

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özay Özgür GÖKMEN

**DOMATESTE SOĞUK STRESİNİN ANTIOKSİDATİF
MEKANİZMALAR YÖNÜNDEN ARAŞTIRILMASI**

TOPRAK ANABİLİM DALI

ADANA, 2006

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DOMATESTE SOĞUK STRESİNİN ANTIOKSİDATİF
MEKANİZMALAR YÖNÜNDEN ARAŞTIRILMASI**

Özay Özgür GÖKMEN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
TOPRAK ANABİLİM DALI

Bu tez 16/01/2006 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.

İmza.....	İmza.....	İmza.....
Prof. Dr. M.Rıfat DERİCİ	Doç. Dr. Levent ÖZTÜRK	Yard. Doç. Dr. Sema KARANLIK
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Toprak Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: ZF2004 YL49

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DOMATESTE SOĞUK STRESİNİN ANTIOKSİDATİF
MEKANİZMALAR YÖNÜNDEN ARAŞTIRILMASI**

Özay Özgür GÖKMEN

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TOPRAK ANABİLİM DALI**

Danışman : Prof. Dr. M. Rifat DERİCİ

Yıl: 2006, Sayfa: 69

Jüri : Prof. Dr. M. Rifat DERİCİ.

Doç. Dr. Levent ÖZTÜRK

Yard. Doç. Dr. Sema KARANLIK

Düşük sıcaklık stresi, bitkisel üretimi sınırlayan en önemli çevresel stres faktörlerinden biridir. Özellikle sera koşullarında yetiştirilen domateslerde, düşük sıcaklık stresinden kaynaklanan ciddi boyutlarda verim düşüklüğü meydana gelmektedir. Bu tez çalışmasında 137 farklı domates genotipi taranarak, bunların soğuk etkinliği (düşük sıcaklıklardaki kuru madde verim kapasitesi) belirlenmiştir. Soğuk etkinliklerine göre seçilen duyarlı ve dayanıklı genotiplerde, uygulanan strese karşı dayanıklılıkta, toksik O₂ radikallerinin detoksifikasyonunu sağlayan antioksidan bileşiklerin ve enzimlerin (antioksidatif savunma sistemlerinin) rolü araştırılmıştır.

Screening denemelerinde düşük sıcaklık stresi 14 gün uygulanan domates genotiplerinde ortalama soğuk etkinliği % 45.1, 9 gün uygulananlarda ise % 73,9 bulunmuştur. Uzun süreli düşük sıcaklık uygulamasına en çok aktive olan enzimin SOD olduğu (% 44 artış), bunu APaz (% 15 artış), GRaz (% 19 azalış) ve KATaz'ın (% 23 azalış) izlediği belirlenmiştir. Antioksidant bileşikler düşük sıcaklıkta önemli oranda artmıştır. Kontrol uygulamasına göre düşük sıcaklıkta çözünür SH-grupları 1,8 kat artarken, düşük sıcaklık stresi öncesinde yapraktan H₂O₂ ve paraquat (PQ) uygulamasıyla sırasıyla 2,3 ve 2,1 kat arttırılabildiği saptanmıştır.

Deneme sonuçları düşük sıcaklığa bağlı fizyolojik değişimlerin bitkinin yaşlı ve genç yapraklarında farklı etkilerle ortaya çıktığını göstermektedir. Bitkinin yaşlı yapraklarında klorofil azalması soğuk etkinliği düşük genotiplerde daha fazla miktarlarda olmuştur. Oksidatif stres artırıcı (OSA) maddelerin (PQ, H₂O₂, Salisilik asit (SA)) uygulamaları kuru madde verimine sadece genotip bazında etki yapmıştır. OSA bazı genotiplerde düşük sıcaklıktaki kuru madde kaybını artırırken bazılarında ise azaltmıştır. Düşük sıcaklıklarda kuru madde veriminin ve dolayısıyla soğuk etkinliğinin yapraktan OSA uygulanması ile kısmen arttırılabildiği belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar, düşük sıcaklık stresine karşı dayanıklılıkta domates genotipleri arasında faydalı olabilecek önemli bir varyasyonun bulunduğunu göstermektedir. Ancak soğuk etkinliğindeki söz konusu farkları açıklamada antioksidatif sistemlerin yetersiz kaldığı gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Domates, düşük sıcaklık stresi, tolerans, antioksidatif enzimler ve antioksidantlar, toksik O₂ radikalleri

ABSTRACT

MSc THESIS

INVESTIGATION OF LOW TEMPERATURE STRESS IN TOMATO IN RESPECT TO ANTIOXIDATIVE MECHANISMS

Özay Özgür GÖKMEN

UNIVERSITY OF CUKUROVA
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF SOIL SCIENCE

Supervisor : Prof. Dr. M.Rıfat DERİCİ

Year: 2006, Page: 69

Jury : Prof. Dr. M.Rıfat DERİCİ

Assoc. Prof. Levent ÖZTÜRK

Assist. Prof. Sema KARANLIK

Low temperature stress is a major environmental factor limiting plant productivity. Low temperature stress causes severe depressions in yield in greenhouse grown tomato. In this thesis study 137 different tomato genotypes were screened for their efficiency to grow under low temperatures. In genotypes with contrasting efficiency under low temperature stress, the role of antioxidants and antioxidative enzymes in detoxification of toxic O₂ radicals were evaluated.

In screening experiments, average efficiency of the genotypes tested was 45.1, 9 % and 73.9 % in 14 and 9-day-cold treated plants respectively. Under long term low temperature regime, activation of antioxidative enzymes were in the order of superoxide dismutase (44 % increase), ascorbate peroxidase (15 % increase), glutathione reductase (19 % decrease) and catalase (23 % decrease). The levels of antioxidants were also significantly enhanced under low temperature stress. Concentration of buffer soluble SH-groups was induced by a factor of 1.8. Foliar application of stress enhancers H₂O₂ and paraquat (PQ) prior to low temperature treatment were also effective in induction of SH-groups.

There were significant differences in activation of antioxidative systems depending on the age of leaf tissue in all genotypes. Cold induced chlorophyll degradation was more pronounced in the old leaves of non-efficient plants. Oxidative stress inducers (OSI) were only effective in dry matter production of genotypes. Pre-OSI treatment resulted in induction or reduction in dry matter production under low temperature stress. It is suggested that OSI treatment before the onset of low temperature treatment may have some beneficial effect on the efficiency of some genotypes.

Results obtained in this research have shown a significant and exploitable variation in cold tolerance of tomato genotypes. However changes in antioxidative systems under low temperature regimes was not enough to explain the variations in efficiency.

Key words: Tomato, low temperature stress, tolerance, antioxidative enzymes and antioxidants, toxic O₂ radicals

TEŞEKKÜR

Herzaman görüşleriyle yönlendici olan ve huzurlu bir çalışma ortamı oluşturan Toprak Bölüm başkanımız ve aynı zamanda danışman hocam Prof. Dr. M. Rıfat DERİCİ'ye, tez çalışmamın her aşamasında özveriyle desteklerini esirgemeyen ve bilimsel etiği öğrendiğim hocam Doç. Dr. Levent ÖZTÜRK'e, ayrıca eşi Dr. Birgül ÖZTÜRK'e de içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

Beni bu yaşa getiren maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen babam Yaşar GÖKMEN'e, annem Emine GÖKMEN'e ve kardeşlerime; ayrıca Aylin DEMİRER'e ve Zir. Müh. Mehmet GÜL'e de sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmam süresince yardımlarını gördüğüm Prof. Dr. İsmail ÇAKMAK, Doç. Dr. Bülent TORUN, Doç. Dr. Yıldız DAŞGAN, Yard. Doç. Dr. Selim EKER, Yard. Doç. Dr. Ayfer TORUN, Yard. Doç. Dr. Sema KARANLIK, Ar. Gör. Dr. Faruk ÖZKUTLU, Ar. Gör. Dr. Bülent Emin ERENOĞLU, Öğr. Gör. Dr. Hakan AKTAŞ, Arş. Gör. Halil ERDEM, Zir. Yük. Müh. M. Atilla YAZICI, Zir. Yük. Müh. Yıldız D. ERDİNÇ, Zir. Yük. Müh. Bilgen HOŞGÖKDELEN, Zir. Yük. Müh. Deniz YALIM, Zir. Müh. Ayla ÇELİK, Zir. Müh. Hüseyin YALÇIN, Zir. Müh. M. Nuri DÖLEK, Zir. Müh. Nazife ERDEM, Zir. Müh. Pınar YARDIM, Zir. Müh. Yurdanur SAĞLIK ve bölüm sekreterimiz Huriye AVŞAR'a ayrıca Sabancı Üniversitesi'nden Burcu KAPLAN, Burcu KÖKTÜRK, Ceyda ÇORUH, Emel YEŞİL, Filiz DEDE, Filiz KISAAYAK, Özge CEBECİ, Sibel PÜRÇÜKLÜ, Veli BAYIR, Zeynep IŞIK'a ve çalışmamda emeği geçen herkese çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	XII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
3. MATERYAL VE METOD	8
3.1. Materyal	8
3.1.1 Denemelerde Kullanılacak Bitki Materyali ve Ekipmanlar	8
3.2. Metod	8
3.2.1. Besin Çözeltilisinin Hazırlanması	8
3.2.2. Denemeler İçin Bitkilerin Yetiştirilmesi	9
3.2.3. Screening Denemelerinin Yürütülmesi	9
3.2.4. Soğuk Oda Denemelerinin Yürütülmesi	10
3.2.5. Domates Genotiplerinin Farklı Soğuk Etkinliğinden Sorumlu Olabilecek Antioksidatif Sistemlerin Araştırılması	10
3.2.6. Düşük Sıcaklık Stresi Öncesinde Yaprakdan Uygulanan Salisilik Asit (SA), Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) ve Paraquat'ın (PQ) Antioksidatif Sistemlere Etkisinin Araştırılması için Kurulan Soğuk Oda Denemeleri	10
3.2.7. Düşük Sıcaklık Stresi Süresince Antioksidatif Sistemlerin Farklı Yaştaki Yapraklarda Araştırılması İçin Kurulan Soğuk Oda Denemeleri	11
3.2.8. Kuru Madde Verimi (Soğuk Etkinliğinin Hesaplanması)	12
3.2.9. Yeşil Aksamda Yapılan Analizler	12
3.2.10. Çözünür Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi	12
3.2.11. H ₂ O ₂ Konsantrasyonunun Belirlenmesi	13

