ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TRAFİK KİRLİLİĞİNİN *Betula pendula* ROTH. (HUŞ AĞACI) AĞAÇLARINDA ALERJİK POLEN İÇERİĞİ VE YAPRAK ANATOMİSİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Ece Özge YILMAZ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2026

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TRAFİK KİRLİLİĞİNİN *Betula pendula* ROTH. (HUŞ AĞACI) AĞAÇLARINDA ALERJİK POLEN İÇERİĞİ VE YAPRAK ANATOMİSİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Ece Özge YILMAZ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Aydan ACAR ŞAHİN

Bu tez çalışmasında, trafik kaynaklı hava kirliliğinin *Betula pendula* Roth. (Huş ağacı) polenlerinin alerjenik özellikleri ve yaprak anatomik yapısı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Araştırma kapsamında, Ankara ilinde trafik yoğunluğunun yüksek olduğu 13 kirli lokasyon ile trafik yoğunluğunun düşük olduğu 3 temiz/yarı temiz lokasyondan (Tunceli ve Bingöl) polen ve yaprak örnekleri toplanmıştır. Morfolojik analizler ışık mikroskobu (LM) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile gerçekleştirilmiş. Yaprak anatomisi kriyotom ile alınan enine kesitler üzerinden değerlendirilmiştir. Polenlerin biyokimyasal özellikleri FT-IR spektroskopisi, protein profilleri SDS-PAGE ve majör alerjen Bet v 1 düzeyleri ELISA yöntemi ile belirlenmiştir. Çevresel veriler, Ulusal Hava Kalitesi İzleme Ağı'ndan temin edilen Ocak–Mayıs 2025 dönemi parametreleri ile desteklenmiştir. Elde edilen bulgular, kirli bölgelerden toplanan polenlerin polar ve ekvatoral eksen uzunlukları ile ekzin–intin duvar kalınlıklarının temiz bölgelere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığını göstermiştir. SEM analizleri, kirli alanlardaki polen yüzeylerinin yoğun partikül madde ile kaplandığını ortaya koymuştur. Yaprak anatomisi incelemelerinde kütikula ve üst epidermis kalınlığında artış gözlenmiştir. FT-IR analizleri, özellikle Amid I /Amid II oranlarında belirgin değişimler olduğunu göstermiştir. ELISA sonuçları, kirli bölgelerde Bet v 1 alerjen düzeylerinin daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Sonuç olarak, trafik kaynaklı hava kirliliğinin *Betula pendula*'da morfolojik, anatomik ve biyokimyasal düzeyde önemli etkiler oluşturduğu belirlenmiştir.

Ocak 2026, 149 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Betula pendula,* Bet v 1, ELISA, FT-IR, Polen, Yaprak

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECTS OF TRAFFIC POLLUTION ON ALLERGIC POLLEN CONTENT AND LEAF ANATOMY *Betula pendula* in ROTH. (SILVER BIRCH) TREES

Ece Özge YILMAZ

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Biology

Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Aydan ACAR ŞAHİN

In this thesis, the effects of traffic-related air pollution on the allergenic properties of *Betula pendula* Roth. (Birch) pollen and leaf anatomical structure were investigated. Within the scope of the study, pollen and leaf samples were collected from 13 polluted locations with high traffic density in Ankara Province and from 3 clean/semi-clean locations with low traffic density (Tunceli and Bingöl). Morphological analyses were carried out using light microscopy (LM) and scanning electron microscopy (SEM). Leaf anatomy was evaluated based on transverse sections obtained using a cryotome. The biochemical characteristics of pollen were determined by FT-IR spectroscopy, protein profiles by SDS-PAGE, and major allergen Bet v 1 levels by ELISA. Environmental data were supported by air quality parameters obtained from the National Air Quality Monitoring Network for the period January–May 2025.The results showed that pollen collected from polluted areas exhibited statistically significant increases in polar and equatorial axis lengths, as well as in exine–intine wall thicknesses, compared to samples from clean areas. SEM analyses revealed that pollen surfaces from polluted sites were heavily covered with particulate matter. Leaf anatomical examinations demonstrated increased cuticle and upper epidermis thickness. FT-IR analyses indicated pronounced changes, particularly in the Amide I /Amide II ratios. ELISA results showed higher Bet v 1 allergen levels in pollen from polluted regions. In conclusion, traffic-related air pollution induces significant morphological, anatomical, and biochemical alterations in *Betula pendula*.

January 2026, 149 pages

Keywords: *Betula pendula*, Bet v 1, ELISA, FT-IR, Pollen, Leaf

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının başlangıcından tamamlanmasına kadar geçen süreçte, akademik birikimi, kıymetli yönlendirmeleri ve sabırlı rehberliği ile çalışmama yön veren, her ihtiyaç duyduğumda desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Aydan ACAR ŞAHİN'e en derin şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım süresince engin bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim Sayın Prof. Dr. Nur Münevver PINAR'a; akademik süreçteki çözümleyici yaklaşımı, her daim motive edici desteği ve sağladığı katkılar için Sayın Doç. Dr. Şenol ALAN ve Uzman Biyolog Tuğba SARIŞAHİN'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Palinoloji Laboratuvarı'ndaki çalışmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm doktora Öğrencisi Resul DUMAN'a ve Koray GÜNEY'e ayrıca analiz süreçlerindeki katkılarından dolayı Bülent Ecevit Üniversitesi Aeroalerjen Laboratuvarı ve Ankara Üniversitesi Palinoloji laboratuvarı çalışanlarına içtenlikle teşekkür ederim.

Bingöl numunelerinin temininde verdikleri destekten dolayı Dr. Öğr. Üyesi Deniz CANLI'ya, Tunceli örneklerinin temininde sağladıkları katkılar nedeniyle Ovacık Orman Şefliği'ne ve Necdet TUT'a teşekkür ederim.

Yıllara dayanan dostluklarıyla, sadece bu akademik yolculukta değil hayatımın her anında yanımda olan, paylaştığımız her anı güzelleştiren ve destekleriyle bu süreci kolaylaştıran değerli arkadaşlarım Elif KIZILATEŞ ve Ceyda ŞENGEL'e gönülden teşekkür ederim.

Akademik çalışmalarım süresince karşılaştığım her türlü güçlükte, bitmek bilmeyen sabrı ve bana olan güveniyle motivasyonumu daima yüksek tutan, bu süreci kolaylaştıran Şerefcan KARABIYIK'a teşekkürlerimi sunarım.

Yetişmemde ve bugünlere gelmemde hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, sadece bu tez sürecinde değil hayatımın her evresinde bana rehberlik eden annem Zülfiye YILMAZ'a ve babam Ali YILMAZ'a; moral ve motivasyonumun düştüğü anlarda elinden gelenin fazlasını yaparak beni yeniden ayağa kaldıran sevgili abim Umut YILMAZ'a tüm kalbimle teşekkür ederim.

Bu tez çalışması FBA-2024-3592 nolu "Trafik kirliliğine maruz kalmış *Betula pendula* Huş ağaçlarının alerjik polen içeriği ve yaprak anatomilerinin karşılaştırılması"adlı BAP-genel araştırma projesi ile desteklenmiştir.

Ece Özge YILMAZ
Ankara, Ocak 2026

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI
ETİK ..... **i**
ÖZET ..... **ii**
ABSTRACT ..... **iii**
TEŞEKKÜR ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **viii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **xii**
1. GİRİŞ **1**
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ **4**
2.1 *Betula pendula* Ağacının Genel Özellikleri ve Ekolojik İstekleri **4**
2.2 *Betula pendula* Poleninin Alerjen Etkisi ve Hava Kirliliği ile İlişkisi **4**
2.2.1 Hava kirleticileri **5**
2.3 *Betula pendula* Polen Morfoloji Üzerine Yapılan Çalışmalar **9**
2.4 *Betula pendula* Poleninde Yer Alan Alerjenlerin Belirlenmesi **13**
2.5 Hava Kirliliğinin *Betula pendula* Polen Alerjenleri Üzerindeki Etkisi **16**
2.6 Hava Kirliliğinin Yaprak Anatomisi ve Morfolojisi Üzerine Etkileri **20**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **23**
3.1 Örneklerin Toplanması **23**
3.2 Mikromorfolojik Analizler **25**
3.2.1 Toplanan polen ve yaprak örneklerinin preparatlarının hazırlanması ve Işık mikroskobunda ölçülmesi **25**
3.2.2 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) çalışmaları **26**
3.2.3 Polenlerin ışık mikroskobunda (LM) ölçülmesi **27**
3.3 Anatomik Analizler **27**
3.4 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) **28**
3.4.1 Bant aralıklarının tanımlanması **29**
3.4.2 Spektral ön-işleme ve nicel analiz **29**
3.4.3 Amid I dekonvolüsyonu ve ikincil yapı analizi **30**
3.4.4 Gruplama ve istatistiksel değerlendirme **30**
3.5 Protein Temelli Çalışmalar **31**
3.5.1 Total protein miktarının belirlenmesi **31**
3.5.2 Sodyum dodesilsülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) **33**
3.6 ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) **36**
3.7 Hava Kalitesi Verilerinin Temini ve Değerlendirilmesi **40**
3.8 Veri analizi ve İstatiksel Değerlendirme **41**
4. ARAŞTIRMA BULGULARI **43**
4.1 *Betula pendula* Polen Morfolojisi Analiz Sonuçları **43**
4.1.1 Polenlerin ışık mikroskobu (LM) ile analizi **43**
4.1.2 *Betula pendula* polenlerinin SEM analiz sonuçları **50**
4.2 *Betula pendula* Yapraklarında Anatomik Mikromorfolojik Analiz Sonuçları **55**
4.2.1 Yaprak dokularının anatomik analizine dair sonuçlar **55**
4.2.2 Yaprak dokularının mikromorfolojik analizine dair sonuçlar **73**
4.3 FT-IR Spektral Analiz Sonuçları **81**

4.4 Protein Profillerinin İncelenmesi 96
4.4.1 Total protein miktarlarının belirlenmesi 96
4.4.2 SDS-PAGE ile protein profil analizi 97
4.5 Bet v 1 Alerjen Konsantrasyonunun Karşılaştırılması 101
4.6 Örnekleme Alanlarına Ait Hava Kalitesi Bulguları 105
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 117
KAYNAKLAR 138
ÖZGEÇMİŞ 148

SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrat derece
CO_2	Karbondioksit
Knox	Azot oksitler
SOx	Kükürt oksitler
NO_2	Azot dioksit
PM	Partikül madde
cm	Santimetre
O_3	Ozon
NO	Azot monoksit
OH	Hidroksil radikali
ppm	Milyonda bir
ppb	Milyarda bir
M	Molar (mol/L)
CH_2	Metilen grubu
OH	Hidroksil grubu

Kısaltmalar

PR-10	Patogenezle İlişkili Protein 10
SDS-PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat–Poliakrilamid Jel Elektroforezi
ELISA	Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analiz
LM	Işık Mikroskobu
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
SPP	Subpolen Partikülleri
CPC	Yoğunlaşma Parçacık Sayacı
TAA	Toplam Antioksidan Aktivite
PCP	Polen Sitoplazmik Proteinleri
TEM	Geçirmeli Elektron Mikroskobu
FT-RAMAN	Fourier Dönüşümlü Raman Spektroskopisi
PBS	Fosfat Tamponlu Salin
VOC	Uçucu organik bileşikler (Volatile Organic Compounds)
P	Polar eksen
E	Ekzin kalınlığı
Plt	Por genişliği
Plg	Por uzunluğu
HKİ	Hava Kalitesi İndeksi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 *Betula pendula* polen ve yaprak örneklerinin toplandığı lokalitelere ait Google Earth uydu görüntüleri Sarı işaretler örnekleme noktalarını göstermektedir. 24

Şekil 3.2 Bruker marka LUMOS II model cihazı 31

Şekil 3.3 K-Lab Optızen spektrofotometre cihazı 32

Şekil 3.4 SDS-PAGE analizinde kullanılan jel döküm aşamasına ait ekipmanlar 33

Şekil 3.5 Dört parametreli lojistik eğri 39

Şekil 3.6 Ulusal hava kalitesi izleme ağı 41

Şekil 4.1 Temiz ve kirli bölgeden toplanan polen fotoğrafları 45

Şekil 4.2 *Betula pendula* polenlerine ait 1–16 numaralı örneklerin polar eksen uzunluklarının kutu-grafik (boxplot) dağılımı 45

Şekil 4.3 *Betula pendula* polenlerine ait 1–16 numaralı örneklerin ekvatoral eksen uzunluklarının kutu-grafik (boxplot) dağılımı 45

Şekil 4.4 *Betula pendula* polenlerine ait 1–16 numaralı örneklerin ekzin kalınlıklarının kutu-grafik (boxplot) dağılımı 46

Şekil 4.5 *Betula pendula* polenlerine ait 1–16 numaralı örneklerin intin kalınlıklarının kutu-grafik (boxplot) dağılımı 46

Şekil 4.6 *Betula pendula* polenlerine ait 1–16 numaralı örneklerin por genişliklerinin kutu-grafik (boxplot) dağılımı 46

Şekil 4.7 *Betula pendula* polenlerine ait 1–16 numaralı örneklerin por uzunluklarının kutu-grafik (boxplot) dağılımı 47

Şekil 4.8 *Betula pendula* polenlerine ait 1–16 numaralı örneklerin onkus derinliklerinin kutu-grafik (boxplot) dağılımı 47

Şekil 4.9 *Betula pendula* (1-4 nolu örnekler) polenlerinin SEM analizi 51

Şekil 4.10 *Betula pendula* (5-9 nolu örnekler) polenlerinin SEM analizi 52

Şekil 4.11 *Betula pendula* (9-12 nolu örnekler) polenlerinin SEM analizi 53

Şekil 4.12 *Betula pendula* (13-16 nolu örnekler) polenlerinin SEM analizi 54

Şekil 4.13 *Betula pendula* (1-4 nolu örnekler) enine kesitlerinin ışık mikroskobu (LM) yaprak analizleri 56

Şekil 4.14 *Betula pendula* (5-8 nolu örnekler) enine kesitlerinin ışık mikroskobu (LM) yaprak analizleri 57

Şekil 4.15 *Betula pendula* (9-12 nolu örnekler) enine kesitlerinin ışık mikroskobu (LM) yaprak analizleri 58

Şekil 4.16 *Betula pendula* (13-16 nolu örnekler) enine kesitlerinin ışık mikroskobu (LM) yaprak analizleri 59

Şekil 4.17 *Betula pendula* yaprak anatomik parametrelerinin 16 lokasyondaki dağılımlarının kutu (Boxplot) grafikleri 64
Şekil 4.18 Çalışma alanındaki 16 lokasyonda ölçülen stoma eni değerlerinin dağılımı 66
Şekil 4.19 Çalışma alanındaki 16 lokasyonda ölçülen stoma boyu değerlerinin dağılımı 67
Şekil 4.20 Çalışma alanındaki 16 lokasyonda ölçülen salgı hücresi çapı değerlerinin dağılımı 67
Şekil 4.21 *Betula pendula* (1-4 nolu örnekler) polenlerinin ışık mikroskobu (LM) yaprak analizleri, yaprak yüzeyinde yer alan kirlilikler okla gösterilmiştir. 69
Şekil 4.22 *Betula pendula* (5-8 nolu örnekler) polenlerinin ışık mikroskobu (LM) yaprak analizleri, yaprak yüzeyinde yer alan kirlilikler okla gösterilmiştir. 70
Şekil 4.23 *Betula pendula* (9-12 nolu örnekler) polenlerinin ışık mikroskobu (LM) yaprak analizleri, yaprak yüzeyinde yer alan kirlilikler okla gösterilmiştir. 71
Şekil 4.24 *Betula pendula* (13-16 nolu örnekler) polenlerinin ışık mikroskobu (LM) yaprak analizleri yaprak yüzeyinde yer alan kirlilikler okla gösterilmiştir. 72
Şekil 4.25 *Betula pendula* (1-4 nolu örnekler) yaprak alt yüzeyinin SEM analizi 73
Şekil 4.26 *Betula pendula* (5-8 nolu örnekler) yaprak alt yüzeyinin SEM analizi 74
Şekil 4.27 *Betula pendula* (9-12 nolu örnekler) yaprak alt yüzeyinin SEM analizi 75
Şekil 4.28 *Betula pendula* (13-16 nolu örnekler) yaprak alt yüzeyinin SEM analizi 76
Şekil 4.29 *Betula pendula* (1-4 nolu örnekler) yaprak üst yüzeyinin SEM analizi 77
Şekil 4.30 *Betula pendula* (5-8 nolu örnekler) yaprak üst yüzeyinin SEM analizi 78
Şekil 4.31 *Betula pendula* (9-12 nolu örnekler) yaprak üst yüzeyinin SEM analizi 79
Şekil 4.32 *Betula pendula* (13-16 nolu örnekler) yaprak üst yüzeyinin SEM analizi 80
Şekil 4.33 *Betula pendula* poleni örneklerine ait FT-IR spektrumlarının 4000–400 cm^{-1} dalga sayısı aralığında genel görünümü 81
Şekil 4.34 *Betula pendula* poleni örneklerine ait FT-IR ikinci türev spektrumlarının karşılaştırılması 82
Şekil 4.35 Kontrol grubuna (*Betula* 12–13–14) göre hesaplanan spektral metriklerin yüzde farklarını gösteren ısı haritası 85
Şekil 4.36 *Betula* poleni örneklerine ait FT-IR spektrumlarının O–H bölgesinde (3600–3200 cm^{-1}) yakınlaştırılmış görünümü 87
Şekil 4.37 *Betula* poleni örneklerinde O–H bandı alanlarının (3600–3200 cm^{-1}) grup ortalaması ± standart sapma değerleri 88

Şekil 4.38 *Betula* poleni örneklerine ait FT-IR spektrumlarının C-H (CH_2) bölgesinde (3000–2800 cm^{-1}) yakınlaştırılmış görünümü 89

Şekil 4.39 *Betula* poleni örneklerinde C–H bandı alanlarının (3000–2800 cm^{-1}) grup ortalaması ± standart sapma değerleri 89

Şekil 4.40 *Betula* poleni örneklerine ait FT-IR spektrumlarının Amid I–II bölgesinde (1750–1450 cm^{-1}) yakınlaştırılmış görünümü 90

Şekil 4.41 *Betula* poleni örneklerinde Amid I / Amid II alan oranlarının grup ortalaması ± standart sapma değerleri 91

Şekil 4.42 Kontrol grubuna (*Betula* 12–13–14) göre Amid I/Amid II alan oranındaki sapmaların örnek bazında gösterimi 93

Şekil 4.43 *Betula* poleni örneklerinde Amid I bölgesinin (1700–1600 cm^{-1}) üç bileşenli Gauss modeli ile dekonvolüsyonu 95

Şekil 4.44 *Betula* 7 örneği ile kontrol grubunu oluşturan *Betula* 12–13–14 örneklerinin FT-IR ikinci türev spektrumlarının karşılaştırılması 96

Şekil 4.45 Birinci SDS-PAGE jel görüntüsü 98

Şekil 4.46 İkinci SDS-PAGE jel görüntüsü 98

Şekil 4.47 SDS-PAGE jellerinde belirlenen protein bantlarının moleküler ağırlık değerlerine dayalı hiyerarşik kümeleme dendrogramı 101

Şekil 4.48 ELISA plak yerleşimi 102

Şekil 4.49 *Betula* 1–16 polen örneklerinde Bet v 1 (µg/g polen) düzeylerinin, örneklerin ortalama Bet v 1 değerine göre küçükten büyüğe sıralanmış kutu grafiği 103

Şekil 4.50 Kirli ve temiz bölgeden toplanan huş poleni örneklerinde Bet v 1 (µg/g polen) düzeylerinin kutu grafiği ile karşılaştırılması (“Kirli bölge” kategorisi *Betula* 1–11, *Betula* 15 ve *Betula* 16; “Temiz bölge” kategorisi ise *Betula* 12, *Betula* 13 ve *Betula* 14) 104

Şekil 4.51 Tunceli ilinde yer alan örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafiği (Ocak–Mayıs 2025) 110

Şekil 4.52 Bingöl ilinde yer alan örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafiği (Ocak–Mayıs 2025) 110

Şekil 4.53 Ankara ili, Sıhhiye örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafik (Ocak–Mayıs 2025) 111

Şekil 4.54 Ankara ili, Etimesgut örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafik (Ocak–Mayıs 2025) 111

Şekil 4.55 Ankara ili, Batıkent örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafik (Ocak–Mayıs 2025) 112

Şekil 4.56 Ankara ili, Ostim örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafik (Ocak–Mayıs 2025) 112

Şekil 4.57 Ankara ili, Bahçelievler örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafik (Ocak–Mayıs 2025) 113

Şekil 4.58 Ankara ili, Çankaya örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafik (Ocak–Mayıs 2025) 113

Şekil 4.59 Ankara ili, Ulus örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafik (Ocak–Mayıs 2025) 114

Şekil 4.60 PM_{10}, SO_2, NO, NO_X kirlilik parametrelerinin 5 aylık ortalamalarının istasyon bazlı karşılaştırılması 115

Şekil 4.61 NO_2, CO, $PM_{2.5}$ kirlilik parametrelerinin 5 aylık ortalamalarının istasyon bazlı karşılaştırılması 116

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Toplanan *Betula pendula* polen ve yaprak örneklerinin lokalite bilgileri ... 23
Çizelge 3.2 Ekstraksiyon için kullanılan PBS tamponun hazırlanışı ... 31
Çizelge 3.3 SDS-PAGE analizinde kullanılan çözelti ve tamponların bileşimi ... 34
Çizelge 3.4 SDS-PAGE analizinde kullanılan %14 ayırma jeli ve %4 yığma jelinin bileşimi ... 35
Çizelge 3.5 ELISA analizinde kullanılan yıkama tamponu, assay tamponu ve standart tamponunun hazırlanışı ... 36
Çizelge 4.1 16 farklı lokasyondan elde edilen *Betula pendula* polenlerinin ışık mikroskobunda ölçülen parametreleri ... 44
Çizelge 4.2 Polar eksen uzunluğu ile ilgili öne çıkan anlamlı farklılıklar ... 48
Çizelge 4.3 Ekvatoral eksen uzunluğu ile ilgili öne çıkan anlamlı farklılıklar ... 48
Çizelge 4.4 Ekzin kalınlığı ile ilgili öne çıkan anlamlı farklılıklar ... 48
Çizelge 4.5 İntin kalınlığı ile ilgili öne çıkan anlamlı farklılıklar ... 49
Çizelge 4.6 Por uzunluğu ile ilgili öne çıkan anlamlı farklılıklar ... 49
Çizelge 4.7 Por genişliği ile ilgili öne çıkan anlamlı farklılıklar ... 49
Çizelge 4.8 Onkus derinliği ile ilgili öne çıkan anlamlı farklılıklar ... 49
Çizelge 4.9 Morfolojik farklılıkların genel olarak karşılaştırılması ... 50
Çizelge 4.10 Yaprak anatomisinde ölçülen karakterlerin ortalama ve standart sapma değerleri ... 60
Çizelge 4.11 *Betula pendula* yaprak anatomik parametrelerinin 16 lokasyonda tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile karşılaştırılması ... 61
Çizelge 4.12 Çalışma alanındaki 16 lokasyon için ölçülen stoma eni, stoma boyu ve salgı hücresi çapı değerlerinin ortalama ± standart sapma (Ort ± SS) şeklinde özetlenmesi ... 65
Çizelge 4.13 Lokasyonlar arasında stoma eni, stoma boyu ve salgı hücresi çapı bakımından fark olup olmadığını değerlendirmek amacıyla yapılan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları ... 66
Çizelge 4.14 Çalışma alanında 16 lokasyonda ölçülen, ortalama stoma sayısı, ortalama epidermis sayısı ve stoma indeksi değerleri ... 68
Çizelge 4.15 *Betula pendula* poleni örneklerine ait O–H (3600–3200 cm^{-1}) ve CH_2 (3000–2800 cm^{-1}) bölgeleri için hesaplanan spektral metrikler ... 83
Çizelge 4.16 Kontrol grubuna (*Betula* 12–13–14) göre hesaplanan O–H, CH_2, Amid I ve Amid II bant alanları ile Amid I/Amid II alan oranlarının yüzde farkları ... 84

Çizelge 4.17 *Betula pendula* poleninin örneklerine ait O–H, CH_2, Amid I ve Amid II bölgeleri için FT-IR temelli spektral alan metrikleri ve Amid I/Amid II alan oranları 86

Çizelge 4.18 Amid I (1700–1600 cm^{-1}) bölgesinin üç bileşenli Gauss modeli ile dekonvolüsyonu sonucu elde edilen ikincil yapı yüzdeleri (β-sheet, α-heliks, turn/coil) 94

Çizelge 4.19 Nanodrop ve Bradford ölçülen Proteinlerin absorbans değerleri 97

Çizelge 4.20 *Betula* 1-4 numaralı örneklerin SDS-PAGE analizinde protein bantları ... 99

Çizelge 4.21 *Betula* 5-8 numaralı örneklerin SDS-PAGE analizinde protein bantlarının moleküler ağırlıkları 99

Çizelge 4.22 *Betula* 9-12 numaralı örneklerin SDS-PAGE analizinde protein bantlarının moleküler ağırlıkları 100

Çizelge 4.23 *Betula* 4-8 numaralı örneklerin SDS-PAGE analizinde protein bantlarının moleküler ağırlıkları 100

Çizelge 4.24 *Betula* 1–16 polen örneklerinde 8× ve 10× seyreltmeli ELISA ölçümlerinden elde edilen tekrarların birleştirilmesiyle hesaplanan ortalama konsantrasyon değerleri 102

Çizelge 4.25 Hava kirliliği parametrelerinin alındığı istasyonlara ait 5 aylık (Ocak-Mayıs) ortalama değerler 107

Çizelge 4.26 İstasyon Bazlı Aylık HKİ (AQI) Isı Haritası (2025-01 - 2025-05) 107

Çizelge 4.27 5 Ay Boyunca HKİ'yi En Çok Belirleyen (Baskın) Kirletici Bilgisi 108

Çizelge 4.28 Hava kalitesi indeksinin istasyonlar arasında değerlendirilmesi 108

Çizelge 4.29 Bitki örneklerinin lokasyonu ve ilgili hava kalitesi istasyonları 109

1. GİRİŞ

Atmosferde 0,5 ile 100 μm aralığında birçok biyolojik partikül bulunmakta olup, bunlar arasında polenler, sporlar, mantar hifleri, algler, protozoa, bitki ve böcek parçacıkları, bakteriler, akarlar, hayvan kılı, epitel tüyleri ve salgısı, hamamböceği ve virüsler gibi hava kaynaklı canlı partiküller yer almaktadır (Bıçakçı vd. 2009). Partiküller arasında polenler ve sporlar en sık karşılaşılan alerjenlerdir. Alerji, genetik yatkınlığı olan bazı kişilerde normal koşullarda zararsız maddelere karşı gösterilen aşırı duyarlılık tepkimesi olarak tanımlanabilir (D'Amato vd. 2007, D'amato ve Cecchi 2008, Ziello vd. 2012, Pınar vd. 2022). Duyarlı kişilerde alerjik reaksiyona ve solunum yolu hastalıklarına sebep olduğundan bu hastalığa "polinosis" adı verilmektedir. Çiçek tozları olarak da bilinen polenler, kaynağını çayır, ağaç, ağaçsı ve otsu taksonlara ait bitkilerin çiçeklerinden elde etmektedir (Güner vd. 2012 ve Pınar vd. 2022).

Betula pendula Roth. ağacının dünyada yayılış alanı; Avrupa, Doğu ve Kuzeydoğu Anadolu, Batı Sibirya, Kafkas Dağları ve İran'ın kuzeyinde kapsamaktadır. Betulaceae familyası dünya genelinde *Alnus* Mill., *Betula* L., *Carpinus* L., *Corylus* L., *Ostrya* Scop. ve *Ostryopsis* Decne. olmak üzere yaklaşık 5 cinsten oluşmakta olup yaklaşık olarak 167 tür içermektedir. Türkiye'deki doğal yayılış alanına bakıldığında volkanik araziler ve Kuzey kesimlerde taban araziler üzerinde geniş ormanlarda yayılış yaptığı görülmektedir (Browicz ve Zielinski 1982, Avcı 2004). Ülkemizde Betulaceae familyasında yer alan *Betula* L. cinsi 5 taksondan (*Betula browiczana* Güner., *Betula litwinowii* Doluch., *Betula medwediewii* Regel., *Betula pendula* Roth., *Betula recurvata* V.N.Vassil.) oluşmaktadır (Güner vd. 2012).

Betula pendula polenlerine maruziyeti alerjik rinit, konjonktivit ve bazı bireylerde astım semptomları gibi çeşitli klinik reaksiyonların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Lavaud vd. 2013). Bu reaksiyonlardan sorumlu başlıca etkenler, patogenezle ilişkili (PR) proteinlerdir. Bitkiler abiyotik ve biyotik streslere karşı savunma mekanizması olarak PR-10 proteinlerinden faydalanmaktadır. *Betula pendula* polenine ait alerjenler PR-10 sınıfına ait proteinlerdir (Sancho vd. 2011). *Betula pendula* poleninde tanımlanmış toplam 7 önemli alerjen protein bulunmaktadır. Bunlar Bet v 1, Bet v 2,

Bet v 3, Bet v 4, Bet v 6, Bet v 7 ve Bet v 8' den oluşmaktadır. Major olarak tanımlanan alerjenler Bet v 1, Bet v 2 ve Bet v 4'tür (Ciprandi vd. 2016). Bu alerjen proteinlerin kimyasal yapısına bakıldığında 153-160 aminoasit kalıntısı içeren antiparalel β-yapraklarından ve üç α-sarmalarında oluşan asidik proteinler olduğu bilinmektedir (Bohle 2007, Schirmer vd. 2005). *Betula pendula* polenine duyarlı olan hastaların %95'inin majör alerjenler arasında bulunan Bet v 1'e yanıt verdiği bildirilmiştir (Kleine-Tebbe vd. 2017). Duyarlı kişilerde bu alerjik reaksiyon kızarıklık, ödem, kaşıntı, astım, konjonktivit ve migren gibi semptom ve hastalıklara neden olmaktadır.

Atmosferik polen alerjenlerine ek olarak, yapılan çalışmalar alerjik rinit ve astım gibi hastalıkların görülme sıklığındaki artış ile alerjik polenlerin atmosferdeki konsantrasyonlarının belirgin şekilde yükselmesi arasında hava kirliliği artışıyla ilişkili bir bağlantı olduğunu ortaya koymaktadır (Beggs ve Bambrick 2005, D'amato ve Cecchi 2008, Reid ve Gamble 2009).

Hava kirliliği, doğal ve antropojenik kökenli farklı bileşenlerin karışımından oluşur ve ortam konsantrasyonları, emisyon kaynakları ile meteorolojik faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterir (Grundström vd. 2015). Günümüzde kentlerde oluşan hava kirliliğinin başlıca kaynağının otomobiller olduğu bilinmektedir (Rebolj ve Sturm 1999). Otomobillerden yayılan egzoz gazları bitkiler için zararlı ve toksik olabilmektedir. Hava kirletici bileşenler özellikle yol kenarlarında bulunan bitkilerin fiziksel ve kimyasal yapısında tespit edilmektedir. Sanayileşmiş kentlerde ve otomobillerin yoğun olduğu bölgelerde atmosfere salınan karbondioksitler (CO_2), azot oksitler (NO_x), kükürt oksitler (SO_x), partikül maddeler (PM) ve hidrokarbonlar gibi hava kirleticiler bitkilerde erken yaşlanma ve yaralanma gibi belirtilere neden olmaktadır (Sukumaran 2014).

Hava kirliliğinin polen alerjenleri üzerinde doğrudan ve dolaylı etkileri birçok çalışmada mevcuttur (Sedghy vd. 2018, Ziemianin vd. 2021, Carlsen vd. 2022). Trafik kaynaklı hava kirleticilerle etkileşim, polenlerin alerjenitesini artırmakta ve bu durum bazı bölgelerde alerjik reaksiyonların daha şiddetli görülmesine katkıda bulunmaktadır (Cortegano vd. 2004 , Suárez-Cervera vd. 2008 , Aina vd. 2010). Trafik kaynaklı hava

kirliliğinin, akut ve kronik solunum yolu hastalıklarının ortaya çıkmasında etkili bir faktör olduğu ortaya konmuştur (Salvi 2007, D'Amato vd. 2010).

Trafik kaynaklı hava kirliliğinin bitkilerin yaprak morfolojisi ve anatomisini etkilediği bilinmektedir. Özellikle stoma ve epidermiste hücre sayılarında azalma ve yaprak alanının küçülmesi gibi değişimler, bitkinin stres koşullarına verdiği bir yanıt olarak değerlendirilmektedir (Abdul-Hameed vd. 2019 ve Saadabi 2011).

Bu tez çalışmasının amacı, trafik kaynaklı hava kirliliğinin düşük olduğu temiz bölgelerden toplanan *Betula pendula* polen ve yaprak örnekleri ile Ankara ilinde park, bahçe ve yol kenarı gibi kentsel alanlarda trafik kirliliğine maruz kalan örnekler üzerinde morfolojik, biyokimyasal ve anatomik incelemeler gerçekleştirmektir. Bu kapsamda, Ankara ilinde trafik kaynaklı hava kirleticilerine maruz kalan yol kenarlarında bulunan *Betula pendula* ağaçlarından 13 kirli lokasyondan ve trafik kirliliğinden uzak, kırsal özellik gösteren 3 temiz lokasyondan polen ve yaprak örnekleri toplanmıştır. Temiz bölgelerden elde edilen örneklerin ikisi trafik kirliliğinden uzak bir alanda bulunan Bingöl Üniversitesi Kampüsü'nden, bir örnek ise Tunceli Gözeler Millî Parkı'ndan temin edilmiştir.

Temiz ve kirli bölgelerden elde edilen, farklı lokasyonlara ait polen örnekleri morfolojik olarak karşılaştırılmıştır. SDS-PAGE yöntemi kullanılarak temiz ve kirli bölgeden elde edilen örnekler arasında total protein profilleri bakımından karşılaştırmalar yapılmıştır. 16 farklı lokasyondan elde edilen polenlerdeki Bet v 1 alerjen düzeyi ELISA yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Polenlerin kimyasal yapısında kirleticilerin neden olduğu değişimler ise Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) analizi ile ortaya konulmuştur. Ayrıca temiz ve kirli lokasyonlardan elde edilen yaprak örnekleri de hem mikromorfolojik olarak SEM analizi ile hem de anatomik olarak ışık mikroskobunda incelenerek kirleticilerin yaprak dokusu üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 *Betula pendula* Ağacının Genel Özellikleri ve Ekolojik İstekleri

Betulaceae familyasında yer alan *Betula pendula,* halk dilinde adi huş, gümüş huş ve sarkık huş olarak bilinmektedir. Türkiye'de doğal olarak yetişen *B. pendula,* Doğu ve Kuzeydoğu Anadolu'da, Nemrut Dağı kraterin içinde, Tunceli (Ovacık, Munzur Vadisi) Artvin (Ardanuç), Erzincan, Erzurum, Muş, Gümüşhane ve Kars şehirlerinde 1.800-3.000 metre yükseklikler arasında yetişmektedir (Yaltırık 1993, Davis vd. 1970, Güner vd. 2000).

Betula pendula, Türkiye'de doğal olarak yetişmekte olup yaprağını döken düzgün gövdeli bir ağaç olarak bilinmektedir. Doğal yayılış alanlarında bu tür yaklaşık 15–30 metreye kadar boylanmakta ve tepe çapı 4–6 metreye kadar ulaşabilmektedir. Gövdesi ince, beyaz renkli bir kabukla kaplıdır. Bu kabuk zamanla yatay şeritler halinde dökülerek yerine koyu renkli sert bir kabuğa bırakmaktadır. Sürgünleri narin yapılı ve sarkık formlu olup üzerinde belirgin reçine bezleri bulunur. Yaprakları 3 ile 7 cm uzunluğunda, sivri uçlu ve kenarları çift sıralı dişlidir, dip kısmı kama şeklinde daralır ve 2 ile 3 cm uzunluğunda bir yaprak sapı taşımaktadır (Yazici ve Gülgün 2015, Anşin vd. 1993).

Betula pendula, genellikle serin ve ılıman iklim koşullarında yetişen, ışık talebi yüksek bir ağaç olarak tanımlanmaktadır. Toprak tercihleri açısından, iyi drene edilmiş, tınlı, kuru veya nemli topraklarda sağlıklı bir gelişim göstermektedir (Güngor vd. 2002).

2.2 *Betula pendula* Poleninin Alerjen Etkisi ve Hava Kirliliği ile İlişkisi

Betula pendula poleninin majör alerjeni tanımlanan Bet v 1 proteini, huş poleni taneleri içerisinde ağırlıklı olarak nişasta granüllerinde ve kısmen de polenin dış katmanlarında yer aldığı belirtilmiştir (El-Ghazaly vd. 1996). Söz konusu protein, bu yapılar aracılığıyla birincil alerjen taşıyıcı parçacıklar olarak tanımlanmaktadır. Polen

tanelerinin parçalanmasıyla ortaya çıkan alt polen parçacıkları (subpollen particles, SPP'ler) ise ikincil alerjen taşıyıcılar olarak kabul edilmektedir.

Yaklaşık 25 µm çapa sahip olan huş poleni tanelerinin, akciğerlerin derin bölgelerine ulaşamayacak kadar büyük olduğu ve bu nedenle üst solunum yollarında tutulduğu tespit edilmiştir. Buna karşılık, çapı 2,5 µm veya daha küçük olan SPP'lerin alt solunum yollarına ulaşabildiği ve bazı durumlarda akciğer bariyerini aşarak dolaşım sistemine karışabildiği görülmüştür (Buters vd. 2010). Alerjik yanıtın şiddetinin ise yalnızca partikül boyutuna değil, aynı zamanda aeroalerjen maruziyetinin süresi ve yoğunluğuna bağlı olarak değişebildiği belirtilmektedir (Ščevková vd. 2023). Bu kapsamda polen partiküllerinin sağlık üzerindeki etkisi yalnızca boyutlarına değil, aynı zamanda çevresel koşullar ve trafik kaynaklı hava kirliliği ile etkileşimlerine de bağlıdır.

2.2.1 Hava kirleticileri

Trafik kaynaklı hava kirliliğinde yer alan bileşenler aşağıda verilmiştir.

Azot oksitler (NO_x): Literatürde azot oksitler (NO_x), azot monoksit (NO) ve azot dioksit (NO_2) için kullanılan ortak bir terim olarak tanımlanmaktadır; çünkü bu iki bileşik, güneş ışığı altında hızla birbirine dönüşebilmektedir (Finlayson-Pitts ve Pitts Jr 1999). NO_x'in başlıca kaynağı, yüksek sıcaklıklarda gerçekleşen fosil yakıtların yanmasıdır. Bu süreçte doğrudan yayılan temel kirletici NO'dur. NO, atmosferde bulunan ozon (O_3) tarafından oksitlenerek NO_2'ye dönüşmektedir. Karayolu trafiğinde fosil yakıtların yanması, kentsel alanlarda NO_x birikimine katkı sağlamaktadır. Kırsal alanlarda ise atmosferdeki azot oksitlerin çoğu NO_2 formundadır (Finlayson-Pitts ve Pitts Jr 1999). UV ışığı etkisi altında NO_2, NO ve atomik oksijen (O) üretmekte ve bu atomik oksijen daha sonra O_3 oluşumuna katılmaktadır.

Azot dioksit (NO_2), solunum yollarında tahriş edici bir gazdır. Epidemiyolojik çalışmalarda NO_2 maruziyetinin, alerjik duyarlılık riskini artırdığı, astım semptomlarını kötüleştirdiği, astım ataklarının sıklığını artırdığı ve çocuklarda astım başlangıcıyla

ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Anenberg vd. 2022, Solanki vd. 2023, Svartengren vd. 2000, Tunnicliffe vd. 1994).

Partikül Madde (PM): Partikül madde (PM), havada asılı bulunan sıvı ve katı parçacıkların bir karışımıdır. Havadaki PM'nin antropojenik kaynaklı ve doğal kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır. Antropojenik kaynaklı; odun yakma, fosil yakıt, egzoz partikülleri ve araç lastiklerinden aşınan parçacıklardır. Doğal kaynaklar, orman yangınları, toprak, çöl tozu ve volkanik patlamalar gibi afetler çıkan parçacılardır (Daellenbach vd. 2020). Partiküller farklı şekil, boyut ve kimyasal bileşimlere sahip olduğundan, genellikle aerodinamik çaplarına göre sınıflandırılmaktadır. PM10, çapı 10 µm'den küçük partikülleri; PM2.5 ise çapı 2,5 µm'den küçük partikülleri ifade eder.

PM düzeyleri ile alerjik hastalıklar arasındaki ilişki, özellikle polen alerjisi ve astım açısından, literatürde kapsamlı biçimde incelenmiştir (Kim vd. 2013, 2015, Schiavoni vd. 2017). Yapılan çalışmalarda, partikül madde yoğunluğunun arttığı günlerde, polinoz vakalarına bağlı hastane yatışlarının arttığını görülmektedir (Phosri vd. 2017). Benzer biçimde, PM maruziyetinin astım semptomlarını şiddetlendirdiği bildirilmiştir (Polosa 2001, Kim vd. 2015). Özellikle dizel egzoz kaynaklı kirleticilerin, alerjik bağışıklık yanıtlarının gelişimini artırdığı görülmektedir (Riedl ve Diaz-Sanchez 2005, Saxon ve Diaz-Sanchez 2005).

PM'nin alerji ve astım üzerindeki etkilerinden biri de polen taneleriyle etkileşim yoluyla gerçekleşmektedir. Partiküller, polen yüzeyine yapışarak "polen–partikül kompleksleri" oluşturabilir (Schiavoni vd. 2017). Bu kompleksler, nemli ortamlarda polen kaynaklı proteinlerin difüzyonunu kolaylaştırarak alerjenlerin taşınabilirliğini artırabilir. Yapılan bir literatür çalışmasında, çayır polenlerinden izole edilen Lol p 1 alerjeninin laboratuvar koşullarında dizel egzoz partiküllerine bağlandığı belirlenmiştir (Knox vd. 1997). Polen yüzeyine yapışan partiküller, protein salınımını uyararak alerjenlerin miktarını artırabilir (Behrendt vd. 1991, 1997). Böylece, partikül–polen etkileşimi, alerjenlerin solunabilir aerosol fraksiyonuna geçişini kolaylaştırarak duyarlı bireylerde alerjik reaksiyonların şiddetlenmesine sebep olmaktadır (Solomon 2002).

Karbonmonoksitler (CO) : Karbon monoksit (CO) emisyonlarının büyük bir kısmı motorlu araç egzozları sonucu oluşmaktadır (Sircar vd. 2015). Geriye kalan emisyonlar; endüstriyel faaliyetler, enerji üretiminde kullanılan kazan sistemleri, katı atıkların yakılması ve benzeri çeşitli antropojenik süreçlerden kaynaklanmaktadır (Raub 2000). Motorlu taşıt egzozlarında CO konsantrasyonu 100.000 ppm'e kadar çıkabilmekte; yoğun trafik koşullarında araç içi CO düzeylerinin 10–12 ppm civarında olduğu rapor edilmiştir (Raub vd. 2000 ve Sircar vd. 2015). Park alanları, tüneller veya kapalı buz pistleri gibi yarı kapalı mekanlarda ise bu değerler çok daha yüksek seviyelere ulaşabilmektedir (Pelham vd. 2002, Sircar vd. 2015).

Kapalı ortamda gözlenen CO kirliliği genellikle tütün ürünlerinin dumanı (sigara, puro, nargile), gazlı ocaklar, ısıtıcılar, kömür ve odun sobaları, jeneratörler ve mangalların uygun olmayan koşullarda kullanımıyla ilişkilidir (CDC 2007, Iqbal vd. 2012a, Raub 1999). Troposferdeki küresel arka plan CO düzeyleri genellikle 50–120 ppb aralığındadır ve bu miktarın yaklaşık %60'ının insan etkinliklerinden kaynaklandığı saptanmıştır (Raub 1999).

Kükürt dioksitler (SO_2): Kükürt dioksit (SO_2), başlıca kükürt oranı yüksek fosil yakıtların yakılması, metal cevherlerinin işlenmesi ve petrol rafinasyon süreçleri sırasında atmosfere salınan önemli bir hava kirleticisidir. Yoğun nüfuslu ve sanayi faaliyetlerinin fazla olduğu bazı kentsel bölgelerde, gaz fazındaki SO_2 konsantrasyonlarının 2000 ppb (2 ppm) düzeylerine kadar yükseldiği bildirilmektedir. Bu seviyelerdeki maruziyetin, özellikle astımı olan bireyler için solunum sistemi açısından ciddi riskler oluşturduğu bilinmektedir. İnsanlarda SO_2'nin koku ile algılanabilme eşiği ortalama 2700 ppb (2,7 ppm) civarında olup, bu değerin bireyler arasında 330–5000 ppb (0,35 ppm) aralığında değişebildiği ifade edilmektedir. Bu durum, sanayi bölgelerinde yaşayan ve solunum yolu rahatsızlığı bulunan bireylerin, zararlı düzeylerde SO_2'ye maruz kaldıklarının farkına varmadan günlük yaşamlarına devam edebilmelerine neden olabilmektedir.

Yüksek konsantrasyonlarda ve kısa süreli SO_2 maruziyeti akciğer ödemi gibi ciddi klinik tablolara yol açabilmekteyken, daha düşük düzeylerdeki kısa süreli

maruziyetlerin [100–500 ppb (0,1–0,5 ppm)] astımlı bireylerde bronşların daralmasına neden olduğu bildirilmiştir. Buna karşılık, astımı olmayan sağlıklı bireylerin 2000 ppb (2 ppm) seviyesine kadar olan akut ve kısa süreli SO_2 maruziyetlerinde genellikle belirgin bir solunum yanıtı göstermediği belirtilmektedir. Ayrıca, SO_2'nin solunum yoluyla alınan alerjenlerin etkisini artırarak solunum yollarında alerjik yanıtları şiddetlendirdiği ve bu durumun özellikle atopik astımı olan bireyler için önemli bir sağlık riski oluşturduğu bilinmektedir (Reno vd. 2015).

Ozon O_3: Ozon (O_3), doğal olarak stratosferde, yerden yaklaşık 15–35 m yükseklikte bulunur ve dünyayı çevreleyerek güneşten gelen zararlı ultraviyole (UV) ışınlarına karşı koruyucu bir tabaka oluşturur. Ozon, oksijen moleküllerinin (O_2) fotodissosiasyonu yoluyla meydana gelir, yüksek enerjili UV ışınımı, O_2 bağını kırarak iki ayrı oksijen atomu (O) oluşturur. Bu oksijen atomları daha sonra oksijen molekülleri ile birleşerek ozon (O_3) moleküllerini meydana getirir (McConnell ve Jin 2008).

Troposferde, yani yer seviyesindeki ozon, ikincil bir hava kirleticisi olarak kabul edilir; doğrudan salınmaz, başka bileşiklerin kimyasal reaksiyonları sonucu oluşur. Yer seviyesindeki ozonun oluşumunda NO_x (NO + NO_2), uçucu organik bileşikler (VOC'ler) ve güneş ışığı etkilidir. Kısa dalga boylu güneş ışığı ($\lambda < 430$ nm), NO_2 molekülünü parçalayarak NO ve serbest oksijen atomları oluşturur; bu atomlar O_2 ile birleşerek O_3 üretir. VOC'lerin rolü karmaşıktır ve VOC türleri ile konsantrasyonları, mevcut NO_x miktarı ve meteorolojik koşullara bağlıdır. Genel olarak, VOC'ler, ozon ve su buharı arasındaki reaksiyonlardan oluşan hidroksil radikalleri (OH) tarafından oksitlenir ve organik radikaller (RO_2) üretir. Bu radikaller, NO ile reaksiyona girerek NO_2 oluşturur. NO_2, güneş ışığının etkisiyle yeniden NO'ya dönüşebilir ve bu NO, O_2 ile birleşerek daha fazla ozon üretir. Bu döngü, mevcut NO_x ve VOC miktarına bağlı olarak ozon üretimini artırabilir (Finlayson-Pitts ve Pitts Jr, 1993).

Ozon, nefes yoluyla alındığında çoğunlukla üst solunum yollarında tutulur ve geri kalan kısmı alt solunum yollarına ulaşır (Gerrity vd. 1995). Ozon, güçlü oksitleyici ve reaktif bir gazdır; nefes darlığı, öksürük gibi solunum semptomlarıyla ilişkilidir ve astımı olan kişilerde solunum semptomlarının kötüleşme riskini artırabilir (D'Amato vd. 2005).

Yapılan çalışmalar, ozon ve NO_2'nin astımı olan bireylerde akciğer epitelyum hücrelerinden proinflamatuvar maddelerin salınımını artırarak hava yolu iltihabını şiddetlendirebileceğini göstermiştir; bu da astımlı kişilerin O_3 ve NO_2 maruziyetine karşı daha hassas olduğunu düşündürmektedir (Bayram vd. 2001).

2.3 *Betula pendula* Polen Morfoloji Üzerine Yapılan Çalışmalar

Betula pendula 'nın polen morfolojisine ilişkin araştırmalar, 20. yüzyılın ortalarından itibaren klasik ışık mikroskobu çalışmalarından günümüzün ileri elektron mikroskop tekniklerine kadar uzanan geniş bir bilimsel çizgi izlemiştir.

Yurt dışında gerçekleştirilen çalışmalar : Erdtman (1953) Pollen Morphology and Plant Taxonomy – Angiosperms adlı kitabında *Betula*ceae familyasına ait 6 cinsin polenlerinin morfolojik tanımlamalarını yapmıştır. Erdtman kitabında Betulaceae familyasında yer alan eski ismi *Betula verrucosa* olan *Betula pendula* 'nın polenlerinin apertür tipi, ekzin yapısı ve ornamentasyon türlerini ışık mikroskobu ile sınıflandırmıştır.

Grote (1989) tarafından yürütülen çalışmada, eski adı *Betula verrucosa* olan *Betula pendula* 'nın polen ekzininin yapısı ile çözünür yüzey bileşenlerinin korunma durumu, farklı fiksasyon teknikleri kullanılarak karşılaştırmalı olarak araştırmıştır. Taramalı ve geçirimli elektron mikroskoplarıyla gerçekleştirilen incelemelerde; glutaraldehit–osmium tetroksit, glutaraldehit + setilpiridinyum klorür (CPC), glutaraldehit + kuprolinik mavisi (CB) ve periyodat–lizin–paraformaldehit (PLP) fiksatiflerin etkileri değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda, CPC ilavesiyle yapılan fiksasyonun polen yüzeyinde lamelli bir kaplama tabakası oluşturarak çözünür protein ve glikoproteinlerin kaybını önlediği buna karşılık, klasik sulu fiksasyonların mikrokanal ve bakula boşluklarındaki elektron yoğun materyalin kaybolmasına neden olduğunu belirlemiştir. Araştırma, çözünür yüzey bileşenlerinin korunması açısından CPC katkılı yöntemin en uygun sabitleme tekniği olduğunu ortaya koyarak, polen duvarının yapısal ve biyokimyasal incelenmelerinde kullanılabilecek güvenilir bir yöntem önermiştir.

Chen (1991) tarafından yapılan çalışmada Betulaceae (Huşgiller) familyasına ait altı cins ve 36 türün polen morfolojisini ışık mikroskobu (LM), taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanarak incelemiştir. Çalışmada familyayı üç polen tipine (*Betula, Corylus* ve *Carpinus*) ayırmaktadır. *Betula* cinsine ait polenlerin çoğunlukla 3 porlu, suboblat veya sferoidal formda olduğu; ekzin yapısının dört katmanlı olduğunu belirlemiştir. Bulgular, Betulaceae'nin iki ayrı familya olarak değil, üç tribüs şeklinde sınıflandırılmasının daha uygun olduğunu göstermiştir.

Atkinson (1992) yaptığı çalışmada, Britanya adalarında doğal yayılış gösteren *Betula pendula* ve *B. pubescens* türlerinin morfolojik, ekolojik ve genetik özelliklerini değerlendirmiştir. *B. pendula* (2n=28) güney ve doğuda, daha kuru ve hafif topraklarda daha yaygın olduğunu görmüştür. *B. pubescens* (2n=56) ise kuzey ve batıda, daha nemli topraklarda daha baskın olduğu görülmüştür. Polen çapının iyi bir ayırt edici özellik olduğunu belirtmiştir (*B. pendula* 18,5-21,5 μm; *B. pubescens* 22-23,5 μm). Bu çalışmada yaprak, tomurcuk, kabuk ve meyve özellikleri karşılaştırılmış; yaprak şekli ve tüylenme miktarı tür ayrımında en güvenilir karakterler arasında gösterilmiştir. Ayrıca yaprak morfolojisine ilişkin biyometrik ölçümler (lamina genişliği, diş sayısı, petiol uzunluğu) ile polen çapı ve stoma uzunluğu gibi mikroskobik parametrelerin tür ayrımında kullanılabileceği ortaya konulmuştur.

El-Ghazaly vd. (1995), *Betula pendula* anterlerinde bulunan orbiküllerin (Ubisch cisimcikleri) morfolojik ve yapısal özelliklerini, ayrıca olası alerjenik rollerini taramalı (SEM) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanarak incelemişlerdir. Çalışmada orbiküllerin 2–4 μm çapında, küresel veya düzensiz şekilli yapılar olduğu, duvarlarının kalın ve homojen, yüzeylerinin ise ince çıkıntılarla kaplı olduğu belirlenmiştir. Fosfotungstik asit ile yapılan protein boyamaları sonucunda, proteinlerin özellikle polen apertürü, ekzin-intin arası ince tabaka ve orbikül yüzeyi boyunca yoğunlaştığı saptanmıştır. Nitroselüloz membran testleri, orbiküllerin de polenler gibi alerjenik özellik gösterebildiği görülmüştür. Araştırmacılar, orbiküllerin küçük boyutları nedeniyle bronşiyollere ulaşarak solunum yolu alerjilerine ve astmatik tepkilere neden olabileceğini vurgulamışlardır. Bu çalışma, *Betula pendula* polenine ek olarak

orbiküllerin de hava kaynaklı alerjenler arasında değerlendirilebileceğini ilk kez ortaya koyması bakımından önem taşımaktadır.

Mäkelä (1996) tarafından yapılan bu derleme çalışmasında, *Betula* türlerine ait polenlerin boyut farklılıkları ve bu farklılıkların tür teşhisindeki önemi incelemiştir. Finlandiya'da yayılış gösteren *Betula pendula, B. pubescens, B. nana* L. ve *B. tortuosa* Ledeb. türlerinin polen çapları karşılaştırılmış, polen büyüklüğünün sadece morfolojik özelliklere değil, aynı zamanda çevresel koşullara ve laboratuvar işlemlerine de bağlı olduğu belirtilmiştir. Çalışmada, polen boyut dağılımlarının istatistiksel yöntemlerle analiz edilmesinin morfolojik olarak benzer türlerin ayrımında etkili bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır. Bulgular, *Betula pendula* polenlerinin genellikle orta büyüklükte ve karakteristik ölçü aralıklarına sahip olduğunu göstermiştir.

Krizo ve Milan (1997) tarafından gerçekleştirilen bu çalışmada, *Betula pendula* polenlerinin olgunlaşma süreci boyunca polen tanesi boyutundaki değişimler ve tapetum tabakasının yapısal dönüşümleri incelenmiştir. Çalışmada, farklı gelişim evrelerindeki anter dokuları mikroskobik olarak değerlendirilmiş ve polen boyutunun olgunlaşma süreciyle birlikte arttığı, tapetal tabakanın ise polen gelişimi boyunca morfolojik değişiklikler gösterdiği belirlenmiştir. Bu değişimlerin, polen duvarı materyalinin birikimi ve ekzin oluşumuyla ilişkili olduğu saptanmıştır. Elde edilen veriler, *Betula pendula* polenlerinin gelişimsel biyolojisini anlamada ve çevresel etkenlere karşı duyarlılığını değerlendirmede önemli bilgiler sunmuştur.

Cresti vd. (1999) tarafından yapılan çalışmada, *Betula pendula* polen taneleri ve tapetum hücrelerinin ultrastrüktürel özellikleri hızlı dondurma (rapid freezing) ve dondurarak yerine koyma (freeze-substitution) teknikleri kullanılarak incelenmiştir. Stockholm bölgesinden toplanan olgun anterler elektron mikroskobuna hazırlanarak sitoplazmik organizasyon, organel bütünlüğü ve hücre zar yapısı ayrıntılı biçimde değerlendirilmiştir. Araştırma sonucunda, bu yöntemlerin kimyasal fiksasyona kıyasla hücre zarları, endoplazmik retikulum ve Golgi cisimcikleri gibi ince yapıları çok daha iyi koruduğu; polen duvarında ve tapetum tabakasında helikal fibriller yapılardan oluşan "Zwischenkörper (Z)" ve "Z-layer (ZL)" bölgelerinin net biçimde gözlemlenebildiği

belirlenmiştir. Çalışma, *B. pendula* polenlerinin fizyolojik durumuna uygun örnekleme ile hücre içi yapıların bozulmadan incelenebilmesini sağlayarak, *Betula* türlerinde polen gelişimi ve tapetumun morfolojik işlevleri hakkında önemli bilgiler sunmuştur.

Blackmore vd. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada, Betulaceae ve Corylaceae familyalarına ait türlerin polen morfolojileri ayrıntılı olarak incelenmiştir. Çalışmada ışık mikroskobu (LM) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) teknikleri kullanılarak polenlerin boyutu, şekli, ekzin yapısı ve ornamentasyonları tanımlanmıştır. Türler arası morfolojik farklılıklar değerlendirilmiş ve bu özelliklerin taksonomik sınıflandırmadaki önemi tartışılmıştır. Elde edilen bulgular, *Betula pendula* gibi türlerin karakteristik polen özelliklerinin belirlenmesinde temel bir kaynak oluşturmuştur.

Tetiana vd. (2014), yaptıkları çalışmada *Betula pendula* polen tanelerinin morfolojik farklılıklarını ve antioksidan aktivitelerini belirlemeyi ve bu iki özellik arasındaki ilişkiyi ortaya koymayı amaçlamışlardır. Bu çalışmada, polenlerin polar eksen uzunluğu, ekvatoral eksen uzunluğu, apoporyal alan kenarı, şekil indeksi ve diğer morfolojik parametrelerini taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak değerlendirmişlerdir. Polen tanelerinin sulu ve etanolik ekstraktlarının toplam antioksidan aktiviteleri (TAA), DPPH reaktifi ile belirlenmiştir. Çalışma, örnekler arasında hem morfolojik ölçütler hem de antioksidan aktivite bakımından anlamlı farklar bulunduğunu ve bu farklılıkların yetişme ortamındaki antropojenik etkinin bir sonucu olabileceğini ortaya koymuştur.

Depciuch vd. (2018), altı farklı huş türünün (*B. utilis* D.Don., *B. dahurica* Pall., *B. maximowicziana* Regel., *B. pendula* Roth, *B. pubescens* Ehrh. ve *B. humilis* Fr. ex Regel.) polenlerini morfolojik ve kimyasal açıdan karşılaştırmışlardır. Polen morfolojisi LM ve SEM ile, kimyasal bileşimleri ise FT-IR spektroskopisiyle analiz edilmiştir. *B. pendula* polenlerinin ortalama çapı 23,1 µm olarak ölçülmüş; *B. pubescens* ile yüksek benzerlik göstermiştir. FT-IR sonuçlarına göre *B. pendula* ve *B. pubescens* kimyasal olarak aynı grupta yer alırken, *B. humilis* diğerlerinden belirgin şekilde ayrılmıştır. Çalışma, FT-IR yönteminin benzer türlerin ayırt edilmesinde etkili bir araç olduğu gösterilmiştir.

Grewling vd. (2021), *Betula pendula* 'da normalde ayrı bulunan erkek ve dişi çiçeklerin aynı salkımda yer aldığı (biseksüel) yapıları incelemişlerdir. Biseksüel salkımlardan elde edilen polenlerin morfolojik, fizyolojik ve alerjenik özellikleri analiz etmişlerdir. Polenlerin boyutu, şekli ve ekzin yapısı normal erkek salkımlarından elde edilenlerle benzer bulunmuştur. Ayrıca polenlerin yüksek canlılık ve çimlenme oranına sahip olduğu, ana alerjen Bet v 1 düzeyinin normal polenlere yakın olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, bu olgunun çevresel stres koşullarıyla ilişkili olabileceğini vurgulanmıştır.

