokoferol içeriğini artırdığını rapor etmişlerdir.



Şekil 4.3. 2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait karaçam tohumlarında AsA ve CaCl₂ uygulamaları sonucu toplam tokoferol miktarı

4.3.4. Priming uygulamalarının hidrojen peroksit miktarına olan etkileri

Priming uygulamaları ile karaçam tohumlarında meydana gelen hidrojen peroksit miktarlarına ait değişimler Çizelge 4.15’de verilmiştir.

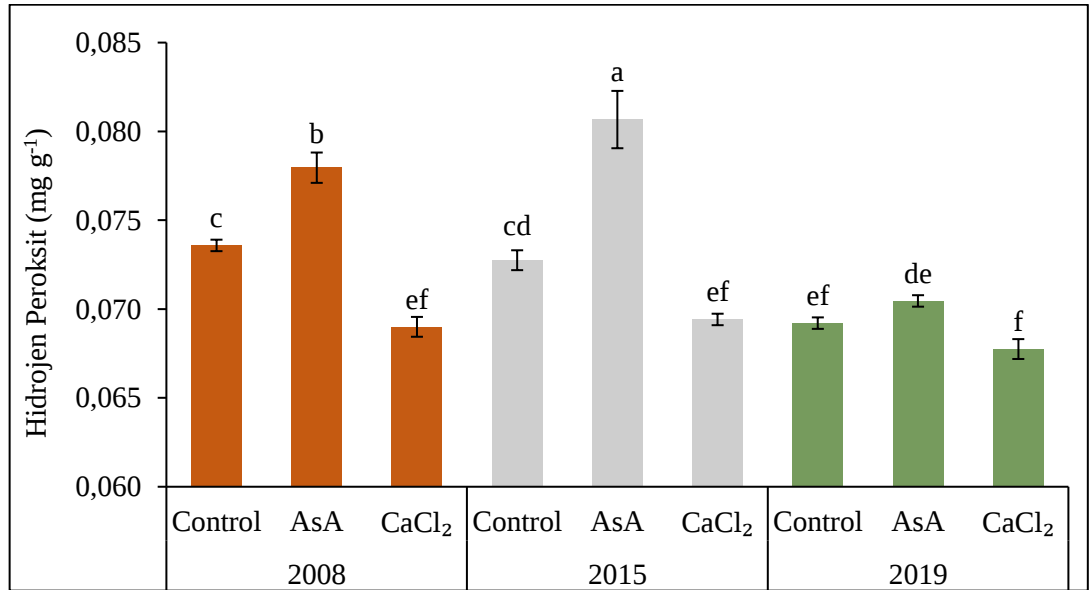
Çizelge 4.15. Priming uygulamaları sonucunda karaçam tohumlarının hidrojen peroksit içeriklerinde meydana gelen değişimler

Yıl	Priming uygulamaları	Hidrojen peroksit miktarı (mg g ⁻¹)
2008	AsA (%3)	0.078±0.0009b
	CaCl ₂ (%2)	0.069±0.0006d
	Kontrol	0.074±0.0003c
2015	AsA (%3)	0.081±0.0016a
	CaCl ₂ (%2)	0.069±0.0003d
	Kontrol	0.073±0.0006c
2019	AsA (%3)	0.070±0.0003d
	CaCl ₂ (%2)	0.068±0.0006de
	Kontrol	0.069±0.0003d

*Aynı harfe sahip değerler arasında istatistik olarak önemli bir fark yoktur ($p \leq 0.05$)

2008, 2015 ve 2019 yıllarında toplanan karaçam tohumlarına ait kontrol grubu değerleri içerisinde hidrojen peroksit miktarı en çok 0.074 mg g⁻¹ ile 2008 yılına ait tohumlarda, en az ise 0.069 mg g⁻¹ değeri ile 2019 yılına ait tohumlardan elde edilmiştir. 2008 ve 2019 yıllarında toplanan karaçam tohumlarında kontrol grupları arasında fark istatistiki olarak önemli bulunurken, 2008 ile 2015 yıllarında toplanan karaçam tohumlarına ait kontrol grubu değerleri arasındaki fark önemli bulunmamıştır (Şekil 4.4).

AsA uygulamasının karaçam tohumlarındaki hidrojen peroksit miktarına etkisi için kontrol grubu değerleri ile kıyasla; 2008 yılında toplanan karaçam tohumlarında 0.004 mg g⁻¹, 2015 yılında toplanan karaçam tohumlarında 0.008 mg g⁻¹ ve 2019 yılında toplanan karaçam tohumlarında ise 0.001 mg g⁻¹ değerinde arttırdığı tespit edilmiştir. Ancak AsA uygulamasının 2019 yılına ait karaçam tohumlarında kontrol grubu ile istatistiki olarak aralarında fark önemli bulunmamıştır. CaCl₂ uygulamasının karaçam tohumlarındaki hidrojen peroksit miktarına etkisi için kontrol grubu değerleri ile kıyasla; 2008 yılında toplanan karaçam tohumlarında 0.005 mg g⁻¹, 2015 yılında toplanan karaçam tohumlarında 0.004 mg g⁻¹ ve 2019 yılında toplanan karaçam tohumlarında ise 0.001 mg g⁻¹ değerinde azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca CaCl₂ uygulaması grupları ile kontrol grubu arasında fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Karaçam tohumların yapılan uygulamalar sonucu hidrojen peroksit miktarındaki değişimler

Tohum yaşlanması ile birlikte hücrede bazı mekanizmalar gibi bitkilerde gelişim sürecinde ve stres koşullarına direnç sağlamada görev yapan hidrojen peroksit seviyesinin de değiştiği bilinmektedir (Benamar vd., 2003; Malencic vd., 2004; Wojtyla vd., 2016; Chhabra ve Singh, 2019). Kalembe vd. (2015), iki yıl boyunca depoladıkları karakavak tohumlarının H_2O_2 seviyelerinin depolama süresince arttığını bildirmişlerdir. Kibinza vd. (2006), yaşlandırılmış ayçiçeği tohumlarının çalışmamıza benzer şekilde H_2O_2 seviyelerinin azaldığını rapor etmişlerdir. Azadi vd. (2013), AsA uygulaması ile birlikte, yaşlandırılmış sorgum tohumlarının H_2O_2 seviyelerinin azaldığını rapor etmişlerdir. Hussain vd. (2016), çeltik tohumlarına uygulanan $CaCl_2$ ile tohumların H_2O_2 içeriklerinin bu çalışmada olduğu gibi azaldığını tespit etmişlerdir.

4.3.5. Priming uygulamalarının MDA miktarına olan etkileri

Priming uygulamaları sonucu karaçam tohumlarında malondialdehit (MDA) miktarında meydana gelen değişimler Çizelge 4.16'da verilmiştir.

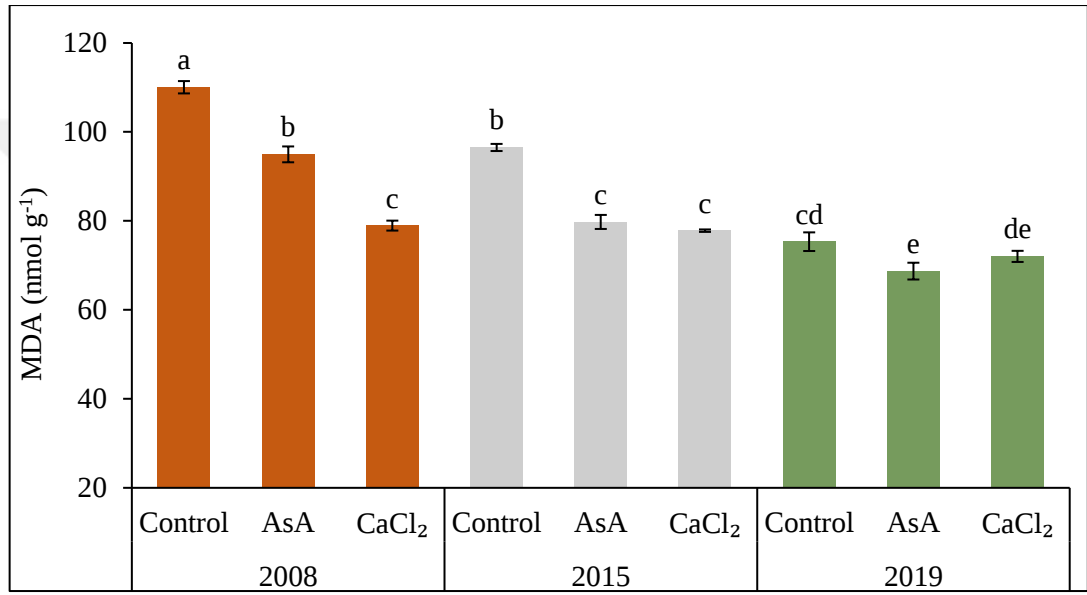
Çizelge 4.16. Priming uygulamaları sonucunda karaçam tohumlarındaki MDA seviyelerinin değişimi