3.2.12. Klorofil Analizi	13
3.2.13. Paraquat Toleransı Testi	13
3.2.14. Antioksidatif Enzimler ve Antioksidantların Analizleri	14
3.2.14.1. Antioksidatif Enzim Analizleri	14
3.2.14.2. Antioksidantların Analizleri	15
3.2.14.2.(1). Askorbik Asit	15
3.2.14.2.(2). SH-Grupları (Redükte Glutasyon)	16
3.2.14.2.(3). Antosiyanin Konsantrasyonu	16
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	17
4.1. Screening Denemeleri	17
4.1.1. I. Screening Denemesi	17
4.1.2. II. Screening Denemesi	20
4.1.3. III. Screening Denemesi	20
4.1.4. IV. Screening Denemesi	25
4.1.5. V. Screening Denemesi	30
4.2. Domates Genotiplerinin Farklı Soğuk Etkinliğinden Sorumlu Olabilecek Antioksidatif Sistemlerin Araştırılması.....	33
4.2.1. Antosiyanin Konsantrasyonu	33
4.2.2. Askorbik Asit Konsantrasyonu	34
4.2.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi	35
4.2.4. Askorbat Peroksidaz (APaz) Aktivitesi	36
4.2.5. Glutasyon Redüktaz (GRaz) Aktivitesi	37
4.2.6. Katalaz (KATaz) Aktivitesi	38
4.2.7. Protein Konsantrasyonu	40
4.3. Donma Derecesine Yakın Düşük Gece Sıcaklığının Paraquat Toleransına Etkisinin Araştırılması	40
4.4. Düşük Sıcaklık Stresi Öncesinde Yapraktan Uygulanan Salisilik Asit, Hidrojen Peroksit ve Paraquat'ın Antioksidan Bileşiklere Etkisinin Araştırılması	42
4.5. Düşük Sıcaklık Stresi Süresince Antioksidatif Sistemlerinin Farklı Yaştaki Yapraklarda Araştırılması	50

5. TARTIŞMA VE SONUÇ	60
KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ	69

Çizelge 4.1.	Substrat ortamında 30 gün yetiştirilen 50 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki kuru madde üretimi ve soğuk etkinliği değerleri (soğuk etkinliği = soğuk uygulamasındaki kuru madde üretimi/kontrol koşullarındaki kuru madde üretimi * 100) ..	18
Çizelge 4.2.	Substrat ortamında 36 gün yetiştirilen 41 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki kuru madde üretimi ve soğuk etkinliği değerleri (soğuk etkinliği = soğuk uygulamasındaki kuru madde üretimi/kontrol koşullarındaki kuru madde üretimi * 100) ...	21
Çizelge 4.3.	Substrat ortamında 30 gün yetiştirilen 36 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki kuru madde üretimi ve soğuk etkinliği değerleri (soğuk etkinliği= soğuk uygulamasındaki kuru madde üretimi/kontrol koşullarındaki kuru madde üretimi * 100)	23
Çizelge 4.4.	Substrat ortamında 32 gün yetiştirilen 29 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki kuru madde üretimi ve soğuk etkinliği değerleri (soğuk etkinliği = soğuk uygulamasındaki kuru madde üretimi/kontrol koşullarındaki kuru madde üretimi * 100)	26
Çizelge 4.5.	I., II. ve III. screening denemelerinde soğuk etkinliği çok yüksek veya çok düşük bulunan domates genotiplerinin yeniden test edildiği IV. denemedeki soğuk etkinliği değerleri.....	28
Çizelge 4.6.	Substrat ortamında 28 gün yetiştirilen 29 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki kuru madde üretimi ve soğuk etkinliği değerleri (soğuk etkinliği = soğuk uygulamasındaki kuru madde üretimi/kontrol koşullarındaki kuru madde üretimi * 100) ...	31

Çizelge 4.7.	Soğuk etkinliği birbirinden farklı 12 domates genotipinin kontrol ve soğuk (8/16 °C gece/gündüz) uygulamalarındaki antosiyanin konsantrasyonu	34
Çizelge 4.8.	Soğuk etkinliği birbirinden farklı 12 domates genotipinin kontrol ve soğuk (8/16 °C gece/gündüz) uygulamalarındaki askorbik asit (AsA) konsantrasyonu	35
Çizelge 4.9.	Soğuk etkinliği birbirinden farklı 12 domates genotipinin kontrol ve soğuk (8/16 °C gece/gündüz) uygulamalarındaki süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi	36
Çizelge 4.10.	Soğuk etkinliği birbirinden farklı 12 domates genotipinin kontrol ve soğuk (8/16 °C gece/gündüz) uygulamalarındaki askorbat peroksidaz enzim (APaz) aktivitesi	36
Çizelge 4.11.	Soğuk etkinliği birbirinden farklı 12 domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulamalarındaki glutatyon redüktaz (GRaz) enzim aktivitesi	37
Çizelge 4.12.	Soğuk etkinliği birbirinden farklı 12 domates genotipinin kontrol ve soğuk (8/16 °C gece/gündüz) uygulamalarındaki katalaz (KATaz) enzim aktivitesi	38
Çizelge 4.13.	Soğuk etkinliği birbirinden farklı 12 domates genotipinin kontrol ve soğuk (8/16 °C gece/gündüz) uygulamalarındaki protein konsantrasyonu	40
Çizelge 4.14.	Hasat öncesi 9 gün süreyle geceleri uygulanan düşük sıcaklık stresinin (8 saat $2\pm 1^{\circ}\text{C}$) 32 günlük 8 farklı domates genotipinde yaprak segmentlerinin klorofil konsantrasyonu ile belirlenen paraquat (PQ) toleransına etkisi (PQ toleransı= $\text{PQ}200/\text{PQ}0*100$)	41
Çizelge 4.15.	Önceden yapılan değişik yaprak uygulamalarının düşük sıcaklık stresi uygulanan farklı domates genotiplerinde yaprakların klorofil içeriğine (SPAD değeri) etkisi	43
Çizelge 4.16.	Farklı domates genotiplerinde düşük sıcaklık stresi altında önceden yapılan değişik yaprak uygulamalarıyla	

	yaprakların hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) konsantrasyonuna etkisi	45
Çizelge 4.17.	Önceden yapılan değişik yaprak uygulamalarının düşük sıcaklık stresi uygulanan farklı domates genotiplerinde yaprakların antosiyanin konsantrasyonuna etkisi	47
Çizelge 4.18.	Önceden yapılan değişik yaprak uygulamalarının düşük sıcaklık stresi uygulanan farklı domates genotiplerinde yaprakların SH-grupları konsantrasyonuna etkisi	49
Çizelge 4.19.	Önceden yapılan değişik yaprak uygulamalarının düşük sıcaklık stresi uygulanan farklı domates genotiplerinde yaprakların askorbik asit (AsA) konsantrasyonuna etkisi	50
Çizelge 4.20.	Sekiz gün süreyle uygulanan düşük gece sıcaklığının (2±1°C) 4 farklı domates genotipinde kuru madde üretimine etkisi	52
Çizelge 4.21.	Sekiz gün süreyle uygulanan düşük gece sıcaklığının (2±1°C) 4 farklı domates genotipinde genç ve yaşlı yaprakların klorofil içeriğine (SPAD değeri) etkisi	54
Çizelge 4.22.	Sekiz gün süreyle uygulanan düşük gece sıcaklığının (2±1°C) 4 farklı domates genotipinde genç ve yaşlı yaprakların antosiyanin konsantrasyonuna etkisi	55
Çizelge 4.23.	Sekiz gün süreyle uygulanan düşük gece sıcaklığının (2±1°C) 4 farklı domates genotipinde genç ve yaşlı yaprakların protein konsantrasyonuna etkisi	56
Çizelge 4.24.	Sekiz gün süreyle uygulanan düşük gece sıcaklığının (2±1°C) 4 farklı domates genotipinde genç ve yaşlı yaprakların askorbat peroksidaz (APaz: nmol mg ⁻¹ prt. dk ⁻¹) aktivitesine etkisi	57
Çizelge 4.25.	Sekiz gün süreyle uygulanan düşük gece sıcaklığının (2±1°C) 4 farklı domates genotipinde genç ve yaşlı yaprakların glutatyon redüktaz (GRaz: nmol mg ⁻¹ prt. dk ⁻¹) aktivitesine etkisi	58

Çizelge 4.26. Sekiz gün süreyle uygulanan düşük gece sıcaklığının (2±1°C) 4 farklı domates genotipinde genç ve yaşlı yaprakların katalaz (KATaz: nmol mg ⁻¹ prt. dk ⁻¹) aktivitesine etkisi	59
Çizelge 4.27. Sekiz gün süreyle uygulanan düşük gece sıcaklığının (2±1°C) 4 farklı domates genotipinde genç ve yaşlı yaprakların süperoksit dismutaz (SOD: U mg ⁻¹ prt.) aktivitesine etkisi	59

Şekil 4.1.	Substrat ortamında 30 gün yetiştirilen 50 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki yeşil aksam kuru madde üretimi ile soğuk etkinliği arasındaki ilişki	19
Şekil 4.2.	Substrat ortamında 36 gün yetiştirilen 41 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki kuru madde üretimi ile soğuk etkinliği arasındaki ilişki	22
Şekil 4.3.	Substrat ortamında 30 gün yetiştirilen 36 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki yeşil aksam kuru madde üretimi ile soğuk etkinliği arasındaki ilişki	24
Şekil 4.4.	Substrat ortamında 31 gün yetiştirilen 29 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki kuru madde üretimi ile soğuk etkinliği arasındaki ilişki	27
Şekil 4.5.	Domates genotiplerinin I., II. ve III. screening denemelerindeki soğuk etkinliği ile IV. denemedeki soğuk etkinliği değerleri arasındaki ilişki	29
Şekil 4.6.	Substrat ortamında 28 gün yetiştirilen 29 farklı domates genotipinin soğuk ve kontrol uygulaması koşullarındaki kuru madde üretimi ile soğuk etkinliği arasındaki ilişki	32
Şekil 4.7.	Domates genotiplerinin 9 ve 14 günlük soğuk etkinlikleri arasındaki ilişki	33
Şekil 4.8.	Soğuk etkinliği birbirinden farklı 12 domates genotipinde soğuk uygulamasındaki antioksidatif enzimlerin değişimi	39
Şekil 4.9.	Aynı yaştaki (35 gün) domates genotiplerinde 0, 2, 4, 6 ve 8 günlük düşük sıcaklık (2/24°C, 8 saat gece/12 saat gündüz) uygulaması sonucu yeşil aksamda kuru madde kaybı	53

