




**T.C.**

**SELÇUK ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

# ANTİFRİZ PROTEİNLER VE GLİSİN BETAİNİN ÇİLEK BİTKİSİNDE SOĞUĞA DAYANIKLILIK ÜZERİNE ETKİLERİ

Servet ARAS

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Bahçe Bitkileri Anabilim Dalını**

**Eylül-2013**
**KONYA**
**Her Hakkı Saklıdır**

# ÖZET

## YÜKSEK LİSANS TEZİ

## ANTİFRİZ PROTEİNLER VE GLİSİN BETAİNİN ÇİLEK BİTKİSİNDE SOĞUĞA DAYANIKLILIK ÜZERİNE ETKİLERİ

**Servet ARAS**

**Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**
**Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. Lütfi PIRLAK**

**2013, 56 Sayfa**

**Jüri**
**Prof. Dr. Ahmet EŞİTKEN**
**Prof. Dr. Lütfi PIRLAK**
**Doç. Dr. Mehmet ZENGİN**

Bu çalışma, 2013 yılında Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Araştırma ve Uygulama serasında yürütülmüştür. Araştırmada Kabarla ve Sweet Ann çilek çeşitleri kullanılmıştır. Çalışmada antifriz proteini tip III ve glisin betainin düşük sıcaklık üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Uygulamalar sonrasında membran geçirgenliği, klorofil, prolin ve protein miktarı, zarar gören çiçek yüzdesi, stoma iletkenliği ve yaprak oransal su içeriği parametreleri ölçülmüştür. Soğuk stresi altında 50 ppm AFP uygulaması Kabarla çeşidinde membran stabilitesini önemli ölçüde artırmış ve membran geçirgenliği kontrolda 25,5 iken 50 ppm AFP'de 14,4 olarak belirlenmiştir. Kabarla çeşidinde 150 ppm AFP + GB uygulaması, Sweet Ann çeşidinde ise 50 ppm AFP + GB uygulaması klorofil miktarını kontrole göre sırasıyla 33,6'dan 42,48'e ve 39,11'den 46,05'e artırmıştır. Çilek bitkilerinde soğuktan zarar görmüş çiçekler incelendiğinde, Sweet Ann çeşidinde 100 ppm AFP + GB, Kabarla çeşidinde ise kontrolde en yüksek zarar oranı tespit edilmiştir. Ayrıca Kabarla çeşidinde 50 ppm AFP uygulaması stoma iletkenliğini kontrole kıyasla 447,9' dan 619,4' e, Sweet Ann çeşidinde ise 100 ppm AFP + GB uygulaması 133,2' den 179,9' a artırmıştır. Elde edilen sonuçlara göre antifriz proteini ve glisin betain uygulamasının Kabarla ve Sweet Ann çeşitlerinde düşük sıcaklığa tolerans sağlamada etkili olduğu söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** antifriz proteini, çilek, glisin betain, soğuk stresi

## ABSTRACT

## MS THESIS

## EFFECTS OF ANTIFREEZE PROTEINS AND GLYCINE BETAINE ON STRAWBERRY PLANT FOR RESISTANCE TO COLD

**Servet ARAS**

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY**
**THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE**

**Advisor: Prof. Dr. Lütfi PIRLAK**

**2013, 56 Pages**

**Jury**
**Prof. Dr. Ahmet EŞİTKEN**
**Prof. Dr. Lütfi PIRLAK**
**Doç. Dr. Mehmet ZENGİN**

This study was carried out at Research and Application Greenhouse of Department of Horticulture, Faculty of Agriculture at Selçuk University in 2013. Kabarla and Sweet Ann strawberry cultivars were used in the study. At research, it was aimed determination the effects of antifreeze protein type III and glycine betain on resistance to freeze. After applications, membrane permeability, chlorophyll, proline and protein content, percentage of damaged flowers, stomatal conductivity and leaf relative water content parameters were measured. Under cold conditions, for Kabarla cultivar 50 ppm AFP increased membran stability and membran permeability was determined as 25,5 in control and 14,4 in 50 ppm AFP application. Moreover, 50 ppm AFP application increased stomatal conductivity from 447,9 to 619,4 for Kabarla and 100 ppm AFP + GB increased from 133,2 to 179,9 for Sweet Ann. When the flowers which were injured were observed the most damaged flowers were 100 ppm AFP + GB application on Sweet Ann and control on Kabarla. The results of the present study is thought to be antifreeze protein and glycine betaine applications have a potential to tolerate Kabarla and Sweet Ann strawberry cultivars to low temperature.



**Keywords:** antifreeze protein, cold stress, glycine betaine, strawberry

# ÖNSÖZ

Yüksek Lisans tezimin planlanıp yürütülmesinde yardım ve desteğini eksik etmeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet EŞİTKEN' e teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans eğitimime başladığım andan itibaren desteğini eksik etmeyen Sayın Prof. Dr. Lütfi Pırlak'a teşekkür ederim. Çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak desteklerini eksik etmeyen Arş. Gör. Kevser YAZAR' a, ayrıca manevi destekleriyle her zaman yanımda olan Dr. Ferhan SABIR, Doç. Dr. Ali SABIR ve öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi olarak destekleriyle hep yanımda olan aileme teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Servet ARAS
KONYA-2013

# İÇİNDEKİLER

**ÖZET** ..... **v**

**ABSTRACT** ..... **vi**

**ÖNSÖZ** ..... **vii**

**İÇİNDEKİLER** ..... **viii**

**SİMGELER VE KISALTMALAR** ..... **x**

**1. GİRİŞ** ..... **1**

**2. KAYNAK ARAŞTIRMASI** ..... **6**

2.1. Antifriz Proteinleri İle İlgili Çalışmalar ..... 9
2.2. Glisin Betain İle İlgili Çalışmalar ..... 13
2.3. Diğer Kimyasallar İle İlgili Çalışmalar ..... 15

**3. MATERYAL VE YÖNTEM** ..... **19**

3.1. Materyal ..... 19
3.1.1. Araştırmada Kullanılan Çilek Çeşitlerinin Özellikleri ..... 19
3.2. Yöntem ..... 19
3.2.1. Membran geçirgenliği tayini ..... 20
3.2.2. Göreceli Yaprak Klorofil Miktarı ..... 20
3.2.3. Prolin miktarı tayini ..... 20
3.2.4. Kantitatif protein tayini ..... 21
3.2.5. Yapraktaki oransal su içeriği (LRWC) ..... 22
3.2.6. Stoma iletkenliği ..... 22
3.2.7. Çiçekte soğuk zararı tespiti ..... 22
3.2.8. İstatistiksel analiz ..... 22

**4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA** ..... **23**

4.1. Memran Geçirgenliği ..... 23
4.2. Göreceli Yaprak Klorofil Miktarı ..... 25
4.3. Prolin Miktarı ..... 27
4.4. Kantitatif Protein Miktarı ..... 28
4.5. Yaprak Oransal Su İçeriği (LRWC) ..... 30
4.6. Stoma İletkenliği ..... 31
4.7. Çiçekte Soğuk Zararı ..... 32

**5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER** ..... **35**

5.1. Sonuçlar ..... 35
5.2. Öneriler ..... 36

**KAYNAKLAR** ..... **37**

**ÖZGEÇMİŞ.....55**

# SİMGELER VE KISALTMALAR

## Simgeler

| | |
|---|---|
| % | yüzde |
| $^{o}C$ | santigrat derece |

## Kısaltmalar

| | |
|---|---|
| m | metre |
| nm | nanometre |
| da | dekar |
| RNA | ribonükleik asit |
| DTA | diferansiyel termal analiz |
| NMR | nükleer manyetik rezonans |
| AFP | antifriz proteini |
| AFGP | antifriz glikoprotein |
| nM | nanomolar |
| kDa | kilo Dalton |
| mg | miligram |
| g | gram |
| SDS-PAGE | sodyum dodesil fosfat poliakrilamid jel |
| GB | glisin betain |
| CMO | kolin monooksigenaz |
| BADH | betain aldehid dehidrogenaz |
| mM | milimolar |

| | |
|---|---|
| μM | mikromolar |
| LT | öldürücü sıcaklık |
| SA | salisilik asit |
| ABA | absisik asit |
| M | molar |
| LRWC | yaprak oransal su içeriği |
| YA | yaş ağırlık |
| KA | kuru ağırlık |
| TA | turgor ağırlığı |
| MDA | malondialdehit |
| ALA | aminolevülünik asit |
| Ni | nikel |

## 1. GİRİŞ

Çilek, *Rosales* takımından, *Rosaceae* (Gülgiller) familyasından, *Fragaria* cinsine ait olup bu cinsin teşkil ettiği türlere ve yenilebilir meyvelerine denilmektedir. Anavatanı kuzey ve güney Amerika olup ABD, Avrupa, Güney ve Doğu Afrika ülkeleri, Yeni Zelanda, Avustralya ve Japonya en çok çilek yetiştiriciliği yapan ülkelerdendir (Aybak, 2005). 3225 m yükseklikte, soğuk alanlarda, subtropik bölgelerde, sulanabilen çöllerde, Ekvator gibi çok değişik ekolojik koşullarda da çilek doğal olarak yetişebilmektedir (Ağaoğlu, 1986).

Dünya çilek üretimi 1996-2003 yılları arasında % 16.5' lik bir artışla 2.745.302 tondan 3.198.689 tona yükselmiştir. Bu dönemde çilek üretiminde ABD' de % 28.1, İspanya' da %14.4, Kore' de %23.4, Meksika' da %26.1 ve Türkiye' de %35.5 oranında artış olmuştur (Kaşka ve ark., 2005). Dünya çilek yetiştiriciliğinde son verilere göre ABD 1.312.960 ton ile birinci sırada, Türkiye ise 302.416 ton ile ikinci sırada yer almaktadır. (Anonymous, 2013).

Ülkemiz farklı iklim ve toprak özelliklerine sahip olmasından dolayı çilek yetiştiriciliğinde önemli bir yere sahiptir. Çilek yetiştiriciliği üzerine son yıllardaki veriler incelendiğinde yıllar itibariyle yetiştiricilik yapılan alan ve üretim miktarında artışlar meydana gelmiştir. 2010'da 116.792 da, 2011'de 119.670 da ve 2012'de 127.928 da alanda çilek yetiştiriciliği yapılmış ve 2010'da 299.940, 2011'de 302.416 ve 2012'de 351.834 tonluk üretim yapılmıştır (Anonim, 2013a). Ülkemizi çilek üretimi bakımından iller bazında incelediğimizde Mersin ili 124.704 ton ile en fazla üretim yapan illerin başında gelmektedir (Anonim, 2013a).

Bir bitkiden en iyi verimi almanın yolu, bitkiyi ihtiyaç duyduğu optimum koşullarda yetiştirmektir. Fakat bu durum her zaman mümkün olmamaktadır. Çevrede devamlı olarak veya ara sıra meydana gelen ve bitkide metabolizmayı, büyüme ve gelişmeyi engelleyen, uygun olmayan herhangi durum veya madde stres olarak kabul edilmektedir (Üzal, 2009). Bitkilerde strese neden olan faktörler biyotik (fungus, bakteri, virüs vb.) ve abiyotik faktörler (kuraklık, düşük ve yüksek sıcaklık, tuzluluk vb.) olarak gruplandırılmaktadır (Levitt, 1980).

Ülkemizde olduğu gibi dünyanın birçok bölgesinde en önemli çevresel stres etmenlerinden biri ekstrem sıcaklıklardır ve bu konu üzerinde en çok çalışılanı ise düşük sıcaklık stresidir (Bruggemann ve ark., 1995; Willits ve Peet, 1998; Saltveit, 2001). Düşük sıcaklık bitkilerde çimlenme, büyüme ve gelişme, reprodüktif organlar ve hasat sonrası

depolama süresi dâhil olmak üzere birçok olay üzerinde etkili olan çevresel bir faktördür (Lyons, 1973; Wang, 1990). Donma, hücresel organizmalar için öldürücü bir etkendir. Özellikle hücre içi bölgenin dehidrasyonu ve buz kristallerinin neden olduğu fiziksel zarar, donma hasarına ve ölüme sebep olabilmektedir (Lewitt, 1980; Hale ve Orcutt, 1987; Yang ve ark., 1988). Meyve ağaçlarının soğuğa dayanımları türlere göre değişiklik göstermektedir. Elma, kiraz, vişne vb. gibi meyve türleri soğuğa daha dayanıklı oldukları halde, kayısı ve badem gibi meyve türleri soğuklardan çok etkilenmektedir. Doğal olarak soğuklardan zararlanmada düşük sıcaklığın derecesi, düşme hızı, süresi gibi faktörler etkili olmaktadır. Soğuğa dayanımda yalnız türler arasında değil çeşitler arasında da farklılıklar vardır. Meyve ağaçlarının organlarının soğuğa dayanım dereceleri de değişmektedir ve soğuktan en fazla etkilenen organ tomurcuktur (Küden ve ark., 1998).

Soğuk stresi genel olarak iki şekilde ortaya çıkmaktadır: Üşütücü ve dondurucu sıcaklıklar. Üşütücü sıcaklıklar normal büyüme için çok düşük olmakla beraber buz oluşturmak için yeterli değildir. Tropik ve subtropik türler üşütücü sıcaklıklara duyarlıdır. Kültür bitkileri arasında mısır, fasulye, pirinç, domates, salatalık, muz, tatlı patates ve pamuk düşük sıcaklıklara duyarlıdır. Nispeten yüksek sıcaklıklarda (25-35 $^{o}$C) yetişen bitkiler 10-15 $^{o}$C' ye getirildiklerinde üşüme zararı oluşur: büyüme yavaşlar, yapraklarda renk kaybı ya da lezyonlar oluşur ve yapraklar uzun süre suda bırakılmış gibi ıslak bir görünüm alırlar. Donma zararı ise, suyun donma noktasının altındaki sıcaklıklarda oluşur. Düşük (üşüten) sıcaklıktan zarar gören bitkilerin yapraklarında fotosentez azalır, karbonhidrat taşınımı yavaşlar, solunum hızı düşer, protein sentezi engellenir ve mevcut proteinlerin parçalanma hızı artar. Çözünmüş maddelerin dışa akması plazma zarının, olasılıkla da tonoplastın zarar gördüğünün göstergesidir. Fotosentez ile solunumun engellenmesi ise kloroplast ve mitokondri zarlarının zarar gördüğünü gösterir (Taiz ve Zeiger, 2008).

Üşütücü sıcaklığa dirençli bitkilerin zar lipitlerindeki doymamış yağ asitlerinin oranı, üşütücü sıcaklıklara duyarlı bitkilerinkinden daha fazladır. Düşük sıcaklıklara alışma sırasında desatüre (doygunsuzlaşma) sağlayan enzimler ve doymamış lipitlerin oranı artar (Williams ve ark., 1988; Palta ve ark., 1993). Bu değişiklik zar lipitlerinin yarı akışkan bir halden yarı kristal hale geçtiği sıcaklığı düşürür. Böylece zarların düşük sıcaklıklarda akışkan kalması sağlanır. Dolayısıyla yağ asitlerinin desatürasyonu düşük sıcaklık zararına karşı koruma sağlar.

Bitkilerde düşük sıcaklığa dayanım türden türe değişmektedir ve aşağıdaki çizelgede belirtilmiştir.

**Çizelge 1.** Çeşitli meyve türlerinin durgun mevsiminde dayanabildikleri en düşük sıcaklık derecesi (Ülkümen, 1973; Dokuzoğuz, 1974; Westwood, 1978).

| Tür | Dayanabildiği en düşük sıcaklık derecesi $^{o}$C |
|---|---|
| Şeftali | -25, -30 |
| Badem | -23, -30 |
| Kayısı | -25, -30 |
| Kiraz | -28, -37 |
| Vişne | -20, -25 |
| Erik | -35 |
| Elma | -40 |
| Armut | -30 |
| Ayva | -25 |
| Ceviz (karpat tipi) | -40 |
| Kestane (*C. sativa*) | -30 |
| Fındık | -15, -25 |
| Zeytin | -7, -10 |
| İncir | -12, -15 |
| Turunçgiller | -6, -11 |
| Portakal | -7.8 |
| Mandalina (satsuma) | -9.4 |
| Limon | -6.0 |
| Muz | -1, -2 |
| Hurma | -3 |

**Çizelge 2.** Çeşitli meyve türlerinin çiçek ve meyve organlarının dayanabildikleri en düşük sıcaklık derecesi ($^{o}$C) (Özçağıran ve ark., 2005; Ki ve Warmund, 1992)

| Tür | Çiçek | Meyve |
|---|---|---|
| Çilek | -2.1, -4.9 | |
| Elma | -2.3 | -2, -3,5 |
| Armut | -2.2 | -1.1 |
| Şeftali | -3.6, -1.1 | -2.7, -1.1 |
| Kayısı | -2.2 | -0.6 |
| Erik | -2.2, -0.6 | -1.1, -0.6 |

Son yıllarda birçok bitkinin düşük sıcaklık ve don stresine karşı bazı özel mekanizmalar geliştirdikleri ortaya konmuştur (Griffith ve ark., 1997; Hoshino, 1999; Ewart, 1999, Yu ve Griffith, 2001). Dona dayanım konusunda karbonhidratlar önemli rol oynamaktadır ve bunlardan şeker, nişasta ve diğer karbonhidratlar üzerinde çok çalışılmıştır. Ağaçlarda nişasta ve şekerin birbirine dönüşüm yolları ayrıntıları ile gösterilmiş, kış dinlenme evresinde nişasta ve şekerlerin sık sık birbirlerine dönüştükleri bildirilmiştir (Palonen, 1999).

Yapılan çalışmalarda stres koşullarındaki bitki dokularında prolin birikiminin olduğu tespit edilmiştir. Asmalarda dona tolerans ile prolin miktarı arasında önemli bir korelasyon olduğu, ayrıca prolin bitkilerde osmotik düzenleme gibi farklı rollerinin de olduğu belirtilmiştir (Barka ve Audran, 1997).

Üç ahududu (*Rubus idaeus* L.) çeşidinin tomurcuklarında soğuğa dayanıklılık ile karbonhidrat arasında bir ilişki bulunmuş ve soğuğa dayanıklı çeşitlerde karbonhidrat miktarındaki en belirgin artış sükrozda olurken bunu glikoz, fruktoz, raffinoz ve staçiyoz birikimi takip etmiştir. Sonuç olarak soğuğa dayanıklılık ile karbonhidrat rezervlerinin önemi kanıtlanmıştır (Palonen, 1999).

Bitkiler hücreyi korumak için öldürücü hücre içi ve apoplastta buz oluşumuna karşı birçok bileşik üretirler. Bu yüzden özellikle kışlık bitkiler apoplastik bölgelerinde şeker, aminoasit ve antifriz proteinleri de içeren antifriz bileşikleri biriktirilmektedir (Griffith ve ark., 1997; Atıcı ve Nalbantoğlu, 1999a, b; Ewart ve ark., 1999).

Bitki hücrelerinin donması genellikle oksidatif enzimlerin aktivitesinde bir kayba neden olmaktadır. Bu durum da, suksinat dehidrojenaz ve glutamit dehidrojenaz gibi oksidatif enzimler donma nedeniyle zarar görmektedir (Palonen, 1999).