Yıl	Priming uygulamaları	MDA miktarı (nmol g ⁻¹)
2008	AsA (%3)	94.963±1.78b
	CaCl ₂ (%2)	78.947±1.12c
	Kontrol	110.05±1.39a
2015	AsA (%3)	79.773±1.58c
	CaCl ₂ (%2)	77.810±0.28cd
	Kontrol	96.513±0.80b
2019	AsA (%3)	68.717±1.89f
	CaCl ₂ (%2)	72.023±1.25e
	Kontrol	75.330±2.09d

*Aynı harfe sahip değerler arasında istatistik olarak önemli bir fark yoktur (p≤0.05)

Kontrol grupları arasında 2008 yılına ait karaçam tohumlarının MDA miktarı 110.05 nmol g⁻¹ ile en yüksek, 2019 yılına ait karaçam tohumlarının ise 75.330 nmol g⁻¹ ile en düşük seviyede olduğu tespit edilmiştir. AsA uygulaması 2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait karaçam tohumlarının MDA miktarını sırasıyla 15.087, 16.74 ve 7.093 nmol g⁻¹

miktarında düşürmüştür. Benzer şekilde CaCl_2 uygulaması da kontrol grubuna kıyasla MDA miktarlarını 2008 yılına ait tohumlarda $31.103 \text{ nmol g}^{-1}$, 2015 yılına ait tohumlarda $18.703 \text{ nmol g}^{-1}$, 2019 yılına ait tohumlarda ise $3.307 \text{ nmol g}^{-1}$ mikarında azaltmıştır. 2008 ve 2015 yılına ait kontrol grupları ile uygulamalar karşılaştırıldığında ASA uygulaması CaCl_2 uygulaması sonucuna göre MDA miktarı sırasıyla %16.8 ve %2.4 daha fazla değerde olduğu tespit edilmiştir. Ancak 2019 yılına ait tohumlarda ise CaCl_2 uygulaması, AsA uygulamasına kıyasla karaçam tohumlarındaki MDA miktarı %4.5 daha fazla olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.5. 2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait karaçam tohumlarında AsA ve CaCl_2 uygulamaları sonucu MDA miktarı

Bitkilerde stres koşulları ve hücre yapısının farklı sebeplerden dolayı zarar gördüğü durumlarda direnç ve hücre canlılığının değerlendirilmesi konusunda MDA miktarındaki değişimlerin indikatör olduğu bilinmektedir (Maryam vd., 2014; Morales ve Munne-Bosch, 2019; Ji vd., 2021). Şekil 4.5 incelendiğinde CaCl_2 ve AsA uygulamaları sonuçları ile kontrol grubu değerleri arasında kıyasla karaçam tohumlarındaki MDA miktar farkı istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmuştur. Balesevic-Tubic vd. (2005), uzun süre depolanmış ayçiçeği tohumlarının bu çalışmada olduğu gibi MDA içeriğinin arttığını ifade etmişlerdir. Bailly vd. (1996), yaşlandırılmış ayçiçeği tohumlarının MDA içeriklerinin yaşlı olmayan tohumlara göre çalışmamıza benzer şekilde daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Goel vd. (2003) ve Moori ve Eisvand (2017), sırasıyla yaşlandırılmış pamuk ve buğday tohumlarına uyguladıkları AsA ile tohum MDA içeriğinin azaldığını çalışmalarında ifade

etmişlerdir. Hussain vd. (2016), çeltik tohumlarına uygulanan CaCl_2 ile tohumların MDA içeriklerinin azaldığını tespit etmişlerdir.

4.3.6. Priming uygulamalarının SOD aktivitesi üzerindeki etkileri

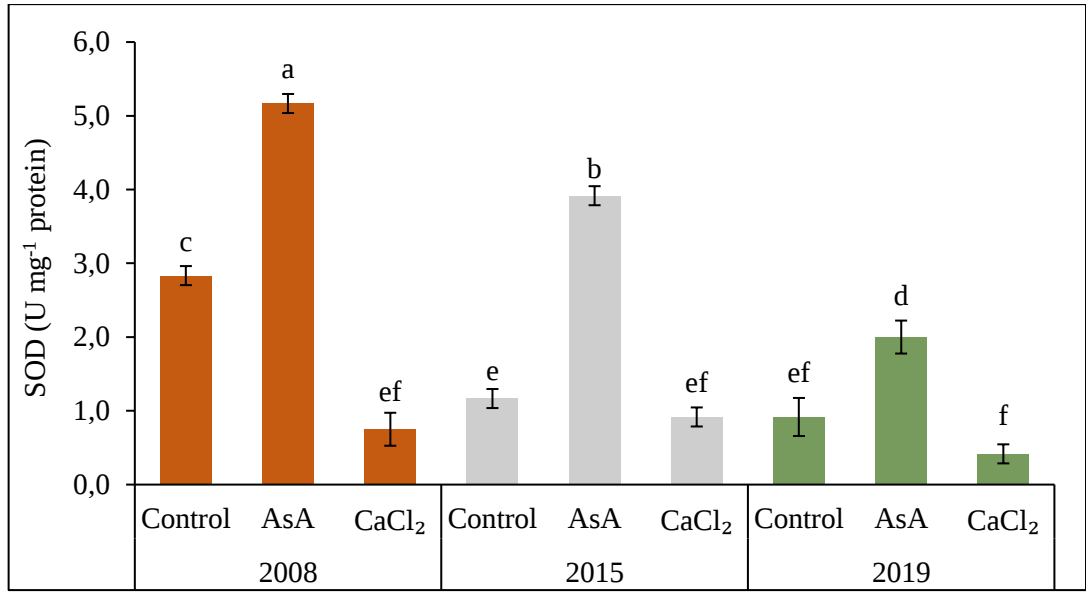
Farklı yıllarda ve farklı orijinlerden toplanmış karaçam tohumlarına ait SOD değerleri Çizelge 4.17’de verilmiştir.

Çizelge 4.17. Farklı toplama yıllarına ve farklı orijinlere ait karaçam tohumlarının SOD aktivitesi

Yıl	Priming uygulamaları	SOD (U mg^{-1} protein)
2008	AsA (%3)	5.167±0.13a
	CaCl_2 (%2)	0.750±0.22f
	Kontrol	2.833±0.13c
2015	AsA (%3)	3.917±0.13b
	CaCl_2 (%2)	0.917±0.13ef
	Kontrol	1.167±0.13e
2019	AsA (%3)	2.000±0.22d
	CaCl_2 (%2)	0.417±0.13g
	Kontrol	0.917±0.26ef

*Aynı harfe sahip değerler arasında istatistik olarak önemli bir fark yoktur ($p \leq 0.05$)

2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait karaçam tohumlarının kontrol grup değerleri incelendiğinde; en yüksek SOD aktivitesi 2.833 U mg^{-1} protein ile 2008 yılına ait karaçam tohumlarında iken; en düşük aktivite ise 0.917 U mg^{-1} protein ile 2019 yılına ait tohumlarda bulunmuştur. 2008 yılına ait tohumlar incelendiğinde AsA uygulaması, kontrol grubuna kıyasla SOD aktivitesini yaklaşık %82 artırırken CaCl_2 uygulaması ise yaklaşık %72 oranında azaltmıştır. 2015 yılına ait tohumlar incelendiğinde AsA uygulaması, kontrol grubuna kıyasla SOD aktivitesi yaklaşık %235 artırırken CaCl_2 uygulaması ise yaklaşık %21 oranında azaltmıştır. 2019 yılına ait tohumlar incelendiğinde AsA uygulaması, kontrol grubuna göre SOD aktivitesini yaklaşık %118 artırırken CaCl_2 uygulamaları ise yaklaşık %54.5 oranında azaltmıştır (Çizelge 4.17).