Yurt içinde gerçekleşen çalışmalar: Pehlivan (1987) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, Türkiye'de doğal olarak yetişen *Betula medwediewii* dahil olmak üzere Betulaceae, Moraceae, Cannabaceae ve Haloragaceae familyalarına ait bazı türlerin polen duvarı ve annulus yapılarının detayları elektron mikroskobu ile araştırılmıştır. TEM kullanılarak ekzin kalınlığı, por bölgesindeki annulus yapısı, nekzin ve sekzin tabakalarının kalınlık farklılıkları belirlenmiştir.

Alan (2010), doktora tez çalışmasında Türkiye'de bulunan farklı lokasyondaki 13 adet Betulaceae türüne ait polenlerin morfolojik ve biyokimyasal özelliklerini inceleyerek taksonlar arasında karşılaştırmalar yapmış ve palinolojik bir teşhis anahtarı oluşturmuştur. Morfolojik çalışmalar için ışık mikroskobu, taramalı elektron mikroskobu ve geçirmeli elektron mikroskobu kullanmıştır. Biyokimyasal çalışmalarında SDS-PAGE (sodyum dodesil sülfat–poliakrilamid jel elektroforez) yöntemini kullanarak taksonlar arasında karşılaştırma yapmak için protein profillerinden yararlanmıştır. Çalışma sonucunda polenlerin izopolar, aspidat, trizonoporat veya tetrazonoporat yapıda olduğunu göstermiştir. Taramalı elektron mikroskobu incelemelerinde polen yüzeyindeki ornamentasyon tiplerini belirlemiştir.

2.4 *Betula pendula* Poleninde Yer Alan Alerjenlerin Belirlenmesi

Breiteneder vd. (1989) tarafından yapılan çalışmada, huş ağacı poleninde bulunan majör alerjen Bet v 1 proteininin genetik yapısını ortaya koymayı amaçlanmıştır. Olgun huş poleninden bir cDNA kütüphanesi oluşturulmuş ve alerjisi olan hastaların serumlarındaki IgE antikorları kullanılarak Bet v 1'i kodlayan klonlar tanımlanmıştır.

Çalışmada genin dizilenmesi ile, Bet v 1 proteinin 17.5 kDa moleküler ağırlığa sahip olduğu ve 160 amino asitten oluştuğu doğrulanmıştır. Çalışmanın en önemli bulgusu, Bet v 1 protein dizisinin, bezelye bitkisinde bir hastalık direnci yanıt geni (pathogenesis-related, PR) ile yüksek derecede benzerlik göstermesidir.

Seiberler vd. (1994) tarafından yapılan çalışmada, huş poleninde yer alan yeni bir alerjen olan Bet v 3 proteininin moleküler özelliklerinin tanımlanması amaçlanmıştır. Bu kapsamda, bir huş poleni için DNA kütüphanesi oluşturulmuş ve alerjik hastalardan alınan IgE antikorları kullanılarak immünolojik tarama yöntemi ile IgE'ye bağlanan gen klonları izole edilmiştir. Klonlardan biri olan Bet v 3 geni**,** amino asit diziliminde üç farklı kalsiyum (Ca^{2+}) bağlama bölgesi içerdiği için klasik kalmodulin proteinlerinden farklı bir yapıda bulunmuştur. Araştırmada rekombinant DNA klonlama, protein saflaştırma, kalsiyum bağlama deneyleri ve northern blot hibridizasyon teknikleri kullanılmıştır. Elde edilen bulgulara göre Bet v 3 proteini yalnızca olgun polenlerde eksprese edilmekte, diğer bitki dokularında bulunmamaktadır. Ayrıca proteinin IgE bağlanma kapasitesi, protein yapısına bağlı olarak Ca^{2+} varlığında artmakta, Ca^{2+} 'un ortamdan uzaklaştırılmasıyla bağlanma yeteneği geri dönüşümlü olarak kaybolmaktadır. Bu durum, Bet v 3'ün Ca^{2+} bağımlı konformasyonel IgE epitopları içerdiğini göstermektedir. Çalışmanın sonuçları, Bet v 3'ün yeni bir kalsiyum bağlayıcı protein sınıfını temsil ettiğini ve bitkide polen gelişimi sırasında Ca^{2+} metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynayabileceğini ortaya koymuştur.

Swoboda vd. (1996) tarafından yapılan çalışmada major alerjen Bet v 1 proteininin yalnızca alerjik bir yanıt olmasının yanı sıra aynı zamanda bitkilerin savunma mekanizmalarında rol oynayan patogenezle ilişkili (PR) protein ailesiyle biyokimyasal olarak ilişkili olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışmada Bet v 1'in olası nükleaz aktivitesini incelemek amacıyla, huş poleninden yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile saflaştırılmış doğal Bet v 1 proteinleri ile *Escherichia coli* aracılığıyla üretilmiş rekombinant Bet v 1 proteinleri kullanılmıştır. Proteinlerin nükleik asitleri parçalayıp parçalamadığını değerlendirmek için maya tRNA'sı, in vitro transkripsiyon ile elde edilen işaretli RNA ve bitki hücre süspansiyonlarından izole edilen toplam RNA substrat olarak kullanılmıştır. Ayrıca reaksiyon ürünleri agaroz jel

elektroforezi ve otoradyografi yöntemleriyle analiz edilmiştir. Sonuç olarak hem doğal hem de rekombinant Bet v 1 proteinlerinin in vitro koşullarda RNA'yı parçalayan ribonükleaz aktivitesi gösterdiği görülmüştür. Bu çalışma, Bet v 1'in yalnızca bir alerjen olmadığını, aynı zamanda bitkide savunma yanıtında görev alabilen PR protein ailesinin bir üyesi olarak biyolojik işlevsel role sahip olabileceğini göstermiştir.

Yli-Panula ve Ahlholm (1998) tarafından yapılan çalışmada, huş ve çayır otları (Poaceae) polenlerinin farklı nem koşulları altında bir yıl boyunca antijenik aktivitelerini koruma sürelerini incelemiştir. Çalışmada, polen örnekleri kontrollü deney koşullarında çeşitli bağıl nem (%23–%54) seviyelerinde saklanmış ve IgG-ELISA, SDS-PAGE ve IgE-immunoblotting yöntemleriyle Bet v 1 ve Phl p 5 (çayır otu majör alerjeni) düzeyleri değerlendirilmiştir. Bulgular, polenlerin antijenik faaliyetinin tüm deney süresi boyunca yüksek düzeyde kaldığını ve bağıl nemin bu aktivite üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Bu durum, polenlerin polen sezonu dışında da özellikle iç mekân yerleşik tozda, alerjik duyarlılık ve semptomlara neden olabilecek düzeyde alerjen özelliklerini sürdürebildiğini ortaya koymaktadır. Çalışma, özellikle mevsimsel alerjisi olan bireylerde belirtilerin polen mevsimi dışında da devam edebilmesinin nedenlerine yönelik önemli bir açıklama sağlamaktadır.

Ferreira vd. (1998) tarafından yapılan çalışmada, huş poleni majör alerjeni olan Bet v 1 proteininde IgE bağlanma bölgelerini belirlemek amacıyla yer yönlendirmeli mutagenez yöntemini kullanmışlar ve belirli amino asit konumlarının IgE etkileşiminde kritik rol oynadığını göstermişler. Bu kritik bölgelerde yapılan nokta değişimleri sonucunda, IgE bağlanma kapasitesi önemli ölçüde azalmış, ancak T hücreleri tarafından tanınma özelliği korunmuş bir hipoalerjenik Bet v 1 varyantı (A1–6) elde edilmiştir. Hem in vitro IgE bağlanma deneyleri hem de deri prik testleri, bu mutantın daha düşük alerjenite gösterdiğini doğrulamıştır. Çalışma, özgül immünoterapide, alerjik yan etki riskini azaltarak immün tolerans geliştirmeye yönelik daha güvenli rekombinant allerjenlerin kullanılabileceğini vurgulamaktadır.

Erler vd. (2011), farklı coğrafi bölgelerden toplanan *Betula verrucosa* (yeni adıyla *Betula pendula)* polenlerinin protein karşılaştırmasını yapmışlardır özellikle Bet v 1 ve

ilgili izoformlarının polen örnekleri arasında nasıl değişiklik gösterdiğini incelemişlerdir. Polen proteinleri 2 boyutlu jel elektroforezi ile ayrılmış ve seçilen protein noktaları matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon – kütle spektrometrisi / ardışık (Tandem) kütle spektrometrisi MALDI-MS / MS/MS ile tanımlanmıştır. Analizler sonucunda, Bet v 1'e ait birden fazla izoformun örnekler arasında elektroforetik hareketlilik ve yoğunluk bakımından değişiklik gösterdiğini belirlemişlerdir. Çalışma, coğrafi köken ve post-translasyonel modifikasyonların, Bet v 1 proteoform dağılımını etkileyerek polen örnekleri arasında alerjen protein profilinin değişkenlik gösterebildiğini ortaya koymuştur.

Darnhofer vd. (2021), yaptığı çalışmada *Betula pendula*, *Alnus glutinosa* L.ve *Corylus avellana* L. türlerinin polen protein içeriklerini proteomik açısından incelemişlerdir. Bilinen ana alerjenler dışında yeni alerjen belirlemeyi amaçlamışlardır. Bu çalışmada SDS-PAGE, anti-IgE, western blot ve (sıvı kromatografisi/ tandem kütle spektrometrisi) LC-MS/MS tabanlı pretomik analiz deneylerini yapmışlardır. Bu çalışma sonucunda üç polen türünün IgE bağlanma paternlerinin ve protein profillerinin farklı olduğunu görmüşlerdir. Özellikle 17 kDa civarında bulunan PR-10 ailesinde yer alan proteinlerin en baskın IgE reaktif bantları oluşturduğunu gözlemlemişlerdir.

2.5 Hava Kirliliğinin *Betula pendula* Polen Alerjenleri Üzerindeki Etkisi

Helander vd. (1997) tarafından yapılan çalışmada, hava kirliliği ve çeşitli çevresel faktörlerin *Betula pendula* polenlerindeki alerjen içeriği üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Farklı çevresel koşullardan toplanan polen örneklerinde alerjen düzeyleri karşılaştırılmıştır. Bulgular, hava kirleticilerinin polen alerjenitesini artırabildiğini ve çevresel stres faktörlerinin alerjen protein ekspresyonunu etkileyebileceğini göstermiştir. Ayrıca meteorolojik koşulların polen alerjen içeriği üzerinde belirleyici rol oynadığı belirtilmiştir. Çalışma, hava kirliliği ile polen alerjenitesi arasındaki ilişkiyi ortaya koyan öncü araştırmalardan biri olarak değerlendirilmektedir.

Cuinica vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada, *Betula pendula* polenini laboratuvar koşullarında atmosferik kirleticiler olan ozon (O_3), kükürtdioksit (SO_2) ve

karbonmonoksite (CO) maruz bırakmışlardır. Avrupa'da insan sağlığının korunması için bilinen sınırların altındaki ozon seviyesi ve sınırların iki kat daha yüksek düzeyde ozon seviyesine maruziyetini incelemişlerdir. Bu deneylerde tasarlanan yapay çevre odasında bağıl nem, yapay güneş ve sıcaklık gibi parametreler kullanılmıştır. Polenlerin canlılığın ve çimlenmesini araştırmışlardır. Ozona maruz bırakılan polenlerde polen canlılığı ve çimlenmeleri oranlarında düşüş olduğu görülmüştür. Çalışmada kirleticilere maruz bırakılan polenlerin SDS-PAGE deneyinde özellikle SO_2 uygulamasında anlamlı bir farklılık görmüşlerdir.

Reinmuth-Selzle vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada huş poleninin majör alerjeni Bet v 1'in atmosferik nitrasyon ajanları ile kimyasal modifikasyonu araştırılmıştır. Gaz ve sıvı fazdaki nitrasyon süreçlerinin alerjen protein üzerindeki etkinliği ve seçiciliği proteomik yöntemlerle analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, azot oksitlerin Bet v 1'in yapısında belirli amino asit bölgelerinde değişimlere yol açtığını göstermiştir. Bu kimyasal modifikasyonların alerjenitenin değişmesine neden olabileceği belirtilmiştir. Çalışma, hava kirleticilerinin alerjen proteinleri moleküler düzeyde etkileyebileceğini ortaya koymaktadır.

Depciuch vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, kirlenmemiş ve kentleşmiş alanlardan toplanan *Corylus avellana* polenlerinin moleküler bileşimindeki değişimler, FT-IR spektroskopisi ile incelenmiştir. Kentsel alan polenlerinde protein, lipid ve karbonhidrat bantlarında belirgin farklılıklar tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular, hava kirliliğinin polenlerin kimyasal yapısını etkilediğini göstermektedir. Ayrıca bu değişimlerin polenlerin alerjenik potansiyelini etkileyebileceği ifade edilmiştir. Çalışma, FT-IR yönteminin polen kirlilik araştırmalarında etkin bir analiz aracı olduğunu vurgulamaktadır.

Zhu vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada, *Betula pendula* poleninin ozona maruz kaldığında polen tanelerinin hem yüzeyinde hem de lipit fraksiyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Araştırmacılar polenleri 115 ppb ve 1000 ppb ozon konsantrasyonlarına maruz bırakarak ozon alım kat sayılarını belirlemişlerdir. Ayrıca içlerindeki yağ tabakalarından arındırılmış polenler ile havanda ezilmiş polenler arasında karşılaştırma

yapmak için SEM mikroskobu ile incelemişlerdir. Ezilmiş polenlerde ozon alımının belirgin biçimde arttığını görmüşlerdir. Bu durum polenlerdeki sitoplazmik içeriklerin ve lipitlerin ozona duyarlılık taşıdığını göstermiştir. Ozon maruziyeti sonrası özellikle alkenlerin tüketildiği, aldehitlerin arttığı ve oksidasyon ürünlerinin oluştuğu gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda kısa süreli ozon temasının bile *Betula pendula* polen lipitlerinde kimyasal değişikler meydana getirebileceği gösterilmiştir.

Bychkova ve Khlebova (2019) yaptıkları çalışmada, Rusya'nın Barnaul kentinde farklı trafik yoğunluklarına sahip alanlarda *Betula pendula* polenlerinin canlılığı çevresel faktörlerle ilişkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada üç yıl boyunca düzenli olarak polen örnekleri toplanmıştır. Polen verimliliği için asetokarmin boyama yöntemi kullanılarak değerlendirilmiş ve eş zamanlı olarak her bölgede mikroklimatik ölçümler yapılmış. Ayrıca lokasyonlarda karbonmonoksit düzeyleri belirlenmiştir. Analizler sonucunda, düşük sıcaklıkların ve düşük nemin polen canlılığını önemli ölçüde azalttığı, özellikle yüksek CO yoğunluğuna sahip kentsel noktalarda steril polen oranlarının belirgin biçimde arttığı gösterilmiştir. Daha uygun mikroklimatik koşullara sahip ve trafik yükü düşük bölgelerde ise fertilite anlamlı biçimde daha yüksek bulunmuştur.

Petrushkevych ve Korshykov (2020) yaptıkları çalışmada, Ukrayna'nın özellikle sanayinin bulunduğu kentlerinden biri olan Kryvyi Rih'de, *Betula pendula*'nın kentsel çevre koşulları ve sanayi kaynaklı çevresel stres faktörlerine maruziyetini üç yıl boyunca incelemişlerdir. Bu çalışmada bitkinin morfolojik özelliklerini, fizyolojik durumunu ve üreme kapasitesini analiz etmişlerdir. Saha ölçümleri, morfometrik analizler, polen canlılığı, çimlenme testleri, klorofil analizleri ve genel fizyolojik stres analizleri yapmışlardır. Ayrıca çevresel parametreleri kaydederek biyolojik veriler ile ilişkilendirmeyi amaçlamışlardır. Kentsel alandaki *Betula pendula* yaprak ayasındaki ve yaprak sapındaki uzunlukta belirgin azalmalar görmüşlerdir. Bu bölgelerde stoma yoğunluğunda artış görmüşlerdir. *Betula pendula* 'nın erkek kedicik uzunluğunda belirgin bir azalma görülürken, kalınlığında artış görmüşlerdir. Bu çalışma sonucunda *Betula pendula* 'nın kentsel ekosistemlerde çevresel stres faktörlerini yansıtabilen önemli bir gösterge tür olduğunu belirtmişlerdir.

Ziemianin vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada, hava kirliliğine maruz kalan *Betula pendula* polenlerinde alerjen proteinlerin niteliksel ve niceliksel değişimleri araştırılmıştır. Kirli ve temiz alanlardan toplanan polen örnekleri protein profili ve immünolojik analizler ile değerlendirilmiştir. Bulgular, kirli alan polenlerinde alerjen protein bant yoğunluklarının arttığını göstermiştir. Ayrıca protein kompozisyonunda kirliliğe bağlı değişimler tespit edilmiştir. Çalışma, hava kirliliğinin huş polenlerinin alerjenitesini artırabileceğini ortaya koymaktadır.

Carlsen vd. (2022) tarafından yapılan çalışmada İsveç'in kuzey ve güney bölgelerinde *Betula pendula* poleni sezonu boyunca alerjik astımı olan bireylerde huş polen yoğunluğu, hava kirliliği ve solunum sistemi belirtileri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Bu çalışmada huş poleni alerjisi tanısı koyulan otuz yedi kişi katılmıştır. Bu bireyler iki farklı polen sezonu boyunca ve kontrol sezonunda günlük olarak alerji ilacı alınımı, öksürük ve rinit gibi değerlerler kaydetmişlerdir. Bu çalışma sonucunda atmosferdeki polenlerin düşük olduğu günlerde hava kirliliği ve semptomlarda anlamlı bir farklılık görülmezken ozon konsantrasyonun yüksek olduğu günlerde burun akıntısı semptomunun arttığı görülmüştür. Partikül madde düzeyinin yüksek olduğu günlerde de semptomların şiddetli hale geldiği görülmüştür. Huş poleni maruziyeti ile hava kirleticilerinin birlikte değerlendirildiğinde alerjik astımda semptom şiddetini artırdığı ve bu iki faktörün sinerjik bir etki oluşturduğunu sonucuna varılmıştır.

Stawoska vd. (2023) tarafından yapılan çalışmada hava kirleticilerinin huş ağacı poleninin kimyasal bileşimi ile Bet v 1 proteininin ikincil yapıları üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Bu çalışma Polonya'nın güneyinde yer alan Malopolska bölgesinde, farklı kirlilik düzeylerine sahip yedi lokasyonda gerçekleştirilmiştir. Toplanan polen örneklerinde Bet v 1 konsantrasyonu ELISA yöntemiyle ölçülmüştür. Ayrıca FT-Raman spektroskopisi ile Bet v 1 proteininin ikincil yapı değişimleri analiz edilmiştir. *Betula pendula* ağaçlarının fizyolojik durumunun değerlendirilmesi amacıyla da Klorofil a floresans ölçümleri, yaprak yansıtma ölçümleri ve ^{13}C izotop ayrımı analizleri yapılmıştır. Elde edilen bulgular, hava kirliliğinin *B. pendula* bireylerinin genel fizyolojik durumu üzerinde sınırlı etkiye sahip olduğunu, buna karşın yüksek NO_x ve partikül madde konsantrasyonuna sahip kentsel alanlardan toplanan polenlerde Bet v

1 düzeyinin anlamlı biçimde arttığını ortaya koymuştur. Ayrıca, kirli bölgelerden elde edilen polenlerde Bet v 1 proteininde α-heliks yapılarının azaldığı, antiparalel β-tabaka ve agregasyon eğilimli yapıların arttığı tespit edilmiştir. Bu çalışma ile hava kirliliğinin huş polenlerinde alerjen içeriğini ve protein yapısını değiştirerek alerjeniteyi artırabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Ranpal (2024) yaptığı tez çalışmasında, *Betula pendula* ve *B. pubescens*'in polen üretimini genetik, meteorolojik ve atmosferik faktörlerle ilişkilendirerek değerlendirmiştir. Bu çalışmada, uzun dönem verileri kullanılarak meteorolojik ve polen üretimi arasındaki ilişki modellenmiştir. Çalışmada genetik olarak aynı *Betula pendula* klonlarında üç yıl boyunca polen üretimindeki yıllık veriler değerlendirilmiştir. Ayrıca farklı yükseltilerde bulunan *Betula pubescens* bireyleri incelenerek rakımın ve iklimsel koşulların polen üretimi üzerindeki etkileri analiz edilmiştir. Araştırmada salkım örnekleme yöntemleri, polen sayımı ve standart polinasyon ölçümleri uygulanmıştır. *B. pendula* bireylerinde salkım başına ortalama 1,66 milyon polen üretildiğini, ancak üretim miktarının bölgesel farklılıklara göre önemli ölçüde değiştiğini gösterilmiştir. Bu çalışma, iklim değişikliğine bağlı sıcaklık artışlarının huşlarda polen verimini yükseltebileceğini, ancak hava kirliliği gibi stres faktörlerinin bu artışı sınırlayabileceğini göstererek, gelecekteki polen alerjen yüküne ilişkin önemli bir ekolojik değerlendirme sunmaktadır.

2.6 Hava Kirliliğinin Yaprak Anatomisi ve Morfolojisi Üzerine Etkileri

Oksanen vd. (2005) tarafından yapılan çalışmada artan karbondioksit (CO_2) ve ozon (O_3) konsantrasyonlarının *Betula pendula* yapraklarının yapısal özellikleri ve kimyasal bileşimi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Yaprak anatomisi, hücre duvarı yapısı ve biyokimyasal bileşenler detaylı olarak analiz edilmiştir. Sonuçlar, yükselen CO_2 ve O_3 seviyelerinin yaprak kalınlığı, stomatal özellikler ve kimyasal içerikte değişimlere neden olduğunu göstermiştir. Özellikle ozon stresinin yaprak dokusunda yapısal bozulmalara yol açtığı belirtilmiştir. Çalışma, atmosferik kirleticilerin huş yaprak anatomisini etkileyebileceğini ortaya koymaktadır.

Snezhana (2019) yaptığı çalışmada, kirli çevre koşullarına maruz kalan *Betula pendula* yapraklarında meydana gelen yapısal değişiklikler adaptasyon süreci kapsamında değerlendirilmiştir. Yaprak ayası morfolojisi ve anatomik özellikler karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Bulgular, kirli alanlarda yetişen bireylerde yaprak kalınlığı, damar yapısı ve epidermal özelliklerde değişimler olduğunu göstermiştir. Bu yapısal değişimlerin çevresel stres faktörlerine karşı adaptif yanıtlar olduğu belirtilmiştir. Çalışma, *Betula pendula* 'nın kirlilik stresine karşı anatomik düzeyde uyum sağlayabildiğini ortaya koymaktadır.

Rashidi vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada, kentsel kirletici gazlar ve iklimsel faktörlerin *Robinia pseudoacacia* L. yaprak anatomisi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Yaprak epidermisi, stomatal yoğunluk ve mezofil yapısı detaylı olarak analiz edilmiştir. Sonuçlar, kentsel kirliliğe maruz kalan alanlarda yaprak anatomisinde belirgin değişiklikler meydana geldiğini göstermiştir. Özellikle stomatal özelliklerde ve mezofil organizasyonunda farklılıklar saptanmıştır. Bulgular, hava kirliliğinin yaprak anatomisi üzerinde türden bağımsız olarak etkili olabileceğini göstermektedir.

Prigioniero vd. (2023) tarafından yapılan çalışmada, Akdeniz kentsel ormanlarında yaprak yüzeyine ait fonksiyonel özelliklerin partikül madde (PM) ve polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) tutulması üzerindeki rolü araştırılmıştır. Farklı ağaç türlerinin yaprak morfolojisi, yüzey pürüzlülüğü ve trikom yoğunluğu gibi özellikleri değerlendirilmiştir. Bulgular, yaprak yüzey özelliklerinin hava kirleticilerinin tutulma kapasitesini önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir. Özellikle pürüzlü yüzeye ve yüksek trikom yoğunluğuna sahip yaprakların kirleticileri daha etkin şekilde tuttuğu belirlenmiştir. Çalışma, kentsel ormanların hava kirliliğinin azaltılmasındaki ekolojik işlevini ortaya koymaktadır.

Eremı ve Sala (2025) yaptıkları çalışmada, *Ambrosia artemisiifolia* L. yapraklarında azot uygulama düzeylerine bağlı olarak fraktal geometri değişimleri incelenmişlerdir. Yaprak morfolojisi fraktal analiz yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar, artan azot miktarının yaprak şekli ve yapısal karmaşıklık üzerinde belirgin etkiler oluşturduğunu göstermiştir. Bu değişimlerin bitkilerin çevresel koşullara verdiği

fizyolojik yanıtlarla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Çalışma, yaprak morfolojisinin çevresel girdilere duyarlı bir gösterge olabileceğini ortaya koymaktadır.

Nkansah (2025) yaptığı çalışmada, trafik yoğunluğunun yüksek olduğu yol kenarlarında yetişen ağaç türlerinde hava kirliliğinin morfolojik ve anatomik etkilerini araştırmıştır. Yaprak boyutu, kalınlığı ve yüzey özellikleri gibi morfolojik parametreler detaylı olarak incelenmiştir. Ayrıca epidermis yapısı, stomatal yoğunluk ve mezofil organizasyonu anatomik analizlerle değerlendirilmiştir. Bulgular, trafik kaynaklı kirleticilere maruz kalan ağaçlarda yaprak anatomisinde belirgin değişimler meydana geldiğini göstermiştir. Özellikle stomatal yoğunluk ve epidermal kalınlıkta artışlar saptanmıştır. Çalışma, yol kenarı ağaçlarının hava kirliliğine karşı yapısal adaptasyonlar geliştirdiğini ortaya koymaktadır.

Prithviraj ve Reshmi (2025) tarafından yapılan çalışmada, hava kirliliğinin yaprak ve stoma morfolojisi üzerindeki etkileri farklı bitki türleri üzerinden değerlendirilmiştir. Yaprak yüzey alanı, şekli ve stomatal özellikler mikroskobik yöntemlerle analiz edilmiştir. Sonuçlar, kirli ortamlarda yetişen bitkilerde stoma boyutu ve yoğunluğunda anlamlı değişimler olduğunu göstermiştir. Ayrıca yaprak dokusunda kalınlaşma ve yüzey yapısında farklılaşmalar gözlenmiştir. Bu değişimlerin, bitkilerin kirletici gazlara karşı geliştirdiği fizyolojik ve yapısal yanıtlarla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Çalışma, yaprak ve stoma morfolojisinin hava kirliliğine duyarlı biyolojik göstergeler olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

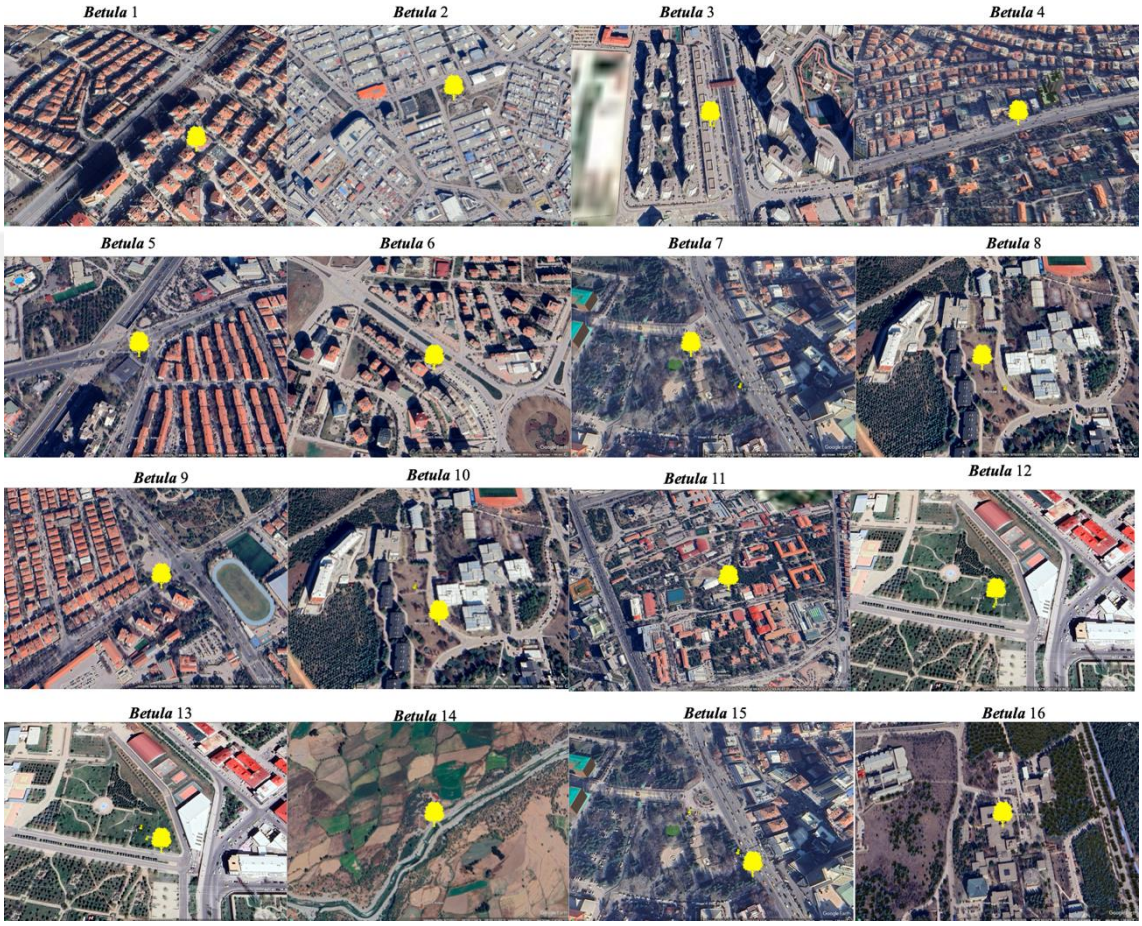
3.1 Örneklerin Toplanması

Analizlerde kullanılacak polen ve yaprak örnekleri, arazi çalışmaları kapsamında belirlenen lokalitelerden toplanmıştır (Çizelge 3.1). Toplanan polen ve yaprak örnekleri Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Palinoloji Laboratuvarı'nda incelenmiştir.

Çizelge 3.1 Toplanan *Betula pendula* polen ve yaprak örneklerinin lokalite bilgileri

Bitki Örnekleri Bölge	**Lokasyon**	**Koordinat**	**Toplayan kişi**	**Polen (P) ve Yaprak (Y) Toplanma Tarihi**
Betula 1 (Kirli)	Kırkonaklar mah. Aile Sağlığı merkezi önü	39°52'49.88"K 32°53'11.31"D	A. ACAR ŞAHİN	03.04.2025 (P) 21.05.2025 (Y)
Betula 2 (Kirli)	RTE Parkı, Ostim	39°59'24.24 K 32°44'40.29 D	E. Özge YILMAZ	03.04.2025 (P) 24.04.2025 (Y)
Betula 3 (Kirli)	YDA Otopark, Macunköy	39°58'3.54"K 32°46'14.93 D	E. Özge YILMAZ	03.04.2025 (P) 24.04.2025 (Y)
Betula 4 (Kirli)	TDK önü, Kızılay	39°54'19.31 K 32°51'29.92 D	E. Özge YILMAZ	02.04.2025 (P) 21.04.2025 (Y)
Betula 5 (Kirli)	Bahçelievler Parkı, Bahçelievler	39°55'53.22"K 32°49'13.14"D	E. Özge YILMAZ	02.04.2025 (P) 21.04.2025 (Y)
Betula 6 (Kirli)	Çakırlar mah. Nisanur Sitesi önü	32°49'9.38"D 32°41'25.07 D	E. Özge YILMAZ	03.04.2025 (P) 24.04.2025 (Y)
Betula 7 (Kirli)	Meclis Parkı	39°54'41.33 K 32°51'15.44 D	E. Özge YILMAZ	02.04.2025 (P) 21.04.2025 (Y)
Betula 8 (Kirli)	Beytepe_1 Kız öğrenci yurdu -D Blok önü	39°52'9.50"K 32°43'50.78 D	E. Özge YILMAZ	07.04.2025 (P) 28.04.2025 (Y)
Betula 9 (Kirli)	Anıtpark	39°55'15.86 K 32°50'5.37"D	E. Özge YILMAZ	07.04.2025 (P) 21.04.2025 (Y)
Betula 10 (Kirli)	Beytepe_2 Kız öğrenci yurdu, C Blok önü	39°52'11.15 K 32°43'49.45 D	E. Özge YILMAZ	07.04.2025 (P) 28.04.2025 (Y)
Betula 11 (Kirli)	Ankara Üniversitesi, Beşevler 10 yıl yerleşkesi, rekreasyon alanı	39°56'13.16 K 32°49'43.73 D	E. Özge YILMAZ	06.04.2025 (P) 15.05.2025 (Y)
Betula 12 (Yarı temiz)	Bingöl Üniversitesi kampüsü_1	38°53'57.10"K 40°29'25.61"D	Deniz CANLI	10.04.2025 (P) 10.04.2025 (Y)
Betula 13 (Yarı temiz)	Bingöl Üniversitesi kampüsü_2	38°53'57.12"K 40°29'25.90"D	Deniz CANLI	10.04.2025 (P) 24.04.2025 (Y)
Betula 14 (Temiz)	Tunceli Ovacık, Gözeler Milli parkı	39°19'14.89 K 39° 5'24.63"D	A. ACAR ŞAHİN	02.04.2025 (P) 02.05.2025 (Y)
Betula 15 (Kirli)	15 Temmuz Kızılay Anıtı yakını, Yol kenarı	39°54'39.26 K 32°51'18.20 D	E. Özge YILMAZ	03.04.2025 (P) 21.04.2025(Y)
Betula 16 (Kirli)	ODTÜ Mimarlık Fakültesi önü	39°53'52.19"K 32°46'53.87"D	E. Özge YILMAZ	07.04.2025 (P) 07.04.2025(Y)

Örnekleme yapılan lokalitelerin mekânsal dağılımını göstermek amacıyla, örneklerin toplandığı alanlara ait konum bilgileri Google Earth yazılımı kullanılarak harita üzerinde belirlenmiş ve bu alanların uydu görüntüleri elde edilmiştir. İlgili uydu görüntülerinde, her bir örnekleme noktasının konumu işaretlenerek görsel olarak sunulmuştur (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 *Betula pendula* polen ve yaprak örneklerinin toplandığı lokalitelere ait Google Earth uydu görüntüleri Sarı işaretler örnekleme noktalarını göstermektedir.

Çalışma kapsamında incelenen *Betula pendula* örneklerinin tür teşhisi, Davis'in Flora of Turkey adlı çalışmasındaki tanımlarla sınırlandırılmamış, Türkiye florasında bazı *Betula* türleri arasındaki morfolojik benzerlikler nedeniyle tür ayrımında yetersiz kalınan durumlarda farklı floristik kaynaklardan da yararlanılmıştır. Bu amaçla, özellikle *Betula* cinsinin doğal yayılış alanlarının daha ayrıntılı olarak ele alındığı Rusya florası (Tutin vd. 1964-1980) ve Avrupa florası (Komarov vd. 1934-1964) incelenmiştir.

Türkiye'de yayılım gösteren *Betula* cinsine ait türlerin ayırt edilmesine yönelik kullanılan teşhis anahtarı aşağıda sunulmuştur.

1. Meyva veren kedicikler dik; meyva pulunun yan lobları dar uzamış ve yukarı doğru

.....1. *medwediewii*

1. Meyva veren kedicikler sarkık; meyva pulunun yan lobları geniş, kısa, aşağı doğru kıvrık ya da sadece yarı yatık

2. Yaprakların alt yüzeyi tüysüz; genç dallar tüysüz, genellikle resin bezli

.....2. *pendula*

2. Yaprak altındaki damarlar tüylü ya da tüysüz; genç dallar pubescent ya da puberlent

3. Yapraklar 3,5-5,5; genç dallar resin bezleri taşır

.....3. *litwinowii*

3. Yapraklar daha büyük, 6-9 cm; genç dallar resin bezleri taşımaz

.....4. *recurvata*

3.2 Mikromorfolojik Analizler

Toplanan örneklerin polen ve yaprak mikromorfolojileri Leica DM1000 ışık mikroskobuna bağlı Leica EC3 kamerasıyla incelenmiştir. Ayrıca polen ve yaprakların ayrıntılı analizleri Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılmıştır.

3.2.1 Toplanan polen ve yaprak örneklerinin preparatlarının hazırlanması ve Işık mikroskobunda ölçülmesi

Işık mikroskobu çalışmaları kapsamında, polenlerin preparasyonu Wodehouse (1935) yöntemi esas alınarak gerçekleştirilmiştir. Paralel olarak, yaprak örneklerinin anatomik analizleri için LEICA marka kriyotom cihazı kullanılarak enine kesitler alınmış ve yüzeysel kesitler ise elle hazırlanarak ışık mikroskobu altında incelenmeye uygun hâle getirilmiştir.

Wodehouse Metodu: Bu yöntemde preparat hazırlamak için, önceden elekten geçirilmiş polen örneklerinden temiz bir iğne ucu yardımıyla bir miktar polen alınılır ve ardından lam üzerine aktarılır. Olası kontaminasyonu uzaklaştırmak ve polenleri lam yüzeyine sabitlemek için lam üzerine birkaç damla %96'lık alkol eklenir. Alkolün uçmasını sağlamak için lamlar, yaklaşık 50 °C'deki ısıtıcı tabla üzerinde kısa bir süre tutulur.

Daha sonra, sıcak su banyosunda eritilmiş ve safranin ile gliserin-jelatin karışımı ilave edilmiş çözeltiden 1–2 damla lam üzerine eklenir. Polenlerin lam yüzeyine eşit şekilde dağılması için, boya ve polen temiz bir iğne yardımıyla karıştırılır. Gliserin-jelatin karışımı henüz donmadan, lamel dikkatlice yerleştirilir ve polenlerin lamel yüzeyine doğru yerleşmesi için lam ters çevrilerek uygun bir yüzeyde kurumaya bırakılır (Wodehouse 1935).

Safraninli Gliserin-Jelatin Karışımının hazırlanması: Yaklaşık 7 g toz jelatin tartılarak bir erlen içerisine alınır. Üzerine 42 ml distile su eklenir ve karışım, manyetik karıştırıcı kullanılarak 80 °C'de yaklaşık 20 dakika boyunca sürekli cam baget ile karıştırılır. Bu sürenin sonunda karışıma 50 ml gliserin ilave edilerek karıştırma işlemi 20 dakika daha devam ettirilir. Mikrobiyal kontaminasyonu önlemek amacıyla karışıma 1–2 adet timol kristali eklenir. Son aşamada, gliserin-jelatin karışımı donmadan önce içerisine %2'lik safranin çözeltisinden 2–3 damla eklenir (Brawn 1960).

3.2.2 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) çalışmaları

Farklı lokasyonlardan toplanan polen ve yaprak örnekleri Maden Tetkik ve Arama Genel Müdürlüğü'nde FEIINSPECT F50 taramalı elektron mikroskobunda incelenmiştir. Polen örnekleri için öncelikle beyaz bir kâğıt üzerinde serpiştirilmiş ardından karbon bantlı staplar üzerine aktarılmıştır. Bu işlem stapları yüzeyinde polenlerin homojen bir şekilde dağılmasını sağlamıştır. SEM altında polenlerin yüzey morfolojileri gözlemlenmiştir. Ayrıca polenlerin ornamentasyonları da detaylıca incelenmiştir.

Yaprak örnekleri alt ve üst yüzeyden damara yakın olacak şekilde kare biçimde küçük bir kesit alarak stap yüzeyine yerleştirilmiştir. Yaprak örneklerinde stomalar, salgı keseleri ve damar yapıları gözlemlenmiştir.

3.2.3 Polenlerin ışık mikroskobunda (LM) ölçülmesi

Polenlerin görüntülenmesi Leica DM1000 Dijital Görüntüleme Sistemine sahip mikroskopla x 100 immersiyon objektifi kullanılarak yapılmıştır. Dijital fotoğraflar Leica Application Suit programı yardımıyla elde edilmiştir. Her örneğe ait polenlerin ekvatoral (E) ve polar (P) eksen uzunlukları, ekzin ve intin kalınlıkları, por uzunluğu (Plg) ve genişliği (Plt) ve onkus derinliği ölçülmüştür. Her bir örneğin bu özellikleri için 30'ar ölçüm yapılmıştır. Ölçümler AlaMet 0,06 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçülen örneklerin ortalama ve standart sapma değerleri Microsoft 365 Office Excel paket programıyla hesaplanmıştır. Terminolojide; Erdtman (1969), Faegri ve Iversen (1975), Punt vd. (2007), Punt ve Hoen. (2009) adlı araştırmacıların yayınlarından faydalanılmıştır.

3.3 Anatomik Analizler

Anatomik analizlerde *Betula pendula* yapraklarının hem yüzeysel kesitleri hem de enine kesitleri hazırlanarak doku organizasyonu, hücresel yapı özellikleri ve olası anatomik değişimler detaylı biçimde incelenmiştir. Yapılan değerlendirmeler, trafik kaynaklı hava kirliliğinin yaprak anatomisi üzerindeki etkilerinin ortaya konulmasını amaçlanmıştır.

Enine kesitlerin hazırlanmasında Leica CM1520 Cryostat (Leica Biosystems, Almanya) cihazından faydalanılmıştır. Bu cihaz biyolojik doku örneklerinin düşük sıcaklıklarda hızlı bir şekilde dondurularak ince kesitlerinin alınmasını sağlayan yarı motorize bir kriyostat sistemidir. Cihaz, 0 °C ile −30 °C arasında ayarlanabilir kriyokompartıman sıcaklık aralığına sahiptir. Ayrıca dokuların optimum morfolojik korunumu için hızlı dondurma özelliği bulunan "quick-freeze" platformu ile donatılmıştır. Mikroton sistemi 2–60 μm arasında kesit kalınlığı ayarı yapılabilen döner tipte bir mikrotona sahiptir.

Kesit alma işlemi sırasında örnek diskleri ±8° yatay ve dikey oryantasyon imkânı sağlar. Dondurma işlemi sırasında sıcaklık, nem ve güvenlik koşulları otomatik olarak kontrol edilmektedir.

Alınan kesitlerde, kütikula kalınlığı, üst epidermis boyu, alt epidermis boyu, palizat parankiması genişliği ve sünger parankiması genişliği 20 şer kez ölçülmüştür. Ölçülen değerlerin ortalama ve standart sapma değerleri tablo halinde verilmiştir. Yaprak alt ve üst yüzey örneklerinin anatomik yapısını incelemek için cryostat cihazı kullanılarak enine kesitler hazırlanmıştır.

Yaprak örneklerinin yüzeysel kesitleri manuel olarak alınmıştır. Yaprakların alt ve üst yüzeylerinden jilet yardımıyla kesitler alınarak %20'lik gliserinli distile su ile kapatılarak ışık mikroskobunda incelenmiştir. Alınan kesitlerde yaprak alt yüzeyindeki stomalar sayılarak belirlenmiş ve mm^2'ye düşen stoma sayıları matematiksel olarak dönüştürülerek hesaplanmıştır. Epidermis hücre sayıları da belirlendikten sonra, stoma indeksi, alttaki formüle göre Meidner ve Mansfield (1968) hesaplanmıştır.

Aşağıda yer alan formülde S, mm² başına düşen stoma sayısını, E ise mm² başına düşen epidermis hücresi sayısını ifade etmektedir.

$$\text{Stoma indeksi (SI) (\%)} = S / (S + E) \times 100$$

3.4 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)

FT-IR ölçümleri, *Betula pendula* poleni örneklerinden elde edilen spektrumlar kullanılarak değerlendirilmiştir. Ham spektrumlar 4000–600 cm^{-1} dalga sayısı aralığında kaydedilmiş olup, analizlerde polen biyokimyasını temsil eden fonksiyonel grup ve protein bantlarına odaklanılmıştır. Bu kapsamda, hidroksil (O–H), alifatik C–H (CH_2) ve proteinlere ait Amid I ve Amid II bölgeleri ayrıntılı olarak incelenmiştir.

3.4.1 Bant aralıklarının tanımlanması

O–H bandı, literatürde hidrojen bağları, hidrasyon düzeyi ve hidroksil içeren biyomoleküllerle ilişkili titreşimleri temsil eden 3600–3200 cm^{-1} aralığında tanımlanmıştır. Bu bant, bitkisel dokular ve polenlerde çevresel stres ve su ilişkilerindeki değişimlere duyarlı bir gösterge olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır (Naumann, 2000, Sénéchal vd. 2015).

CH_2/C–H gerilme bantları, lipidler ve alifatik hidrokarbon zincirleriyle ilişkili titreşimleri temsil eden 3000–2800 cm^{-1} aralığında değerlendirilmiştir. Bu bölge, polen yüzey bileşenleri ve çevresel partikül etkileşimlerine duyarlı olması nedeniyle, trafik kaynaklı hava kirliliğinin polen yüzey kimyası üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (Ormstad vd.1998, Buters vd. 2010).

Proteinlere ait karakteristik bant aralıkları ise literatürde yaygın olarak kabul edilen sınıflandırmalara göre belirlenmiştir. Buna göre, Amid I bandı 1700–1600 cm^{-1}, Amid II bandı ise 1580–1500 cm^{-1} dalga sayısı aralıklarında tanımlanmıştır. Amid I bandı esas olarak C=O gerilme titreşimlerinden, Amid II bandı ise N–H bükülme ve C–N gerilme titreşimlerinin birleşiminden kaynaklanmaktadır (Barth 2007). Bu bant aralıkları, *Betula* poleni üzerinde hava kirliliğinin biyokimyasal etkilerini inceleyen önceki çalışmalarda da kullanılmıştır (Stawoska vd. 2023).

3.4.2 Spektral ön-işleme ve nicel analiz

FT-IR spektrumları öncelikle ilgili bant aralıklarında izole edilmiş, bant uç noktaları arasında doğrusal baseline düzeltmesi uygulanmış ve her örnek, örnekler arası karşılaştırmayı mümkün kılmak amacıyla kendi maksimum absorbans değerine göre normalize edilmiştir. O–H, CH_2, Amid I ve Amid II bölgeleri için pik yüksekliği, pik konumu (μ) ve baseline-düzeltilmiş bant alanı parametreleri hesaplanmıştır. Bant alanları, ilgili dalga sayısı aralığında spektral eğrinin mutlak integraline dayalı olarak belirlenmiştir.

Amid I ve Amid II bantları için pik konumu, bant genişliği ve alan parametrelerini elde etmek amacıyla iki bileşenli Gauss fonksiyonu kullanılmıştır. Protein bantları arasındaki göreli dengeyi değerlendirmek amacıyla Amid I/Amid II alan oranı (Area_I/II) hesaplanmıştır.

3.4.3 Amid I dekonvolüsyonu ve ikincil yapı analizi

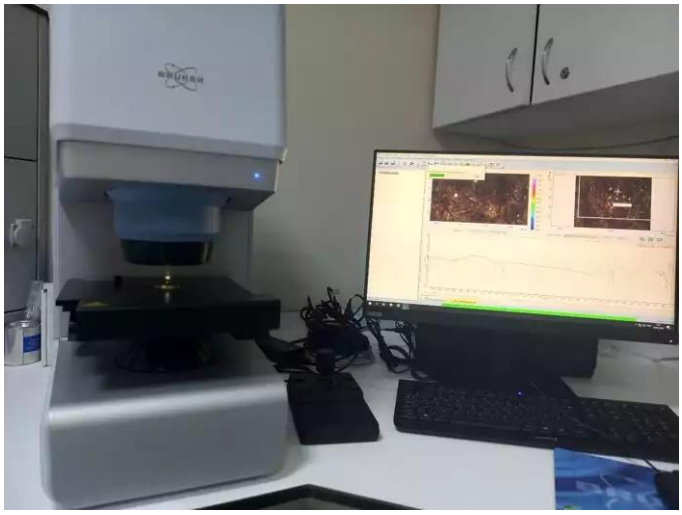
Amid I bandı, protein ikincil yapı bileşenlerine duyarlı olması nedeniyle, literatürde önerilen yaklaşımlar doğrultusunda üç bileşenli Gauss modeli ile ayrıca dekonvolüe edilmiştir (Kong ve Yu 2007). Bu modelde:

- **β-sheet yapıları** (~1620–1640 cm^{-1})
- **α-heliks yapıları** (~1650–1660 cm^{-1})
- **turn/coil yapıları** (~1665–1690 cm^{-1})

ayrı bileşenler olarak modellenmiştir. Her bir bileşenin alanı, toplam Amid I alanına oranlanarak yüzde katkı değerleri hesaplanmıştır. Bu yaklaşım, FT-IR verilerinden protein ikincil yapı dağılımındaki göreli değişimleri değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır.

3.4.4 Gruplama ve istatistiksel değerlendirme

Analizlerde *Betula pendula* 12, 13 ve 14 örnekleri kontrol (temiz referans) grubu olarak kullanılmış; diğer örneklerin bu referansa göre yüzde ve standartlaştırılmış sapmaları hesaplanmıştır. Ayrıca kirletici parametreler dikkate alınarak kirliliğin en yüksek olduğu istasyonlardan biri olarak belirlenen Ulus istasyonuna yakın bölgelerden (Ankara-Kızılay; TDK önü, Meclis Parkı ve 15 Temmuz Anıtı önü) toplanan *Betula pendula* 4, 7 ve 15 örnekleri, diğer kirli örneklerle karşılaştırılmıştır. Küçük örneklem büyüklüğü nedeniyle istatistiksel karşılaştırmalarda etiket permütasyonuna dayalı testler tercih edilmiştir.



Şekil 3.2 Bruker marka LUMOS II model cihazı

3.5 Protein Temelli Çalışmalar

3.5.1 Total protein miktarının belirlenmesi

16 farklı lokasyondan elde edilen polen örneklerinden protein ekstraksiyonu işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işleminde kullanılmak üzere 0,2 M PBS tamponu hazırlanmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 Ekstraksiyon için kullanılan PBS tamponun hazırlanışı

0,2 M PBS (pH:6.8)	
$Na_2HPO_4.12H_2O$	0,275 gr
$Na_2H_2PO_4.2H_2O$	0,832 gr
NaCl	0,9 gr
Saf su	100 ml

Her bir polen örneğinden 0,1 g tartılarak mikrosantrifüj tüplerine aktarılmış ve örneklerin üzerine 900 µL PBS (Fosfat Tamponlu Salin) tamponu ilave edilmiştir. Proteinlerin ortamdan çözünerek ayrılmasını sağlamak amacıyla örnekler, +4 °C'de çalkalayıcı üzerinde 24 saat boyunca ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon süresinin sonunda örnekler, 16.000 g kuvvetinde 30 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında elde edilen süpernatant fraksiyonu dikkatlice alınarak yeni tüplere aktarılmış ve bu fraksiyon protein ekstraktı olarak değerlendirilmiştir. Elde

edilen ekstraktlar, sonraki moleküler analizlerde kullanılmak üzere -20 °C' de muhafaza edilmiştir.

Spektrofotometrik Protein Ölçümü:Örneklerin total protein miktarlarının ölçülmesi için K-Lab Optızen spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. Bu cihaz, 190–850 nm dalga boyu aralığında çalışan, ksenon flaş lambası ve CMOS sensör sistemi ile yüksek hassasiyetli ölçüm yapabilen bir spektrofotometredir. Ekstraksiyon işlemi gören örneklerden 2 µL alınarak nanodrop cihazında ölçülmüştür. Total protein konsantrasyonları spektrofotometre ile belirlenen örnekler, SDS-PAGE analizinde değerlendirilmiştir.



Şekil 3.3 K-Lab Optızen spektrofotometre cihazı

Bradford Yöntemi: ELISA analizlerinde örnekler arasında karşılaştırılabilir ve güvenilir sonuçlar elde edebilmek amacıyla, antijen miktarlarının eşitlenmesi için toplam protein konsantrasyonlarının belirlenmesi gerekmektedir. Bu doğrultuda nanodrop spektrofotometre cihazında ölçülen örneklerin ayrıca Bradford yöntemi ile total protein miktarları ölçülmüştür.

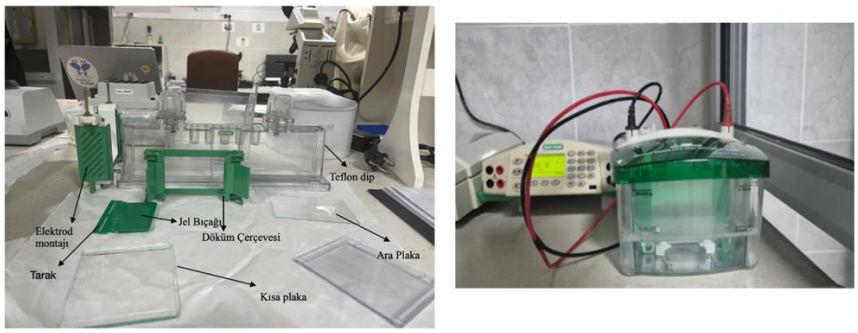
Bradford protein tayini, asidik ortamda Coomassie Brilliant Blue G-250 boyasının proteinlere bağlanması sonucu oluşan renk değişiminin protein konsantrasyonu ile

orantılı olarak artması prensibine dayanmaktadır ve maksimum absorbans 595 nm dalga boyunda ölçülmektedir.

Toplam protein ölçümleri, Fine Bradford Protein Assay Kiti kullanılarak 96 kuyucuklu mikroplaka formatında gerçekleştirilmiştir. Standart eğrinin oluşturulması için sığır serum albümini (BSA) standart çözeltileri hazırlanmış ve standartlar ile örnekler mikroplaka kuyucuklarına eşit hacimde eklenmiştir. Ardından Bradford çalışma reaktifi tüm kuyucuklara ilave edilerek homojen karışım sağlanmış ve reaksiyon tamamlandıktan sonra absorbans değerleri mikroplaka okuyucuda 595 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Blank kuyucukların ortalama absorbans değerleri ölçümlerden çıkarılmış (Bovine serum albumin) BSA standartlarına ait absorbans–konsantrasyon ilişkisine dayalı standart eğri kullanılarak örneklerin toplam protein konsantrasyonları hesaplanmıştır. Elde edilen protein konsantrasyonları, ELISA analizlerinde kullanılacak örneklerin eşit protein miktarı içerecek şekilde seyreltilmesi ve normalizasyonu amacıyla kullanılmıştır.

3.5.2 Sodyum dodesilsülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE)

Betula pendula polenlerine ait proteinlerin moleküler ağırlıklarına göre ayrıştırılarak protein profillerinin belirlenmesi amacıyla SDS-PAGE (Sodyum Dodesil Sülfat–Poliakrilamid Jel Elektroforezi) analizi uygulanmıştır. SDS-PAGE analizinde kullanılan ekipmanlar şekil 3.4 ‘de verilmiştir. Bu analizde kullanılan çözelti ve tamponlar çizelge 3.3 ‘de verilmiştir.



Şekil 3.4 SDS-PAGE analizinde kullanılan jel döküm aşamasına ait ekipmanlar

Poliakrilamid jeli, örneklerin yan yana karşılaştırılabilmesi için iki cam plakanın arasına hazırlanmıştır. Cam plakalar uygun şekilde hizalanmış, kıskaçlarla sıkıca sabitlenmiş ve jelin alt kısmında sızıntıyı engellemek amacıyla teflon dip "spacer" yerleştirilmiştir. Herhangi bir sızıntı olmadığından emin olunduktan sonra ayırma (separating) jelinin karışımı hazırlanmıştır. Jel karışımlarının bileşimi çizelge 3.4'de verilmiştir.

Çizelge 3.3 SDS-PAGE analizinde kullanılan çözelti ve tamponların bileşimi

Monomer Karışımı (37,5:1)	**1,5 M Tris-HCl pH:8.8**	**Örnek Tampon**	**Elektrod Tamponu X5 pH:8,3**	**0,5 M Tris-HCl pH:6,8**	**Boya Sabitleyici**
Akrilamid 29,2 g	Tris base 18,15 g	SDS 2 g	Tris Base 15,1 g	Tris base 6 g	İzopropil alkol 250 ml
Bisakrilamid 0,8 g	Saf su 100 ml	0,5 M Tris-HCl (pH 6,8) 5,12 ml	Glisin 72 g	Saf su 100 ml	Asetik asit 50 ml
Saf su 100 ml		2-markaptoetanol 4ml	SDS 5 g		Saf su 300 ml
		Bromofenol Blue (%0,01'lik) 3 ml	Saf su 1000 ml		
%10'luk SDS	**Boya Çözeltisi**	Gliserol 8 ml	**%10'luk APS**	**Boya Giderme**	
SDS 10 g	Asetik asit 50 ml		Amonyum persülfat 100 mg	Asetik asit 50 ml	
Saf su 100 ml	Saf su 450 ml		Saf su 1ml	Saf su 450 ml	

Çizelge 3.4 SDS-PAGE analizinde kullanılan %14 ayırma jeli ve %4 yığma jelinin bileşimi

%14 'lük ayırma jeli		**%4 'lük yığma jeli**	
Saf su (ml)	1,35 ml	Saf su (ml)	6,1 ml
Monomer karışımı(ml)	2,35 ml	Monomer karışımı(ml)	1,3 ml
1.5 M Tris-HCl (pH 8,8)	1,25 ml	1.5 M Tris-HCl (pH 8,8)	2,5 ml
%10'luk SDS (ml)	0,05 ml	%10'luk SDS (ml)	0,1 ml
APS	100 µL	APS	200 µL
Temed	10 µL	Temed	40 µL

Ayırma jeli hazırlandıktan sonra, karışım 5 ml'lik bir pipet kullanılarak hava kabarcığı oluşmamasına dikkat edilerek iki cam plaka arasına dikkatlice dökülmüştür. Jelin düzgün bir şekilde polimerleşmesi ve yüzeyinin düz olması için ayırma jelinin üzerine Pastör pipeti yardımıyla yavaşça bir miktar distile su eklenmiştir. Yaklaşık 30 dakika sonunda polimerleşme tamamlanmıştır. Polimerleşme tamamlandıktan sonra üstteki su tabakası uzaklaştırılmış ve jel yüzeyi olası partiküllerin giderilmesi amacıyla distile su ile nazikçe yıkanmıştır. Bu aşamadan sonra, ayırma jelinin derişimine uygun olarak yığma (stacking) jeli hazırlanmıştır. Yığma jelinin bileşimi Çizelge 3.4'de verilmiştir. Hazırlanan yığma jeli, polimerleşmiş ayırma jelinin üzerine dikkatlice dökülmüş ve jel kuyularının oluşmasını sağlayacak tarak, hava kabarcığı kalmayacak şekilde yerleştirilmiştir. Üst jelin polimerleşmesi için yaklaşık 30 dakika beklenmiştir.

Örneklerin Hazırlanması ve Jele Yüklenmesi: Daha önce ekstraksiyon işlemi yapılmış ve protein miktarları belirlenmiş olan *Betula pendula* polen örneklerine, protein konsantrasyonlarına göre 2:1 oranlarında örnek tamponu eklenmiş ve denatürasyon işlemi uygulanmıştır. Denatüre edilen örnekler, her bir kuyuya eşit miktarda protein yüklenmesini sağlayacak şekilde uygun hacimlerde pipet yardımıyla dikkatlice kuyulara aktarılmıştır. Kuyulardan birine, moleküler ağırlığı bilinen ticari protein karışımı olan marker yüklenmiştir. Marker, jel üzerinde oluşan bantların moleküler ağırlıklarının belirlenmesinde referans olarak kullanılmıştır. Jel yüklendikten sonra elektroforez tankına koşma tamponu eklenmiştir. Koşma tamponu hazırlanışı

Çizelge 3.3'de verilmiştir. 150 voltaj verilerek yaklaşık 90 dakika koşturulmuş ve proteinlerin poliakrilamid jel içinde ayrılması sağlanmıştır. Ayrım tamamlandıktan sonra cam plakalar dikkatle birbirinden ayrılarak jel çıkarılmıştır.

Jellerin Coomassie Brilliant Blue ile Boyanması: Jel, ağzı kapaklı ve aside dayanıklı bir kaba alınmış ve üzerine fiksatif çözeltisi eklenerek proteinlerin jel içerisine sabitlenmesi sağlanmıştır. Yaklaşık 30 dakika bekleme süresinin ardından fiksatif uzaklaştırılmıştır. Daha sonra jel, bantların görünür hale gelmesi için Coomassie Brilliant Blue boyama çözeltisi içerisine aktarılmış ve hafif çalkalayıcıda 1 saat inkübe edilmiştir.