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
µg	: mikrogram
µM	: mikromolar
ABS	: Absorbans
APaz	: Askorbat Peroksidaz
AsA	: Askorbik asit
B	: Bor
cm	: Santimetre
Cl	: Klor
CO ₂	: Karbon dioksit
DTNB	: Dinitroditiyo benzoik asit
KATaz	: Katalaz
dk	: dakika
DTT	: Dithiothreitol
EC	: Elektriksel İletkenlik
EDTA	: Etilendiamintetrasetik asit
Fe	: Demir
g	: gram
<i>g</i>	: gravite sabiti
GRaz	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Redükte (indirgenmiş) Glutasyon
GSSH	: Okside Glutasyon
HClPO ₄	: Perklorik asit
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
kg	: kilogram
L	: Litre
m	: metre
M	: Molar
mg	: miligram
Mg	: Magnezyum

ml	: mililitre
mM	: milimolar
Mn	: Mangan
Mo	: Molibden
N	: Normal
NEM	: N-Ethylmaleimide
NBT	: Nitroblue tetrazolium chloride
nm	: nanometre
O ₂ ⁻	: Süperoksit Radikal
°C	: Santigrat derece
OH ⁻	: Hidroksil Radikal
OSA	: Oksidatif Stres Arttırıcılar
P	: Fosfor
pH	: Asitlik-Baziklik Faktörü
ppm	: Milyonda bir kısım
PQ	: Paraquat
prt	: protein
S	: Kükürt
SA	: Salisilik asit
SE	: Soğuk Etkinliği
SF	: Sulandırma Faktörü
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SPAD	: Soil-Plant Analysis Development
TCA	: Trichloroacetic acid
TA	: Taze Ağırlık
U	: Ünite
USÇ	: Uygulama Stok Çözeltisi
v/v	: Volume/volume (Hacim/hacim)
w/v	: Weigh/volume (Ağırlık/hacim)
Zn	: Çinko

1.GİRİŞ

Ülkemizde olduğu gibi dünyanın değişik bölgelerinde bitkisel üretimi en çok sınırlayan çevresel stres etmenlerinden biri ekstrem sıcaklıklardır. Abiyotik stres faktörlerinden olan ekstrem sıcaklıklar üzerinde en çok çalışılanı ise düşük sıcaklık stresidir (Bruggemann ve ark., 1995; Willits ve Peet, 1998; Saltveit, 2001). Bu problemin en çok etkilediği bitkilerden biri domatestir.

Düşük sıcaklık stresi domateste çoğunlukla 15 °C altında ortaya çıkmakta ve bitkilerde stresin şiddetine bağlı olarak ciddi boyutlarda büyüme bozukluklarına ve verim azalmasına neden olmaktadır. Özellikle sera koşullarında yetiştirilen domateslerde, düşük sıcaklık stresinden kaynaklanan ciddi boyutlarda verim düşüklüğü ortaya çıkmaktadır. Bu problemler çimlenme aşamasından meyve oluşumu ve meyve kalitesine kadar olan büyüme ve gelişme süreçleri içinde ortaya çıkabilmektedir. Düşük sıcaklık stresine karşı dayanıklılıkta domates genotipleri arasında önemli bir varyasyonun olduğu bilinmektedir (Walker ve McKersie, 1993; Venema ve ark., 2000; Koroleva ve ark., 2000). Domates genotipleri arasında düşük sıcaklık stresine dayanımda önemli bir genetiksel farklılığın olmasından dolayı son yıllarda hem klasik ıslah çalışmalarında hem de moleküler ve fizyolojik düzeydeki araştırmalarda düşük sıcaklık stresine dayanıklı yeni genotiplerin geliştirilmesi ve dayanıklılıkta rol alan mekanizmaların belirlenmesi çalışmalarına giderek artan bir önem verilmektedir (Foolad ve ark., 1998; Truco ve ark., 2000; Fellner ve Shawney, 2001). Son yıllarda ortaya çıkan yaygın görüşe göre, bitkilerde düşük sıcaklıktan kaynaklanan hücre tahribatından doğrudan toksik O₂ radikalleri sorumludur. Bu nedenle, düşük sıcaklık stresine karşı dayanıklılıkta, toksik O₂ radikallerinin detoksifikasyonunu sağlayan antioksidantların (SH-grupları, vitamin C, antosiyanin) ve antioksidatif enzimlerin (süperoksit dismütaz, askorbat peroksidaz, katalaz, glutatyon redüktaz) toleransta belirleyici bir rol oynadığı düşünülerek domateste düşük sıcaklık stresine karşı genotipsel farklılıkları ve bu farklılıkta antioksidatif savunma mekanizmalarının rolü incelenmiştir.

Ülkemiz tarımında domates üretimi son 20 yılda 2 katına çıkarak 8 milyon tona yükselmiştir. Son 5 yıl ortalaması ise 8.917.000 tondur. 2004 yılı dünya

domates üretimi 120.384.017 tondur. Türkiye 8 milyon ton domates üretimi ile toplam üretimin % 6,65'ini oluşturmaktadır (2004 verileri) (<http://faostat.fao.org>). Bu üretim miktarıyla Türkiye, dünya domates üretiminde ABD ve Çin'den sonra 3. büyük üretici ülke konumundadır (Vural ve Ark., 2000).

Ülkemizde domates yetiştiriciliği örtü altı veya açık sahada olmak üzere tüm bölgelerimizde yapılmaktadır. Düşük sıcaklık, hem erken büyüme dönemlerinde hem de çiçeklenme döneminde domates bitkisinin büyümesini ve verimini en çok sınırlayan faktörlerden biri olarak bilinmektedir. Uygun dölleme sıcaklık aralığı 18-30 °C'dir (Sevgican, 1999). Düşük sıcaklık toleransı yüksek olan yeni genotiplerin belirlenmesi ve toleransın fizyolojik olarak karakterize edilmesi, bu konudaki seleksiyon ve ıslah çalışmalarının hızını arttıracaktır. Ayrıca, düşük sıcaklık stresi gibi oksidatif strese dayanıklı olan bir genotipin kuraklık, yüksek sıcaklık, tuzluluk gibi diğer çevresel abiyotik stres faktörlerine de dayanıklı olması nedeniyle (co-resistance), bu çalışmada seçilecek olan yeni genotiplerin diğer stres faktörlerine de dayanıklı olması olası görünmektedir (Gressel ve Galun, 1994; Kerdnaimongkal ve Ark., 1997).

Türkiye Tohumcular Endüstrisi (TÜRK-TED) verilerine göre 1999 yılında 28 milyon dolarlık sebze tohumu ithal edilmiştir. Türkiye'de bu miktarın önemli bir kısmını (yarısına yakını) sadece hibrit domates tohumluğu oluşturmaktadır.

Domates bitkisi, özellikle örtü altında yetiştirildiğinde (\cong 10 bin ha) farklı büyüme dönemlerinde (çimlenme, vegetatif ve generatif dönem) düşük sıcaklık stresi ve don zararından etkilenmektedir. Sera koşullarında (turfanda üretim) optimum verim için, üretim döneminde harcanan giderlerin \cong % 60'ını ısıtma giderleri oluşturmaktadır. Özellikle don tehlikesinin olduğu bazı günlerde üreticilerin tamamına yakını, ilkel ısıtma yöntemlerini kullandıkları için ısıtma giderleri yükselmektedir. Sera ısıtmasında kullanılmak üzere bol ve ucuz enerji kaynaklarına sahip olmayan ülkemiz koşulları için, "düşük sıcaklıklara tolerant veya dayanıklı" çeşitlerin seçilmesi ve bunların kullanılmasının önerilmesiyle, daha ileriki bir aşamada ise yeni çeşitlerin ıslah çalışmaları ile geliştirilmesi büyük önem arz etmektedir.

Düşük sıcaklık stresine toleransı yüksek çeşitlerin belirlenmesi ile:

- Birim alandan daha fazla ve daha kaliteli ürün,
- Diğer biyotik ve abiyotik stres faktörlerine dayanıklılık,
- Isıtma giderlerinde azalma,
- Belirlenecek olan genotiplerin, yeni ve üstün nitelikli hibritlerin ortaya çıkmasına katkısı,
- Farklı toleransta toksik O₂ radikallerinin ve antioksidatif savunma sistemlerinin rolünün araştırılması hedeflenmiştir.

Bu tez çalışmasında kullanılan genotiplerde düşük sıcaklık toleransının düzeyi ve düşük sıcaklık toleransındaki varyasyon ve bu varyasyondan sorumlu olabilecek fizyolojik ve biyokimyasal parametreler ve toleransta antioksidatif savunma mekanizmalarının rolü incelenmiştir. Domates genotiplerinin düşük sıcaklık stresine karşı toleranslarının belirlenmesi (Antioksidatif enzimler, antioksidantlar, kuru madde verimi, klorofil ve paraquat testleri) bu çalışmanın birinci derecede önemli hedefidir. Elde olunacak sonuçların, düşük sıcaklık toleransı yüksek yeni domates genotiplerinin seçilmesi ve karakterizasyonunda belirleyici bir rol oynaması beklenmektedir. Düşük sıcaklığa tolerans ile ilişkili olan bitkisel özellikler belirlenerek ileride yürütülecek ıslah çalışmalarına seçici kriterler getirilmeye çalışılmıştır. Domatesin düşük sıcaklık stresine toleransından sorumlu mekanizmanın (olası mekanizmalar) karakterize edilmesi, ileride bu konuda yapılacak klasik ıslah ve biyoteknolojik çalışmalara katkı sağlayacaktır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Düşük sıcaklık stresine hassas bitkiler birkaç saat süreyle çok düşük (0-10 °C) sıcaklıklara maruz kaldığında ilk gözlenen semptomlar sap ve yaprakların turgorunu kaybetmesi ve bunu takiben yaprak dokularının ölmesi ve kurumasıdır (Rikin ve ark., 1976). Hassas bitkilerde soğuk stresinin neden olduğu solma ve kurumalar, kök sisteminden yeşil aksama gelen su miktarındaki azalmanın, başka bir deyişle, köklerin hidrolik iletkenliğinin kaybolmasının bir sonucudur. Buna ilave olarak, düşük sıcaklıklarda bitkilerin turgorunu kaybederek stomatal kontrolün bozulması, su kaybını daha da arttırmaktadır.