Şekil 4.6. 2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait karaçam tohumlarında AsA ve CaCl₂ uygulamaları sonucu SOD aktivitesi

Şekil 4.6 incelendiğinde 2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait karaçam tohumlarına uygulanan AsA ve CaCl₂ uygulamaları sonucunda SOD değerleri, kontrol gruplarındaki SOD aktiviteleri ile kıyaslandığında fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Depolama süreleri arttıkça karaçam tohumlarında SOD enzim aktivitesi de artmıştır. AsA uygulamasıyla depolama süresi kısaldıkça SOD aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir.

Hidrojen peroksit gibi SOD enzim aktivitesinin de tohum yaşlanması ile hücre yapısının bozulmaya başlaması ile birlikte azaldığı bilinmektedir (Noctor ve Foyer, 1998). Balesevic-Tubic vd. (2005), uzun süre depolanmış ayçiçeği tohumlarında SOD içeriğinin azaldığını bildirmişlerdir. Brar vd. (2019), yaşlandırılmış soğan tohumlarının kontrole göre SOD aktivitesinin daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Goel vd. (2003) ve Yan vd. (2016), AsA uyguladıkları yaşlandırılmış pamuk ve çim tohumlarının SOD seviyelerini kontrole göre artırdığını rapor etmişlerdir. Hussain vd. (2016), çeltik tohumlarına uygulanan CaCl₂ ile tohumların SOD içeriklerinin azaldığını tespit etmişlerdir.

4.3.7. Priming uygulamalarının POD aktivitesi üzerindeki etkileri

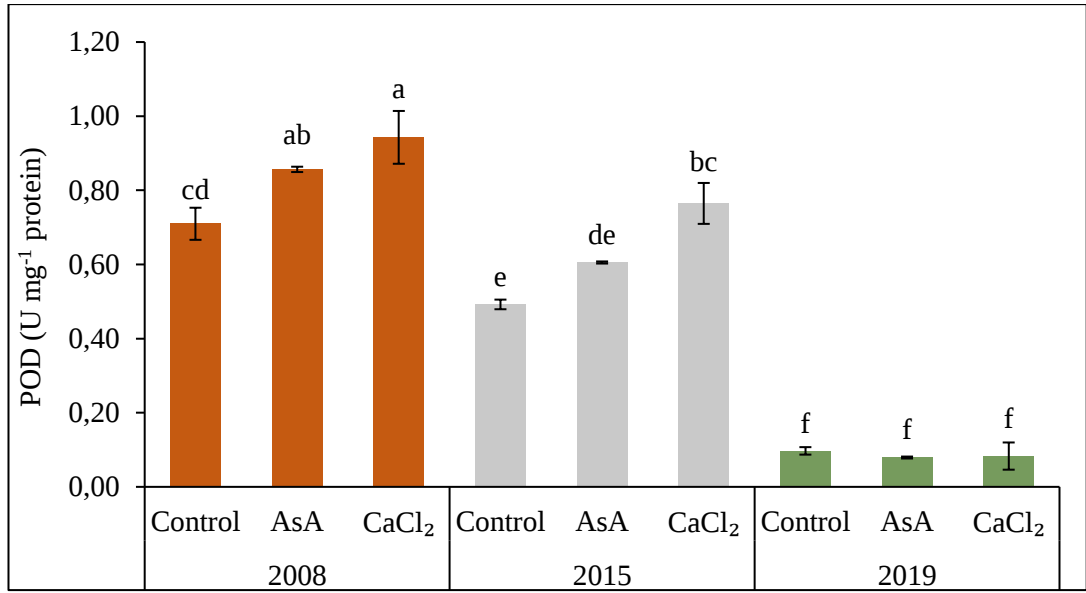
Farklı yıllarda ve farklı orijinlerden toplanmış karaçam tohumlarına ait POD aktivitelerindeki değişimler Çizelge 4.18’de verilmiştir.

Çizelge 4.18. Farklı toplama yıllarına ve farklı orijinlere ait karaçam tohumlarının POD aktiviteleri

Yıl	Priming uygulamaları	POD (U mg ⁻¹ protein)
2008	AsA (%3)	0.856±0.01b
	CaCl ₂ (%2)	0.943±0.07a
	Kontrol	0.71±0.04c
2015	AsA (%3)	0.605±0.01d
	CaCl ₂ (%2)	0.765±0.06c
	Kontrol	0.492±0.01e
2019	AsA (%3)	0.079±0.01f
	CaCl ₂ (%2)	0.083±0.04f
	Kontrol	0.097±0.01f

*Aynı harfe sahip değerler arasında istatistik olarak önemli bir fark yoktur (p≤0.05)

Çizelge 4.18 incelendiğinde üç farklı yılın kontrol grupları arasında karaçam tohumlarındaki POD aktiviteleri, 0.097 U mg⁻¹ ile en düşük seviyede 2019 yılına ait karaçam tohumlarında bulunurken; 2008 yılına ait karaçam tohumlarındaki POD aktivitesi 0.710 U mg⁻¹ ile en yüksek seviyede bulunmuştur. 2008 yılına ait karaçam tohumlarının POD aktivitesi kontrol grubuna kıyasla AsA uygulaması %20.5 ve CaCl₂ uygulaması %32.8 oranında artmıştır. Benzer şekilde 2015 yılına ait karaçam tohumlarının POD aktivitesi kontrol grubu değerine kıyasla AsA uygulamasında %22.9 ve CaCl₂ uygulamasında %55.4 oranında arttırmıştır. Ancak 2019 yılında toplanan karaçam tohumlarının POD aktivitesi kontrole kıyasla AsA uygulamasında %18.5 ve CaCl₂ uygulamasında %14.4 oranında azaltmıştır.



Şekil 4.7. 2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait karaçam tohumlarında AsA ve CaCl₂ uygulamaları sonucu POD aktivitesinde gözlenen değişimler

Şekil 4.7 incelendiğinde 2008 ve 2015 yıllarına ait karaçam tohumlarındaki POD aktivitesinde kontrollere kıyasla AsA ve CaCl₂ priming uygulamaları sonucu değerleri arasında istatistiki olarak fark önemli bulunmuştur. 2019 yılına ait karaçam tohumlarındaki POD değerleri ise kontrol grubu değerleri ile AsA ve CaCl₂ uygulamaları sonucu değerleri arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır.

SOD ve H₂O₂ enzim aktivitesinde olduğu gibi tohum yaşlanması ile birlikte hücreyi olumsuz etkileyen faktörler durumunda POD enzim aktivitesinin azaldığı bilinmektedir (Harman ve Mattick, 1976). Soğan (Brar vd., 2019), turp (Scialabba vd., 2002) ve aspir (Önder vd., 2020), tohumlarında yaşlanmayla birlikte POD aktivitesinin düştüğünü ifade etmişlerdir. Shah vd. (2019), AsA uygulaması ile buğday tohumlarının POD aktivitesini arttırdığını ifade etmişlerdir. Goel vd. (2003) ve Moori ve Eisvand (2017), yaşlandırılmış pamuk ve buğday tohumlarına uyguladıkları ASA ile tohumlardaki POD aktivitesinin arttığını belirtmişlerdir. El-Mowafy ve Kishk (2017), çeltik tohumlarına yapılan CaCl₂ uygulamasının POD aktivitesini düşürdüğünü bildirmişlerdir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda depolanma sürelerindeki artışın tohum canlılığı ve kalitesini etkilediği, ancak priming uygulamaları ile tohum canlılığının arttırılabilir olup, yapılan uygulamalar arasında en etkili olanların %3'lük AsA ve %2'lik CaCl₂ uygulamaları olduğu tespit edilmiştir.

Tohumların 1000 dane ağırlıkları, en ve boyları ile yağ oranları incelendiğinde ise, çimlenme oranlarının aksine, depolama sürelerinden bağımsız birer değişken oldukları ve toplanma yılı ve lokasyonuna bağlı olarak değiştikleri tespit edilmiştir.