Boyama süresi tamamlandıktan sonra jel boya çözeltisinden çıkarılmış ve fazla boyanın uzaklaştırılması amacıyla %10'luk asetik asit çözeltisi içerisinde 10 dakika bekletilmiştir. Bu yıkama işlemi, jel üzerinde istenmeyen arka plan boyaması kalmayana kadar tekrarlanmıştır.

3.6 ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)

Toplanan polen örneklerinde Bet v 1 alerjen protein düzeylerinin belirlenmesi amacıyla InBio Bet v 1 ELISA 2.0 antikor kaplı kit kullanılmıştır. Analiz, üretici firmanın önerdiği protokol doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. ELISA deneyi aşamaları ve kullanılan tampon çözeltiler altta maddeler halinde verilmiştir (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5 ELISA analizinde kullanılan yıkama tamponu, assay tamponu ve standart tamponunun hazırlanışı

Yıkama tamponu (1×)	**Deney (assay) tamponu**	**Standart tamponu**
Wash buffer (15 ml) (10×)	Assay buffer 11 µl	Assay buffer 180 µl
Distile su (135 ml)	Biotinylated monoclonal antibody 11 µl	Bet v 1 allergen standard 20 µl
	Streptoavidin-peroxidase 11 µl	

1. Kit içerisinden yıkama tamponu, deney tamponu, standart protein, biotin, streptoavidin peroksidaz enzimi, sekonder antikor, TMB substratı ve durdurma tamponu hazır halde gelmektedir (Çizelge 3.5).

2. Deneye başlamadan önce temiz kaplar içerisinde, 10× konsantre çözeltilerden 1× yıkama (wash) ve deney (assay) tamponları hazırlanmıştır. Bunun için 18,2 MΩ deiyonize su veya Tip I ultrapure su kullanılmıştır.

3. Bir plaka için:

Yıkama tamponu: 15 ml konsantre + 135 ml su (toplam 150 ml)

Deney tamponu: 3 ml konsantre + 27 ml su (toplam 30 ml) olacak şekilde hazırlanmıştır.

4. Antikorla kaplanmış olarak hazır şekilde sunulan InBio Bet v 1 ELISA 2.0 plakları, antikorların aktivasyonunun sağlanması için Yıkama Tamponu ile üç kez yıkanmıştır.

5. Standartların eklenmesi aşamasında A ve B sırasındaki kuyucuklara 100 µL assay buffer eklenmiştir. A1–B1 kuyucuklarına ek olarak 80 µL assay buffer daha eklenmiş ve bu kuyucuklardaki toplam hacim 180 µL olacak şekilde ayarlanmıştır, diğer tüm kuyucuklar 100 µL içermiştir. Standart nazikçe vortex edilmiş ve A1 ve B1 kuyucuklarına 20 µL eklenmiştir. Pipetle 8–10 kez yukarı-aşağı karıştırdıktan sonra, ardından 100 µL alınarak A2 ve B2 kuyucuklarına transfer edilmiştir. Karıştırma ve iki kat seri seyreltme (doubling dilution) işlemi A10 ve B10 kuyucuklarına kadar sürdürülmüştür. A10 ve B10 kuyucuklarından 100 µl çıkarılıp atılmıştır (kuyularda 100 µL kalacak şekilde ayarlanmıştır).

6. A11, B11 ve A12, B12 kuyucuklarına assay buffer eklenerek Blank olarak kullanılmıştır.

7. 1:8 ve 1:10 oranında PBS kullanılarak seyreltilmiş polen örnekleri ilgili plak kuyularına 100 µl miktarında üç tekrarlı olarak eklenmiş ve plaklar 1 saat süreyle oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır.

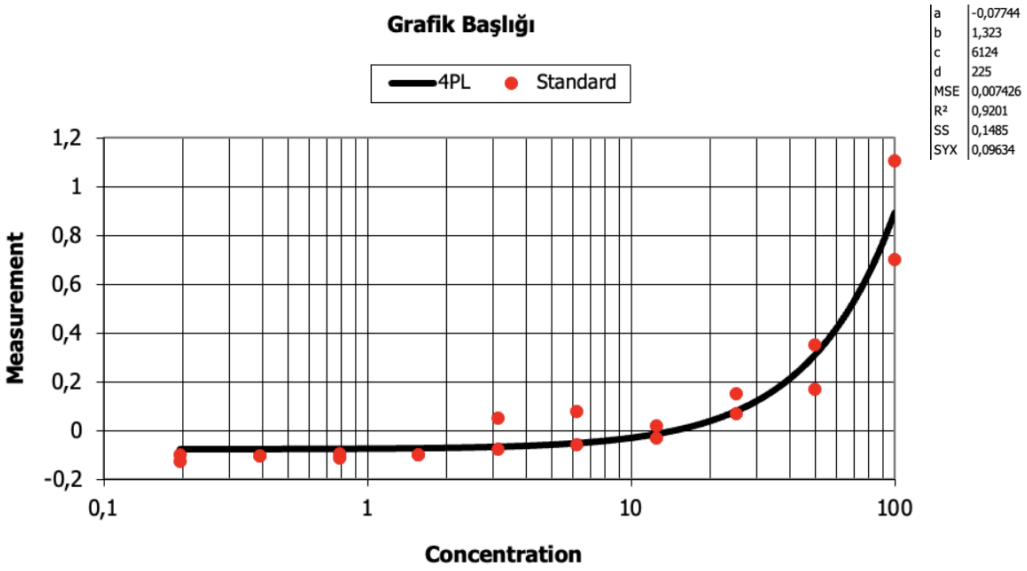
8. İnkübasyon sonrasında kuyular yıkama tamponu ile üç kez yıkandıktan sonra kit içerisinde yer alan Biotinylated monoclonal antibody 6H4, Streptoavidin - preoxidase IgG ve assay buffer karışımı (1:1000 seyreltme ile) kuyulara 100 µL ilave edilmiştir (Çizelge 3.5). Bu aşamada plaklar, sekonder antikor ile 1 saat boyunca oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edilmiştir.

9. İnkübasyonun tamamlanmasından sonra kuyular tekrar üç kez yıkama tamponu ile yıkanmıştır.

10. Ardından tüm kuyucuklara çok kanallı pipet ile 100 µL TMB substratı eklenmiş ve renk gelişimi izlenmiştir. Mavi renk değişiminden sonra reaksiyon ön kontrol amaçlı 450 nm dalga boyunda ölçülmüş, Standart 1 için OD450 değeri 0.08–0.09'a ulaştığında, çok kanallı pipet ile her kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu eklenmiştir, renk sarıya dönmüştür.

11. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra absorbans değerleri ELISA okuyucu cihazında okunmuştur.

Kuyularda yer alan Bet v 1 alerjen miktarı "Dört Parametreli Lojistik Eğri" yöntemine göre standartlardan hazırlanacak grafik ile hesaplanmıştır (Şekil 3.5). Absorbansların okunmasıyla elde edilen bir mililitre sıvı içerisinde alerjen miktarları, ng/ml cinsinden belirlenmiştir.



Şekil 3.5 Dört parametreli lojistik eğri

Ekstraksiyon ve seyreltme oranları da göz önünde bulundurularak her bir örnek için Bet v 1 miktarları µg/g polen cinsinden alttaki formülle hesaplanmıştır.

Bet v 1 (µg/g) = Konsantrasyon×0.9/1000×1/0.1=Konsantrasyon×0.009

Formül basamakları altta sunulmuştur.

1. Ekstraksiyon:

→ 0.1g polen + 900 µL PBS tamponu

→ Hacim ≈ 0.9 ml ekstrakt

→ Ekstraktın içinde 0.1 g polen var.

2. Seyreltme (örneğin 1/10 sulandırma için):

→ 150 µL ekstrakt + 1350 µL PBS → 1500 µL

→ Seyreltme katsayısı = 10

→ 1/8 için benzer şekilde Seyreltme katsayısı = 8

3. ELISA'dan çıkan Konsantrasyon (ortalama) değerinin birimi: ng/ml (seyreltilmiş ekstrakt için)

4. Orijinal ekstraktın Bet v 1 konsantrasyonu:

Normal Konsantrasyon (ng/ml) = Ortalama konsantrasyon× Seyreltme katsayısı

5.Bu ekstraktta µg/g polen hesabı:

→ Ekstrakt hacmi = 0.9 ml

→ Normal Konsantrasyon × 0.9 = toplam ng Bet v 1

→ /1000 → µg

→ /0.1 g polen → µg/g

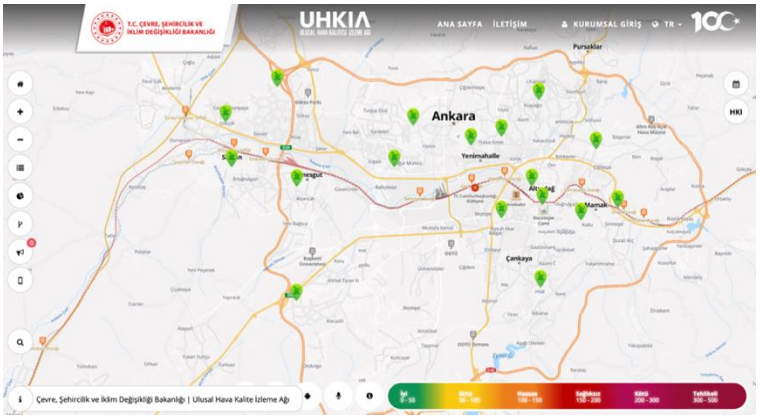
Bet v 1 (µg/g) = Normal konsantrasyon×0.9/1000×1/0.1= Normal konsantrasyon×0.009

Formülün son hali:

Bet v 1 (µg/g polen) = Ortalama Konsantrasyon × Seyreltme katsayısı × 0.009

3.7 Hava Kalitesi Verilerinin Temini ve Değerlendirilmesi

Bu çalışmada kullanılan hava kalitesi verileri, T.C. Çevre, Şehircilik ve İklim Değişikliği Bakanlığı tarafından işletilen Ulusal Hava Kalitesi İzleme Ağı'na ait (https://sim.csb.gov.tr/Services/AirQuality) ölçüm istasyonlarından elde edilmiştir (Şekil 3.6). Örneklerin lokasyon alanını temsil edecek şekilde istasyonlar esas alınmış ve Ocak–Mayıs 2025 dönemine ait ölçüm verileri analiz kapsamına dâhil edilmiştir. Her bir istasyon için ölçülen kirletici parametrelerin aylık ortalama değerleri hesaplanmış; ayrıca bu aylık ortalamalar üzerinden beş aylık ortalama kirletici düzeyleri belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, istasyonlarda ölçülen kirleticilere ait maksimum ve minimum değerlerin gözlendiği tarihler tespit edilerek kaydedilmiştir. Elde edilen veriler istasyon bazında tablolaştırılmış; aylık ortalama kirletici değerlerinin zamansal değişimini göstermek amacıyla her bir istasyon için grafikler oluşturulmuştur. Bu grafikler aracılığıyla kirletici konsantrasyonlarının aylara göre değişimi görsel olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.6 Ulusal hava kalitesi izleme ağı

3.8 Veri analizi ve İstatiksel Değerlendirme

Betula pendula polenleri, morfolojik olarak ışık mikroskobunda incelenmiş ve polar eksen uzunluğu, ekvatoral eksen uzunluğu, ekzin kalınlığı, intin kalınlığı, por uzunluğu, por genişliği ve onkus derinliği parametreleri bakımından ölçülmüştür. Elde edilen veriler Python programlama dili ortamında pandas kütüphanesi kullanılarak analiz edilmiş ve her bir parametre için kutu grafikleri (boxplot) oluşturulmuştur.

Parametreler arasında 16 farklı örnek için anlamlı farkların olup olmadığını belirlemek amacıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. ANOVA analizi, gruplar arasındaki varyansın, grup içi varyanstan anlamlı şekilde farklı olup olmadığını test ederek morfolojik parametreler bakımından örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları ortaya koymaktadır.

FT-IR verilerinin analizinde OriginPro 2026 yazılımı kullanılmıştır. Söz konusu yazılım, Ankara Üniversitesi tarafından akademik çalışmalar için lisanslı olarak temin edilmiş olup, spektral verilerin işlenmesi ve değerlendirilmesinde kullanılmıştır. FT-IR spektrumlarının analizinde, öncelikle ham veriler yazılıma aktarılmış, gerekli durumlarda baz çizgisi (baseline) düzeltmesi ve yumuşatma (smoothing) işlemleri uygulanmıştır. Ardından karakteristik fonksiyonel grup bantlarının belirlenmesi amacıyla ilgili dalga sayısı aralıkları seçilmiş ve hesaplanmıştır. Elde edilen veriler

istatistiksel analizler ve grafiksel gösterimler için kullanılarak FT-IR sonuçlarının karşılaştırmalı değerlendirilmesi yapılmıştır.

SDS-PAGE jel görüntülerinden elde edilen protein bantlarının moleküler ağırlık (kDa) değerleri, Bio-Rad Quantity One (1-D Analysis Software) yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır. Manuel olarak bantlar işaretlenmiştir ve Bio-Rad programı üzerinden protein bantlarının moleküler ağırlık değerleri (kDa) belirlenmiştir. Python programlama dili kullanılarak örnekler arasındaki benzerlik ilişkileri hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) ile değerlendirilmiş ve sonuçlar dendrogram şeklinde görselleştirilmiştir.

ELISA sonuçlarının işlenmesi, Bet v 1 konsantrasyonlarının hesaplanması, istatistiksel analizler ve grafiklerin oluşturulması için Python programlama dili kullanılmıştır. Tüm analizler Jupyter Notebook ortamında yürütülmüştür.

Ham verilerin Excel dosyalarından okunması, konsantrasyon (ng/ml) değerlerinin, seyreltme faktörleri (8× ve 10×) ve ekstraksiyon koşulları dikkate alınarak Bet v 1 (µg/g polen) birimine dönüştürülmesi ve örnek/grup bazlı özet tabloların oluşturulmasında pandas kütüphanesinden yararlanılmıştır. İstatistiksel testler için SciPy kütüphanesinin scipy.stats modülü kullanılmış; kirli ve temiz bölge örneklerinin karşılaştırılmasında kütüphanesi ile çizilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu tez çalışması, trafik kirliliğinin etkilerini incelemek amacıyla beş ana aşamada yürütülmüştür. Çalışmada, *Betula pendula* polenlerinin morfolojisi, yaprakların anatomisi ve mikromorfolojisi, polenlerin FT-IR spektroskopisi ile kimyasal analizi, SDS-PAGE yöntemi ile polen protein profillerinin belirlenmesi ve Bet v 1 alerjen proteininin ELISA yöntemiyle tayini gerçekleştirilmiştir.

4.1 *Betula pendula* Polen Morfolojisi Analiz Sonuçları

4.1.1 Polenlerin ışık mikroskobu (LM) ile analizi

Betula pendula polenleri ışık mikroskobunda, polar eksen uzunluğu, ekvatoral eksen uzunluğu, ekzin kalınlığı, intin kalınlığı, por uzunluğu, por genişliği ve onkus derinliği bakımından ölçülmüştür (Çizelge 4.1). Polenler, radyal simetrik, izopolar, % 80 triporat, % 20 tetraporattır. Polar eksen (P) ortalama 23,62 µm, ekvatoral eksen (E) ise 24,24 µm'dir. P/E oranı 0,98 olup, polen şekli oblat-sferoidaldir. Ekzin ortalama 0,99 µm kalınlıktadır. İntin ortalama 0,55 µm kalınlıktadır. Onkus derinliği ortalama 4,05 µm'dir. Por uzunluğu (plg) 1,93 µm, por genişliği (plt) 1,58 µm'dir. Temiz ve kirli lokasyonlardan elde edilen polen örneklerine ait temsili mikroskobik görüntüler aşağıda verilmiştir (Şekil 4.1). *Betula pendula* polenlerine ait 1–16 numaralı örneklerin her bir parametre için kutu grafiği (boxplot) yapılmıştır (Şekil 4.2- Şekil 4.8). Grafikler medyan değerler esas alınarak küçükten büyüğe doğru sıralanmıştır.

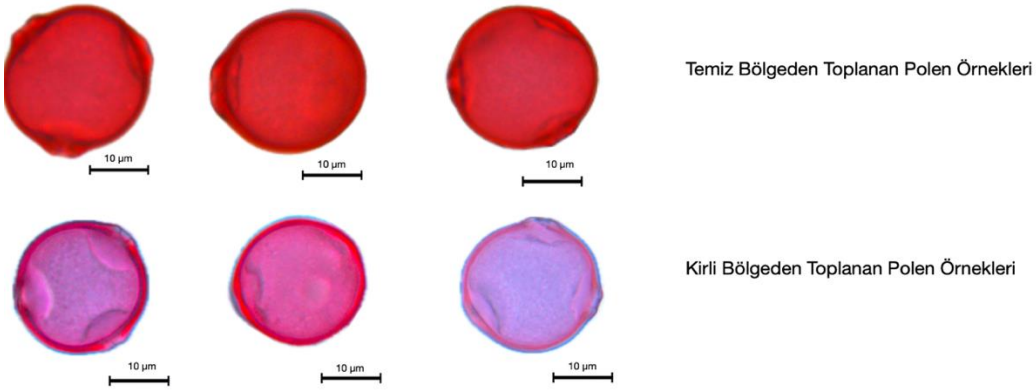
Kutu grafiğindeki (boxplot) polar eksen uzunluk değerleri yaklaşık olarak 18-30 µm aralığındadır. Kirli bölgeden toplanan *Betula* 7, *Betula* 8, *Betula* 13 ve *Betula* 16 numaralı örnekler en yüksek medyan değerindedir. Polar eksen uzunluklarında temiz bölgeden toplanan *Betula* 14 numaralı örnek (20,48 ± 1,22) en düşük medyan değerini vermektedir.

Ekvatoral eksen uzunluk değerleri 19-32 µm aralığındadır. Kirli bölgeden toplanan *Betula* 3, *Betula* 7, *Betula* 13, *Betula* 9 ve *Betula* 10 numaralı örnekler en yüksek

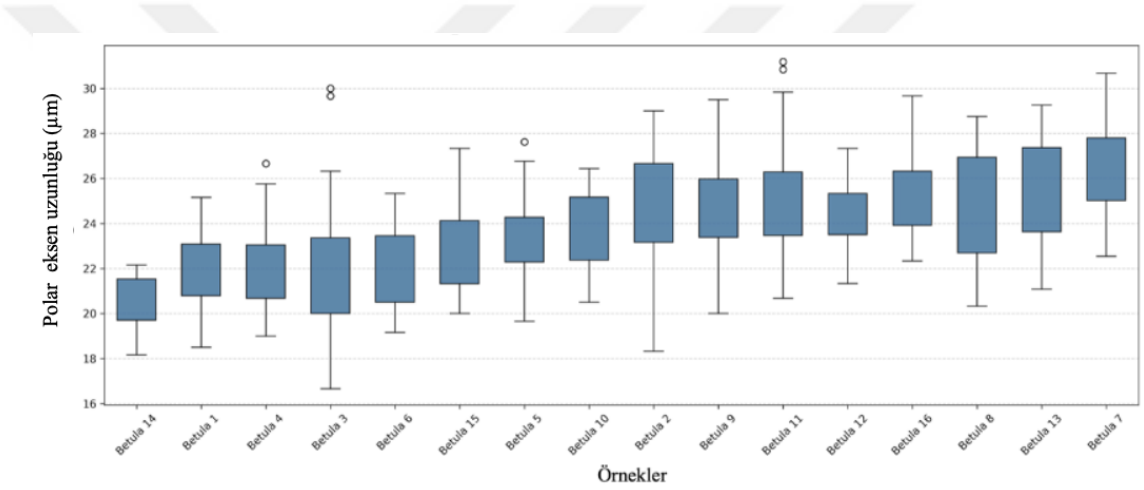
medyan değerlerini göstermektedir. Buna karşılık temiz bölgeden toplanan *Betula* 14 numaralı örnek (20,36 ± 1,00) en düşük değerleri göstermektedir. Ekzin ve intin kalınlıklarında temiz bölgeden toplanan *Betula* 14 numaralı örnek düşük değerlere sahiptir. Por uzunluğu ve por genişliği değerlerinde *Betula* 5 numaralı örnek por uzunluğu bakımından düşük değeri ve *Betula* 7 numaralı örnek en yüksek değeri göstermektedir. Onkus derinliklerinde kirli bölgeden toplanan *Betula* 5 numaralı örnek en yüksek değeri (5,16 ± 0,82) ve temiz bölgeden toplanan *Betula* 14 numaralı örnek (3,41 ± 0,63) düşük değeri göstermektedir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 16 farklı lokasyondan elde edilen *Betula pendula* polenlerinin ışık mikroskobunda ölçülen parametreleri

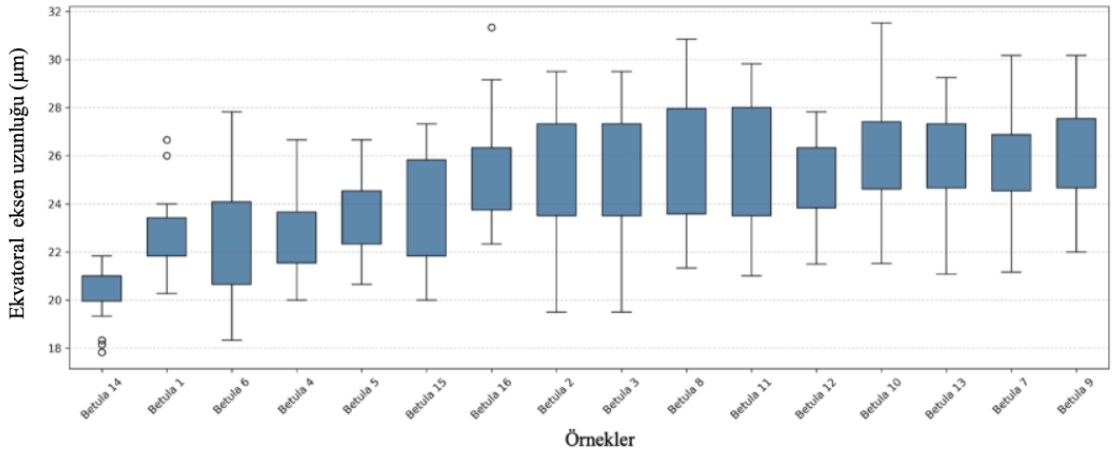
	Polar eksen uzunluğu (P) (µm)	Ekvatoral eksen uzunluğu (E) (µm)	Ekzin kalınlığı (µm)	İntin kalınlığı (µm)	Por uzunluğu (Plg) (µm)	Por genişliği (Plt) (µm)	Onkus derinliği (µm)
Betula 1	21,02 ±1,92	22,62 ± 1,57	0,83 ± 0,29	0,33 ± 0,1	1,91 ± 0,52	1,52 ± 0,56	3,16 ± 1,24
Betula 2	24,49 ± 2,70	25,04 ± 2,40	1,08 ± 0,14	0,5 ± 0,17	1,7 ± 0,50	1,3 ± 0,30	3,68 ± 1,05
Betula 3	22,08 ± 2,83	23,58 ± 2,56	0,77 ± 0,24	0,5 ± 0,21	2,25 ± 0,62	1,57 ± 0,49	4,03 ± 1,03
Betula 4	22,19 ± 1,92	22,78 ± 1,68	0,73 ± 0,27	0,51 ± 0,22	1,96 ± 0,39	1,59 ± 0,40	4,07 ± 0,81
Betula 5	23,29 ± 1,69	23,43 ± 1,93	1,09 ± 0,29	0,55 ± 0,12	1,40 ± 0,36	1,02± 0,40	5,16 ± 0,82
Betula 6	21,19 ± 1,75	22,03 ± 2,30	0,99 ± 0,19	0,65 ± 0,15	1,68 ± 0,59	1,70 ± 0,41	3,67 ± 0,72
Betula 7	26,35 ± 2,14	25,5 ± 2,18	1,28 ± 0,27	0,640 ± 0,20	2,58 ±0,68	2,71 ± 068	3,46 ± 0,91
Betula 8	24,99 ± 2,48	25,62 ± 2,68	1,48 ± 0,19	0,66 ± 0,13	1,74 ± 0,54	1,64 ± 0,53	4,09 ± 1,47
Betula 9	24,74 ± 2,23	26,08 ± 2,08	0,99 ± 0,19	0,65 ± 0,16	1,75 ± 0,54	1,33 ± 0,47	4,11 ± 0,83
Betula 10	23,76 ± 1,68	25,88 ± 2,25	1,24 ± 0,29	0,55 ± 0,11	1,98 ± 0,48	1,83 ± 0,39	4,54 ± 1,41
Betula 11	25,09 ± 2,77	25,7 ± 2,68	0,93 ± 0,39	0,57 ± 0,21	1,89 ± 0,59	1,55 ± 0,46	4,62 ± 1,25
Betula 12	24,71 ± 1,59	25,06 ± 1,60	0,71 ± 0,14	0,39 ± 0,13	2,21 ± 0,65	1,91 ± 0,45	4,19 ± 0,79
Betula 13	25,01 ± 3,30	25,58 ± 2,35	1,09 ± 0,18	0,66 ± 0,18	1,91 ± 0,72	1,60 ± 0,45	4,02 ± 1,41
Betula 14	20,48 ± 1,22	20,36 ± 1,00	0,56 ± 0,18	0,49 ± 0,69	1,73 ± 0,33	1,65 ± 0,57	3,41 ± 0,63
Betula 15	23,12 ± 2,18	23,74 ± 2,22	1,01 ± 0,20	0,61 ± 0,10	2,17 ± 0,50	0,63 ± 0,6	4,7 ± 1,1
Betula 16	25,33 ± 1,92	24,89 ± 2,17	1,08 ± 0,21	0,53 ± 0,14	2,11 ± 0,43	1,84 ± 0,48	3,90 ± 0,55



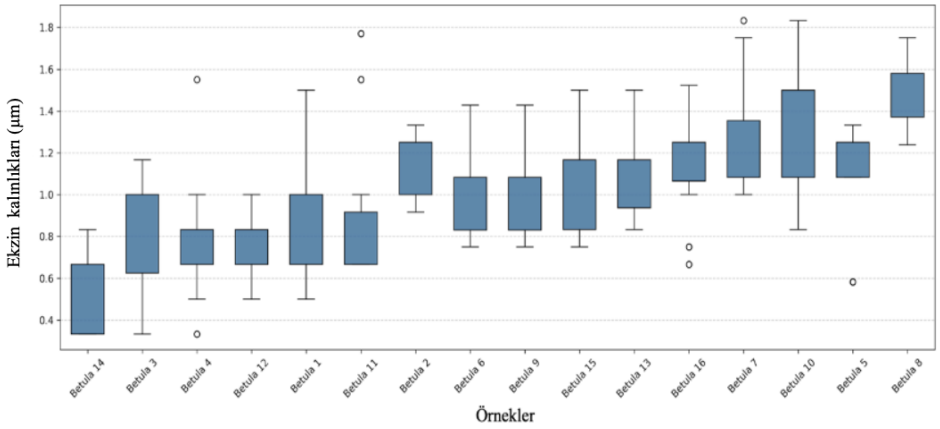
Şekil 4.1 Temiz ve kirli bölgeden toplanan polen fotoğrafları



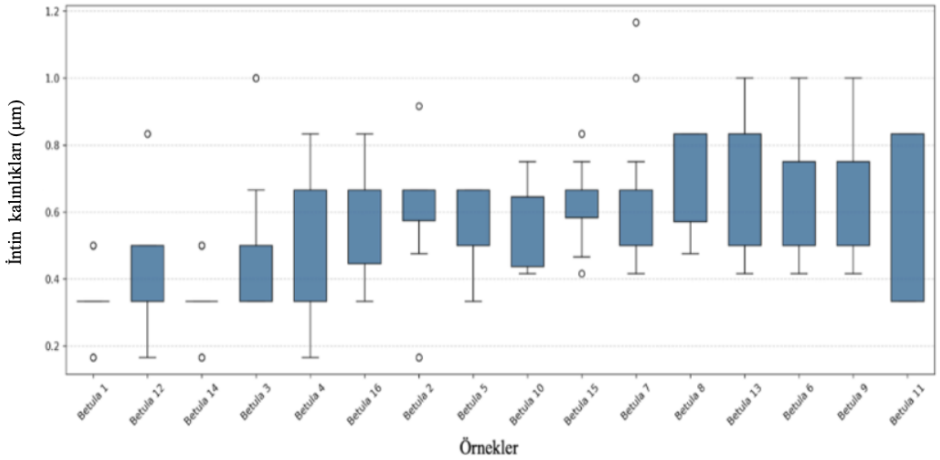
Şekil 4.2 *Betula pendula* polenlerine ait 1–16 numaralı örneklerin polar eksen uzunluklarının kutu-grafik (boxplot) dağılımı



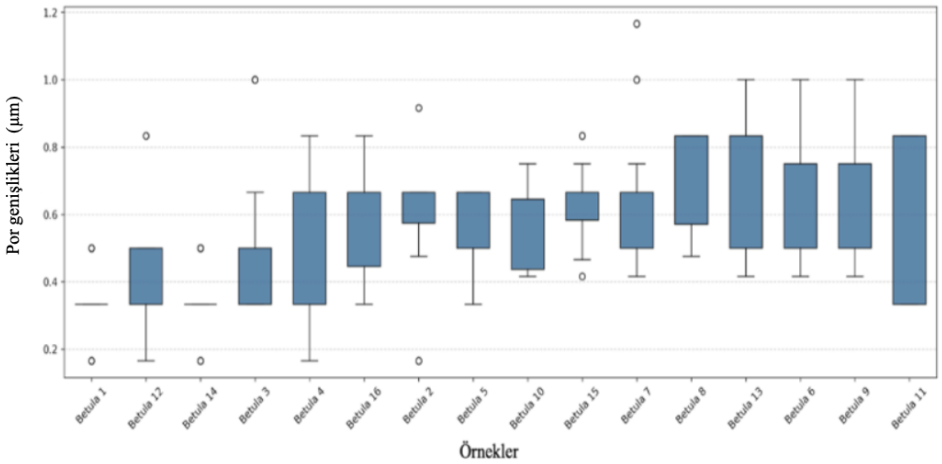
Şekil 4.3 *Betula pendula* polenlerine ait 1–16 numaralı örneklerin ekvatoral eksen uzunluklarının kutu-grafik (boxplot) dağılımı



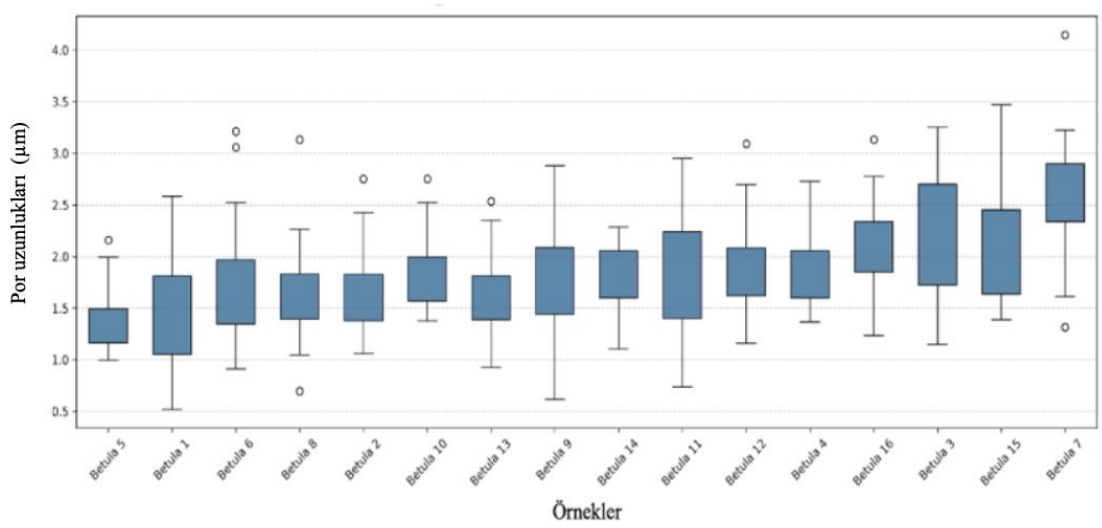
Şekil 4.4 *Betula pendula* polenlerine ait 1–16 numaralı örneklerin ekzin kalınlıklarının kutu-grafik (boxplot) dağılımı



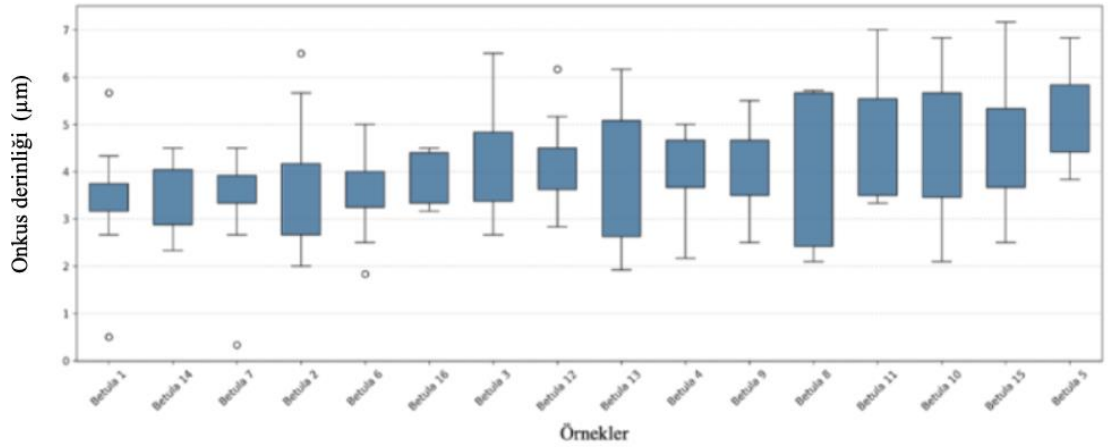
Şekil 4.5 *Betula pendula* polenlerine ait 1–16 numaralı örneklerin intin kalınlıklarının kutu-grafik (boxplot) dağılımı



Şekil 4.6 *Betula pendula* polenlerine ait 1–16 numaralı örneklerin por genişliklerinin kutu-grafik (boxplot) dağılımı



Şekil 4.7 *Betula pendula* polenlerine ait 1–16 numaralı örneklerin por uzunluklarının kutu-grafik (boxplot) dağılımı



Şekil 4.8 *Betula pendula* polenlerine ait 1–16 numaralı örneklerin onkus derinliklerinin kutu-grafik (boxplot) dağılımı

Işık mikroskobunda ölçülen polen parametrelerinin lokasyonlar arasındaki farklılıklarını ortaya koymak amacıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Post-hoc Tukey sonuçları aşağıdaki çizelge 4.2- 4.3' de verilmiştir. Bu analiz sonuçlarına göre polar ve ekvatoral eksen uzunlukları gruplar arasında belirgin düzeyde farklılık göstermiştir. Ayrıca diğer tüm parametrelerde de istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmıştır.

Çizelge 4.2 Polar eksen uzunluğu ile ilgili öne çıkan anlamlı farklılıklar

Gruplar	**Fark Yönü**	**Anlamlılık**
14 ↔ 7,8,9,10,11,12,15,16	Küçük- Büyük	$p < 0.001$
13 ↔ 7,8,9,10,11,12,15,16	Küçük - Büyük	$p < 0.001$
5 ↔ 9,10,11,12,15,16	Küçük - Büyük	$p < 0.05$
3,4,6 ↔ 10,11,12,15,16	Küçük - Büyük	$p < 0.05$

Çizelge 4.3 Ekvatoral eksen uzunluğu ile ilgili öne çıkan anlamlı farklılıklar

Gruplar	**Fark Yönü**	**Anlamlılık**
14 ↔ 9,10,11,12,15,16	Küçük - Büyük	$p < 0.001$
6 ↔ 9,10,11,12,15,16	Küçük - Büyük	$p < 0.001$
1,2,3 ↔ 9,10,11,12,15,16	Küçük - Büyük	$p < 0.05$
7,8 ↔ 14	Küçük - Büyük	$p < 0.01$

Yukarıdaki sonuçlara göre *Betula* 14 (Tunceli Ovacık, Gözeler milli parkı) temiz bölgeden alınan örnek hem ekvatoral hem de polar ölçümlerinde daha küçük değerlere sahip olduğu ve diğer örneklere göre anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Özellikle kirli bölgeden alınan *Betula* 7-8-9-10-11-12-15-16 örnekleri daha büyük değerlere sahip olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar geometrik boyutlarda bölgesel varyasyon olduğunu desteklemiştir.

Ekzin kalınlığı, intin kalınlığı, por uzunluğu, por genişliği ve onkus derinliği ile ilgili anlamlı farklılıklar aşağıda çizelge 4.4-4.8'da verilmiştir.

Çizelge 4.4 Ekzin kalınlığı ile ilgili öne çıkan anlamlı farklılıklar

Karşılaştırma	**Yön**	**p Değeri**
Grup 14 ↔ Grup 8, 9, 10, 11, 12, 16	14 daha ince	$p < 0.001$
Grup 13 ↔ Grup 9, 10, 11, 12	13 daha ince	$p < 0.05$

Çizelge 4.5 İntin kalınlığı ile ilgili öne çıkan anlamlı farklılıklar

Karşılaştırma	**Yön**	**p Değeri**
Grup 14 ↔ Grup 8, 9, 10, 11, 12, 16	14 ince	$p < 0.001$
Grup 6 ↔ Grup 9, 10, 11	6 ince	$p < 0.05$

Çizelge 4.6 Por uzunluğu ile ilgili öne çıkan anlamlı farklılıklar

Karşılaştırma	**Yön**	**p Değeri**
Grup 14 ↔ Grup 9, 10, 11, 12, 16	14 daha kısa	$p < 0.001$
Grup 13 ↔ Grup 10, 11, 12	13 daha kısa	$p < 0.05$

Çizelge 4.7 Por genişliği ile ilgili öne çıkan anlamlı farklılıklar

Karşılaştırma	**Yön**	**p Değeri**
Grup 14 ↔ Grup 8, 9, 10, 11, 12, 16	14 daha kısa	$p < 0.001$
Grup 13 ↔ Grup 9, 10, 11, 12	13 daha kısa	$p < 0.05$

Çizelge 4.8 Onkus derinliği ile ilgili öne çıkan anlamlı farklılıklar

Karşılaştırma	**Yön**	**p Değeri**
Grup 4 ↔ Grup 14	4 daha ince	$p < 0.001$
Grup 6 ↔ Grup 14	6 daha ince	$p < 0.001$
Grup 7 ↔ Grup 14	7 daha ince	$p < 0.001$
Grup 9 ↔ Grup 14	9 daha ince	$p < 0.001$
Grup 10 ↔ Grup 14	10 daha ince	$p < 0.001$
Grup 11 ↔ Grup 14	11 daha ince	$p < 0.001$

Bu ANOVA sonuçlarına bakıldığında *Betula* 14 (Tunceli Ovacık, Gözeler milli parkı) temiz bölgeden toplanan örnek morfolojik özellik parametrelerinde daha düşük ve daha küçük değerlere sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Bu tablolarda çoğunlukla *Betula* 9-10-11-12-16 daha yüksek ve daha büyük değerlere sahip olduğu görülmüştür.

Ekolojik ve fizyolojik açıdan bakıldığında, kirli alandan toplanan örneklerin ekzin ve intin tabakalarındaki duvar kalınlıklarının artışı ve polen çaplarındaki büyüklük,

bitkinin trafik kaynaklı hava kirliliğine karşı geliştirdiği bir stres yanıtı veya adaptif bir değişim olarak değerlendirilebilir. Temiz bölgeden toplanan örneklerde gözlenen ekzin ve intin tabakalarındaki ince duvar yapılarının ve daha küçük polen çaplarının olması bitkinin normal fizyolojik koşullar altında geliştiğini ve çevresel stres faktörlerine maruz kalmadığını göstermektedir.

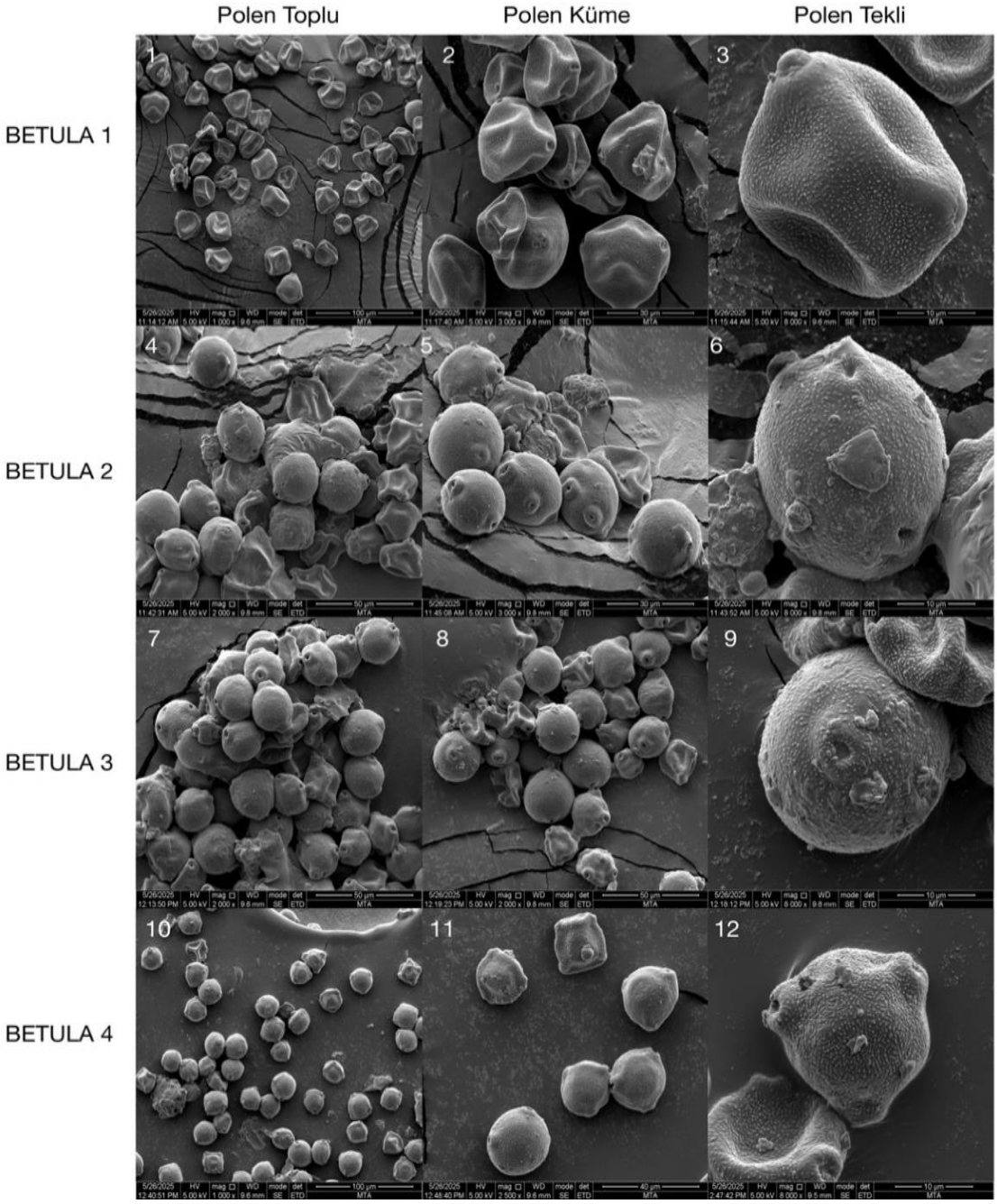
Çizelge 4.9 Morfolojik farklılıkların genel olarak karşılaştırılması

ÖZELLİK	TEMİZ BÖLGE (12-13-14)	KİRLİLİK BÖLGESİ (DİĞER GRUPLAR)
Ekvatoral & Polar Çap	Daha küçük (özellikle 14)	Daha büyük
Onkus	Daha ince (14 belirgin)	Daha kalın
Ekzin & İntin	Daha ince (13-14)	Daha kalın
Por uzunluğu & Por genişliği	Daha kısa (14 belirgin fark)	Daha uzun

4.1.2 *Betula pendula* polenlerinin SEM analiz sonuçları

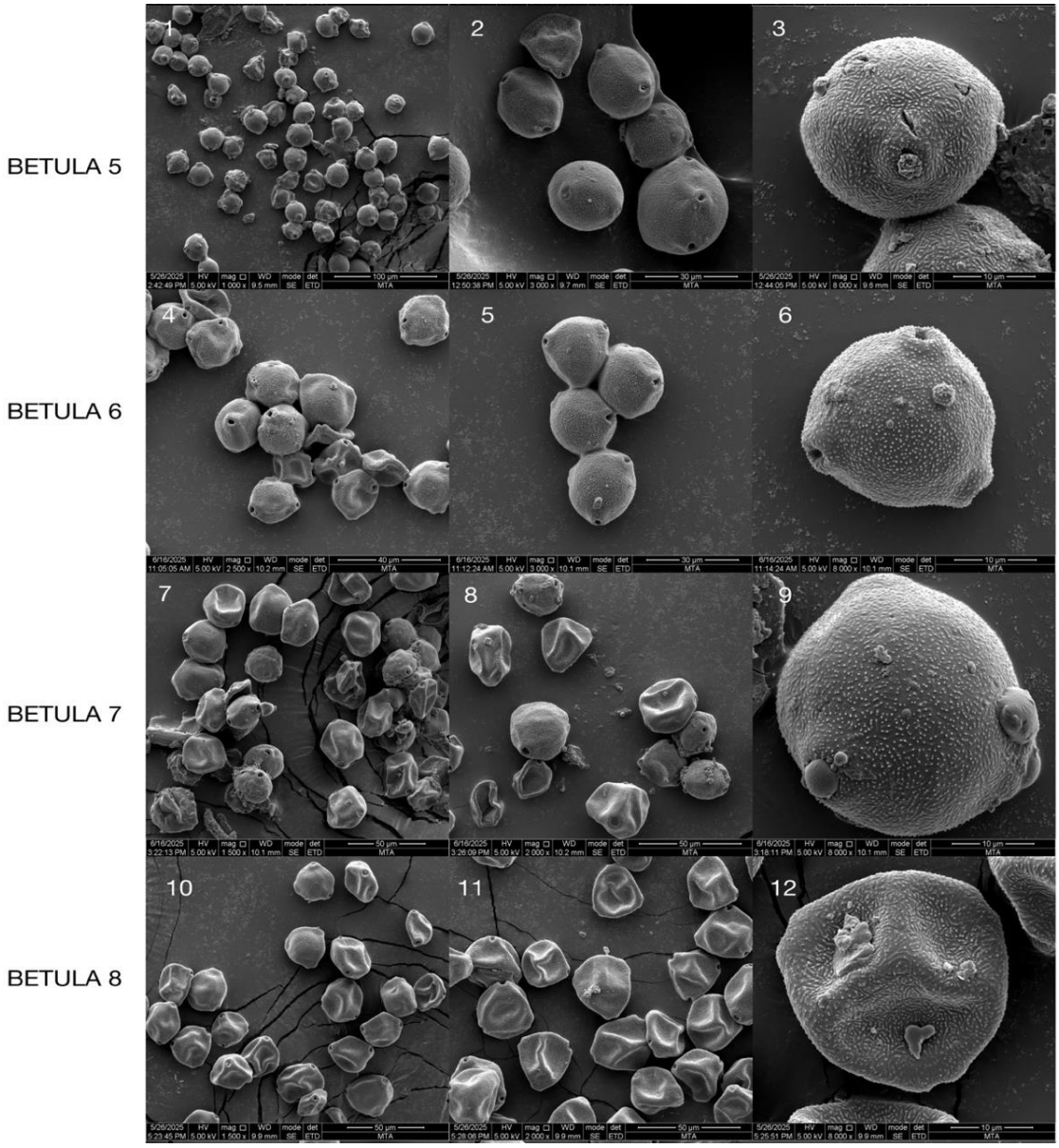
Elektron mikroskobu analizlerinde temiz ve kirli bölgelerden toplanan polen örnekleri ayrıntılı görüntülenmiştir (Şekil 4.9 - 4.12). Şekil Amb şekli sirkulardır. Ekzin tektat, ornamentasyon ise belirli granülattır. Vestibulum mevcuttur. SEM mikrofotoğraflarında, ornemantasyon granülat-striat olarak saptanmıştır. Yüzeyde 4 μm^2 de granül sayısı ortalama 10-15'tir. Aspis çok belirgin değildir. SEM analizi sonucuna göre polen yüzeyinde farklı büyüklüklerde birçok partikül madde birikimi gözlenmiştir. Por etrafında veya porlar arasında birçok kirletici partikülün yer aldığı görülmüştür. Temiz lokasyonlardan elde edilen (kontrol grubu) polenlere kıyasla diğer kirli lokasyonlardan elde edilen polenlerin (özellikle *Betula* 2, 3, 11, 15, 16 nolu örnekler) çok miktarda kirletici ile kaplandığı görülmüştür.

Betula pendula polenlerinin SEM analizlerinde, kirli bölgeden toplanan *Betula* 1-4 numaralı örnekler incelenmiştir (Şekil 4.9). *Betula* 1 numaralı örneğe ait polen tanelerinde, polen şeklinin bozulduğu ve polen yüzeyinde lokal çöküntülerin oluştuğu gözlemlenmiştir. *Betula* 2, *Betula* 3 ve *Betula* 4 numaralı örneklerde ise polen yüzeyinde partikül birikimleri görülmüştür.



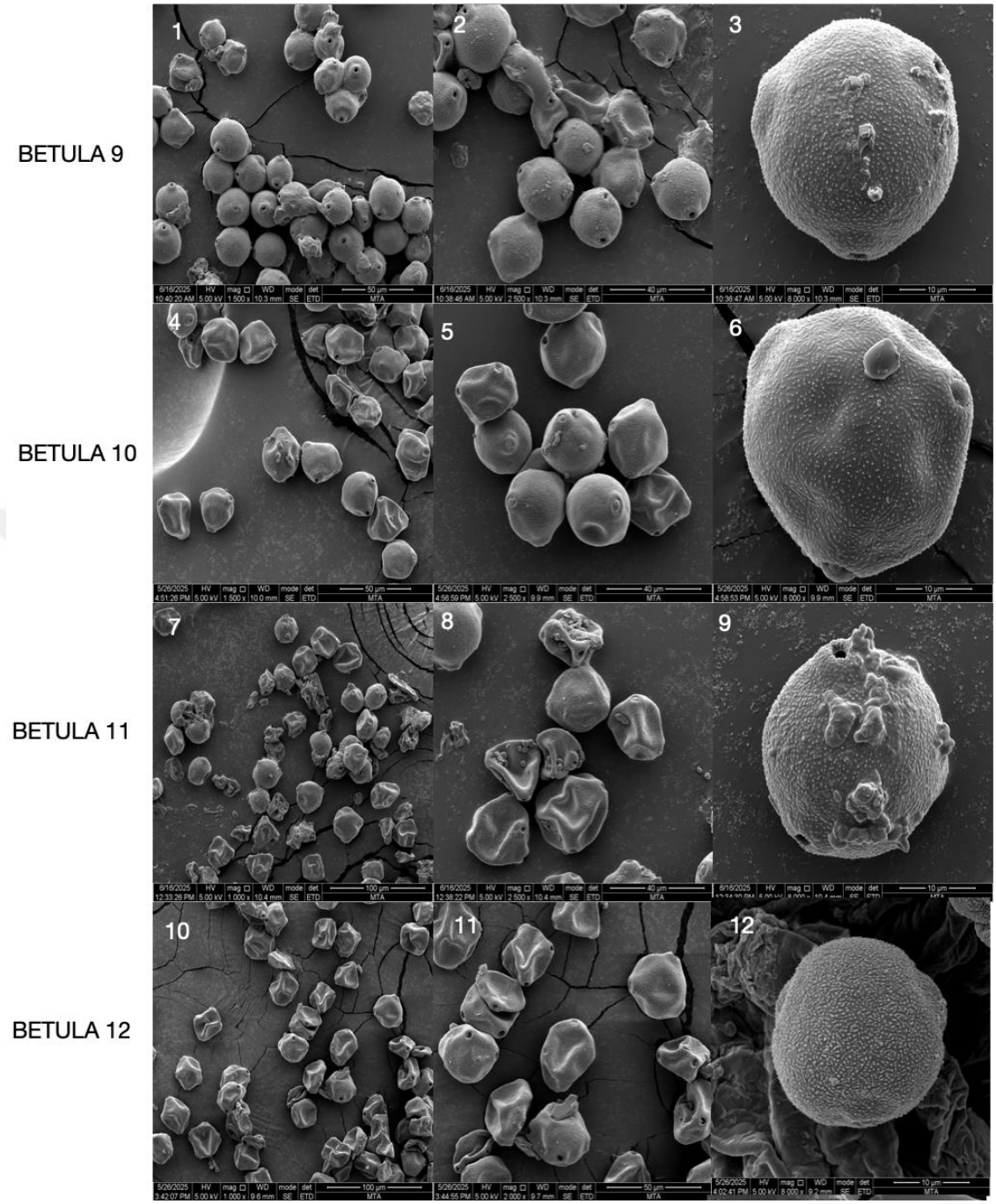
Şekil 4.9 *Betula pendula* (1-4 nolu örnekler) polenlerinin SEM analizi

Betula pendula polenlerinin SEM analizlerinde, kirli bölgeden toplanan *Betula* 4-8 numaralı örnekler incelenmiştir (Şekil 4.10). *Betula* 5 numaralı örneğe ait polen tanelerinde, yüzeyinde çatlamalar görülmüştür. *Betula* 8 numaralı örneğe ait polen tanelerinde polen yüzeyinde lokal çöküntüler üzerinde partikül birikimi görülmüştür. *Betula* 6, *Betula* 7 numaralı örneklerde ise polen yüzeyinde partikül birikimleri görülmüştür.



Şekil 4.10 *Betula pendula* (5-9 nolu örnekler) polenlerinin SEM analizi

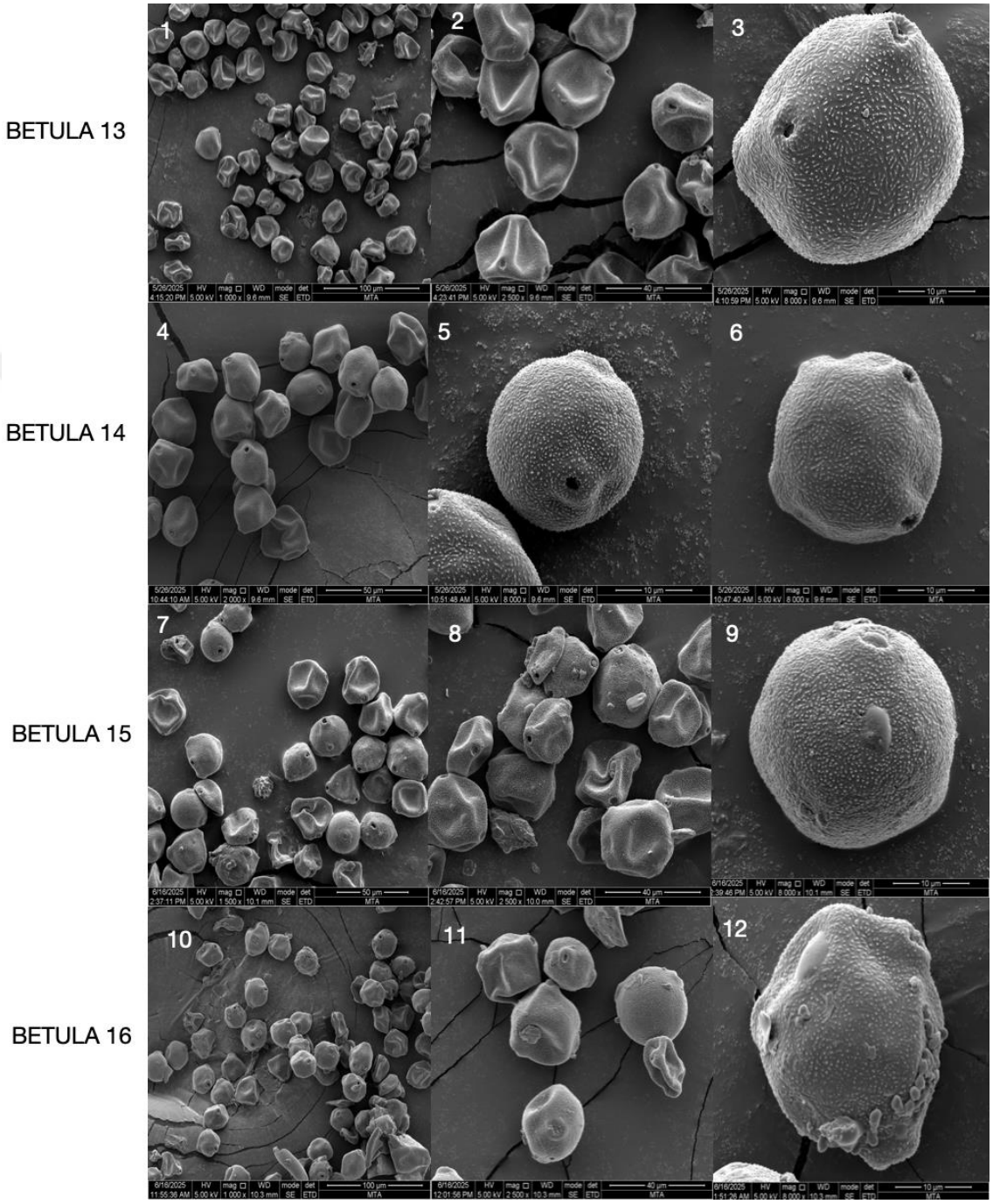
Betula pendula polenlerinin SEM analizlerinde, kirli bölgeden toplanan *Betula* 9-10-11 numaralı örnekler ve temiz bölgeden toplanan *Betula* 12 numaralı örnek incelenmiştir (Şekil 4.11). Kirli bölgeden toplanan örnekler arasında partikül birikimi ve polen yüzeyinde lokal çöküntüler en çok *Betula* 11 numaralı örnekte görülmüştür. Temiz bölgeden toplanan *Betula* 12 numaralı örneğin polen yüzeyinde lokal çöküntüler görülmüş ancak partikül birikimine rastlanmamıştır. Ayrıca *Betula* 12 numaralı örnekte tetraporat yapıda olduğu görülmüştür.



Şekil 4.11 *Betula pendula* (9-12 nolu örnekler) polenlerinin SEM analizi

Betula pendula polenlerinin SEM analizlerinde, temiz bölgeden toplanan *Betula* 13 ve 14 numaralı örnekler ve kirli bölgeden toplanan 15 ve 16 numaralı örnekler incelenmiştir (Şekil 4.12). Temiz bölgeden toplanan polen örneklerinde partikül birikime rastlanmamıştır. Ancak temiz bölgeden toplanan *Betula* 13 numaralı polen

örneğinde lokal çöküntüler görülmüştür. Kirli bölgeden toplanan polen örnekleri arasında en çok partikül birikimi *Betula* 16 numaralı örnekte görülmüştür.