Düşük sıcaklıklarda soğuğa toleranslı birçok canlı, dokularda buz oluşumuna rağmen uzun bir süre canlı kalabilirler (Burke ve ark., 1976). İlk başlarda soğuğa toleranslı böyle canlılar dokularındaki buz oluşumunun kendiliğinden meydana geldiği ve daha sonra sıcaklığın düşüşüne bağlı olarak canlının diğer dokularına yayıldığı kabul edilmekteydi (Burke ve ark., 1976; Burke ve Lindow, 1990). Fakat soğuğa dayanıklı böcekler, eklem bacaklılar, balıklar ve bitkilerde yapılan çalışmalar böyle canlılarda ekstraselular buz oluşumunun bazı özel proteinler tarafından kontrol edilerek donma hasarının tolere edildiği gösterilmiştir (Storey ve Storey, 1988; Duman ve ark., 1991; Griffith ve ark., 1992; Taşğın, 2004).

Çilek yetiştiriciliği açık arazi ve serada yapılabilmektedir. Bitkilerin kış soğuklarında örtü altına alınması ile birkaç derece sıcaklık artışı sağlanabilmektedir. Örtü altında çilek yetiştiriciliği genellikle kış mevsiminde sıcaklığın çok fazla düşmediği Akdeniz Bölgesinde yapılmakta ve don olayları nadiren görülmektedir. Bununla beraber sıcaklıklar soğuk zararının oluşacağı sınırlara sıklıkla düşmektedir. Düşük sıcaklıkta çilek bitkisinin büyüme ve gelişmesinin gerilemesiyle ürünlerde kalite ve verim kaybı da yaşanmaktadır. Bundan dolayı, örtü altı çilek yetiştiriciliğinde düşük sıcaklıktan kaynaklanan sorunlar çokça görülmektedir.

Ayrıca, açıkta çilek yetiştiriciliğinde ilkbahar ve sonbahar dönemlerinde yine sıcaklıkların üşüme sınırlarına sık sık düşmesi benzer sorunların sıklıkla ortaya çıkmasına sebep olabilmektedir. Bu durum bitkide vejetatif gelişmenin zayıflaması, verim ve meyve kalitesinin düşmesi gibi olumsuzluklara sebep olmaktadır. Bu olumsuz etkileri azaltmak amacıyla farklı uygulamalar denenmektedir. Bu amaçla son yıllarda glisin betainin etkisini araştıran çalışmalar yaygınlaşmış, fakat antifriz proteinlerinin soğuk zararı üzerine etkisi belirlenmiş olmasına rağmen bitkilere dışarıdan uygulanabilirliği hakkında yeterli düzeyde araştırma yapılmamıştır.

Bundan dolayı bu çalışmanın amacı; antifriz proteini ve glisin betainin çilek bitkisinde soğuk koşullara dayanıklılığı ve bu esnada meydana gelen bazı fizyolojik değişimleri üzerine etkisini araştırmaktır.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Düşük sıcaklıklar dünya üzerinde bitki gelişimini etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Yaprak döken meyvelerde; dal kurumaları, gövde kabuğu kuruması, şişmesi ve çatlaması, gövdenin çatlaması ve kuruması, kök ölümleri gibi önemli zararlanmalar meydana gelmektedir (Cameron ve Dixon, 1997).

Edgerton (1954), Proebsting (1956, 1959), Campell ve Handle (1960) gibi araştırıcılar farklı şeftali çeşitlerinin çiçek tomurcuklarını dinlenme döneminde farklı sıcaklık derecelerine maruz bırakarak bunların dona dayanım mekanizmalarını incelemişlerdir. Dona dayanım açısından çeşitler arasında büyük farklılıklar olduğunu ve tomurcuğun asıl dinlenme safhasında dona dayanıklılığının yüksek olduğunu vurgulamışlardır. Edgerton (1960) şeftali ağaçlarının dona dayanıklılıklarının sonbahar ve kış aylarında düşük sıcaklıkla arttığını, dinlenme periyodundan sonra ılık havada ise azaldığını bildirmiştir. Proebsting (1963) çiçek tomurcuklarının soğuk derecelerinden çok soğuğun devam etme süresinden etkilendiğini belirtmiştir.

Marini ve Boyce (1979) çilekte soğuk zararı üzerine yaptıkları bir çalışmada, -4 $^{o}$C' de donan Catskill çeşidinde çiçek sayısında bir azalma gözleyememişler, fakat -8 $^{o}$C' de donan bitkilerde %58, -16 $^{o}$C' de donan bitkilerde ise %22 oranında çiçeklendiklerini tespit etmişlerdir. Çilek bitkisinin kış soğuklarına dayanımı çeşitlere göre değişmektedir. Uygun olmayan kış şartlarının verimi %40, hatta daha yüksek oranlarda azalttığı bildirilmiştir (Nestby, 1997; Dalman ve Matala, 1997).

Dondurucu sıcaklıklara tolerans gösterme konusunda bitkiler arasında büyük farklılıklar vardır. Doğal koşullar altında bütünlüğü bozulmamış çok hücreli bitki organları hücrelerde küçük ve zararsız buz kristalleri oluşmasını sağlayacak kadar hızlı soğumazlar. Buz çoğunlukla ilk olarak hücreler arası boşluklarda ve trakelerde oluşur. Trakelerdeki buzlanma giderek yayılır. Buz oluşumu dirençli bitkiler için ölümcül değildir, ısınma ile doku eski haline döner. Bununla birlikte bitkiler uzun süre dondurucu sıcaklıklara maruz bırakılırsa hücreler arasında oluşan buz kristalleri protoplazmadaki suyun buz kristallerinin bulunduğu hücrenin dışına akmasına sebep olur. Böylece hücre çok su kaybeder. Hızlı donma sırasında vakuol dâhil protoplast aşırı soğur; yani hücre içindeki su donma noktasının birkaç derece altındaki sıcaklıklarda sıvı halde kalır. Bir buz kristalinin oluşması için birkaç yüz molekül gerekir. Yüzlerce su molekülünün kalıcı bir buz kristalini oluşturması için başlattığı bu işleme buz

çekirdeklenmesi denilmektedir. Buzlanmayı kolaylaştıran bazı büyük polisakkaritler ve proteinler buz çekirdeği oluşturucularıdır (Taiz ve Zeiger, 2008).

Bitkiler bazı mekanizmalar ile soğuğa karşı dayanım sağlamaktadır. Kozlowski (1979) ve Steponkus (1984)' a göre dinlenme döneminde RNA ve lipidlerde bir artış görülmekte ve bu dona dayanıklılık üzerine etkili olmaktadır.

Badem, kayısı, erik ve şeftali gibi erken çiçeklenen meyve türlerinde ilkbahar donları ağaçtaki ürün miktarını belirleyen en önemli faktörlerden biridir. Bu meyve türlerinde tomurcukların dona dayanımları havaların ısınması ve tomurcuklarda büyümenin başlamasıyla birlikte büyük ölçüde azalır. Patlayan tomurcuklar -2, -3 $^{o}$C' de, genç meyveler ise -1 $^{o}$C' de dondan zarar görür. Tomurcukların kabarmasından çiçeklenmeye kadar geçen dönemde gelişme ilerledikçe dayanım azalır. Gelişme hızı yavaş olan tomurcukların dayanımı daha fazladır (Baraz, 2002).

Bitkide don ve don zararını belirlemede birçok metot kullanılmaktadır ve diferansiyel termal analiz (DTA) ve nükleer manyetik rezonans (NMR) en önemli olan yöntemlerdendir (Burke ve ark., 1976). Bitkilerde donma olayı, buz çekirdeklenmesi kaçınılmaz olduğu ve buz kristallerinin gelişimi gerçekleştiği zaman meydana gelmektedir (Pearce, 2001). Açık arazide yetiştirilen şeftali ağaçları -0.6 ile -2.6 $^{o}$C arasında ve diğer odunsu ılıman iklim ağaçları ise -1.2 ve -2.1 $^{o}$C arasındaki sıcaklıklarda dondan zarar görmektedir (Ashworth ve Davis, 1986).

Dinlenme halindeki dokuların dondan zararlanma oranları dört faktörden etkilenir: Sıcaklığın düşme oranı, düşük sıcaklığın süresi, dondan önceki sıcaklık derecesi ve buz kristallerinin çözünme hızıdır (Childers ve ark., 1995).

Bitkilerin apoplastındaki su en saf durumda bulunan sudur. Sıcaklık doğadaki gibi yavaş yavaş düşerse bitkilerde buz kristali önce apoplastta oluşur. Sıcaklık çabuk düşerse (örneğin dakikada 8-10 $^{o}$C' den daha fazla) buz kristalleri hücre içinde oluşur ve ölüm kaçınılmaz olur. Sıcaklığın oldukça hızlı düşmesi ile (örneğin laboratuar koşullarında dakikada 100$^{o}$C) hücre özsuyu buz kristalleri oluşturmadan donabilir (vitrifikasyon=camlaşma). Böyle bir durumda gelişmesini tamamlamış hücrelerde de çok düşük sıcaklıklara (örneğin -170 $^{o}$C) dayanabilmişlerdir. Bu sonuç ölümün temel nedeninin düşük sıcaklık değil buzun oluşum biçimi olduğunu göstermektedir (Weiser, 1970).

Donan dokuların çözünme hızları ne kadar fazla ise don zararı da o derece fazla olur. Her zaman olmamakla birlikte, dondan sonra gölgedeki yapraklar ve meyveler

doğrudan güneş ışığı gören meyve ve yapraklara göre daha az ısınırlar. Çünkü bunlarda çözünme hızı yavaştır (Childers ve ark., 1995).

Hücre aralarındaki suyun donması çeşitli şekillerle hücre ölümüne sebep olmaktadır. Ağaç kabuklarının parçalanması gibi mekanik zararlar apoplasttaki suyun donması ile hacmi arttığında buz kristalleri hücreyi sıkıştırarak parçalamaktadır. Fakat bu şekilde ölümler nadiren görülmektedir. Ölümlerin diğer bir nedeni de hücre içindeki suyun dışarı atılması ve protoplazmanın kuruması sonucunda olduğu savunulmaktadır (Faust, 1989).

Doğada sıcaklığın yavaş düşmesi sonucu oluşan ölüm sırasında bitkilerde genel olarak şu aşamalar gerçekleşmektedir (Lewitt, 1980):

a) Önce apoplasttaki ve cansız odun tabakasındaki su donar. Buz kristalleri hızla çoğalır. Buz kristallerinin oluşumu sırasında ısı açığa çıkar ve dokulara yayılır. Buna ilk ısı kaybı denir (1. ekzoterm). Bu ilk soğuma sırasında açığa çıkan ısı doku sıcaklığını -2 veya -8 $^{o}$C' den -0.3 veya -1.0 $^{o}$C' ye kadar artırabilir.

b) Sıcaklığın düşmeye devam ettiği durumlarda apoplasttaki suyun tamamı donar ve hücre içinde bulunan protoplazmaya bağlı olarak su basınç farkı nedeniyle hücre dışına çıkarak buradaki buz kristalleri ile birleşmeye ve donmaya başlar. Doku sıcaklığının azalmasıyla ikinci ısı kaybı oluşur (2. ekzoterm) ve hücre içindeki su hücre dışına çıkmaya ve buz kristaline dönüşmeye devam eder.

c) Suyun devamlı hücre dışına çıkması sonucu protoplazma büzülür. Sıcaklık azaldıkça hücre içindeki su hücre dışına yavaş yavaş taşınır ve buz kristallerine dönüşmeye devam eder. Açığa çıkan ısıdaki azalma suyun hücre dışına taşınmasının buz oluşumunun durduğunu gösterir. Bu evrede üçüncü ısı kaybı görülür (3. ekzoterm). Protoplazma tane (granül) şeklini alır ve ölüm gerçekleşir.

Hücre zarının parçalanması ve seçici geçirgenliğini kaybetmesi don zararının ilk belirtisidir. Bitki hücresindeki seçici geçirgenliğin azalması sonucu bitki dokularındaki su dışarı çıkmakta ve buz kristalleri oluşmaktadır. Bu olay sonucu hücrede susuzluk durumu ortaya çıkmaktadır (Yazıcı ve ark., 2001).

Don zararı, düşük sıcaklığın etkisiyle bitkilerin ölümüne sebep olabilmektedir. Genel olarak don zararı bitkilerde iki şekilde ortaya çıkmaktadır: hücre içi ve hücre arası donması. Hücre içi donmasında sitoplazmanın iç kısmı donar ve bu birçok bitkinin ölümüne sebep olur. Hücre arası donma olayına ise doğada sık sık karşılaşılır, çünkü apoplasttaki sıvı sitoplazma sıvısından daha az yoğundur ve donma noktası yüksektir.

Bitkiler düşük sıcaklığa maruz bırakıldığında ilk olarak apoplasttaki sıvı donmaktadır (Xin, 2002).

Genel olarak bitkiler düşük sıcaklıklardan kaynaklanan don zararından oldukça zarar görürler. Bu zararlar şöyle sıralanabilir (Baraz, 2002):

-Kışın sıcaklık dalgalanmalarından meydana gelen güneş yanıklıkları,

-Ağaç gövdelerinde dondan ileri gelen çatlamalar,

-Büyüme mevsimi içinde meydana gelen donların oluşturduğu don halkası (bu halka dondan ölen ksilem ana hücreleri ve diğer farklılaşmış kambiyum hücrelerinin iç kısımlarıyla dondan sonra meydana gelen anormal ksilem hücrelerinin dış kısımlarından oluşur),

-Gövdenin odun kısmının siyahlaşması,

-Köklerin dondan zararlanması,

-Kışın meydana gelen tomurcuk ölümleri,

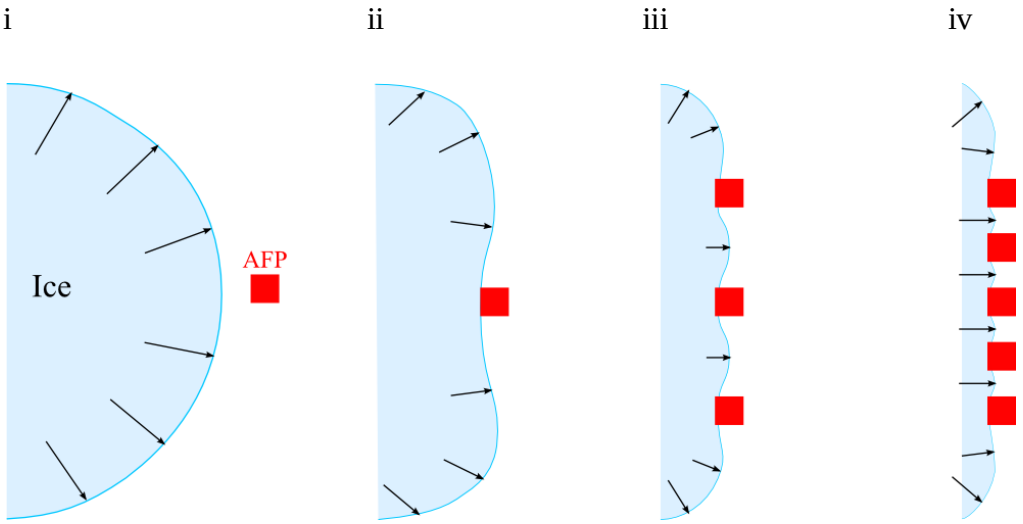
-Çilek benzeri bitkilerde meydana gelen kök boğazı ölümü,

-İlkbahar ve sonbaharda çiçek, meyve ve sürgünlerin zararlanmaları.

## 2.1. Antifriz Proteinleri İle İlgili Çalışmalar

Tahıllar gibi düşük sıcaklığa dayanıklı bitkiler, hücrelerinde buz oluşumunu ve gelişimini engellemelerinde hücre duvarlarındaki bazı polisakkaritleri (Olien and Smith, 1981) üretmelerinin yanında antifriz proteinlerini (AFP) sentezlerler (Griffith ve Antikienen, 1996). Antifriz proteinler (AFP) buz yüzeyine bağlanabilme, buz kristallerinin büyümelerini ve yeniden kristallenmelerini (rekristalizasyon) kontrol edebilme yeteneğine sahip proteinlerdir (Griffith and Ewart, 1995). Antifriz proteinler ilk olarak Antartika balıklarının (Notohenioides) kan plazmalarında De Vries ve arkadaşları tarafından bulunmuştur (Fletcher ve ark., 2001). Bu proteinler böcek ve soğuk iklimlerde yaşayabilen balıklarda doğal olarak bulunabilmektedir.

Antifriz proteinlerinin buz kristallerine karşı ilgilerinin olması bunların diğer proteinler arasında özel kılmaktadır. AFP' ler buzu adsorbe etmekte ve protein molekülleri arasındaki bölgede buz gelişimini sınırlandırmaktadır (Raymond ve DeVries, 1977). Bu bölgede termodinamik olarak su moleküllerinin buz kafeslerine eklenmesini engellemektedir (Wilson, 1993). AFP' ler birçok balık türünde belirlenmiş ve beş farklı sınıfta gruplandırılmıştır (AFP tip I, II, III ve IV ve AFGP).




**Şekil 1.** Buz kristallerini adsorbe edip gelişimini engelleme modeli. i-iv basamakları arasında AFP' lerin buz gelişimini engelleme mekanizmasını göstermektedir. Oklar gelişmekte olan buzun ön yüzeyini göstermektedir. (i) AFP bağlanmadan önce buz bir disk gibi gelişir. (ii) Buz gelişimi AFP' nin bağlandığı bölgede yavaşlar. (iii) AFP moleküllerinin buz yüzeyine eklenmesi ile buzun AFP molekülleri arasında gelişimi zorlanır ve buz yüzeyinin gelişmesi engellenir. (iv) Buz yüzeyi AFP molekülleri arasında sabit kalır (Yıldırım, 2008).

Buz gelişimini ve yeniden kristallenmeyi engelleyici olan AFP' ler gıda endüstrisi, krayoprotektan (soğuktan koruyucu) gibi birçok alanda kullanılmaktadır. AFP' ler gıdaları donmadan muhafaza ederek kalite ve tekstürlerini korumada oldukça önemlidir (Yıldırım, 2008).

Gelişmiş bitkilerdeki bütün AFP' ler soğuk ile teşvik edilen proteinlerdir. Gelişmiş bitkiler sonbahar ve kış aylarında antifriz aktivitesi gösterirken yazın göstermemektedir (Urrutia ve ark., 1992). Zayıf antifriz aktivitesi soğuk olmayan şartlarda da belirlenebilirken, antifriz aktivite seviyesinin soğuk şartlarda arttığı görülmüştür. Griffith ve arkadaşları (Antikainen ve Griffith, 1997, Griffith ve ark., 1992) birçok bitkideki AFP' lerin soğuk dönemde arttığını göstermiştir.