Yaşlanmış tohumlarda, genç tohumlara göre %76.5 daha düşük çimlenme tespit edilmiştir. Depolanma süresi arttıkça çimlenme oranları azalmıştır. Çimlenme sürelerinin de tohumların depolama süreleri ile birlikte arttığı tespit edilmiştir. Tohumların depolanma süreleri arttıkça fide boyu, kök uzunluğu ve anormal fide oranları gibi özelliklerinde de artış gözlemlenmiş ve buna bağlı olarak tohumlarının depolanma süreleri arttıkça tohum canlılığında ve tohum kalitesinde azalma meydana geldiği tespit edilmiştir.

Yaşlanmış tohumlarda tohum canlılığının ve tohum kalitesinin azaldığı tespit edilerek tohumların vigoru farklı uygulamalar ile arttırılmaya çalışılmıştır. Uygulanan işlemlerinin hepsi olumlu sonuç vererek tohum canlılığını arttırdığı ve buna bağlı olarak çimlenme oranlarını iyileştirdiği ve ayrıca fide kalitesini de arttırdıkları belirlenmiştir. Tohumların çimlenme oranları incelendiğinde uygulanan tohum işlemleri arasında 2008, 2015 ve 2019 yıllarına ait tohumlarda en fazla çimlenme oranı 24 s %2'lik CaCl₂ uygulamasından elde edilmiştir. Çimlenme süreleri incelendiğinde ise, 2008 yılına ait tohumlarda 12 s %2'lik AsA uygulaması, 2015 yılına ait tohumlarda 12 s %3'lük CaCl₂ uygulaması ve 2019 yılına ait tohumlarda ise uygulama yapılmayan kontrol grubunda çimlenme sürelerinin en az olduğu tespit edilmiştir. Tohumlar yaşlandıkça tohum uygulamalarının çimlenme süreleri üzerinde daha fazla etkisi olduğu gözlemlenmiştir.

2008, 2015, 2019 yıllarına ait tohumlarda 24 s %2'lik CaCl_2 uygulaması normal fide oranını sırasıyla %344, %126, %157 arttırırken, %2'lik CaCl_2 uygulaması anormal fide oranını 2008 yılına ait tohumlarda %38 arttırmış fakat 2015 ve 2019 yıllarına ait tohumlarda ise %69 ve %67 oranında azaltmıştır. Ancak anormal fide oranlarını 2019 yılına ait tohumlarda en aza indiren uygulama 6 s %2'lik KCl uygulaması olmuştur. Priming uygulanan tohumların çimlendirilmesi sonucunda 2008 yılına ait tohumlarda en uzun fide boyunu 12 s %2'lik ASA uygulaması, 2015 ve 2019 yıllarına ait tohumlarda en uzun fide boyunu ise 12 s %2'lik CaCl_2 uygulamasından elde edildiği gözlemlenmiştir. Priming uygulanan tohumlarda kök uzunlukları incelendiğinde 2008 yılına ait tohumlarda 12 s %3'lük CaCl_2 uygulaması, 2015 yılına ait tohumlarda 6 s %2'lik KCl uygulaması ve 2019 yılına ait tohumlarda ise 6 s %3'lük CaCl_2 uygulaması kontrole göre en yüksek kök uzunluğunu vermiştir.

Toplam çözünebilir protein miktarının yaşlanan tohumlarda daha fazla olduğu tespit edilmiş fakat istatistiksel olarak önemli derecede fark bulunmamıştır. Tohumlara AsA uygulanmaları sonucunda, tohumlardaki çözünebilir protein miktarının artmaya devam ettiği ve de CaCl_2 uygulamalarının protein miktarının artım hızını azaltmada AsA uygulamalarına göre daha iyi sonuç verdiği bulunmuştur.

Çalışmamızda tohum yaşı arttıkça karaçam tohumlarındaki MDA miktarı da artmıştır. Priming uygulamaları tohumlardaki MDA içeriğini azaltarak yaşlanma stresinin azalmasına yardımcı olduğu düşünülmektedir. Her iki uygulamada kontrollere göre MDA miktarını tohumlarda azaltmışlar fakat azalma oranı tohum yaşına ve uygulamalara bağlı olarak farklılık göstermiştir. AsA uygulaması genç tohumlarda daha iyi sonuç verirken, CaCl_2 uygulamasının yaşlı tohumlarda daha etkilili olduğu gözlemlenmiştir.

Karaçam tohumlarındaki depolama süresi arttıkça serbest yağ asitleri miktarında artmıştır. Serbest yağ asitleri miktarının artması yağların parçalanarak tohumlarda bozulmanın bir işareti olabilir ve tohum kalitesini kontrol etmek için kullanılabilir.

Depolama süresinin tohumların tokoferol miktarları üzerinde bir etkisinin olmadığı belirlenmiş fakat priming uygulamalarının tohumlardaki tokoferol miktarını arttırarak yaşlanma stresindeki hücrel direnci arttırmada etkilerinin olabileceği gözlenmiştir.

Elde ettiğimiz veriler incelendiğinde AsA uygulamasının 2008 ve 2015 yıllarına ait tohumlardaki tokoferol miktarını, CaCl₂ uygulamasına göre daha fazla arttırmıştır. 2019 yılına ait tohumlardaki tokoferol miktarı ise CaCl₂ uygulamasından daha çok etkilenecek daha yüksek seviyede tokoferol birikimine neden olmuştur.

H₂O₂ miktarı ve SOD aktivitesi analizleri sonucunda karaçam tohumları yaşlandıkça H₂O₂ miktarının ve SOD aktivitesinin arttığı bulunmuştur. CaCl₂ uygulaması ile yaşanan tohumlardaki H₂O₂ miktarının ve SOD aktivitesinin kontrole göre azaldığı gözlemlenmiştir. AsA uygulamasında ise H₂O₂ miktarının ve SOD aktivitesinin kontrole göre artarak tohumun reaktif oksijen birikimini önlediği ve bu sayede tohumun canlılığını artırmaya katkıda bulunduğu anlaşılmıştır.

POD enzim aktivitesi de SOD ve H₂O₂ gibi reaktif oksijenlerin hücresel zararlarına karşı koruyucu görevi üstlenerek yaşlanma stresine karşı POD aktivitesi de tohumlarda artmıştır. Çalışmamızda SOD ve H₂O₂ sonuçlarına benzer şekilde AsA uygulaması POD aktivitesi arttırmıştır.

Genel olarak çalışmamız sonuçlarına göre, tohum canlılığı ve tohum kalitesi azalanan yaşlanmış karaçam tohumlarına priming uygulaması ile yaşlanma stresine karşı direncin, tohum kalitesinin ve tohum canlılığının artırıldığı söylenebilir. Çalışmamızın doğal yaşlanmış tohumlarla ilgili yapılacak diğer çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Afzal, I., Basra, S. M., Farooq, M., & Nawaz, A. (2006). Alleviation of salinity stress in spring wheat by hormonal priming with aba, salicylic acid and ascorbic acid. *International Journal of Agriculture & Biology*, 8(1), 23-28.
- Ahmad, I., Basra, S. M., Afzal, I., Farooq, M., & Wahid, A. (2013). Growth improvement in spring maize through exogenous application of ascorbic acid, salicylic acid and hydrogen peroxide. *International Journal of Agriculture Biology*, 15, 95-100.
- Ahmed, D. M., Zahran, H. A. H., Zaher, F. A., Abd Ei-Hamid, M. A. E., & Ei-Hamidi, M. A. (2018). Jatropha tree productivity, seed oil content and oil quality as feed stock for biodiesel production. *Bioscience Research*, 15(3), 2134-2140.
- Akram, N. A., Shafiq, F., & Ashraf, M. (2017). Ascorbic acid-a potential oxidant scavenger and its role in plant development and abiotic stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 8, 613. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00613>
- Algan, G., & Toker, M. C. (2004). *Bitki Hücresi ve Bitki Morfolojisi Laboratuvar Kitabı*. Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Döner Sermaye İşletmesi Yayınları.
- Alptekin, C. Ü. (1986). Anadolu karaçamı (*Pinus nigra* Arn. ssp. *pallasiana* Lamb. Holmboe)'nın coğrafik varyasyonları. *Journal of the Faculty of Forestry Istanbul University*, A36(2), 132-154.
- Alvarez, R., Valbuena, L., & Calvo, L. (2007). Ecology of seed germination of *Pinus sylvestris* L. at its southern, Mediterranean distribution range. *International Journal of Wildland Fire*, 16(1), 63-70. <http://doi.org/10.1071/WF06001>
- Anwar, M. P., Jahan, R., Rahman, M. R., Islam, A., & Uddin, F. M. J. (2021). Seed priming for increased seed germination and enhanced seedling vigor of winter rice. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 756, 1-7. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/756/2/F012047>
- Arafa, A. A., Khafagy, M. A., Abo El-Kheer, A. M., Fouda, R. A., & El-Banna, M. F. (2010). Effect of nacl and cacl₂ salts on seed germination and seedling growth of *Capsicum annuum* L. *Journal of Plant Production*, 1(7), 913-930. <https://doi.org/10.21608/jpp.2010.86553>
- Arun, M. N., Bhanuprakash, K., Hebbar, S. S., & Senthivel, T. (2017). Effects of Seed Priming on Biochemical Parameters and Seed Germination in Cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp]. *Legume Research-An International Journal*, 40(3), 562-570.
- Atalay, I., & Efe, R. (2010). Structural and distributional evaluation of forest ecosystems in Turkey. *Journal of Environmental Biology*, 31(1), 61.
- Ayan, S., Yücedağ, C., & Simovski, B. (2021). A major tool for afforestation of semi-arid and anthropogenic steppe areas in Turkey: *Pinus nigra* JF Arnold subsp.