Şekil 4.12 *Betula pendula* (13-16 nolu örnekler) polenlerinin SEM analizi

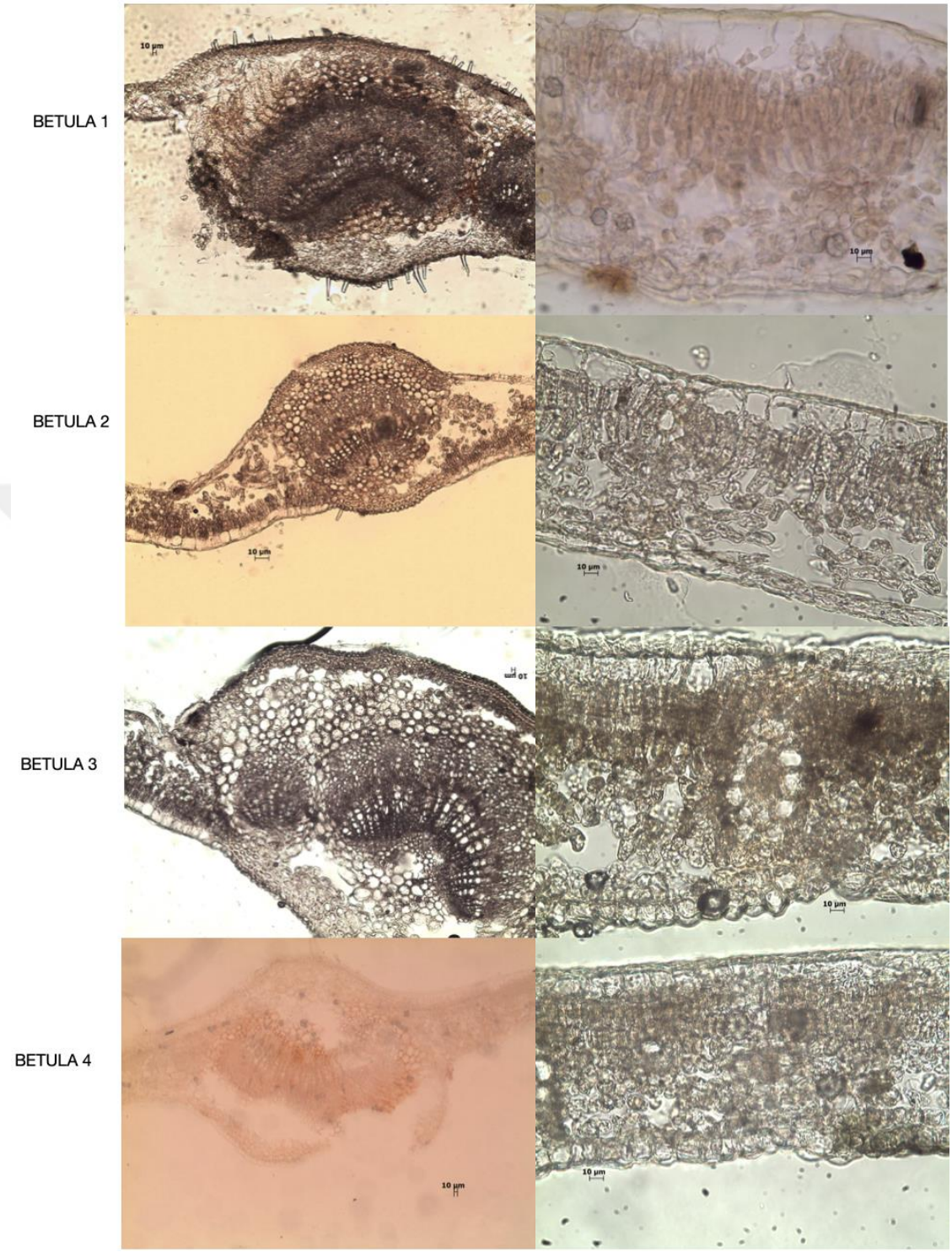
4.2 *Betula pendula* Yapraklarında Anatomik Mikromorfolojik Analiz Sonuçları

4.2.1 Yaprak dokularının anatomik analizine dair sonuçlar

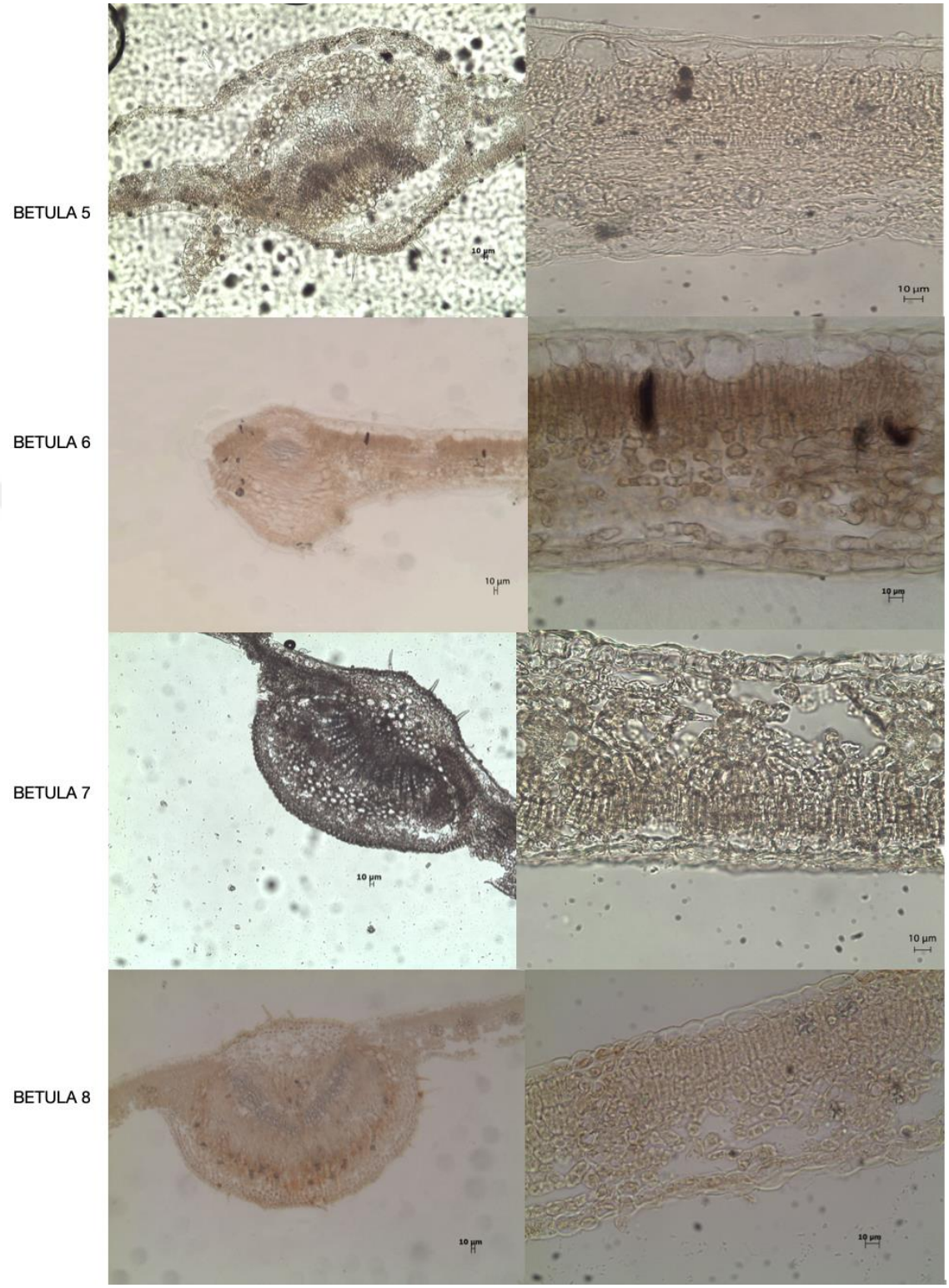
Yaprak Dokularında Enine Kesitler: Farklı lokasyonlardan (kirli ve temiz) toplanan 16 farklı *Betula pendula* bitkisinin yaprak enine kesitlerinde alt ve üst yüzeyde tek sıralı epidermis hücreleri görülmektedir. Yaprak tipi dorsoventraldir. Alt ve üst epidermis hücreleri dikdörtgen ve oval şekilli hücrelerden oluşmaktadır. İletim demetleri düzenli bir şekilde sıralanmıştır. Palizat parankima hücreleri yoğun şekilde kloroplast içermektedir. Palizat parankima hücreleri iki sıralıdır. Palizat parankima hücrelerinin altında yuvarlağımsı sünger parankima hücreleri bulunmaktadır. Sünger parankima hücreleri 2–3 sıralıdır (Şekil 4.13-4.16).

Kütikula tabakası kalınlığı en kalın olarak YDA otopark lokalitesinden alınan örneklerde ortalama 10,74 ± 1,12 µm olarak ölçülmüş, bunu Çakırlar (10,00 ± 2,00 µm) ve Kırkkonaklar (8,33 ± 3,33 µm) örnekleri izlemiştir. Mezofil tabakası kalınlığı en kalın Kırkkonaklar lokalitesinden alınan örneklerde ortalama 188,59 ± 14,66 µm, en ince ise Bahçelievler Parkı lokalitesinden alınan örneklerde ortalama 112,08 ± 6,97 µm olarak belirlenmiştir. Palizat parankiması tabaka kalınlığı en kalın Çakırlar lokalitesinden alınan örneklerde ortalama 70,86 ± 5,15 µm, en ince ise Meclis önü lokalitesinden alınan örneklerde ortalama 37,98 ± 3,55 µm olarak ölçülmüştür.

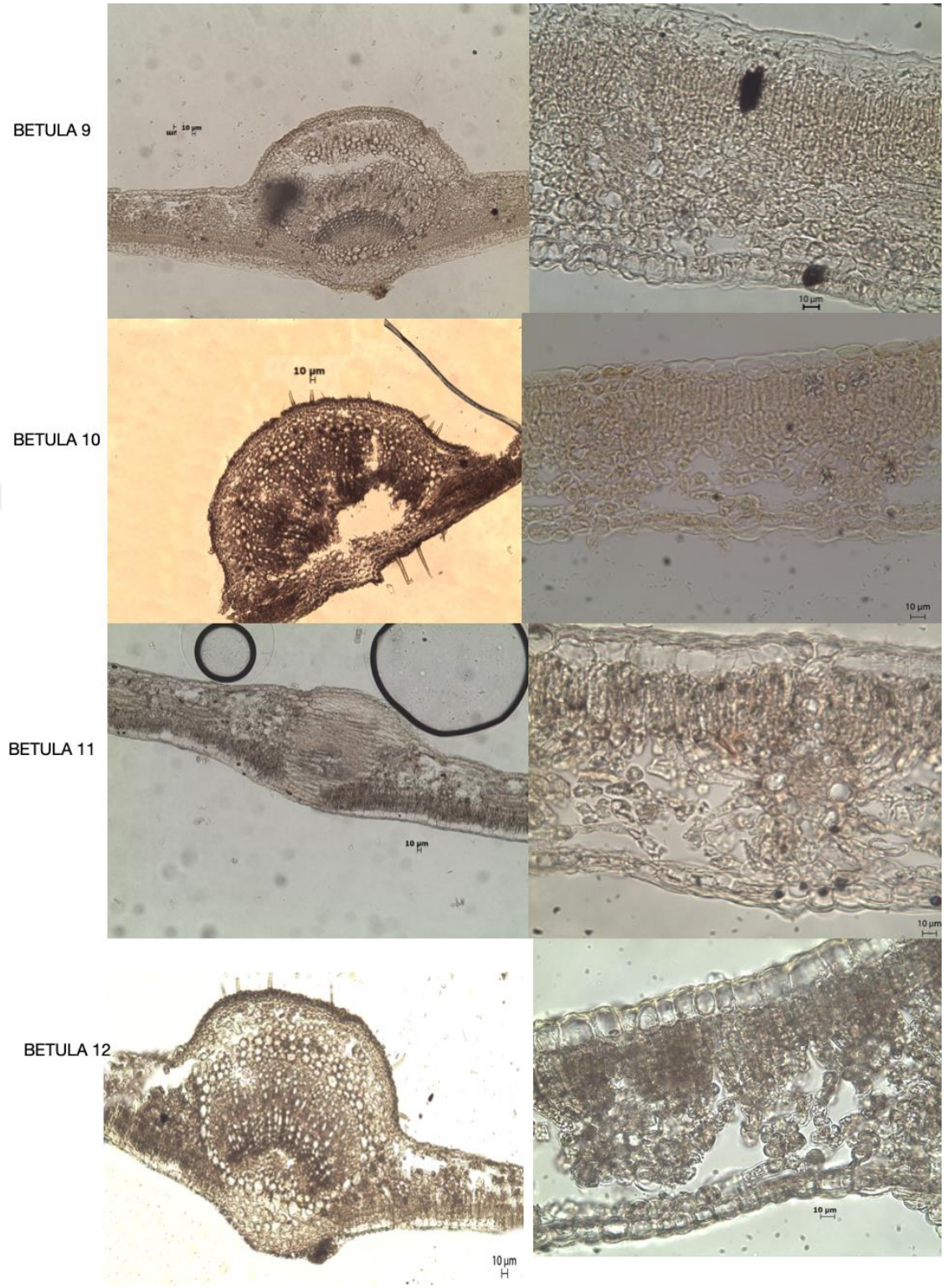
Sünger parankiması tabaka kalınlığı en kalın Kırkkonaklar lokalitesinden alınan örneklerde ortalama 119,15 ± 8,02 µm, en ince ise Bahçelievler Parkı lokalitesinden alınan örneklerde ortalama 59,20 ± 2,29 µm olarak belirlenmiştir. Yaprakta sünger parankiması hücreleri arasında geniş intersellüler boşlukların bulunduğu gözlenmiştir. Druz kristallerinin ise özellikle orta damar bölgesinde ve palizat parankimasında yoğunlaştığı tespit edilmiştir.



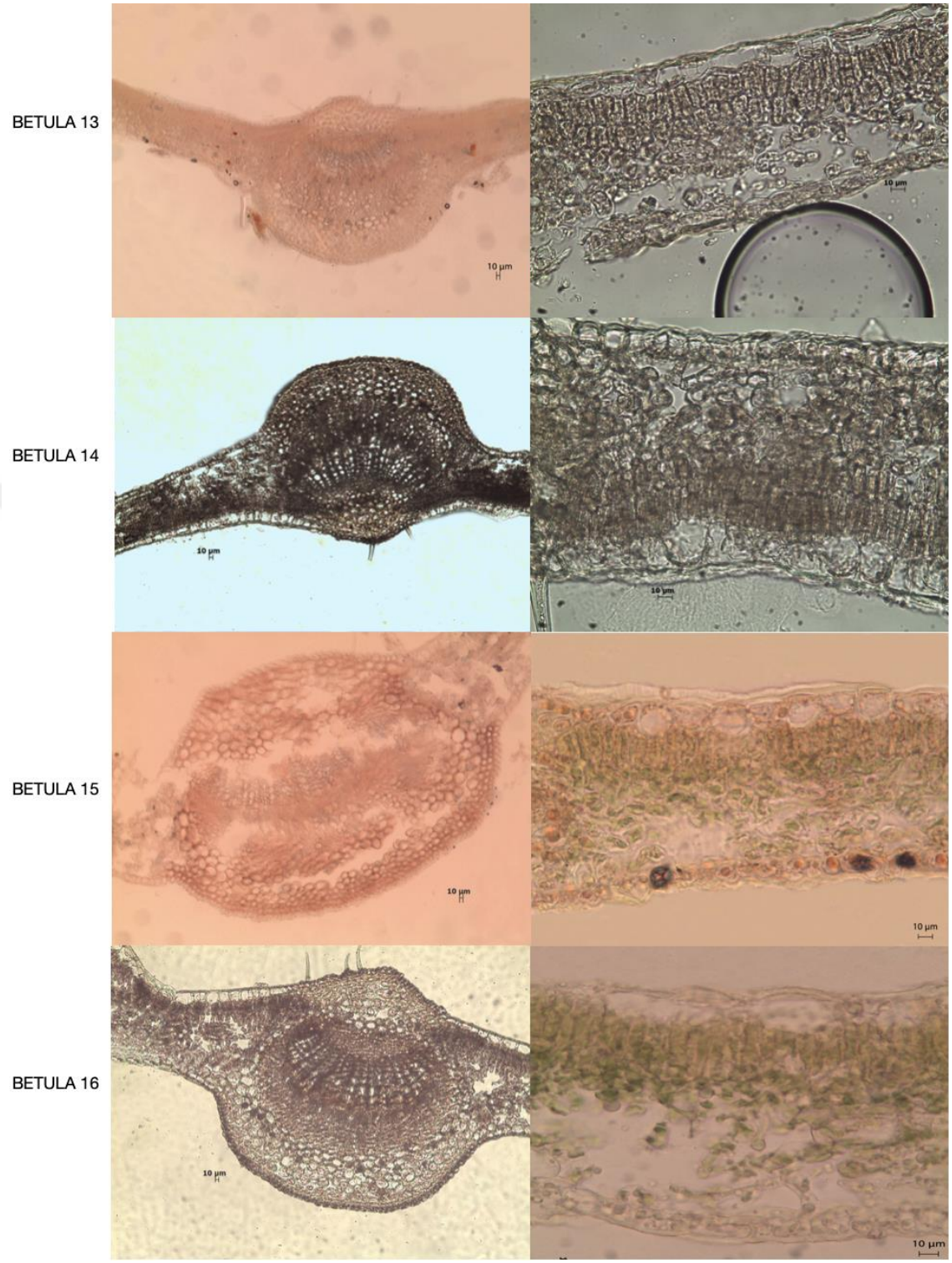
Şekil 4.13 *Betula pendula* (1-4 nolu örnekler) enine kesitlerinin ışık mikroskobu (LM) yaprak analizleri



Şekil 4.14 *Betula pendula* (5-8 nolu örnekler) enine kesitlerinin ışık mikroskobu (LM) yaprak analizleri



Şekil 4.15 *Betula pendula* (9-12 nolu örnekler) enine kesitlerinin ışık mikroskobu (LM) yaprak analizleri



Şekil 4.16 *Betula pendula* (13-16 nolu örnekler) enine kesitlerinin ışık mikroskobu (LM) yaprak analizleri

Çalışmada, 16 farklı lokasyondan toplanan *Betula* yapraklarının enine kesitlerinden ölçülen üst epidermis, alt epidermis, palizat parankiması kalınlığı, sünger parankiması kalınlığı ve kütikula kalınlığı kantitatif olarak ölçülmüştür. Bu parametrelerin ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.10'da verilmiştir. Aynı zamanda bu parametrelerin 16 lokasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gösterip göstermediği tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiş ve dağılımları kutu grafikleri (boxplot) ile görselleştirilmiştir (Şekil 4.17).

Çizelge 4.10 Yaprak anatomisinde ölçülen karakterlerin ortalama ve standart sapma değerleri

	Üst Epidermis	**Alt Epidermis**	**Palizat Parankiması Kalınlığı**	**Sünger Parankiması Kalınlığı**	**Kütikula Kalınlığı**
***Betula* 1 (Kirli)**	21,87 ± 1,88	10 ± 2,5	69,44 ± 6,64	119,15 ± 8,02	8,33 ± 3,33
***Betula* 2 (Kirli)**	31,00 ± 2,54	9,26 ± 1,51	43,82 ± 4,74	76,72 ± 1,92	5,03 ± 0,56
***Betula* 3 (Kirli)**	17,53 ± 3,79	12,07 ± 2,99	49,25 ± 3,72	71,64 ± 32,57	10,74 ± 1,12
***Betula* 4 (Kirli)**	15,29 ± 3,59	11,94 ± 1,68	40,55 ± 1,55	69,79 ± 2,13	4,66 ± 1,08
***Betula* 5 (Kirli)**	17,82 ± 1,24	11,04 ± 0,92	52,88 ± 4,68	59,20 ± 2,29	6,25 ± 1,00
***Betula* 6 (Kirli)**	30,00 ± 3,16	13,00 ± 2,00	70,86 ± 5,15	112,67 ± 7,45	10,00 ± 2,00
***Betula* 7 (Kirli)**	20,65 ± 2,24	10,66 ± 0,81	37,98 ± 3,55	82,91 ± 5,60	5,42 ± 0,59
***Betula* 8 (Kirli)**	7,78 ± 1,05	8,52 ± 1,96	46,44 ± 4,58	105,16 ± 6,33	5,46 ± 1,22
***Betula* 9 (Kirli)**	20,85 ± 1,40	10,64 ± 0,85	43,35 ± 3,38	67,92 ± 6,87	6,00 ± 1,00
***Betula* 10 (Kirli)**	10,66 ± 1,52	7,29 ± 0,72	46,13 ± 2,97	59,83 ± 4,36	4,58 ± 1,18
***Betula* 11 (Kirli)**	20,68 ± 4,02	16,60 ± 1,73	52,10 ± 1,76	90,66 ± 5,66	5,00 ± 2,00
***Betula* 12 (Yarı Temiz)**	16,45 ± 2,30	9,50±1,40	45,37 ± 2,33	65,80 ± 4,98	4,96 ± 0,62
***Betula* 13 (Yarı Temiz)**	15,09 ± 1,55	9,24 ± 1,81	51,57 ± 6,46	69,64 ± 5,19	4,93 ± 0,30
***Betula* 14 (Temiz)**	21,68 ± 3,16	11,20 ± 1,86	44,65 ± 3,33	66,60 ± 3,79	6,52 ± 0,85
***Betula* 15 (Kirli)**	15,87 ± 2,28	12,21 ± 3,24	69,07 ± 3,83	96,11 ± 2,02	6,37 ± 0,88
***Betula* 16 (Kirli)**	21,29 ± 4,31	8,47 ± 0,97	38,96 ± 4,18	94,14 ± 3,46	6,08 ± 0,20

Tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) sonuçları, bu beş anatomik parametrenin tamamı için lokasyon etkisinin anlamlı olduğunu ortaya koymuştur (tüm parametrelerde $p \ll 0,05$) (Çizelge 4.11). Üst epidermis kalınlığı için $F \approx 22,53$ ve $p \approx 5,3\times10^{-25}$ bulunmuş; lokasyon ortalamaları yaklaşık 10,7–31,0 µm aralığında değişerek üst epidermisin yaklaşık 3 kata yakın farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Alt epidermis kalınlığı için $F \approx 8,43$ ve $p \approx 4,9\times10^{-11}$ olup, ortalamaların 7,3–16,6 µm aralığında yer aldığı ve bu tabakada da lokasyonlar arasında yaklaşık 2.3 kata varan değişim olduğu görülmüştür (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11 *Betula pendula* yaprak anatomik parametrelerinin 16 lokasyonda tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile karşılaştırılması

Parametre	Grup sayısı	Toplam n	F	p	Min ortalama	Maks ortalama	Kat farkı (max/min)
Üst Epidermis	16	112	22,53441	5,32E-25	10,664	31	2,906977
Alt Epidermis	16	94	8,42983	4,94E-11	7,2875	16,59833	2,277644
Palizat Parankiması Kalınlığı	16	92	38,68422	2,2E-29	37,985	70,85714	1,865398
Sünger Parankiması	16	86	61,71644	3,1E-34	59,2	119,15	2,012669
Kütikula Kalınlığı	16	71	10,24399	4,87E-11	4,39	10,74	2,446469

Fotosentetik dokunun yapısal temelini oluşturan palizat parankiması kalınlığı, lokasyonlar arasında en belirgin ayrışan parametrelerden biridir. Palizat parankiması için $F \approx 38,68$ ($p \approx 2,2\times10^{-29}$) değeri elde edilmiş; ortalama kalınlıklar yaklaşık 38–71 µm aralığında değişmiş ve böylece palizat tabakasında yaklaşık 1,9 kat farklılık saptanmıştır. Sünger parankiması kalınlığı da benzer şekilde güçlü bir lokasyon etkisi göstermiş; $F \approx 61,72$ ve $p \approx 3,1\times10^{-34}$ olup, ortalamalar 59,2–119,2 µm aralığında yer almış ve yaklaşık 2 kata varan değişim tespit edilmiştir. Kütikula kalınlığı için ise $F \approx 10,24$ ve $p \approx 4,9\times10^{-11}$ bulunmuş; ortalama değerlerin 4,4–10,7 µm aralığında

değiştiği ve kütikula tabakasında da yaklaşık 2,5 kata varan bir fark olduğu görülmüştür. Renk kodlu kutu grafikleri (boxplot'lar), bu sayısal sonuçları desteklemekte; özellikle bazı lokasyonların tutarlı biçimde daha kalın epidermis, daha kalın palizat/sünger parankiması veya daha kalın kütikula ile öne çıktığını göstermektedir.

Tukey HSD post-hoc (α=0,05) testi sonuçlarına göre, üst epidermis kalınlığı lokasyonlar arasında anlamlı biçimde değişmektedir (ANOVA $p<0,05$). Post-hoc gruplamasına göre en yüksek değerlere sahip lokasyonlar *Betula* 2 (RTE parkı, Ostim) ve *Betula* 6 (Çakırlar, nisanur sitesi) olup "a" grubunda yer alarak çoğu lokasyondan anlamlı şekilde ayrışmaktadır. Orta düzeyde kalan lokasyonlar ağırlıklı olarak "b" grubu içinde toplanmıştır (ör. *Betula* 1 – Kırkkonaklar mah, *Betula* 14 – Tunceli, Gözeler milli park). En düşük uçta ise *Betula* 10 (Beytepe_2 Kız öğrenci yurdu) "d" grubu ile tek başına belirgin biçimde ayrılmaktadır; ayrıca *Betula* 13 (Bingöl Üniversitesi kampüsü_2), *Betula* 4 (TDK önü), *Betula* 15 (15 Temmuz Kızılay Anıtı yakını) gibi lokasyonlar "c" grubunda daha düşük üst epidermis kalınlığına işaret etmektedir. Özet olarak Üst epidermiste *Betula* 2 ve *Betula* 6 en kalın, *Betula* 10 en ince gruptadır.

Alt epidermis kalınlığında da lokasyon etkisi anlamlıdır (ANOVA $p<0,05$) ve Tukey sonuçları üç ana harf grubuna ayrılmaktadır (a–b–c). En yüksek alt epidermis değerleri *Betula* 11 (Ank üni.) ve *Betula* 6 (Çakırlar mah.)'da gözlenmiş ve bu lokasyonlar "a" grubunda yer almıştır. Çok sayıda lokasyon "b" grubunda orta değerler göstermektedir (ör *Betula* 15 – 15 Temmuz Kızılay Anıtı yakını, *Betula* 3 – YDA otopark, ayrıca *Betula* 13 ve *Betula* 8 gibi bazı lokasyonlar b içinde kalmaktadır). En düşük alt epidermis değerleri ise *Betula* 10 (Bingöl Üniversitesi kampüsü_2) ve *Betula* 16 (ODTÜ)'de gözlenmiş olup "c" grubu altında, üst gruplardan anlamlı biçimde ayrışmaktadır. Özet olarak, alt epidermiste *Betula* 11/*Betula* 6 yüksek, *Betula*10 ve *Betula* 16 düşük gruptadır.

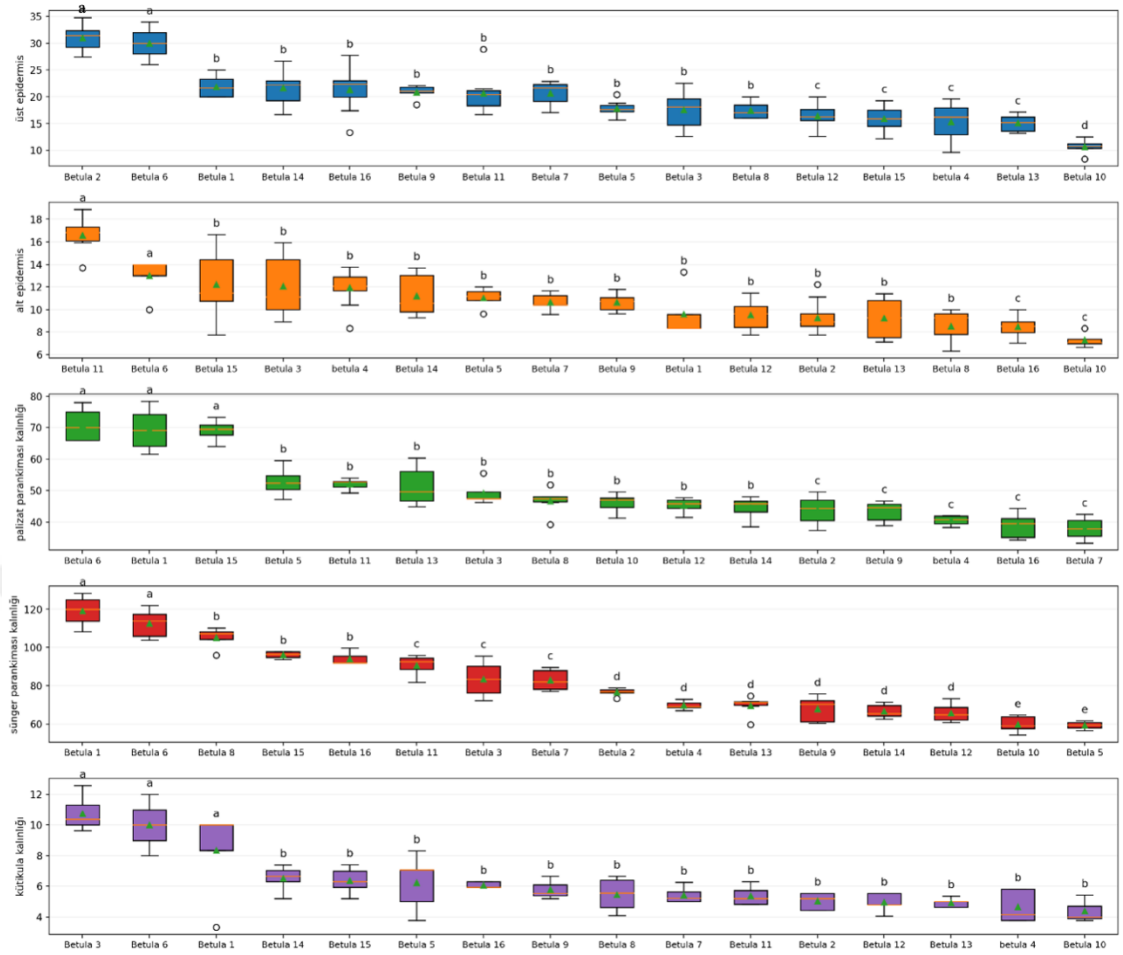
Palizat parankiması kalınlığı lokasyonlara göre çok güçlü farklılık göstermektedir (ANOVA $p<0,05$). Tukey HSD sonuçlarında "a" grubu en yüksek palizat kalınlığına sahip lokasyonları temsil etmekte olup *Betula* 6 (Çakırlar mah.), *Betula* 1 (Kırkkonaklar

mah.) ve *Betula* 15 (15 Temmuz Kızılay Anıtı yakını) bu üst grupta yer almaktadır. Daha düşük ama orta bantta kalan lokasyonlar çoğunlukla "b" grubu altında toplanmıştır (ör. *Betula* 5 – Bahçelievler parkı, *Betula* 11 – Ank üni, *Betula* 13 – Bingöl Üniversitesi kampüsü_2, ayrıca Tunceli bu bantta görünmektedir). En düşük palizat kalınlığı ise "c" grubu lokasyonlarında görülmektedir; bu grupta *Betula* 7 (Meclis önü), *Betula* 16 (ODTÜ), *Betula* 4 (TDK önü), *Betula* 9 (Anıtpark parkı) ve *Betula* 2 (RTE parkı) bulunmaktadır. Özet olarak palizat parankiması *Betula* 6 /*Betula* 1/ *Betula* 15'de en kalın, *Betula* 7 /*Betula* 16 /*Betula* 4/*Betula* 9/ *Betula* 2 'de en ince gruptadır.

Sünger parankiması kalınlığı en belirgin ayrışmanın görüldüğü parametrelerden biridir (ANOVA $p<0,05$) ve Tukey gruplaması 5 harf grubuna (a–e) kadar açılmaktadır; bu, lokasyonlar arasında çok güçlü ve katmanlı bir farklılaşmaya işaret eder. En yüksek sünger parankiması kalınlığı *Betula* 1 (Kırkkonaklar) ve *Betula* 6 (Çakırlar)'da bulunmuş ve "a" grubunda yer almıştır. Bir alt düzeyde *Betula* 8 (Beytepe 1) ve *Betula* 15 (Kızılay) "b" grubu ile ikinci yüksek kümeyi oluşturmaktadır. Daha düşük bantlara geçildikçe lokasyonlar c–d gruplarında toplanmakta; en düşük değerler ise "e" grubunda yer alan *Betula* 10 (Beytepe 2) ve *Betula* 5 (Bahçeli) lokasyonlarında görülmektedir. Ayrıca *Betula* 12 (Bingöl 1) ve *Betula* 14 (Tunceli) "d" grubu içinde düşük-alt seviyede konumlanmaktadır. Özet olarak sünger parankiması Kırkkonaklar/Çakırlar'da en kalın, Beytepe 2/Bahçeli'de en ince gruptadır.

Kütikula kalınlığında lokasyonlar arasında anlamlı fark vardır (ANOVA $p<0,05$) ve Tukey HSD sonucu temelde iki ana gruba (a–b) ayrılmaktadır. Görece daha kalın kütikulaya sahip lokasyonlar "a" grubunda yer almakta; bu grupta özellikle *Betula* 3 (YDA otopark) ve *Betula* 6 (Çakırlar mah.) dikkat çekmektedir (*Betula* 1 de a grubundadır). Daha ince kütikula değerleri ise "b" grubu lokasyonlarında toplanmıştır (örn. *Betula* 10-Beytepe_2 Kız öğrenci yurdu, *Betula* 4 TDK önü, *Betula* 12 – Bingöl Üniversitesi kampüsü_1, *Betula* 13 – Bingöl Üniversitesi kampüsü_2).

Özet olarak kütikula tabakası *Betula* 3 / *Betula* 6'da daha kalın, bazı Bingöl ve *Betula* 10/*Betula* 4 gruplarında daha ince görünmektedir.



Şekil 4.17 *Betula pendula* yaprak anatomik parametrelerinin 16 lokasyondaki dağılımlarının kutu (Boxplot) grafikleri

Yaprak Dokularında Yüzeysel Kesitler: *Betula pendula* yapraklarından alınan yüzeysel kesitlerin ışık mikroskobunda incelenen görüntülerine göre yaprak üst yüzeyinde ve alt yüzeyinde bulunan epidermis hücreleri düz çeperli olup, dikdörtgen veya çokgen şekillidirler. Hücrelerin çeperleri kalın ve belirgindir. Yaprak alt yüzeyde çok hücreli sesil salgı tüyleri yer almaktadır. Yapraklar hipostomatiktir. Yaprak üst yüzeylerinde stoma bulunmaz, Sadece yaprakların alt yüzeylerinde bekçi hücrelerine göre amaryllis tip, komşu hücrelerine göre ise aktinositik, hekzasitik ve anizositik tip stomalara rastlanmıştır. Komşu hücre sayısı 5-8 arasında değişmektedir. Her örneğe ait yaprak için stoma eni ve stoma boyu hesaplanmıştır. Ayrıca, 1 mm^2' deki stoma ve epidermis sayıları belirlenerek her lokasyona ait örneğin stoma indeksi hesaplanmıştır (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12 Çalışma alanındaki 16 lokasyon için ölçülen stoma eni, stoma boyu ve salgı hücresi çapı değerlerinin ortalama ± standart sapma (Ort ± SS) şeklinde özetlenmesi

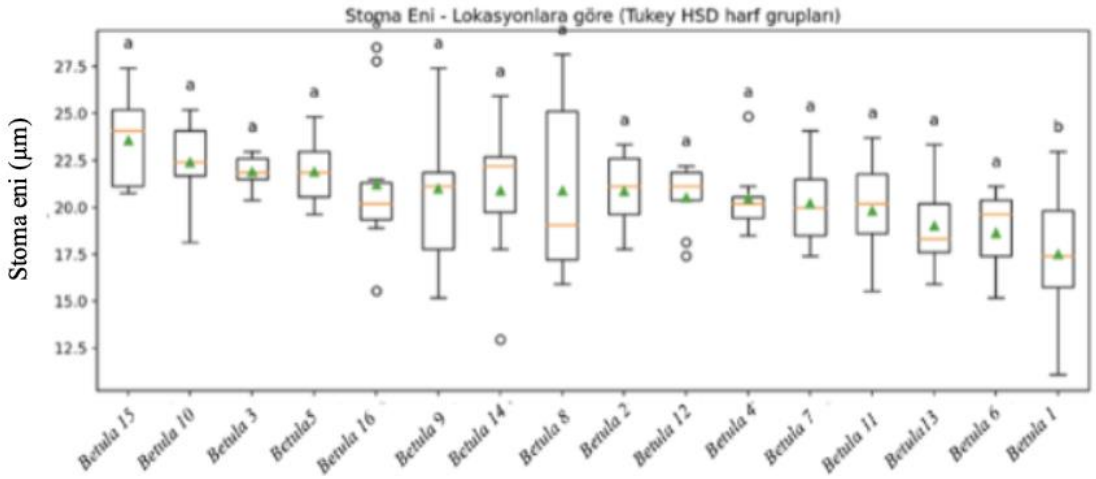
Lokasyon	Stoma eni (Ort ± SS)	Stoma boyu (Ort ± SS)	Salgı hücresi çapı (Ort ± SS)
Betula 1 (Kirli)	17,51 ± 3,89	21,19 ± 5,28	67,28 ± 5,49
Betula 2 (Kirli)	20,86 ± 1,93	25,32 ± 3,29	54,92 ± 6,67
Betula 3 (Kirli)	21,90 ± 0,92	29,21 ± 4,67	75,06 ± 7,69
Betula 4 (Kirli)	20,46 ± 1,95	26,96 ± 4,09	77,38 ± 11,12
Betula 5 (Kirli)	21,90 ± 1,82	26,29 ± 4,51	78,89 ± 8,60
Betula 6 (Kirli)	18,64 ± 2,06	21,56 ± 2,74	89,83 ± 8,29
Betula 7 (Kirli)	20,21 ± 2,35	26,04 ± 3,70	71,42 ± 5,47
Betula 8 (Kirli)	20,87 ± 4,73	25,02 ± 4,27	74,98 ± 6,73
Betula 9 (Kirli)	21,00 ± 3,80	20,84 ± 2,72	55,45 ± 12,47
Betula 10 (Kirli)	22,40 ± 2,19	28,10 ± 2,73	74,26 ± 7,45
Betula 11 (Kirli)	19,81 ± 2,65	28,62 ± 2,44	58,33 ± 5,67
Betula 12 (Yarı Temiz)	19,02 ± 2,48	22,53 ± 4,54	95,21 ± 17,87
Betula 13 (Yarı Temiz)	20,53 ± 1,70	23,54 ± 2,86	73,15 ± 10,64
Betula 14 (Temiz)	20,88 ± 3,95	26,11 ± 4,38	78,00 ± 14,59
Betula 15 (Kirli)	23,54 ± 2,61	27,56 ± 6,57	55,64 ± 6,20
Betula 16 (Kirli)	21,22 ± 3,98	27,46 ± 5,80	57,71 ± 6,44

Bu çalışmada yaprak örneklerinde ölçülen stoma eni, stoma boyu ve salgı hücresi çapı değerleri 16 lokasyonda karşılaştırılmış; lokasyonlar "temiz" (Tunceli, Bingöl_1, Bingöl_2) ve "kirli" (diğer lokasyonlar) olarak gruplandırılmıştır. Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları, lokasyonlar arasında stoma eni ($F=1,91$; $p=0,028$), stoma boyu ($F=3,95$; $p=1,14\times10^{-5}$) ve salgı hücresi çapı ($F=13,31$; $p=4,86\times10^{-19}$) açısından istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13 Lokasyonlar arasında stoma eni, stoma boyu ve salgı hücresi çapı bakımından fark olup olmadığını değerlendirmek amacıyla yapılan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları

Parametre	Toplam N	Grup sayısı (k)	df (gruplar arası)	df (grup içi)	F	p-değeri	Yorum (α=0,05)
Stoma Eni	142	16	15	119	1,910370	0,028438934	Anlamlı fark var
Stoma Boyu	134	16	15	112	3,945972	1,13973E-05	Anlamlı fark var
Salgı Hücresi	122	16	15	119	13,313137	4,85801E-19	Anlamlı fark var

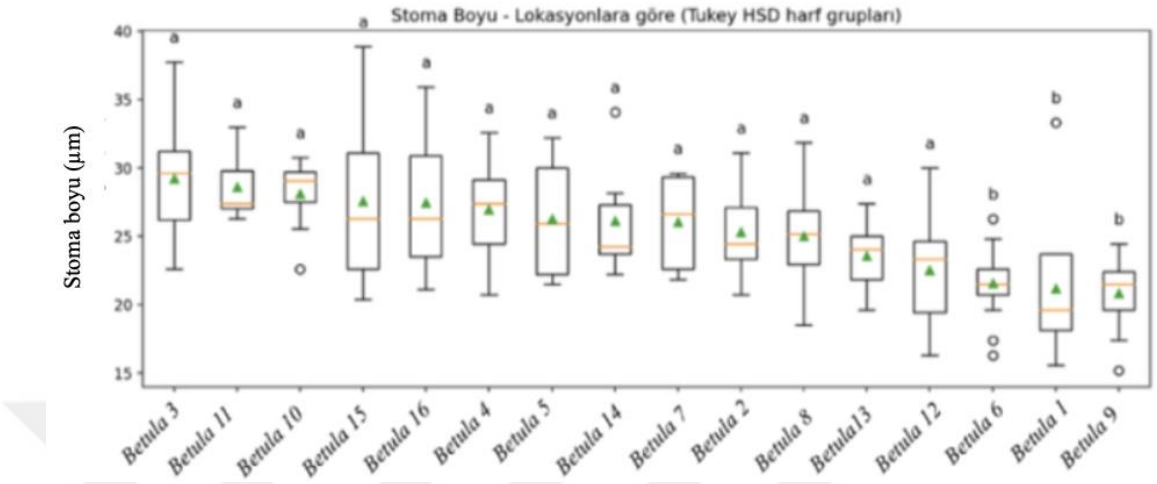
Stoma eni için "temiz" lokasyonların ortalaması 20,16 ± 2,82 iken "kirli" lokasyonların ortalaması 20,76 ± 3,14 olarak bulunmuştur. Lokasyon bazında en geniş stoma eni ortalaması 15 Temmuz tabelası lokasyonunda (~23,54), en dar stoma eni ortalaması ise Kırkkonaklar lokasyonunda (~17,51) ölçülmüştür. Tukey HSD post-hoc testine göre (α=0,05), lokasyonlar birden fazla istatistiksel gruba ayrılmış olup harf gruplaması sonuçları boxplotlar üzerinde gösterilmiştir (Şekil 4.18). Aynı harfi paylaşan lokasyonlar arasında anlamlı fark bulunmamaktadır.



Şekil 4.18 Çalışma alanındaki 16 lokasyonda ölçülen stoma eni değerlerinin dağılımı

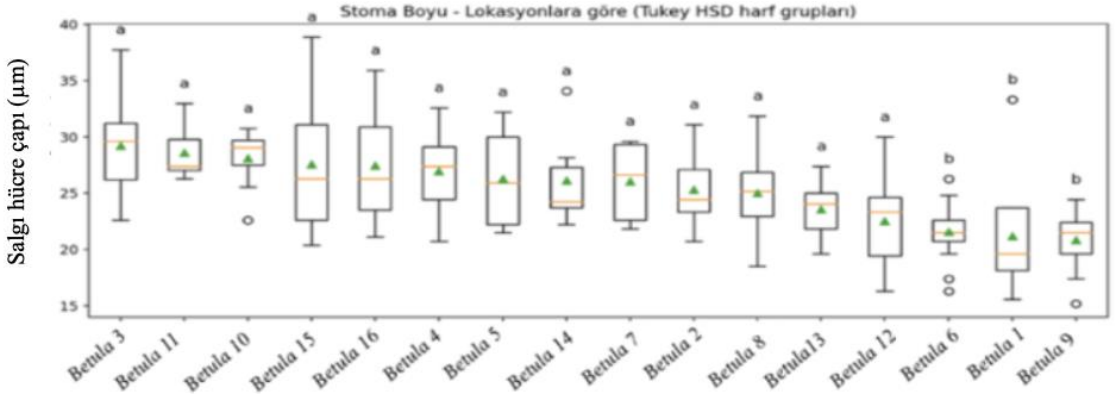
Stoma boyu için "temiz" lokasyonların ortalaması 23,96 ± 4,05, "kirli" lokasyonların ortalaması 25,29 ± 4,87 olarak hesaplanmıştır. Lokasyonlar arasında en uzun stoma boyu ortalaması YDA lokasyonunda (~29,21) gözlenirken, en kısa stoma boyu ortalaması Anıtpark lokasyonunda (~20,84) belirlenmiştir. Post-hoc sonuçları, stoma

boyu açısından birçok lokasyon çiftinde anlamlı fark bulunduğunu ve grupların harflerle ayrıştığını göstermiştir (Şekil 4.19).



Şekil 4.19 Çalışma alanındaki 16 lokasyonda ölçülen stoma boyu değerlerinin dağılımı

Salgı hücresi çapı açısından "temiz" lokasyon ortalaması 79,67 ± 15,91, "kirli" lokasyon ortalaması ise 68,24 ± 13,83 olarak saptanmıştır. Lokasyon bazında en yüksek salgı hücresi çapı ortalaması Bingöl_1 lokasyonunda (~95,21), en düşük ortalama ise Recep Tayyip Erdoğan parkındaki lokasyonda (~54,92) ölçülmüştür. Tukey HSD sonuçları, salgı hücresi çapının lokasyon etkisine en güçlü yanıt veren parametre olduğunu ve çok sayıda lokasyon çifti arasında anlamlı farklılıklar bulunduğunu ortaya koymuştur (Şekil 4.20).



Şekil 4.20 Çalışma alanındaki 16 lokasyonda ölçülen salgı hücresi çapı değerlerinin dağılımı

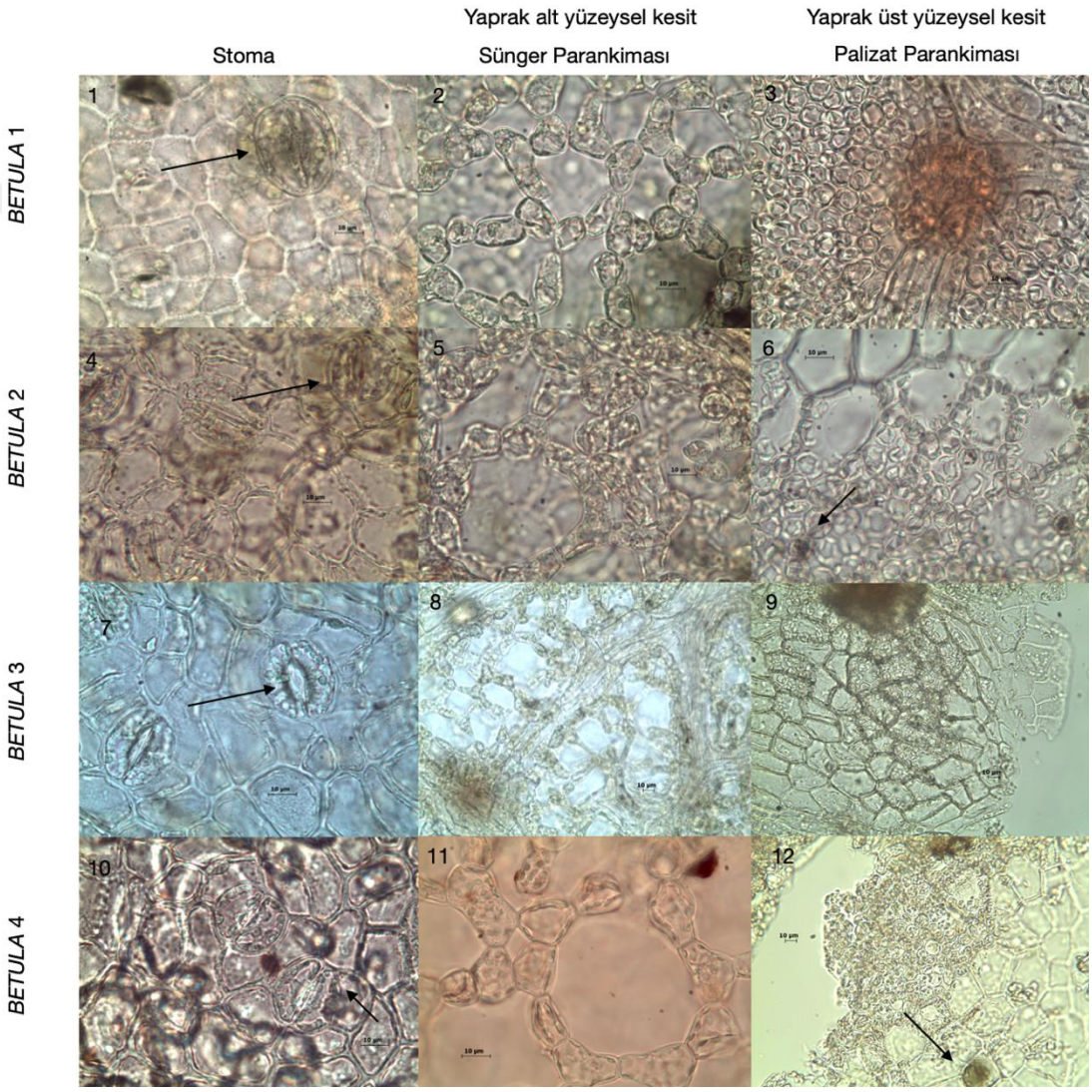
Stoma indeksi, 1 mm² alandaki stoma sayısının toplam epidermis hücrelerine oranı dikkate alınarak hesaplanmıştır. Çalışmada stoma indeksi değerlerinin lokasyonlar arasında belirgin farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek stoma indeksi TDK (%19,44) ve Bahçelievler (%18,03) lokasyonlarında hesaplanırken, en düşük değer Anıtpark (%10,77) ve Beytepe_1 (%11,69) lokasyonlarında tespit edilmiştir (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14 Çalışma alanında 16 lokasyonda ölçülen, ortalama stoma sayısı, ortalama epidermis sayısı ve stoma indeksi değerleri

Lokasyon	1 mm²'de Stoma Sayısı	1 mm²'de Epidermis Sayısı	Stoma İndeksi (%)
Betula 1 (Kirli)	169,2308	1200	12,35955
Betula 2 (Kirli)	153,8462	1030,769	12,98701
Betula 3 (Kirli)	153,8462	1123,077	12,04819
Betula 4 (Kirli)	215,3846	892,3077	19,44444
Betula 5 (Kirli)	169,2308	769,2308	18,03279
Betula 6 (Kirli)	200	1230,769	13,97849
Betula 7 (Kirli)	184,6154	1384,615	11,76471
Betula 8 (Kirli)	138,4615	1046,154	11,68831
Betula 9 (Kirli)	215,3846	1784,615	10,76923
Betula 10 (Kirli)	184,6154	1153,846	13,7931
Betula 11 (Kirli)	153,8462	1015,385	13,15789
Betula 12 (Yarı Temiz)	184,6154	1153,846	13,7931
Betula 13 (Yarı Temiz)	215,3846	1046,154	17,07317
Betula 14 (Temiz)	184,6154	1200	13,33333
Betula 15 (Kirli)	184,6154	1215,385	13,18681
Betula 16 (Kirli)	230,7692	1123,077	17,04545

Kirli ve temiz bölgeden toplanan *Betula pendula* yapraklarına ait örneklerin alt ve üst yüzeyleri ışık mikroskobu altında değerlendirilmiştir (Şekil 4.21- 4.24).

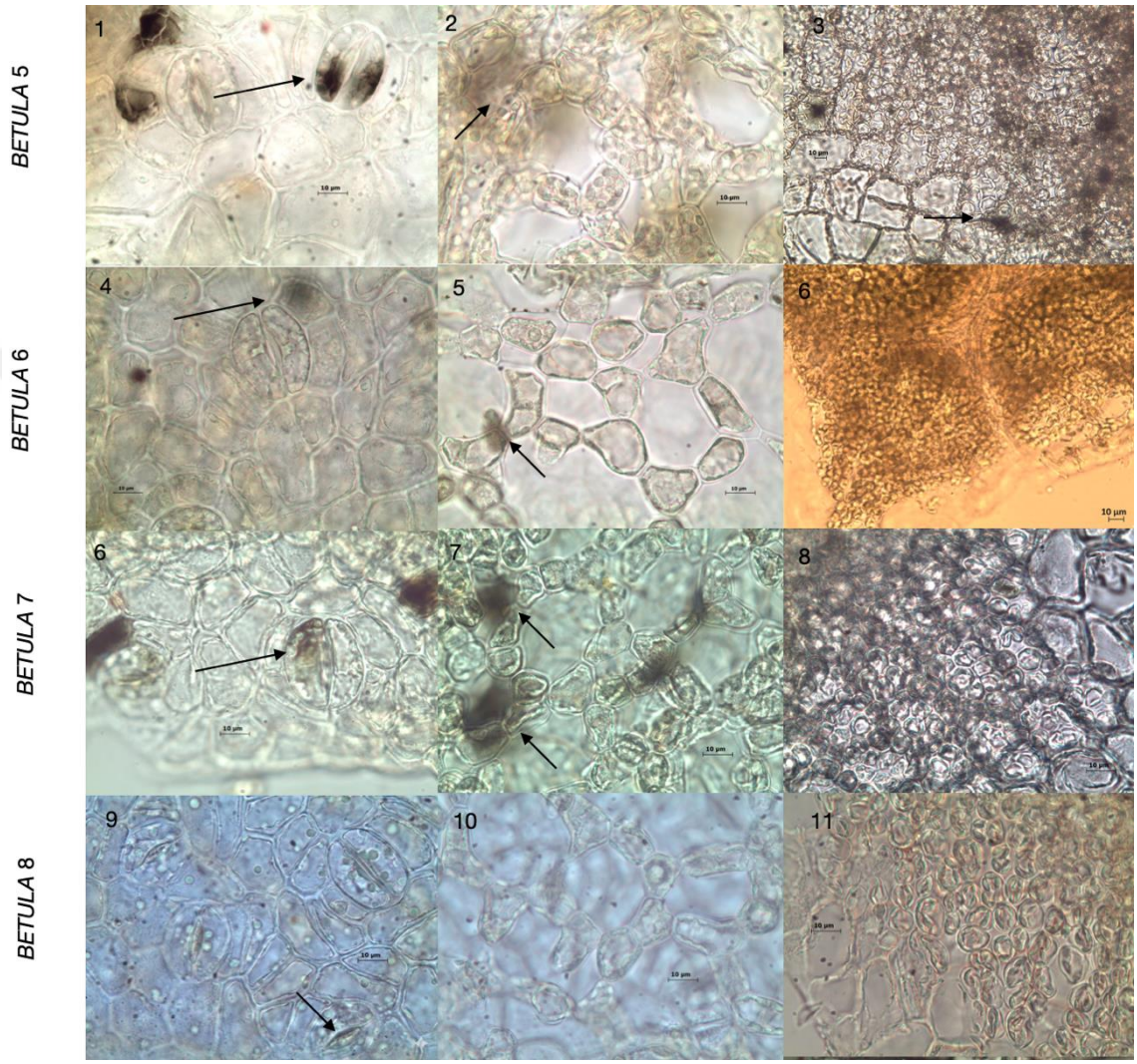
Kirli bölgeden toplanan *Betula pendula* yapraklarına ait *Betula* 1–4 numaralı örneklerin alt ve üst yüzeyleri ışık mikroskobu altında değerlendirilmiştir (Şekil 4.21). *Betula* 1, 2 ve 3 numaralı örneklerde stoma yüzeylerinde ve komşu hücrelerinde bölgelerde partikül birikimine rastlanmıştır. *Betula* 1 ve 4 numaralı örneklerde sünger parankimasının bulunduğu alanlarda kirlilik gözlenmiştir. Ayrıca, *Betula* 2 ve 4 numaralı örneklerde palizat parankimasının bulunduğu bölgelerde kirlilik görülmüştür.



Şekil 4.21 *Betula pendula* (1-4 nolu örnekler) polenlerinin ışık mikroskobu (LM) yaprak analizleri, yaprak yüzeyinde yer alan kirlilikler okla gösterilmiştir.

Kirli bölgeden toplanan *Betula pendula* yapraklarına ait *Betula* 5–8 numaralı örneklerin alt ve üst yüzeyleri ışık mikroskobu altında değerlendirilmiştir (Şekil 4.22). İncelenen örneklerde stoma yüzeylerinde ve komşu hücrelerinde partikül birikimine rastlanmıştır.

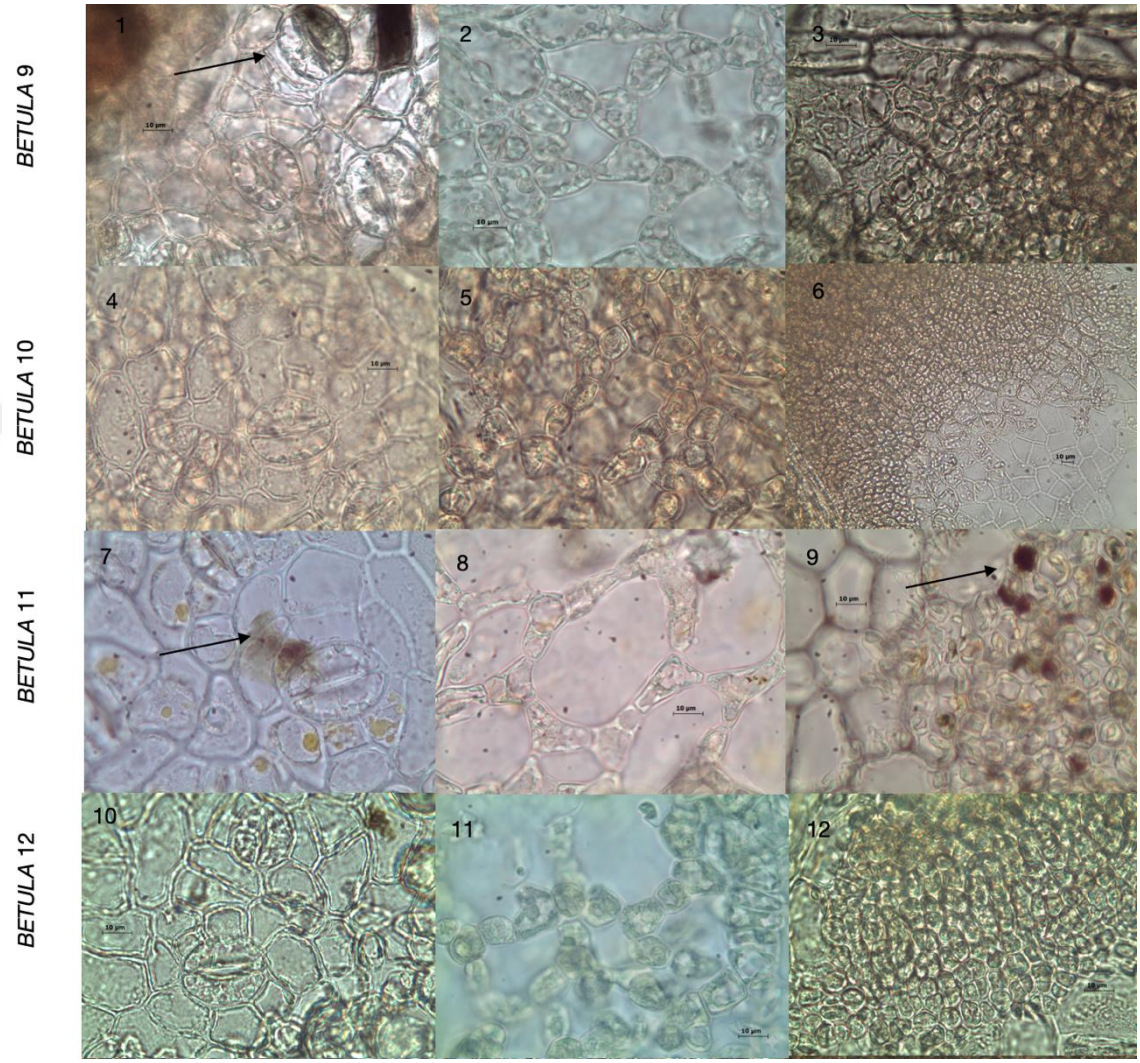
Betula 5, 6 ve 7 numaralı örneklerde sünger parankiması hücresinde ve çevresindeki alanlarda kirlilik gözlenmiştir. Ayrıca, *Betula* 5 numaralı örneklerde palizat parankimasının bulunduğu bölgelerde kirlilik görülmüştür.



Şekil 4.22 *Betula pendula* (5-8 nolu örnekler) polenlerinin ışık mikroskobu (LM) yaprak analizleri, yaprak yüzeyinde yer alan kirlilikler okla gösterilmiştir.