Soğuk zararının ikinci en önemli kaynağı ise, soğuk ile direk güneş ışığının bir arada olduğunda, yapraklarda meydana gelen fotooksidatif zararlanmadır (Aroca ve ark., 2001; Hutchison ve ark., 2000; Venema ve ark., 2000). Fotooksidatif zararlanma, bitkisel üretimi sınırlayan düşük veya yüksek sıcaklık, tuzluluk, kuraklık gibi çevresel stres faktörlerinin neden olduğu hücre tahribatı, daha çok toksik O₂ türevleri tarafından katalize edilmektedir (Inze ve Van Montagu, 1995; Foyer ve ark., 1997). Toksik O₂ türevleri kimyasal olarak çoğunlukla radikal formundadır ve bitkilerde yoğun olarak kloroplastlarda fotosentez sırasında ortaya çıkmaktadır. Fotosentez sırasında açığa çıkan elektronlar ve pigmentlerce absorbe edilen ışık enerjisi, düşük sıcaklık stresinde olduğu gibi herhangi bir çevresel stres etmeniyle fotosentetik CO₂ indirgenmesinde (asimilasyonda) kullanılamamakta ve birikime uğramaktadır. Bu biriken elektron ve enerji, CO₂ yerine alternatif olarak O₂'ne transfer olmakta ve O₂, toksik etkinliği çok yüksek olan metabolitlere (O₂ türevlerine) dönüşmektedir (O₂⁻, süperoksit radikal; H₂O₂, hidrojen peroksit; ¹O₂, singlet oksijen ve OH[·] hidroksil radikal) (Cakmak, 2000; Asada, 2000). Toksik O₂ türevleri hücrede özellikle membran lipid ve proteinler, klorofil ve DNA gibi önemli hücre komponentlerinin oksidatif olarak parçalanmasını doğrudan katalize etmektedir. Bitkiler, toksik O₂ türevlerine karşı enzimatik antioksidatif savunma mekanizmalarına sahiptir (Gressel ve Galun, 1994; Cakmak, 1994; Foyer ve Noctor, 2000). Bu mekanizmalardan süperoksit dismutaz (SOD) O₂⁻'nin, askorbat peroksidaz (APaz), katalaz (KATaz) ve glutatyon redüktaz (GRaz) ise H₂O₂'nin

detoksifikasyonunda rol oynamaktadır. Ayrıca, askorbik asit, vitamin E, glutatyon, β -karotin ve zeaxanthin karotenoidi gibi antioksidant bileşikler, toksik O_2 türevlerine karşı hücreleri korumaktadır. Bu mekanizmaların etkinliği bitki tür ve genotiplerinde değişiklik göstermekte ve dolayısıyla oksidatif stres faktörlerinden farklı şekilde etkilenmektedir.

Paraquat herbisidi, bitkileri toksik O_2 radikallerinin üretimine yol açarak oksidatif tahribat şeklinde zararlanmalara neden olduğundan, düşük sıcaklık stresinin antioksidatif savunma sistemlerini uyarabileceği ve buna bağlı olarak soğukta PQ toleransının artabileceği öngörülebilir. Oksijen radikallerine karşı savunma mekanizması yüksek olan çeşitlerin paraquata karşı dayanıklılığında yüksek olmaktadır (Cakmak ve Marschner, 1992b; Gressel ve Galun, 1994). Bu nedenle, bitkilerin serbest radikaller yoluyla hücreyi tahrip eden abiyotik stres faktörüne dayanıklılığını belirlemede paraquat testi yaygın olarak kullanılmaktadır. (Shaaltiel ve Ark., 1988; Gressel ve Galun, 1994; Seppänen ve Ark., 1998). Yapraktan uygulanan salisilik asit ve H_2O_2 'de PQ gibi benzer etki yapabilmektedir. Bu yöntem kullanılarak domates genotiplerinde düşük sıcaklık uygulamalarına karşı dayanıklılığının nasıl etkilendiği belirlenebilir.

Kış aylarında seralarda yetiştirilen domates ve meyvesi tüketilen diğer sebze türlerinde karşılaşılan ve verimi direk olarak etkileyen en önemli sorunlardan birisi düşük meyve tutumu problemidir. Düşük sıcak koşullarında (geceleri minimum sıcaklıkların 10-12 °C'nin altına düşmesi), erkek organlarda oluşan polenlerin az sayıda olması veya hiç oluşmaması yada oluşan polenlerin canlılık ve çimlenme yeteneklerinin düşük olması, çiçek organları ile eşey hücrelerinde deformasyonların ve gelişme bozukluklarının görülmesi gibi faktörler verimi büyük ölçüde düşürmektedir (Daşgan ve ark., 1994; Abak ve Güler, 1994; Abak ve ark., 1995; Daşgan ve ark., 1999).

Örtü altı tarımında ürünler normal mevsiminin dışında yetiştirildiği için düşük sıcaklıklara dayanıklı (tolerant) çeşitlerin kullanılması büyük bir önem taşımaktadır. Ülkemizde 22.000 ha alanda yüksek ve kalıcı sistemlerde seracılık yapılmaktadır. Sözü edilen seraların % 95'inde sebze yetiştirilmekte ve sebze seralarının % 50'sinde de domates yetiştirilmektedir (DİE, 1997 Tarımsal Yapı ve

Üretim). Bu rakamlar seralarda domates yetiştiriciliğinin ne kadar yaygın olduğunu göstermektedir. Son yıllarda kurulan birkaç büyük ve modern sera işletmeleri dışında, domates üreticilerinin tamamı seralarında düzenli bir ısıtma kullanmamaktadır. Don tehlikesine karşı basit ısıtıcılar kullanarak, don riskinin olduğu bazı gecelerde ısıtma yapılmaktadır (Abak, 1993). Isıtmanın yapılamamasının en önemli nedeni yakıt giderlerinin çok yüksek olmasıdır. Seracılığın yaygın olarak yapıldığı Akdeniz sahil şeridinde Aralık-Ocak periyodunda gece sıcaklıkları domates bitkisinin tolerans limitlerinin (15 °C' nin) altına düşmektedir. Bu koşullar altında domateslerde bitki büyümesi, verim ve meyve kalitesinde önemli düşüşler olduğu gibi düşük sıcaklık koşullarında zayıf gelişen bitkilerde yoğun olarak fungal ve bakteriyel hastalık problemleri görülmektedir.

Düşük sıcaklık stresine karşı domates genotipleri arasında ortaya çıkan farklı toleransta, antioksidatif enzimlerin ve antioksidant metabolitlerin belirleyici rolü bulunmaktadır. Örneğin, yüksek rakımlı bölgelere adapte olan yabani domates türünün (*Lycopersicon peruvianum*) kültür altındaki modern domatese (*L. esculentum*) göre düşük sıcaklık stresine karşı daha yüksek tolerans göstermesinin nedeni, yabani türün toksik O₂ radikallerinin oluşumunu daha etkin bir şekilde engellemesiyle ilişkili bulunmuştur (Bruggemann ve ark., 1999). Koroleva ve ark. (2000)'a göre düşük sıcaklık stresine dayanıklı domates hatları, fotosentezde kullanılmayan ışık enerjisini tilakoidlerde yerleşik xantophyll döngüsü aracılığıyla (zeaxanthin ↔ violaxanthin) moleküler O₂'ne gitmesini engelleyerek toksik O₂ türevlerinin oluşumunu sınırlamakta ve düşük sıcaklık stresine bağlı kloroplast tahribatını engellemektedir. Walker and McKersie (1993) domateste düşük sıcaklık stresine toleransta H₂O₂ detoksifikasyonuna katılan glutatyon redüktaz (GRaz) enziminin belirleyici rolü olduğunu açıklamıştır. Hidrojen peroksidin detoksifikasyonunda önemli bir rol oynayan katalaz (KATaz) enziminin yoksun transgenik domates bitkilerinin düşük sıcaklık stresine karşı dayanıklılıklarını tamamen kaybettiği bulunmuş ve katalazın düşük sıcaklık toleransında anahtar rolü oynadığı ileri sürülmüştür (Kerdnaimongkol ve Woodson, 1999). Düşük sıcaklık stresine bağlı hücre tahribatında toksik O₂ türevlerinin rolü, yalnızca domateste değil diğer bitki türlerinde de saptanmıştır. Düşük sıcaklık stresi altında buğdayda özellikle

SOD ve KATaz' ın (Scebba ve ark., 1999), mısırdaki vitamin E, glutatyon ve glutatyon redüktazın (Leipner ve ark., 1999) ve patatesteki SOD (Seppänen ve Fagerstedt, 2000) aktivitelerinin önemli olduğu ve bu mekanizmaların anılan bitkilerde genotipler arasında farklı olduğu ileri sürülmüştür.

Bitkilerin stres koşullarına dayanıklılığı adaptasyon yetenekleri ile yakından ilgilidir. Genel olarak adaptasyon yeteneği iyi olan bitki tür ve çeşitler, çok çeşitli biyotik ve abiyotik stres faktörüne karşı dirençli olabilmektedir. Çeşitli yollarla (Oksidatif stres artırıcılar (OSA)) oksidatif strese karşı dirençli şekilde getirilen bitkilerin daha fazla strese maruz bırakıldığında adapte olamayan bitkilerden daha dirençli olduğu bilinmektedir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1 Denemelerde Kullanılacak Bitki Materyali ve Ekipmanlar

Bu tez çalışması iki ayrı merkezde yürütülmüştür. Bunlardan birincisi Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü Bitki Besleme ve Fizyolojisi Laboratuvarında, ikincisi ise Sabancı Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Bitki Fizyolojisi Laboratuvarında yürütülmüştür. Adı geçen her iki üniversite laboratuvarlarında antioksidatif enzimler, antioksidantlar ve diğer analizler için gerekli olan süper santrifüj, UV-spektrofotometre, buz makinası, saf su cihazları, derin dondurucu, iklim odaları gibi cihaz ve donanımlar bulunmaktadır.

Denemelerde; F₁ hibrit çeşitleri, standart çeşitler, ileri ıslah hatları, yabani domates türleri ve değişik ebeveyn genotiplerden oluşan yaklaşık 137 domates genotipi kullanılarak, düşük sıcaklık stresine karşı screen edilmesi ve duyarlılığı farklı olan genotiplerde düşük sıcaklık stresine tolerans ya da dayanıklılığın mekanizmasında toksik O₂ radikallerinin ve antioksidatif savunma sistemlerinin rolünün araştırılması için fizyolojik ve biyokimyasal analizler yapılmıştır.

Bu çalışmadaki 3 farklı deneme, yukarıda adı geçen iki üniversitenin laboratuvarlarındaki kontrollü bitki büyüme odalarında yürütülmüştür. Denemeler (i) screening denemeleri, (ii) soğuk oda denemeleri, (iii) yaprak uygulamaları denemeleri olarak sınıflandırılmıştır.

3.2. Metod

3.2.1. Besin Çözeltisinin Hazırlanması

Dikotiledon bir bitki olan domates bitkisi için üç ayrı stok çözelti aşağıdaki gibi hazırlanmıştır:

(i) makro besin çözeltisinin hazırlanması: 15,7 g K₂SO₄; 2,7 g KH₂PO₄; 24 g MgSO₄.7H₂O; 47.23 g Ca(NO₃)₂ 4.H₂O ve 0,0746 g KCl tartılıp ayrı ayrı çözüldükten sonra son hacim 10 litreye tamamlanmıştır.

(ii) mikro besin çözeltisinin hazırlanması: 1,24 g H_3BO_3 ; 0,330 g $MnSO_4$; 0,100 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$; 0,048 g $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ ve 0,574 g $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ aynı kaba tartılıp çözüldükten sonra son hacim 1 litreye tamamlanmıştır.

(iii) 36,50 g Fe-EDTA tartılıp ayrı olarak 1 litrede saf su içerisinde çözülmüş ve kullanılana kadar $+4^\circ C$ buzdolabında saklanmıştır.