pallasiana (Lamb.) Holmboe. *Journal of Forest Science*, 67(10), 449-469.
<https://doi.org/10.17221/74/2021-JFS>

- Ayerza, R. (2011). Seed yield components, oil content, and fatty acid composition of two cultivars of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) growing in the Arid Chaco of Argentina. *Industrial Crops and Products*, 33(2), 389-394.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.11.003>
- Azadi, M. S., Tabatabaei, S. A., Younesi, E., Rostami, M. R., & Mombeni, M. (2013). Hormone priming improves germination characteristics and enzyme activity of sorghum seeds (*Sorghum bicolor* L.) under accelerated aging. *Cercetari Agronomice in Moldova*, 46, 49-55.
- Backer, H., Frank, O., Angelis, B., & Feingold, S. (1980). Plasma tocopherol in man at various times after ingesting free or acetylated tocopherol. *Nutrition Reports International*, 21(4), 531-536.
- Bağcı, E., & Karaağaçlı, Y. (2004). Fatty acid and tocochromonol patterns of Turkish pines. *Acta Biologica Cracoviensia A Series Botanica*, 46, 95-100.
- Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F., & Côme, D. (1996). Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. *Physiologia Plantarum*, 97(1), 104-110.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1996.tb00485.x>
- Balešević-Tubic, S., Tatic, M., & Miladinovic, J. (2005). Influence of aging process on biochemical changes in sunflower seed. *Helia*, 28(42), 107-114.
<https://doi.org/10.2298/hel0542107b>
- Barbas H. (2001). Vitamin E: action, metabolism and perspectives, *Journal of Physiology and Biochemistry*, 57(2), 43-56.
<https://doi.org/10.1007/BF03179812>
- Basra, S. M. A., Rehman, K. U., & Iqbal, S. (2000). Cottonseed deterioration: assessment of some physiological and biochemical aspects. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2(3), 195-198.
- Bellani, L. M., Salvini, L., Dell'Aquila, A., & Scialabba, A. (2012). Reactive oxygen species release, vitamin E, fatty acid and phytosterol contents of artificially aged radish (*Raphanus sativus* L.) seeds during germination. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34(5), 1789-1799. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-0976-0>
- Benamar, A., Tallon, C., & Macherel, D. (2003). Membrane integrity and oxidative properties of mitochondria isolated from imbibing pea seeds after priming or accelerated ageing. *Seed Science Research*, 13(1), 35-45.
<https://doi.org/10.1079/SSR2002122>
- Bolat, İ., & Kara, Ö. (2017). Bitki besin elementleri: kaynakları, işlevleri, eksik ve fazlalıkları. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 19(1), 218-228.

- Bonnet-masimber, M., & Bikay-bikay, V. (1978). Variabilite intraspecificque des isozymes de la glutamate oxaloacetate transaminase Chez. *Pinus nigra* Arnold. *Silvae Genetica*, 27, 71-79.
- Boubakri, H. (2017). The Role of Ascorbic Acid in Plant–Pathogen Interactions. In *Ascorbic Acid in Plant Growth, Development and Stress Tolerance*. (pp. 255-271)
- Bourgeois, J., & Malek, L. (1991). Metabolic changes related to the acceleration of jack pine germination by osmotic priming. *Tree Physiology*, 8(4), 407-413. <https://doi.org/10.1093/treephys/8.4.407>
- Boydak, M., Çalışkan, A., & Bozkuş, F. (2002). Dursunbey-Alaçam yöresi Karaçamlarında (*Pinus nigra* subsp. *pallasiana*) Tohum verimi ve değişimi. *Journal of the Faculty of Forestry Istanbul University*, 52(2), 1-26.
- Boydak, M., Dirik, H., Tilki, F., & Çalıkoğlu, M. (2003). Effects of water stress on germination in six provenances of *Pinus brutia* seeds from different bioclimatic zones in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 27(2), 91-97.
- Brar, N. S., Kaushik, P., & Dudi, B. S. (2019). Assessment of natural ageing related physio-biochemical changes in onion seed. *Agriculture*, 9(8), 163. <https://doi.org/10.3390/agriculture9080163>
- Büyük, İ., Aydın, S., & Aras, S. (2012). Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji*, 69(2), 97-110. <http://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2012.40316>
- Calama, R., Manso, R., Lucas-Borja, M. E., Espelta, J. M., Pique, M., Bravo, F., Peso, C., & Pardos, M. (2017). Natural regeneration in Iberian pines: A review of dynamic processes and proposals for management. *Forest Systems*, 26(2), 1-20. <http://doi.org/10.5424/fs/2017262-11255>
- Chhabra, R., & Singh, T. (2019). Seed aging, storage and deterioration: an irresistible physiological phenomenon. *Agricultural Reviews*, 40(3), 234-238. <https://arccjournals.com/journal/agricultural-reviews/R-1914>
- Comporti, M. (1993). Lipid peroxidation. Biopathological significance. *Molecular Aspects of Medicine*, 14(3), 199-207. [https://doi.org/10.1016/0098-2997\(93\)90006-Y](https://doi.org/10.1016/0098-2997(93)90006-Y)
- Constantine, N. G., & Stanley, K. R. (1977). Superoxide dismutases. *Plant Physiology*, 59(2), 315-318. <https://doi.org/10.1104%2Fpp.59.2.315>
- Çelik, Y., & Kenanoğlu, B. B. (2020) Priming uygulamalarının farklı gelişim dönemlerindeki patlıcan tohumlarının canlılık ve kalitesi üzerine etkisi. *Uluslararası Doğu Anadolu Fen Mühendislik ve Tasarım Dergisi*, 2(2), 348-369. <https://doi.org/10.47898/ijeased.801324>

- Dehaghi, M. A., Jafari, S., & Tabatabaie, R. (2007). Effect of exogenous calcium chloride on sodium chloride salt and cold resistances during seed germination stage of medicago polymorpha. *Journal of Agronomy*, 6(4), 554-559. <https://dx.doi.org/10.3923/ja.2007.554.559>
- Devasagayam, T. P. A., Tilak, J. C., Bloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S., & Lele, R. D. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Japi*, 52, 794-804.
- Doria, E., Galleschi, L., Calucci, L., Pinzino, C., Pili, R., Cassani, E., & Nielsen, E. (2009). Phytic acid prevents oxidative stress in seeds: evidence from a maize (*Zea mays* L.) low phytic acid mutant. *Journal of Experimental Botany*, 60(3), 967-978. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern345>
- Draganic, I., Lekia, S., Brankovic, T., & Todorovic, G. (2011). Fatty acids and tocopherol content in sunflower seeds affected by accelerated ageing and priming with antioxidant solutions. *Turkish Journal of Field Crops*, 16(2), 100-104.
- Draganic, I., & Lekic, S. (2012). Seed priming with antioxidants improves sunflower seed germination and seedling growth under unfavorable germination conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 36(4), 421-428.
- Easton, L. C., & Kleindorfer, S. (2008). Germination in two Australian species of *Frankenia* L., *F. serpyllifolia* Lindl. and *F. foliosa* JM Black (Frankeniaceae)-effects of seed mass, seed age, light, and temperature. *Transactions of the Royal Society of South Australia*, 132(1), 29-39. <https://doi.org/10.1080/03721426.2008.10887090>
- El-Mowafy, M. R., & Kishk, A. M. S. (2017). Effect of soaking treatments and temperature during germination on germinability and rice (*Oryza sativa* L.) Seed Quality. *Journal of Plant Production*, 8(4), 537-540. <https://dx.doi.org/10.21608/jpp.2017.40062>
- Erkan, S. (2008). *Kastamonu Günlüburun Karaçam Tohum Bahçesinde Klonal Farklılıklar*. (Doktora Tezi, Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü)
- Farooq, M., Basra, S. M. A., Rehman, H., & Saleem, B. A. (2008). Seed priming enhances the performance of late sown wheat (*Triticum aestivum* L.) by improving chilling tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194(1), 55-60. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2007.00287.x>
- Fazlali, R., Asli, D. E., & Moradi, P. (2013). The effect of seed priming by ascorbic acid on bioactive compounds of naked seed pumpkin (*Cucurbita pepo* var. Styriaca) under salinity stress. *International Journal of Farming Allied and Sciences*, 2(17), 587-590.
- Feurtado, J. A., Ambrose, S. J., Cutler, A. J., Ross, A. R., Abrams, S. R., & Kermode, A. R. (2004). Dormancy termination of western white pine (*Pinus monticola*