Kirli bölgeden toplanan *Betula pendula* yapraklarına ait *Betula* 9-11 numaralı örnekler ve temiz bölgeden toplanan *Betula* 12 numaralı örneğin alt ve üst yüzeyleri ışık mikroskobu altında değerlendirilmiştir (Şekil 4.23). İncelenen örneklerde *Betula* 9 ve 11 numaralı örneklerde stoma yüzeylerinde ve stomaların komşu hücrelerinde partikül birikimine rastlanmıştır. *Betula* 5, 6 ve 7 numaralı örneklerde sünger parankiması

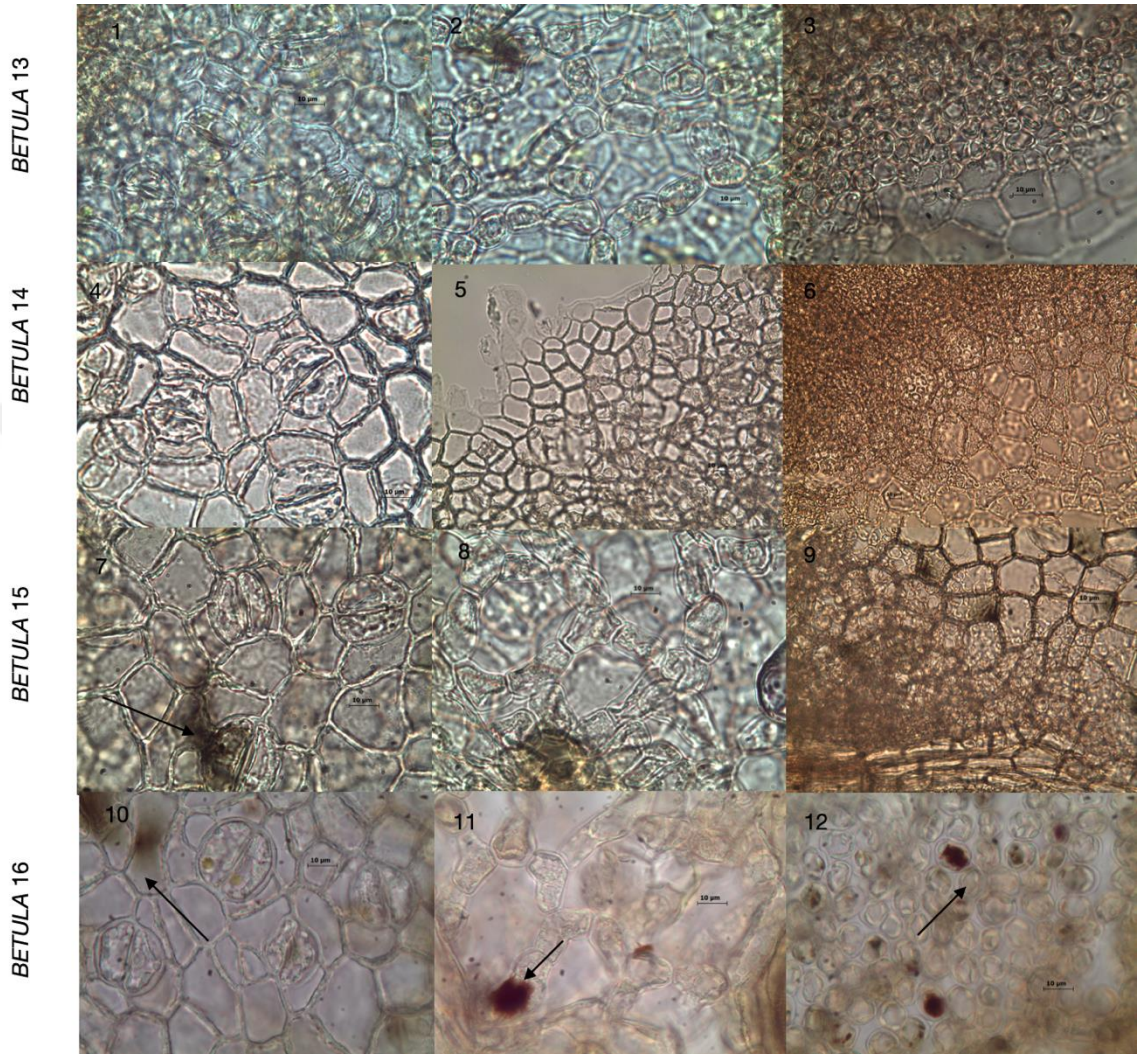
hücresinde ve çevresindeki alanlarda kirlilik gözlenmiştir. Ayrıca, *Betula* 11 numaralı örneklerde palizat parankimasının hücrelerinde belirgin kirlilikler görülmüştür.



Şekil 4.23 *Betula pendula* (9-12 nolu örnekler) polenlerinin ışık mikroskobu (LM) yaprak analizleri, yaprak yüzeyinde yer alan kirlilikler okla gösterilmiştir.

Kirli bölgeden toplanan *Betula pendula* yapraklarına ait *Betula* 16-16 numaralı örnekler ve temiz bölgeden toplanan *Betula* 13-14 numaralı örneklerin alt ve üst yüzeyleri ışık mikroskobu altında değerlendirilmiştir (Şekil 4.24). İncelenen örneklerde *Betula* 15 ve 16 numaralı örneklerde stoma yüzeylerinde ve stomaların bulunduğu yerlerde partikül birikimine rastlanmıştır. Temiz bölgeden toplanan *Betula* 13 ve 14 numaralı örneklerde, stomanın bulunduğu bölgeler ile alt ve üst yüzeylerde kirliliğin daha az olduğu

gözlenmiştir. Ayrıca, *Betula* 16 numaralı örneklerde palizat parankimasının hücrelerinde belirgin kirlilikler görülmüştür.

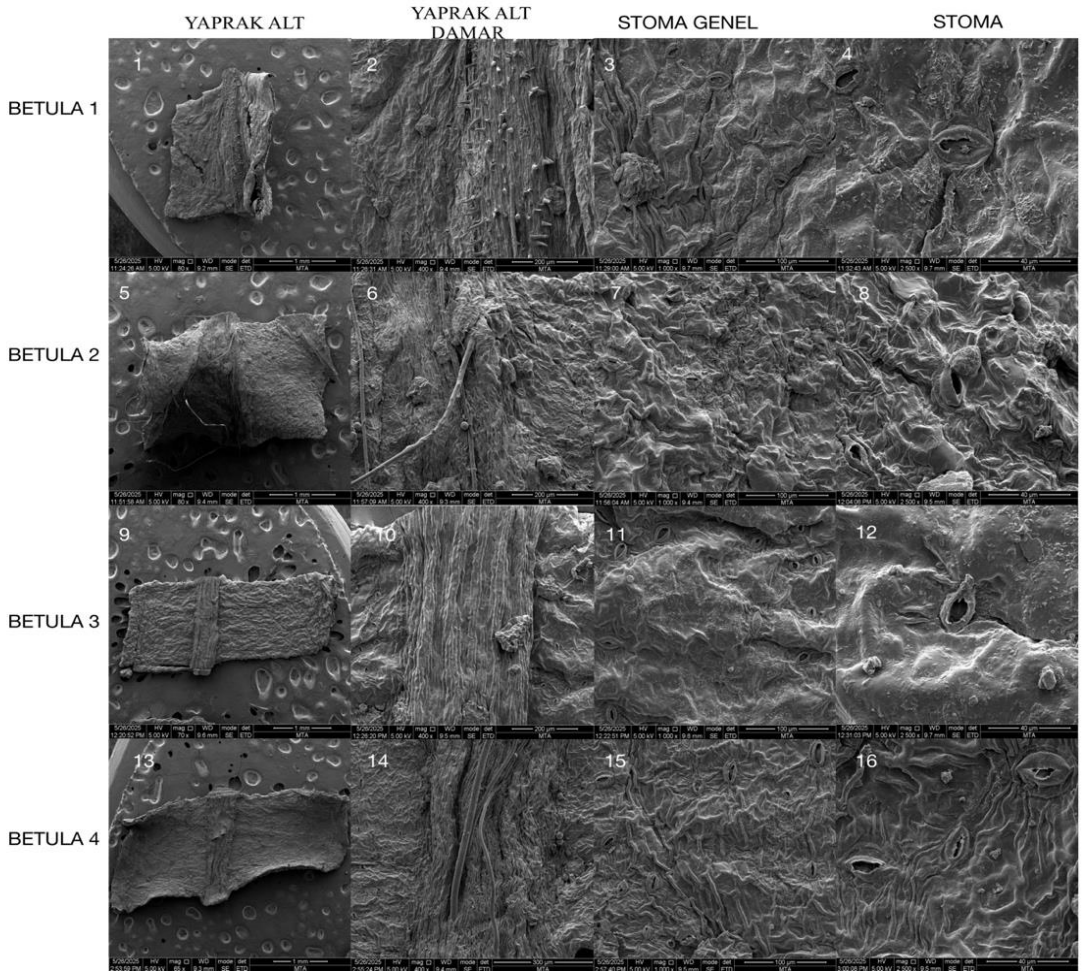


Şekil 4.24 *Betula pendula* (13-16 nolu örnekler) polenlerinin ışık mikroskobu (LM) yaprak analizleri yaprak yüzeyinde yer alan kirlilikler okla gösterilmiştir.

4.2.2 Yaprak dokularının mikromorfolojik analizine dair sonuçlar

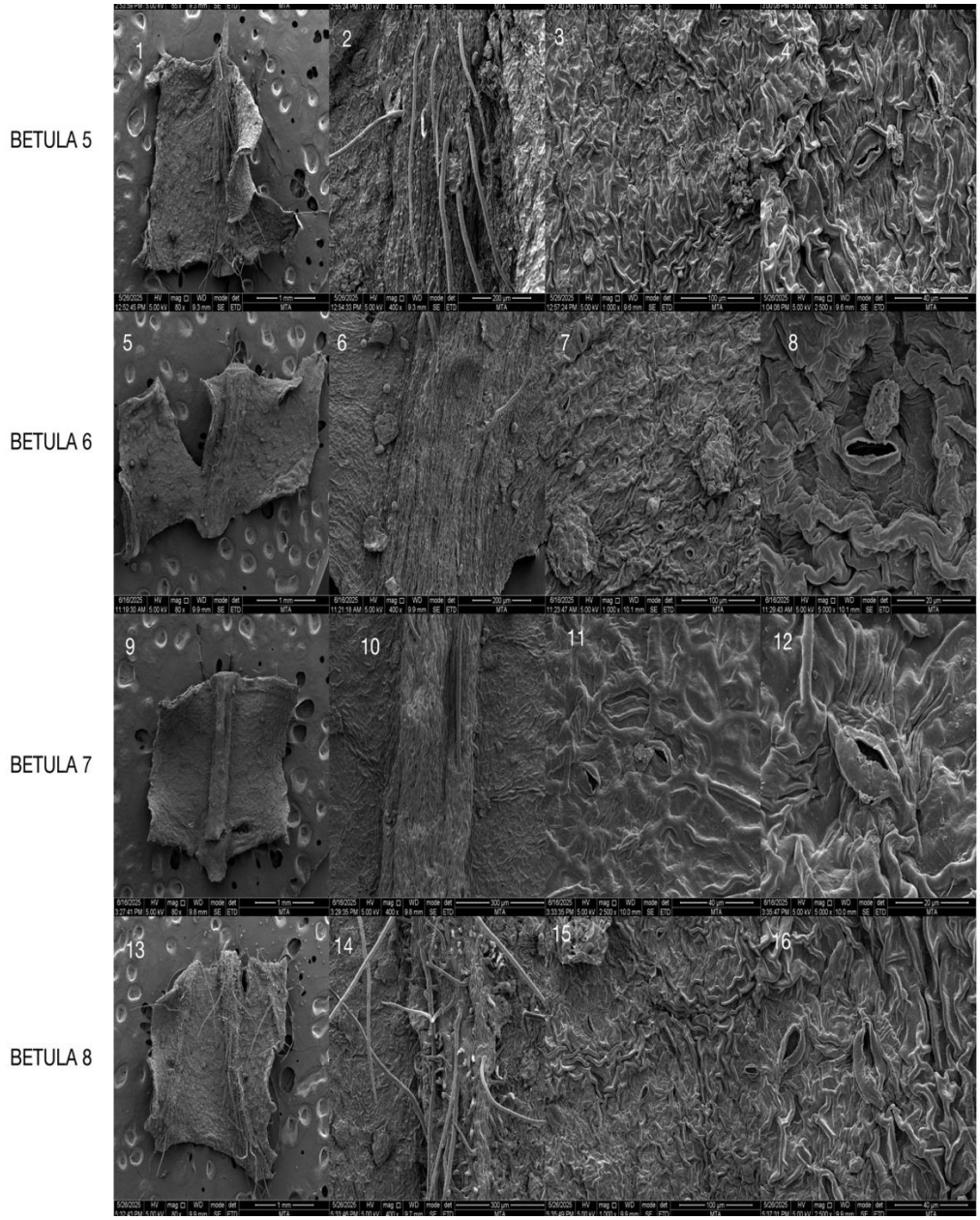
Kirli ve temiz bölgeden toplanan *Betula pendula* yapraklarına ait örnekler elektron mikroskobu altında incelenmiştir (Şekil 4.25- 4.32).

Yaprak Alt Yüzey: *Betula pendula* yaprak alt yüzeylerin SEM analizlerinde kirli bölgeden toplanan *Betula* 1-5 numaralı örnekler incelenmiştir. (Şekil 4.25). SEM analizlerinde, stomaların bulunduğu bölgelerde ve stoma yüzeylerinde partikül birikimlerinin varlığı gözlenmiştir. Ayrıca, damar bölgelerinde de partikül birikimlerine rastlanmıştır.



Şekil 4.25 *Betula pendula* (1-4 nolu örnekler) yaprak alt yüzeyinin SEM analizi

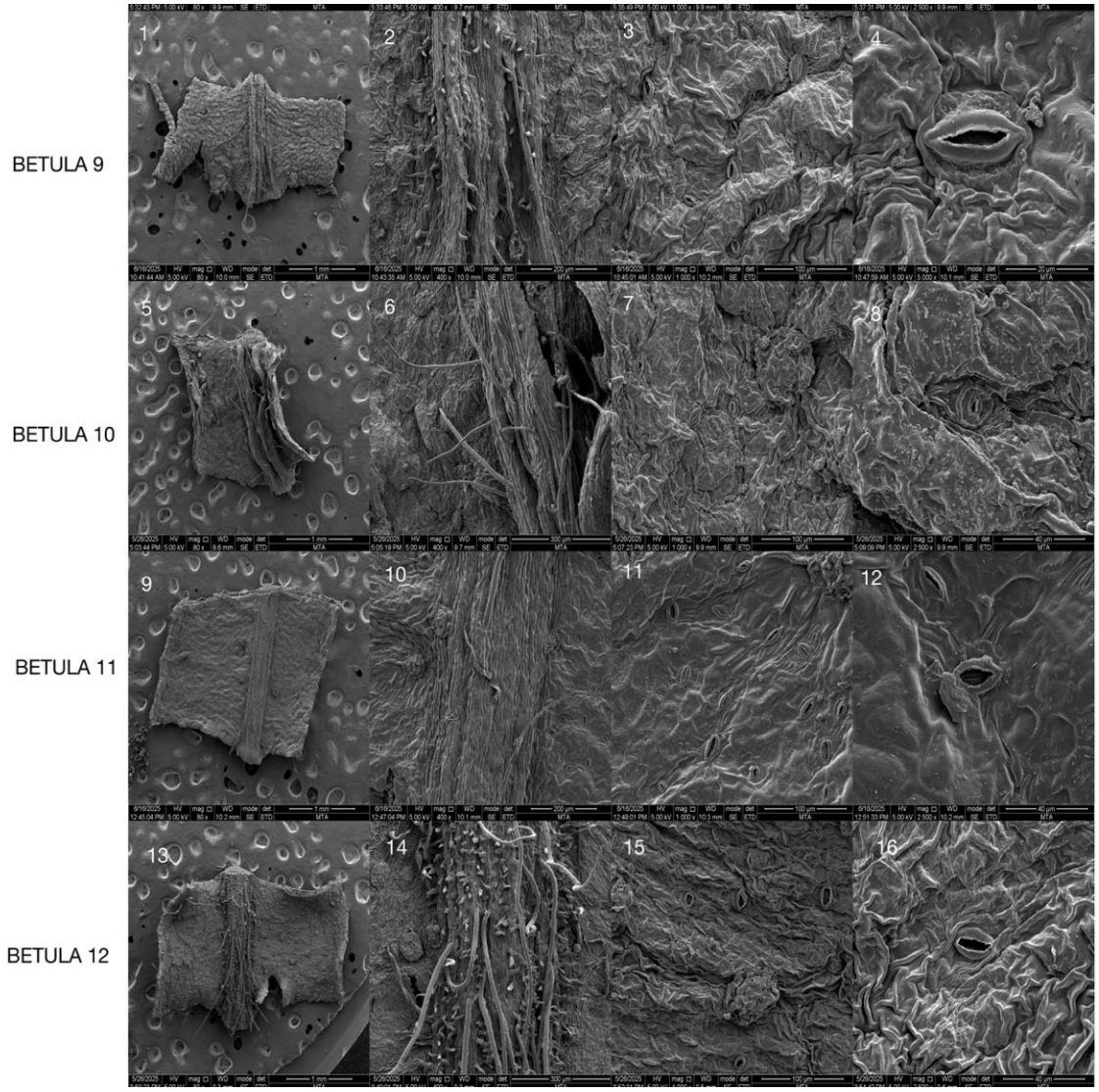
Betula pendula yaprak alt yüzeylerin SEM analizlerinde kirli bölgeden toplanan *Betula* 5-8 numaralı örnekler incelenmiştir. (Şekil 4.26). SEM analizlerinde, *Betula* 6 ve 5 numaralı örneklerde stomaların bulunduğu bölgelerde ve damar bölgelerinde partikül birikimleri görülmüştür.



Şekil 4.26 *Betula pendula* (5-8 nolu örnekler) yaprak alt yüzeyinin SEM analizi

Betula pendula yaprak alt yüzeylerin SEM analizlerinde kirli bölgeden toplanan *Betula* 9-11 numaralı örnekler ve temiz bölgeden toplanan *Betula* 12 numaralı örnek

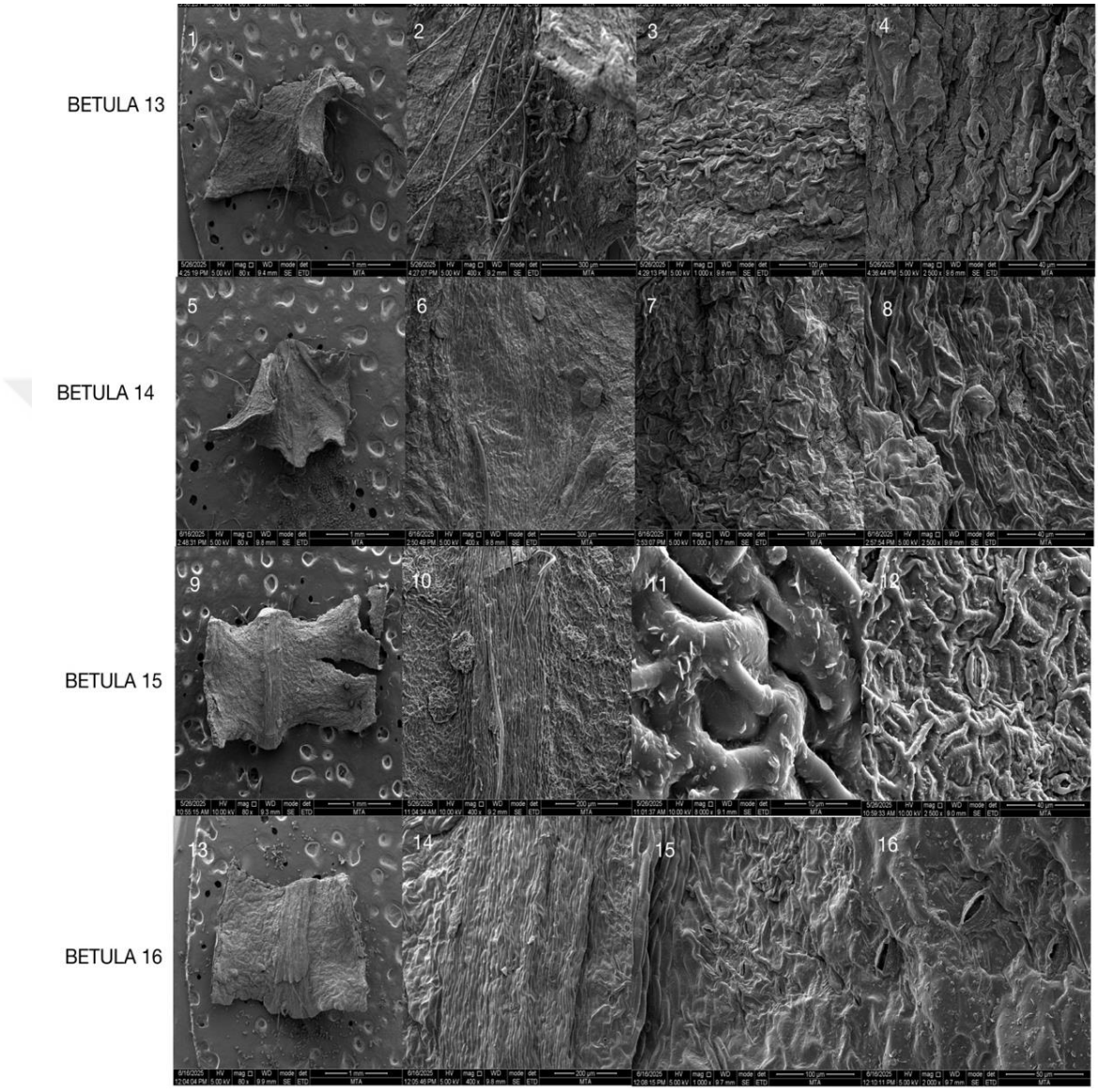
incelenmiştir. (Şekil 4.27). SEM analizlerinde, *Betula* 9 ve 11 numaralı örneklerde stomaların bulunduğu bölgelerde ve damar bölgelerinde partikül birikimleri görülmüştür. Temiz bölgeden toplanan *Betula* 12 numaralı örnekte belirgin partikül birikime rastlanmamıştır.



Şekil 4.27 *Betula pendula* (9-12 nolu örnekler) yaprak alt yüzeyinin SEM analizi

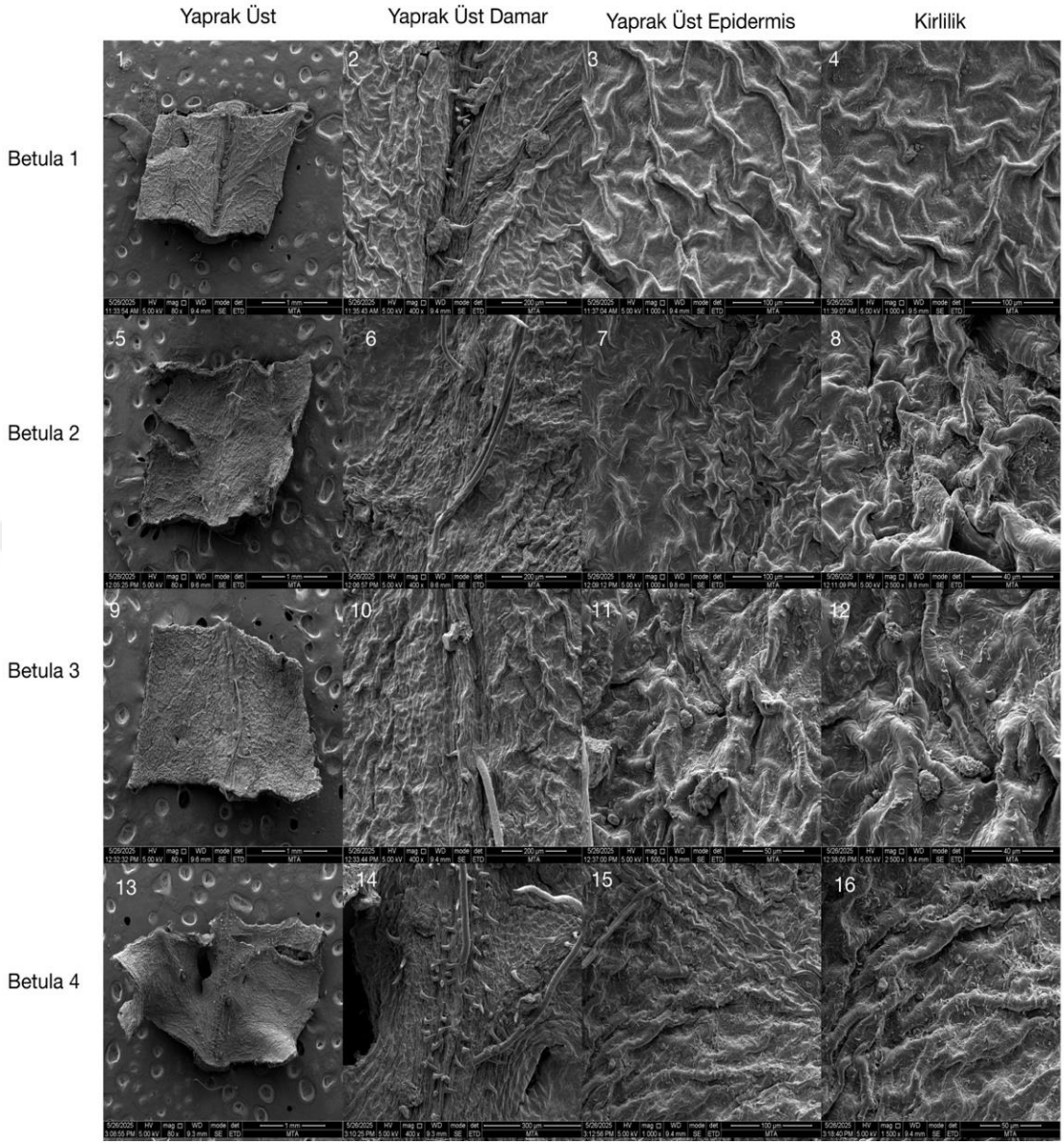
Betula pendula yaprak alt yüzeylerin SEM analizlerinde kirli bölgeden toplanan *Betula* 15 ve 16 numaralı ve temiz bölgeden toplanan *Betula* 13 ve 14 numaralı örnekler incelenmiştir. (Şekil 4.28). SEM analizlerinde, *Betula* 16 ve 15 numaralı örneklerde stomaların bulunduğu bölgelerde ve stoma yüzeylerinde partikül birikimleri

görülmüştür. Temiz bölgeden toplanan *Betula* 14 numaralı örnekte belirgin partikül birikime rastlanmamıştır.



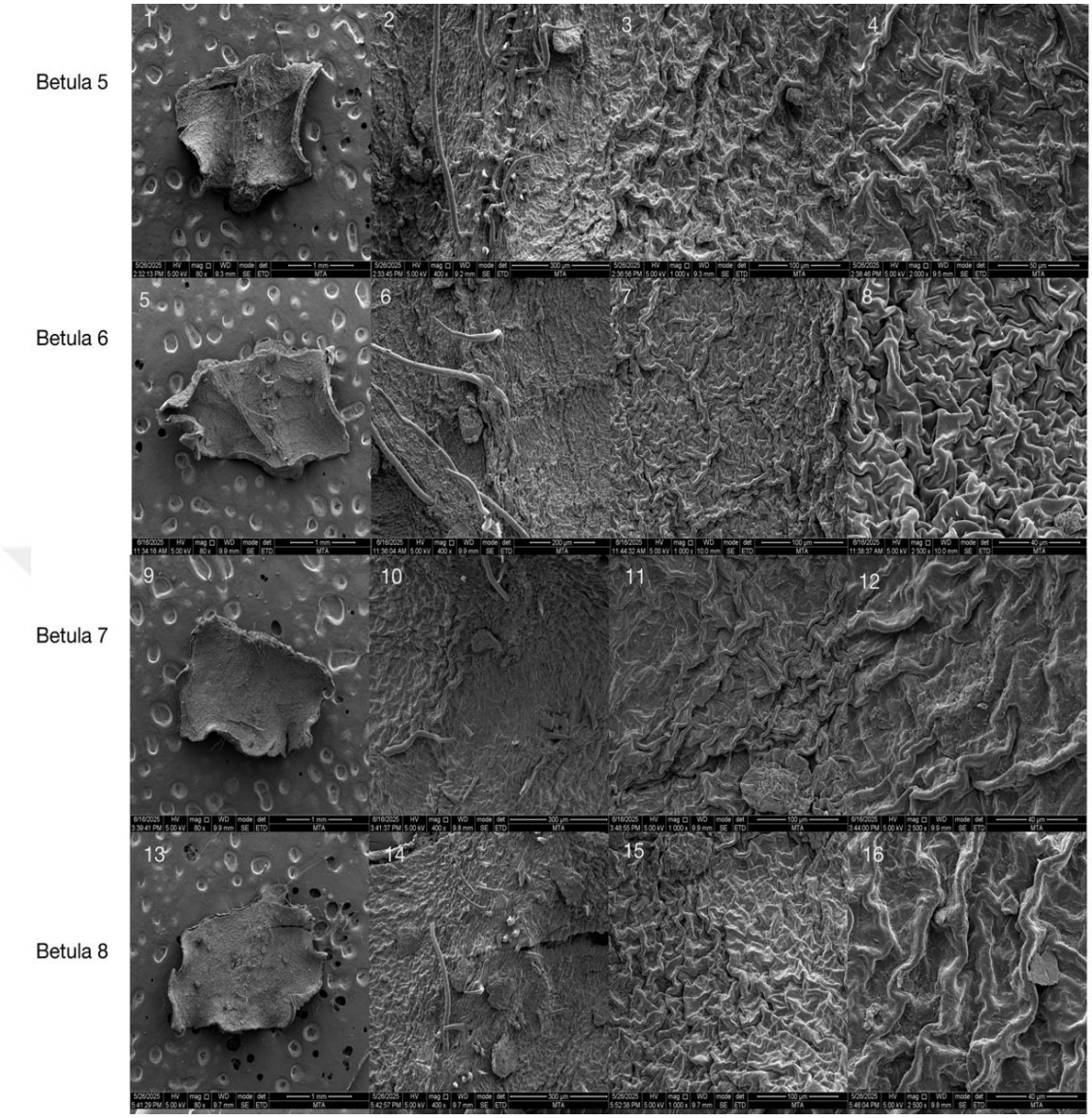
Şekil 4.28 *Betula pendula* (13-16 nolu örnekler) yaprak alt yüzeyinin SEM analizi

Yaprak Üst Yüzey: *Betula pendula* yaprak üst yüzeylerin SEM analizlerinde kirli bölgeden toplanan *Betula* 1-5 numaralı örnekler incelenmiştir. (Şekil 4.29). SEM analizlerinde, epidermis yüzeylerinde belirgin partikül birikimleri görülmüştür. *Betula* 1 ve *Betula* 3 numaralı örneklerde damar bölgelerinde partikül birikimlerine rastlanmıştır.



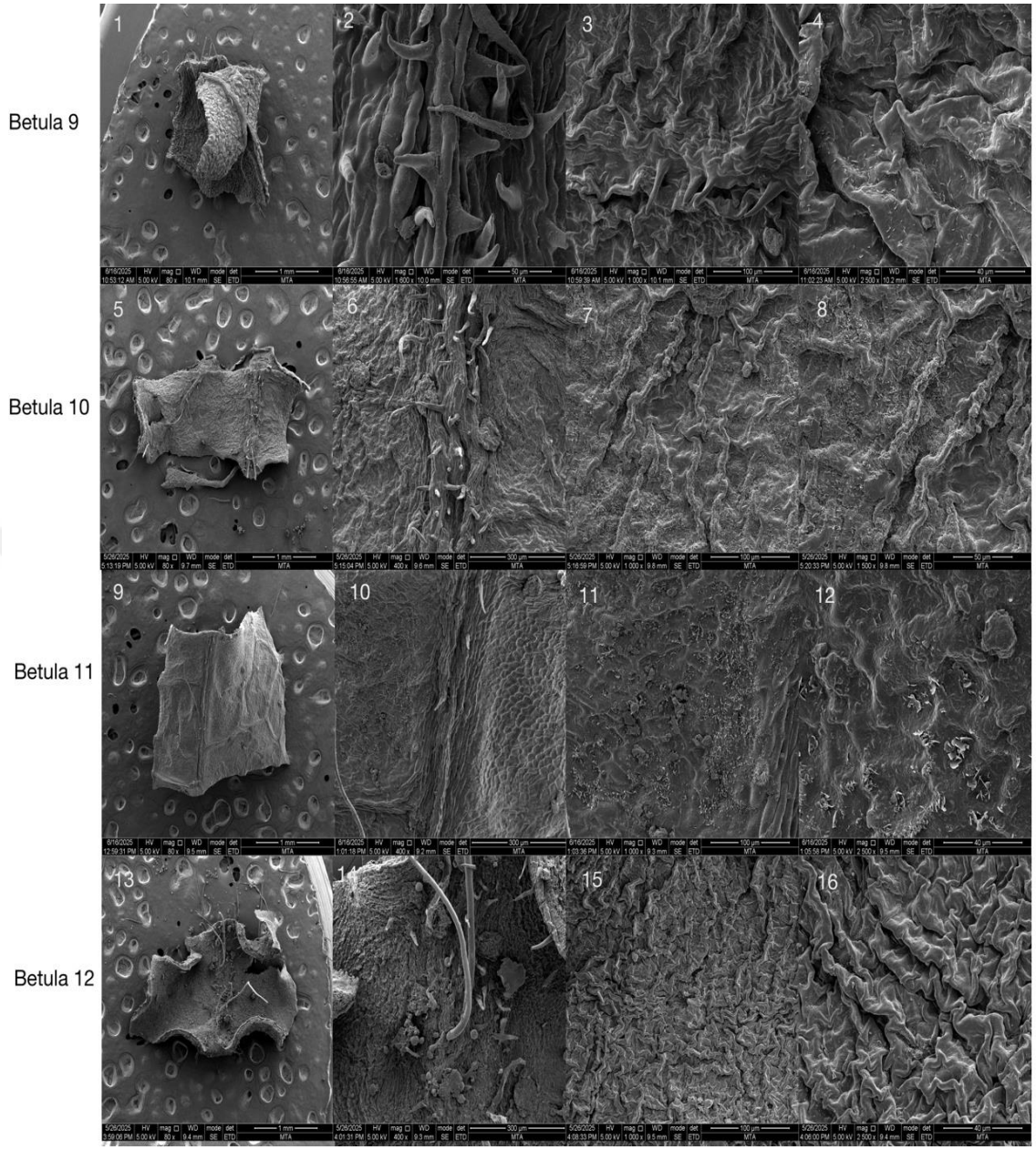
Şekil 4.29 *Betula pendula* (1-4 nolu örnekler) yaprak üst yüzeyinin SEM analizi

Betula pendula yaprak üst yüzeylerin SEM analizlerinde kirli bölgeden toplanan *Betula* 5-8 numaralı örnekler incelenmiştir. (Şekil 4.30). SEM analizlerinde, *Betula* 5, 6 ve 7 numaralı örneklerde epidermis yüzeylerinde belirgin partikül birikimleri görülmüştür. *Betula* 5 ve *Betula* 8 numaralı örneklerde damar bölgelerinde partikül birikimlerine rastlanmıştır.



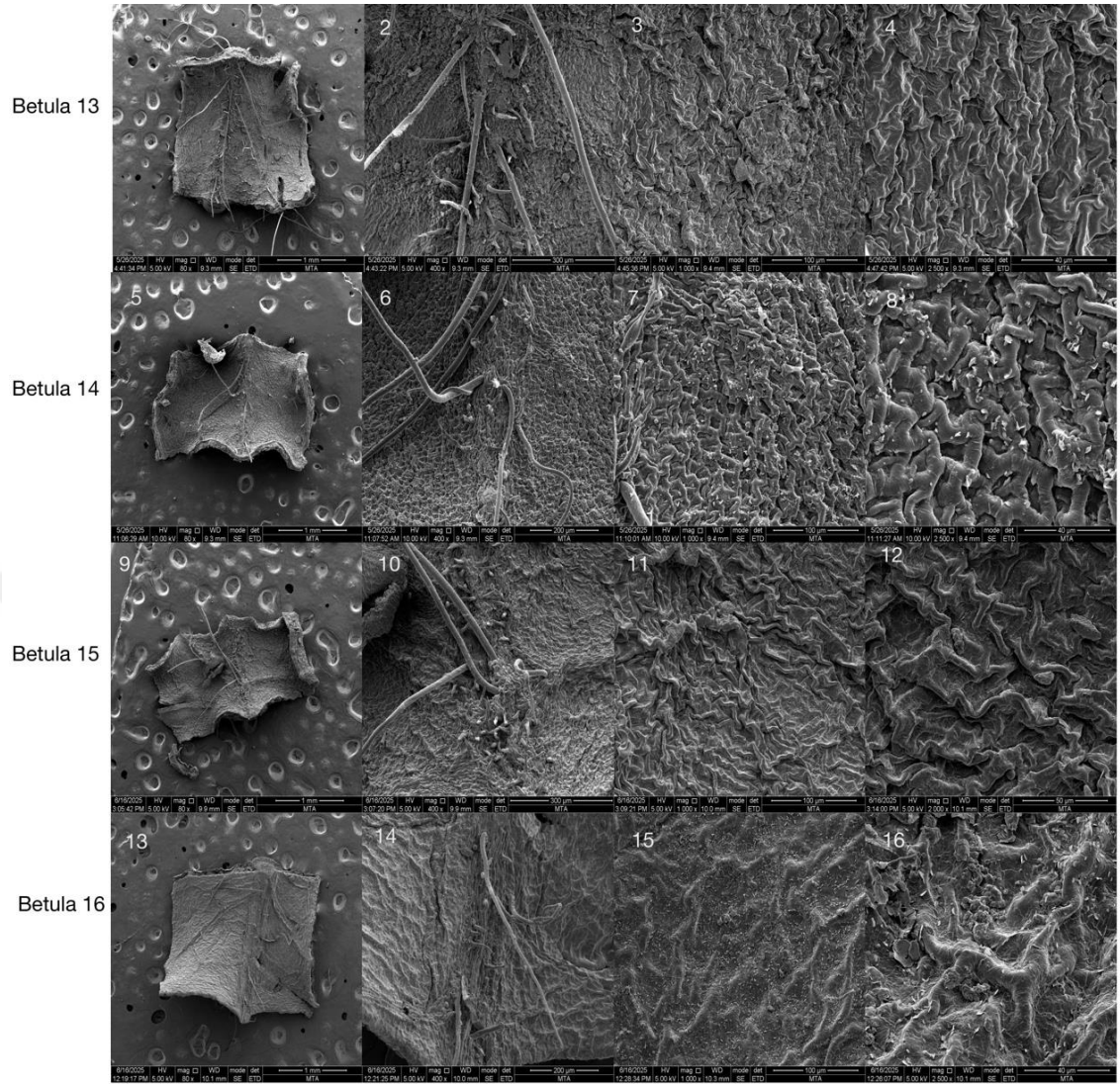
Şekil 4.30 *Betula pendula* (5-8 nolu örnekler) yaprak üst yüzeyinin SEM analizi

Betula pendula yaprak üst yüzeylerin SEM analizlerinde kirli bölgeden toplanan *Betula* 9-11 numaralı örnekler ve Temiz bölgeden toplanan *Betula* 12 numaralı örnek incelenmiştir. (Şekil 4.31). SEM analizlerinde, *Betula* 10 ve 11 numaralı örneklerde epidermis yüzeylerinde belirgin partikül birikimleri görülmüştür. Temiz bölgeden toplanan *Betula* 12 numaralı örnekte partikül birikimine rastlanmamıştır.



Şekil 4.31 *Betula pendula* (9-12 nolu örnekler) yaprak üst yüzeyinin SEM analizi

Betula pendula yaprak üst yüzeylerin SEM analizlerinde kirli bölgeden toplanan *Betula* 15 16 ve *numaralı* ve Temiz bölgeden toplanan *Betula* 13 ve 14 numaralı örnekler incelenmiştir (Şekil 4.32). SEM analizlerinde, *Betula* 16 numaralı örneklerde epidermis yüzeylerinde belirgin partikül birikimleri görülmüştür. Temiz bölgeden toplanan *Betula* 13 ve 14 numaralı örneklerde belirgin partikül birikimine rastlanmamıştır.

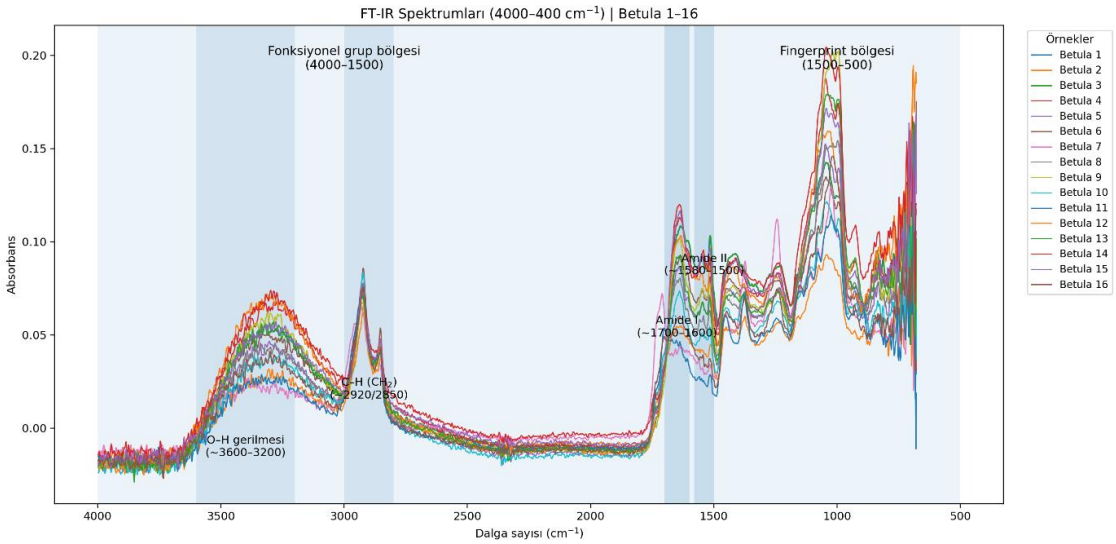


Şekil 4.32 *Betula pendula* (13-16 nolu örnekler) yaprak üst yüzeyinin SEM analizi

4.3 FT-IR Spektral Analiz Sonuçları

Trafik kirliliğinin polenlerin kimyasal yapısına etkisinin irdelenmesi amacıyla, FT-IR spektrumları 4000–400 cm^{-1} dalga sayısı aralığında 4 cm^{-1} çözünürlükte ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar grafik ve tablolarla sunulmuş, spektrumlarda gözlenen bant alanları, alanların birbirine oranları, pik yoğunlukları, konumlarındaki farklılıklar kirli ve temiz alan örnekleri arasında karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Polenin kimyasal yapısını oluşturan bireysel fonksiyonel gruplara ait yapısal bilgileri elde etmek amacıyla ikinci türev hesaplanmıştır. Proteinlerde meydana gelen moleküler değişimler alerjinin patojenitesinde çok önemli bir rol oynayabileceğinden, nükleik asitler ve proteinlerin titreşimlerine karşılık gelen spektral bölgelerin ayrıntılı karşılaştırmaları yapılmıştır.

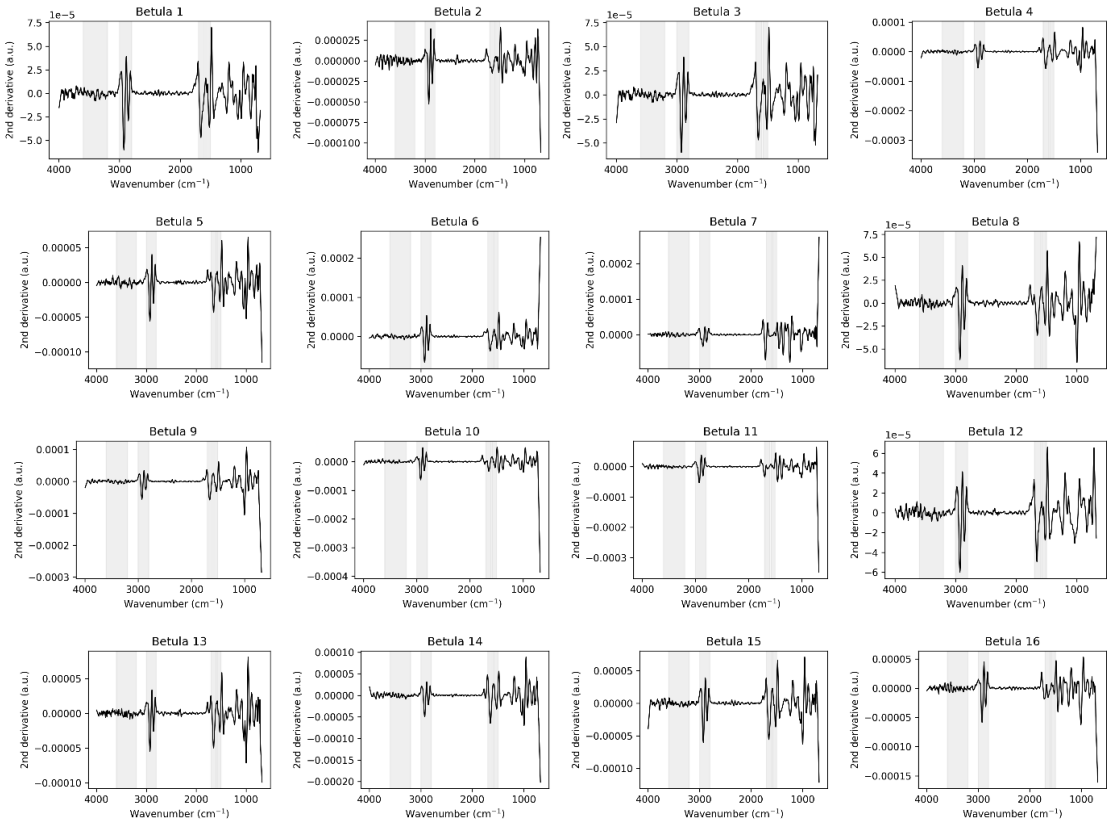
Tüm örneklere ait FT-IR spektrumları 4000–400 cm^{-1} aralığında birlikte değerlendirildiğinde, spektrumlar hem fonksiyonel grup bölgesinde (4000–1500 cm^{-1}) hem de fingerprint bölgesinde (1500–500 cm^{-1}) örnekler arası farklılıklar sergilemektedir. Fonksiyonel grup bölgesi özellikle O–H, C–H ve protein bantları (Amid I–II) açısından ayırt edicidir; fingerprint bölgesi ise polisakkarit/lignin gibi hücre duvarı bileşenlerini temsil eden karmaşık titreşimleri içerir (Şekil 4.33).



Şekil 4.33 *Betula pendula* poleni örneklerine ait FT-IR spektrumlarının 4000–400 cm^{-1} dalga sayısı aralığında genel görünümü

FT-IR spektrumlarından çevresel koşullara bağlı biyokimyasal değişimleri nicel olarak değerlendirebilmek amacıyla, belirlenen karakteristik dalga sayısı aralıkları için otomatik pik ve alan ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda her bir örnek için dört ana spektral bölge tanımlanmıştır: O–H gerilme bandı (3600–3200 cm^{-1}), C–H (CH_2) gerilme bandı (3000–2800 cm^{-1}), Amid I bandı (1700–1600 cm^{-1}) ve Amid II bandı (1580–1500 cm^{-1}).

Spektral bantların üst üste binmesi nedeniyle, karakteristik bölgelerde pik ayrımını artırmak amacıyla FT-IR spektrumlarının ikinci türevleri (Savitzky–Golay) hesaplanmıştır. İkinci türev spektrumlar özellikle O–H, CH_2 ve Amid I/II bölgelerinde bant ayrımını belirginleştirmiş; bu çalışma kapsamında kullanılan bölge-özgül metriklerin (alan, pik konumu, Amid I/II oranı) seçimini ve yorumunu görsel olarak desteklemiştir (Şekil 4.34).



Şekil 4.34 *Betula pendula* poleni örneklerine ait FT-IR ikinci türev spektrumlarının karşılaştırılması

Her bir bölge için spektral veriler önce uç noktalar esas alınarak doğrusal bir baseline ile düzeltilmiş, ardından baseline-düzeltilmiş spektrum üzerinden üç temel metrik hesaplanmıştır: (i) pik yüksekliği (peak), (ii) pik konumu (cm^{-1}) (peakpos) ve (iii) alan (area). Alan değerleri, ilgili dalga sayısı aralığında baseline-düzeltilmiş spektrumun mutlak değerinin trapez integrali alınarak hesaplanmıştır. Alan değerleri, ikinci türev ve baseline düzeltmesi sonrası mutlak integral alınarak hesaplandığından, tabloda negatif işaret yalnızca matematiksel yönü yansıtmakta olup, yorumlar alanın büyüklüğü üzerinden yapılmıştır. Pik yüksekliği, aynı baseline düzeltmesi sonrası maksimum absorbans değeri olarak; pik konumu ise bu maksimum değerin gözlendiği dalga sayısı olarak belirlenmiştir. Buna ek olarak, protein bantlarındaki göreli değişimleri daha iyi temsil edebilmek amacıyla Amid I ve Amid II alanları kullanılarak Amid I/Amid II alan oranı (Area_I_over_II) hesaplanmıştır. Tüm bu ölçümler, alttaki tablolarda her örnek için ayrıntılı olarak sunulmuştur (Çizelge 4.15-4.16).

Çizelge 4.15 *Betula pendula* poleni örneklerine ait O–H (3600–3200 cm^{-1}) ve CH_2 (3000–2800 cm^{-1}) bölgeleri için hesaplanan spektral metrikler

Örnek	Bölge	OH_3600_3200_peak	OH_3600_3200_area	OH_3600_3200_peakpos	CH_2_3000_2800_peak	CH_2_3000_2800_area	CH_2_3000_2800_peakpos
Betula 1	Kirli	0,030907	-6,906933	3392,6	0,05772994	-4,427403	2923,2
Betula 2	Kirli	0,0188023	-3,826331	3376,8	0,058289	-4,381302	2919,7
Betula 3	Kirli	0,0305634	-6,790656	3390,8	0,05878404	-4,60371	2921,5
Betula 4	Kirli	0,0302486	-7,040804	3341,6	0,05493163	-4,257553	2923,2
Betula 5	Kirli	0,026172	-5,543977	3394,3	0,06069764	-5,039341	2923,2
Betula 6	Kirli	0,0256929	-5,211828	3366,2	0,07077565	-5,285143	2923,2
Betula 7	Kirli	0,0196984	-3,905138	3389,1	0,0478894	-4,491687	2930,3
Betula 8	Kirli	0,0282161	-5,754387	3359,2	0,0620171	-4,872464	2925
Betula 9	Kirli	0,0321031	-7,387358	3376,8	0,05362157	-4,170287	2925
Betula 10	Kirli	0,0253065	-5,298482	3401,4	0,07198931	-5,386853	2923,2
Betula 11	Kirli	0,0205115	-4,462347	3434,8	0,06358079	-5,456292	2925
Betula 12	Yarı Temiz	0,0340838	-7,46551	3376,8	0,05829139	-4,484888	2923,2
Betula 13	Yarı Temiz	0,0321076	-7,440571	3371,5	0,05639375	-4,396896	2926,8
Betula 14	Temiz	0,0314442	-6,823908	3406,6	0,05077426	-3,946903	2923,2
Betula 15	Kirli	0,027918	-6,182628	3408,4	0,06091048	-4,615149	2923,2
Betula 16	Kirli	0,0265545	-5,66941	3394,3	0,06410309	-5,038266	2921,5

Çizelge 4.16 Kontrol grubuna (*Betula* 12–13–14) göre hesaplanan O–H, CH_2, Amid I ve Amid II bant alanları ile Amid I/Amid II alan oranlarının yüzde farkları

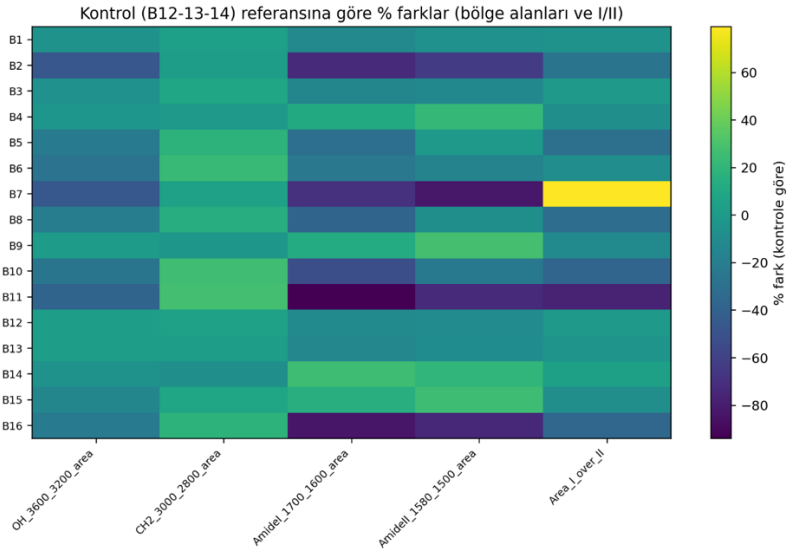
Örnek	Bölge	AmideI_1700_1600_peak	AmideI_1700_1600_area	AmideI_1700_1600_peakpos	AmideII_1580_1500_peak	AmideII_1580_1500_area	AmideII_1580_1500_peakpos	Area_I_over_II
Betula 1	Kirli	0,039912	-2,26593	1668,2	0,027544	-0,6809	1515,2	3,327857
Betula 2	Kirli	0,012901	-0,68918	1652,3	0,01033	-0,26724	1511,7	2,57885
Betula 3	Kirli	0,03967	-2,20171	1666,4	0,026561	-0,63073	1513,5	3,49072
Betula 4	Kirli	0,050939	-2,87324	1654,1	0,023285	-0,88424	1517	3,249395
Betula 5	Kirli	0,034694	-1,78471	1652,3	0,02146	-0,72059	1517	2,476742
Betula 6	Kirli	0,033903	-1,95053	1654,1	0,021837	-0,60906	1515,2	3,202504
Betula 7	Kirli	0	-0,79148	1699,8	0,004432	-0,12508	1517	6,327673
Betula 8	Kirli	0,028376	-1,60308	1648,8	0,019065	-0,66869	1517	2,397322
Betula 9	Kirli	0,050525	-2,90651	1652,3	0,02396	-0,92917	1517	3,12809
Betula 10	Kirli	0,025481	-1,22424	1640	0,01691	-0,55398	1517	2,209893
Betula 11	Kirli	0,005677	-0,15766	1636,5	0,008758	-0,19394	1515,2	0,812899
Betula 12	Yarı Temiz	0,038801	-2,28042	1661,1	0,0231	-0,64988	1515,2	3,508986
Betula 13	Yarı Temiz	0,041567	-2,22512	1652,3	0,020784	-0,65846	1515,2	3,379288
Betula 14	Temiz	0,05607	-3,22508	1650,6	0,020244	-0,8713	1541,6	3,701458
Betula 15	Kirli	0,04891	-2,95398	1654,1	0,024826	-0,90982	1515,2	3,246778
Betula 16	Kirli	0,009863	-0,42358	1638,3	0,007922	-0,18874	1517	2,244302

Spektral metriklerdeki çevresel kaynaklı farklılıkları daha net ortaya koyabilmek amacıyla, *Betula* 12, 13 ve 14 örneklerinden oluşan grup kontrol grubu olarak tanımlanmıştır. Bu kontrol grubunun her bir metrik için hesaplanan ortalama değeri referans alınarak, diğer tüm örneklerin ilgili metriklerdeki yüzde farkları hesaplanmıştır. Yüzde farklar aşağıdaki eşitliğe göre belirlenmiştir:

$$\%\Delta = (X_{(örnek)} - \bar{X}_{(kontrol)}) / \bar{X}_{(kontrol)} \times 100$$

Bu hesaplama sonucunda her bir örnek için O–H, CH_2/C–H, Amid I ve Amid II bant alanları ile Amid I/Amid II alan oranına ait kontrol grubuna göre yüzde fark değerleri elde edilmiştir. Alan değerleri, ilgili dalga sayısı aralıklarında baseline-düzeltilmiş spektrumların mutlak integraline dayalı olarak hesaplanmıştır.

Örnekler, kirlilik düzeylerine göre "Diğer kirli", "Ulus-yakın (B4–7–15)" ve kontrol grubu (*Betula* 12–13–14) olarak sınıflandırılmıştır. Kontrol grubuna göre hesaplanan yüzde farkların örnekler ve metrikler arasındaki dağılımını daha bütüncül biçimde değerlendirebilmek amacıyla, seçilmiş spektral metrikler için bir ısı haritası oluşturulmuştur (Şekil 4.35). Bu görselde satırlar bireysel *Betula* örneklerini, sütunlar ise O–H alanı, CH_2/C–H alanı, Amid I alanı, Amid II alanı ve Amid I/II alan oranı gibi seçilmiş metrikleri temsil etmektedir. Renk skalası, her bir metrik için kontrol grubuna göre yüzde farkın yönünü ve büyüklüğünü göstermektedir.



Şekil 4.35 Kontrol grubuna (*Betula* 12–13–14) göre hesaplanan spektral metriklerin yüzde farklarını gösteren ısı haritası

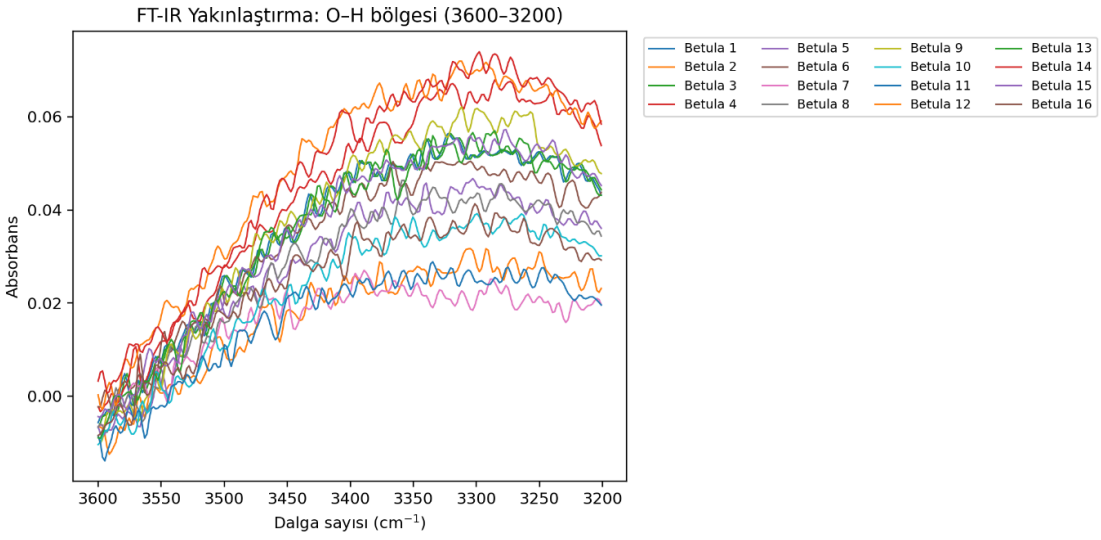
Isı haritası incelendiğinde, özellikle kirli ve yarı kirli bölgelerden toplanan örneklerde kontrol grubuna kıyasla bazı spektral bölgelerde sistematik sapmaların ortaya çıktığı görülmektedir. O–H ve Amid bantlarına ait alanlarda çoğunlukla negatif yönde farklar gözlenirken, bazı örneklerde Amid I/II alan oranında pozitif yönde belirgin artışlar dikkat çekmektedir (Çizelge 4.17). Bu durum, çevresel stres faktörlerinin protein bantlarının mutlak büyüklüğünden ziyade, protein yapısına ilişkin bantlar arasındaki göreli dengeyi etkileyebileceğine işaret etmektedir.