Uygulama Stok Çözeltisi (USÇ): Yukarda anlatılan her 10 litre makro besin çözeltisi içerisinde ayrı olarak hazırlanmış olan mikro besin çözeltisinden 50 ml ilave edilmiştir.

Substrat ortamına ek besin uygulamasında USÇ 1:5 oranında, besin çözeltisi olarak kullanırken 1:10 oranında saf suyla seyreltilmiştir.

3.2.2. Denemeler İçin Bitkilerin Yetiştirilmesi

Domates tohumları 20x10x10 cm ebatında perlit ile doldurulmuş plastik çimlenme kaplarına ekilmiştir. Tohumların üzeri örtülecek kadar perlit ilave edilmiş daha sonra doymuş $CaSO_4 \cdot 4H_2O$ ile sulanarak $25^\circ C$ 'ye ayarlı inkübatörlerde çimlenmeye alınmıştır. İnkübatörde geçen süre sonunda (3-4 gün), çimlenen bitkiler kontrollü iklim odalarına alınmıştır. Kotiledon yaprakların yeterince büyümesinin ardından (5-6 gün) çimlenen bitkiler, 2:1 oranında (v/v) torf-perlit karışımı (substrat) içeren 6x6x6 cm hazneli viyollere şaşırtılarak kontrollü iklim odalarına alınmıştır. Bu ortamda yetiştirilen bitkiler, 10. günden sonra saf su yerine 1:5 seyreltik (bkz bölüm 3.2.1.) besin çözeltisi ile sulanarak deneme süresince herhangi bir beslenme probleminin olmaması sağlanmıştır. Denemenin amacına ve bitki büyüme durumuna bağlı olarak soğuk uygulaması başlatılmıştır.

3.2.3. Screening Denemelerinin Yürütülmesi

Substrat ortamında 30-36 gün yetiştirilen bitkilerin yarısına 11-21 günlükken büyümenin 5-6 yapraklı olduğu dönemde düşük sıcaklık stresi uygulanmıştır. Soğuk stresine tolerans çalışmaları, sıcaklığı $-5^\circ C$ ile $+30^\circ C$ arasında ayarlanabilen kontrollü bitki yetiştirme odalarında gerçekleştirilmiştir. Screening çalışmalarında kontrol koşullarında 18/24 $^\circ C$, düşük sıcaklık (soğuk) uygulamasında ise 8/16 $^\circ C$ gece/gündüz sıcaklığı uygulanmıştır. Soğuk ve kontrol bitkileri arasındaki biyomas oranı görsel olarak yaklaşık % 50 yakalandığı zaman deneme sonlandırılmıştır.

3.2.4. Soğuk Oda Denemelerinin Yürütülmesi

Bitkiler 3.2.2.'deki gibi yetiştirilip sıcaklığı ayarlanabilir bitki yetiştirme odalarında düşük sıcaklık stresine tabi tutulmuştur. Düşük sıcaklık stresinin düzeyi ve süresi ön denemelerle saptanmıştır. Ön denemelerde, Venema ve Ark. (1999)'nın dikkate aldığı 5 °C, 3 gün ve Bruggemann ve Ark. (1999)'nın dikkate aldığı 10 °C, 2 hafta uygulamalarına öncelik verilmiştir.

Düşük sıcaklık stresine tabi tutulan genotipler, bitki büyümesinin ölçümü (kuru madde oluşumu) ve soğuk etkinliğinin (SE) belirlenmesi, yapraklarda klorofil ve paraquat testi analizleri bazında toleransları açısından sınıflandırılmıştır.

3.2.5. Domates Genotiplerinin Farklı Soğuk Etkinliğinden Sorumlu Olabilecek Antioksidatif Sistemlerin Araştırılması

Daha önceki screening denemelerinde soğuk etkinliği bakımından birbirinden oldukça farklı bulunan 6 duyarlı (Lignon S₃, Seminis 40, Golie, Pitenza, Sundance ve Tuğba) ve 6 tolerant (LM 513, D 2274, TR52414, Arizona, Lignon C.19.18 ve TR43484) domates genotip Bölüm 3.2.2.'de anlatıldığı şekilde yetiştirilmiştir. 8/16 °C gece/gündüz düşük sıcaklık uygulamasının 7. gününde enzim analizleri, 8. gününde askorbik asit ve 9. gününde (bitki yaşı: 36 gün) antosiyanin konsantrasyonu ve paraquat (PQ) toleransı testleri yapılarak deneme sonlandırılmıştır. Yapılan tüm analizlerde bitkilerin büyümesini tamamlamış genç yaprakları kullanılmıştır (Bölüm 4.2).

3.2.6. Düşük Sıcaklık Stresi Öncesinde Yapraktan Uygulanan Salisilik Asit (SA), Hidrojen Peroksit (H₂O₂) ve Paraquat'ın (PQ) Antioksidatif Sistemlere Etkisinin Araştırılması İçin Kurulan Soğuk Oda Denemeleri

Soğuk stresi öncesi çok düşük dozlarda uygulanan hidrojen peroksit (H₂O₂) ve paraquat (PQ) gibi oksidatif stres arttırıcıların (OSA) düşük sıcaklığa toleranstaki etkisi, bitki yapraklarındaki bazı antioksidan maddelerin (antosiyenin, askorbik asit ve SH-grupları) durumu yönünden araştırılmıştır. Son yıllarda çeltik, mısır ve muz gibi düşük sıcaklığa duyarlı bitkilerde salisilik asit (SA) uygulamalarının da anılan

diğer OSA maddeleri gibi davrandığı ve dokularda birikebildiği rapor edildiğinden denemeye yaprakdan düşük dozda SA uygulaması da dahil edilmiştir (Bölüm 4.4.).

Düşük sıcaklığa orta düzeyde dayanıklı (LM 512 ve H-2274) ve duyarlı (Semini 40 ve Lignon S3) olan 4 domates genotipi bölüm 3.2.2.'deki gibi kontrollü koşullarda yetiştirilmiştir. Bitkiler 27 günlükken OSA uygulamaları başlatılmış ve uygulamalar 4 gün süreyle sabah ve akşamları günde 2 kez toplam 8 defa yapraklara püskürtme yoluyla uygulanmıştır. Kontrol bitkilerine OSA yerine H₂O uygulanmıştır. Yaprak uygulamaları sonunda düşük sıcaklık stresi başlatılmış ve 10 gün süren düşük sıcaklık uygulaması sonunda büyümesini tamamlamış genç yapraklarda antosiyanin, total çözünür SH grupları (-SH) ve askorbik asit (AsA), H₂O₂ ve klorofil konsantrasyonları (SPAD değeri olarak) belirlenmiştir (Bölüm 4.4.).

3.2.7. Düşük Sıcaklık Stresi Süresince Antioksidatif Sistemlerin Farklı Yaştaki Yapraklarda Araştırılması İçin Kurulan Soğuk Oda Denemeleri

Bu denemede düşük sıcaklık uygulandığında bazı genotiplerin özellikle yaşlı yapraklarında düşük sıcaklığa bağlı daha fazla klorofil kaybı (kloroz ve nekroz) oluştuğu gözlenmiştir. Aynı bitkinin farklı yaştaki yapraklarında düşük sıcaklığın farklı düzeyde etki yaptığı dikkate alındığında antioksidatif sistemlerin etkinliğinin bitki dokularının yaşı ile değişebileceği düşünülebilir. Farklı günlerde yapılan ölçümlerle düşük sıcaklığın uygulandığı süre içerisinde “büyümekte olan genç” ve “büyümesini tamamlamış yaşlı” yapraklarda antioksidatif sistemlerdeki değişim incelenmiştir.

Denemede soğuk etkinliği düşük 1071-32 ve Lignon S3 ve soğuk etkinliği yüksek LM 513 ve TR 52414 domates genotipleri kullanılmıştır. Bitkiler 3.2.2. deki gibi yetiştirilerek 1,5 L saksılara alınmıştır. Hasat gününde 0, 2, 4, 6 ve 8 gün düşük sıcaklık stresi (2/24°C, 8 saat gece/12 saat gündüz) uygulanmış aynı yaşta bitkiler elde edilmiş ve bu bitkilerin genç ve yaşlı yapraklardan ayrı ayrı alınan örneklerde klorofil (SPAD), antosiyanin, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GRaz), askorbat peroksidaz (APaz), katalaz (KATaz) ve protein belirlenmiştir.

3.2.8. Kuru Madde Verimi (Soğuk Etkinliğinin Hesaplanması)

Düşük sıcaklık stresi uygulanan bitkilerde . enzim, antioksidant ve pigment analizleri için deneme amacına göre gereken örneklemeler yapılmıştır. Daha sonra kuru ağırlık belirlenmesi için kesilen yeşil aksam 65 °C'ye ayarlı etüvde 3 gün süresince kurutulmuştur. Kuruyan örneklerin tartımı yapılarak kuru madde üretimi belirlenmiş ve soğuk etkinliği (SE) hesaplanmıştır (soğuk etkinliği = düşük sıcaklık stresi altında kuru madde verimi /kontrolx100).

3.2.9. Yeşil Aksamda Yapılan Analizler

Yapraklarda glutatyon redüktaz (GRaz), superoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APaz), katalaz (KATaz) enzim aktiviteleri ölçülmüştür. Protein, H₂O₂, askorbik asit, SH-grupları konsantrasyonları ve antosiyanin düzeyi belirlenmiştir. Yapraklarda ayrıca paraquat toleransı ve klorofil belirlenmiştir. Analizlerin ayrıntıları ileride verilmiştir.

3.2.10. Çözünür Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Bitki dokularındaki protein konsantrasyonunun strese bağlı olarak nasıl değiştiğini belirlemek için Bradford (1976)'a göre enzim ekstratlarında protein analizi yapılmıştır. Bu amaçla Bradford çözeltisi hazırlanmıştır. 100 mg coomasie brilliant blue (G 250) 50 ml etil alkol (% 99,5) içerisinde çözdürüldükten sonra üzerine 100 ml % 85' lik ortofosforik asit ilave edilmiş, bu karışım saf su ile toplam 600 ml'ye tamamlanarak kaba filtre kağıdıyla filtre edilmiştir. Filtre edilen bu çözeltinin üzerine 100 ml gliserol (% 87) eklenmiş ve bu son karışım saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözelti buzdolabında 24 saat bekletildikten sonra analiz aşamasına geçilmiştir. Bu aşamada, 100 µl enzim santrifüğü üzerine 5 ml bradford çözeltisi ilave edilerek vortekslenmiştir. Oluşan renk spektrofotometrede 595 nm'de standartlara göre belirlenmiştir. (örnekler 15-60 dk arasında okunmuştur.) Protein analizinde, standart olarak 0-800 µg/ml (ppm) arasında hazırlanan sığır serum albumini (Albumin fraction V) kullanılmıştır.