- Dougl. Ex D. Don) seeds is associated with changes in abscisic acid metabolism. *Planta*, 218(4), 630-639. <https://doi.org/10.1007/s00425-003-1139-8>
- Gao, L., & Yan, M. (2020). Calcium chloride priming increases chilling tolerance in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 80(2), 219-226. <http://doi.org/10.4067/S0718-58392020000200219>
- Genç, D. M. (2020). *Silvikültür Tekniği: "Silviculture Technique"*. Musa Genc Kitaplığı E-Kitaplar Serisi.
- Ghildiyal, S. K., Sharma, C. M., & Khanduri, V. P. (2009). Effect of pre-soaking and pre-chilling treatments on seed germination of *Pinus roxburghii* provenances from western Himalaya, India. *Journal of Forestry Research*, 20(4), 323-330. <https://doi.org/10.1007/s11676-009-0055-6>
- Ghiyasi, M., Amirnia, R., Tajbakhsh, M., & Danesh, Y. R. (2014). Askorbik Asidin Eskiştirilmiş Soya Tohumlarında Çimlenme Özellikleri Üzerine Olan Etkisi. *Turkey 5th Seed Congress with International Participation*. June 19-23, Diyarbakır, 673-677.
- Goel, A., Goel, A. K., & Sheoran, I. S. (2003). Changes in oxidative stress enzymes during artificial ageing in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seeds. *Journal of Plant Physiology*, 160(9), 1093-1100. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00881>
- Govindaraj, M., Masilamani, P., Selvaraju, P., & Albert, V. A. (2017). Effect of accelerated ageing on germination and seedling vigour of manually and mechanically harvested and threshed rice seeds. *International Journal of Agricultural Science and Research*, 7(4), 39-48. <https://doi.org/10.24247/IJASRAUG20176>
- Guangwu, Z., & Xuwen, J. (2014). Roles of gibberellin and auxin in promoting seed germination and seedling vigor in *Pinus massoniana*. *Forest Science*, 60(2), 367-373. <https://doi.org/10.5849/forsci.12-143>
- Guo, S., Wang, Y., & Wang, W. (2012). Effect of priming treatments on germination and biochemical characteristics of *Pinus bungeana* seeds. *Beijing Forestry University and Springer*, 14(3), 200-204. <https://doi.org/10.1007/s11632-012-0302-3>
- Gutteridge, J.M. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41(12), 1819-1828. <https://doi.org/10.1093/clinchem/41.12.1819>
- Hadinezhad, P., Payamenur, V., Mohamadi, J., & Ghaderifar, F. (2013). The effect of priming on seed germination and seedling growth in *Quercus castaneifolia*. *Seed Science and Technology*, 41(1), 121-124.

- Harman, G. E., & Mattick, L. R. (1976). Association of lipid oxidation with seed ageing and death. *Nature*, 260, 323-324. <https://doi.org/10.1038/260323a0>
- Hatree, E. F. (1972). Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Analytical Biochemistry*, 48(2), 422-427. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(72\)90094-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(72)90094-2)
- Houšková, K., Klepárník, J., & Mauer, O. (2021). How to accelerate the germination of Scots pine and Norway spruce seeds. *Journal of Forest Science*, 67(3), 134-142. <https://doi.org/10.17221/133/2020-JFS>
- Hozayn, M., & Ahmed, A. A. (2019). Effect of magneto-priming by tryptophan and ascorbic acid on germination attributes of barley (*Hordeum vulgare* L.) under salinity stress. *EurAsian Journal of BioSciences*, 13(1), 245-251.
- Hsu, C. C., Chen, C. L., Chen, J. J., & Sung, J. M. (2003). Accelerated aging-enhanced lipid peroxidation in bitter melon seeds and effects of priming and hot water soaking treatments. *Scientia Horticulturae*, 98(3), 201-212. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(03\)00002-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(03)00002-5)
- Hu, D., Ma, G., Wang, Q., Yao, J., Wang, Y. U., Pritchard, H. W., & Wang, X. (2012). Spatial and temporal nature of reactive oxygen species production and programmed cell death in elm (*Ulmus pumila* L.) seeds during controlled deterioration. *Plant, Cell & Environment*, 35(11), 2045-2059. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02535.x>
- Hussain, S., Khan, F., Hussain, H. A., & Nie, L. (2016). Physiological and biochemical mechanisms of seed priming-induced chilling tolerance in rice cultivars. *Frontiers in Plant Science*, 7, 116. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00116>
- ISTA (2009). *International rules for seed testing*. Bassersdorf, International Seed Testing Association.
- Jam, B. J., Shekari, Farid., Azimi, M. R., & Zangani, E. (2012). Effect of priming by salicylic acid on germination and seedling growth of safflower seeds under CaCl₂ stress. *International Journal of Agricultural Research*, 2, 1097-1105.
- Javanmaer, Z., & Tabari Kouchaksaraei, M. (2017). Effect of pre-sowing seed treatments on germination traits and early seedling growth of Eldar Pine. *ECOPERSIA*, 5(4), 1969-1980.
- Ji, H. S., Bang, S. G., Ahn, M. A., Kim, G., Kim, E., Eom, S. H., & Hyun, T. K. (2021). Molecular cloning and functional characterization of heat stress-responsive superoxide dismutases in garlic (*Allium sativum* L.). *Antioxidants*, 10(5), 815. <https://doi.org/10.3390/antiox10050815>
- Jiang, A. L., Tian, S. P., & Xu, Y. (2002). Effects of controlled atmospheres with High-O₂ or High CO₂ concentrations on postharvest physiology and storability of “napoleon” sweet cherry. *Journal of Integrative Plant Biology*, 44(8), 925-930.