Çizelge 4.17 *Betula pendula* poleninin örneklerine ait O–H, CH_2, Amid I ve Amid II bölgeleri için FT-IR temelli spektral alan metrikleri ve Amid I/Amid II alan oranları

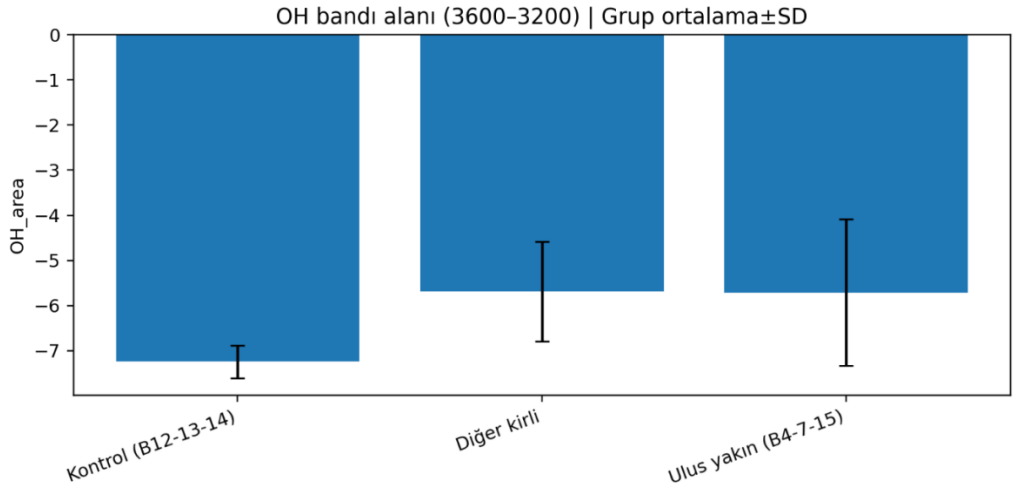
	Bölge	**OH_area**	**CH_2_area**	**Amid I_area**	**Amid II_area**	**I_over_II**	**Grup**
Betula 1	Kirli	-6,906933	-4,4274031	-2,265932	-0,680898169	3,3278574	Diğer kirli
Betula 2	Kirli	-3,826331	-4,3813019	-0,689182199	-0,267244	2,57885	Diğer kirli
Betula 3	Kirli	-6,790656	-4,6037095	-2,2017095	-0,630732228	3,4907198	Diğer kirli
Betula 4	Kirli	-7,040804	-4,2575533	-2,8732425	-0,884239087	3,2493955	Ulus_yakın (B4-7-15)
Betula 5	Kirli	-5,543977	-5,0393413	-1,784714	-0,7205895	2,4767416	Diğer kirli
Betula 6	Kirli	-5,211828	-5,285143	-1,950526	-0,609062849	3,2025037	Diğer kirli
Betula 7	Kirli	-3,905138	-4,4916866	-0,79148	-0,12508231	6,3276734	Ulus_yakın (B4-7-15)
Betula 8	Kirli	-5,754387	-4,8724645	-1,603077	-0,66869488	2,3973221	Diğer kirli
Betula 9	Kirli	-7,387358	-4,1702869	-2,9065115	-0,929165	3,1280897	Diğer kirli
Betula 10	Kirli	-5,298482	-5,3868533	-1,224236736	-0,553980146	2,2098928	Diğer kirli
Betula 11	Kirli	-4,462347	-5,4562924	-0,157655724	-0,193942525	0,8128992	Diğer kirli
Betula 12	Yarı Temiz	-7,46551	-4,4848883	-2,280417	-0,649879223	3,5089859	Kontrol (B12-13-14)
Betula 13	Yarı Temiz	-7,440571	-4,3968965	-2,225124	-0,658459361	3,3792883	Kontrol (B12-13-14)
Betula 14	Temiz	-6,823908	-3,9469025	-3,2250765	-0,871299	3,7014578	Kontrol (B12-13-14)
Betula 15	Kirli	-6,182628	-4,6151486	-2,9539795	-0,909818886	3,2467775	Ulus_yakın (B4-7-15)
Betula 16	Kirli	-5,66941	-5,0382658	-0,423583	-0,188737113	2,2443016	Diğer kirli

4.1.1 O-H bölgesi (3600 – 3200 cm^{-1}) – hidrasyon / H-bağı ortamı

O–H gerilme bandı (3600–3200 cm^{-1}) örnekler arasında bant şiddeti/alanı açısından değişkenlik göstermektedir. Bu bant genellikle hidrasyon düzeyi, hidrojen bağlarının yoğunluğu ve hidroksil içeren bileşenlerle (polisakkarit OH vb.) ilişkilidir. Kontrol grubunu oluşturan *Betula* 12, 13 ve 14 örneklerinde O–H bandı alanlarının birbirine oldukça yakın olduğu ve bu grubun ortalamasının referans olarak kullanılabileceği görülmüştür. Buna karşılık, kirli bölgelerden toplanan örneklerin büyük bir kısmında O–H bandı alanlarında kontrol grubuna kıyasla belirgin azalmalar saptanmıştır. Özellikle Ulus istasyonuna yakın konumdan toplanan *Betula* 4, 7 ve 15 örneklerinde O–H bandı alanları, kontrol grubuna göre sırasıyla yaklaşık %20–25 daha düşük değerler göstermiştir. Diğer kirli örnekler (örneğin *Betula* 1, 2, 3 ve 6) de benzer şekilde negatif yüzde farklar sergilemiş ve bu eğilim ısı haritasında tutarlı biçimde izlenmiştir (Şekil 4.36). Bu durum, kirli ortamlarda toplanan örneklerde hidrojen bağlanma ortamı veya hidroksil grubu içeren bileşenlerin göreli katkısının azaldığını düşündürmektedir.



Şekil 4.36 *Betula* poleni örneklerine ait FT-IR spektrumlarının O–H bölgesinde (3600 – 3200 cm^{-1}) yakınlaştırılmış görünümü



Şekil 4.37 *Betula* poleni örneklerinde O–H bandı alanlarının (3600–3200 cm^{-1}) grup ortalaması ± standart sapma değerleri

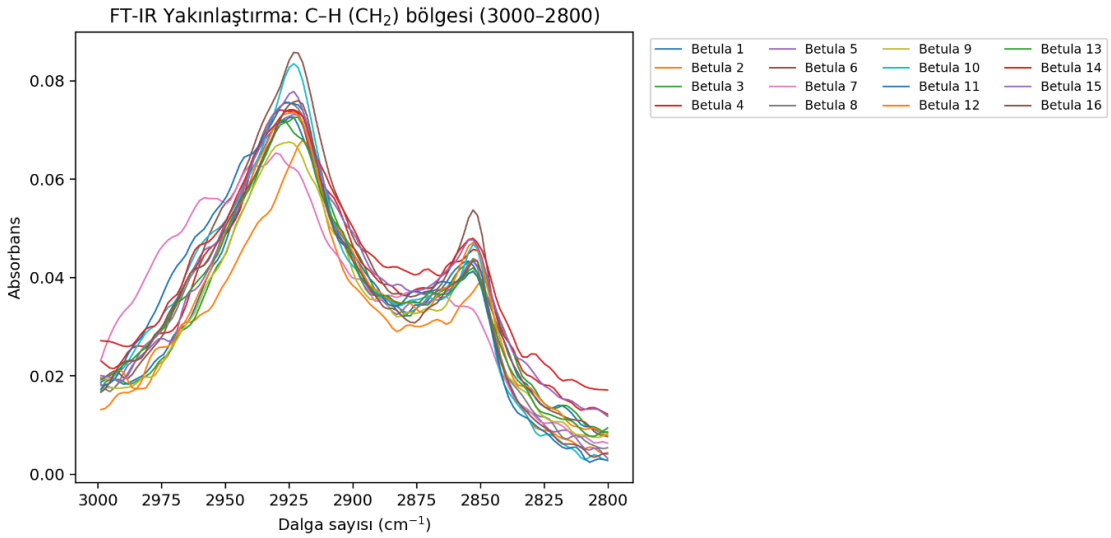
İstatistik (permütasyon) test sonucunda diğer kirli örnekler ve kontrol grubu arasında $p \approx 0{,}036$ düzeyinde anlamlı fark saptanırken, Ulus yakın ve kontrol grubuarasında anlamlı ilişki elde edilmemiştir ($p \approx 0{,}168$) Bu sonuç, kirli örneklerin genelinde O–H bandında kontrol grubuna kıyasla bir azalma eğilimi olduğunu; ancak Ulus yakın alt grubunda (n=3) istatistiksel gücün sınırlı kaldığını gösterir.

4.1.2 CH_2/C–H bölgesi (3000 - 2800 cm^{-1}) - lipid/zar ve yüzey hidrokarbonları

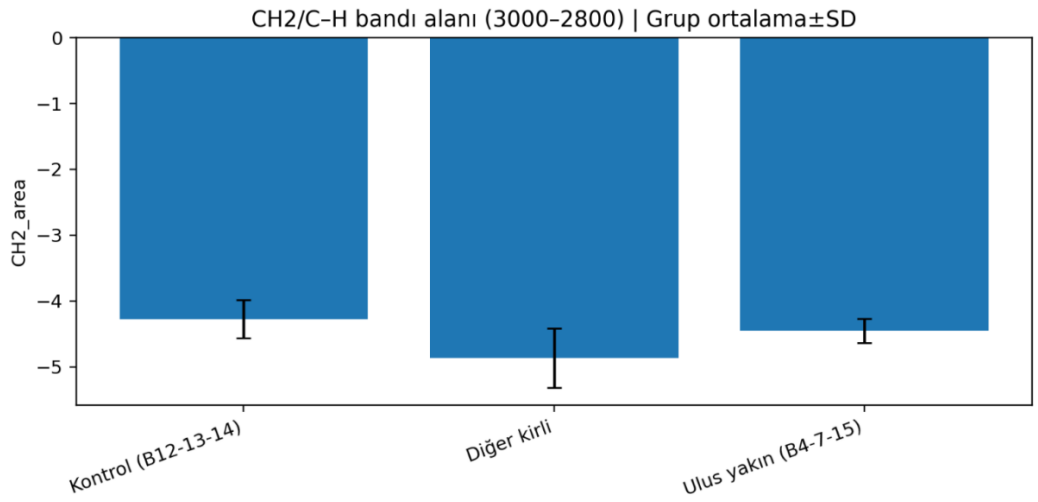
CH_2 simetrik/asimetrik gerilmeleri (~2920/2850 cm^{-1}) lipid/zar bileşeni ve hidrokarbon zincirleri ile ilişkilidir. CH_2 bandı alanları kontrol grubunda görece dar bir aralıkta değişirken, kirli örneklerde daha geniş bir dağılım göstermiştir. Ulus-yakın örneklerden *Betula* 4 ve 7'de CH_2 bandı alanlarının kontrol ortalamasına göre hafif artış eğilimi gösterdiği, *Betula* 15'te ise bu artışın daha sınırlı kaldığı görülmüştür. Diğer kirli örneklerden bazılarında (örneğin *Betula* 2 ve 8) kontrol grubuna göre %10–15 civarında pozitif yüzde farklar hesaplanmıştır (Şekil 4.38 - 4.39).

Bu bant için elde edilen sonuçlar, kirli ortamlarda CH_2 içeren lipid veya yüzey hidrokarbon bileşenlerinde artış olabileceğine işaret etse de örnekler arası varyasyonun yüksek olması nedeniyle bu eğilim tüm kirli örnekler için homojen değildir.

Bu durum, CH_2 bandının çevresel etkilerden etkilendiğini ancak tek başına güçlü bir ayırt edici olmadığını göstermektedir.



Şekil 4.38 *Betula* poleni örneklerine ait FT-IR spektrumlarının C-H (CH_2) bölgesinde (3000–2800 cm^{-1}) yakınlaştırılmış görünümü



Şekil 4.39 *Betula* poleni örneklerinde C–H bandı alanlarının (3000–2800 cm^{-1}) grup ortalaması ± standart sapma değerleri

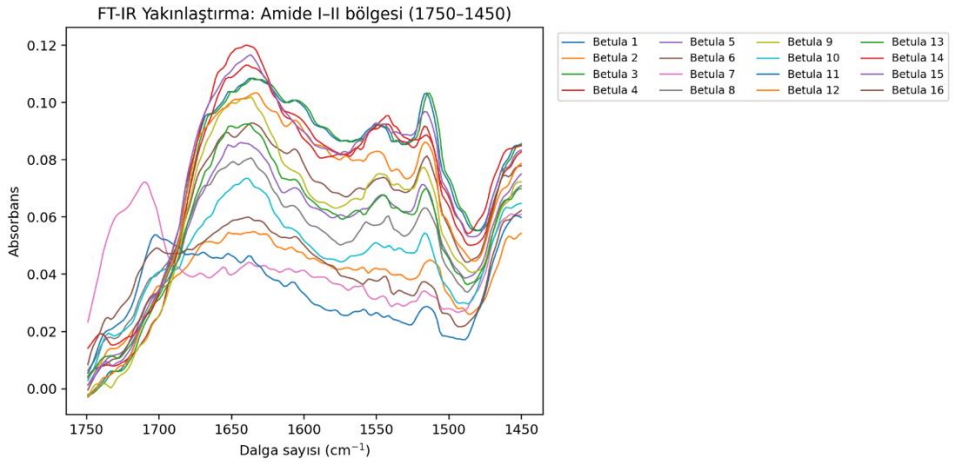
İstatistiksel teste (permütasyon) göre diğer kirli örnekler ve kontrol grubu arasında $p \approx 0{,}066$ sınırda eğilimli ama anlamlı olmayan ilişki tespit edilirken, Ulus-yakın örnekler ve kontrol grubu arasındaki ilişkinin ($p \approx 0{,}497$) de anlamlı olmadığı görülmüştür.

Bu bulgu, kirli örneklerin bir kısmında lipid/zar veya yüzey bileşenlerinde artış olabileceğini düşündürse de veri setinde grup düzeyinde güçlü bir ayrım henüz netleşmemektedir.

4.1.3 Protein bantları: Amid I (1700–1600) ve Amid II (1580–1500)

Amid I bandı ağırlıkla C=O gerilmesi (protein ikincil yapıya duyarlı), Amid II bandı ise N–H bükülmesi + C–N gerilmesi ile ilişkilidir. Protein bantları açısından değerlendirildiğinde, Amid I ve Amid II alanlarının her iki bant için de kirli örneklerde kontrol grubuna göre genel olarak daha düşük değerlere sahip olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda Amid I ve Amid II alanları birbirine oldukça yakın ve dengeli iken, kirli örneklerde bu dengenin bozulduğu dikkat çekmektedir (Şekil 4.40)

Örneğin *Betula* 4, 7 ve 15 örneklerinde Amid I alanları kontrol grubuna göre yaklaşık %10–20 oranında azalmış, Amid II alanlarında ise bazı örneklerde bu azalma daha belirgin hale gelmiştir. Diğer kirli örneklerde de benzer bir azalma eğilimi gözlenmiş olmakla birlikte, Ulus-yakın örneklerde bantlar arası dengenin daha farklı bir profile kaydığı görülmektedir.



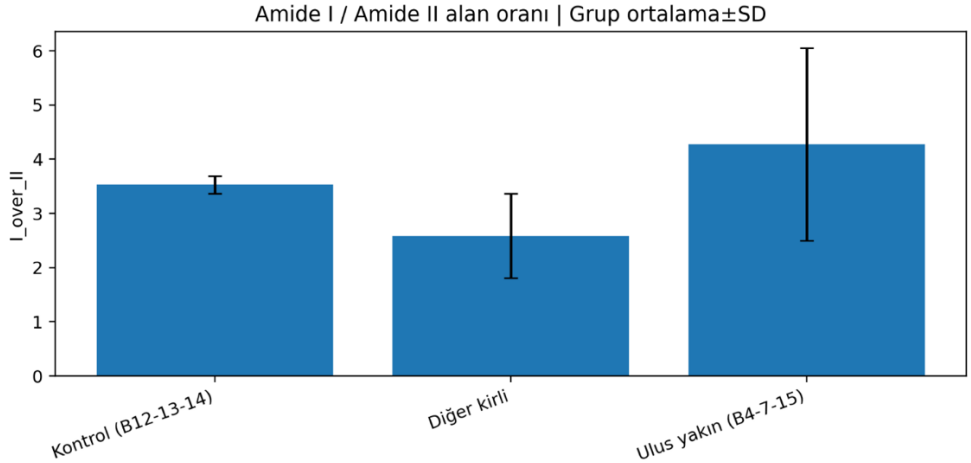
Şekil 4.40 *Betula* poleni örneklerine ait FT-IR spektrumlarının Amid I–II bölgesinde (1750–1450 cm^{-1}) yakınlaştırılmış görünümü

İstatistiksel teste (permütasyon) göre Amid I alanı için diğer kirli örnekler ve kontrol grubuarasında $p \approx 0.203$ düzeyinde ve anlamlı olmayan ilişki tespit edilmiştir. Ulus-

yakın örnekler ve kontrol grubuarasındaki ilişkinin ($p \approx 0{,}553$) de anlamlı olmadığı görülmüştür. Amid II alanı için benzer şekilde kontrol grubu ve diğer örnekler kıyaslandığında istatistiksel olarak alan değişimleri tek başına güçlü bir ayrım göstermediği görülmüştür.

Tüm metrikler içerisinde en dikkat çekici ve ayırt edici sonuç, Amid I/Amid II alan oranında elde edilmiştir. Kontrol grubunda bu oran görece dar bir aralıkta seyretmiş ve protein bantları arasında dengeli bir dağılıma işaret etmiştir. Buna karşılık, Ulus-yakın örneklerde (*Betula* 4, 7 ve 15) bu oran belirgin biçimde yükselmiştir.

Sayısal olarak, Ulus-yakın örneklerin Amid I/II alan oranı ortalaması, diğer kirli örneklerin ortalamasından anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (permütasyon testi, $p \approx 0{,}0315$). Bu sonuç, Ulus-yakın örneklerde protein bantlarının mutlak alanlarından ziyade, Amid I ve Amid II bantları arasındaki göreli dengenin değiştiğini göstermektedir. Diğer bir ifadeyle, trafik yoğunluğunun yüksek olduğu bölgelerde protein yapısının konformasyonel özelliklerinin etkilenmiş olabileceği düşünülmektedir (Şekil 4.41).



Şekil 4.41 *Betula* poleni örneklerinde Amid I / Amid II alan oranlarının grup ortalaması ± standart sapma değerleri

Kontrole göre hesaplanan yüzde farkların ısı haritası (Şekil 4.35), örnekler arasındaki bu eğilimleri bütüncül biçimde ortaya koymaktadır. Isı haritasında kontrol grubunu

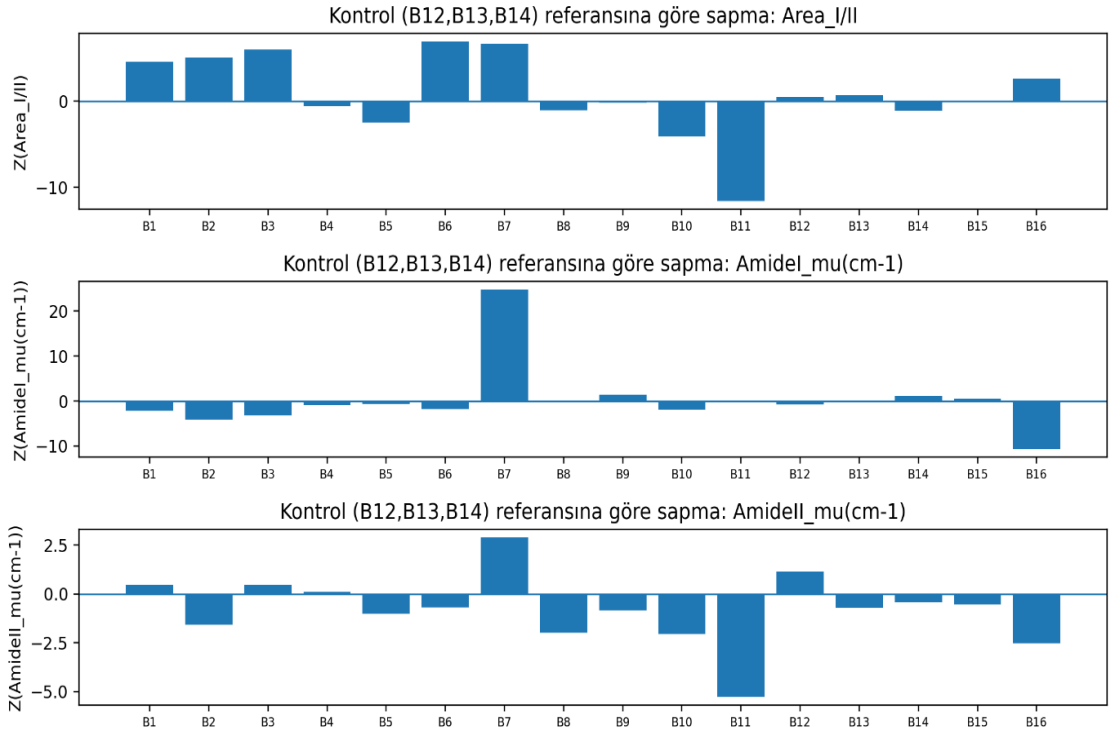
oluşturan *Betula* 12–14 örnekleri sıfıra yakın değerlerle homojen bir profil sergilerken, kirli ve yarı kirli örneklerde özellikle O–H ve protein bantlarına ait alanlarda negatif yönde, Amid I/II oranında ise bazı örneklerde pozitif yönde sapmalar belirginleşmektedir.

Özellikle *Betula* 4, 7 ve 15 örneklerinin aynı metriklerde benzer yönde sapmalar göstermesi, bu örneklerin benzer çevresel koşullara maruz kaldığını ve FT-IR spektral profillerinin bu durumu yansıttığını düşündürmektedir.

Betula 12–13–14 referans alındığında, kirli örneklerin önemli bir kısmında:

- Amid I ve Amid II tepe konumlarında (μ) kaymalar,
- Area_I/II oranında kontrol grubuna kıyasla sapmalar gözlenmiştir.

Bu durum, protein bağ ortamında ve ikincil yapı düzeninde değişiklikler olabileceğini düşündürmektedir. Bu farklar alttaki grafikte örnek bazında net şekilde görülmektedir (Şekil 4.42). Bunun üzerine Amid I ve Amid II bölgeleri için iki bileşenli Gauss fonksiyonu kullanılarak eğri uydurma (curve fitting) yapılmış; tepe konumu (μ), bant genişliği (σ) ve bant alanı (area) parametreleri elde edilmiştir. Protein bantları arasındaki göreli değişimi değerlendirmek amacıyla Area_I/II oranı hesaplanmıştır.



Şekil 4.42 Kontrol grubuna (*Betula* 12–13–14) göre Amid I/Amid II alan oranındaki sapmaların örnek bazında gösterimi

Amid I bandı ayrıca protein ikincil yapı bileşenlerini ayırt etmek amacıyla üç bileşenli Gauss modeli ile dekonvolüe edilmiştir (Çizelge 4.18). Bu modelde:

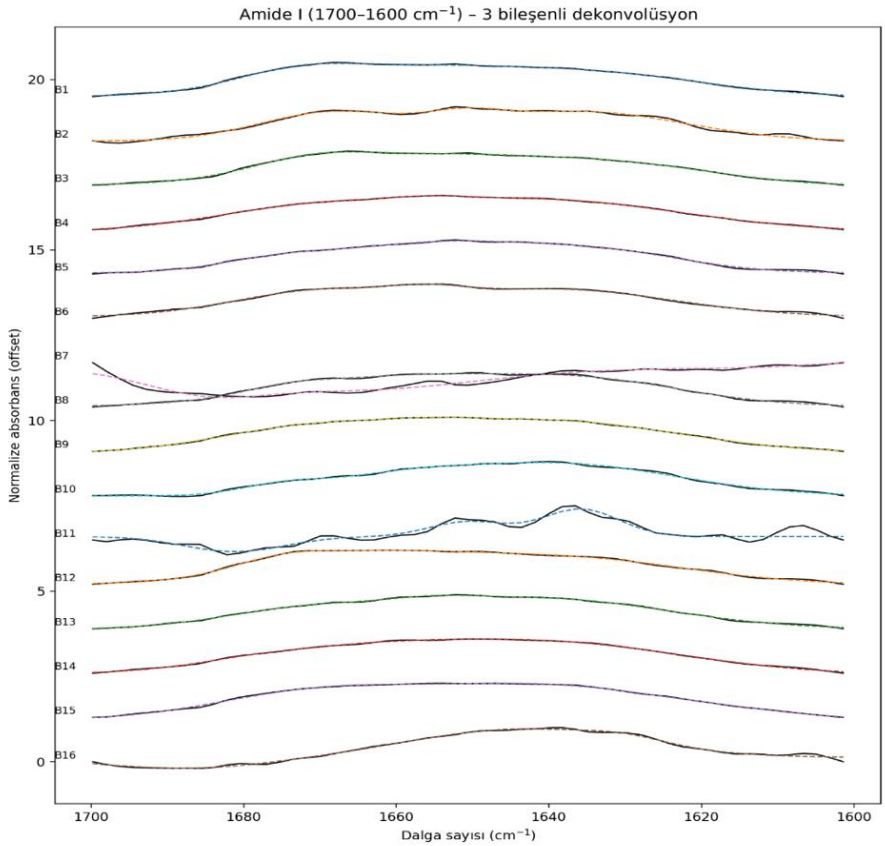
- **β-sheet yapıları** (~1620–1640 cm^{-1})
- **α-heliks yapıları** (~1650–1660 cm^{-1})
- **turn/coil yapıları** (~1665–1690 cm^{-1})

ayrı bileşenler olarak modellenmiş ve her bileşenin alan yüzdesi toplam Amid I alanına oranlanarak hesaplanmıştır.

Curve fitting ve ikincil yapı yüzdelerine (dekonvolüsyon) sonuçlarına göre, kontrol örneklerinde (B12–B13–B14) α-heliks yüzdesi daha dengeli ve baskın görünmektedir. Bazı kirli ve özellikle Ulus'a yakın örneklerde, β-sheet oranında artış, turn/coil bileşenlerinde genişleme gözlenmiştir (Şekil 4.43).

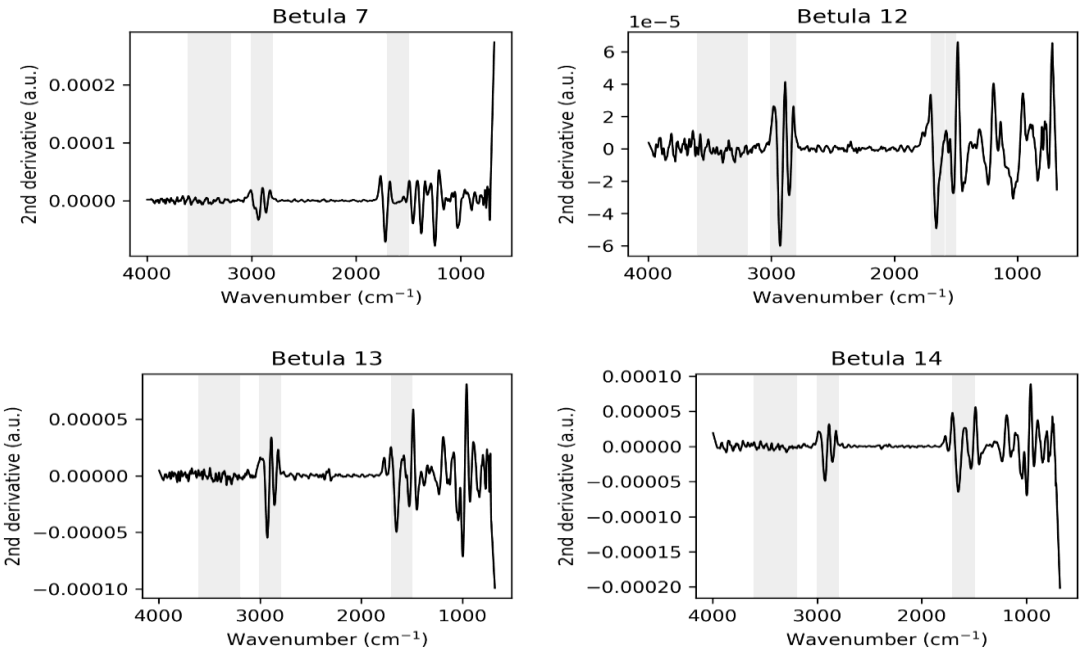
Çizelge 4.18 Amid I (1700–1600 cm^{-1}) bölgesinin üç bileşenli Gauss modeli ile dekonvolüsyonu sonucu elde edilen ikincil yapı yüzdeleri (β-sheet, α-heliks, turn/coil)

Örnek	Bölge	beta_mu	beta_area_%	alpha_mu	alpha_area_%	turn_mu	turn_area_%
Betula 1	Kirli	1631,915	33,94361	1659,771	55,65651645	1673,6281	10,39986953
Betula 2	Kirli	1635,914	54,88194	1651,045	8,089949948	1668,4159	37,02811177
Betula 3	Kirli	1627,592	20,52437	1654,756	68,17677373	1671,565	11,29885681
Betula 4	Kirli	1640,612	65,47121	1655,323	1,967586466	1671,4678	32,56120148
Betula 5	Kirli	1634,148	39,10765	1655,355	42,70590151	1674,6915	18,1864514
Betula 6	Kirli	1639,041	57,08271	1655,729	4,848906253	1670,2659	38,06838356
Betula 7	Kirli	1600,046	6,613953	1665,688	66,17619743	1685,3723	27,20984921
Betula 8	Kirli	1634,601	42,91396	1660,963	53,09520273	1674,6878	3,99083228
Betula 9	Kirli	1640,171	63,62926	1655,265	3,011743473	1671,47	33,35899403
Betula 10	Kirli	1638,85	75,22402	1660,876	17,93326019	1675,2697	6,842715708
Betula 11	Kirli	1635,822	44,05001	1650,547	24,0280805	1681,2177	31,92191353
Betula 12	Yarı Temiz	1637,31	49,6079	1665,027	43,68660481	1675,303	6,705490516
Betula 13	Yarı Temiz	1641,202	68,10434	1654,983	4,716251793	1671,7605	27,17941203
Betula 14	Temiz	1638,582	60,0696	1667,147	38,78923758	1679,5906	1,141157616
Betula 15	Kirli	1613,911	1,280747	1640,732	64,75482802	1671,2788	33,96442529
Betula 16	Kirli	1629,714	5,200814	1643,458	72,50334089	1687,6485	22,29584545



Şekil 4.43 *Betula* poleni örneklerinde Amid I bölgesinin (1700–1600 cm^{-1}) üç bileşenli Gauss modeli ile dekonvolüsyonu

Ulus istasyonu yakınından toplanan *Betula* 7 örneği ile kontrol örneklerinin ikinci türev spektrumları alttaki şekil 4.44'de sunulmuştur. Özellikle Amid I ve Amid II bölgelerinde bant profillerindeki farklılıklar dikkat çekmektedir. Bu gözlemler, ham FT-IR spektrumlarında ve bölge-özgül nicel analizlerde belirlenen protein bantlarına ilişkin değişimlerin ikinci türev düzeyinde de desteklendiğini göstermektedir.



Şekil 4.44 *Betula* 7 örneği ile kontrol grubunu oluşturan *Betula* 12–13–14 örneklerinin FT-IR ikinci türev spektrumlarının karşılaştırılması

4.4 Protein Profillerinin İncelenmesi

4.4.1 Total protein miktarlarının belirlenmesi

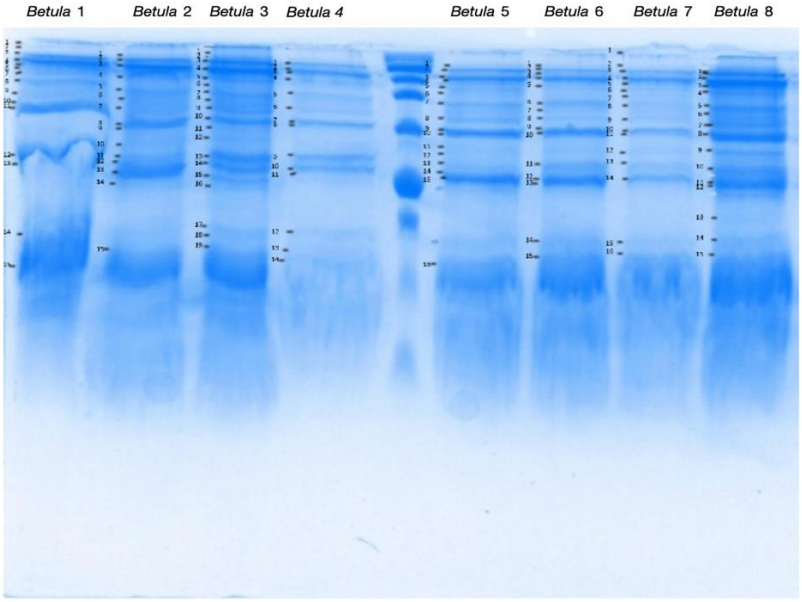
K-Lab Optızen nanodrop spektrofotometre cihazında ve Bradford yöntemiyle ölçülen örneklerin total protein miktarları Çizelge 4.20'de verilmiştir. Ölçülen değerler, sonraki analizlerde kullanılacak olan protein miktarlarının hesaplanması açısından temel veri niteliğindedir.

Çizelge 4.19 Nanodrop ve Bradford ölçülen proteinlerin absorbans değerleri

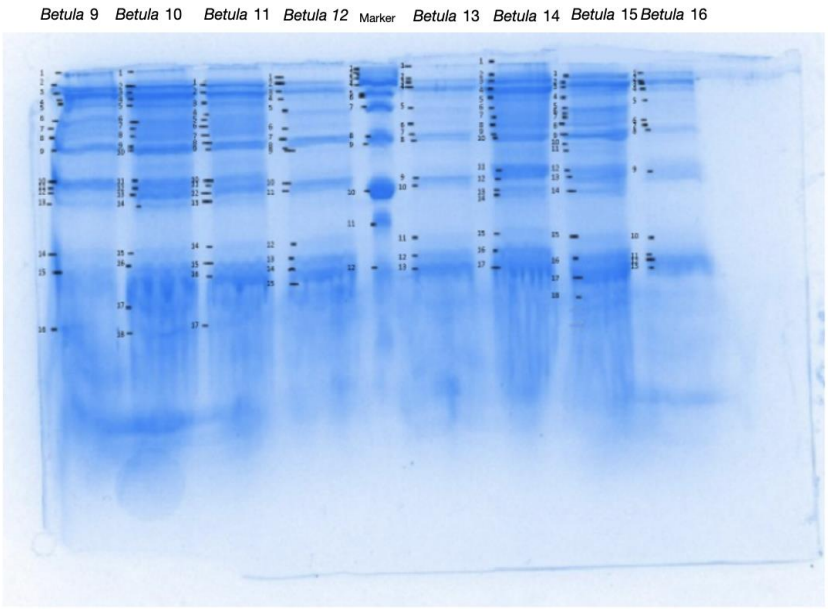
Örnekler	**Bradford (mg/ml)**	**Nanodrop (mg/ml)**
***Betula* 1**	2,169	20,47
***Betula* 2**	1,540	19,44
***Betula* 3**	2,235	25,07
***Betula* 4**	0,721	38,28
***Betula* 5**	2,307	39,49
***Betula* 6**	3,505	23,01
***Betula* 7**	0,931	22,58
***Betula* 8**	1,396	28,67
***Betula* 9**	0,351	31,86
***Betula* 10**	2,13	22,89
***Betula* 11**	2,615	26,41
***Betula* 12**	1,606	37,18
***Betula* 13**	0,203	36,89
***Betula* 14**	3,322	35,84
***Betula* 15**	0,754	21,2
***Betula* 16**	0,206	36,9

4.4.2 SDS-PAGE ile protein profil analizi

Temiz ve kirli bölgelerden toplanan *Betula pendula* polenlerinden elde edilen protein ekstraktları kullanılarak, polenlerin protein profilleri belirlenmiş ve farklı lokasyonlar arasındaki bant paternleri karşılaştırılmıştır (Şekil 4.45-4.46) Jel analizlerinde marker 5. kuyuda yer almaktadır. Birinci jel de *Betula* 1–4 ve 5-8 numaralı kuyulara *Betula pendula* örnekleri yüklenmiştir. İkinci jelde ise 9-12 ve 13–16 numaralı kuyulara *Betula pendula* örnekleri yüklenmiştir. Her iki jelde de toplam 10 kuyu bulunmasına rağmen, 10. kuyu kontrol amacıyla boş bırakılmış ve herhangi bir örnek yüklenmemiştir. Marker bantları referans alınarak, jellerde gözlenen protein bantlarının yaklaşık molekül ağırlıkları hesaplanmıştır (çizelge 4.21-4.24). SDS-PAGE analizinde belirlenen protein bantlarının moleküler ağırlık değerleri kullanılarak dendrogramda, bantların moleküler ağırlık benzerlerine göre farklı kümeler altında gruplandığı görülmüştür (Şekil 4.47).



Şekil 4.45 Birinci SDS-PAGE jel görüntüsü



Şekil 4.46 İkinci SDS-PAGE jel görüntüsü

Çizelge 4.20 *Betula* 1-4 numaralı örneklerin SDS-PAGE analizinde protein bantları

***Betula* 1**		***Betula* 2**		***Betula* 3**		***Betula* 4**		**Marker**	
Band no	**Mol. Wt.(Kda)**	**Band no**	**Mol. Wt.(Kda)**	**Band no**	**Mol. Wt.(Kda)**	**Band no**	**Mol. Wt.(Kda)**	**Band no**	**Mol. Wt.(Kda)**
1	80	1	80	1	81	1	80	1	245
2	77	2	70	2	78	2	69	2	180
3	71	3	65	3	70	3	65	3	135
4	67	4	61	4	65	4	62	4	100
5	65	5	53	5	61	5	46	5	75
6	63	6	50	6	52	6	41	6	63
7	56	7	45	7	45	7	40	7	48
8	48	8	39	8	40	8	31	8	35
9	44	9	38	9	35	9	30	9	25
10	43	10	35	10	30	10	28	10	20
11	30	11	31	11	27	11	26	11	17
12	30	12	29	12	24	12	15	12	11
13	**17**	13	25	13	24	13	**17**		
14	10	14	22	14	20	14	12		
15	7	15	**17**	15	**17**				
				16	15				
				17	11				
				18	10				
				19	8				

Çizelge 4.21 *Betula* 5-8 numaralı örneklerin SDS-PAGE analizinde protein bantlarının moleküler ağırlıkları

Betula 5		***Betula* 6**		***Betula* 7**		***Betula* 8**	
Band no	**Mol. Wt. (Kda)**	**Band no**	**Mol. Wt. (Kda)**	**Band no**	**Mol. Wt. (Kda)**	**Band no**	**Mol.Wt. (Kda)**
1	80	1	81	1	81	1	81
2	72	2	69	2	69	2	69
3	68	3	64	3	65	3	64
4	64	4	59	4	59	4	59
5	63	5	57	5	56	5	57
6	59	6	51	6	51	6	51
7	50	7	45	7	49	7	45
8	44	8	40	8	45	8	40
9	43	9	39	9	40	9	39
10	38	10	38	10	34	10	38
11	37	11	34	11	29	11	34
12	33	12	28	12	26	12	28
13	28	13	25	13	19	13	25
14	25	14	**17**	14	**17**	14	**17**
15	23	15	12	15	12	15	12
16	**17**			16	11		
17	12						
18	9						
19	8						

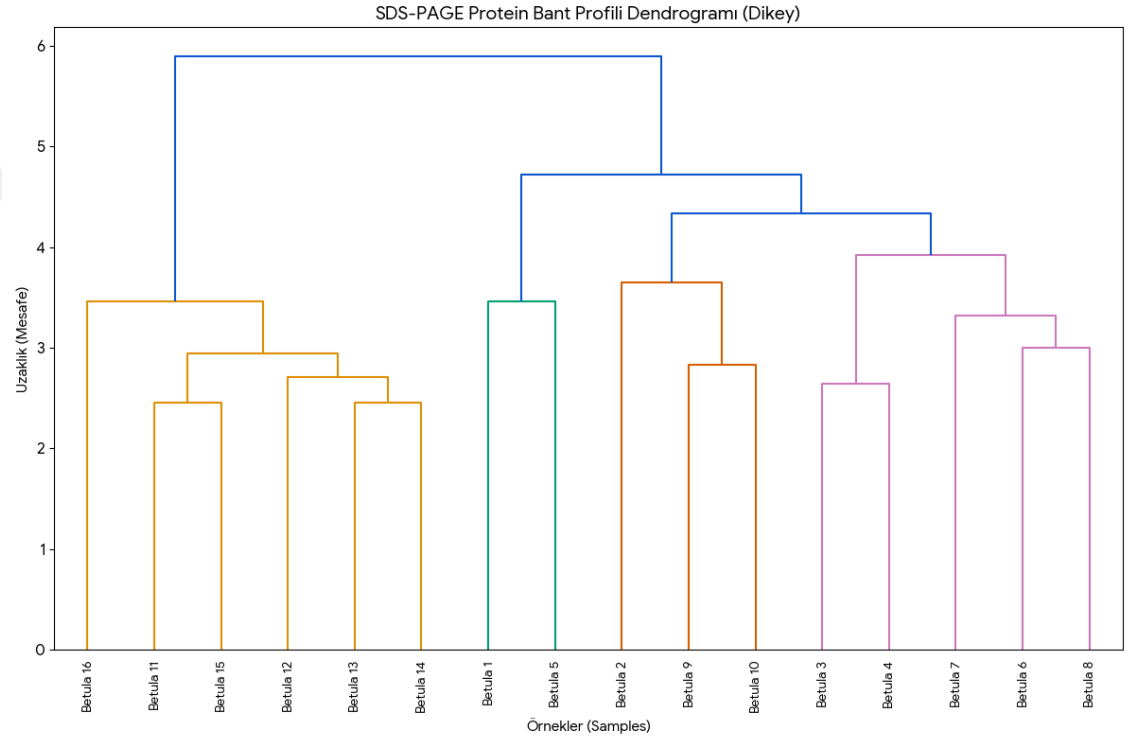
Çizelge 4.22 *Betula* 9-12 numaralı örneklerin SDS-PAGE analizinde protein bantlarının moleküler ağırlıkları

***Betula* 9**		***Betula* 10**		***Betula* 11**		***Betula* 12**		***Marker***	
Band no	**Mol. Wt. (Kda)**	**Band no**	**Mol. Wt. (Kda)**	**Band no**	**Mol. Wt. (Kda)**	**Band no**	**Mol. Wt. (Kda)**	**Band no**	**Mol. Wt. (Kda)**
1	77	1	79	1	79	1	81	1	245
2	63	2	69	2	68	2	66	2	180
3	60	3	65	3	65	3	61	3	135
4	53	4	59	4	59	4	58	4	100
5	45	5	53	5	52	5	54	5	75
6	42	6	44	6	43	6	48	6	63
7	38	7	41	7	40	7	40	7	48
8	32	8	37	8	36	8	34	8	35
9	25	9	32	9	31	9	31	9	25
10	21	10	25	10	25	10	23	10	20
11	19	11	21	11	20	11	21	11	17
12	**17**	12	19	12	18	12	**17**	12	11
13	9	13	**17**	13	**17**	13	13		
14	7	14	10	14	9	14	10		
15	6	15	8	15	7	15	9		
16	3	16	6	16	6		7		
		17	4	17	3		6		
		18	1				4		
							1		

Çizelge 4.23 *Betula* 4-8 numaralı örneklerin SDS-PAGE analizinde protein bantlarının moleküler ağırlıkları

***Betula* 13**		***Betula* 14**		***Betula* 15**		***Betula* 16**	
Band no	**Mol. Wt. (Kda)**	**Band no**	**Mol. Wt. (Kda)**	**Band no**	**Mol. Wt. (Kda)**	**Band no**	**Mol. Wt. (Kda)**
1	67	1	81	1	82	1	81
2	61	2	69	2	76	2	70
3	47	3	66	3	69	3	64
4	41	4	65	4	62	4	59
5	36	5	59	5	59	5	36
6	34	6	53	6	56	6	23
7	24	7	39	7	47	7	21
8	21	8	34	8	39	8	19
9	**17**	9	26	9	34	9	**17**
10	10	10	24	10	31	10	12
11	9	11	22	11	29	11	10
12	8	12	19	12	23	12	4
13	5	13	**17**	13	21	13	2
		14	11	14	**17**		
		15	10	15	10		
		16	8	16	8		
		17	7	17	7		
				18	6		

Temiz bölgeden elde edilen *Betula* 12, *Betula* 13 ve *Betula* 14 numaralı örnekler dendrogramda aynı küme içerisinde yer almış ve birbirleriyle yüksek benzerlik göstermiştir. Buna karşılık, kirli bölgelerden elde edilen diğer *Betula* örnekleri ayrı kümelerde toplanmış ve temiz bölge örneklerinden belirgin şekilde ayrılmıştır. Bu bulgular, protein bant profillerinin lokasyona bağlı olarak farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır (Şekil 4.47).



Şekil 4.47 SDS-PAGE jellerinde belirlenen protein bantlarının moleküler ağırlık değerlerine dayalı hiyerarşik kümeleme dendrogramı

4.5 Bet v 1 Alerjen Konsantrasyonunun Karşılaştırılması

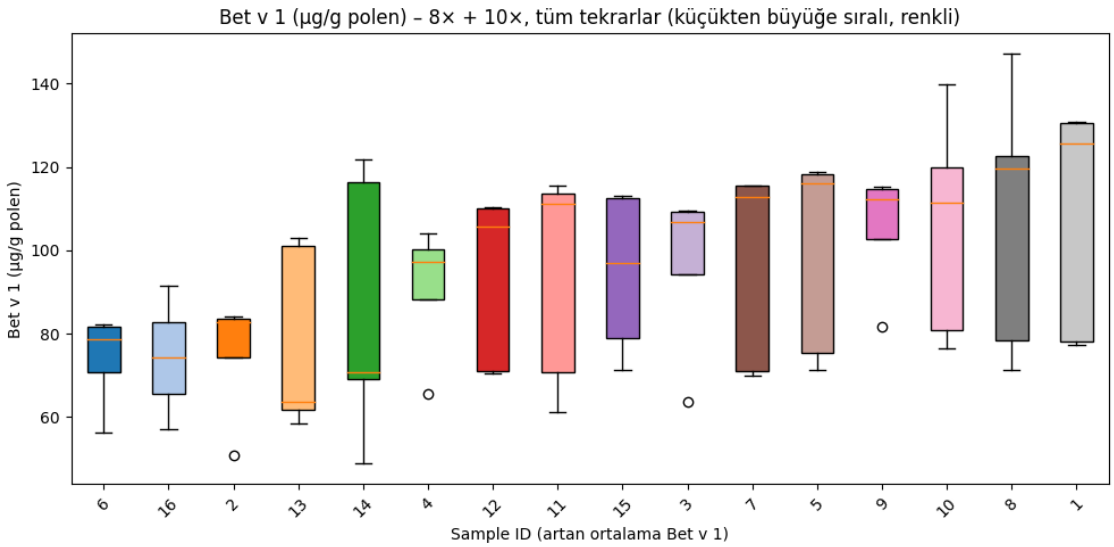
16 farklı lokasyondan elde edilen *Betula pendula* polen örneklerinde Bet v 1 alerjen proteinin konsantrasyonu ELISA yöntemi ile tespit edilmiştir. Bu örneklerden 12-13-14 numaralı örnekler temiz bölge olarak seçilen lokasyonlara aittir. Diğer örnekler ise kirli bölge olarak seçilen örneklerdir. ELISA sonuçları alttaki tabloda verilmiştir (Çizelge 4.25). Konsantrasyon karşılaştırması grafikler halinde altta sunulmuştur (Şekil 4.48-4.50).



Şekil 4.48 ELISA plak yerleşimi

Çizelge 4.24 *Betula* 1–16 polen örneklerinde 8× ve 10× seyreltmeli ELISA ölçümlerinden elde edilen tekrarların birleştirilmesiyle hesaplanan ortalama konsantrasyon değerleri

Örnek no	**Ortalama konsantrasyon (ng/ml)**	**Ortalama_Normal Konsantrasyon (ng/ml)**	**Ortalama_Bet v 1 (µg/g)**
***Betula* 1**	1291,4	12050,8	108,45
***Betula* 2**	870,35	8350	75,15
***Betula* 3**	1118,25	10741,5	96,67
***Betula* 4**	1057,08	10115,1	91,03
***Betula* 5**	1192,28	11108,24	99,97
***Betula* 6**	860,27	8211,8	73,90
***Betula* 7**	1155,64	10772,72	96,95
***Betula* 8**	1280,74	11976,72	107,79
***Betula* 9**	1226,5	11698,5	105,28
***Betula* 10**	1262	1174,6	105,71
***Betula* 11**	1122,28	10491,04	94,42
***Betula* 12**	1118,04	10393,52	93,54
***Betula* 13**	928,14	8614,28	77,53
***Betula* 14**	1015,5	9490,44	85,41
***Betula* 15**	1099,7	10502,65	94,52
***Betula* 16**	904	8249	74,24



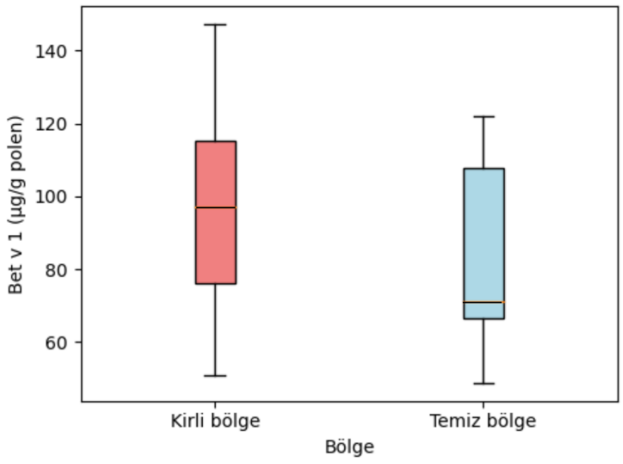
Şekil 4.49 *Betula* 1–16 polen örneklerinde Bet v 1 (µg/g polen) düzeylerinin, örneklerin ortalama Bet v 1 değerine göre küçükten büyüğe sıralanmış kutu grafiği

Bet v 1 içeriği, 16 *Betula pendula* poleni örneği için gerçekleştirilen ELISA çalışmaları ile nicel olarak belirlenmiştir. Ölçümler 8× ve 10× seyreltmelerde, her numunede birden fazla tekrar olacak şekilde yürütülmüş, konsantrasyon (ng/ml) değerleri seyreltme faktörü ile çarpılarak ekstrakt düzeyine geri dönüştürülmüş ve ekstraksiyon koşulları (0,1 g polenin 0,9 ml PBS ile ekstrakte edilmesi) dikkate alınarak Bet v 1 (µg/g polen) = Konsantrasyon× Dilution × 0,009 formülü ile polen başına düşen Bet v 1 miktarı hesaplanmıştır. *Betula*16 numunesi için yeni plaka çalışmasında güvenilir sonuç elde edilemediğinden, bu örneğe ait Bet v 1 değeri önceki ELISA deneylerinden elde edilen konsantrasyon ortalamaları kullanılarak, mevcut plaka ile ortak numuneler üzerinden hesaplanan ölçek faktörüyle tahmini olarak belirlenmiş ve analize bu şekilde dahil edilmiştir.

Tüm 8× ve 10× tekrarlar µg/g düzeyine çevrildikten sonra, her bir numune için ortalama Bet v 1 değerleri hesaplanmış ve hem sayısal tablolarla hem de boxplot grafiklerle özetlenmiştir. Numune bazında elde edilen ortalama Bet v 1 değerleri yaklaşık olarak 70–110 µg/g aralığında değişmekte, kirli bölgeden alınan numunelerin önemli bir kısmı temiz örneklerden daha yüksek değerler göstermektedir. Özellikle *Betula* 1, *Betula* 8, *Betula* 9 ve *Betula* 10 numuneleri hem tekrarlardaki değer dağılımları hem de ortalamaları açısından üst düzey Bet v 1 içeriğine sahiptir. Buna karşılık *Betula* 2,

Betula 6, *Betula* 13, *Betula* 14 ve tahmini değeriyle *Betula*16, genel dağılım içinde daha düşük veya orta düzeyde Bet v 1 yüküne sahip örnekler olarak öne çıkmaktadır. Örneklerin ortalama Bet v 1 değerine göre küçükten büyüğe sıralandığı renkli boxplot grafiği, bu göreli konumu görsel olarak açık biçimde göstermektedir.

Temiz ve kirli bölge örnekleri grup düzeyinde karşılaştırıldığında, kirli bölgeden toplanan polenlerde Bet v 1 düzeyinin numerik olarak daha yüksek olduğu görülmüştür. 8× ve 10× seyreltmelerden elde edilen tüm tekrarlar bir arada değerlendirildiğinde, kirli bölgeye ait örneklerde Bet v 1 miktarı ortalama yaklaşık 95,7 ± 23,8 µg/g polen (n = 56), temiz bölge örneklerinde ise ortalama yaklaşık 85,5 ± 24,6 µg/g polen (n = 15) olarak hesaplanmıştır. Temiz ve Kirli gruplar arasındaki fark Welch düzeltmeli t-testi ve Mann–Whitney U testi ile istatistiksel olarak test edildiğinde, p-değerleri sırasıyla yaklaşık 0,16 ve 0,08 bulunmuştur. Bu değerler, klasik anlamlılık düzeyi olan p <0,05'in üzerinde kaldığından, grup düzeyinde "kirli bölge polenleri temiz bölgeden anlamlı derecede daha yüksektir" şeklinde kesin bir istatistiksel sonuca ulaşılamamaktadır. Bununla birlikte hem ortalama değerler hem de temiz–kirli kutu grafikleri, kirli bölgede Bet v 1 yükünün biyolojik olarak anlamlı sayılabilecek bir artış eğilimi gösterdiğine işaret etmektedir.



Şekil 4.50 Kirli ve temiz bölgeden toplanan huş poleni örneklerinde Bet v 1 (µg/g polen) düzeylerinin kutu grafiği ile karşılaştırılması ("Kirli bölge" kategorisi *Betula* 1–11, *Betula* 15 ve *Betula* 16; "Temiz bölge" kategorisi ise *Betula* 12, *Betula* 13 ve *Betula* 14)

Bireysel örnek düzeyinde, her bir kirli bölge numunesi tek tek, temiz bölge örneklerinin (*Betula* 12, *Betula* 13, *Betula* 14) birleşik dağılımı ile karşılaştırılmıştır. Bu analizde, örnek başına düşen tüm µg/g tekrarları kullanılarak, her kirli numune için ayrı Welch t-testi ve Mann–Whitney U testi uygulanmıştır. Sonuçlar, bazı kirli örneklerin (özellikle *Betula* 1, kısmen *Betula* 8, *Betula* 9 ve *Betula* 10) temiz örneklere göre belirgin şekilde daha yüksek Bet v 1 düzeyleri gösterdiğini ortaya koymaktadır. Mann–Whitney U testine göre yalnızca *Betula* 1 için p-değeri yaklaşık 0,042 olup, klasik $p < 0,05$ eşiğinin altında kalmış ve temiz grubun birleşik dağılımına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek Bet v 1 içeriği göstermiştir. Ancak çok sayıda bireysel karşılaştırma yapıldığı göz önüne alındığında, *Betula* 1 için elde edilen bu anlamlılığın çoklu test düzeltmeleri sonrası korunamayabileceği ve bu nedenle ihtiyatlı yorumlanması gerektiği düşünülmektedir.

Genel olarak, elde edilen tablo ve grafikler, istatistiksel anlamlılık sınırları formel olarak aşılmasa da kirli bölgede toplanan huş poleni örneklerinde Bet v 1 alerjen içeriğinin temiz bölgeye kıyasla daha yüksek olma eğiliminde olduğunu göstermektedir. Özellikle bazı kirli bölge numuneleri (örneğin *Betula* 1) hem ortalama değeri hem de dağılımı açısından temiz bölge örneklerinden daha yüksek Bet v 1 düzeyleri sergilemektedir. Örnek sayısının ve tekrar sayısının artırılması, bu gözlenen biyolojik eğilimin istatistiksel olarak daha güçlü biçimde desteklenmesine katkı sağlayacaktır.

4.6 Örnekleme Alanlarına Ait Hava Kalitesi Bulguları

Betula pendula polen ve yaprak örneklerinin toplandığı dönem olan 2025 Ocak–Mayıs dönemindeki tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde, istasyon verileri, şehir merkezinde ve yoğun trafik akslarında (Ulus, Sıhhiye) daha yüksek hava kirliliği, merkezden uzaklaştıkça daha düşük seviyeler gözlendiğini, yani belirgin bir trafik kaynaklı kirlilik gradyanı bulunduğunu göstermektedir. HKİ (genel hava kalitesi) açısından en olumsuz tablo Ulus istasyonunda; burada özellikle NO_2'nin sık sık baskın kirletici olması (HKİ'yi en çok belirleyen parametre) istasyonun diğerlerinden daha "kirli" görünmesine neden olmaktadır. Ulus'u, kent merkezinde ve trafiğin yoğun olduğu aksları daha iyi temsil eden Sıhhiye izlemektedir. Bu iki istasyon hem HKİ

değerleri hem de trafikle ilişkili kirleticiler (NO_2/NOx ve kısmen CO, $PM_{2.5}$) bakımından en yüksek seviyeleri gösterdiği için "en kirli" kümenin içinde yer almaktadır (Çizelge 4.25-4.29).

İkinci grupta Bahçelievler ve Batıkent öne çıkmaktadır. Bahçelievler'in HKİ'si ve trafik göstergeleri yüksek; Batıkent'te ise bazı parametreler eksik olmakla birlikte mevcut NO_2 /NOx seviyeleri merkez dışına göre hâlâ güçlü bir trafik etkisine işaret etmektedir. Ostim ve Etimesgut daha "orta" seviyede kalmaktadır. Ostim'de sanayi/yerel emisyon etkisi hissedilse de dönem ortalamasında merkez istasyonları kadar yüksek bir HKİ baskısı oluşmamıştır; Etimesgut ise genel olarak daha düşük değerlere yakın seyretmektedir. Çankaya ise hem HKİ hem de trafik ilişkili kirleticiler bakımından daha düşük değerlerle "daha temiz" tarafta yer almaktadır.

Tunceli ve Bingöl için ise trafik kirliliğini temsil eden NO_2/NOx/CO/$PM_{2.5}$ gibi parametrelerin veri kapsamı sınırlı/eksik olduğu için bu iki istasyonu "trafik kaynaklı kirlilik" açısından Ankara içindeki istasyonlarla aynı güven düzeyinde kıyaslamak pek doğru olmamakla birlikte polen ve yaprak örnekleri kent merkezinden değil de daha kırsal alandan ve Tunceli de Gözeler Milli Parkından, Bingöl'de ise üniversite kampüs alanı içinden toplanmıştır. Yine de HKİ'ye göre bakıldığında, bu iki istasyon genel olarak daha düşük seviyelerde kaldığından "daha temiz" grupta değerlendirilmektedir.

Bu çalışma kapsamında incelenen *Betula pendula* örneklerinin örnekleme noktaları ve bu noktalara en yakın hava kalitesi izleme istasyonları Çizelge 4.29'da verilmiştir.