Antifriz proteinleri buz kristallerinin yüzeylerine tutunmaları ve su moleküllerinin buz kristallerine bağlanmalarını engellemeleri nedeniyle özel proteinlerdir (Yeh ve Feeney 1996). AFP ile buz kristalleri arasındaki etkileşim buz gelişimi açısından oldukça önemlidir. Antifriz proteinlerinin milimolar konsantrasyonları bile buz gelişimini engelleyebilmekte ve donma noktasını düşürebilmektedir (DeVries, 1986). Bununla birlikte, antifriz proteinleri buzun yeniden

kristallenmesini engelleyerek küçük buz kristallerinde büyük kristaller oluşumunu önlemektedir (Knight ve ark., 1984). Düşük konsantrasyonlarda (nM) bile buzun yeniden kristallenmesinin engellenmesi soğuğa toleranslı organizmalarda AFP' lerin soğuğa dayanıklılık sağlamaktaki bir kanıtı olabilmektedir (Knight ve Duman, 1986). Ayrıca antifriz proteinleri, buz çekirdeklenme aktivitesini artıran veya engelleyen buz nükleatörleri ile de etkileşime girebilme yeteneğine sahiptir (Parody-Morreale ve ark., 1988; Zamecnik ve Janacek, 1992; Duman ve ark., 1993).

Antifriz proteinlerinin doğrudan bitki ve hayvanlara enjekte edilmesi donma özelliklerini etkilemektedir. Fletcher, 1986' da alabalığa doğrudan AFP tip I' in enjekte edilmesi ile balığın donma ölüm sıcaklığının düştüğünü tespit etmiştir. Bitkilerde de böyle bir uygulamayla olumlu sonuçlar alınmıştır. *Arabidopsis thaliana* ve kanola bitkilerinin yapraklarına, soğuk koşullarda yaşayan dil balığından elde edilen 1 mg/ml konsantrasyonunda AFP tip I ile vakum-infiltrasyonuna tabi tutulduklarında buz oluşma eşiği kanola için 1,8$^{o}$C, *Arabidopsis thaliana* için 4$^{o}$C düşmüştür. Fakat patates (*Solanum tuberosum*) yaprağına vakum-infiltrasyonu ile AFP eklendiğinde buz oluşma eşiğinin -7,2 $^{o}$C' den -0,8$^{o}$C' ye yükseldiği bulunmuştur. Sonuç olarak AFP' lerin aynı yolla ilavesi tüm bitkilerde aynı etkiyi göstermemektedir (Cutler ve ark., 1989).

Kışlık çavdar bitkisinin yaprakları apoplastlarında bazı proteinleri biriktirerek düşük sıcaklıklara uyum sağlayabilmektedir (Griffith ve ark., 1992; Marentes ve ark., 1993). Marentes ve ark. (1993) soğuk stresinin bitkilerdeki proteinlerle ilişkisini belirlemek üzere yaptığı bir çalışmada 15-32 kDa arasında birçok polipeptidin 5 $^{o}$C' de iken bitkilerde biriktiğini, sıcaklık 20 $^{o}$C' ye yükseltildiğinde ise bu polipeptidlerin azaldığını bulmuşlardır. İki aylık bir soğuk şartlara uyum sürecinden sonra bitkiler maksimum derecede soğuğa toleranslı hale gelmiş ve çavdar bitkisinin 1 gramlık taze yaprak ağırlığında 0.3 mg apoplastik protein bulunmuştur.

Lahana ve buğdayda soğuk zararı üzerine yapılan bir çalışmada her iki bitki türü belirli sürelerle soğuğa maruz bırakılarak bitkilerin soğuğa adaptasyonu sağlanmış ve her iki bitki türünden antifriz etkisi gösteren apoplastik proteinler izole edilerek buz çekirdeği oluşturma aktiviteleri incelenmiştir. Lahanada buz çekirdeği oluşması soğuğa uyum sağlayan bitkilerde -4 $^{o}$C' den -6 $^{o}$C' ye düşerken kışlık buğdayda -6 $^{o}$C' den -11 $^{o}$C' ye düştüğü belirlenmiştir (Atıcı ve Nalbantoğlu, 1999b).

Patojenlere karşı dayanıklılık sağlayan proteinler grubunda yer alan endokitinaz, endo-1,3-glukanaz ve taumatin benzer proteinlerin aynı zamanda bitkileri dona karşı koruduğu ve antifriz protein aktivitesi gösterdiği bildirilmiş ve bu proteinler kışlık

çavdar, Yaban Yasemini (*Solanum dulcamara*) ve havuçtan izole edilmiştir. Patojenler tarafından indüklenen apoplastik endokitinaz ve endo-1,3-kitinazın antifriz aktivitesi özelliği göstermediği belirlenmiştir (Hon ve ark., 1995; Huang ve Duman, 2001).

Kışlık çavdarın soğuk şartlar altında ürettiği antifriz proteinler ile antifungal, hidrolitik aktivite ve buz kristallerine bağlanma aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir (Hon ve ark., 1995; Hiilovaara-Teijo ve ark., 1999).

Antikainen ve Griffith (1997) tahılların soğuk koşullarda antifriz proteinleri biriktirmesi üzerine yaptığı bir çalışmada, bazı tekçenekli (çavdar, buğday, arpa, yulaf, mısır) ve çiftçenekli (ıspanak, kanola, tütün) bitkilerden soğuk şartlarda elde edilen yaprak apoplastik proteinlerin antifriz etkilerini değerlendirmişlerdir. Apoplastik proteinler SDS-PAGE yöntemi ile ayrılmış ve patojenlere karşı üretilen proteinlere benzerlikleri immunoblot yöntemiyle belirlenmiştir. Sonuçlar antifriz aktivitesinin monokotiledonların apoplastik bölgesinde bulunduğunu göstermiş ve çavdar, buğday, arpa bitkilerinin biriktirdiği antifriz proteinlerinin patojenlere karşı üretilen proteinlerle benzerlik gösterdiğini belirtmiştir.

İmmünolokalizasyon yöntemi ile antifriz proteinlerin epidermis ve mezofil hücrelerine ilişkin olduğu ve soğuğa maruz bırakılmış kışlık çavdar bitkilerindeki hücre aralarında yer aldığı bildirilmiştir (Antikainen ve ark., 1996). Ayrıca yaprak yüzeyinin buz oluşumunun gerçekleştiği bölgelerde ve mezofil hücrelerinin hücre arası boşluklarında AFP' lerin hücrelerin donmasını engellediği tespit edilmiştir (Pearce, 1988; Pearce ve Ashworth, 1992; Antikainen ve ark., 1996).

Düşük sıcaklığın uyarmasıyla soğuğa dayanıklılık sağladığı düşünülen patojene ilişkin proteinlerin ve bu proteinleri kodlayan genlerin arpa bitkisinde (Tronsmo ve ark., 1993), Bermuda Çimi'nde (Gatschet ve ark., 1996) ve patates bitkisinde (Zhu ve ark., 1993) biriktiği tespit edilmiştir.

Antifriz aktivitesi gösteren kışlık bitkilerin bitki özsuları incelendiğinde 21 çift çenekli ve 9 tek çenekli bitkide bu aktivitenin varlığı tespit edilmiştir (Griffith ve ark., 1992; Urritia ve ark., 1992; Duman ve ark., 1993; Griffith ve Ewart, 1995). Ayrıca AFP köpek üzümü bitkisinden de izole edilmiştir ve bu türün antifriz proteininin büyük bir glikoprotein (67 kDa) olduğu ve glisince zengin olduğu tespit edilmiştir (Duman, 1994).

Griffith ve ark. (1992) buğdayda yaptığı başka bir çalışmada, kışlık çavdar bitkisinin antifriz proteini ürettiğini bildirmişlerdir. Kışlık çavdar bitkisinin apoplastından elde ettiği proteini saflaştırmış ve buz kristalleri gelişimini engellediği ve

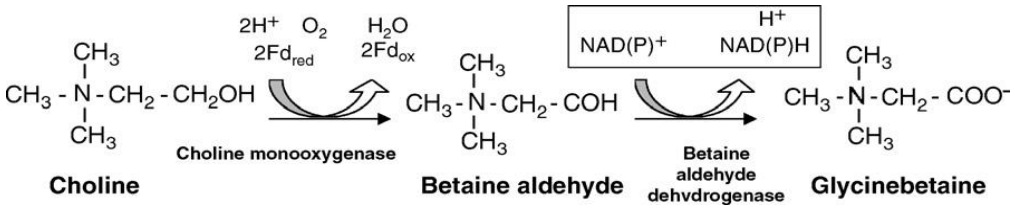
suyun donma derecesini düşürdüğü için bu proteinin antifriz proteini olduğunu belirlemişlerdir.

Gıda üzerine yapılan bir çalışmada, dondurma üretiminden önce oluşturulan ön karışıma kütlesel konsantrasyonu toplam dondurma karışımının % 0,01' i olan AFP tip III eklenerek üretim yapılmıştır. -4,5$^{o}$C' de üretilen dondurma örnekleri -35$^{o}$C' de dondurulmuş ve -80$^{o}$C' de depolanmıştır. İki aylık depolamadan sonra AFP tip III eklenerek üretilen dondurma örneklerinin kompozisyonunun tekstürel özelliklerinin kontrol örneği ile kıyas edildiğinde daha iyi olduğu belirtilmiştir (Anonim, 2008).

## 2.2. Glisin Betain İle İlgili Çalışmalar

Soğuğa karşı dayanıklılıkta glisin betain (GB) oldukça önemli rol oynamaktadır. Birçok bitki düşük sıcaklıklarda soğuğa karşı koruma özelliği gösteren düşük moleküler ağırlıklı bileşikleri biriktirirler (Guy, 1990; Rajashekar, 2000) ve glisin betain böyle bileşiklerden birisidir (Dorffling et al, 1990; Koster ve Lynch, 1992; Stushnoff ve ark., 1997). Bu molekül bir aminoasit türevi olup birçok bitkide sentezlenmektedir, fakat patates, domates gibi bazı önemli türlerde biriktirilememektedir (Makela ve ark., 1998). Glisin betain birçok abiyotik strese karşı tepki olarak sentezlenen (Allard ve ark., 1998; Nomura ve ark., 1995) ve fizyolojik pH olarak nötr ve ayrıca dipolar olan bir betaindir. Glisin betainin bitkilerdeki birikimi ile stres koşullarına artan tolerans arasında bir korelasyon vardır (Rhodes ve Hanson, 1993). Bu molekülün dışarıdan uygulanması stres altında birçok bitkinin hayatta kalmasını sağlamakta ve hatta bitki gelişmesini artırabilmektedir (Allard ve ark., 1998; Makela ve ark., 1998; Jokinen ve ark., 1999; Makela ve ark., 1999; Chen ve ark., 2000). *Arabidopsis* ve *Synechoccus*' da yapılan bir çalışmada betain sentezini içeren bakteriyel *cod A* geninin ifade olmasıyla bu bitkilerin düşük sıcaklığa toleransın arttığı belirlenmiştir (Hayashi ve ark., 1997; Deshnium ve ark., 1997).

Glisin betain çoğunlukla kloroplastta bulunmakta ve tilakoid membranı koruyup fotosentetik etkinliği sağlayarak bitkilerin birçok stres faktörüne karşı korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (Robinson ve Jones, 1986; Genard ve ark., 1991). Gelişmiş bitkilerde GB kloroplast organelinde etanolamin, kolin ve betain aldehid aracılığı ile serin amino asidinden sentezlenmektedir (Hanson ve Scott, 1980; Rhodes ve Hanson, 1993). Kolin, kolin monooksigenaz (CMO) ile betain aldehide ve ardından betain aldehid dehidrogenaz (BADH) ile glisin betaine dönüştürülmektedir (Şekil 1.1).




**Şekil 1.1.** Gelişmiş bitkilerde glisin betainin biyosentezi (Ashraf and Foolad, 2005).

Birçok bitkide GB' in doğal olarak birikmesi çeşitli stresler sonucu ortaya çıkan zararlı etkileri ortadan kaldırmada etkili olamamaktadır (Wyn Jones ve Storey, 1981; Yancey, 1994; Subbarao ve ark., 2001). GB' in dışarıdan uygulanması ile bu zararlı etkiler azaltılabilmektedir (Agboma ve ark., 1997 a,b,c; Makela ve ark., 1998; Yang ve Lu, 2005). Dışarıdan uygulanan GB yaprağın içine sızıp diğer organlara taşınabilmekte ve streslere karşı tolerans sağlayabilmektedir (Makela ve ark., 1998). GB' inin yaprağın içine sızma etkinliği kinetik, lus-50 ve sito+ gibi yüzey tutucular ile artırılabilmektedir (Subbarao ve ark., 2001).

Glisin betainin (GB) bitkilerde soğuğa toleransı artırmasını belirlemek amacıyla *Arabidopsis thaliana* bitkisinde yapılan bir çalışmada; soğuk stresi, su stresi ve dışarıdan absisik asit (ABA) uygulamaları sonucunda yapraklarda biriken GB miktarı belirlenmiştir. ABA (1 mM) uygulaması ile GB miktarı oldukça artmıştır. Ayrıca çilek bitkisinin yapraklarına 10 mM GB uygulandığında soğuğa toleransın -3.1$^{o}$C' den -4.5 $^{o}$C' ye yükseldiği bildirilmiştir. Bunların yanında su stresine maruz bırakılan çilek bitkilerinde GB miktarı kontrol bitkilerine kıyasla 18 kat artmış ve bu da soğuğa toleransta büyük bir artış sağlamıştır (Xing ve Rajashekar, 2001).

Glisin betain üzerine yapılan başka bir çalışmada, ıspanak bitkileri 3 saat boyunca -20 $^{o}$C' de bekletilmiş ve birçok fotosentetik parametre incelenmiştir. 100 mM glisin betain bulunduğunda soğuğa dayanıklılık en etkin düzeyde olmuş, bu konsantrasyonu geçtiği takdirde etkinlik de azalmıştır. Sonuç olarak glisin betainin tilakoidleri soğuk stresine karşı koruduğu belirtilmiştir (Coughlan ve Heber, 1982). Ayrıca buğday (Naidu ve ark., 1991; Allard ve ark., 1998), arpa (Kishitani ve ark., 1994) ve çilek (Rajashekar ve ark., 1999) bitkilerinde düşük sıcaklıklara tepki olarak glisin betainin biriktirildiği tespit edilmiştir.

Rajashekar ve ark. (1999) soğuk koşullara maruz bırakılan çilek bitkisinde glisin betain tespiti üzerine yaptığı bir çalışmada, soğuğa uyum sağlayan çilek bitkilerinde dört hafta sonra glisin betain miktarının yaklaşık dört kat arttığı ve çilek yapraklarının -

5.8$^{o}$C' den -17$^{o}$C' ye kadar soğuğa dayandığını bildirmişlerdir. Ayrıca dışarıdan absisik asit (100 µM) uygulaması ile bitkilerde GB birikimi arttığı tespit edilmiştir. Dışarıdan glisin betainin (2 mM) uygulanması ile, uygulamadan 72 saat sonra bitkilerde soğuğa toleransın iki kat arttığı belirlenmiştir.

Domates bitkisinin yapraklarına glisin betainin sprey şeklinde uygulanması ile glisin betain yapraklardan alınıp çeşitli organlara taşınmış ve en fazla olarak meristematik dokularda, sürgün ucunda ve çiçek tomurcuklarında belirlenmiştir. Yapraktaki glisin betainin yüksek miktarı sitozolde, % 0.6-22.00' si ise kloroplastta bulunmuştur. GB uygulaması domates bitkisinde soğuk zararının neden olduğu $H_2O_2$' yi önemli derecede azaltmıştır (Park ve ark., 2006) ve bu da soğuğa dayanıklılığın bir göstergesidir.

Domates bitkisi üzerine yapılan başka bir çalışmada, tuz stresi uygulanan domates bitkisinin yapraklarına farklı dozlarda glisin betain püskürtülmesiyle bitkinin tuz stresine dayanaklı hale geldiği ve verimin oldukça arttığı belirlenmiştir (Makela ve ark., 1998).

Buğday bitkisinin soğuk koşullarda plazma membranının korunması üzerine yapılan bir çalışmada yabani tip kışlık buğdaylarda *BADH* geninin ifade olmasıyla, bu genin ifade olmayan kontrol bitkilerine kıyasla bitki hücrelerinde daha fazla glisin betain biriktiği, daha iyi membran bütünlüğü ve daha fazla plazma membran $H^+$-ATPase aktivitesi sağlandığı tespit edilmiştir (Zhang ve ark., 2010).

Allard ve ark. (1998)' nın buğday bitkisinde soğuğa dayanıklılık üzerine yaptığı bir çalışmada buğday bitkisine 250 mM betain püskürtülmesiyle $LT_{50}$ (lethal temperature) değerinin -8 ve -9 $^{o}$C' den -14 ve -22 $^{o}$C' ye kadar düştüğü belirtilmiştir.

Soğuk stresinin buğday bitkisinde amino asitler ve glisin betaindeki meydana gelen değişimlerin incelenmesi üzerine yapılan bir çalışmada, bitkiler 4 $^{o}$C' de soğuğa maruz bırakılmış ve NMR ve HPLC kullanılarak birçok biyokimyasal madde miktar yönünden incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda glutamin, prolin, alanin gibi birçok amino asidin yanında glisin betain de oldukça artış göstermiştir (Naidu ve ark., 1991).

### 2.3. Diğer Kimyasallar İle İlgili Çalışmalar

Soğuğa dayanıklılık üzerine *in vivo*' da yapılan bazı çalışmalarda düşük sıcaklıkla protein sentezinin hem nitel hem de nicel olarak değiştiği tespit edilmiştir (Guy ve Haskell, 1987; Guy ve ark., 1985; Meza-Basso ve ark., 1986). Guy ve ark.

(1988) soğuk stresine dayanıklılık ile proteinler arasındaki ilişkiyi incelemek üzere turunçgillerde yaptığı bir çalışmada, 5$^{o}$C' lik sıcaklığa bitkileri alıştırmadan bir hafta önce ve sonra yaprak dokusunu incelemişlerdir. Turunçgil yaprak örneklerinde proteinler 2-boyutlu jel elektroforezi ve gümüş boyama yapılarak çalışılmıştır. Soğuğa dayanıklı hale gelen turunçgillerde sentezlenen bir polipeptidin ($M_r$ 160,000) soğuğa dayanıklı hale gelmeyen turunçgillerde sentezlenmediği görülmüştür.

Soğuğa aklimize edilen ıspanak (*Spinacia oleracea* L. cv Bloomsdale) bitkisinde protein değişimi izlenmek üzere yapılan bir çalışmada tohumların ekiminden 3 hafta sonrasında fideler 5 $^{o}$C' ye alıştırılmış ve ardından bazı parametreler incelenmiştir. Soğuğa aklimizasyondan 1 gün sonra soğuğa toleransın arttığı ve maksimum 7 gün sürdüğü tespit edimiştir. Sıcaklık 25 $^{o}$C' ye çıkarıldığında soğuğa tolerans 1 gün içinde oldukça azalmıştır. Yaprak proteinleri 0, 1, 2, 3, 4, 7 ve 14 günlük soğuk aklimizasyonundan sonra ve aklimizasyondan çıkarılmış (25 $^{o}$C' deki) bitkiler de 1, 3 ve 7 gün sonra radyo-etiket ile etiketlenmiştir. 500 adet etiketli protein 2-boyutlu jel elektroforezinde ayrılıp flörografi ile görsellendirilmiştir. Proteinlerin değişimi izlendiğinde soğuğa aklimize olmuş yapraklarda 22 polipeptidin bulunduğu ve CAP ($M_r$ 160,000, 117,000 ve 85,000) proteinlerinin sentezinin arttığı tespit edilmiştir. Böylece düşük sıcaklığın etkisiyle CAP 160, 117 ve 85 proteinlerinin sentezinin ilişkili olduğu bildirilmiştir (Guy ve Haskell, 1987).