- Kalembe, E. M., Suszka, J., & Ratajczak, E. (2015). The role of oxidative stress in determining the level of viability of black poplar (*Populus nigra*) seeds stored at different temperatures. *Functional Plant Biology*, 42(7), 630-642. <https://doi.org/10.1071/fp14336>
- Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute*, 4(1), 50-59.
- Karaman, R., & Kaya, M. (2017). Mercimeğe (*Lens esculanta* Moench) uygulanan farklı klor tuzu ve dozlarının kimi ilk gelişme özelliklerine etkisi. *Journal of Agricultural Sciences*, 23(1), 10-21.
- Kaur, H., Petla, B. P., Kamble, N. U., Singh, A., Rao, V., Salvi, P., & Majee, M. (2015). Differentially expressed seed aging responsive heat shock protein OsHSP18. 2 implicates in seed vigor, longevity and improves germination and seedling establishment under abiotic stress. *Frontiers in Plant Science*, 6, 713. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00713>
- Kaya, Z., & Temerit, A. (1994). Genetic structure of marginally located *Pinus nigra* var. *pallasiana* populations in central Turkey. *Silvae Genetica*, 43(5), 272-276.
- Kaya, Z., Steel, F., Temerit, A., & Vurdu, H. (2003). Genetic variation in wood specific gravity of half-sib families of *Pinus nigra* subsp. *pallasiana* tested at the juvenile stage: Implications for early selection. *Silvae Genetica*, 52, 3-4.
- Kenanoğlu, Ö. Ü. B. B., & Demir, İ. (2018). Klorofil floresan ayırım metodu'nun tohum kalitesinin iyileştirilmesinde kullanımı. *TÜRKTOB Dergisi*, 26, 11-13.
- Khan, T., Mazid, M., & Mohammad, F. (2011). A review of ascorbic acid potentialities against oxidative stress induced in plants. *Journal of Agrobiology*, 28(2), 97. <http://doi.org/10.2478/v10146-011-0011-x>
- Kheloufi, A., Chorfi, A., & Mansouri, L. M. (2016). Comparative effect of NaCl and CaCl₂ on seed germination of *Acacia saligna* L. and *Acacia decurrens* Willd. *International Journal of Biosciences*, 8(6), 1-13. <http://dx.doi.org/10.12692/ijb/8.6.1-13>
- Kibinza, S., Vinel, D., Côme, D., Bailly, C., & Corbineau, F. (2006). Sunflower seed deterioration as related to moisture content during ageing, energy metabolism and active oxygen species scavenging. *Physiologia Plantarum*, 128(3), 496-506. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00771.x>
- Koski, V., & Antola, J. (1993). *National Tree Breeding And Seed Production Programme for Turkey 1994-2003*. The Research Directorate of Forest Tree Seeds and Tree Breeding.
- Koster, K. L., & Leopold, A. C. (1988). Sugars and desiccation tolerance in seeds. *Plant Physiology*, 88(3), 829-832. <https://doi.org/10.1104/pp.88.3.829>

- Kumar, R., Shamet, G. S., Mehta, H., Alam, N. M., Tomar, J. M. S., Chaturvedi, O. P., & Khajuria, N. (2014). Influence of gibberellic acid and temperature on seed germination in Chilgoza pine (*Pinus gerardiana* Wall.). *Indian Journal of Plant Physiology*, 19(4), 363-367. <https://doi.org/10.1007/s40502-014-0119-2>
- Kumar, V., Shamet, G. S., & Kuma, S. (2013). Studies on cone maturation and pre-sowing seed treatment on germination behaviour of chilgoza pine (*Pinus gerardiana* Wall.). *Indian Forester*, 139(11), 1030-1033. <http://doi.org/10.36808/if%2F2013%2Fv139i11%2F40624>
- Labudda, M. (2013). Lipid peroxidation as a biochemical marker for oxidative stress during drought. An effective tool for plant breeding. *Warsaw University of Life Sciences*, 159, 1-12.
- Lechowski, Z., & Białczyk, J. (1993). Calcium mediated cytokinin action on chlorophyll synthesis in isolated embryo of Scots pine. *Biologia Plantarum*, 35(1), 53. <https://doi.org/10.1007/BF02921119>
- Liu, T. W., Wu, F. H., Wang, W. H., Chen, J., Li, Z. J., Dong, X. J., Patton, J., Pei, Z. M., Rennenberg, H., & Zheng, H. L. (2011). Effects of calcium on seed germination, seedling growth and photosynthesis of six forest tree species under simulated acid rain. *Tree Physiology*, 31(4), 402-413. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpr019>
- Lopez-Fernández, M. P., Moyano, L., Correa, M. D., Vasile, F., Burrieza, H. P., & Maldonado, S. (2018). Deterioration of willow seeds during storage. *Scientific Reports*, 8(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35476-3>
- Lowry, R. R., & Tinsley, I. J. (1976). Rapid colorimetric determination of free fatty acids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 53(7), 470-472. <https://doi.org/10.1007/BF02636814>
- Malencic, D. J., Vasić, D., Popović, M., & Dević, D. (2004). Antioxidant systems in sunflower as affected by oxalic acid. *Biologia Plantarum*, 48(2), 243-247. <https://doi.org/10.1023/B:BIOP.0000033451.96311.18>
- Maryam, G. G., Elahe, G., Mohsen, S., & Zeinab, H. K. (2014). The effect of accelerated aging on germination characteristics, seed reserve utilization and malondialdehyde content of two wheat cultivars. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 10(2), 15-23.
- Miladinov, Z., Maksimovic, I., Tubic, S. B., Canak, P., Miladinovic, J., Djukic, V., & Randjelovic, P. (2021). Priming fresh and aged seed of soybean (*Glycine max* L.). *Legume Research-An International Journal*, 44(4), 452-457.
- Moori, S., & Eisvand, H. R. (2017). Plant growth regulators and ascorbic acid effects on physiological quality of wheat seedlings obtained from deteriorated seeds. *Pakistan Journal of Botany*, 49(5), 1811-1819.

- Morales, M., & Munné-Bosch, S. (2019). Malondialdehyde: facts and artifacts. *Plant Physiology*, 180(3), 1246-1250. <https://doi.org/10.1104/pp.19.00405>
- Nergiz, C., & Dönmez, İ. (2004). Chemical composition and nutritive value of *Pinus pinea* L. seeds. *Food Chemistry*, 86, 365–368. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.09.009>
- Nikolic, D., & Tucic, N. (1983). Isoenzyme variation within and among populations of European black pine (*Pinus nigra* Arnold). *Silvae Genetica*, 32, 80-89.
- Noctor, G., & Foyer, C. H. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Biology*, 49(1), 249-279. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.49.1.249>
- OGM (2014). Türkiye Orman Varlığı. Orman İdaresi ve Planlama Daire Başkanlığı, 115. Yayın, Ankara.
- Orcan, M. Y. (2017). *Yerel Karacadağ Çeltiğinin (Oryza sativa L.) In vitro Koşullarda Farklı Tuz Çeşidi ve Konsantrasyonlarına Verdiği Yanıtlar*. (Yüksek Lisans Tezi, Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü)
- O'Rourke, N. & Hatcher, L. (2013). *A Step-by-Step Approach to Using SAS for Factor Analysis and Structural Equation Modeling Second Edition*. SAS Institute Publishing.
- Önder, S., Önder, D. G., & Tonguç, M. (2020). Determination of hydrogen peroxide content and antioxidant enzyme activities in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seeds after accelerated aging test. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 24(3), 681-688. <https://doi.org/10.19113/sdufenbed.793621>
- Önder, S., Tonguç, M., Güvercin, D., & Karakurt, Y. (2020). Biochemical changes stimulated by accelerated aging in safflower seeds (*Carthamus tinctorius* L.). *Journal of Seed Science*, 42, 1-12. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42227873>
- Paul, S., Dey, S., & Kundu, R. (2021). Seed priming: an emerging tool towards sustainable agriculture. *Plant Growth Regulation*, 97, 215-234. <https://doi.org/10.1007/s10725-021-00761-1>
- Priestley, D. A. (1986). *Seed Aging: Implications for Seed Storage and Persistence in The Soil*. Comstock Publishing Associates.
- Saatçioğlu, F. (1976). *Silvikültür I, Silvikültürün Biyolojik Esasları ve Prensipleri*. İstanbul Üniversitesi Yayınları.
- Saba Anwar, M. I., Raza, S. H., & Iqbal, N. (2013). Efficacy of seed preconditioning with salicylic and ascorbic acid in increasing vigor of rice (*Oryza sativa* L.) seedling. *Pakistan Journal of Botany*, 45(1), 157-162.