Çizelge 4.25 Hava kirliliği parametrelerinin alındığı istasyonlara ait 5 aylık (Ocak-Mayıs) ortalama değerler

İstasyon	PM_{10} (µg/m³)	$PM_{2.5}$ (µg/m³)	SO_2 (µg/m³)	CO (µg/m³)	CO (mg/m³)	NO_2 (µg/m³)	NO_X (µg/m³)	NO (µg/m³)
Bahçelievler	32,68		3,63	851,49	0,85	84,93	128,21	43,28
Batıkent	34,49					77,59	128,68	52,80
Çankaya	25,93	12,19		648,03	0,65	57,73	77,84	20,11
Etimesgut	30,38	10,82	5,83	862,55	0,86	61,94	119,26	57,33
Ostim	50,76	13,1	3,32			52,44	100,28	47,89
Sıhhiye	40,21	16,11	1,90	829,14	0,83	94,14	165,18	70,59
Ulus	44,50	22,08	3,58	929,48	0,93	128,24	234,42	106,14
Tunceli	42,35		15,91					
Bingöl	25,21		4,13					

Çizelge 4.26 İstasyon Bazlı Aylık HKİ (AQI) Isı Haritası (2025-01 - 2025-05)

İstasyon	2025-01	2025-02	2025-03	2025-04	2025-05	5 Ay Ortalama
Bahçelievler	69,9	45,6	50,2	27,9	33,6	45,5
Batıkent	66,2	40,9	45,4	24,0	29,0	41,1
Çankaya	47,2	30,2	31,3	22,9	31,0	32,5
Ostim	69,7	48,5	58,8	31,4	39,8	49,6
Sıhhiye	61,1	46,7	50,9	42,6	46,4	49,5
Etimesgut	51,9	32,5	49,1	23,7	25,8	36,6
Ulus	87,2	67,5	68,3	45,4	45,2	62,7
Tunceli	47,3	42,2	44,9	40,9	22,7	39,6
Bingöl	21,9	26,3	29,9	24,3	21,5	24,8

Çizelge 4.27 5 Ay Boyunca HKİ'yi En Çok Belirleyen (Baskın) Kirletici Bilgisi

İstasyon	Baskın Kirletici	Baskın Gün Sayısı	Toplam Gün	Pay (%)
Bahçelievler	NO_2	115	150	76,7
Batıkent	NO_2	94	142	66,2
Çankaya	NO_2	78	128	60,9
Ostim	PM_{10}	123	142	86,6
Sıhhiye	NO_2	110	149	73,8
Etimesgut	NO_2	101	151	66,9
Ulus	NO_2	126	149	84,6
Tunceli	PM_{10}	142	150	94,7
Bingöl	PM_{10}	132	132	100,0

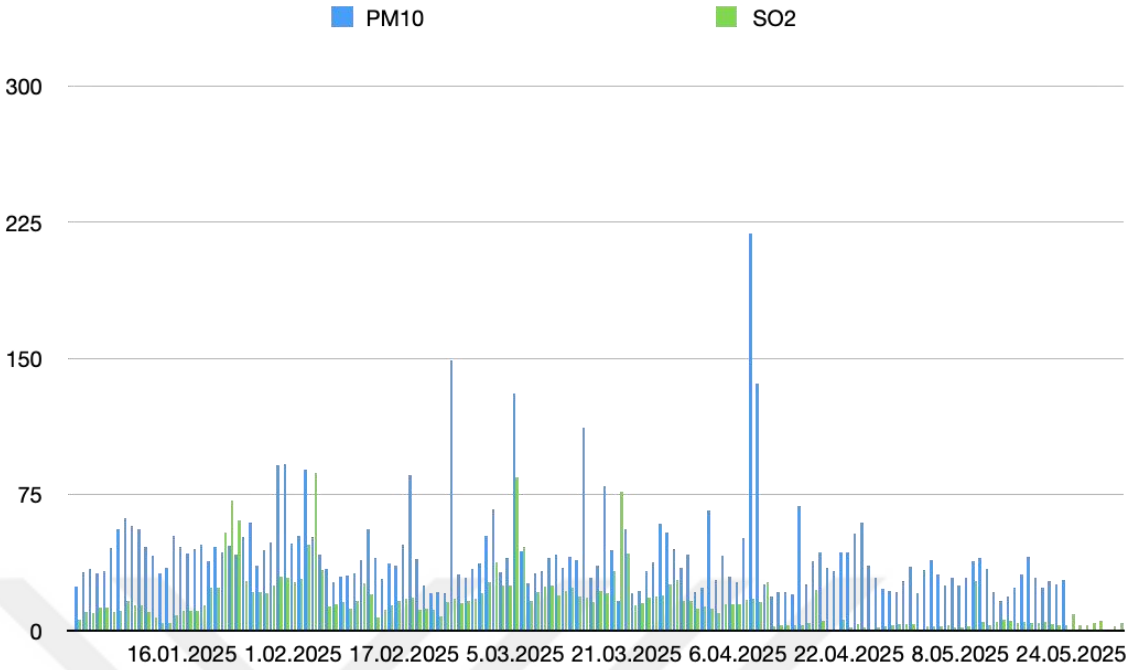
Çizelge 4.28 Hava kalitesi indeksinin istasyonlar arasında değerlendirilmesi

İstasyon	HKİ Ort.	HKİ Maks.	Gün Sayısı	HKİ Kategori (Ort.)	İyi (%)	Orta (%)	Hassas (%)	Sağlıksız (%)	Kötü (%)	Tehlikeli (%)
Ulus	61,20	109,90	149	Orta	40,90	45,00	14,10	0,00	0,00	0,00
Sıhhiye	47,10	84,70	149	İyi	63,80	36,20	0,00	0,00	0,00	0,00
Bahçelievler	44,80	103,80	150	İyi	64,70	32,00	3,30	0,00	0,00	0,00
Ostim	41,20	99,80	142	İyi	62,70	37,30	0,00	0,00	0,00	0,00
Batıkent	39,60	105,80	142	İyi	71,80	26,10	2,10	0,00	0,00	0,00
Tunceli	35,70	132,60	150	İyi	85,30	14,00	0,70	0,00	0,00	0,00
Etimesgut	33,50	75,10	151	İyi	83,40	16,60	0,00	0,00	0,00	0,00
Çankaya	32,10	104,30	128	İyi	86,70	11,70	1,60	0,00	0,00	0,00
Bingöl	23,30	65,30	132	İyi	98,50	1,50	0,00	0,00	0,00	0,00

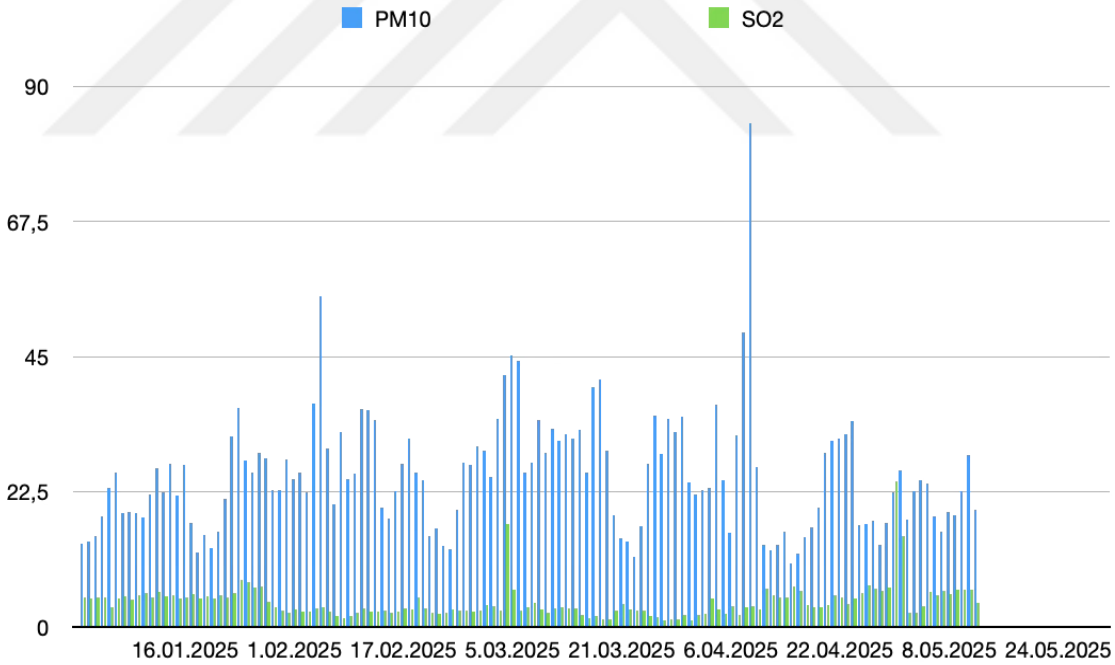
Çizelge 4.29 Bitki örneklerinin lokasyonu ve ilgili hava kalitesi istasyonları

Bitki örnekleri/Bölge	**Lokalite**	**İlgili Hava kalitesi İstasyonu**
Betula 1 *(Kirli)*	Kırkonaklar mah. Aile Sağlığı merkezi önü	Çankaya
Betula 2 *(Kirli)*	RTE Parkı, Ostim	Ostim
Betula 3 (Kirli)	YDA Otopark, Macunköy	Ostim
Betula 4 *(Kirli)*	TDK önü, Kızılay	Ulus, Çankaya
Betula 5 *(Kirli)*	Bahçelievler Parkı, Bahçelievler	Bahçelievler
Betula 6 (Kirli)	Çakırlar mah. Nisanur Sitesi önü	Ostim, Batıkent
Betula 7 (Kirli)	Meclis Parkı	Ulus, Çankaya
Betula 8 (Kirli)	Beytepe_1 Kız öğrenci yurdu -D Blok önü	Çankaya, Etimesgut
Betula 9 (Kirli)	Anıtpark	Çankaya, Bahçelievler
Betula 10 (Kirli)	Beytepe_2 Kız öğrenci yurdu, C Blok önü	Çankaya, Etimesgut
Betula 11 (Kirli)	Ankara Üniversitesi, Beşevler 10 yıl yerleşkesi, rekreasyon alanı	Bahçelievler, Ulus
Betula 12 (Yarı Temiz)	Bingöl Üniversitesi kampüsü_1	Bingöl
Betula 13 *(Yarı Temiz)*	Bingöl Üniversitesi kampüsü_2	Bingöl
Betula 14 *(Temiz)*	Tunceli Ovacık, Gözeler Milli parkı	Tunceli
Betula 15 *(Kirli)*	15 Temmuz Kızılay Anıtı yakını, Yol kenarı	Ulus, Çankaya
Betula 16 *(Kirli)*	ODTÜ, Mimarlık Fakültesi önü	Çankaya

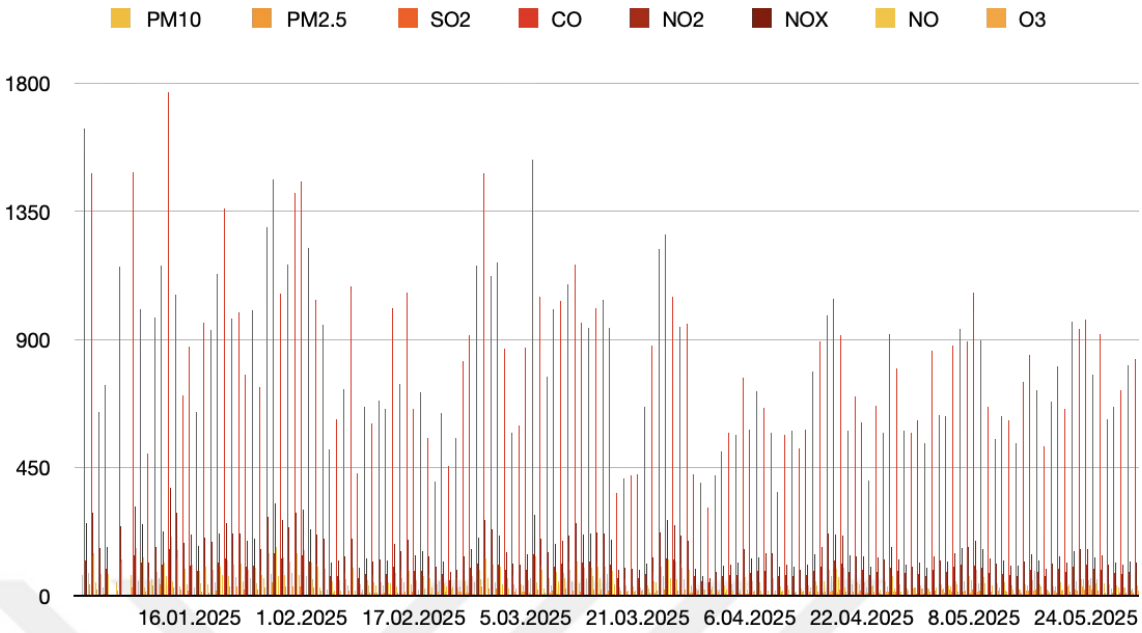
16 farklı lokasyona ait hava kalitesi verileri, Ulusal Hava Kalitesi İzleme Ağı'ndan temin edilerek ve ilgili parametrelerin zamansal değişimini göstermek amacıyla tarih–değer eksenlerine göre çizgi grafikler hâlinde sunulmuştur (Şekil 4.51-4.59). Ayrıca 5 kirlilik parametrelerinin 5 aylık ortalamalarının (Ocak-Mayıs) istasyonlar arasındaki karşılaştırılmalı grafikleri de şekil 4.60 ve şekil 4.61'de verilmiştir.



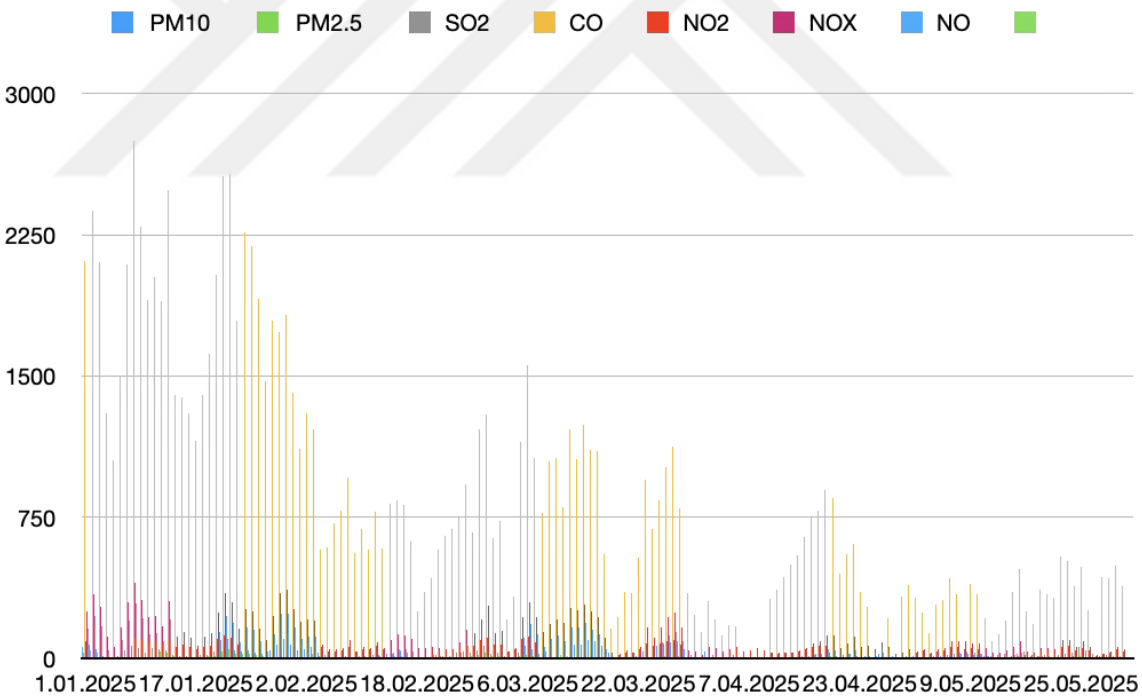
Şekil 4.51 Tunceli ilinde yer alan örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafiği (Ocak–Mayıs 2025)



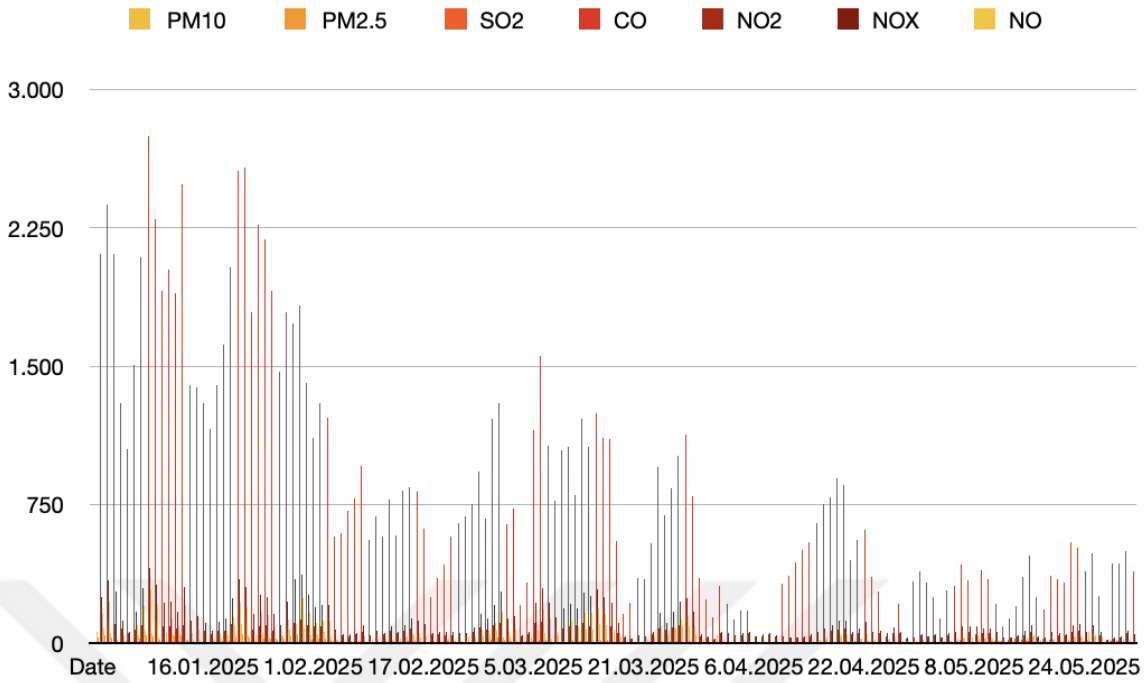
Şekil 4.52 Bingöl ilinde yer alan örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafiği (Ocak–Mayıs 2025)



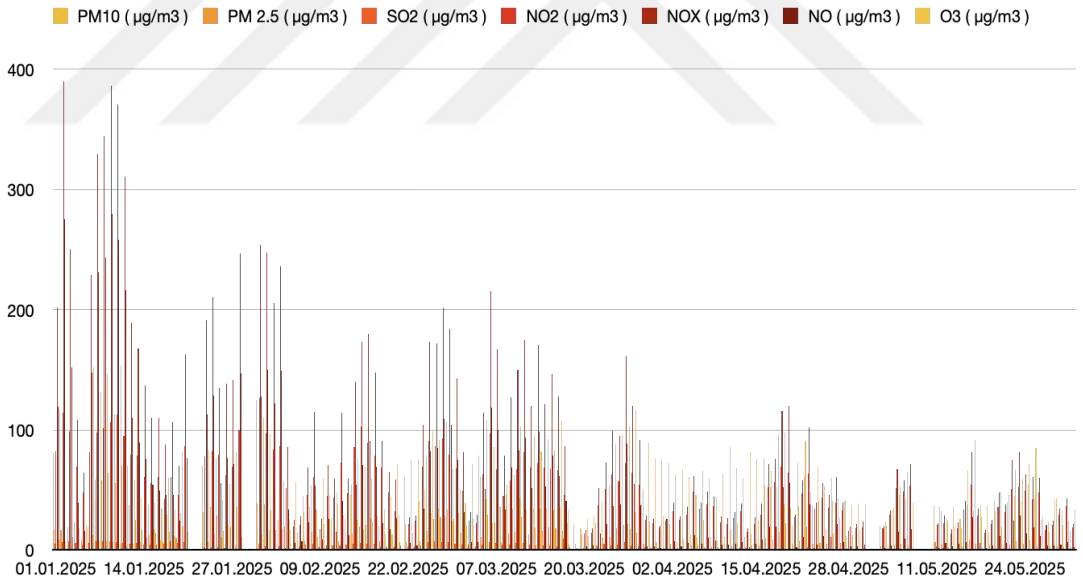
Şekil 4.53 Ankara ili, Sıhhiye örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafik (Ocak–Mayıs 2025)



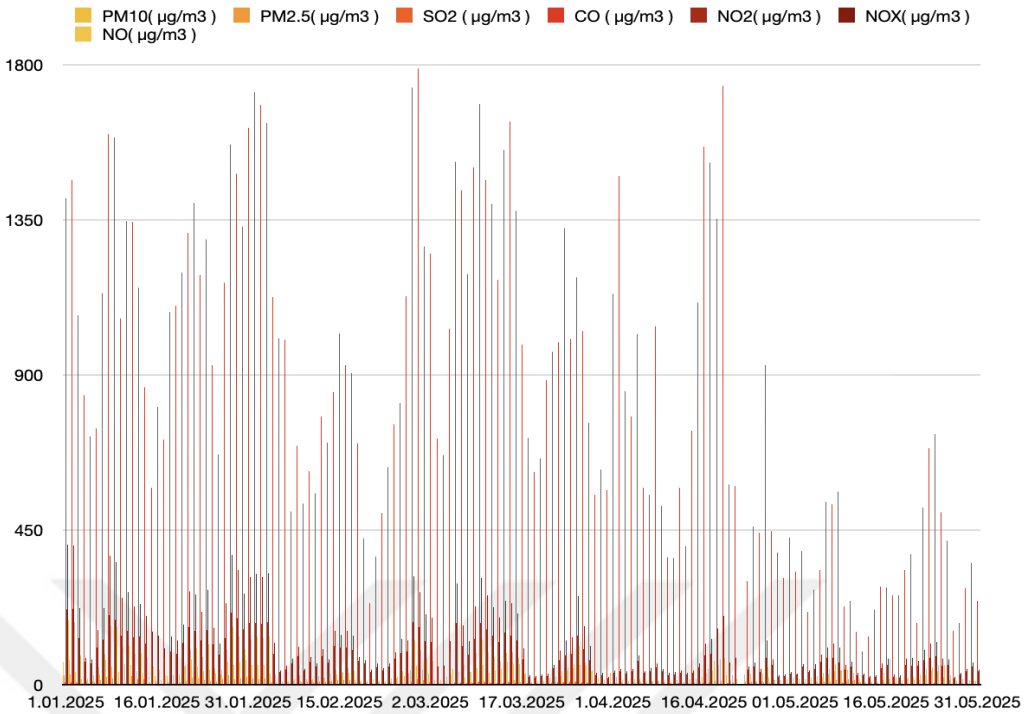
Şekil 4.54 Ankara ili, Etimesgut örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafik (Ocak–Mayıs 2025)



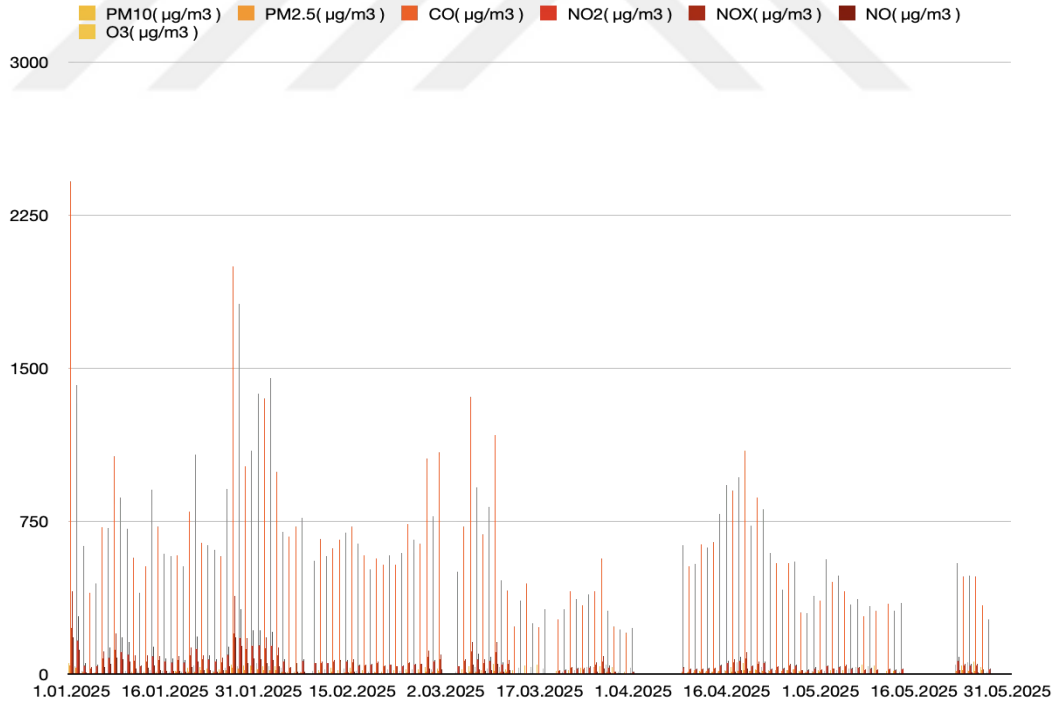
Şekil 4.55 Ankara ili, Batıkent örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafik (Ocak–Mayıs 2025)



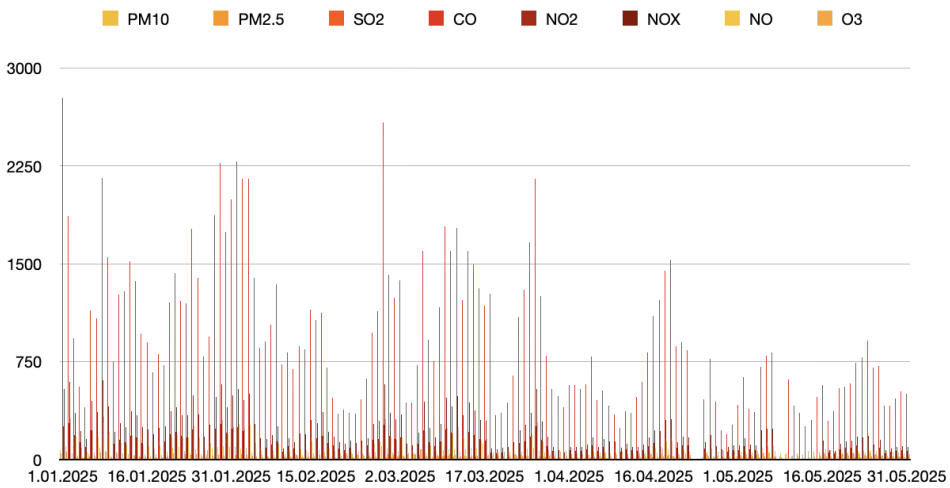
Şekil 4.56 Ankara ili, Ostim örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafik (Ocak–Mayıs 2025)



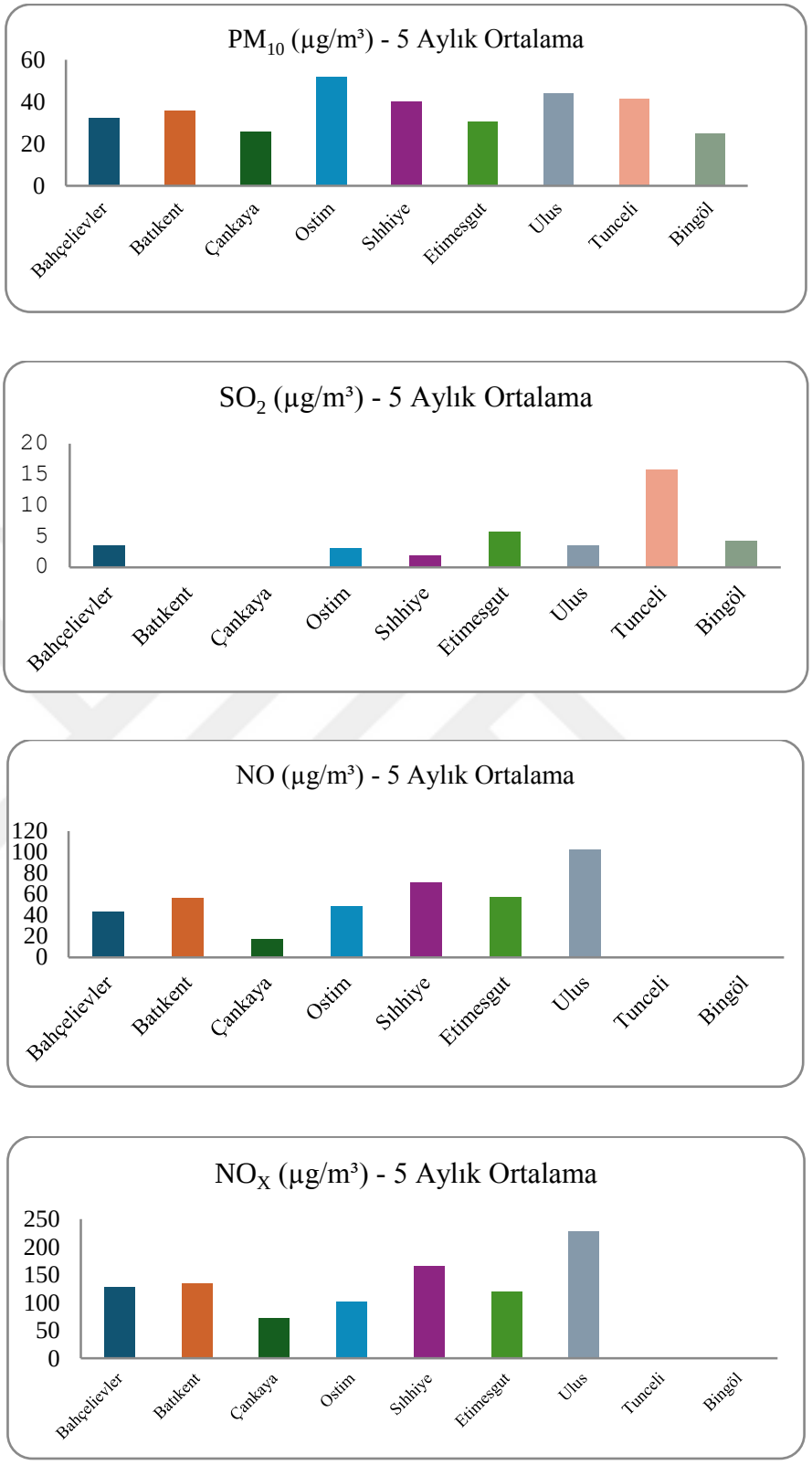
Şekil 4.57 Ankara ili, Bahçelievler örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafik (Ocak–Mayıs 2025)



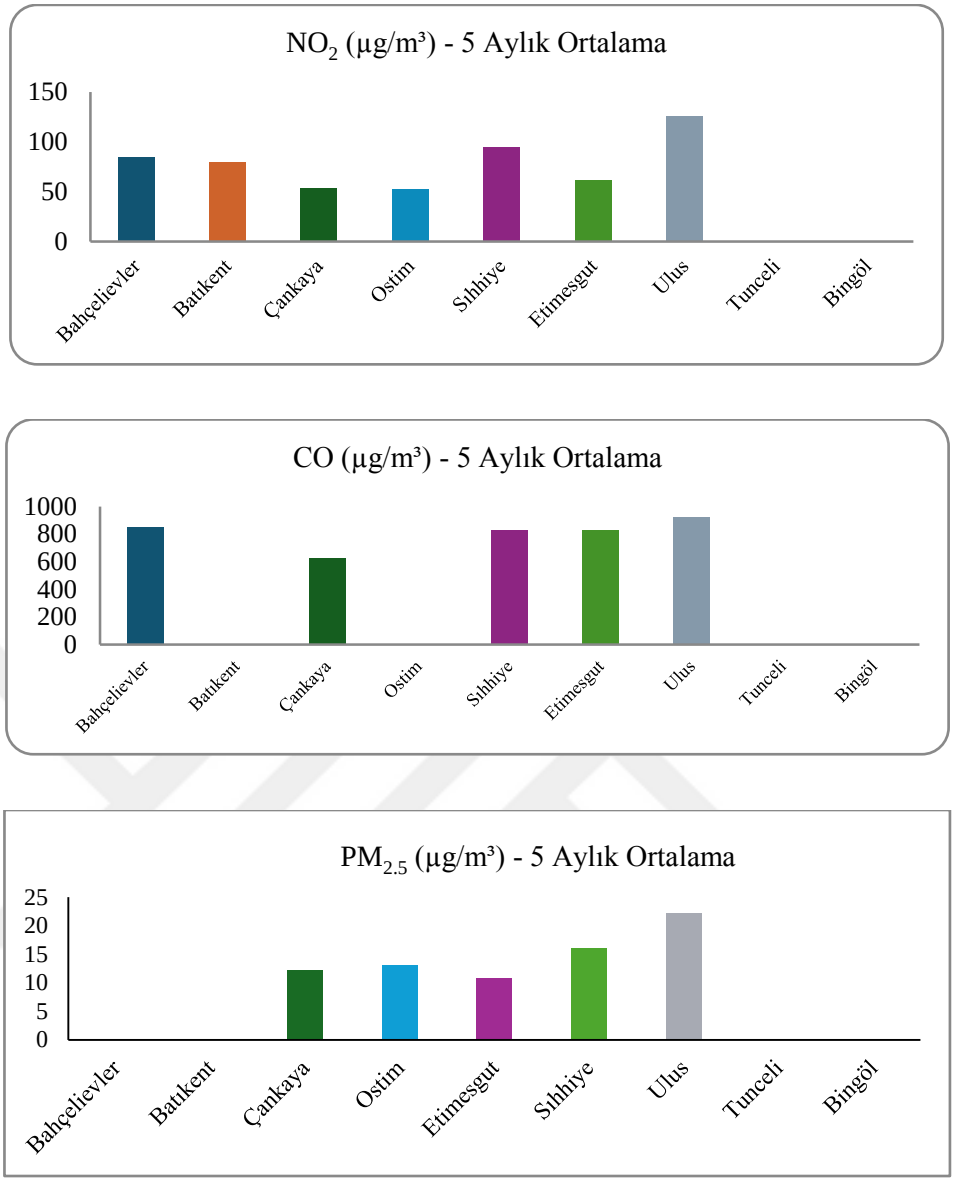
Şekil 4.58 Ankara ili, Çankaya örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafik (Ocak–Mayıs 2025)



Şekil 4.59 Ankara ili, Ulus örnekleme alanına ait hava kalitesi parametrelerinin zamansal değişimini gösteren çizgi grafik (Ocak–Mayıs 2025)



Şekil 4.60 PM_{10}, SO_2, NO, NO_X kirlilik parametrelerinin 5 aylık ortalamalarının istasyon bazlı karşılaştırılması



Şekil 4.61 NO_2, CO, $PM_{2.5}$ kirlilik parametrelerinin 5 aylık ortalamalarının istasyon bazlı karşılaştırılması

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışması, trafik kaynaklı hava kirliliğinin *Betula pendula* Roth. üzerinde oluşturabileceği etkileri çok yönlü olarak değerlendirmek amacıyla planlanmış ve beş ana aşamada yürütülmüştür. Çalışmanın ilk aşamasında, trafik kirliliğine yakın (kirli) ve trafik kirliliğinden uzak alanlar (temiz) olmak üzere 16 polen ve yaprak örneklerinin morfolojik ve morfometrik özellikleri değerlendirilmiştir. Polenlerde polar ve ekvatoral eksen uzunluğu, ekzin ve intin kalınlığı, por uzunluğu, por genişliği ve onkus derinliği gibi parametreler incelenmiştir. Yapraklarda üst epidermis hücre uzunluğu alt epidermis hücre uzunluğu, palizat parankiması kalınlığı sünger parankiması kalınlığı, kutikula kalınlığı incelenmiştir. Kirliliğin yaprak anatomisine etkisi araştırılmıştır. İkinci aşamada, taramalı elektron mikroskobu (SEM) yardımıyla toplanan polen ve yaprak örneklerinin yüzey özellikleri ayrıntılı biçimde incelenmiş; özellikle kirli alanlardan elde edilen örneklerde polen ve yaprak yüzeyine yapışmış partikül benzeri yapılar değerlendirilmiştir. Üçüncü aşamada, SDS-PAGE yöntemi kullanılarak polen protein bant profilleri belirlenmiş ve örnekler arasındaki benzerlikler moleküler ağırlık dağılımlarına dayalı hiyerarşik kümeleme analizi (dendrogram) ile karşılaştırılmıştır. Dördüncü aşamada, polenlerdeki ana alerjen protein olan Bet v 1 düzeyleri ELISA yöntemi ile nicel olarak belirlenmiş, beşinci aşamada ise FT-IR analizi ile polenlerin kimyasal bileşiminde çevresel faktörlere bağlı olası değişimler değerlendirilmiştir. Bu bütüncül yaklaşım sayesinde, trafik kaynaklı hava kirliliğinin *Betula pendula* 'nın polen ve yaprak yapıları üzerindeki morfolojik, biyokimyasal ve alerjenik etkileri birlikte ele alınarak kapsamlı bir şekilde yorumlanmıştır.

Betula pendula polen ve yaprak örneklerinin toplandığı 2025 Ocak–Mayıs dönemine ait hava kirliliği verileri birlikte değerlendirildiğinde, istasyonlar arasında belirgin mekansal farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Özellikle şehir merkezinde ve yoğun trafik bölgelerinde istasyonlarda hava kirliliği seviyelerinin daha yüksek olduğu görülmüştür (Çizelge 4.26-4.30).

Hava Kalitesi İndeksi (HKİ) ortalamaları dikkate alındığında, en olumsuz hava kalitesi koşullarının Ulus istasyonunda gözlendiği belirlenmiştir (Şekil 4.60-4.61). Ulus

istasyonunda HKİ ortalama ve maksimum değerlerinin diğer istasyonlara kıyasla daha yüksek olması ve NO_2'nin günlerin büyük bölümünde baskın kirletici olarak öne çıkması, bu istasyonun çalışma alanındaki en kirli istasyon olarak değerlendirilmesine neden olmuştur. NO_2 ve NO_x konsantrasyonlarının yüksek olması, bölgede yoğun trafik kaynaklı emisyonların hava kalitesi üzerinde belirleyici olduğunu ortaya koymaktadır. Ulus istasyonunu, şehir merkezinde yer alan ve yoğun trafik akışını temsil eden Sıhhiye istasyonu izlemektedir. Sıhhiye'de HKİ değerlerinin yüksek olması ve NO_2'nin baskın kirletici olarak belirlenmesi, bu istasyonun da trafik kaynaklı hava kirliliğinden güçlü biçimde etkilendiğini göstermektedir. Bu iki istasyon, HKİ değerleri ve trafikle ilişkili kirletici konsantrasyonları açısından birlikte değerlendirildiğinde, çalışma alanındaki yüksek kirlilik grubunu oluşturmaktadır.

Bahçelievler ve Batıkent istasyonları, hava kirliliği düzeyleri açısından Ulus ve Sıhhiye istasyonlarına kıyasla daha düşük, ancak Ankara'daki diğer istasyonlara göre daha yüksek değerlere sahip olup orta düzey bir grupta yer almaktadır. Bahçelievler'de HKİ değerlerinin yüksek olduğu ve trafikle ilişkili kirleticilerin baskın olduğu belirlenmiştir. Bu durum, bölgenin yoğun trafik etkisini yansıttığını göstermektedir. Batıkent istasyonunda bazı kirletici parametrelere ait veriler sınırlı olmakla birlikte, mevcut NO_2 ve NO_x konsantrasyonlarının Ulus ve Sıhhiye istasyonlarına göre daha düşük, ancak Çankaya, Etimesgut ve Tunceli gibi istasyonlara kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular doğrultusunda Bahçelievler ve Batıkent istasyonları orta derecede kirli olarak değerlendirilmiştir.

Ostim ve Etimesgut istasyonlarında hava kirliliği düzeylerinin genel olarak daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ostim'de sanayi kaynaklı yerel emisyonların etkisi bulunmakla birlikte, dönem ortalamasında HKİ değerlerinin Ulus ve Sıhhiye istasyonlarına kıyasla belirgin biçimde daha düşük olduğu görülmektedir. Etimesgut istasyonunda trafik yoğunluğu ve endüstriyel faaliyetlerin daha sınırlı olması, hava kalitesinin daha iyi düzeylerde olduğunu göstermektedir. Çankaya istasyonu ise hem HKİ ortalamaları hem de trafikle ilişkili kirletici konsantrasyonları bakımından Ulus ve Sıhhiye istasyonlarına göre daha düşük değerlere sahip olması nedeniyle Ankara içi istasyonlar arasında daha temiz bir profil sergilemiştir.

Çalışmaya dâhil edilen Tunceli ve Bingöl istasyonlarında trafik kaynaklı kirleticilere (NO_2, NO_x, CO ve $PM_{2.5}$) ait verilerin sınırlı olması, bu istasyonların Ulus ve Sıhhiye istasyonları ile doğrudan karşılaştırılmasını güçleştirmektedir. Bununla birlikte, polen ve yaprak örneklerinin Tunceli'de Gözeler Milli Parkı sınırları içerisinde yer alan, doğal özellikleri korunmuş bir alandan toplanmış olması, bu istasyonun temiz bölge olarak değerlendirilmesini desteklemektedir. Bingöl istasyonunda ise örneklerin üniversite kampüs alanı içerisinden alınmış olması, yerleşim ve ulaşım faaliyetlerinin sınırlı düzeyde etkili olabileceğini düşündürmekte; bu nedenle Bingöl istasyonu yarı temiz bölge olarak sınıflandırılmaktadır. HKİ değerlerinin her iki istasyonda da Ulus ve Sıhhiye istasyonlarına kıyasla daha düşük olması, Tunceli'nin temiz bölge, Bingöl'ün ise yarı temiz bölge olarak değerlendirilmesini desteklemektedir.

Sonuç olarak, istasyon bazlı hava kirliliği değerlendirmesi sonucunda Ulus ve Sıhhiye en yüksek kirlilik düzeyine sahip istasyonlar, Bahçelievler ve Batıkent orta derecede kirli istasyonlar, Çankaya, Ostim ve Etimesgut daha düşük kirlilik düzeyine sahip istasyonlar, Tunceli ve Bingöl ise düşük daha temiz istasyonlar olarak sınıflandırılmıştır. Bu mekânsal farklılıkların, *Betula pendula* 'da gözlenen polen ve yaprak morfolojik değişimlerinin yorumlanmasında önemli bir çevresel çerçeve sunduğu düşünülmektedir.

Işık mikroskobunda ölçülen polen morfometrik parametreleri değerlendirildiğinde, ekvatoral ve polar uzunluk bakımından en düşük değerlere sahip örneklerin temiz bölgeden toplanan *Betula* 14 ile kirli bölgeden toplanan *Betula* 1 olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1-4.9). *Betula* 1 kediciklerinin, Ankara ili Çankaya ilçesine yakın konumda yer alan Kırkkonaklar Mahallesi'nden toplanmış olması dikkate alındığında, bu örneklerin toplandığı tarihlerde Çankaya hava kalitesi izleme istasyonuna ait veriler önem kazanmaktadır. Söz konusu istasyon verileri incelendiğinde, polen örnekleme günlerinde hava kirliliği indeksinin (HKİ) görece düşük olduğu görülmüş olup, bu durum kirli alanlardan toplanan örneklerde dahi polen morfometrik parametrelerinin beklenen düzeyde belirgin bir değişim göstermemesinde etkili olmuş olabilir.

Ekvatoral uzunluk bakımından en yüksek değerlere sahip örnekler arasında *Betula* 7 (Meclis önü) ve *Betula* 9 (Anıtpark) yer almaktadır (Çizelge 4.1-4.9). *Betula* 7'nin Meclis önü bölgesinde taksi durağına yakın bir alandan, *Betula* 9'un ise Anıtpark'ta yoğun araç trafiğine sahip bir yol kenarından toplanmış olması, bu örneklerin trafik kaynaklı hava kirleticilerine yüksek düzeyde maruz kalmış olabileceğini düşündürmektedir. Polar uzunluk açısından değerlendirildiğinde ise en yüksek değerlerin *Betula* 7 (Meclis önü) ve *Betula* 13 (Bingöl 1) örneklerinde gözlenmesi dikkat çekicidir (Çizelge 4.1-4.9). Bingöl Üniversitesi kampüsü içerisinde yer almasına rağmen *Betula* 13 örneğinde yüksek polar uzunluk değerlerinin saptanması, bu bölgede yerel çevresel kirleticilerin yanı sıra mikroklimatik koşulların da polen morfometrik özellikleri üzerinde etkili olmuş olabileceğini göstermektedir.

Ekzin kalınlığı bakımından en düşük değerin, temiz bir bölgeyi temsil eden *Betula* 14 (Tunceli) örneğinde saptanması, hava kirleticilerinin polen duvarı yapısı üzerindeki olası etkilerini destekler niteliktedir. Buna karşılık, yoğun araç trafiğine sahip alanlarda yer alan *Betula* 5 (Bahçelievler metro çıkışı, yol kenarı) ile kampüs alanı içerisinde bulunan ve araç trafiğinin yoğun olduğu bir noktadan örneklenen *Betula* 8 (Beytepe 1) örneklerinde daha yüksek ekzin kalınlığı değerlerinin elde edilmesi, trafik kaynaklı hava kirleticilerinin polen ekzin yapısında kalınlaşmaya yol açabileceğini düşündürmektedir.

İntin kalınlığı açısından en düşük değerin, temiz bir bölgeyi temsil eden *Betula* 12 (Bingöl 2) örneğinde saptanması, hava kirleticilerinin polen iç tabakası üzerindeki etkilerine ilişkin bulgularla uyumlu görünmektedir. Buna karşılık, kirli alanlardan toplanan *Betula* 9 (Anıtpark) ve *Betula* 11 (Ankara Üniversitesi) örneklerinde intin kalınlığının daha yüksek bulunması, bu örneklerin trafik kaynaklı hava kirleticilerine maruz kalmış olabileceğini düşündürmektedir. Söz konusu iki örnekleme alanının birbirine yakın mesafede yer alması, benzer hava kalitesi koşullarına ve dolayısıyla aynı tür kirleticilere maruz kalmış olabileceklerini desteklemektedir.

Por uzunluğu ve por genişliği açısından yapılan değerlendirmede, kirli alanlardan toplanan *Betula* 5 (Bahçelievler) örneğinde en düşük, *Betula* 7 (Meclis önü, taksi durağına yakın) örneğinde ise en yüksek değerler belirlenmiştir (Çizelge 4.1- 4.9).

Ancak her iki örneğin de trafik kaynaklı hava kirleticilerine maruz kalmış alanlardan toplanmış olmasına rağmen, por morfometrik parametreleri bakımından belirgin ve anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Onkus derinliği bakımından değerlendirildiğinde, temiz bir bölgeyi temsil eden *Betula* 14 (Tunceli) örneğinde düşük değerler saptanırken, kirli alanlardan toplanan *Betula* 5 (Bahçelievler) ve *Betula* 15 (15 Temmuz Kızılay Anıtı önü) örneklerinde daha yüksek onkus derinliği değerleri belirlenmiştir (Çizelge 4.1-4.9) Bu örnekler arasındaki belirgin farklılık, trafik kaynaklı hava kirleticilerinin polen onkus yapısı üzerinde etkili olabileceğini ve kirlilik düzeyinin bu parametre üzerinde anlamlı bir rol oynadığını düşündürmektedir.

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile gerçekleştirilen polen analizlerinde, 16 farklı *Betula pendula* örneğine ait SEM görüntüleri değerlendirilmiştir (Şekil 4.9-4.12) İncelenen polenlerin genel olarak %80'inin triporat, %20'sinin ise tetraporat yapıda olduğu belirlenmiştir. Polen SEM analizleri sonucunda, kirli alanlardan toplanan *Betula pendula* örneklerinde polen yüzeyinde partikül birikiminin belirgin olduğu tespit edilmiştir. Özellikle Ankara Üniversitesi yerleşkesinden alınan *Betula* 11, Orta Doğu Teknik Üniversitesi yerleşkesinden alınan *Betula* 16, RTE Parkı'ndan alınan *Betula* 2 ve YDA otopark alanından alınan *Betula* 3 numaralı örneklerde, polen yüzeyi üzerinde yoğun partikül birikimi gözlenmiştir. Bu örneklerin tamamının, araç geçişinin yoğun olduğu ve araç park alanı olarak kullanılan bölgelerden toplanmış olması, polen yüzeyinde belirlenen partikül birikimlerinin trafik kaynaklı hava kirleticileri ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızla uyumlu olarak, Azzazy (2016) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, endüstriyel hava kirliliğinin *Eucalyptus globulus* Labill. polen morfolojisi üzerindeki etkileri, ışık mikroskobu (LM) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak incelenmiştir. Söz konusu çalışmada, kirli bölgelerden toplanan polen örneklerinin polar ve ekvatoral eksen uzunluklarının, temiz bölgeden elde edilen örneklere kıyasla daha yüksek değerlere sahip olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, SEM incelemeleri sonucunda polen yüzeyine yapışmış partikül benzeri yapıların varlığı gözlemlenmiş ve bu durumun

hava kirleticilerinin polen yüzeyiyle doğrudan etkileşimine işaret edebileceği belirtilmiştir. Depciuch ve arkadaşları (2016) tarafından yapılan çalışmada, trafik kaynaklı hava kirliliğinin *Artemisia vulgaris* L. polenlerinin morfolojik ve moleküler yapısı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Farklı trafik yoğunluğuna sahip alanlardan toplanan polen örnekleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) kullanılarak analiz edilmiştir.

Bu çalışmada SEM analiz sonuçlarında polen tanelerinin şekil ve yüzeyinde anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür. Ancak diğer çalışmalara kıyasla bu çalışmada trafik yoğunluğu olan bölgeler trafik yoğunluğu olmayan bölgelere göre ekvatoral ve polar eksen uzunlukları daha düşük değerlere sahip olduğu görülmüştür. Rezanejad (2007) yaptığı çalışmada *Spartium junceum* L. 'da hava kirliliğinin mikrosporogenez, polen gelişimi ve polen proteinleri üzerindeki etkilerini incelemiş; özellikle trafik kaynaklı kirleticilerin yoğun olduğu alanlardan toplanan örneklerde anter gelişiminde bozulmalar, polen tanelerinde şekil düzensizlikleri, küçülme, ekzin incelmesi ve yüzeyde partikül birikimi gibi belirgin morfolojik anomaliler bildirmiştir. Söz konusu çalışmada, SEM incelemeleri sonucunda polen yüzeyine yapışan hava kaynaklı partiküllerin ekzin yapısında zayıflamaya ve hücresel materyal salınımına yol açtığı vurgulanmıştır.

Bu tez çalışmasında *Betula pendula* polenleri üzerinde yapılan ışık mikroskobu ve SEM analizlerinde elde edilen sonuçlar, Rezanejad (2007) tarafından bildirilen bulgularla paralellik göstermektedir. Özellikle Ulus, Sıhhiye, Bahçelievler, Çankaya, Batıkent ve Ostim hava kalitesi izleme istasyonlarının temsil ettiği kentsel ve trafik etkisinin yoğun olduğu alanlardan toplanan örneklerde, polen yüzeyinde belirgin partikül birikimi ve bazı morfometrik parametrelerde değişimler saptanmıştır. SEM görüntülerinde polen yüzeyinde yoğun partikül varlığı, hava kirleticilerinin polen yüzeyi ile doğrudan etkileşime girdiğini göstermektedir.

Bitkilerin yaprak anatomisi, büyüdükleri çevresel koşullara karşı oldukça duyarlı ve elastiktir. Işık şiddeti, sıcaklık rejimi, su durumu ve hava kirliliği (özellikle trafik kaynaklı NO_x, O_3 ve partikül madde) gibi faktörler; epidermis, palizat ve sünger

parankiması ile kütikula kalınlığında değişikliklere yol açabilmektedir. Çalışmada farklı kirlilik düzeylerine sahip lokasyonlardan toplanan *Betula pendula* yaprak örneklerinde epidermis, palizat parankiması, sünger parankiması ve kütikula tabakası kalınlıklarının lokasyonlara bağlı olarak değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.10). Üst epidermis kalınlığı bakımından en yüksek değerler, kirli alanları temsil eden *Betula* 2 (RTE Parkı, Ostim) (31,00±2,54 µm) ve *Betula* 6 (Çakırlar Mah., Nisanur Sitesi önü) (30,00±3,16 µm) örneklerinde saptanırken, en düşük üst epidermis kalınlığı kirli alanlardan toplanan *Betula* 8 (Beytepe 1, kız öğrenci yurdu önü) (7,78±1,05 µm) örneğinde belirlenmiştir. Alt epidermis kalınlığı açısından ise en yüksek değer *Betula* 11 (Ankara Üniversitesi, Beşevler yerleşkesi) (16,60±1,73 µm) örneğinde gözlenmiş, en düşük değer ise *Betula* 10 (Beytepe 2, kız öğrenci yurdu önü) (7,29±0,72 µm) örneğinde tespit edilmiştir. Epidermis tabakalarında gözlenen bu kalınlık farklılıklarının, yaprak yüzeyinin atmosferik kirleticilere maruz kalma derecesine bağlı olarak gelişen koruyucu bir anatomik yanıt olabileceği değerlendirilmektedir.

Palizat parankiması kalınlığı incelendiğinde, en yüksek değerin kirli alanlardan toplanan *Betula* 6 (Çakırlar Mah.) (70,86±5,15 µm) ve *Betula* 1 (Kırkkonaklar Mah., ASM önü) (69,44±6,64 µm) örneklerinde saptandığı, en düşük palizat parankiması kalınlığının ise *Betula* 7 (Meclis Parkı) (37,98±3,55 µm) ve *Betula* 16 (ODTÜ, Mimarlık Fakültesi önü) (38,96±4,18 µm) örneklerinde görüldüğü belirlenmiştir. Palizat parankimasındaki bu değişimlerin, hava kirliliğine bağlı stres koşullarında fotosentetik kapasitenin korunmasına yönelik bir adaptasyon mekanizmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Sünger parankiması kalınlığı bakımından en yüksek değer *Betula* 1 (Kırkkonaklar Mah.) (119,15±8,02 µm) örneğinde, bunu *Betula* 6 (Çakırlar Mah.) (112,67±7,45 µm) ve *Betula* 8 (Beytepe 1) (105,16±6,33 µm) örnekleri izlemiştir. En düşük sünger parankiması kalınlığı ise *Betula* 5 (Bahçelievler Parkı) (59,20±2,29 µm) ve *Betula* 10 (Beytepe 2) (59,83±4,36 µm) örneklerinde belirlenmiştir. Kütikula kalınlığı incelendiğinde, en yüksek değerlerin *Betula* 3 (YDA Otoparkı, Macunköy) (10,74±1,12 µm), *Betula* 6 (Çakırlar Mah.) (10,00±2,00 µm) ve *Betula* 1 (Kırkkonaklar Mah.) (8,33±3,33 µm) örneklerinde saptandığı görülmektedir. En düşük kütikula kalınlığı ise

Betula 10 (Beytepe 2) (4,58±1,18 μm) ve *Betula* 4 (TDK önü, Kızılay) (4,66±1,08 μm) örneklerinde belirlenmiştir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, epidermis, palizat ve sünger parankiması ile kütikula kalınlıklarının özellikle kirli alanlardan toplanan *Betula pendula* örneklerinde daha yüksek değerler göstermesi, hava kirliliğinin yaprak anatomisi üzerinde belirgin bir etkisi olduğunu ortaya koymaktadır.

Yaprak alt yüzeyine ait SEM incelemelerinde, kirli alanlardan toplanan *Betula pendula* örneklerinde stoma yüzeyinde partikül birikimi belirgin olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.25-4.28). Bu durum özellikle Recep Tayyip Erdoğan Parkı'ndan alınan *Betula* 2, Çakırlar–Nisanur Sitesi çevresinden alınan *Betula* 6, Meclis önü bölgesinden alınan *Betula* 7 ve Anıpark'tan alınan *Betula* 8 numaralı örneklerde gözlenmiştir. Söz konusu örneklerin yoğun araç geçişinin bulunduğu ve kentsel kullanımın baskın olduğu alanlardan toplanmış olması, stoma yüzeyinde belirlenen partikül birikimlerinin trafik kaynaklı atmosferik kirleticilerle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Bunun yanı sıra, yaprak damarları çevresinde partikül birikimi Çakırlar bölgesinden alınan *Betula* 6, Bahçelievler Parkı'ndan alınan *Betula* 5, Ankara Üniversitesi yerleşkesinden alınan *Betula* 11 ve YDA otopark alanından alınan *Betula* 3 numaralı örneklerde tespit edilmiştir. Damar çevresinde gözlenen bu birikimlerin, yaprak yüzeyine çöken partiküllerin stomalar yoluyla yaprak iç dokularına taşınması veya damar hatları boyunca birikme eğilimi göstermesi ile ilişkili olabileceği değerlendirilmektedir.

Üst yaprak epidermisinin incelendiği SEM görüntülerinde, kirli bölgelerden toplanan *Betula pendula* örneklerinde epidermal yüzeyde partikül birikiminin belirgin olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.28-4.32). Bu durum özellikle YDA otopark alanından alınan *Betula* 3, Meclis önü bölgesinden alınan *Betula* 7, Beytepe 1 bölgesinden alınan *Betula* 8, Ankara Üniversitesi yerleşkesinden alınan *Betula* 11, Bahçelievler Parkı'ndan alınan *Betula* 5 ve Çakırlar bölgesinden alınan *Betula* 6 numaralı örneklerde gözlenmiştir. Söz konusu örneklerin tamamının yoğun araç geçişinin bulunduğu veya araç park alanı

olarak kullanılan bölgelerden toplanmış olması, üst yaprak epidermisinde belirlenen partikül birikimlerinin trafik kaynaklı atmosferik kirleticilerle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Genel olarak yaprak örneklerinde, kirli alanlardan toplanan *Betula* 3 (YDA otopark), *Betula* 5 (Bahçelievler Parkı), *Betula* 7 (Meclis önü), *Betula* 11 (Ankara Üniversitesi) ve *Betula* 16 (ODTÜ) numaralı örneklerde; polen yüzeyinde, stoma bölgelerinde, epidermal yüzeylerde ve yaprak iç dokularında partikül birikiminin daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Bu örneklerin, Ulus, Sıhhiye, Bahçelievler, Çankaya, Batıkent ve Ostim hava kalitesi izleme istasyonlarının temsil ettiği kentsel hava kalitesi koşulları içerisinde yer alan alanlardan toplanmış olması; özellikle NO_2, NOx ve PM_{10} gibi trafikle ilişkili kirleticilerin etkisi altında kalmış olabileceklerini düşündürmektedir. Bu durum, söz konusu örneklerde gözlenen mikromorfolojik etkilenmenin, ilgili hava kalitesi izleme istasyonlarında belirlenen kirlilik düzeyleri ile ilişkili olabileceğini desteklemektedir.

Genel olarak bu bulgular, *Betula* yaprak anatomisinin lokal çevresel koşullara son derece duyarlı ve elastik olduğunu göstermektedir. Üst ve alt epidermis ile kütikula kalınlığındaki artışlar, bazı lokasyonlarda olası artmış ışık, UV, ozon ve/veya partikül madde maruziyetine karşı koruyucu bariyerin güçlendiğine işaret ederken; palizat ve sünger parankimasındaki değişimler, fotosentetik dokunun yapısal reorganizasyonu ve gaz değişimi koşullarına uyum olarak yorumlanabilir. Aynı tür içinde, aynı şehir ölçeğinde dahi 16 lokasyon arasında bu ölçüde yapısal farklılıkların gözlenmesi, yaprak anatomisinin hem hava kirliliği hem de mikroiklim farklılıkları gibi çevresel stres faktörlerini yansıtan önemli bir biyogösterge (bioindikatör) olarak kullanılabileceğini desteklemektedir.

Betula pendula için yapılan çalışmalar, bu türün yaprak yapısında ozon ve diğer kirleticilere yanıt olarak hem ultrastrüktürel hem de anatomik düzeyde değişiklikler geliştirdiğini göstermektedir. Yükseltilmiş ozon koşullarında huş yapraklarının daha ince hale geldiği, palizat/sünger oranının değiştiği, mezofil hücrelerinde oksidatif stres göstergesi sayılabilecek yapısal bozulmaların ortaya çıktığı ve yaprak kimyasal

bileşiminin (örneğin lignin ve hücre duvarı bileşenleri) modifiye olduğu bildirilmiştir (Oksanen vd. 2005).

Diğer bir çalışmada, endüstriyel olarak kirlenmiş ortamlarda yetişen *Betula pendula* bireylerinde yaprak ayasında kaydedilen değişiklikler, türün plastisite ve tolerans kapasitesini yansıtan bir uyum cevabı olarak yorumlanmış ve huşun kirli alanların ağaçlandırılmasında/bioindikatör olarak kullanılabilecek türlerden biri olduğu vurgulanmıştır (Snezhana 2019). Tomašević vd. (2005), ağaç yapraklarının atmosferik kirleticileri tutma kapasitesinin, özellikle trafik yoğunluğunun yüksek olduğu alanlarda belirgin şekilde arttığını ve yaprak yüzeyleri ile yaprakta bulunan dokuların bu kirleticilerin birikimi açısından önemli bir ortam oluşturduğunu bildirmiştir. Söz konusu çalışmada, yaprakların kentsel hava kirliliğine maruziyetin biyolojik göstergesi olarak değerlendirilebileceği vurgulanmıştır. Bu bulgular, çalışmamızda kirli alanlardan toplanan *Betula pendula* yapraklarında stoma çevresi, damar etrafı ve parankima dokularında belirlenen partikül birikimlerini destekler niteliktedir.