Şaperon proteinlerin bitkilerde soğuğa dayanıklılığı üzerine yapılan bir çalışmada, soğuğa maruz bırakılan ıspanak bitkilerinde iki monoklonal antikor kulanılarak immüno-çökelme yöntemi ile iki şaperon proteinin varlığı tespit edimiştir. İmmüno-çökelme analizi sonucunda düşük sıcaklığın iki şaperonun yanında bazı proteinlerin de sentezini artırdığı belirlenmiştir (Guy ve ark., 1998).

Soğuğa dayanıklılık konusunda absisik asit (ABA) de büyük bir önem arz etmektedir. Chen ve ark. (1983) soğuk şartlarda *Solanum commersonii* ve patates (*Solanum tuberosum*) bitkilerinde ABA' nın arttığını bildirmişlerdir. Ayrıca dışarıdan ABA uygulaması soğuğa karşı tolerans artırdığı bildirilmiştir (Thomashow, 1999).

Salisilik asidin (SA) bitkilerde soğuğa dayanıklılık üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, hidroponik sistemde yetiştiriciliği yapılan mısır bitkilerine 0.5 mM SA köklere verildikten sonra bitkiler düşük sıcaklığa maruz bırakılmıştır. Yapılan incelemeler sonucunda askorbat peroksidaz ve süperoksit dizmutaz aktivitesinde bir değişiklik olmazken katalaz aktivitesinde azalış ve guyakol peroksidaz ve glutatyon redüktaz aktivitesinde artış meydana gelmiştir. Ayrıca doğal

poliakrilamid jel yöntemi enzim aktivitesi bakıldığında SA uygulanmış bitkilerde kontrol grubuna göre farklı peroksidaz bantların olduğu görülmüştür. Sonuç olarak SA' in antioksidan enzimleri indükleyerek soğuğa toleransı arttırdığı bildirilmiştir (Janda ve ark., 1999).

Salisilik asidin soğuk koşullarda asma bitkilerine uygulanması sonucu tiobarbitürikasit-reaktif substüratı ve iyon sızıntısı azalmıştır. Ayrıca askorbat peroksidaz, glutatyon redüktaz ve monodehidroaskorbat aktivitelerini artırarak soğuğa karşı tolerans sağlamıştır (Wang ve Li, 2006).

Bitkilerin soğuğa dayanıklılığında kalsiyum sinyal/mesajcı olarak büyük bir rol almaktadır (Knight ve ark., 1996; Monroy ve Dhindsa, 1995; Monroy ve ark., 1993;). *Arabidopsis* (Knight ve ark., 1996; Polisensky ve Braam, 1996) ve yonca (Monroy ve Dhindsa, 1995) bitkilerinde düşük sıcaklığa tepki olarak hücre dışındaki kalsiyumun hücre içine alınması ile sitoplazmik kalsiyum seviyesi hızlı bir şekilde artmıştır.

LEA protein grubundan olan dehidrinler de soğuk koşullara tolerans sağlamada büyük önem taşımaktadır. Birçok in vitro çalışma bunu desteklemektedir. Dehidrinlerin krayoprotektif olduğu turunçgillerde (Hara ve ark., 2001) ve ıspanakta (Kazuoka ve Oeda, 1994) tespit edilmiştir. Huş ağacı dehidrini, polietilen glikolde α-amilaz aktivitesini arttırmıştır (Rinne ve ark., 1999). Dehidrinlerin bitkilerde düşük sıcaklığa tolerans üzerine yapılan başka bir çalışmada, turunçgil dehidrin geni aktarılıp soğuk strese maruz bırakılan tütün bitkilerinde dehidrin yüksek miktarda ifade edilmiştir (Hara ve ark., 2003).

Büyümeyi düzenleyici maddeler de bitkilerin dona karşı dayanıklılığında önemli bir rol oynamaktadır. Dinlenmenin başlamasıyla bitkilerdeki absisik asit (ABA) seviyesi artmaktadır. Büyümeyi teşvik ediciler olan gibberellinler, sitokininler ve oksinlerin miktarı azalmaktadır. İlkbahar döneminde ise enzimsel aktivite ile birlikte giberellin, sitokinin, ribonükleik asit ve solunum miktarı artmaktadır (Westwood, 1978; Childers ve ark., 1995). Bitki büyüme düzenleyicilerinin düşük sıcaklıkta iki rol üstlendiği görülmektedir: Birincisi; ağaçta meydana gelecek zararı mümkün oldukça minimuma indirmek, diğeri ise dayanıklılık mekanizmasını başlatmaktır (Nagar, 1995).

Soğuğa dirençli bitkilerde salisilik asidin apoplastik proteinleri etkileyerek bu bitkilerin soğuk stresine karşı korunmasında rol aldığı gösterilmiştir (Taşğın ve ark., 2006).

Dona toleranslı bitkilere ilişkin son zamanlarda yapılan çalışmalar, apoplastik sıvıların bazı önemli fizyokimyasal özelliklerinin bitkilerin buz oluşumu üzerindeki

etkileri anlamamıza yardımcı olduğunu göstermektedir (Griffith ve ark., 1997; Hoshino ve ark., 1999; Ewart ve ark., 1999; Yu ve Griffith, 2001). Soğuğa dayanıklı olan ve olmayan bitkiler arasındaki protein farklılıkları birçok bitkide belirlenmiştir (Cloutier, 1983; Griffith ve ark., 1997; Hoshino ve ark., 1999; Ewart ve ark., 1999; Atıcı and Nalbantoğlu; 1999 a,b; Yu ve Griffith, 2001). Kışlık bitkiler dona karşı tolerans sağlamak için belli bir zamana ihtiyaç duyarlar. Bu süreç, düşük sıcaklıkta sentezi artan bazı proteinlerin birikimini sağlar. Bu proteinlerin bazıları hücre içinde, dehidrinler, karbonhidrat metabolizmasına ilişkin proteinler, 14-3-3 proteinleri, kinaz regülatörleri ve krayoprotek proteinlerdir (Jarillo ve ark., 1994; Close, 1997; Wisniewski et al; 1999). Krayoprotek proteinlerinin karakteristikleri donma-erime sürecinde hücre içi proteinlerini ve membranını korumasıdır (Anchordoguy ve ark., 1987). Bir krayoprotek protein olan β-1,3-glukanaz' ın donma-erime zararına karşı olarak tilakoidleri koruduğu bildirilmiştir (Hincha ve ark., 1997). Bunlara ilaveten, soğuk koşullarda 3 tip protein hücre dışında birikmektedir. Bunlar, hücre duvarını modifiye eden proteinler (Showalter, 1993), bitki hastalıklarına karşı koruyucu bir protein olan patojene ilişkin proteinler (Hiilovaara-Teijo ve ark., 1999) ve buz ile etkileşime geçen antifriz proteinleridir (Griffith ve ark., 1992, 1997; Hoshino ve ark., 1999; Ewart ve ark., 1999; Yu ve Griffith, 2001).

# 3. MATERYAL VE YÖNTEM

## 3.1. Materyal

Araştırma 2013 yılında Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait serada ve soğuk hava deposunda yürütülmüştür. Çalışmada Kabarla ve Sweet Ann çilek çeşitleri kullanılmıştır. Antifriz proteini olarak AFP tip III, A/F Protein Canada Inc. firmasından ve glisin betain Sigma firmasında temin edilmiştir.

### 3.1.1. Araştırmada Kullanılan Çilek Çeşitlerinin Özellikleri

**Kabarla:** Kabarla iri, sert, tatlı ve parlak kırmızı meyvelere sahip olan bir nötr gün çilek çeşididir. Sahil bölgelerindeki verimi daha fazladır. Yayla bölgelerinde yaz boyunca meyve vermeye devam eder (Anonim, 2013b).

**Sweet Ann:** Nötr gün çeşidi olan Sweet Ann çilek çeşidi yayla ve geçit bölgelerde yaz boyunca meyve verir. Yuvarlak konik şekilli, iri, sert ve parlak kırmızı meyvelere sahiptir (Anonim, 2013c).

## 3.2. Yöntem

Frigo çilek fideleri 23 Ocak 2013 tarihinde serada 4:3:1 torf:toprak:perlit karışımı doldurulmuş 7 litrelik saksılara dikilmiş ve bitkilerin bakım işleri genel yetiştiricilik prensibine göre yapılmıştır. Uygulamalar tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak planlanmış ve her tekerrürde 3 çilek fidesi kullanılmıştır. Çilek bitkilerine meyve tutumu döneminde tip III antifriz proteini ve glisin betain tek ve kombinasyon şeklinde uygulanmıştır. Bitkilere aşağıdaki uygulamalar yapılmıştır.

1. Kontrol
2. 10.000 ppm glisin betain
3. 50 ppm AFP tip III
4. 100 ppm AFP tip III
5. 150 ppm AFP tip III
6. 50 ppm AFP tip III + 10.000 ppm glisin betain
7. 100 ppm AFP tip III + 10.000 ppm glisin betain
8. 150 ppm AFP tip III + 10.000 ppm glisin betain

Antifriz proteini ve glisin betain uygulamalarından sonra bitkiler saksılarla birlikte soğuk hava deposuna alınmış ve depodaki sıcaklık dereceleri 15 $^{o}$C'den başlayarak kademeli olarak 12, 9, 6, 3, 0, -1, -2 ve -2.3 $^{o}$C' ye birer saat bekletilecek şekilde düşürülmüş ve -2.3 $^{o}$C' de 2 saat bekletilmiştir. Bu işlemlerin ardından bitkilerin bulunduğu deponun sıcaklığı aynı şekilde kademeli olarak 15 $^{o}$C' ye artırıldıktan sonra bitkiler seraya taşınmış ve bitkiler aşağıda belirtilen parametrelerce incelenmiştir.

### 3.2.1. Membran geçirgenliği tayini

Her biri 1 cm$^2$ büyüklüğünde 3 yaprak diski alınmış ve cam tüpler içinde 3 kez deiyonize sudan geçirilmiştir. Bu işlemin ardından 10 ml su ekleyip kapalı viyallerde 24 saat 25$^{o}$C' de çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Hemen ardından EC ($C_1$) ölçülmüş, aynı örnekler 20 dakika 120 $^{o}$C'de otoklavda bekledikten sonra 25 $^{o}$C'de yine EC ölçümü yapılmıştır ($C_2$). Membran geçirgenliği aşağıdaki formülle belirlenmiştir (Lutts ve ark., 1996).

Memran geçirgenliği= $C_1/C_2$ X 100

### 3.2.2. Göreceli Yaprak Klorofil Miktarı

SPAD-klorofilmetre cihazı ile ölçülmüştür. Bu cihaz, relatif klorofil yoğunluğunu yaprak dokusundaki kırmızı ve infrared bölgeleri (sırasıyla 659 nm ve 940 nm dalga boyunda) ölçüm yaparak belirlemektedir (Gargın, 2011).

### 3.2.3. Prolin miktarı tayini

Prolin tayini spektrofotometrik olarak asit-ninhidrin metoduyla belirlenmiştir (Bates ve ark, 1973). Bu işlem için saf prolin kullanılarak standart bir grafik çizilmiştir.1 ml'sinde 200 µg prolin içeren stok çözeltiden tüplere 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0

1.2, 1.4, 1.6, 1.8 ve 2.0 ml alınarak her tüpün üzeri saf su ile 2 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra tüplere 2 ml glasiyal asetik asit ve 2 ml asit-ninhidrin çözeltisi ilave edilmiştir. Bu örnekler hemen 100 $^{o}$C'ye ayarlı bir etüve alınmışlardır. 1 saat sonra, buz banyosunda 10 dk. tutularak reaksiyon durdurulmuştur. Her tüpe 4 ml toluen ilave edilip, bir vorteksle 20-30 sn iyice karıştırılmıştır. Sonra her tüpte üstte kalan faz bir otomatik pipetle alınarak 520 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Kör numune için toluen kullanılmıştır. Bu değerler kullanılarak standart grafik çizilmiştir. Yapraklarda prolin tayini için ise 0,1g doku 10 ml % 3'lük sülfosalisilik asit içinde bir porselen havanda homojenize edilmiştir. Homojenat Whatman–42 filtre kâğıdıyla analitik bir huniden süzülmüştür. Süzüntüden 2 ml alınarak yukarıda standart grafik için anlatılan işlemlerden geçirilmiştir. Daha sonra elde edilen $A_{520}$ değerleri standart grafik üzerinden µg prolin olarak belirlenmiştir. Bu değerler aşağıdaki formülde yerine konulup µ molar / g taze yaprak prolin cinsinden hesaplanmıştır.

µM prolin / g taze yaprak = ((µg prolin/ ml x ml toluen) / (115,5 µg / mM)) / (g doku/5)

### 3.2.4. Kantitatif protein tayini

Çözünebilir protein miktarı, spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir (Bradford, 1976). Bitki dokuları, ağırlıklarının 10 misli 0,05 M soğuk fosfat tampon çözeltisinde (pH=6,5) bir havanda ezilerek homojenize edilmiştir. Homojenat, 4 katlı bir tülbent bezden süzüldükten sonra, süzüntü 4500xg dönüş hızında 20 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Tüplerin süpernatantı alınarak protein tayininde kullanılmıştır. Kantitatif belirleme için gerekli standart grafik aşağıdaki gibi hazırlanmıştır. 1 ml'sinde 1 mg protein içeren standart sığır albümin çözeltisinden tüplere 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, µg protein içerecek şekilde aktarılmış, saf su ile toplam hacimleri 0.1 ml'ye tamamlanmıştır. Bu tüplere, 5 ml Coomassie Reaktifi ilave edilip bir vortex ile iyice karıştırılmıştır. Kör olarak 0.1 ml tampon ve 5 ml Coomassie Reaktifinin karışımı kullanılmıştır. 595 nm'de absobans değerlerine karşılık gelen µg protein miktarı bir grafik haline getirilerek, deney örnekleri protein miktarlarını belirlemede kullanılmıştır. Yukarıda açıklamada yapıldığı şekilde, bitki yapraklarından elde edilen örnekler de benzer şekilde Bradford kiti ile muamele edildikten sonra 595 nm'de absorbansı ölçülüp, standart grafik üzerinden protein miktarları 'mg protein/g taze yaprak' olarak verilmiştir.

### 3.2.5. Yapraktaki oransal su içeriği (LRWC)

Belli zamanlarda bitkilerden yaprak örnekleri alınarak yaş ağırlıkları (YA), turgorlu ağırlıkları (TA) ve kuru ağırlıkları (KA) belirlenmiş ve aşağıdaki formüle göre yaprak oransal su içeriği tespit edilmiştir (Smart ve Bingham, 1974).

LRWC (%)= [(YA-KA)/(TA-KA)]x100

### 3.2.6. Stoma iletkenliği

"Yaprak porometresi" cihazı ile ölçülmüştür. Bu cihazın çalışma prensibi, yaprak stomalarından dış çevreye çıkan gazların ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

### 3.2.7. Çiçekte soğuk zararı tespiti

Uygulama öncesi ve sonrası çiçek sayısı tespit edilmiş ve kahverengileşmiş çiçekler % değer olarak belirtilmiştir.

### 3.2.8. İstatistiksel analiz

Araştırmada elde edilen verilerin istatistik analizinde SPSS paket programı kullanılmıştır. Varyans analizi sonrasında önemli çıkan ortalamalar Duncan' ın çoklu karşılaştırma testinde %5 önem seviyesinde belirlenmiştir.

# 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada antifriz protein tip III'ün farklı konsantrasyonları (50, 100 ve 150 ppm) ve glisin betainin tekli ve kombinasyon şeklinde uygulanmasının soğuk stresine maruz bırakılan Kabarla ve Sweet Ann çilek çeşitlerinde bazı fizyolojik özellikler (membran geçirgenliği, protein, prolin) ve soğuk zararı üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada, üzerinde çiçek bulunduran çilek bitkilerine antifriz proteini ve glisin betain uygulandıktan sonra bitkiler soğuğa maruz bırakılmıştır. Ardından bitkiler aşağıda belirtilen özellikler bakımından incelenmiştir.

## 4.1. Memran Geçirgenliği

Yaptığımız çalışmada, antifriz proteini tip III ve glisin betain uygulanıp soğuk stresine maruz bırakılan çilek bitkileri yapraklarındaki membran geçirgenliği (iyon sızıntısı) analizlerinde bu uygulamaların soğuk şartlarda membran geçirgenliği üzerine hem Kabarla hem de Sweet Ann çilek çeşitlerinde istatistiki olarak önemli etkisinin olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1.** Antifriz proteini ve glisin betainin membran geçirgenliği üzerine etkileri

| | KABARLA | SWEET ANN |
|---|---|---|
| 1. Kontrol | 25,5 bc | 22,6 c |
| 2. GB | 23,2 c | 28,8 b |
| 3. 50 ppm AFP | 14,4 d | 30,3 b |
| 4. 100 ppm AFP | 22,2 c | 29,7 b |
| 5. 150 ppm AFP | 28,9 b | 41,5 a |
| 6. 50 ppm AFP+GB | 22,0 c | 29,6 b |
| 7. 100 ppm AFP+GB | 29,6 b | 39,9 a |
| 8. 150 ppm AFP+GB | 41,0 a | 37,9 a |
| LSD | 5,17 | 4,91 |

Bitkilere uygulanan antifriz tip III proteinin 50 ppm'lik dozu Kabarla çilek çeşidinde membran geçirgenliğini önemli derecede düşürürken Sweet Ann çeşidinde membran geçirgenliğinin yükselmesine sebep olmuştur. Kabarla çeşidinde kontrol

grubuna kıyasla en yüksek membran geçirgenliği 41.0 ile 150 ppm AFP + GB uygulamasında görülürken Sweet Ann çeşidinde 41.5 ile 150 ppm AFP uygulamasında tespit edilmiştir.