- Scialabba, A., Bellani, L. M., & Dell'Aquila, A. (2002). Effects of ageing on peroxidase activity and localization in radish (*Raphanus sativus* L.) seeds. *European Journal of Histochemistry*, 46(4), 351-358. <https://doi.org/10.4081/1747>
- Settler, S. E., Gilliland, L. U., Magallanes-Lundback, M., Pollard, M., & DellaPenna, D. (2004). Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination. *Plant Cell*, 16, 1419-1432. <https://doi.org/10.1105/tpc.021360>
- Shah, T., Latif, S., Khan, H., Munsif, F., & Nie, L. (2019). Ascorbic acid priming enhances seed germination and seedling growth of winter wheat under low temperature due to late sowing in Pakistan. *Agronomy*, 9(11), 757. <https://doi.org/10.3390/agronomy9110757>
- Shatpathy, P., Kar, M., Dwibedi, S. K., & Dash, A. (2018). Seed priming with salicylic acid improves germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under PEG-6000 induced water stress. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(10), 907-24. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.710.101>
- Shen, T. Y., & Odén, P. C. (1999). Activity of sucrose synthase, soluble acid invertase and fumarase in germinating seeds of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) of different quality. *Seed Science and Technology*, 27(3), 825-838.
- Shibata, M., & Coelho, C. M. M. (2016). Early harvest increases post-harvest physiological quality of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) seeds. *Revista de Biologia Tropical*, 64(2), 885-896. <http://doi.org/10.15517/rbt.v64i2.19254>
- Sıvacioğlu, A., Ayan, S., & Çelik, D. A. (2009). Clonal variation in growth, flowering and cone production in a seed orchard of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 8(17), 4084-4093.
- Silveira, N. M., Ribeiro, R. V., Prata, P. J., Pissolatto, M. D., Pieretti, J. C., Seabra, A. B., & Machado, E. C. (2020). Germination and initial growth of common bean plants under water deficit as affected by seed treatment with S-nitrosoglutathione and calcium chloride. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 32(1), 49-62. <https://doi.org/10.1007/s40626-020-00166-x>
- Sivritepe, H. Ö. (2012). Tohum gücünün değerlendirilmesi. *Alatarım Dergisi*, 11(2), 33-44.
- Skrzyszevska, K., & Chłanda, J. (2009). A study on the variation of morphological characteristics of silver fir (*Abies alba* Mill.) seeds and their internal structure determined by X-ray radiography in the Beskid Sądecki and Beskid Niski mountain ranges of the Carpathians (southern Poland). *Journal of Forest Science*, 55(9), 403-414. <http://dx.doi.org/10.17221/48/2008-JFS>

- Sung, J. M. (1996). Lipid peroxidation and peroxide- scavenging in soybean seeds during aging. *Physiologia Plantarum*, 97(1), 85-89. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1996.tb00482.x>
- Şevik, H., & Ertürk, N. (2015). Effects of drought stress on germination in fourteen provenances of *Pinus brutia* Ten. seeds in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 3(5), 294-299. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v3i5.294-299.190>
- Tammela, P., Salo-Vaananen, P., Laakso, I., Hopia, A., Vuorela, H., & Nygren, M. (2005). Tocopherols, tocotrienols and fatty acids as indicators of natural ageing in *Pinus sylvestris* seeds. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 20, 378-384. <https://doi.org/10.1080/02827580500292063>
- Temel, F., Gülcü, S., Ölmez, Z., & Göktürk, A., (2011). Germination of anatolian black pine (*Pinus nigra* subsp. *pallasiana*) seeds from the lakes region of Turkey: geographic variation and effect of storage. *Not Bot Hort Agrobot Cluj*, 39(1), 267-274. <https://doi.org/10.15835/nbha3915866>
- Tobe, K., Li, X., & Omasa, K. (2004). Effects of five different salts on seed germination and seedling growth of *Haloxylon ammodendron* (Chenopodiaceae). *Seed Science Research*, 14(4), 345-353. <https://doi.org/10.1079/SSR2004188>
- Tommasi, F., Paciolla, C., de Pinto, M. C., & Gara, L. D. (2001). A comparative study of glutathione and ascorbate metabolism during germination of *Pinus pinea* L. seeds. *Journal of Experimental Botany*, 52(361), 1647-1654. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.361.1647>
- Tonguç, F., Keles, H., & Tasdemir, C. (2013). Variation in cone and seed characteristics in three populations of Anatolian black pine (*Pinus nigra* subsp. *pallasiana*) in Turkey. *Research Journal of Forestry*, 7(1), 34-40.
- Tonguç, M., Önder, S., Gülcemal, N., & Tonguç, F. (2022). Seed, germination, and seed-reserve traits differ along an altitudinal gradient. *Journal of Forestry Research*, 33(6), 1903-1912. <https://doi.org/10.1007/s11676-022-01467-4>
- Torres, M., & Frutos, G. (1989). Analysis of germination curves of aged fennel seeds by mathematical models. *Environmental and Experimental Botany*, 29(3), 409-415. [https://doi.org/10.1016/0098-8472\(89\)90016-6](https://doi.org/10.1016/0098-8472(89)90016-6)
- Uslu, S. (1958). Researches on anthropogenic characteristics of inner Anatolian steppes. *Istanbul University Faculty of Forestry*, 8, 138-178.
- Ürgenç, S. (1986). *Afforestation Techniques*. Istanbul University Publication of Forestry Faculty.
- Ürgenç, S. (1998). *Techniques of Afforestation*. İstanbul University Faculty of Forestry Emek Press.

- Valleriani, A., & Tielbörger, K. (2006). Effect of age on germination of dormant seeds. *Theoretical Population Biology*, 70(1), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.tpb.2006.02.003>
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151(1), 59-66. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1)
- Velioğlu, E., Tolun, A. A., Çengel, B., & Kaya, Z. (1998). Isoenzyme variation in natural black pine (*Pinus nigra* Arnold subsp. *pallasiana*) populations in Bolkar mountains. OATIAM Technical Bulletin No. 2, Ankara, Turkey.
- Vishwanath, K., Prasanna, K. P. R., Gowda, R. A. M. E., Prasad, S. R., Narayanaswamy, S., & Pallavi, H. M. (2007). Influence of accelerated ageing on total soluble seed protein profiles of tomato. *Seed Research*, 35(2), 194.
- Wahid, N., & Bounoua, L. (2013). The relationship between seed weight, germination and biochemical reserves of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) in Morocco. *New Forests*, 44, 385–397. <https://doi.org/10.1007/s11056-012-9348-2>
- Walters, C. (1998). Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. *Seed Science Research*, 8(2), 223-244.
- Wang, L. J., Zhang, P., Wang, R. N., Pu, W., & Huang, S. B. (2018). Effects of variety and chemical regulators on cold tolerance during maize germination. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(12), 2662-2669. <https://doi.org/10.1017/S096025850000413X>
- Wojtyła, L., Lechowska, K., Kubala, S., & Garnczarska, M. (2016). Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination. *Frontiers in Plant Science*, 7, 66.
- Wolff, R. L., & Bayard, C. C., (1995). Fatty acid composition of some pine seed oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 72(9), 1043-1046. <https://doi.org/10.1007/BF02660719>
- Wu, L., Hallgren, S. W., Huang, Y., Ferris, D. M., Baker, G., Pan, Y., Convey, K. E., & Tauer, C. G. (2003). Storage protein mobilization and thiol protease up-regulation by solid matrix priming in loblolly pine (*Pinus taeda*) seed embryos. *Seed Science and Technology*, 31(3), 667-680. <https://doi.org/10.15258/sst.2003.31.3.16>
- Xiao, L., Cheng, J., & Liu, J. (2011). Influences of two chemical treatments on the germination ability and the vigor of aging mulberry seeds. *Seed*, 30(10), 8-11.
- Xu, M. J., Dong, J. F., & Zhu, M. Y. (2005). Effects of germination conditions on ascorbic acid level and yield of soybean sprouts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(6), 943-947.

- Xu, Y., Cai, N., He, B., Zhang, R., Zhao, W., Mao, J., Li, Y., & Woeste, K. (2015). Germination and early seedling growth of *Pinus densata* Mast. provenances. *Journal of Forestry Research*, 27(2), 283-294.
- Yan, H. F., Mao, P. S., Sun, Y., & Li, M. L. (2016). Impacts of ascorbic acid on germination, antioxidant enzymes and ultrastructure of embryo cells of aged *Elymus sibiricus* seeds with different moisture contents. *International Journal of Agriculture Biology*, 18, 176-183. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0092>
- Yazdanpanah, S., Baghizadeh, A., & Abbassi, F. (2011). The interaction between drought stress and salicylic and ascorbic acids on some biochemical characteristics of *Satureja hortensis*. *African Journal of Agricultural Research*, 6(4), 798-807.
- Yılmaz, M., Kaplan, A., & Vermez, Y. (2013). Kızılçam (*Pinus brutia* Ten.)'ın üç uç popülasyonunait bazı tohum özellikleri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 16(1), 55-61.
- Yılmaz, M., Tonguç, F., & Ok, T. (2014). Storage effects of *Fraxinus ornus* subsp. *cilicica* seeds on seed viability and germination, an endemic tree in Turkey. *Turkish Journal of Forestry*, 15(1), 15-20.

ÖZGEÇMİŞ