Benzer şekilde, Sæbø vd. (2012), farklı bitki türlerinin yaprak yüzeylerinde partikül madde tutma kapasitelerinin türler arasında farklılık gösterdiğini ve bu durumun yaprak yüzey morfolojisi, stomal dağılım ve epidermal özelliklerle yakından ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Çalışmalarında, özellikle yaprak alt yüzeyleri ve stomaların bulunduğu bölgelerde partikül birikiminin daha belirgin olduğu belirtilmiştir. *Betula pendula* örneklerinde SEM ve ışık mikroskobu analizleri sonucunda yaprak alt yüzeyinde yer alan stomalarda ve epidermal yüzeylerde partikül birikiminin saptanması, Sæbø vd. (2012) tarafından bildirilen bulgularla paralellik göstermektedir. Bu bulgular, bizim çalışmamızda 16 lokasyon arasında saptanan anlamlı farkların yalnızca mikroiklim koşullarını değil, aynı zamanda farklı düzeylerdeki trafik kaynaklı hava kirliliğini de yansıtıyor olabileceğini düşündürmektedir.

Son yıllarda yapılan derleme ve deneysel çalışmalar, yaprak yüzeyi ve anatomik özelliklerin partikül madde (PM) tutulumu ve kirleticilere tolerans açısından kritik olduğunu ortaya koymuştur. Kutikula kalınlığının ve kimyasal bileşiminin, özellikle polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) ve PM'nin yaprak yüzeyinde tutulma

kapasitesini etkilediği; bazı türlerde kirlilik altında kutikulanın kalınlaşarak hem su kaybını sınırlandırdığı hem de gaz faz kirleticilerin girişini kısmen engellediği gösterilmiştir (Prigioniero vd. 2023).

Bizim *Betula* yapraklarında kirli/kentsel lokasyonlarda gözlediğimiz üst–alt epidermis ve kütikula kalınlığındaki artış eğilimleri, bu literatürle uyumlu şekilde, kirleticilere ve/veya artmış ışık/UV yüküne karşı geliştirilen bir koruyucu bariyer cevabı olarak yorumlanabilir. Öte yandan, palizat ve sünger parankiması kalınlığındaki değişimler, bazı çalışmalarda kirli alanlarda palizat dokusunun nispi olarak güçlendiği, sünger dokunun ise inceldiği yönündeki bulgularla benzerlik taşımakta; bu da fotosentetik dokunun hem ışık soğurumunu optimize etmek hem de gaz difüzyonunu yeniden düzenlemek üzere yapısal olarak yeniden örgütlendiğini düşündürmektedir (Rashidi vd. 2011).

Literatürde, hava kirliliğinin stomatal yoğunluk ve boyutlar üzerinde değişimlere yol açtığı ve bu değişimlerin bitkilerin stres koşullarına adaptif yanıtı olduğu belirtilmektedir (Kozlowski ve Pallardy 2002, Tiwari vd. 2006, Rai 2016). Tez çalışmasında stomatal ölçümlerde (stoma eni ve boyu) lokasyonlar arasında anlamlı farklılıklar saptanmış olmakla birlikte, "temiz–kirli" gruplaması düzeyinde farkın daha sınırlı ve heterojen olduğu görülmüştür (Çizelge 4.12) Literatürde hava kirliliğinin yaprak yüzeyinde birikerek (özellikle partikül maddeler) stomatal işleyişi ve yaprak anatomisini etkileyebildiği; buna bağlı olarak stomatal özelliklerde tür, stresin tipi/şiddeti ve mikroklimaya göre artış ya da azalış yönünde değişimler görülebileceği bildirilmektedir (Burkhardt 2010). Ayrıca kirlilik koşullarında stomatal boyut/dansite değişimlerinin yaygın bir anatomik yanıt olduğu ve bu yanıtın sahaya/bitkiye göre yön değiştirebildiği belirtilmiştir (Gostin 2009). Dolayısıyla bu veri setinde stoma eni ve boyunda gözlenen lokasyon bazlı ayrışmaların, "kirli" kategorisinin kendi içinde farklı kirlilik kaynakları (trafik, yerel toz/partikül, şehir içi ısı adası vb.) ve farklı mikrohabitat koşullarını içermesiyle ilişkili olması olasıdır.

Stoma boyutlarıyla birlikte stoma indeksi değerleri de ele alındığında, bazı lokasyonlarda "uzun/büyük stoma + düşük SI" veya "orta boyut + yüksek SI" gibi farklı

kombinasyonlar ortaya çıktığı görülmüştür. Bu durum, bitkilerin çevresel koşullara karşı gaz alışverişini iki temel eksen üzerinden düzenleyebildiğini düşündürmektedir. Birincisi stomaların boyutu (eni/boyu), ikincisi ise stomaların epidermis içindeki oranı (SI; göreli yoğunluk). Örneğin, stoma boyunun yüksek olduğu lokasyonlarda SI'nin düşük olması, gaz alışverişinin daha büyük stomalarla telafi edilmesi (boyut stratejisi) şeklinde; SI'nin yüksek olduğu lokasyonlarda ise gaz alışverişinin stoma oranının artması ile sağlanması (oran/yoğunluk stratejisi) şeklinde yorumlanabilir.

"Temiz" (Tunceli, Bingöl_1, Bingöl_2) ve "kirli" lokasyonlar birlikte değerlendirildiğinde, SI değerlerinin temiz alanlarda genellikle orta–yüksek bantta yer alması (ör. Tunceli %13,33, Bingöl_1 %13,79 Bingöl_2 %17,07) stomatal düzenlenmenin daha dengeli koşullarda gerçekleştiğini destekler. Kirli lokasyonlarda ise SI'nin hem düşük hem yüksek değerlere yayılması (ör. Anıtpark %10,77 ile TDK %19,44 aralığı) "kirli" sınıfın kendi içinde farklı stres tipleri ve mikrohabitat koşullarını barındırdığını, dolayısıyla anatomik yanıtların da tek tip olmadığını düşündürmektedir.

Buna karşılık salgı hücresi çapı bakımından daha net bir desen ortaya çıkmıştır: "temiz" lokasyonlarda ortalama salgı hücresi çapı "kirli" lokasyonlara göre daha yüksek bulunmuştur. Bitkilerde çevresel stres (kirleticiler, partikül yükü, oksidatif stres) hücresel düzeyde büyümeyi sınırlayabilir ve dokuların gelişimini baskılayabilir; yaprak yüzeyinde partikül birikiminin su ilişkileri ve fizyolojik süreçler üzerinden ek stres oluşturabileceği de vurgulanmaktadır (Burkhardt 2010). Bu çerçevede, çalışmada kirli lokasyonlarda salgı hücresi çapının azalması, kirlilik baskısının hücresel gelişim üzerinde olumsuz etki yaratabileceği yönündeki literatürle genel olarak uyumludur.

Genel değerlendirme olarak, lokasyonlar arası istatistiksel farkların varlığı (ANOVA ve Tukey) ve özellikle salgı hücresi çapının güçlü ayrım göstermesi, yaprak anatomik parametrelerinin çevresel stresin izlenmesinde biyogösterge olarak kullanılabileceğine işaret etmektedir. Bu yaklaşım, bitkisel parametrelerin çevresel koşullara duyarlı bir izleme aracı olarak değerlendirilmesi fikriyle de paraleldir.

Bu çalışmada *Betula pendula* poleni örneklerine ait FT-IR spektrumlarından elde edilen bölgeye özgü nicel metrikler, trafik ve hava kirliliğine maruziyetin polen biyokimyası üzerindeki etkilerini ortaya koymak amacıyla değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, hava kirliliğinin *Betula pendula* poleni biyokimyası ve alerjenitesi üzerindeki etkilerini inceleyen çok sayıda çalışma ile ele alındığında, özellikle protein bantları ve fonksiyonel grup bölgelerine ilişkin bulgular açısından genel bir uyum göstermektedir (Çizelge 4.15-4.18) (Şekil 4.33- 4.44).

Bu çalışmada kirli bölgelerden toplanan *Betula* örneklerinde O–H bandı (3600–3200 cm^{-1}) alanlarının kontrol grubuna kıyasla genel olarak daha düşük olduğu belirlenmiştir. Özellikle trafik yoğunluğu yüksek Ulus istasyonuna yakın *Betula* 4, 7 ve 15 örneklerinde bu azalmanın daha belirgin olduğu görülmüştür. O–H bandı, hidrojen bağları, polenin hidrasyon durumu ve hidroksil içeren biyopolimerlerle ilişkilidir.

Literatürde, hava kirliliği ve özellikle oksidatif stres oluşturan kirleticilerin (NO_2, O_3, PM) bitkisel dokularda su ilişkilerini ve hücresel bağ ortamını etkileyebildiği bildirilmiştir (Sénéchal vd. 2015, Beck vd. 2013). Benzer biçimde bazı çalışmalarda, kirli ortamlarda gelişen polenlerin daha düşük hidrasyon kapasitesine veya değişmiş polisakkarit–protein etkileşimlerine sahip olabileceği öne sürülmüştür. Bu bağlamda, bu çalışmada O–H bandında gözlenen azalma eğilimi, hava kirliliğine bağlı genel bir stres yanıtının FT-IR düzeyinde yansıması olarak değerlendirilebilir. Ancak bu değişimin alerjenite ile doğrudan ilişkisinin kurulabilmesi için ek biyolojik verilerin gerekli olduğu açıktır.

CH_2 gerilme bantları (3000–2800 cm^{-1}), polen yüzeyindeki lipidler, hidrokarbon zincirleri ve dış tabaka bileşenleriyle ilişkilidir. Bu çalışmada CH_2 bandı alanlarında kirli örneklerde genel olarak artış eğilimi gözlenmiş olmakla birlikte, bu artış tüm örneklerde homojen değildir. Bazı kirli örneklerde belirgin pozitif yüzde farklar hesaplanırken, bazı örneklerde kontrol grubuna yakın değerler elde edilmiştir.

Bu heterojen yapı, literatürde bildirilen sonuçlarla uyumludur. Dizel egzoz partikülleri (DEP) ve askıdaki partikül maddenin polen yüzeyine adsorbe olabildiği ve polen–

partikül kompleksleri oluşturabildiği uzun süredir bilinmektedir (Ormstad vd. 1998, Buters vd. 2010). Bu tür yüzey etkileşimlerinin, FT-IR spektrumlarında lipid ve hidrokarbon bantları üzerinden dolaylı olarak yansıyabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte hem bu çalışmada hem de önceki araştırmalarda CH_2 bantlarının çevresel kirliliği ayırt etmede protein bantlarına kıyasla daha sınırlı ve değişken bir gösterge olduğu görülmektedir.

Protein bantları, bu çalışmanın literatürle en güçlü biçimde örtüşen bulgularını ortaya koymuştur. Amid I (1700 - 1600 cm^{-1}) ve Amid II (1580–1500 cm^{-1}) alanlarının kirli örneklerde kontrol grubuna göre genellikle daha düşük olduğu, ancak bu azalmanın her iki bant için eşit düzeyde gerçekleşmediği belirlenmiştir. Bu durum, protein bantları arasındaki göreli dengenin değiştiğini göstermektedir.

Özellikle Ulus-yakın örneklerde Amid I/Amid II alan oranının diğer kirli örneklerden anlamlı derecede yüksek bulunması ($p \approx 0{,}0315$), trafik kaynaklı kirleticilerin protein yapısı üzerinde daha özgün ve seçici etkiler oluşturabileceğine işaret etmektedir. Literatürde, NO_2 ve diğer reaktif azot türlerinin *Betula* polen alerjeni Bet v 1 üzerinde nitrasyon ve oksidatif modifikasyonlara yol açabildiği, bunun da proteinlerin konformasyonunu ve bağlanma özelliklerini değiştirebildiği bildirilmiştir (Reinmuth-Selzle vd. 2014, Frank ve Ernst 2016).

Bu bağlamda Stawoska vd. (2023), FT-Raman analizleriyle kirli bölgelerden toplanan *Betula* polenlerinde α-heliks içeriğinde azalma ve β-sheet/β-turn yapılarında artış olduğunu göstermiştir. Benzer sonuçlar, farklı türlerde ve farklı kirleticiler için yapılan çalışmalarda da rapor edilmiştir (Aina vd. 2010, Sénéchal vd. 2015). Bu çalışmada doğrudan ikincil yapı yüzdeleri hesaplanmamış olsa da Amid I/II oranındaki değişimler ve bant alanlarındaki dengesizlikler, protein konformasyonunda benzer bir yeniden düzenlenme olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle FT-IR bulguları, literatürde bildirilen yapısal değişimlerle tutarlı, tamamlayıcı kanıtlar sunmaktadır.

Literatürde dikkat çeken önemli bir nokta, hava kirliliğinin *Betula* poleni üzerindeki etkilerinin her zaman alerjen miktarındaki artışla sonuçlanmamasıdır. Bazı çalışmalarda

yüksek NO_2 veya O_3 maruziyetinin Bet v 1 içeriğini artırabildiği bildirilirken (Beck vd. 2013), diğer çalışmalarda alerjen miktarında anlamlı bir değişim gözlenmediği rapor edilmiştir (Verscheure vd. 2023). Bu çelişkili sonuçlar, çevresel etkinin çoğu zaman alerjen miktarından ziyade alerjenin kimyasal ve yapısal özelliklerini etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada elde edilen FT-IR bulguları da bu görüşü desteklemektedir. Kontrol ve kirli örnekler arasındaki farklar, bant alanlarının mutlak büyüklüğünden çok, bantlar arasındaki oranlar ve spektral denge üzerinden ortaya çıkmıştır. Bu durum, trafik ve hava kirliliğinin polen alerjenitesini nicel artıştan ziyade nitel (yapısal/konformasyonel) değişimler yoluyla etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışma, FT-IR spektrumlarından elde edilen bölgeye özgü nicel metriklerin, *Betula* polenlerinin çevresel koşullara verdiği biyokimyasal yanıtları değerlendirmede duyarlı ve tamamlayıcı bir araç olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, örnek sayısının sınırlı olması ve çevresel değişkenlerin çok faktörlü yapısı, elde edilen sonuçların genellenmesini sınırlandırmaktadır. Buna rağmen, özellikle protein bantları ve Amid I/II oranına ilişkin bulgular, trafik ve hava kirliliğinin *Betula* poleni üzerinde ölçülebilir ve biyolojik açıdan anlamlı etkiler yaratabildiğine dair güçlü kanıtlar sunmaktadır.

Bu sonuçlar, Stawoska vd. (2023) başta olmak üzere, polen biyokimyası ve hava kirliliği ilişkisini inceleyen çok sayıda çalışmayla birlikte değerlendirildiğinde, FT-IR temelli yaklaşımların polen–çevre etkileşimlerinin anlaşılmasında önemli bir potansiyele sahip olduğunu ortaya koymaktadır. FT-IR verilerinin ELISA, SDS-PAGE ve morfolojik analizlerle birlikte kullanılması, hava kirliliği–polen–alerjenite ilişkilerinin daha bütüncül biçimde değerlendirilmesine olanak sağlayacaktır.

Bitki örneklerinin toplandığı lokaliteler ve bu lokalitelere en yakın hava kalitesi izleme istasyonlarından elde edilen veriler birlikte değerlendirildiğinde, *Betula pendula* örneklerinin protein bant profilleri ile çevresel hava kirliliği düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki olduğu görülmektedir. Temiz ve yarı temiz alanlardan toplanan *Betula* 12, *Betula* 13 ve *Betula* 14 örnekleri, hava kalitesi istasyonlarının bulunduğu Bingöl ve

Tunceli illeri ile ilişkilidir. Bu bölgeler, büyük metropol alanlara kıyasla düşük trafik yoğunluğu ve sınırlı endüstriyel faaliyetler nedeniyle daha düşük hava kirletici konsantrasyonlarına sahiptir. Dendrogram analizinde bu örneklerin aynı veya birbirine yakın alt kümelerde yer alması, protein bant profillerinin homojenliğini ortaya koymaktadır. Bu durum, düşük çevresel stres koşullarında polen protein ekspresyonunun daha stabil bir yapı sergilediğini düşündürmektedir.

Buna karşılık, kirli alanlardan toplanan *Betula* 1–11, 15 ve 16 örnekleri, Ankara ili ve çevresinde yer alan Çankaya, Ostim, Bahçelievler, Batıkent, Etimesgut ve özellikle yüksek kirlilik sınıfında değerlendirilen Ulus istasyonu ile ilişkilidir. Ulus istasyonunda HKİ ortalama ve maksimum değerlerinin yüksek olması ve NO_2'nin baskın kirletici olarak öne çıkması, bu lokasyondan toplanan örneklerin yoğun trafik kaynaklı hava kirliliğine maruz kaldığını ortaya koymaktadır. Bu durum, Ulus ile ilişkili *Betula* örneklerinin kirli grup içerisinde daha belirgin bir stres profili sergileyebileceğini düşündürmektedir.

Temiz ve kirli alanlardan toplanan örnekler birlikte değerlendirildiğinde, iki grubun dendrogramda belirgin şekilde ayrıldığı görülmektedir. Temiz örneklerin kendi içinde daha homojen ve kısa mesafelerde kümelenmesi, kirli örneklerin ise özellikle Ulus gibi yüksek kirlilik sınıfında yer alan istasyonlarla ilişkili örnekler öncülüğünde daha geniş mesafelerde ve alt gruplar oluşturarak kümelenmesi, hava kirliliğinin *Betula pendula* polen protein profilleri üzerinde ayırt edici bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Kirli alan örneklerinde gözlenen bu heterojen yapı, hava kirliliğinin yalnızca varlığıyla değil, kirleticilerin tipi ve yoğunluğu ile de ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

Literatürde trafik kaynaklı hava kirleticilerinin *Betula pendula* polen proteinlerinin niteliksel ve niceliksel özelliklerini etkilediği birçok çalışma ile ortaya konmuştur. Helander vd. (1997), huş ağacı polenlerinde alerjenik proteinlerin çevresel koşullara bağlı değişimini incelemiş ve SDS-PAGE analizleri sonucunda kirli alanlardan toplanan polenlerde bant sayısının arttığını ve bazı bantların yoğunluğunun belirgin şekilde değiştiğini rapor etmiştir.

Benzer şekilde Ziemianin vd. (2021), Betula pendula polenlerinde alerjenik proteinlerin niteliksel ve niceliksel değişimini SDS-PAGE ve immünolojik analizler ile değerlendirmiştir. Araştırmacılar, hava kirliliğinin yüksek olduğu bölgelerden toplanan polenlerde SDS-PAGE bant profillerinin daha karmaşık bir yapı sergilediğini, bant sayısının arttığını ve bazı molekül ağırlığı aralıklarında yeni bantların ortaya çıktığını bildirmiştir. Bu literatür bulguları, bu çalışmada kirli lokasyonlardan elde edilen örneklerde SDS-PAGE bant profillerinin daha karmaşık, molekül ağırlığı dağılımının daha heterojen olmasını destekler niteliktedir.

Rezanejad vd. (2003) tarafından Lagerstroemia indica L. polenlerinde gerçekleştirilen çalışmanın sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Söz konusu çalışmada, hava kirliliğine maruz kalan polenlerde çözünür protein miktarında değişimler, hücresel yapıda bozulmalar ve polen yüzeyinden hücresel materyal salınımının arttığı bildirilmiştir. Benzer şekilde, bu çalışmada da kirli lokasyonlardan elde edilen Betula pendula örneklerinin protein bant profillerinde belirgin farklılıkların ortaya çıkması, çevresel kirliliğin polenlerde biyokimyasal düzeyde değişimlere neden olabileceğini desteklemektedir. Trafik kaynaklı NO_2 ve diğer hava kirleticilerinin oluşturduğu çevresel stresin, bitkide savunma mekanizmalarını tetikleyerek yeni proteinlerin sentezlenmesine veya mevcut proteinlerin yapısal modifikasyonuna yol açtığı düşünülmektedir.

Sedghy vd. (2017) tarafından Platanus orientalis L. polenlerinde gerçekleştirilen çalışmanın sonuçlarıyla uyumludur. Söz konusu çalışmada, trafik kaynaklı hava kirliliğine maruz kalan polenlerde alerjen proteinlerin ekspresyon düzeylerinde anlamlı değişimler meydana geldiği ve kirliliğin polenlerin biyokimyasal içeriğini etkilediği bildirilmiştir. Benzer şekilde, bu çalışmada da kirli lokasyonlardan elde edilen Betula pendula örneklerinin protein bant profillerinde gözlenen ayrışma, hava kirliliğinin polen protein ekspresyonu üzerinde belirleyici bir faktör olabileceğini desteklemektedir.

Sonuç olarak elde edilen veriler, hava kirliliğinin Betula pendula polen protein profilleri üzerinde belirgin ve ayırt edici bir etkiye sahip olduğunu ve bu etkinin literatürde bildirilen bulgularla güçlü bir uyum gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda, ELISA analizi ile, temiz ve kirli bölgeden toplanan huş poleni örneklerinde major protein olan Bet v 1 düzeylerini karşılaştırdığımızda, kirli bölge örneklerinde Bet v 1 yükünün ortalama olarak daha yüksek olduğunu, ancak bu farkın istatistiksel olarak klasik anlamlılık düzeyine ($p < 0,05$) tam olarak ulaşmadığı görülmüştür Ayrıca kirli grup içindeki bazı bireysel örneklerin (özellikle Betula 1) temiz bölge (Betula12–13–14) ile kıyaslandığında Mann–Whitney testiyle anlamlı derecede daha yüksek Bet v 1 içerdiğini, diğer bazılarının ise (Betula 8, Betula 9, Betula 10) sınırda/trend düzeyinde daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu durum, kirlilikle temas eden ağaçların bir kısmında alerjen yükünün belirgin artabildiğini, ancak hem örnek sayısının sınırlı olması hem de doğal biyolojik varyasyon nedeniyle bu etkinin her ağaçta aynı güçte ortaya çıkmadığını düşündürmektedir (Şekil 4.49-4.50).

Bizim çalışmamızla uyumlu olarak, Ziemianin vd. (2021), farklı kirlilik düzeylerinde yetişen Betula pendula ağaçlarından topladıkları polenlerde, daha kirli alanlarda Bet v 1 düzeyinin anlamlı olarak daha yüksek olduğunu ve polenin bazı nicel/nitel özelliklerinin de (örneğin protein bileşimi) değiştiğini göstermiştir. Benzer şekilde Stawoska vd. (2023), hava kirleticilerinin huş poleninin kimyasal bileşimi ve özellikle Bet v 1 proteininin ikincil yapısı üzerinde değişiklikler yaptığını ve bunun polenin alerjenik potansiyelini etkileyebileceğini bildirmiştir. Daha eski çalışmalarda da kentsel/ endüstriyel kirlilik gradyanı boyunca huş poleni alerjenlerine (özellikle Bet v 1'e karşı IgE yanıtları) bakıldığında, daha kirli alanlardan gelen polenlerin daha güçlü bağışıklık yanıtı oluşturabildiği gösterilmiştir (Helander vd. 1997).

Bet v 1, PR-10 sınıfı patogenezle ilişkili (pathogenesis-related, PR-10) proteinlerdendir ve bitkide savunma ve stres yanıtı ile ilişkili çok fonksiyonlu küçük proteinler olarak tanımlanırlar (Raith ve Swaboda 2023). PR-10 ailesi üyelerinin hem biyotik (patojenler vb.) hem de abiyotik stres (örneğin ozon, ağır metaller, oksidatif stres) altında indüklendiği ve ribonükleaz aktivitesi gibi işlevlerle hücre içinde stres yanıtında rol aldığı gösterilmiştir (Koistinen vd. 2002). Koistinen vd. Betula pendula poleninde PR-10 c geninin oksidatif stresle indüklendiğini, PR-10 proteinlerinin (dolayısıyla Bet v 1 benzerlerinin) çevresel stres faktörlerine yanıt olarak daha fazla üretilebildiğini göstermiştir. Dolayısıyla bizim kirli bölge olarak (muhtemelen daha fazla NOx, ozon,

partikül madde ve genel oksidatif stres altında) toplanan polenlerde Bet v 1 düzeyinin yükselme eğiliminde olması, Bet v 1'in stresle indüklenen bir PR-10 proteini olmasıyla oldukça örtüşmektedir.

Hava kirleticilerinin huş poleni alerjenitesi üzerindeki etkisini inceleyen çalışmalar da çalışmamızın sonuçlarını desteklemektedir. Beck vd. (2013), yüksek çevresel ozon düzeylerinin Betula pendula poleninde hem Bet v 1 içeriğini arttırdığını hem de polenin alerjenitesini yükselttiğini göstermiştir; ozon artışı ile Bet v 1 düzeyi arasında pozitif ilişki, sıcaklık ile de çoğu durumda ters ilişki bildirilmektedir. Buters ve arkadaşlarının çalışmalarında ise aynı miktar polenden salınan Bet v 1 miktarının farklı yıllar ve bölgeler arasında 3–6 kat değişebildiği ve bunun sadece polen sayısıyla açıklanamayacağı gösterilmiştir; yani polen başına düşen alerjen yükü çevresel koşullara oldukça duyarlıdır (Buters vd. 2012). Stawoska vd. (2023) gibi daha yakın tarihli çalışmalar, hava kirleticilerinin Bet v 1'in sadece miktarını değil, ikincil yapısını ve potansiyel olarak IgE bağlanma özelliklerini de değiştirebildiğini ortaya koymuştur; bu da aynı Bet v 1 konsantrasyonunda bile alerjenik etkinin farklı olabileceğine işaret eder.

Diğer yandan, şehir atmosferine ait partikül maddelerin (özellikle dizel kaynaklı $PM_{2.5}$ ve organik fraksiyonlarının) Bet v 1 ile etkileşerek alerjenliği artırdığı da gösterilmiştir. Şehir aerosollerinden elde edilen organik ekstraktların, rekombinant Bet v 1 ile verildiğinde, alerjik bireylerden alınan bazofillerde ve hava yolu hücrelerinde daha güçlü inflamatuvar yanıt ve aktivasyon oluşturduğu bildirilmiştir (Schober vd. 2006). Ayrıca kentsel ve kırsal bölgelerden gelen huş polenleri karşılaştırıldığında, kentsel polenin bazı proteinlerinde (aralarında Bet v 1'in de bulunduğu spotlar) yoğunluk farklılıkları veya nitrasyon gibi post-translasyonel modifikasyonlar gösterilmiştir; bu değişikliklerin alerjenik potansiyeli artırabileceği öne sürülmektedir (Reinmuth-Selzle vd. 2014).

Bu çalışma, kirliliğin hem polenin üzerinde taşınan Bet v 1 miktarını, hem de Bet v 1'in yapısal/kimyasal özelliklerini değiştirebileceği fikrini desteklemektedir. Kirli bölgeden toplanan huş polenlerinde Bet v 1 düzeylerindeki artış eğilimi, PR-10 ailesinin stresle

indüklenebilen doğası ve ozon/partikül gibi kirleticilerin huş poleni alerjenitesi üzerindeki etkisini gösteren çalışmalarla biyolojik olarak uyumludur. Betula 1 gibi bazı bireysel ağaçlarda Bet v 1 düzeyinin temiz bölge örneklerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunması, kirleticilerin etkisinin ağaçtan ağaca değişebileceğini, muhtemelen genetik farklılıklar, mikroklimatik koşullar ve maruziyet geçmişi gibi etkenlerle modüle edildiğini düşündürmektedir.

Grup düzeyinde p-değerlerinin anlamlılık eşiğinin biraz üzerinde kalması, kirlilik etkisinin olmadığı anlamına gelmekten çok, örnek sayısının (özellikle temiz bölge n=3 ağaç) ve biyolojik varyasyonun istatistiksel gücü sınırladığını göstermektedir; bu durum, literatürde rapor edilen bölgesel ve yıllar arası büyük değişkenliklerle de uyumludur (Buters vd. 2010). Hava kirleticileri (özellikle ozon ve trafik kaynaklı partiküller), huş poleninin alerjen yükünü ve/veya yapısal özelliklerini değiştirebilmektedir (Carlsen vd. 2022).

Sonuç olarak bu tez çalışmasında, trafik kaynaklı hava kirliliğinin Betula pendula poleni ve yaprak anatomisi üzerindeki etkileri, FT-IR spektroskopisi, ELISA, SDS-PAGE, ışık mikroskobu, SEM ve çok değişkenli istatistiksel analizler kullanılarak çok disiplinli bir yaklaşımla değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, trafik yoğunluğunun yüksek olduğu bölgelerden toplanan örneklerde polen biyokimyasında, özellikle protein bantları (Amid I ve Amid II) ve bunların göreli dengelerinde anlamlı değişimler meydana geldiğini, bunun FT-IR temelli nicel metrikler ve ikincil yapı göstergeleriyle izlenebildiğini ortaya koymuştur. Buna ek olarak, ELISA ve SDS-PAGE sonuçları, alerjen proteinlerin bağlanma ve bant profillerinde çevresel koşullara duyarlı değişimler olabileceğini desteklerken; polen ve yaprak morfolojisine ilişkin ışık mikroskobu ve SEM gözlemleri, trafik kirliliğinin yalnızca biyokimyasal değil, aynı zamanda yapısal ve anatomik düzeyde de etkiler oluşturabileceğini göstermiştir. Bu çalışma, Türkiye'de trafik kirliliğinin Betula pendula poleni ve yaprak anatomisi üzerindeki etkilerini, polen morfolojisi, alerjenite ve moleküler düzeydeki biyokimyasal değişimleri birlikte ele alan ilk tez çalışması olma özelliğini taşımaktadır. Elde edilen sonuçlar, hava kirliliği–polen–alerjenite ilişkilerinin daha bütüncül biçimde anlaşılmasına katkı sağlamakta

olup, hem çevresel sağlık hem de aeropalinoloji ve alerji araştırmaları açısından önemli bir referans oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR

Abdul-Hameed, M. J. (2019). Air pollution effects in some plant leaves morphological and anatomical characteristics within baghdad city. iraq. Engineering and Technology Journal, *37*(1 Part C).

Aina, R., Asero, R., Ghiani, A., Marconi, G., Albertini, E., & Citterio, S. (2010). Exposure to cadmium- contaminated soils increases allergenicity of *Poa annua* L. pollen. Allergy, 65(10), 1313-1321.

Akkemik, Ü., Sertok, B., & Akarsu, F. (2017). Distribution of *Betula pendula* during Late Quaternary to the present and characteristics of its lowest growing area in Turkey. Eurasian Journal of Forest Science, 5(2), 1-18.

Alan, Ş. (2010). Türkiye Corylaceae ve Betulaceae familyaları polenlerinin biyokimyasal ve morfolojik özellikleri.

Pınar, N. M., Acar Şahin, A., Alan, Ş., Bavbek, S., Mısırlıgil, Z., Dilaver, Z. (2022). Ankara Üniversitesi Beşevler 10. Yıl Yerleşkesi Alerjik Bitkileri. Ankara Üniversitesi Basımevi.

Alan, Ş., Yıldırım, Ö., Pınar, N. M., Seçil, D., Keçeli, T., Çeter, T., & Mısırlıgil, Z. (2009). *Betula pendula* Roth (syn= *B. verrucosa*) polenine duyarlı hastalarda IgE reaktivite profilleri. Asthma Allergy Immunology, 7(2), 100-105.

Anatomical responses of leaves of Black Locust (*Robinia pseudoacacia* L.) to urban pollutant gases and climatic factors. Trees, 26(2), 363–375.

Anenberg, S. C., Mohegh, A., Goldberg, D. L., Kerr, G. H., Brauer, M., Burkart, K.,& Lamsal, L. (2022). Long-term trends in urban NO2 concentrations and associated paediatric asthma incidence: estimates from global datasets. The Lancet Planetary Health, 6(1), e49-e58.

Anşin, R., Özkan, C. 1993. Tohumlu Bitkiler (Spermatophyta) Odunsu Taksonlar. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Orman Fakültesi, Genel Yayın No: 167, Fakülte Yayın No: 19, Trabzon.

Atkinson, M. D. (1992). *Betula pendula* Roth (B. verrucosa Ehrh.) and B. pubescens Ehrh. Journal of Ecology, 80(4), 837-870.

Avcı, M., (2004). İç Anadolu Bölgesi Ormanlarının Son Sığınakları Karacadağ ve Karadağ Volkanlarının Bitki Örtüsü. Çantay Kitabevi. İstanbul

Azzazy, M. (2016). Environmental impacts of industrial pollution on pollen morphology of *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae). J. Appl. Biol. Biotechnol, 4(5), 057-062.

Barth, A. (2007). Infrared spectroscopy of proteins. Biochimica et Biophysica Acta, 1767, 1073–1101.

Bayram, H., & Dikensoy, Ö. (2006). Effects of air pollution on respiratory health. Tuberkuloz ve Toraks, 54(1), 80–89

Beck, I., Jochner, S., Gilles, S., McIntyre, M., Buters, J. T. M., Schmidt-Weber, C., Behrendt, H., & Ring, J. (2013). High environmental ozone levels lead to enhanced allergenicity of birch pollen. PLoS ONE, 8(11), e80147.

Beck, P., Caudullo, G., de Rigo, D., & Tinner, W. (2016). *Betula pendula*, Betula pubescens and other birches in Europe: distribution, habitat, usage and threats.

Beggs, P.J. and Bambrick, H.J. 2005. Is the global rise of asthma an early impact of anthropogenic climate change? Environmental health perspectives, 113, 915 91

Behrendt, H., Becker, W. M., Fritzsche, C., Sliwa-Tomczok, W., Tomczok, J., Friedrichs, K. H., & Ring, J. (1997). Air pollution and allergy: experimental studies on modulation of allergen release from pollen by air pollutants. International archives of allergy and immunology, 113(1-3), 69-74.

Behrendt, H., Friedrich, K. H., Kainka-Stänicke, E., Darsow, U., Becker, W. M., & Tomingas, R. (1991). Allergens and pollutants in the air,a complex interaction. In New trends in allergy III (pp. 467-478). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Biçakçi, A., Altunoğlu, M. K., Bilişik, A., Çelenk, S., Canitez, Y., Malyer, H., & Sapan, N. (2009). Türkiye'nin atmosferik polenleri. Asthma allergy immunology, 7, 11-7.

Blackmore, S., Steinmann, J. A., Hoen, P. P., & Punt, W. (2003). Betulaceae and Corylaceae. Review of Palaeobotany and Palynology, 123(1-2), 71-98.

Bohle, B. (2007). The impact of pollen- related food allergens on pollen allergy. Allergy, 62(1), 3-10.

Bosch-Cano, F., Bernard, N., Sudre, B., Gillet, F., Thibaudon, M., Richard, H., & Ruffaldi, P. (2011). Human exposure to allergenic pollens: A comparison between urban and rural areas. Environmental research, 111(5), 619-625.

Breiteneder, H., Pettenburger, K., Bito, A., Valenta, R., Kraft, D., Rumpold, H., & Breitenbach, M. (1989). The gene coding for the major birch pollen allergen Betv1, is highly homologous to a pea disease resistance response gene. The EMBO journal, 8(7), 1935-1938.

Browicz, K., Zielinski, J., (1982). Chorology of Trees and Shrubs in South-West Asia and Adjacent Regions, vol Polish Scientific Publishers, Warsaw, PoznaM.

Brown, C. A. (1960). Palynological techniques.

Burkhardt, J. (2010). Hygroscopic particles on leaves: Nutrients or desiccants? Ecological Studies. Gostin, I. N. (2009). Air pollution effects on the leaf structure of some Fabaceae species. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici, 37(2), 57–63.

Buters, J. T. M., Thibaudon, M., Smith, M., Kennedy, R., Rantio-Lehtimäki, A., Albertini, R., Behrendt, H. (2010). Release of pollen allergens as a function of environmental conditions. Allergy, 65(12), 1586–1594.

Buters, J. T. M., Thibaudon, M., Smith, M., Kennedy, R., Rantio-Lehtimäki, A., Albertini, R., Reese, G., Weber, B., Galan, C., Brandao, R., HIALINE Working

Group. (2012). Release of Bet v 1 from birch pollen from 5 European countries: Results from the hıalıne study.

Bychkova, O. V., & Khlebova, L. P. (2019). Effects of air temperature, humidity and air pollution on fertility of birch pollen in urban environments. Ukrainian Journal of Ecology, 9(3), 346-351.

Carlsen, H. K., Haga, S. L., Olsson, D., Behndig, A. F., Modig, L., Meister, K., Olin, A. C. (2022). Birch pollen, air pollution and their interactive effects on airway symptoms and peak expiratory flow in allergic asthma during pollen season–a panel study in Northern and Southern Sweden. Environmental Health, 21(1), 63.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC. (2007). Unintentional poisoning deaths--United States, 1999-2004. MMWR. Morbidity and mortality weekly report, 56(5), 93-96.

Chen, S., Zhao, X., & Chen, S. (2022). Identification of the cell wall synthesis genes in *Betula pendula*. Wood Research, 67(4), 519-532.

Ciprandi, G., Comite, P., Mussap, M., De Amici, M., Quaglini, S., Barocci, F., ... & Scala, E. (2016). Profiles of birch sensitization (Bet v 1, Bet v 2, and Bet v 4) and oral allergy syndrome across Italy. J Investig Allergol Clin Immunol, 26(4), 244-248.

Cortegano, I., Civantos, E., Aceituno, E., Del Moral, A., Lopez, E., Lombardero, M., ... & Lahoz,C. 2004. Cloning and expression of a major allergen from *Cupressus arizonica* pollen, Cup a 3, aPR- 5 protein expressed under polluted environment. Allergy, 59(5), 485-490

Cresti, M., El-Ghazaly, G., Milanesi, C., & Walles, B. (1999). Ultrastructural characteristics of *Betula pendula* tapetum and pollen grains after rapid freezing and freeze-substitution. Grana, 38(4), 194-202.

Cuinica, L. G., Abreu, I., Gomes, C. R., & Esteves da Silva, J. C. G. (2013). Exposure of *Betula pendula* Roth pollen to atmospheric pollutants CO, O3 and SO2. Grana, 52(4), 299-304.

D'amato, G., & Cecchi, L. (2008). Effects of climate change on environmental factors in respiratory allergic diseases. Clinical & Experimental Allergy, 38(8), 1264-1274.

D'Amato, G., Cecchi, L., D'amato, M., & Liccardi, G. (2010). Urban air pollution and climate change as environmental risk factors of respiratory allergy: an update. Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology, 20(2), 95-102.

D'Amato, G., Liccardi, G., & Frenguelli, G. (2007). Thunderstorm- asthma and pollen allergy. Allergy, 62(1), 11-16.

D'amato, G., Liccardi, G., D'amato, M., & Holgate, S. (2005). Environmental risk factors and allergic bronchial asthma. Clinical & Experimental Allergy, 35(9), 1113-1124.

Daellenbach, K. R., Uzu, G., Jiang, J., Cassagnes, L. E., Leni, Z., Vlachou, A., & Prévôt, A. S. (2020). Sources of particulate-matter air pollution and its oxidative potential in Europe. Nature, 587(7834), 414-419.

Darnhofer, B., Tomin, T., Liesinger, L., Schittmayer, M., Tomazic, P. V., & Birner-Gruenberger, R. (2021). Comparative proteomics of common allergenic tree pollens of birch, alder, and hazel. Allergy, 76(6), 1743-1753.

Davis, P. H. (1970). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 3.

Depciuch, J., Kasprzyk, I., Drzymała, E., & Parlinska-Wojtan, M. (2018). Identification of birch pollen species using FT-IR spectroscopy. Aerobiologia, 34(4), 525-538.

Depciuch, J., Kasprzyk, I., Sadik, O., & Parlińska-Wojtan, M. (2017). FT-IR analysis of molecular composition changes in hazel pollen from unpolluted and urbanized areas. Aerobiologia, 33(1), 1-12.

El-Ghazaly, G., Takahashi, Y., Nilsson, S., Grafström, E., & Berggren, B. (1995). Orbicules in *Betula pendula* and their possible role in allergy. Grana, 34(5), 300-304.

Erdtman, G. 1953. Pollen Morphology and Plant taxonomy - Angiosperms. E. J. Brill,553 s, The Netherlands

Eremı, O., & Florin, Sala (2025). *Ambrosia Artemisiifolia* L. Leaves Fractal Geometry Variation İn Relation To Nitrogen Rate. Journal Of Hortıculture, Forestry And Bıotechnology, 29(2), 343-350.

Erler, A., Hawranek, T., Krückemeier, L., Asam, C., Egger, M., Ferreira, F., & Briza, P. (2011). Proteomic profiling of birch (*Betula verrucosa*) pollen extracts from different origins. Proteomics, 11(8), 1486-1498.

Faegri, K., & Iversen, J. (1975). Textbook of pollen analysis.

Ferreira, F., Ebner, C., Kramer, B., Casari, G., Briza, P., Kungl, A. J.,& Scheiner, O. (1998). Modulation of IgE reactivity of allergens by site- directed mutagenesis: potential use of hypoallergenic variants for immunotherapy. The FASEB Journal, 12(2), 231-242.

Finlayson-Pitts, B. J., & Pitts Jr, J. N. (1993). Atmospheric chemistry of tropospheric ozone formation: scientific and regulatory implications. Air & Waste, 43(8), 1091-1100.

Finlayson-Pitts, B. J., & Pitts Jr, J. N. (1999). Chemistry of the upper and lower atmosphere: theory, experiments, and applications. Elsevier.

Frank, U., Ernst, M. (2016). Effects of nitrogen dioxide on pollen allergens: Nitration and protein structure changes. Environmental Pollution, 213, 131–138.

Gerrity, T. R., Biscardi, Frank., Strong, Arthur., Garlington, A. R., Brown, J. S., & Bromberg, P. A. (1995). Bronchoscopic determination of ozone uptake in humans. Journal of applied physiology, 79(3), 852-860.

Güngör, İ., Ata toprak A., Özer, F. 2002. Bitkilerin Dünyası.385 s., Ankara.

Ghiani, A., Aina, R., Asero, R., Bellotto, E., & Citterio, S. (2012). Ragweed pollen collected along high- traffic roads shows a higher allergenicity than pollen sampled in vegetated areas. Allergy, 67(7), 887-894.

Gostin, I. N. (2009). Air pollution effects on the leaf structure of some Fabaceae species. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 37(2), 57–63.

Grewling, Ł., Piosik, Ł., & Szkudlarz, P. (2021). Morphophysiological characteristics of pollen grains produced by bisexual inflorescences of silver birch (*Betula pendula* Roth.). Aerobiologia, 37(1), 179-183.

Grote, Monıka (1989). Techniques to preserve soluble surface components in birch pollen wall: a scanning and transmission electron microscopic study. Journal of Histochemistry & Cytochemistry, 37(7), 981-987.

Grundström, M., Hak, C., Chen, D., Hallquist, M., & Pleijel, H. (2015). Variation and co-variation of PM10, particle number concentration, NOx and NO2 in the urban air–Relationships with wind speed, vertical temperature gradient and weather type. Atmospheric environment, 120, 317-327.

Guerova, G., Bey, I., Attié, J. L., Martin, R. V., Cui, J., & Sprenger, M. (2006). Impact of transatlantic transport episodes on summertime ozone in Europe. Atmospheric Chemistry and Physics, 6(8), 2057-2072.

Güner, A., & Aslan, S. (Eds.). (2012). Türkiye bitkileri listesi:(damarlı bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları.

Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K.H. 2000. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh: Edinburgh University Press.

Helander, M. L., Savolainen, J., & Ahlholm, J. (1997). Effects of air pollution and other environmental factors on birch pollen allergens. Allergy, 52(12), 1207-1214.

Iqbal, S., Clower, J. H., Hernandez, S. A., Damon, S. A., & Yip, F. Y. (2012). A review of disaster-related carbon monoxide poisoning: surveillance, epidemiology, and opportunities for prevention. American journal of public health, 102(10), 1957-1963.

Jensen-Jarolim E. Happy 25th birthday, Bet v 1! WAO Journal 2014; 7:14-7

Kim K H, Kabir E, Kabir S, 2015. A review on the human health impact of airborne particulate matter.

Kim, K. H., Jahan, S. A., & Kabir, E. (2013). A review on human health perspective of air pollution with respect to allergies and asthma. Environment international, 59, 41-52.

Kleine-Tebbe, J., Ollert, M., Radauer, C., & Jakob, T. (2017). Introduction to molecular allergology: protein families, databases, and potential benefits. Molecular Allergy Diagnostics: Innovation for a Better Patient Management, 3-19.

Knox, R. B., Suphioglu, C., Taylor, P., Desai, R., Watson, H. C., Peng, J. L., & Bursill, L. A. (1997). Major grass pollen allergen Lol p 1 binds to diesel exhaust particles: implications for asthma and air pollution. Clinical & Experimental Allergy, 27(3), 246-251.

Koistinen, K. M., Hassinen, V. H., Gynther, P. A., Lehesranta, S. J., Keinänen, S. I., Kokko, H. I., ... & Kärenlampi, S. O. (2002). Birch PR- 10c is induced by factors causing oxidative stress but appears not to confer tolerance to these agents. New Phytologist, 155(3), 381-391.

Komarov VL (ed.). Flora of the USSR. Vols. 1–30. Academy of Sciences of the USSR, Leningrad, 1934–1964.

Kong, J., & Yu, S. (2007). FT-IR analysis of protein secondary structures. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 39, 549–559.

Kozlowski, T. T., & Pallardy, S. G. (2002). Physiology of woody plants. Academic Press. Rai, P. K. (2016). Impacts of particulate matter pollution on plants. Environmental Skeptics and Critics, 5(3), 45–60.

Krizo, M., & Slobodnik, B. (1997). Changes in the size of pollen grains and structure of the tapetal layer in *Betula pendula* (Roth) during the maturation of pollen. Bull. Polish Acad. Sci. Biol. Sci, 45, 2-4.

Lavaud, F., Fore, M., Fontaine, J. F., Pérotin, J. M., & de Blay, F. (2014). Allergie au pollen de bouleau. Revuedes maladies respiratoires, 31(2), 150-161.

Mäkelä, E. M. (1996). Size distinctions between Betula pollen types,a review. Grana, 35(4), 248-256.

McConnell, J. C., & Jin, J. J. (2008). Stratospheric ozone chemistry. Atmosphere-Ocean, 46(1), 69-92.

Meidner, H., & Mansfield, T. A. (1968). Physiology of stomata.

Naumann, D. (2000). Infrared spectroscopy in microbiology. Encyclopedia of Analytical Chemistry.

Nkansah, F. K. (2025). Air pollution and plant responses: a study on morphological and anatomical changes in roadside trees along traffic-dense roads. BMC Environmental Science, 2(1), 16.

Oksanen, E., Riikonen, J., Kaakinen, S., Holopainen, T., & Vapaavuori, E. (2005). Structural characteristics and chemical composition of birch (*Betula pendula*) leaves are modified by increasing CO2 and ozone. Global Change Biology, 11(5), 732-748.

Ormstad, H. (2000). Suspended particulate matter in indoor air: adjuvants and allergen carriers. Toxicology, 152(1-3), 53-68.

Ormstad, H., Johansen, B. V., & Gaarder, P. I. (1998). Airborne house dust particles and diesel exhaust particles as allergen carriers. Clinical & Experimental.

Pehlivan, S. (1987). A comparative study on the fine structures of the pollen walls and annuli in some Turkish Betulaceae, Moraceae, Cannabaceae, Haloragaceae. Communications Faculty of Sciences University of Ankara Series C Biology, 5.

Pelham, T. W., Holt, L. E., & Moss, M. A. (2002). Exposure to carbon monoxide and nitrogen dioxide in enclosed ice arenas. Occupational and environmental medicine, 59(4), 224-233.

Petrushkevych, Y. M., & Korshykov, I. I. (2020). Ecological and biological characteristics of Betula pendula in the conditions of urban environment. Regulatory Mechanisms in Biosystems, 11(1).

Phosri, A., Ueda, K., Tasmin, S., Kishikawa, R., Hayashi, M., Hara, K., ... & Takano, H. (2017). Interactive effects of specific fine particulate matter compositions and airborne pollen on frequency of clinic visits for pollinosis in Fukuoka, Japan. Environmental research, 156, 411-419.

Polosa, R. (2001). The interaction between particulate air pollution and allergens in enhancing allergic and airway responses. Current allergy and asthma reports, 1(2), 102-107.

Prigioniero, A., Postiglione, A., Zuzolo, D., Niinemets, Ü., Tartaglia, M., Scarano, P., Mercurio, M., Germinario, C., Izzo, F., Trifuoggi, M., Toscanesi, M., Sciarrillo, R., & Guarino, C. (2023). Leaf surface functional traits influence particulate matter and polycycli aromatic hydrocarbons air pollution mitigation: Insights from Mediterranean urban forests. Journal of Cleaner Production, 418, 138158.

Prithviraj, P. S., & Reshmi, G. R. (2025). Breathing Plants: Analyzing Air Pollution's Effect on Leaf and Stomatal Morphology. Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 21(2), 216-228.

Punt, W., & Hoen, P. P. (2009). The Northwest European Pollen Flora, 70: Asteraceae—Asteroideae. Review of Palaeobotany and Palynology, 157(1-2), 22-183.B

Punt, W., Hoen, P. P., Blackmore, S., Nilsson, S., & Le Thomas, A. (2007). Glossary of pollen and spore terminology. Review of palaeobotany and palynology, 143(1-2), 1-81.

Rai P, Mishra RM 2013. Effect of urban air pollution on epidermal traits of road side tree species, *Pongamia pinnata* (L.) Merr. Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology, 2: 2319-402.

Rai, P. K. (2016). Impacts of particulate matter pollution on plants: Implications for environmental biomonitoring. Ecotoxicology and Environmental Safety, 129, 120–136

Raith, M., & Swoboda, I. (2023). Birch pollen,The unpleasant herald of spring. Frontiers in Allergy, 4, 1181675.

Ranpal, S. (2024). Impacts of environmental factors on pollen production of birch across different climatic conditions in Europe (Doctoral dissertation, Katholische Universität Eichstätt-Ingolstadt).

Rashidi, F., Jalili, A., Babaie Kafaki, S., Sagheb-Talebi, K., & Hodgson, J. (2012). Anatomical responses of leaves of Black Locust *(Robinia pseudoacacia* L.) to urban pollutant gases and climatic factors. Trees, 26(2), 363-375.

Rashidi, R., Rahnavard, A., & Yousefzadeh, H. (2011) Anatomical responses of leaves of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) to urban pollutant gases and climatic factors. Trees, 26(2), 363–375.

Raub, J. A., Mathieu-Nolf, M., Hampson, N. B., & Thom, S. R. (2000). Carbon monoxide poisoning—a public health perspective. Toxicology, 145(1), 1-14.

Rebolj, D., & Sturm, P. J. (1999). A GIS based component-oriented integrated system for estimation, visualization and analysis of road traffic air pollution. Environmental Modelling & Software, 14(6), 531-539.

Reid, C.E. and Gamble, J.L. 2009. Aeroallergens, allergic disease, and climate change: impacts and adaptation. EcoHealth, 6, 458-70

Reinmuth-Selzle, K., Kampf, C. J., Lucas, K., Lang-Yona, N., Fröhlich-Nowoisky, J., Shiraiwa, M., ... & Pöschl, U. (2017). Air pollution and climate change effects on allergies in the anthropocene: abundance, interaction, and modification of allergens and adjuvants. Environmental science & technology, 51(8), 4119-4141.

Reinmuth-Selzle, K., Kampf, C. J., Lucas, K., Lang-Yona, N., Fröhlich-Nowoisky, J., Shiraiwa, M., … Pöschl, U. (2014). Air pollution-induced modification of allergens. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 134(2), 475–480.

Reno, A. L., Brooks, E. G., & Ameredes, B. T. (2015). Mechanisms of heightened airway sensitivity and responses to inhaled SO2 in asthmatics. Environmental Health Insights, 9, EHI-S15671.

Rezanejad, F. (2007). Effects of air pollution on microsporogenesis and pollen development in *Spartium junceum* L. Pakistan Journal of Biological Sciences, 10(8), 1234–1240.

Riedl, M., & Diaz-Sanchez, D. (2005). Biology of diesel exhaust effects on respiratory function. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 115(2), 221-228.

Saadabi, A. M. A. (2011). Effects of auto-exhaust pollution on the micro-morphology and leaf epidermal features of ornamental plants in Khartoum, Sudan.

Sæbø, A., Popek, R., Nawrot, B., Hanslin, H. M., Gawrońska, H., & Gawronski, S. W. (2012). Plant species differences in particulate matter accumulation on leaf surfaces. Science of the Total Environment, 427–428, 347–354.

Salvi, S. (2007). Health effects of ambient air pollution in children. Paediatric respiratory reviews, 8(4), 275-280.

Sancho, A. I., Wangorsch, A., Jensen, B. M., Watson, A., Alexeev, Y., Johnson, P. E., ... & Mills, E. N. C. (2011). Responsiveness of the major birch allergen Bet v 1 scaffold to the gastric environment: impact on structure and allergenic activity. Molecular nutrition & food research, 55(11), 1690-1699.

Saxon, A., & Diaz-Sanchez, D. (2005). Air pollution and allergy: you are what you breathe. Nature immunology, 6(3), 223-226.

Ščevková, J., Dušička, J., Zahradníková, E., Sepšiová, R., Kováč, J., & Vašková, Z. (2023). Impact of meteorological parameters and air pollutants on airborne concentration of Betula pollen and Bet v 1 allergen. Environmental Science and Pollution Research, 30(42), 95438-95448.

Schiavoni, G., D'Amato, G., & Afferni, C. (2017). The dangerous liaison between pollens and pollution in respiratory allergy. Annals of Allergy, Asthma & Immunology, 118(3), 269-275.

Schirmer, T., Hoffimann-Sommergrube, K., Susani, M., Breiteneder, H., & Marković-Housley, Z. (2005). Crystal structure of the major celery allergen Api g 1: molecular analysis of cross-reactivity. Journal of molecular biology, 351(5), 1101-1109.

Schober, W., Belloni, B., Lubitz, S., Eberlein-König, B., Bohn, P., Saritas, Y., Lintelmann, J., Matuschek, G., Behrendt, H., & Buters, J. (2006). Organic extracts of urban aerosol ($\leq PM_{2.5}$) enhance Bet v 1-induced upregulation of

CD63 in basophils from birch pollen–allergic individuals. Toxicological Sciences, 90(2), 377–384.

Sedghy, F., Sankian, M., Moghadam, M., Ghasemi, Z., Mahmoudi, M., & Varasteh, A. R. (2017). Impact of traffic-related air pollution on the expression of Platanus orientalis pollen allergens. International journal of biometeorology, 61(1), 1-9.

Sedghy, F., Varasteh, A.-R., Sankian, M., & Moghadam, M. (2018). Interaction between air pollutants and pollen grains: The role on the rising trend in allergy. Reports of Biochemistry and Molecular Biology, 6(2), 219–224.

Seiberler, S., Scheiner, O., Kraft, D., Lonsdale, D., & Valenta, R. (1994). Characterization of a birch pollen allergen, Bet v 3, representing a novel class of Ca2+ binding proteins: specific expression in mature pollen and dependence of patients' IgE binding on protein- bound Ca2+. The EMBO journal, 13(15), 3481-3486.

Sénéchal, H., Visez, N., Charpin, D., Shahali, Y., Peltre, G., & Biolley, J.-P. (2015). A review of the effects of major atmospheric pollutants on pollen grains, pollen content, and allergenicity. Scientific World Journal, 2015, 940243

Sircar, K., Clower, J., kyong Shin, M., Bailey, C., King, M., & Yip, F. (2015). Carbon monoxide poisoning deaths in the United States, 1999 to 2012. The American journal of emergency medicine, 33(9), 1140-1145.

Snezhana, D. (2019). Registered Amendments in the Structure of *Betula pendula* Roth Leaf Blades as Adaptation to Polluted Environment. Available at SSRN 3965458.

Solanki, S. P. S., Ambast, M., Gupta, A., Paolucci, C., Harold, M. P., & Grabow, L. C. (2023). Complete Mechanism for NO x Adsorption and Release on Atomically Dispersed Palladium in Pd-CHA. ACS ES&T Engineering, 4(1), 209-220

Solomon, W. R. (2002). Airborne pollen: A brief life. Journal of allergy and clinical immunology, 109(6), 895-900.

Stawoska, I., Myszkowska, D., Oliwa, J., Skoczowski, A., Wesełucha-Birczyńska, A., Saja-Garbarz, D., & Ziemianin, M. (2023). Air pollution in the places of *Betula pendula* growth and development changes the physicochemical properties and the main allergen content of its pollen. Plos one, 18(1), e0279826.

Suárez-Cervera, M., Castells, T., Vega-Maray, A., Civantos, E., del Pozo, V., Fernández-González, D., ... & Seoane-Camba, J. A. (2008). Effects of air pollution on Cup a 3 allergen in Cupressus arizonica pollen grains. Annals of Allergy, Asthma & Immunology, 101(1), 57-66.

Sukumaran, D. (2014). Effect of air pollution on the anatomy some tropical plants. Applied ecology and environmental sciences, 2(1), 32-36.

Suphioglu, C., Ferreira, F., & Knox, R. B. (1997). Molecular cloning and immunological characterisation of Cyn d 7, a novel calcium-binding allergen from Bermuda grass pollen. FEBS letters, 402(2-3), 167-172.

Svartengren, M., Strand, V., Bylin, G., Jarup, L., & Pershagen, G. (2000). Short-term exposure to air pollution in a road tunnel enhances the asthmatic response to allergen. European respiratory journal, 15(4), 716-724

Swoboda, I., Hoffmann- Sommergruber, K., O'Ríordáin, G., Scheiner, O., Heberle-Bors, E., & Vicente, O. (1996). Bet v 1 proteins, the major birch pollen allergens and members of a family of conserved pathogenesis- related proteins, show ribonuclease activity in vitro. Physiologia Plantarum, 96(3), 433-438.

Tetiana, S., Kateryna, G., Jan, B., & Radovan, O. (2014). Morphological characteristics and antioxidant activity of pollen silver birch (*Betula pendula* Roth.) Pharmacognosy Communications, 4(1).

Tiwari, S., Agrawal, M., & Marshall, F. M. (2006). Evaluation of air pollution tolerance index of plants. Environmental Monitoring and Assessment, 119, 135–144.

Tomašević, M., Aničić, M., Jovanović, L., Perić-Grujić, A., & Ristić, M. (2005). Deciduous tree leaves as biomonitors of trace elements: A study on the distribution of pollutants in urban areas. Environmental Pollution, 137(3), 521–530

Tunnicliffe, W. S., Burge, P. S., & Ayres, J. G. (1994). Effect of domestic concentrations of nitrogen dioxide on airway responses to inhaled allergen in asthmatic patients. The Lancet, 344(8939-8940), 1733-1736.

Verscheure, S., et al. (2023). Air pollution effects on pollen allergen content: A field study. Environmental Research, 216, 114518. Oksanen, E., Riikonen, J., Kaakinen, S., Holopainen, T., & Vapaavuori, E. (2005). Structural characteristics and chemical composition of birch (*Betula pendula*) leaves are modified byincreasing CO2 and ozone. Global Change Biology, 11(5), 732-748.

Wodehouse, R. P. 1935. Pollen Grains. M.C. Graw. Hill N.Y.

Yaltırık, F. 1993. Dendroloji Ders Kitabı II (Angiospermae) İ. Ü. Orman Fak. Yayın No: 420, İstanbul.

Yazici, K., & Gülgün, B. (2015). *Betula pendula* Roth. (Siğilli Huş)'un Bazı Fizyolojik ve Morfolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi. Ziraat Mühendisliği, (362), 34-37.

Yli- Panula, E., & Ahlholm, J. (1998). Prolonged antigenic activity of birch and grass pollen in experimental conditions. Grana, 37(3), 180-184.

Zhi-Duan, C. (1991). Pollen morphology of the Betula ceae. Journal of Systematics and Evolution, 29(6), 494.

Zhu, C., Farah, J., Choël, M., Gosselin, S., Baroudi, M., Petitprez, D., & Visez, N. (2018). Uptake of ozone and modification of lipids in *Betula pendula* pollen. Environmental pollution, 242, 880-886.

Ziello, C., Sparks, T. H., Estrella, N., Belmonte, J., Bergmann, K. C., Bucher, E., ... & Menzel, A. (2012). Changes to airborne pollen counts across Europe. PloS one, 7(4), e34076.

Ziemianin, M., Waga, J., Czarnobilska, E., & Myszkowska, D. (2021). Changes in qualitative and quantitative traits of birch (*Betula pendula*) pollen allergenic proteins in relation to the pollution contamination. Environmental Science and Pollution Research, 28(29), 39952-39965