3.2.11. H₂O₂ Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Taze bitki örnekleri kuvars kumu ve sıvı azot yardımıyla 100 mM Na-P tamponu (pH 6,8) içerisinde homogenize edilmiştir. Homogenize edilen örnekler 18.000 g ve +4°C de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası örneklerden 170 µl santrifügant alınarak test tüplerine konarak üzerine 830 µl peroksidaz çözeltisi eklenmiştir. Peroksidaz çözeltisi aşağıdaki gibi hazırlanmıştır:

Peroksidaz çözeltisi: 100 ml 83 mM Na-P tamponu (pH 7,0) içerisine
% 0,005 (5 mg) o-dianisiden (w/v)
40 µg/ml (4 mg) peroksidaz ilave edilir.

Tüpler 10 dakika 30 °C’de su banyosunda inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda tüplere 170 µl 1 N HClPO₄ (perklorik asit) eklenerek reaksiyon sonlandırılmıştır. Örnekler 436 nm’de 0-1000 µM H₂O₂ standartlara karşı spektrofotometrede analiz edilmiştir (Choi ve ark. 2002).

3.2.12. Klorofil Analizi

Yaklaşık 0,1 gram bitki örneği (veya 6 nolu disk kesme aleti ile (çapı 0,5 cm) kesilmiş 4 adet segment) 10 ml % 80’lik aseton ile ekstraksiyondan sonra 4600 g’de santrifüj edilmiştir. Spektrofotometrede 652 nm’de Lichtenthaler ve Wellburn (1983)’e göre total klorofil olarak okuması yapılmıştır. Ayrıca SPAD-metre (Konica-Minolta SPAD-502) cihazı kullanılarak yaprak üzerinde doğrudan klorofil analizleri de yapılarak sonuçlar 4 yinelemenin ortalaması olarak verilmiştir.

3.2.13. Paraquat Toleransı Testi

Bitkiler bölüm 3.2.2’deki anlatıldığı şekilde yetiştirilerek hasat öncesi 9 gün süreyle geceleri uygulanan düşük sıcaklık stresinin (8 saat 2±1 °C) substrat ortamına alınan (çimlenmeden itibaren 32 günlük) 8 farklı domates genotipinde (LM 513, Lignon S3, Seminis 40, Arizona, LM 512, Sundance, TR52414 ve Tuğba) yaprak segmentlerinin klorofil konsantrasyonundan hesaplanan paraquat (PQ) toleransına etkisi belirlenmiştir (PQ toleransı= PQ₂₀₀/PQ₀*100). Bitkilerin yarısına geceleri donma derecesine yakın düşük sıcaklık stresi (8 saat 2±1 °C) uygulanmıştır. Geceleri düşük sıcaklık stresi uygulanan bitkiler, gündüzleri kontrol bitkilerinin bulunduğu

(18/24 °C gece/gündüz sıcaklığı) yetiştirme odasına alınmıştır. Hasat öncesi 9 gün süreyle devam eden bu uygulama sonunda PQ tolerans testi yapılmıştır. Yaprak segmentlerine 200 µM PQ (PQ₂₀₀) uygulanmıştır (Bölüm 4.3).

Hem kontrol hem de soğuk bitkilerinin yaprak segmentlerine Cakmak ve Marschner (1992b) tarafından bildirildiği gibi ışık altında çözeltide inkübasyonda tutarak kontrol (PQ₀).ve 200 µM PQ (PQ₂₀₀) uygulanmıştır (Bkz. Bölüm 4.3.). Bu amaçla petri kaplarına % 0,02'lik (w/v) tween içeren 200 µM paraquat (PQ) çözeltisi ilave edilmiş ve disk kesme aleti ile kesilen segmentler (Tüm yaprak segmentlerinin daha yeşil olan üst kısımları yukarı gelecek şekilde) bu çözeltiliye konarak ışık uygulaması başlatılmıştır. Bu testin sonunda yaprak segmentlerinin klorofil konsantrasyonları ile paraquat toleransı hesaplanmıştır.

3.2.14. Antioksidatif Enzimler ve Antioksidantların Analizleri

Toleransı farklı olan seçilmiş genotiplerde toksik O₂ türevlerinin detoksifikasyonuna katılan enzimlerin (süperoksit dismutaz, askorbat peroksidaz, glutatyon redüktaz ve katalaz) ve antioksidantların (Vitamin C, SH-grupları ve antosiyanin) analizleri aşağıda açıklandığı gibi gerçekleştirilmiştir.

3.2.14.1. Antioksidatif Enzim Analizleri

Yaklaşık 0,5 gram taze yaprak örneği sıvı azot ve kuvars kumu yardımıyla 0,1 mM Na-EDTA içeren 50 mM (pH 7,6) fosfat tamponu çözeltisi ile (5ml) homogenizasyonu yapılmış ve ardından 15 dk, 15 000 g, ve +4°C'de santrifüj edilmiştir. Elde edilen santrifügatlar enzim ve protein analizlerinde kullanılmıştır.

Superoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi Giannopolitis ve Ries (1977)'a göre yapılmıştır. SOD enzim aktivitesi, nitro blue tetrazolium kloridin ışık altında O²⁻ tarafından indirgenmesine göre ölçülmüştür. Enzim aktivite ölçümleri 20 ml hacimli cam şişelerde yapılmıştır. Aktivite ortamı için 0,1 mM Na-EDTA içeren 50 mM (pH 7,6) fosfat tamponu konulduktan sonra üzerine 0,5 ml 50 mM Na₂CO₃ (pH 10,2), 0,5 ml 12 mM L-methionine, 0,5 ml 75 µM nitro blue tetrazolium chloride (NBT) ilave edilmiştir. Bu çözelti üzerine enzim ekstraktı (50-200 µl) ilave edilmiş ve son olarak

0,5 ml 10 µM riboflavine eklenmiştir. NBT'nin O^{2-} tarafından indirgenmesi örneklerin 24 °C 400 µmol m⁻² s⁻¹ ışık intensitesi altında 10 dk inkübasyonu ile oluşturulmuştur. Bir ünite SOD aktivitesi, 560 nm'de ölçülen NBT'nin indirgenme oranının % 50'sinin engellenebilmesi için gereken enzim miktarı olarak sözedilmiştir.

Askorbat peroksidaz (APaz) aktivitesi, Nakano ve Asada (1981)' a göre 290 nm'de ($E=2,8 \text{ mM cm}^{-1}$) askorbatın oksidasyon hızı ölçülerek belirlenmiştir. Buna göre 1 ml kuvars spektrofotometre küveti içerisine, 0,1 mM Na-EDTA içeren 50 mM (pH 7,6) fosfat tamponu, 0,1 ml 10 mM Na-EDTA içeren 12 mM H₂O₂, 0,1 ml 0,25 mM L(+) askorbik asit (AsA) ve enzim ekstraktı ilave edilerek 290 nm'de askorbat oksidasyonu hızı belirlenmiştir.

Glutatiyon redüktaz (GRaz) enzim aktivitesi Foyer ve Halliwell (1976)' a göre 340 nm'de ($E=6,2 \text{ mM cm}^{-1}$) NADPH'nin oksidasyonu esas alınarak belirlenmiştir. Buna göre 1 ml kuvars spektrofotometre küveti içerisine, 0,1 mM Na-EDTA içeren 50 mM (pH 7,6) fosfat tamponu, 0,1 ml 0,5 mM okside glutatiyon (GSSG), 0,1 ml 0,5 mM NADPH ve enzim ekstraktı ilave edilerek NADPH'nin oksidasyonu 340 nm'de belirlenmiştir.

Katalaz (KATaz) enzim aktivitesi H₂O₂'nin 240 nm'de ($E=39,4 \text{ mM cm}^{-1}$) degradasyonu esasına göre okuması yapılmıştır. Buna göre 1 ml kuvars spektrofotometre küveti içerisine, 0,1 mM Na-EDTA içeren 50 mM (pH 7,6) fosfat tamponu, 0,1 ml 100 mM H₂O₂ ve enzim ekstraktı ilave edilerek 240 nm'de katalaz (KATaz) enzim aktivitesi belirlenmiştir (Cakmak ve Marschner 1992a).

3.2.14.2. Antioksidantların Analizleri

3.2.14.2.(1). Askorbik Asit

Askorbik asit analizleri Law ve ark. (1983) tarafından bildirildiği şekilde yapılmıştır. Yöntemin esası, ortama katılan Fe⁺³'ün askorbik asit ile Fe⁺²'ye indirgenmesi ve Fe⁺²'nin bipyridin ile komplekslenerek 525 nm'de ölçümüne dayanmaktadır. Buna göre yaklaşık 0,5 g taze yaprak örneği sıvı azot ve kuvars kumu yardımıyla 6 ml % 5'lik (w/v) meta-fosforik asit ile homogenizasyonu ardından 4000 g'de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Toplam askorbik asiti belirlemek için santrifügattan 0.4 ml

alınmış, üzerine 5 mM Na-EDTA içeren 1 ml 150 mM'lık fosfor tamponu (pH 7,4), 0,2 ml 10 mM DTT (1,4 dithiotreitol) eklenerek 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda ortamda bulunan fazla DTT'yi ortadan kaldırmak için bu çözeltinin üzerine 0,2 ml % 5'lik (ağırlık / hacim) NEM (N-ethylmaleimide) eklenmiştir. Reaksiyon ortamında askorbik asit miktarına bağlı renk oluşumu, sırasıyla 0,8 ml %10'luk TCA (trichloroacetic acid), 0,8 ml % 44'lük ortho-fosforik asit, 0,8 ml % 70'lik alkol içerisinde hazırlanmış % 4'lik 2,2-bipyridine ve 0,4 ml % 3 FeCl₃ kimyasallarınında ortama konmasıyla ortaya çıkmıştır.

Hazırlanan örneklerin renk gelişimi için +40 °C'de 50 dakika su banyosunda inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda soğutulan örnekler spektrofotometrede 525 nm'de ölçümü yapılmıştır. Okumalar 0-100 µg/ml aralığında, standart olarak L(+) askorbik asit kullanılarak yapılmıştır. Standartlar tek set halinde ve redükte (DTT ve NEM ilave edilmemiş) olduğu düşünülerek hazırlanmıştır.

3.2.14.2.(2). SH-Grupları (Redükte Glutasyon)

Yaklaşık 0,5 g taze yaprak örneği sıvı azot ve kuvars kumu yardımıyla 6 ml % 5'lik (w/v) meta-fosforik asit ile homogenize edilmiş ve ardından 4000 g'de 30 dakika santrifüj edilmiştir. SH-grubu konsantrasyonunu belirlemek için santrifügattan 0,5 ml alınmış, üzerine 5 mM Na-EDTA içeren 2,5 ml 150 mM'lık fosfat tamponu (pH 7,4) ve son olarak yine fosfat tamponu içerisinde hazırlanmış 0,5 ml DTNB (5-5'-ditiyobis-Z-benzoik asit) ilave edilerek 15-20 dakika sonra spektrofotometrede 412 nm de okuması yapılmıştır. Standart olarak 0-100 µg/ml (ppm) aralığında redükte glutasyon % 5'lik meta-fosforik asit (w/v) içinde hazırlanmıştır (Ellman, 1959).