Membran geçirgenliği, soğuğa toleranslı bitkilerin seçilmesinde önerilen yöntemlerden biridir ve hücre membranı zararlanmasının ölçülmesinde ve don zararının belirlenmesinde güvenilir bir indeks olarak kabul edilmektedir (Arora ve ark., 1998). İyon sızıntısı ölçülmesi sonrasında hesaplanan zararlanma değerleri ise bitki veya dokuların hangi sıcaklıkta öldüklerini veya dokularda buz oluştuğunu gösterir (Turhan ve ark., 2011). Membran geçirgenliğinin belirlenmesi metodu, zararlanmanın bir sonucu olarak oluşan hücre membranındaki fonksiyon bozuklukları nedeniyle sitoplazmadan apoplastik sıvıya sızan iyonların miktarının belirlenmesi prensibine dayanmaktadır (Gutsa ve ark., 2003). Turhan ve ark. (2011) 11 çilek çeşidinde düşük sıcaklığa toleransı belirlemek amacıyla yaptıkları bir çalışmada, bitkilerden toplanan yaprak örnekleri kontrollü koşullarda kademeli olarak düşürülen sıcaklıklarda (5, -5, -10, -20 ve -30 $^{o}$C) 12 saat tutularak düşük sıcaklık testleri gerçekleştirilmiştir. Düşük sıcaklık testleri sonucunda yaprak örneklerinin hücre membranındaki zararlanma membran geçirgenliği yoluyla belirlenmiştir. Sonuçlara bakıldığında Kabarla düşük sıcaklık stresine en hassas, Ventana ise en dayanıklı olanı seçilmiştir. Başka bir çalışmada, Gülen ve ark. (2008) Camarosa çilek çeşidinde +5 $^{o}$C' de 10 günlük süre boyunca uyguladıkları düşük sıcaklık sonucu yaprak dokularının düşük sıcaklığa alışması ile birlikte 7 günlük uygulamadan sonra zararlanma oranının düştüğünü membran geçirgenliği testi ile belirtmişlerdir. Soğuk stresine hassas bir tür olan nohut bitkisi üzerine yapılan bir çalışmada, aklimize edilen nohut bitkilerinde membran geçirgenliği daha düşük çıkmıştır (Nayyar ve ark., 2005). Mısır bitkisinde SA' in soğuğa dayanıklılık sağlaması üzerine yapılan bir çalışmada membran geçirgenliği SA uygulanmayan bitkilerde daha yüksek çıkmıştır (Janda ve ark., 1999).

Düşük sıcaklığa toleranslı bitkiler zar lipitlerindeki doymuş yağ oranını azaltıp doymamış yağ oranını artırarak membran stabilitesini korurlar (Bertin ve ark., 1998). Cruz ve ark. (2010) pirinç bitkilerinde düşük sıcaklıkta yağ asitlerinin değişimini incelediklerinde soğuk şartlarda bitkilerde doymamış yağ asitleri oranını arttığını ve hücre membran stabilitesini düşük sıcaklıktan bu şekilde koruyabildiklerini ifade etmişlerdir. Malondialdehit (MDA) de düşük sıcaklıklarda büyük bir önem arz etmektedir. MDA çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu açığa çıkan son üründür (Leshem, 1987) ve soğuğa hassasiyet bakımından bir markır olarak

düşünülmektedir (Jouve ve ark., 1993; Alonso ve ark., 1997; Queiroz ve ark., 1998). Campos ve ark. (2003) 5 kahve genotipinde düşük sıcaklığa dayanıklılık üzerine yaptıkları bir çalışmada, düşük sıcaklıkla birlikte bitkilerde iyon sızıntısı ve MDA oluşumunda artış gözlemlemişlerdir.

Soğuk zararının en önemli olumsuz etkilerinden biri mitokondri ve kloroplast membranlarına gömülü olan elektron transport sistemini engellemesidir. Bunun sebebi olarak da serbest osijen türlerini (ROT) üreterek membranın stabilitesini bozmasıdır (Park ve ark., 2006). Yaptığımız çalışmada, 50 ppm AFP' nin Kabarla çeşidinde kontrol grubuna kıyasla düşük membran geçirgenliği göstermesiyle bitkilerin hücre membran yapısı düşük sıcaklıktan fazla etkilenmemiştir ve bu da 50 ppm AFP'nin ROT'ların oluşumunu engellemiş veya doymamış yağ asit miktarının artmasından kaynaklanmış olabilir. Bununla beraber, AFP' nin 150 ppm dozunda membran geçirgenliğinin yükseldiği görülmektedir. Bu durum, AFP' nin ters etki yapmasından kaynaklanmış olabilir. Nitekim patateste yapılan bir çalışmada AFP uygulaması donma derecesinin yükselmesine sebep olmuştur (Cutler ve ark., 1989). Ayrıca, AFP ve GB uygulamaları her iki çeşitte de aynı tepkiyi ortaya çıkarmamıştır. Bu durum, genetik yapıdan kaynaklanabilir. *Arabidopsis* ve patateste yapılan çalışmada, türlerin AFP uygulaması birbirinden tamamen farklı bulunmuştur (Cutler ve ark., 1989). Sweet Ann çeşidinin düşük sıcaklıktan olumsuz etkilenip membran geçirgenliğinin yüksek olması doymuş yağ asidi miktarının fazla olmasından kaynaklanmış olabilir.

### 4.2. Göreceli Yaprak Klorofil Miktarı

Antifriz proteini tip III ve glisin betain ön uygulaması ile düşük sıcaklık uygulamasının yaprakta klorofil miktarı üzerine etkileri incelendiğinde Kabarla çilek çeşidinde istatistiki olarak önemli ($p<0,05$) etkileri olurken Sweet Ann çeşidinde önemsiz çıktığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.2). 150 ppm AFP + GB uygulaması (45,0) Kabarla çeşidinde kontrol grubuna (33,6) göre klorofil miktarını önemli derecede artırmıştır. Sweet Ann çeşidinde ise en yüksek klorofil miktarı 50 ppm AFP + GB (46,1), en düşük ise 50 ppm AFP (36,8) uygulamasında belirlenmiştir.

Fotosentetik aygıtlar düşük sıcaklıkta oldukça önemlidir (Hayden and Baker, 1990; Baker, 1994). Mısır bitkisinin fotosentetik aygıtlarının düşük sıcaklıkla indüklenen fotoinhibisyona oldukça hassas olduğu bildirilmiştir (Long ve ark., 1983;

Nie ve ark., 1992). Soğuğa hassas bitkilerdeki düşük fotosentetik performans klorofil eksikliğinden kaynaklandığı rapor edilmiştir (Haldimann, 1998). Klorofil gibi pigmentlerin eksikliği düşük sıcaklık sonucu oksidatif strese karşı hassasiyetten kaynaklanmaktadır (Fracheboud ve ark., 1999).

**Çizelge 4.2.** Antifriz proteini ve glisin betainin klorofil miktarı üzerine etkileri

| | KABARLA | SWEET ANN |
|---|---|---|
| 1. Kontrol | 33,6 c | 39,1 |
| 2. GB | 37,5 bc | 41,1 |
| 3. 50 ppm AFP | 36,9 bc | 36,8 |
| 4. 100 ppm AFP | 42,5 ab | 39,3 |
| 5. 150 ppm AFP | 42,2 ab | 44,4 |
| 6. 50 ppm AFP+GB | 41,0 ab | 46,1 |
| 7. 100 ppm AFP+GB | 41,4 ab | 42,4 |
| 8. 150 ppm AFP+GB | 45,0 a | 40,5 |
| LSD | 5,21 | Ö.D. |

Çevresel stres faktörlerinin bitkiler üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla klorofil miktarının belirlenmesi oldukça önemlidir. Düşük sıcaklığın klorofil miktarı ile ilişkisini belirlemek üzere yapılan çalışmalar incelendiğinde, soğuk stresine maruz bırakılan soya fasulyelerinde düşük sıcaklık etkisiyle klorofil miktarı %57' lik bir azalma göstermiştir. Fakat 5 ve 10 µM 5-aminolevülünik asit (ALA) uygulanan bitkilerde klorofil kaybı önlenmiştir (Balestrasse, 2010). Bunun nedenin ise ALA' nın klorofil gibi porfirin bileşiklerin öncül maddesi olması (Von Wettstein ve ark., 1995; Wang ve ark., 2005) ve ALA sentezinin düşük ve yüksek sıcaklıkta engellenmesi olduğu iddia edilmiştir (Hodgins ve Öquist, 1989; Tewari ve Tripathy, 1998). Soğuk stresin dışında birçok çevresel ve bünyesel stres koşullarında klorofil miktarı değişmektedir. Ağır metaller üzerine yapılan bir çalışmada 0,1 mM nikel uygulanan fidelerin yapraklarındaki klorofil miktarı %18-27 oranlarında, 0,5 mM Ni dozunda ise %25-35 oranlarında azalmıştır (Zengin ve Munzuroğlu, 2005). Khodary (2004) mısırda ve Çanakçı ve ark. (2004) fasulyede yaptıkları çalışmalarda tuzlu şartlardaki bitkilere uygulanan salisilik asitin klorofil miktarlarının artırdığını belirlemişler ve SA uygulamasının klorofil miktarı üzerine bu olumlu etkilerinin tuz toleransını sağlamada önemli bir etken olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Yapılan çalışmalara paralel olarak Kabarla çilek çeşidinde yapılan tüm uygulamalar klorofil miktarını kontrole göre

arttırdığı görülmektedir. Bunun sebebi yapılan uygulamaların klorofilin öncül maddesi olan 5-aminolevülünik asidin (ALA) sentezini arttırması olabilir. AFP ve GB' nin klorofil içeriğini olumlu etkileyerek Kabarla çeşidinde düşük sıcaklığın olumsuz etkilerini tolere etmede katkısının olabileceği düşünülmektedir.

### 4.3. Prolin Miktarı

AFP tip III ve GB uygulanmasının ardından soğuk stresine bırakılan çilek bitkilerinde yapraktaki prolin miktarı incelendiğinde her iki çilek çeşidinde de istatistiki olarak önemli ($p<0,05$) etkilerin olduğu belirlenmiştir. Kabarla çeşidinde en yüksek yaprak prolin miktarı 100 ppm AFP + GB (4,165) uygulamasında gözlenirken en düşük değer ise 100 ppm AFP (0,054) uygulamasında tespit edilmiştir. Sweet Ann çeşidinde ise en yüksek yaprak prolin miktarı kontrol grubunda (1,865) ve en düşük değer ise 100 ppm AFP (0,055) uygulamasında olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Sweet Ann çeşidinin kontrol gurubunda prolin miktarının uygulama yapılan bitkilere göre yüksek çıkması bu çeşidin AFP ve GB uygulamalarına olumsuz bir tepki vermesinin sonucu olduğu düşünülmektedir.

**Çizelge 4.3.** Antifriz proteini ve glisin betainin yapraktaki prolin miktarı (µM/g taze yaprak) üzerine etkileri

| | KABARLA | SWEET ANN |
|---|---|---|
| 1. Kontrol | 2,381 b | 1,865 a |
| 2. GB | 0,112 c | 0,882 b |
| 3. 50 ppm AFP | 0,268 c | 0,140 c |
| 4. 100 ppm AFP | 0,054 c | 0,055 c |
| 5. 150 ppm AFP | 0,119 c | 0,377 c |
| 6. 50 ppm AFP+GB | 3,448 a | 1,435 a |
| 7. 100 ppm AFP+GB | 4,165 a | 0,119 c |
| 8. 150 ppm AFP+GB | 3,899 a | 0,147 c |
| LSD | 0,96 | 0,56 |

Bir amino asit olan prolin bir çok çevresel strese tepki olarak gelişmiş bitkilerde sentezlenip biriktirilmektedir (Rains, 1989, Ashraf, 1994, Ali ve ark., 1999, Rhodes ve ark., 1999, Ozturk ve Demir, 2002, Hsu ve ark., 2003; Kavi Kishore ve ark., 2005). Soğuğa alışma süresi boyunca stres gören bitkilerde prolin miktarı büyük bir ölçüde

artış göstermiştir (Hare ve Cress, 1997). Soğuğa uyum sağlamış (aklimize olmuş) turunçgil bitkilerinde aklimize olmamış bitkilere göre 3 ile 6 kat daha fazla prolin biriktirildiği belirlenmiştir (Yelenosky, 1979). Başka bir çalışmada, bir polyamin olan putresin, spermidin ve sperminin uygulanıp düşük sıcaklığa maruz bırakılan bitkilerde prolin miktarı oldukça artmış ve prolin artışı ile bitkilerin düşük sıcaklığa dayanıklılığı sağlandığı belirtilmiştir (Kushad ve Yelenosky, 1987). Xing ve Browse (1998)' un yaptığı bir çalışmada soğuk aklimizasyonu boyunca *Arabidopsis* bitkilerinde 30 katlık prolin artışı görülmüştür. Diğer stres faktörleri de prolin miktarını oldukça değiştirmektedir. Pırlak ve Eşitken (2004) Fern ve Camarosa çilek çeşitleri ile yaptıkları bir çalışmada tuz stresi altındaki bitkilerde prolin miktarının büyük ölçüde arttığını bildirmişlerdir. Yaptığımız çalışmada Kabarla çeşidine GB ve AFP' nin ayrı olarak uygulanması sonucu prolin miktarının kontrol grubuna göre oldukça az miktarda olduğu ve bunun bitkilerde olumlu bir etki olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bitkiler strese maruz kaldıklarında prolin sentezler (Hare ve Cress, 1997) ve dolayısıyla prolin miktarındaki artış ne kadar çok ise zarar derecesi o kadar fazla olabilmektedir. Sweet Ann çeşidinde ise AFP ve GB uygulamaları bitkilerde kontrol grubuna göre prolin miktarında azalmalara sebep olmuştur. Bunun sebebi, AFP ve GB uygulamalarının çilek bitkilerinde soğuk stresi etkisini azaltması olabilir. Buna bağlı olarak, uygulamalar sonucu düşük sıcaklıktan daha az zarar gören bitkilerde daha az prolin sentezlendiği düşünülebilir. Burada farklı sonuçların elde edilmesi çeşitlerin genetik yapılarının farklı olması ve bunun sonucu olarak AFP ve GB' ine farklı tepkiler vermiş olmasından kaynaklanabilir.

### 4.4. Kantitatif Protein Miktarı

Uygulamalar sonucu yapraktaki protein miktarı incelendiğinde Kabarla çilek çeşidinde istatistiki olarak önemli ($p<0,05$) etkilerin olduğu görülürken, Sweet Ann çeşidinde istatistiki olarak önemli etkilerin olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir. Kabarla çeşidinde en yüksek yaprak protein miktarı 50 ppm AFP + GB (3,009) uygulamasında gözlenirken en düşük değer ise 50 ppm AFP (2,680) uygulamasında belirlenmiştir. Sweet Ann çeşidinde ise en yüksek yaprak protein miktarı 150 ppm AFP + GB (2,906) ve en düşük değer ise 50 ppm AFP (2,406) uygulamasında olduğu belirlenmiştir (çizelge 4.4).

**Çizelge 4.4.** Antifriz proteini ve glisin betainin yapraktaki protein miktarı (mg/g taze yaprak) üzerine etkileri

| | KABARLA | SWEET ANN |
|---|---|---|
| 1. Kontrol | 2,901 b | 2,654 |
| 2. GB | 2,772 d | 2,444 |
| 3. 50 ppm AFP | 2,680 f | 2,406 |
| 4. 100 ppm AFP | 2,629 g | 2,459 |
| 5. 150 ppm AFP | 2,919 b | 2,573 |
| 6. 50 ppm AFP+GB | 3,009 a | 2,764 |
| 7. 100 ppm AFP+GB | 2,705 e | 2,765 |
| 8. 150 ppm AFP+GB | 2,845 c | 2,906 |
| LSD | 0,022 | Ö.D. |

Bitkilerin soğuğa dayanıklılık fizyolojisinde proteinler önemli bir rol oynamaktadır. Genellikle bitkilerin düşük sıcaklığa maruz bırakılması sırasında bünyelerindeki çözünebilir protein miktarının arttığı, dona dayanıklı tür ve çeşitlerde bu oranın daha yüksek, dayanıksız çeşitlerde ise daha düşük olduğu ifade edilmiştir (Ertürk ve Güleryüz, 2007). Birçok çalışma düşük sıcaklığa tepki olarak yeni polipeptidlerin sentezlendiğini göstermiştir. Son yıllarda dona dayanım ile proteinler arasında ilişki olduğuna dair çalışmalar yoğunluk kazanmaktadır (Aslantaş ve ark., 2010). Pürin (adenin ve guanin) ve pirimidinlerin (sitozin, timin ve urasil) yonca bitkilerine uygulanarak soğuğa dayanıklılık sağlaması üzere yapılan bir çalışmada, uygulama yapılan bitkilerde kontrol grubuna göre %38 daha fazla protein içeriği tespit edilmiştir (Jung ve ark., 1967). Duvar sarmaşığı bitkisinde yaz ayından kış ayına gidildikçe çözünebilir protein miktarının arttığı bildirilmiş ve neden olarak düşük sıcaklık gösterilmiştir (Parker, 1962). Benzer şekilde soğuğa maruz bırakılan bezelye bitkilerinde protein içeriği kontrol grubuna göre daha yüksek çıkmıştır (Chapman ve ark., 1983). Camarosa çilek çeşidinde tuz stresi üzerine yapılan bir çalışmada salisilik asit uygulanan bitkilerde yaprak protein içeriği önemli derecede artmıştır (Tohma ve Esitken, 2011). Ayrıca tuz stresinin arpa bitkisinin çimlenmesi ve gelişmesi üzerine yapılan bir çalışmada tuz konsantrasyonu arttıkça bitkilerdeki protein içeriğinin arttığı belirlenmiştir (El-Tayeb, 2005). Yapılan bu çalışmalar bitkilerde stres faktörünün derecesi veya dozajı arttıkça bitkinin savunma mekanizması olarak protein sentezini artırdığı görülmekte ve protein içeriği düşük olan bitkinin daha az strese maruz kalıp daha az zarar gördüğü düşünülebilir. Bu görüş doğrultusunda; GB, 50 ppm AFP ve 100

ppm AFP' nin kontrole göre bitkilerin daha az protein sentezlemesine sebep olduklarından dolayı düşük sıcaklıktan daha az etkilenmiş oldukları düşünülebilir.

### 4.5. Yaprak Oransal Su İçeriği (LRWC)

Yapılan uygulamaların yapraktaki oransal (nisbi) su içeriği üzerine etkileri incelendiğinde her iki çilek çeşidinde de önemli ($p<0,05$) etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada en düşük yaprak oransal su içeriği Kabarla çeşidinde GB uygulamasında, Sweet Ann çeşidinde ise 150 ppm AFP + GB uygulamasında belirlenmiştir. Çalışmada her iki çilek çeşidinde de 50 ppm AFP + GB uygulaması kontrole göre en yüksek yaprak oransal su içeriği göstermiştir (Çizelge 4.5). Sweet Ann çeşidinde 150 ppm AFP + GB uygulaması kontrol grubuna kıyasla yaprak oransal su içeriği üzerine oldukça düşük çıkmıştır (Çizelge 4.5).