3.2.14.2.(3). Antosiyanin Konsantrasyonu

Antosiyanin konsantrasyonu, % 5'lik meta-fosforik asitle ekstrakte edilmiş örneklerde 536 ve 600 nm dalga boylarında okumalar yapılarak aşağıdaki formüle göre relatif olarak belirlenmiştir.

$$\text{Antosiyanin (Relatif)} = (\text{ABS}_{536} - \text{ABS}_{600}) * \text{S.F.}$$

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Screening Denemeleri

Farklı kaynaklardan sağlanan 137 domates genotipini içeren screening denemelerinde genotiplerin uzun süreli düşük sıcaklık stresine toleransları araştırılmıştır. Aynı anda test edilmelerinin çok güç olması nedeni ile elde bulunan tüm genotipler, temel bir metod oluşturularak, 5 farklı deneme ile test edilmiş ve düşük sıcaklık stresine toleransları (soğuk etkinliği) belirlenmiştir. I., II. ve III. screening denemelerinde elde edilen sonuçlar IV. ve V denemelerle teyid edilmiştir. Bundan bağımsız olarak sonuçları teyid edilen genotiplerde kısa süreli soğuk - uzun süreli soğuk etkinliği de yeni bir deneme ile karşılaştırılmıştır.

4.1.1. I. Screening Denemesi

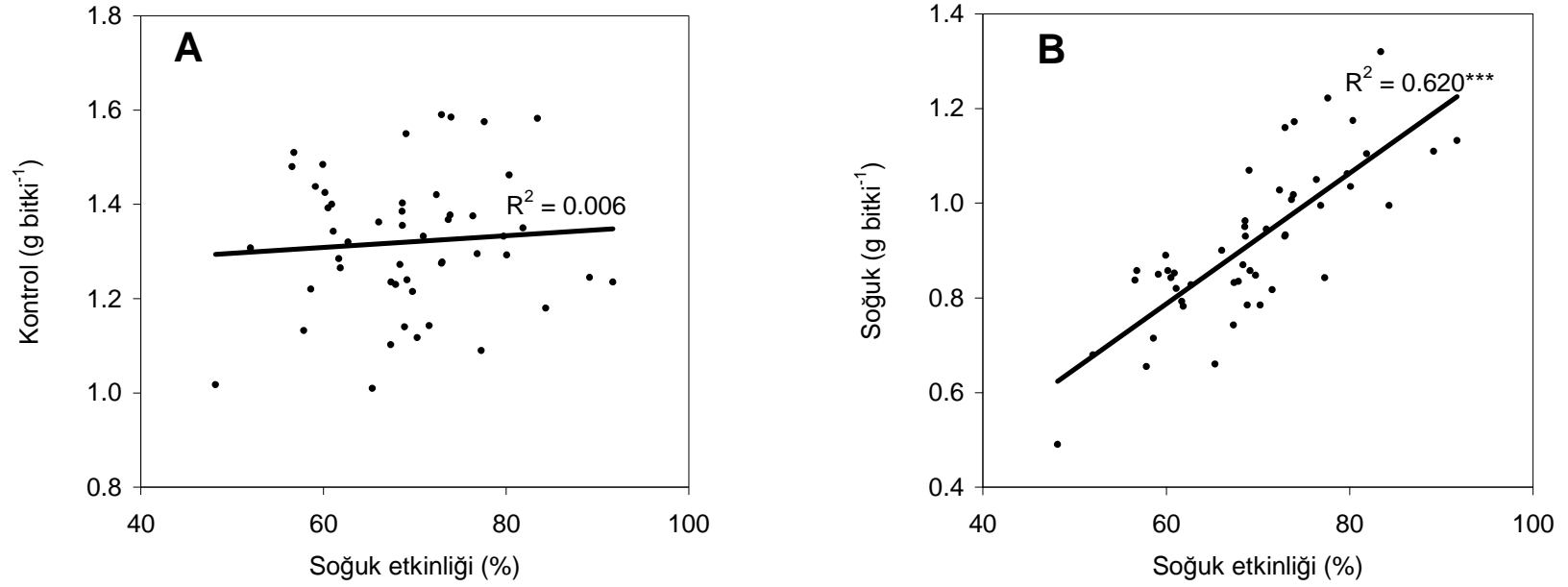
I. screening denemesinde toplam 50 domates genotipinin soğuk etkinliği değerleri % 48.2 ile % 91.7 arasında oldukça geniş bir varyasyon göstermiştir (Çizelge 4.1). Tüm çeşitlerin ortalama soğuk etkinliği % 69.3 olarak bulunmuştur. Kuru madde üretimi ise kontrol bitkilerinde 1.01 ile 1.59 g bitki⁻¹ arasında değişim göstererek ortalama 1.32 g bitki⁻¹, soğuk uygulamasında ise 0.49 ile 1.32 g bitki⁻¹ arasında değişim göstererek ortalama 0.92 g bitki⁻¹ bulunmuştur. I. screening denemesinde sırasıyla TR49646, TR43484, TR49449, Romitel ve TR52414 soğuk etkinliği çok yüksek, 1009-8, TR55711, TR63233, Lignon S₃ ve 1009-6 ise soğuk etkinliği çok düşük domates genotipleri olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Yapılan istatistiksel değerlendirmeler soğuk etkinliği değerleri ile genotiplerin soğuk uygulamasındaki kuru madde verimleri arasında önemli düzeyde ilişki olduğunu ($p < 0.001$), kontrol koşullarında ise benzer ilişkinin söz konusu olmadığını göstermiştir (Şekil 4.1).

Çizelge 4.1. Substrat ortamında 30 gün yetiştirilen 50 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki kuru madde üretimi ve soğuk etkinliği değerleri (soğuk etkinliği = soğuk uygulamasındaki kuru madde üretimi/kontrol koşullarındaki kuru madde üretimi*100)

Genotip	Kuru madde üretimi		Soğuk Etkinliği (%)
	*Kontrol	†Soğuk	
	(g bitki ⁻¹)		
TR49646	1.24 ± 0.26	1.13 ± 0.23	91.7
TR43484	1.25 ± 0.29	1.11 ± 0.12	89.2
TR49449	1.18 ± 0.25	1.00 ± 0.11	84.3
Romitel	1.58 ± 0.09	1.32 ± 0.08	83.4
TR52414	1.35 ± 0.23	1.11 ± 0.12	81.9
TR47820	1.46 ± 0.14	1.18 ± 0.11	80.3
Lignon S ₁	1.29 ± 0.32	1.04 ± 0.12	80.1
TR40363	1.33 ± 0.12	1.06 ± 0.08	79.7
TR47882	1.58 ± 0.20	1.22 ± 0.15	77.6
1048-27	1.09 ± 0.11	0.84 ± 0.16	77.3
TR37277	1.30 ± 0.14	1.00 ± 0.16	76.8
TR66330	1.38 ± 0.07	1.05 ± 0.19	76.4
TR47865	1.59 ± 0.14	1.17 ± 0.13	74.0
Birecik Yerli	1.38 ± 0.20	1.02 ± 0.08	73.9
TR62573	1.37 ± 0.24	1.01 ± 0.23	73.7
TR49644	1.28 ± 0.17	0.93 ± 0.12	73.0
TR40478	1.59 ± 0.17	1.16 ± 0.03	73.0
Rio Fuego	1.28 ± 0.13	0.93 ± 0.07	72.9
Lignon S ₂	1.42 ± 0.16	1.03 ± 0.15	72.4
Tridora	1.14 ± 0.08	0.82 ± 0.09	71.6
TR52428	1.33 ± 0.15	0.95 ± 0.23	70.9
1009-16	1.12 ± 0.15	0.79 ± 0.09	70.2
1009-18	1.22 ± 0.07	0.85 ± 0.10	69.8
TR40361	1.24 ± 0.07	0.86 ± 0.12	69.2
Cambell37	1.55 ± 0.11	1.07 ± 0.03	69.0
Lignon S ₅	1.14 ± 0.21	0.79 ± 0.16	68.9
TR61796	1.36 ± 0.20	0.93 ± 0.23	68.6
Rio Grande	1.40 ± 0.19	0.96 ± 0.16	68.6
TR52376	1.39 ± 0.19	0.95 ± 0.19	68.6
TR61658	1.27 ± 0.28	0.87 ± 0.31	68.4
Adana Yerli	1.23 ± 0.10	0.84 ± 0.04	67.9
TR61697	1.24 ± 0.07	0.83 ± 0.21	67.4
TR52361	1.10 ± 0.20	0.74 ± 0.15	67.3
TR40397	1.36 ± 0.19	0.90 ± 0.15	66.1
<i>L. hirsutum</i>	1.01 ± 0.03	0.66 ± 0.11	65.3
TR52377	1.32 ± 0.10	0.83 ± 0.20	62.7
TR61870	1.27 ± 0.20	0.78 ± 0.11	61.9
T-2 Improved	1.29 ± 0.18	0.79 ± 0.09	61.7
TR68517	1.34 ± 0.15	0.82 ± 0.13	61.1
TR40395	1.40 ± 0.14	0.85 ± 0.16	60.9
TR68513	1.39 ± 0.20	0.84 ± 0.18	60.5
TR68516	1.43 ± 0.23	0.86 ± 0.17	60.2
TR40351	1.49 ± 0.31	0.89 ± 0.17	59.9
TR40359	1.44 ± 0.14	0.85 ± 0.20	59.1
TR52263	1.22 ± 0.11	0.72 ± 0.23	58.6
1009-6	1.13 ± 0.06	0.66 ± 0.11	57.8
Lignon S ₃	1.51 ± 0.20	0.86 ± 0.14	56.8
TR63233	1.48 ± 0.08	0.84 ± 0.06	56.6
TR55711	1.31 ± 0.14	0.68 ± 0.09	52.0
1009-8	1.02 ± 0.22	0.49 ± 0.13	48.2
Ortalama	1.32	0.92	69.3

*büyüme periyodu boyunca 18/24°C gece/gündüz sıcaklığı

†11. günden sonra 8/16°C gece/gündüz sıcaklığı uygulaması



Şekil 4.1. Substrat ortamında 30 gün yetiştirilen 50 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki yeşil aksam kuru madde üretimi ile soğuk etkinliği arasındaki ilişki.