**Çizelge 4.5.** Antifriz proteinin ve glisin betainin yaprak oransal su içeriği (%) üzerine etkileri

| | KABARLA | SWEET ANN |
|---|---|---|
| 1. Kontrol | 83,93 d | 87,03 abc |
| 2. GB | 83,36 d | 89,03 ab |
| 3. 50 ppm AFP | 89,60 a | 89,96 a |
| 4. 100 ppm AFP | 84,03 d | 85,33 bcd |
| 5. 150 ppm AFP | 85,33 cd | 83,86 cd |
| 6. 50 ppm AFP+GB | 85,86 bcd | 86,03 abcd |
| 7. 100 ppm AFP+GB | 87,73 abc | 83,73 cd |
| 8. 150 ppm AFP+GB | 88,43 ab | 82,16 d |
| LSD | 2,5 | 3,81 |

Bitki dokularındaki su durumu, genelde don zararı potansiyeline sahiptir. Çünkü don zararı, donmaya ilişkin bitki hücrelerinin dehidrasyonun sonucunda gerçekleşmektedir (Thomashow, 1999; Xin ve Browse, 2000; Wisniewski ve Arora, 1992) ve su içeriği yüksek olan bitki dokuları donma sonucu daha fazla zarar görmektedir (Hao ve ark., 2009). Guava (*Psidium guajava* L.) bitkisinde soğuğa aklimizasyon üzerine yapılan bir çalışmada soğuğa aklimize olmuş bitkilerde yaprak oransal su içeriğinin azaldığı bildirilmiştir (Hao ve ark., 2009). *Betula pendula*

bitkisinin lateral tomurcuklarının yaz ayından sonbahara doğru gidildikçe su içeriğinin azaldığı belirlenmiştir (Li ve ark., 2003). Yaprak oransal su içeriği, dehidrasyon sonucu yaprak hücrelerinin zararlanmasını değerlendirmek amacıyla yapılan bir parametredir. Yapılan bu çalışmalarda görüldüğü üzere don stresine karşı yaprak oransal su içeriğinin düşük çıkması istenir, fakat don olmaksızın düşük sıcaklık stresi karşısında yaprak oransal su içeriğinin yüksek çıkması fotosentez gibi biyokimyasal aktivitelerin devam etmesi açısından oldukça önemlidir. Yaprak su içeriğinin %50' nin altına düşmesi sonucu fotosentezi "kontrollü kapatma" yoluna gidilir ve fotooksidasyon sonucu oluşabilecek risk en aza indirilir (Farrant, 2000). Kabarla çeşidinde AFP ve GB genel olarak yaprak oransal su içeriğini artırarak olumlu etki yapmıştır. Sweet Ann çeşidinde ise GB ve 50 ppm AFP uygulaması yaprak oransal su içeriğini artırmıştır.

### 4.6. Stoma İletkenliği

Antifriz proteini tip III ve glisin betain uygulanıp soğuk stresine maruz bırakılan çilek bitkilerinden 1. ve 8. günde yaprakların stoma iletkenliği ölçüldüğünde uygulama yapıldıktan 1 gün sonrasında yapılan ölçümlerde uygulamaların her iki çilek çeşidi üzerine istatistiki olarak önemli ($p<0,05$) etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Birinci gün yapılan ölçümlerde Kabarla çeşidinde en yüksek değer (619.4) 50 ppm AFP uygulamasında görülürken, Sweet Ann çeşidinde (179.7) 100 ppm AFP + GB uygulamasında belirlenmiştir.

**Çizelge 4.6.** AFP ve glisin betainin stoma iletkenliği (mmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) üzerine etkileri

| | KABARLA (1. gün) | SWEET ANN (1. gün) | KABARLA (8. gün) | SWEET ANN (8. gün) |
|---|---|---|---|---|
| 1. Kontrol | 447,9 cd | 133,2 c | 267,1 bc | 208,4 |
| 2. GB | 400,2 d | 129,0 c | 304,0 b | 285,1 |
| 3. 50 ppm AFP | 619,4 a | 170,6 a | 197,6 de | 367,0 |
| 4. 100 ppm AFP | 377,1 d | 141,8 bc | 215,4 cd | 261,5 |
| 5. 150 ppm AFP | 501,2 bc | 157,3 ab | 173,2 de | 218,1 |
| 6. 50 ppm AFP+GB | 369,8 d | 129,9 c | 370,3 a | 361,9 |
| 7. 100 ppm AFP+GB | 541,2 ab | 179,7 a | 138,8 e | 338,2 |
| 8. 150 ppm AFP+GB | 281,3 e | 173,8 a | 220,8 cd | 187,2 |
| LSD | 80,3 | 21,01 | 58,88 | Ö.D. |

Uygulamalardan 8 gün sonra yapılan stoma iletkenliği ölçümlerinde bu uygulamaların Kabarla çilek çeşidinde istatistiki olarak önemli ($p<0,05$) etkilerinin olduğu görülürken Sweet Ann çeşidinde önemli ($p>0,05$) etkilerinin olmadığı tespit edilmiştir. 8. gün yapılan ölçümlerde Kabarla çilek çeşidinde en yüksek stoma iletkenliği (370.3) 50 ppm AFP + GB uygulamasında iken Sweet Ann çeşidinde (367.0) 50 ppm AFP uygulamasında belirlenmiştir.

Yapraklarda bu parametrenin bakılma zamanı stoma iletkenliği üzerine istatistiki olarak önemli derecede etkilememiş ve zaman geçtikçe stoma iletkenliği azalmıştır. Ayrıca çeşitler arasında stoma iletkenliği bakımından büyük bir fark görülmektedir.

Bitkilerde stomaların kapanması yüksek sıcaklık (Galiba ve ark., 1997) ve düşük sıcaklık (Szalai ve ark., 1997) gibi birçok stres sonucu gerçekleştiği görülmüştür. Stoma iletkenliği yaprak stomalarından içeri $CO_2$ girişinin veya su buharı çıkışının ölçülmesi ile tanımlanmaktadır. Janda ve ark. (1999) salisilik asit uyguladıkları mısır bitkilerini soğuk stresi yaşatmaları ardından stoma iletkenliğini incelediklerinde SA uygulanan bitkilerde değerlerin daha düşük çıktığı görülmüştür. Benzer bir çalışmada bir $C_3$ bitkisi olan arpa bitkilerine SA uygulandığında, uygulama yapılan bitkilerde stoma iletkenliğinin düştüğü belirlenmiştir (Pancheva ve ark., 1996). Genel olarak strese maruz kalan bitkiler stoma açıklıklarını kapatır, stresden etkilenmeyen veya az etkilenen bitkilerde stoma açıklıkları açık kalarak solunum, fotosentez gibi metabolik ativitelerini devam ettirirler. Yaptığımız çalışmada 50 ppm AFP uygulaması (619,4) Kabarla çeşidinde, 100 ppm AFP + GB (179,7) uygulaması ise Sweet Ann çeşidinde en yüksek stoma iletkenliği değerlerini göstermiştir. Ayrıca K iyonu stomaların açılıp kapanmasında düzenleyici rol oynadığı bilinmektedir. AFP ve GB yaprakta K içeriğini değiştirmiş olabilir ve böylece stoma iletkenliği etkilenmiş olabilir.

### 4.7. Çiçekte Soğuk Zararı

Antifriz proteini ve glisin betain uygulamasından sonra soğuk hava deposunda soğuk stresine maruz bırakılan çilek bitkilerinde soğuktan zarar görmüş çiçekler incelendiğinde, Sweet Ann çilek bitkilerinde çiçek bakımından en çok zarar gören 100 ppm AFP + GB uygulamasının olduğu belirlenmiştir. Kabarla çilek çeşidinde ise kontrol, 50 ppm AFP ve 150 ppm AFP uygulamalarında çiçeklerin soğuktan zarar gördüğü belirlenmiş, diğer uygulamalarda ise soğuk zararına rastlanılmamıştır (Çizelge

4.7). Soğuk zararının özellikle çiçeklerin dişi organında ortaya çıktığı ve genellikle erkek organlarda zararın oluşmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.1).

Campell ve Lingle (1954) -7.8 $^{o}$C'de çilek bitkilerinin oldukça zarar gördüklerini, -4 $^{o}$C' de ise çiçek tomurcuklarında az miktarda zarar tespit ettilerini belirtmişlerdir. Marini ve Boyce (1977, 1979) da -4 $^{o}$C'de çilek bitkilerinde daha az yaprak olduğunu ve -12 ve -16 $^{o}$C'de bulunan bitkilere göre daha küçük yapraklara sahip olduklarını bildirmişlerdir. Ayrıca soğukla birlikte yapraklarda şekil bozukluğu görülmüştür. Düşük sıcaklık ve don sonucu bitkilerin zarar gören kısımları değerlendirildiğinde en çok vasküler dokular ve en az ise medulla zarar görmektedir (Campbell ve Lingle, 1954; Marini ve Boyce, 1977;1979). Ki ve Warmund (1992) düşük sıcaklığın çilek bitkilerinin çiçek organlarında verdiği zararı belirlemek üzere yaptıkları bir çalışmada, anterlerin düşük sıcaklıkta stil ve çiçek tablasından sonra zarar gördüğünü, anter zararının çiçek gelişiminin erken dönemlerinde önemi olabileceğini bildirmişlerdir.

**Çizelge 4.7.** Soğuk stresine maruz bırakılan çilek bitkilerinde uygulama sonrası zarar gören çiçeklerin yüzdelik değerleri (%)

| | 1. Kontrol | 2. GB | 3. 50 ppm AFP | 4. 100 ppm AFP | 5. 150 ppm AFP | 6. 50 ppm AFP+GB | 7. 100 ppm AFP+GB | 8. 150 ppm AFP+GB |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| KABARLA | 3.7 | - | 3.5 | - | 3.2 | - | - | - |
| SWEET ANN | 12 | 3.7 | - | 12.5 | 3.8 | 15.6 | 19.3 | 6.8 |



**Şekil 4.1.** Soğuk zararı görmüş çilek bitkilerinde çiçek görünümleri

# 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

## 5.1. Sonuçlar

Çilek ülkemizde ve tüm dünyada sevilen ve yetiştiriciliği yaygınlaşan bir üzümsü meyve türüdür. Marmara, Ege ve Akdeniz kıyı bölgelerinde oldukça yaygın yetiştirilmekte ve verimlilik düzeyi diğer bölgelerden daha yüksek olmaktadır. Fakat kış soğuklarının erken, şiddetli ve uzun süre devam etmesi verim düzeyini düşürmektedir. Kış soğukları bitkilerin yeteri kadar besin maddesi biriktirememelerine, bitki gelişiminde zayıflığa, daha az sayıda yaprak oluşumuna ve çiçek tomurcuğu oluşumunda sorunlara neden olmaktadır (Yılmaz ve ark., 2006). Turunçgiller, kışlık tahıllar, patates, yaprağını döken meyve ağaçları ve bazı sebzelerde 2 $^{o}$C'lik bir soğukluğa dayanıklılık sağlanabilirse bunların toplam veriminde önemli artışlar olacaktır (Aslantaş ve ark., 2010). Aksi halde önemli kayıplar söz konusudur. Örneğin, dünyanın ortalama sıcaklığında 1 $^{o}$C azalma pirinç üretiminde %40'lık azalmaya neden olabilir (Pearce, 1999).

Kabarla ve Sweet Ann çilek çeşitleri ile yürütülen bu çalışmada, bitkilere uygulanan antifriz proteini tip III ve glisin betainin soğuğa dayanıklılığı üzerine fizyolojik etkileri incelenmiştir. Çalışmamızda bitkiler saksılarla birlikte soğuk hava deposuna alınmış ve depodaki sıcaklık dereceleri 15 $^{o}$C'den başlayarak kademeli olarak 12, 9, 6, 3, 0, -1, -2 ve -2.3 $^{o}$C' ye birer saat bekletilecek şekilde düşürülmüş ve -2.3 $^{o}$C' de 2 saat bekletilmiştir. Soğuk koşulların olumsuz etkileri bitkilerin soğuğa maruz kalma süresi ile paralel olarak artmaktadır.

Sonuç olarak, Kabarla ve Sweet Ann çilek çeşidi bitkilerinin yapraklarına uygulanan antifriz tip III proteini ve glisin betainin bitkilere düşük sıcaklığa karşı belirli ölçülerde tolerans sağlayabileceği görülmektedir. Çalışmada kullanılan AFP ve GB'nin birçok parametre göz önüne alındığında en olumlu etkiyi yapan uygulamanın her iki çilek çeşidinde de 50 ppm AFP uygulaması olduğu düşünülmektedir. Antifriz proteinin 50 ppm dozundan yüksek dozlar bazı parametrelerde olumlu etkilerin azalmasına yol açmıştır.

## 5.2. Öneriler

Stoma iletkenliği, membran geçirgenliği, protein, prolin ve klorofil miktarı, çiçek zararlanma yüzdesi ve yaprak oransal su içeriği parametreleri göz önüne alındığında düşük sıcaklıklarda çilek yetiştiriciliği yapılacak bölgelerde soğuğun olumsuz etkisini azaltmada antifriz proteini ve glisin betain kullanılabilir. Ancak bu proteinin bitkilerde soğuğa dayanıklılığının daha iyi anlaşılabilmesi bakımından farklı tür ve çeşitlerde, farklı dozlarda denenmesi faydalı olabilecektir.

**KAYNAKLAR**


Agboma, M., Jones, M.G.K., Peltonen-Sainio, P., Rita, H. and Pehu, E., 1997a. Exogenous glycine betaine enhances grain yield of maize, sorghum and wheat grown under two supplementary watering regimes. J. Agron. Crop Sci. 178, 29–37.

Agboma, P., Peltonen-Sainio, P., Hinkkanen, R. and Pehu, E., 1997b. Effect of foliar application of glycine betaine on yield components of drought stressed tobacco plants. Exp. Agric. 33, 345–352.

Agboma, P., Sinclair, T., Jokinen, K., Peltonen-Sainio, P., Pehu, E., 1997c. An evaluation of the effect of exogenous glycine betaine on the growth and yield of soybean. Field Crops Res. 54, 51–64.

Ağaoğlu, S.Y., 1986. Üzümsü Meyveler. A.Ü. Zir. Fak. Yayınları: 984, Ders Kitabı 290.

Ali, G., Srivastava, P.S., Iqbal, M., 1999. Proline accumulation, protein pattern and photosynthesis in regenerants grown under NaCl stress. Biol. Plant. 42, 89–95.

Allard, F., Houde, M., Krol, M., Ivanov, A., Huner, N.P.A., Sarhan, F., 1998. Betaine improves freezing tolerance in wheat. Plant Cell Physiol. 39, 1194–1202.

Alonso, A., Queiroz, C.S., Magalhães, A.C., 1997. Chilling stress leads to increased cell membrane rigidity in roots of coffee (*Coffea arabica* L.) seedlings. Biochem Biophys Acta 1323: 75–84.

Anchordoguy, T.J., Rudolph, A.S., Carpenter, J.F., Crowe, J.H., 1987. Modes of interaction of cryoprotectants with membrane phospholipids during freezing. Cryobiology 24, 324–331.

Anonim, 2008, http://www.patentstorm.us/patents/6793952- description.html, 20.01.2008, 16:35, US patent issued on September 21, 2004.

Anonim, 2013a. http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul. Erişim tarihi: 25.05.2013.

Anonim, 2013b. http://intfarming.com/. Erişim tarihi: 07.07.2013.

Anonim, 2013c. http://www.yalex.com.tr/. Erişim tarihi: 07.07.2013.

Anonymous, 2013. http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx. Erişim tarihi: 25.05.2013.

Antikainen, M. and Griffith, M., 1997. Antifreeze protein accumulation in freezing-tolerant cereals. Physiologia Plantarum 99: 423-432.

Antikainen, M., Griffith, M., Zhang, J., Hon, W.-C, Yang, D. S. C. and Pihakaski-Maunsbach, K., 1996. Immunolocaiization of antifreeze proteins in winter rye leaves, crowns, and roots by tissue printing. - Plant Physiol. 110: 845-857.

Arora, R., Pitchay, D.S. and Bearce, B.C., 1998. Water-stress-induced heat tolerance in geranium leaf tissues: a possible linkage through stres proteins? Physiol. Plant. 103: 4- 34.

Ashraf, M. and Foolad, M.R., 2005. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stres resistance. Environmental and Experimental Botany. 59: 206-216.

Ashraf, M., 1994. Breeding for salinity tolerance in plants. Crit. Rev. Plant Sci. 13, 17–42.

Ashworth EN, Davis GA. 1986. Ice formation in woody plants under field conditions. HortScience 21: 1233-1234.

Aslantaş, R., Karakurt, H. ve Karakurt Y., 2010. Bitkilerin düşük sıcaklıklara dayanımında hücresel ve moleküler mekanizmalar. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 41 (2), 157-167.

Aslantaş, R., Karakurt, H. ve Karakurt, Y., 2010. Bitkilerin düşük sıcaklıklara dayanımında hücresel ve moleküler mekanizmalar. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 41(2): 157-167.

Atıcı, O., Nalbantog lu, B., 1999a. Apoplastic proteins associated with the cold acclimation process in leaves. Bio-Science Research Bulletin 15, 55–60.

Atıcı, O ., Nalbantoglu, B., 1999b. Effect of apoplastic proteins on freezing tolerance in leaves. Phytochemistry 50, 755–761.

Aybak, H.Ç., 2005. Çilek Yetistiriciligi. Hasad Yayıncılık, 118 s.

Baker, N.R., 1994. Chilling stres and photosynthesis. In: Foyer, C.H., Mullineaux, P.M., eds. Causes of photooxidative stres and amelioration of defence systems in plants. Boca Raton, Florida: CRC Press, 127-154.

Balestrasse, K.B., Tomaro, M.L., Batlle, A. and Noriega, G.O., 2010. The role of 5-aminolevulinic acid in the response to cold stress in soybean plants. Phytochemistry, 71: 2038-2045.

Baraz, B., 2002. Genel Meyvecilik. ISBN: 975-06-0096-7.

Barka, E.A., Audran, J.C., 1997. Response of champenoise grapevine to low temperation changes of shoot and bud proline concentrations is response to low temperatures and correlations with freezing tolerance. Journal of Horticultural Science. 72(4) 577-582.

Bates L.S., Waldren R.P. and Teare I.D. 1973. Rapid deterination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39.205-207.

Bertin, P., Bullens, P., Bouharmont, J., Kinet J.M., 1998. Somaclonal variation and chilling tolerance improvement in rice: changes in fatty acid composition. Plant Growth Regul. 24: 31-41.

Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantites of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Bichem. 72,248.

Bruggemann, W., Dauborn, B. and Klaucke, S. 1995. Chilling sensitivity of photosynthesis: ecophysiological studies in two *Lycopersicon* species of different chilling tolerance. Acta Physiol. Plant 17: 113-122.

Burke, M.J. and Lindow S.E., 1990. Surface proporties and size of the ice nucleation active bacteria. Cryobiology, (27), 80-84.

Burke, R.A., Gutsa L.V., Quamme H.A., Weiser C.J. and Li P.H., 1976. Freezing and injury in plant. Annu. Rev. Plant physiol., (27), 507-528.

Cameron, R.W.F., and Dixon, G.R., 1997. Air temperature, humidity and rooting volume affecting freezing injury to Rhododendron and other prennials. Journal of Horticultural Science 72 (4): 553-562.

Campbell, R.W., Lingle, J.C., 1954. Some effects of low temperatures on the flower primordia of the strawberry. Proc. Am. Soc. Hortic. Sci. 64, 259-262.

Campbell, W.R., Handle, F.B., 1960. Winter Inwury to Peaches and Grapes. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 76:332-337.

Campos, P.S., Quartin, V., Ramalho, J.C. and Nunes, M.A., 2003. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of Coffea sp. Plants. Journal of Plant Physiology, 160: 283-292.

Chapman, D.J., De-Felice, J. and Barber, J., 1983. Growth Temperature Effects on Thylakoid Membrane Lipid and Protein Content of Pea Chiloroplasts. Plant Physiology, 72: 225-228.

Chen H-H, Li PH, Brenner ML., 1983. Involvement of abscisic acid in potato cold acclimation. *Plant Physiol.* 71:362–65.

Chen, W.P., Li, P.H. and Chen, T.H.H., 2000. Glycinebetaine increases chilling tolerance and reduces chilling-induced lipid peroxidation in *Zea mays* L. Plant Cell Environ. 23: 609–618.

Childers, N.F., Morris, J.R., Sibbett, G.S., 1995. Modern fruit science. Horticultural Publications, 3906 NW 31 Place, Gainesville, Florida, pp. 136-145.

Close, T.J., 1997. Dehydrins: a commonality in response of plants to dehydrations and low temperature. Physiologia Plantarum 100, 291–296.

Cloutier, Y., 1983. Changes in the electrophoretic patterns of the soluble proteins of winter wheat and rye following cold acclimation and desiccation stress. Plant Physiology 71, 400–403.

Coughlan, S.J., Heber, U., 1982. The role of glycine betaine in the protection of spinach thylakoids against freezing stress. Planta 156, 62–69.

Cruz, R.P., Golombieski, J.I., Bazana, M., T., Cabreira, C., Silveira, T.F and Silva, L.P., 2010. Alterations in fatty acid composition due to cold exposure at the vegetative stage in rice. Brazilian Society of Plant Physiology, 22(3): 199-207.

Cutler, A.J., Saleem, M., Kendall E., Gusta, L.V., Georges, F. and Fletcher G.L., 1989. Winter Flounder Antifreeze Protein Improves the Cold Hardiness of Plant Tissues. Journal of Plant Physiology, 135-3: 351-354.

Çanakçı, S. ve Munzuroğlu, Ö., 2004. Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) çeliklerinde ağırlık değişimleri, pigment ve protein miktarları üzerine asetilsalisilik asit ve tuz (NaCl) uygulamasının karşılıklı etkileri. G.Ü., Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi, cilt 24, sayı 1, 23-40.

Dalman, P., Matala, V. 1997. The Effect of Cultivation Practices on the Overwintwring and Yield of Strawberry. Acta Hort. 439 (2): 881-886.

Deshnium, P., Gombos, Z., Nishiyama, Y. and Murata, N., 1997. The action in vivo of glycine betaine in enhancement of tolerance of *Synechococcus* sp. strain PCC7942 to low temperature. *J. Bacteriol.* 179: 339-344.

DeVries, A. L. 1986. Antifreeze glycopeptides and peptides: Interactions with ice and water. - Methods enzymol. 127: 293-303.

Dokuzoğuz, M., 1974. Meyve ağaçları ve çevre ilişkileri. E.Ü.Ziraat Fak. Yayınları No:1221, İzmir.

Dorffling, K., Schulenburg, S., Lesselich, G., Dorffling, H., 1990. Abscisic acid and proline levels in cold hardened winter wheat leaves in relation to variety-specific differences in freezing resistance. J. Agron. Crop Sci. 165, 230–239.

Duman, J.G., Xu L.G., Trusman D. and Wu D.W. 1991. Hemolymph protein involved in insect subzero-temparature tolerance: Ice nucleators and antifreeze proteins. In RE Lee J.R., Denlinger D.1L., eds. Insects at low temparature. Chapman and Hall, New York, pp. 94-27.

Duman, J. G., Wu, D. W., Olsen, T. M., Urrutia, M. and Tursman, D. 1993. Thermal-hysteresis proteins. - Adv. Low-Temp. Biol. 2: 131-182.

Duman, J.G. 1994. Purification and characterization of thermal hysteresis proteins from a plant, the bittersweet nightshade, *Solanum dulcamara*. Biochim. Biophys. Acta 1206: 129–135.

Edgerton, L.J., 1954 Fluctuations in the Cold Hardiness of Peach Flower Buds During Rest Period and Dormancy, Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 64:175-180.

Edgerton, L.J., 1960. Studies on Cold Hardiness of Peach Trees. Hort. Abst., 32(1):276.

El-Tayeb, M.A., 2005. Response of barley grains to the interactive efftect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regul 45:215–22.

Ertürk, Y., Güleryüz, M., 2007. Erzincan koşullarında bazı yerli ve yabancı kayısı çeşitlerinin düşük sıcaklıklara dayanım derecelerinin belirlenmesi. Tarım Bilimleri Derg., 13(2): 128-136.

Ewart, K.V., Lin, Q., Hew, C.L., 1999. Structure, function and evolution of antifreeze proteins. Cellular Molecular Life Science 55, 271–283.

Faust, M., 1989. Physiology of temperature zone fruit trees. P: 338,307-330. John Wiley&Sons, Inc. New York.

Farrant, J.M., 2000. A comparison of mechanisms of desiccation tolerance among three angiosperm resurrection plant species. Plant Ecol., 151, pp. 29–39

Fletcher, G.L., Kao, M.H. and Fourney, R.M., 1986. Antifreeze peptides confer freezing resistance to fish. Can. J. Zool. 64, 1897–1901.

Fletcher, G.L., Goddard, S.V. and Wu, Y., 1999. Antifreeze Proteins and Their Genes: From Basic Research to Business Opportunity, Chemtech, 30(6): 359-90.

Fletcher, G. L., Hew, C, L. and Davies, P. L., 2001, Antifreeze Proteins of Telehost Fishes, *Annual Rev. Physiol*., 6: 359-90.

Fracheboud, Y., Haldimann, P, Leipner, J. and Stamp, P., 1999. Chlorophyll fluorescence as a selection tool for cold tolerance of photosynthesis in maize (*Zea mays* L.). Journal of Experimental Botany, 50(338): 1533-1540.

Galiba G., Nagy Z., Janda T., Szente K., Csintalan Zs., Tuberosa R., Monneveux P., Coumans M., 1997. Heat stress-induced differential alterations in the photosynthesis, membrane thermo-stability and biomass production of bread and durum wheat varieties. Acta Agron Hung 45: 1-15.

Gargın, S., 2011. Bağcılıkta kullanılan farklı amerikan asma anaçlarının yaprak klorofil yoğunluklarının (spad) belirlenmesi. Uluslararası Katılımlı I. Ali Numan Kıraç Tarım Kongresi ve Fuarı.

Gatschet, M. J., Taliafeno, C. M., Porter, D. R., Anderson, M. P., Anderson, J. A. and Jackson, K. W., 1996. A cold-regulated protein from bermudagrass crowns is a chitinase. Crop Sci. 36:712-718.

Genard, H., Le Saos, J., Hillard, J., Tremolieres, A., Boucaud, J., 1991. Effect of salinity on lipid composition, glycine betaine content and photosynthetic activity in chloroplasts of Suaeda maritime. Plant Physiol. Biochem. 29, 421–427.

Griffith, M. and Antikainen, M. 1996. Extracellular ice formation in freezing-tolerant plants. *In* Advances in low-temperature biology vol. 3, P.L. Steponkus ed., JAI Press, London, pp. 107-140.

Griffith, M. and Ewart, K.V., 1995, Antifreeze Proteins and Their Potential Use in Frozen Foods, *Biotechnology Advances*, 13(3): 375-402.

Griffith, M., Ala, P., Yang, D.S.C., Hon, W., and Moffatt, B.A., 1992. Antifreeze protein produced endogenously in winter rye leaves. Plant Physiol., 100: 593-596.

Griffith, M., Ala, P., Yang, D.S.C., Hon, W.C., Moffatt, B.A., 1992. Antifreeze protein produced endogenously in winter rye leaves. Plant Physiology 100, 593–596.

Griffith, M., Antikainen, M., Hon, W.-C., Pihakaski-Maunsbach, K., Yu, X.-M., Chun, J.U., Yang, D.S.C., 1997. Antifreeze proteins in winter rye. Physiologia Plantarum 100, 327–332.

Gutsa, L.V., Wisniewski, M., Nesbitt, N.T. and Tanino, K.T., 2003. Factors to consider in artifical freze tests. Acta Hort., 618: 493-507.

Guy, C. L., Niemi, K. J., and Brambl, R., 1985. Altered gene expression during cold acclimation of spinach. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82, 3673-3677.

Guy, C. L., and Haskell, D., 1987. Induction of freezing tolerance in spinach is associated with the synthesis of cold acclimation induced proteins. Plant Physiol. 84, 872-878.

Guy, C., Haskell, D. and Li, Q., 1998. Association of Proteins with the Stress 70 Molecular Chaperones at Low Temperature: Evidence for the Existence of Cold Labile Proteins in Spinach. Cryobiology 36, 301-314.

Guy, C.L., 1990. Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 41, 187–223

Guy, C.L., Haskell, D. and Yelenosky, G., 1988. Changes in Freezing Tolerance and Polypeptide Content of Spinach and Citrus at 5$^{o}$C. Cryobiology 25, 264-271.

Gülen, H., Çetinkaya, C., Kadıoğlu, M., Kesici, M., Cansev, A. ve Eriş, A., 2008. Peroxidase activity and lipid peroxidation in strawberry (*Fragaria* x *ananassa*) plants under low temperature. J. Biol. Environ. Sci., 2 (6): 95-100.

Haldimann, P., 1998. Low growth temperature-induced changes to pigment composition and photosynthesis in *Zea mays* genotypes differing in chilling sensitivity. *Plant, Cell and Environment* 21, 200–208.

Hale, M.G., Orcutt D.M., 1987. The physiology of plants under stres, John Wiley and Jons, 206p.New York.

Hanson, A.D., Scott, N.A., 1980. Betaine synthesis from radioactive precursors in attached, water-stressed barley leaves. Plant Physiol. 66, 342–348.

Hao, W., Arora, R., Yadav, A.K. and Joshee, N., 2009. Freezing tolerance and cold acclimation in Guava (*Psidium guajava* L.). Hortscience 44(5): 1258-1266.

Hara, M., Terashima, S., Fukaya T. and Kuboi, T., 2003. Enhancement of cold tolerance and inhibition of lipid peroxidation by citrus dehydrin in transgenic tobacco. Planta 217: 290-298.

Hara, M., Terashima, S., Kuboi, T., 2001. Characterization and cryoprotective activity of cold-responsive dehydrin from Citrus unshiu. J Plant Physiol 158:1333–1339.

Hare, P.D., Cress, W.A., 1997. Metabolic implications of stres induced proline accumulation in plants. Pl. Gr. Regl. 21, 79–102.

Hayashi, H., Alia, Mustardy, L., Deshnium, P., Ida, M. and Murata, N., 1997. Transformation of *Arabidopsis thaliana* with the *codA* gene for choline oxidase; accumulation of glycine betaine and enhanced tolerance to salt and cold stress. *Plant J.* 12: 133-142.

Hayden, D.B. and Baker, N.R., 1990. Damage to photosynthetic membranes in chilling-sensitive plants: maize, a case study. Critical Review in Biotechnology 9, 321-341.

Hiilovaara-Teijo, M., Hannukkala, A., Griffith, M., Yu, X.M. and Pihakaski-Maunsbach, 1999. Snow-mold-induced apoplastic proteins in winter rye leaves lack antifreeze activity. Plant Physiol. 121, 665–673.

Hincha, D.K., Meins Jr., F. and Schmitt, J.M. 1997. p-l,3- Glucanase is cryoprotective *in vitro* and is accumulated in leaves during cold acclimation. Plant Physiol. 114: 1077-1083.

Hodgins, R.R., Öquist, G., 1989. Porphyrin metabolism in chill-stressed seedlings of scots pine (*Pinus sylvestris*). Physiol. Plant 77, 620–624.

Hon,W-C., Griffith, M., Mlynarz, A., Kwok, Y.C. and Yang, DSC, 1995. Antifreeze proteins in winter rye are similar to pathogenesis-related proteins. Plant Physiol. 109, 879–889.

Hoshino T., Odaira M., Yoshida M. and Tsuda S., 1999. Physiological and biochemical significance of antifreeze substances in plants. J. Plant Res. 112: 255-261.

Hsu, S.Y., Hsu, Y.T., Kao, C.H., 2003. The effect of polyethylene glycol on proline accumulation in rice leaves. Biol. Plant. 46, 73–78.

Huang, T. and Duman, J.G., 2001. Cloning and characterization of a thermal hysteresis (antifreeze) protein with DNA-binding activity from winter bittersweet nightshade, *Solanum dulcamara*. Plant Mol. Biol. 48, 339–350.

Janda, T., Szalai, G., Tari, I. and Paldi, E., 1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. Planta 208: 175-180.

Janda, T., Szalai, G., Tari, I. and Paldi, E., 1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. Planta, 208: 175-180.

Jarillo, J.A., Capel, J., Leyva, A., Martnez-Zapater, J.M., Salinas, J., 1994. Two related low-temperature-inducible genes of Arabidopsis encode proteins showing high homolgy to 14-3-3 proteins, a family of putative kinase regulators. Plant Molecular Biology 25, 693–704.

Jokinen, K., Somersalo, S., Mäkelä, P., Urbano, P., Rojo, C., 1999. Glycinebetaine from sugar beet enhances the yield of field-grown tomatoes. Acta Hort. 487: 233–236.

Jouve, L., Engelmann, F., Noirot, M., Charrier, A., 1993. Evaluation of biochemical markers (sugar, proline, malondialdehyde and ethylene) for cold sensitivity in microcuttings of two coffee species. Plant Sci 91: 109–116.

Jung, G.A., Shih, S.C. and Shelton, D.C., 1967. Influence of Purines and Pyrimidines on Cold Hardiness of Plants. III. Associated Changes in Soluble Protein and Nucleic Acid Content and Tissue pH. Plant Physiology, 42: 1653-1657.

Kaşka, N., Güleryüz, M., Kaplankıran, M., Kafkas, S., Ercişli, S., Eşitken, A., Aslantaş, R. ve Akçay, M.E., 2005, Türkiye Meyveciliğinde Üretim Hedefleri, Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, 3-7 Ocak, Ankara, s519-549.

Kavi Kishore, P.B., Sangam, S., Amrutha, R.N., Laxmi, P.S., Naidu, K.R., Rao, K.R.S.S., Rao, S., Reddy, K.J., Theriappan, P., Sreenivasulu, N., 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. Curr. Sci. 88, 424–438.

Kazuoka, T. and Oeda K., 1994. Purification and characterization of COR85-oligomeric complex from cold-acclimated spinach. Plant Cell Physiol 35:601–611.

Khodary, S.E.A., 2004. Effect of Salicylic Acid on the Growth, Photosynthesis and Carbohydrate Metabolism in Salt Stressed Maize Plants. International Journal of Agriculture & Biology. Vol. 6, No. 1.

Ki, W.K. and Wamund, M.R., 1992. Low-temperature injury to strawberry floral organs at several stages of development. Hortscience 27(12): 1302-1304.

Ki, W.K. and Warmund, M.R., 1992. Low-temperature injury to strawberry floral organs at several stages of development. Hortscience, 27(2): 1302-1304.

Kishitani, S., Watanabe, K., Yasuda, S., Arakawa, K., Takabe, T., 1994. Accumulation of glycine betaine during cold acclimation and freezing tolerance in leaves of winter and spring barley plants. Plant Cell Environ. 17, 89–95.

Knight, C A., DeVries, A. L. and Olman, L. D. 1984. Fish antifreeze protein and the freezing and recrystallization of ice. Nature 308:295-296.

Knight, C A. and Duman, J. G. 1986. Inhibition of recrystallization of ice by insect thermal hysteresis proteins: A possible cryoprotective role. - Cryobiology 23: 256-262.

Knight H., Trewavas A.J., Knight M.R., 1996. Cold calcium signaling in *Arabidopsis* involves two cellular pools and a change in calcium signature after acclimation. *Plant Cell* 8:489–503.

Koster, K.L. and Lynch, D.V., 1992. Solute accumulation and compartmentation during the cold acclimation of Puma Rye. Plant Physiol. 98, 108–113.

Kozlowski, T.T., 1979. Complexity of Environmental Strees and Tree Responses, The Growth and Environmental Stresses. Univ. Of Washington Press, Seattle, 8-185.

Kushad, M.M. and George, Y., 1987. Evaluation of polyamine and proline levels during low temperature acclimation of citrus. Plant Physiol, 84: 692-695.

Küden A.B., Küden A., Paydaş S., Kaşka N. ve Imrak B., 1998. Bazı ılıman iklim meyve tür ve çeşitlerinin soğuğa dayanıklılığı üzerinde çalışmalar. Tr. J. of Agriculture and Forestry. 22: 101-109.

Leshem, Y., 1987. Membrane phospholipid catabolism and $Ca^{2+}$ activity in control of senescence. Physiol. Plant 69: 551–559.

Levitt, J., 1980. Responses Of Plants To Environmental Stresses. 2nd ed. Academic Pres, New York, 2: 607.

Li, C., A. Vihera-Aarnio, T. Puhakainen, O. Junttila, P. Heino, and Palva, E.T., 2003. Ecotype dependent control of growth, dormancy and freezing tolerance under seasonal changes in *Betula pendula* Roth. Trees (Berl.) 17:127– 132.

Li, C., T. Puhakainen, A. Welling, A. Vihera- Aarnio, A. Ernstsen, O. Junttila, P. Heino, and Lindow, S.E., Amy, D.C. and Upper, C.D., 1982. Bacterial ice nucleation: A factor in frost injury to plants. Plant Physiol. 70: 1084-1089.

Long, S.P., East, T.M., Baker, N.R., 1983. Chilling damage to photosynthesis in young *Zea mays*. I. Effects of light and temperature variation on photosynthetic $CO_2$ assimilation. *Journal of Experimental Botany* 34, 177–188.

Lutts S., Kinet J.M., Bouharmont J. 1996. NaCl-induced Senescence in Leaves of Rice *(Oryza sativa L.)* Cultivars Differing in Salinity Resistance. Annals of Botany. 78: 389-398.

Lyons, J. M., 1973. Chilling injury in plants. Annual Review of Plant Physiology, (24), 445-466.

Makela, P., Jokinen, K., Kontturi, M., Peltonen-Sainio, P., Pehu, E. and Somersalo, S., 1998. Foliar application of glycinebetaine- a novel product from sugar beet- as an approach to increase tomato yield. Industrial Crops and Products 7, 139-148.

Makela, P., Kontturi, M., Pehu, E. and Somersalo, S., 1999. Photosynthetic response of drought and salt-stressed tomato and turnip rape plants to foliar applied glycinebetaine. Physiol. Plant. 105: 45–50.

Marentes, E., Griffith, M., Mlynarz, A. & Brush, R. A., 1993. Proteins accumulate in the apoplast of winter rye leaves during cold acclimation. - Physiol. Plant. 87: 499-507.

Marian, C.O., A. Eris, S.L. Krebs, and R. Arora. 2004. Environmental regulation of a 25 kDa dehydrin in relation to *Rhododendron* cold acclimation. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 129:354–359.

Marini, R. P., Boyce, B. R. 1979. Influence of Low Temperatures During Dormancy on Growth and Development of Catskill Strawberry Plants. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 104:159-162.

Marini, R.P., Boyce, B.R., 1977. Susceptibility of crown tissues of `Catskill' strawberry plants to low-temperature injury. J. Am. Soc. Hort. Sci. 102, 515-516.

Marini, R.P., Boyce, B.R., 1979. Influence of low temperatures during dormancy on growth and development of `Catskill' strawberry plants. J. Am. Soc Hort. Sci 104, 159-162.

Meza-Basso, L., Alberdi, M., Raynal, M., Ferrero-Cadinanos, M. L., and Delseny, M., 1986. Changes in protein synthesis in rapeseed (*Brassica napus*) seedlings during a low temperature treatment. Plant Physiol. 82, 733-738.

Monroy A.F., Dhindsa R.S., 1995. Low temperature signal transduction: induction of cold acclimation-specific genes of alfalfa by calcium at 25±C. *Plant Cell* 7: 321–31.

Monroy A.F., Sarhan F., Dhindsa R.S., 1993. Cold-induced changes in freezing tolerance, protein phosphorylation, and gene expression. *Plant Physiol.* 102:1127–35.

Nagar P.K., 1995. Changes in abscisic acid, phenols and indoleaceticacid in bulbs of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.) during dormancy and sprouting. Scientia Horticulturae 63, 77-82.

Naidu, B.P., Paleg, L.G., Aspinall, D., Jennings, A.C. and Jones, G.P., 1991. Amino acid and glycine betaine accumulation in cold-stressed wheat seedlings. Phytochemistry. 30: 407-409.

Naidu, B.P., Paleg, L.G., Aspinall, D., Jennings, A.C., Jones, G.P., 1991. Amino acid and glycine betaine accumulation on cold-stressed wheat seedlings. Phytochemistry 30, 407–409.

Nayyar, H., Bains, T.S. and Kumar, S., 2005. Chilling stressed chickpea seedlings: effect of cold acclimation, calcium and abscisic acid on cryoprotective solutes and oxidative damage. Enviromental and Experimental Botany, 54: 275-285.

Nestby, R. 1997.Influence of Winter Covers on Crown Temperature, Tissue Browning and Yield of Korono Strawberries. Acta Hort. 439 (2): 887-892.

Nie, G.Y., Long, S.P., Baker, N.R., 1992. The effects of development at suboptimal growth temperatures on photosynthetic capacity and susceptibility to chilling-dependent photoinhibition in *Zea mays*. *Physiologia Plantarum* 85, 554–560.

Nomura, M., Ishitani, M., Takabe, T., Rai, A.K. and Takabe, T., 1995. *Synechococcus sp*. PCC7942 transformed with Escherichia coli bet genes produces glycine betaine from choline and acquires resistance to salt stress. Plant Physiol. 107: 703–708.

Olien CR, Smith MN. 1981. Protective systems that have evolved in plants. In: Olien CR, Smith MN, eds. Analysis and improvement of plant cold hardiness. Boca Raton: CRC Press, 61-87.

Ozturk, L., Demir, Y., 2002. In vivo and in vitro protective role of proline. Plant Growth Regul. 38, 259–264.

Özçağıran, R., Ünal, A., Özeker, E. ve İsfendiyaroğlu M., 2005. Ilıman İklim Meyve Türleri, Cilt I-II. ISBN: 975-483-580-2; 975-483-611-6.

Palonen, P., 1999. Relationship of seasonal changes in carbonhydrates and cold hardiness in canes and buds of three red raspberry cultivars. J. Amer. Hort. Sci. 124(5): 507-513.

Palta, J.P., Whitaker, B.D. and Weiss, L.S., 1993. Plasma membrane lipids associated with genetic variability in freezing tolerance and cold acclimation of *Solanum* species. Plant Physiol. 103: 793-803.

Palva, E.T., 2002. Cold acclimation in silver birch (*Betula pendula*). Development of freezing tolerance in different tissues and climatic ecotypes. Physiol. Plant. 116:478–488.

Pancheva T.V., Popova L.P., Uzunova A.N., 1996. Effects of salicylic acid on growth and photosynthesis in barley plants. J Plant Physiol 149: 57-63.

Park, E.J., Jeknic, Z. and Chen, T.H.H., 2006. Exogenous application of glycinebetaine increases chilling tolerance in tomato plants. Plant Cell Physiol. 47, 706–714.

Parker, J., 1962. Relationships among cold hardiness, water-soluble protein, anthocyanins, & free sugars in *Hedera helix* L. Plant Physiology, 37(6): 809-813.

Parody-Morreale, A., Murphy, K. P, Di Cera, E., Fall, R., DeVries, A. L. & Gill, S. J. 1988. Inhibition of bacterial ice nucleators by fish antifreeze glycoproteins. - Nature 333: 782-783.

Pearce S.R., 2001. Plant freezing and damage. Annals of Botany 87: 417-424.

Pearce, R. S. and Ashworth, E. N., 1992. Cell shape and localizatiori of ice in leaves of overwintering wheat during frost stress in the field. - Planta 188: 324-331.

Pearce, R. S., J988. Extracellular ice and cell shape in frost stressed cereal leaves: A low-temperature scanning-electron-microscopy study. - Planta 175: 313-324.

Pearce, R.S., 1999. Molecular analysis of acclimation to cold. Plant Growth Regulation, 29: 47-76.

Pırlak L., Eşitken A., 2004. Salinity Effects on Growth, Proline and Ion Accumulation in Strawberry Plants. Acta Agric. Scand., Sect. B., Soil and Plant Sci. 54: 189-192.

Polisensky D.H. and Braam J., 1996. Coldshock regulation of the *Arabidopsis TCH* genes and the effects of modulating intracellular calcium levels. *Plant Physiol.*111:1271–79.

Proebsting, Jr. E.L.,1956. An Apparatus and Method of Analysis for Studying Fruit bud Hardiness. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 68:6- 14.

Proebsting, Jr. E.L., 1959. Cold Hardiness of Elberta Peach Fruit Buds During Four Winter Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 74:144-154.

Proebsting, Jr. E.L., 1963. The Role fo Air Temperatures and Bud Development in Determining Hardiness of Dormant Elberta Peach Fruit Buds, Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 83:259-269.

Queiroz, C.G., Alonso, A., Mares-Guia, M., Magalhães, A.C., 1998. Chilling induced changes in membrane fluidity and antioxidant enzyme activities in *Coffea arabica* L. roots. Biol Plant 41: 403–413.

Rains, D.W., 1989. Plant tissue and protoplast culture: application to stres physiology and biochemistry. In: Jones, H.G., Flowers, T.J., Jones, M.B. (Eds.), Plants Under Stresses: Biochemistry, Physiology and Ecology and their Application to Plant Improvement. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 181–196.

Rajashekar, C.B., Zhou, H., Marcum, K.B., Prakash, O., 1999. Glycine betaine accumulation and induction of cold tolerance in strawberry (*Fragaria×annassa* Duch.) plants. Plant Sci. 148, 175–183.

Rajashekar, C.B., 2000. Cold response and freezing tolerance in plants. In: Wilkinson, R.E. (Ed.), Plant-Environment Interactions. Marcel Dekker, New York, pp. 321–341.

Raymond, J. A. and DeVries, A. L., 1977, Adsorption inhibition as a mechanism of freezing resistance in polar fishes ,*Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 74(6): 2589-2593.

Rhodes, D. and Hanson, A.D., 1993. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 44: 357–384.

Rhodes, D., Verslues, P.E., Sharp, R.E., 1999. Role of amino acids in abiotic stress resistance. In: Singh, B.K. (Ed.), Plant Amino Acids: Biochemistry and Biotechnology. Marcel Dekker, NY, pp. 319–356.

Rinne P.L.H., Kaikuranta P.L.M., van der Plas L.H.W., van der Schoot C., 1999. Dehydrins in cold-acclimated apices of birch (*Betula pubescens* Ehrh.): production, localization and potential role in rescuing enzyme function during dehydration. Planta 209:377– 388.

Robinson, S.P., Jones, G.P., 1986. Accumulation of glycine betaine in chloroplasts provides osmotic adjustment during salt stress. Aust. J. Plant Physiol. 13, 659–668.

Saltweit, M. E. 2001. Chilling injury is reduced in cucumber and rice seedlings and in tomato pericarp discs by heat-shocks applied after chilling. Postharvest Bio. Techn. 21: 169-177.

Showalter, A.M., 1993. Structure and function of plant cell wall proteins. Plant Cell 5: 9–23

Smart, R.E. and G.E. Bingham. 1974. Rapid estimates of relative water content. Plant Physiol., 53:258-260.

Steponkus, P.L., 1984. Role of plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. Annual Review Plant Physiology 35, 543–584.

Storey, K.B., Storey J.M., 1988. Freeze tolerance in animals. Physiol. Rev. 68, 27-84.

Stushnoff, C., Seufferheld, M.J. and Creegan, T., 1997. Oligosaccharides as endogenous cryoprotectants in woody plants. In: Li, P.H., Chen, T.H.H. (Eds.), Plant Cold Hardiness-Molecular Biology, Biochemistry, and Physiology. Plenum Press, NewYork, pp. 301–309.

Subbarao, G.V., Wheeler, R.M., Levine, L.H., Stutte, G.W., 2001. Glycine betaine accumulation, ionic and water relations of red-beet at contrasting levels of sodium supply. J. Plant Physiol. 158, 767–776.

Szalai G., Janda T., BartoÂk T., PaÂ ldi E., 1997. Role of light in changes in free amino acid and polyamine contents at chilling temperature in maize (Zea mays L.). Physiol Plant 101: 434-438.

Taiz, L. and Zeiger, E., 2008. Bitki Fizyolojisi. Üçüncü baskıdan çeviri kitap. Palme Yayıncılık, ISBN: 978-9944-341-61-5.

Tasgın, E., 2004. Düsük sıcaklık ve salisilik asidin kıslık buğday yapraklarındaki donma toleransı, oksidatif enzim aktiviteleri ve apoplastik proteinler üzerine etkileri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

Tasgın E., Atıcı Ö., Nalbantoğlu B. Popova LP. 2006. Effects of salicylic acid and cold treatments on protein levels and on the activities of antioxidant enzymes in the apoplast of winter wheat leaves. Phytochemistry, (67), 710-715.

Tewari, A.K., Tripathy, B.C., 1998. Temperature-stress-induced impairment of chlorophyll biosynthetic reactions in cucumber and wheat. Plant Physiol. 117, 851–858.

Thomashow M.F., 1990. Molecular genetics of cold acclimation in higher plants. *Adv. Genet.* 28:99–131.

Thomashow M.F., 1999. Plant Cold Acclimation: Freezing Tolerance Genes and Regulatory Mechanisms. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 50: 571–99.

Tohma, O. and Esitken, A., 2011. Response of salt stressed strawberry plants to foliar salicylic acid pre-treatments. Journal of Plant Nutrition. 34(4): 590-599.

Tronsmo, A. M., Gregersen, P., Hjeljord, L., Sandal, T, Bryngelsson, T. and CoUinge, D. B., 1993.Cold-induced disease resistance. *In* Mechanism of Plant Defense Responses (B. Fritig and M. Legrand, eds), p. 369. Kluwer Academic Pubhshers, Dordrecht ISBN 0-7923-2154-5.

Turhan , E., Evrenosoğlu, Y., Baykul, A. ve Aydoğan, Ç., 2011. Bazı çilek çeşitlerinde düşük sıcaklığa toleransın belirlenmesi. I. Ali Numan Kıraç Tarım Kongresi ve Fuarı.

Urrutia, M.E., Duman, J.G., Knight, C.A., 1992. Plant thermal hysteresis proteins. Biochim. Biophys. Acta 1121 (1–2), 199–206.

Ülkümen, L., 1973. Bağ-Bahçe Ziraatı. Atatürk Üniv. Basımevi, Erzurum.

Üzal, Ö., 2009. Tuz stresi altında yetiştirilen bazı çilek çeşitlerinde jasmonik asitin bitki gelişimi ve antioksidant enzim aktiviteleri üzerine etkisi. Yüzüncü Yıl Üni., Fen Bilimleri Ens., Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Doktora Tezi.

Von Wettstein, D., Gough, S., Kananagara, C., 1995. Chlorophyll biosynthesis. Plant Cell 7, 1039–1105.

Wang, C.Y., 1990. Chilling Injury of Horticultural Crops, Boca Raton, FL: CRC, 313 pp.

Wang, L. and Li, S., 2006. Salicylic acid-induced heat or cold tolerance in relation to $Ca^{2+}$ homeostasis and antioxidant systems in young grape plants. Plant Science 170: 685-694.

Wang, L.J., Jiang, W.B., Liu, H., Liu, W.Q., Kang, L., Hou, X.L., 2005. Promotion by 5-aminolevulinic acid of germination of pakchoi (Brassica campestris) seeds under salt stress. J. Integr. Plant Biol. 47 (9), 1084–1091.

Weiser. C. J. 1970. Cold resistance and injury in woody plants. Science 169: 1269-1278.

Westwood, M.N., 1978. Temperate-Zone Pomology. W. H. Freeman Company, San Francisco.

Williams, J.P., Khan, M.U., Mitchell, K. and Johnson, G., 1988. The effect of temperature on the level and biosynthesis of unsaturated fatty acids in diacylglycerols of *Brassica napus* leaves. Plant Physiol. 87: 904-910.

Willits, D.H. ve Peet, M.M. 1998. The effect of night temperature on greenhouse grown tomato yields in warm climates. Agric. Forest Meteorol. 92: 191-202.

Wilson P., 1993 Explaining thermal hysteresis by the Kelvin effect. *Cryo-Letters* 14, 115-117.

Wisniewski, M. and Arora, R., 1992. Response of fruit trees to cold temperatures, p. 299–320. In: Biggs A.R. (ed.). Handbook of cytology, histology and histochemistry of fruit tree diseases.. CRC Press, Inc, Boca Raton, FL.

Wisniewski, M., Webb, R., Balsamo, R., Close, T.J., Yu, X.-M., Griffith, M., 1999. Purification, immunolocalization, cryoprotective, and antifreeze activity of PCA60: a dehydrin from peach (*Prunus persica*). Physiologia Plantarum 105, 600–608.

Wyn Jones, R.G., Storey, R., 1981. Betaines. In: Paleg, L.G., Aspinall, A. (Eds.), The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants. Academic Press, Sydney, pp. 171–204.

Xin, Z. and Browse, J., 2000. Cold comfort farm: The acclimation of plants to freezing temperatures. Plant Cell Environ. 23:893–902.

Xin, Z., 2002. Acquired freezing tolerance in higher plants: The sensing and molecular responses to low nonfreezing temperatures. Plant Stress and Germplasm Development Unit, Plant Stress and Water Conservation Laboratory, USDA, Lubbock, TX 79415, USA.

Xing, W. and Rajashekar, C.B., 2001. Glycine betaine involvement in freezing tolerance and water stres in *Arabidopsis thaliana*. Environmental and Experimental Botany 46, 21- 28.

Xing, Z., Browse, J., 1998. Eskimo1 mutants of Arabidopsis are constitutively freezing-tolerant. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 95, 7779–7804.

Yancey, P.H., 1994. Compatible and counteracting solutes. In: Strange, K. (Ed.), Cellular and Molecular Physiology of Cell Volume Regulation. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 81–109.

Yang, D.S.C., Sax A., Chakrabartty A., Hew C.L., 1988. Crystal structure of an antifreeze polypeptide and its mechanistic implications. Nature, (333) 232-237.

Yang, X., Lu, C., 2005. Photosynthesis is improved by exogenous glycinebetaine in salt-stressed maize plants. Physiol. Plant. 124, 343–352.

Yazıcı, K., Dal, B. ve Baktır I., 2001. Meyve yetiştiriciliğinde don ve soğuk zararının etki mekanizması. BATEM.

Yeh, Y. & Feeney, R. E. 1996. Antifreeze proteins: Structures and mechanisms of function. - Chem. Rev. 96: 601-617.

Yelenosky, G., 1979 Accumulation of free proline in citrus leaves during cold hardening of young trees in controlled temperature regimes. Plant Physiol 64: 425-427.

Yıldırım, C., 2008. Model sistemlerde antifriz protein kullanımının yeniden kristallenmeye ve bazı ısısal özelliklere etkisinin incelenmesi. Yüksek lisans tezi.

Yılmaz, H., Oğuz, H.İ., Yıldız K. ve Geçer, M.K., 2006. Soğuk bölgelerde çilek yetiştiriciliğinde karşılaşılan sorunlar ve bazı çözüm önerileri. II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, 61-69.

Yu, X.M., Griffith M., 2001. Winter rye antifreeze activity increases in response to cold and drought, but not abscisic acid. Physiologia Plantarum, (112), 78–86.

Zamecnik, J. & Janacek, J. 1992. Interaction of antifreeze proteins from cold-hardened cereal seedlings with ice nucleation active bacteria. - Cryobiology 29: 718-719.

Zengin, F. K., Munzuroğlu, Ö., 2004. Fasulye Fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L.) Kök, Gövde ve Yaprak Büyümesi Üzerine Kadmiyum($Cd^{++}$) ve Civa ($Hg^{++}$)'nın Etkileri. C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi Cilt 24 Sayı 1.

Zhang, X.-Y., Liang, C., Wang, G.-P., Luo, Y. and Wang W., 2010. The protection of wheat plasma membrane under cold stres by glycine betaine overproduction. Biologia Plantarum, 54 (1): 83-88.

Zhu, B., Chen, T. H. H. and U, P H., 1993. Expression of an ABA-responsive osmotin-like gene during the induction of freezing tolerance in *Solanum commersonii*. - Plant. Mol. Biol. 21:729-735.

# ÖZGEÇMİŞ

## KİŞİSEL BİLGİLER


**Adı Soyadı** **:** Servet ARAS

**Uyruğu** **:** T.C.

**Doğum Yeri ve Tarihi** **:** Bornova, 13/09/1987

**Telefon** **:** 541 353 3566

**Faks** **:** 332 241 0108

**e-mail** **:** servetaras@selcuk.edu.tr


## EĞİTİM

| Derece | Adı, İlçe, İl | Bitirme Yılı |
|---|---|---|
| Lise | : Hayrettin Duran Lisesi | 2004 |
| Üniversite | : Ege Üniversitesi | 2010 |
| Yüksek Lisans | : Selçuk Üniversitesi | Devam ediyor |
| Doktora | : ---------- | |

## UZMANLIK ALANI

Meyve Yetiştirme ve Islahı

## YABANCI DİLLER

İngilizce ve İspanyolca

## YAYINLAR


Esitken, A. ve Aras, S., 2012. Meyve Bahçelerinde Yazlık Bakım İşlemleri. Tarım Türk Dergisi, No:35, 86-92.

Aras, S. ve Esitken, A., 2012. Yumuşak Çekirdekli Meyveler. Tarım Türk Dergisi, No: 36, 28-30.

İpek, M., Arıkan, Ş., Aras, S., Eşitken, A., Pırlak, L., Şahin, M., Mete, N. ve Altan, K., 2012. Memecik ve Domat Zeytin Çeşitlerinde Bakteri, IBA ve Yaralama

Uygulamalarının Çelik Köklenmesi Üzerine Etkileri. Türkiye II. Zeytin ve Zeytinyağı Kongresi, Poster.