4.1.2. II. Screening Denemesi

41 domates genotipinin soğuk etkinliğinin belirlendiği II. screening denemesinde ortalama soğuk etkinliğinin % 71.3 'tür. Denemede soğuk etkinliği değerleri domates genotipleri arasında % 36.5 ile % 87.3 arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.2). Sırasıyla D 2274, Pakmor, WC 156, Arizona ve LM 428 soğuk etkinliği en yüksek, PE-47, 227/1, Sundance, Fer ve Golie ise soğuk etkinliği en düşük genotipler olarak belirlenmiştir. En düşük soğuk etkinliği değerini alan PE-47 genotipi aynı zamanda hem soğuk ($0.19 \text{ g bitki}^{-1}$) uygulamasında hem de kontrolde ($0.51 \text{ g bitki}^{-1}$) en düşük kuru madde verimine sahip olmuştur. En yüksek kuru madde üretimi ise soğuk uygulamasında $1.66 \text{ g bitki}^{-1}$ kontrolde ise $2.28 \text{ g bitki}^{-1}$ 'dir (Çizelge 4.2). Soğuk etkinliği değerleri ile soğuk uygulamalarındaki kuru madde verimi arasında II. screening denemesinde de önemli ilişki ($p < 0.01$) olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.2).

4.1.3. III. Screening Denemesi

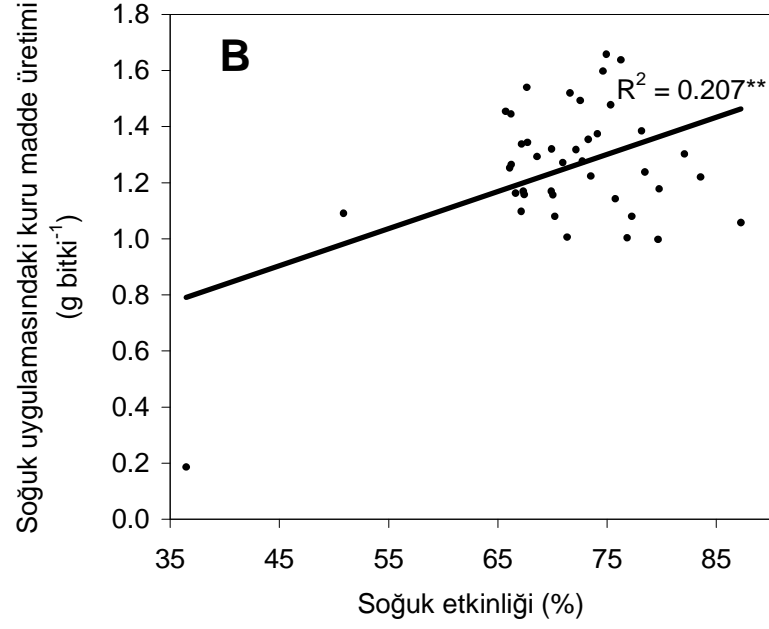
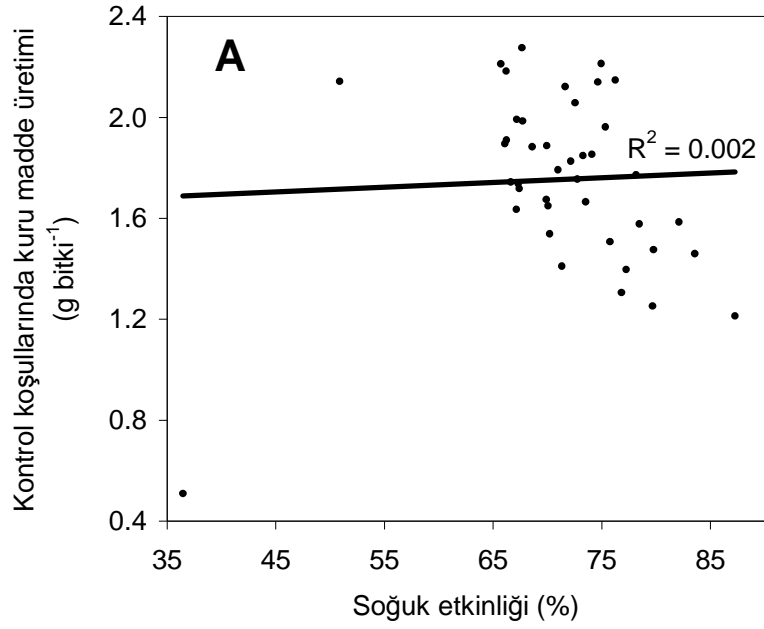
Toplam 36 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulamalarındaki kuru madde üretimleri ve soğuk etkinliği değerleri belirlenmiştir. III. Screening denemesinde sırasıyla LM 513, Lignon C.19.18, 194, Dalmone ve Bolero soğuk etkinliği en yüksek genotipler, Tuğba, Pitenza, Seminis 40, Kagome ve LM 428 ise soğuk etkinliği en düşük genotipler olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Bu denemede test edilen genotiplerin soğuk etkinliği % 55.5 ile % 71.8 arasında değişerek ortalama % 64.2 bulunmuştur (Çizelge 4.3). Kuru madde üretiminde ise değerler soğuk uygulamasında 0.80 ile $1.26 \text{ g bitki}^{-1}$ arasında değişiklik gösterirken kontrolde 1.21 ve $1.96 \text{ g bitki}^{-1}$ arasında değişim gözlenmiştir (Çizelge 4.3). Önceki screening denemelerinde olduğu gibi, bu denemede de, soğuk etkinliğinin aslında soğuk uygulamasındaki kuru madde üretiminin bir fonksiyonu olduğu, kontrol koşullarındaki verim ile soğuk etkinliği arasında ise bir bağlantı bulunmadığı gösterilmiştir (Şekil 4.3).

Çizelge 4.2. Substrat ortamında 36 gün yetiştirilen 41 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki kuru madde üretimi ve soğuk etkinliği değerleri (soğuk etkinliği = soğuk uygulamasındaki kuru madde üretimi/kontrol koşullarındaki kuru madde üretimi*100).

Genotip	Kuru madde üretimi		Soğuk Etkinliği (%)
	*Kontrol	†Soğuk	
	(g bitki ⁻¹)		
D-2274	1.21 ± 0.14	1.06 ± 0.12	87.3
Pakmor	1.46 ± 0.13	1.22 ± 0.07	83.6
WC 156	1.59 ± 0.10	1.30 ± 0.06	82.1
Arizona	1.48 ± 0.15	1.18 ± 0.06	79.8
LM 428	1.25 ± 0.17	1.00 ± 0.09	79.7
Pearson	1.58 ± 0.22	1.24 ± 0.09	78.5
Dyoinsa	1.77 ± 0.15	1.39 ± 0.21	78.2
1048-27	1.40 ± 0.09	1.08 ± 0.09	77.3
<i>L. Pimpinellifolium</i>	1.31 ± 0.16	1.00 ± 0.04	76.8
Sweet chelsa	2.15 ± 0.10	1.64 ± 0.08	76.3
1009-8	1.51 ± 0.20	1.14 ± 0.08	75.8
1-49 Nrt.	1.96 ± 0.15	1.48 ± 0.06	75.3
MS-5 Sw.	2.21 ± 0.17	1.66 ± 0.09	74.9
17	2.14 ± 0.10	1.60 ± 0.07	74.6
Milagro Nirit.	1.85 ± 0.11	1.37 ± 0.09	74.1
Super Marmonde	1.67 ± 0.11	1.22 ± 0.10	73.5
Sweet Milion	1.85 ± 0.08	1.35 ± 0.09	73.3
Invictus	1.76 ± 0.10	1.28 ± 0.12	72.7
SC 2121	2.06 ± 0.16	1.49 ± 0.07	72.5
Kecskemeti	1.83 ± 0.18	1.32 ± 0.12	72.2
Nadin N.	2.12 ± 0.12	1.52 ± 0.08	71.6
AG 2134	1.41 ± 0.04	1.01 ± 0.10	71.3
370	1.79 ± 0.17	1.27 ± 0.07	71.0
H-2274	1.54 ± 0.14	1.08 ± 0.10	70.2
68VF26	1.65 ± 0.17	1.16 ± 0.06	70.1
Koronll	1.89 ± 0.11	1.32 ± 0.11	69.9
17-33	1.67 ± 0.11	1.17 ± 0.09	69.9
1881 Nrt.	1.88 ± 0.10	1.29 ± 0.12	68.6
Carmen	1.99 ± 0.12	1.34 ± 0.07	67.7
Prazya	2.28 ± 0.09	1.54 ± 0.05	67.7
41	1.72 ± 0.10	1.16 ± 0.12	67.4
1119	1.74 ± 0.12	1.17 ± 0.15	67.3
D.12 Nirit	1.99 ± 0.20	1.34 ± 0.06	67.2
Mobil	1.64 ± 0.16	1.10 ± 0.20	67.2
Karduvar Populasyon	1.74 ± 0.10	1.16 ± 0.09	66.6
1071-31	1.91 ± 0.17	1.27 ± 0.12	66.2
Golie	2.18 ± 0.11	1.45 ± 0.05	66.2
Fer	1.90 ± 0.18	1.25 ± 0.09	66.1
Sundance	2.21 ± 0.09	1.45 ± 0.09	65.7
227/1	2.14 ± 0.15	1.09 ± 0.28	50.9
PE-47	0.51 ± 0.07	0.19 ± 0.03	36.5
Ortalama	1.75	1.25	71.3

*büyüme periyodu boyunca 18/24°C gece/gündüz sıcaklığı

†21. günden sonra 8/16°C gece/gündüz sıcaklığı uygulaması



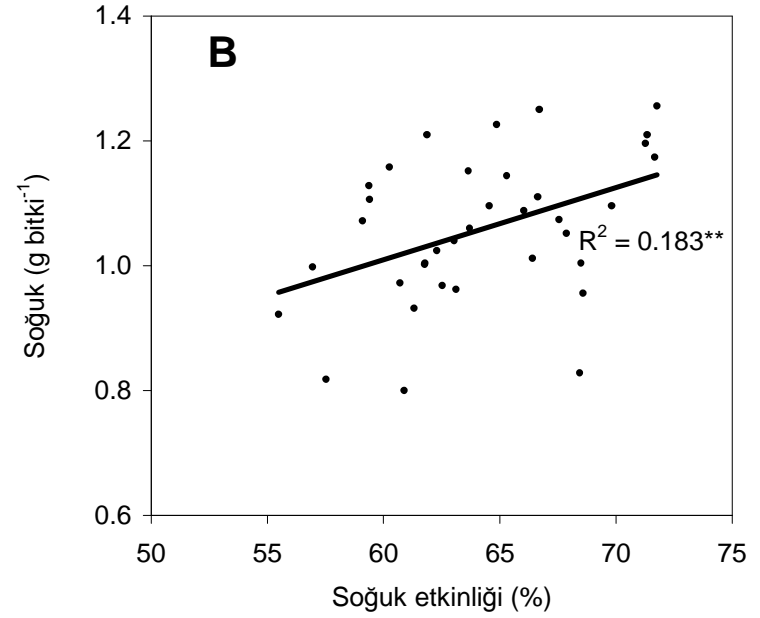
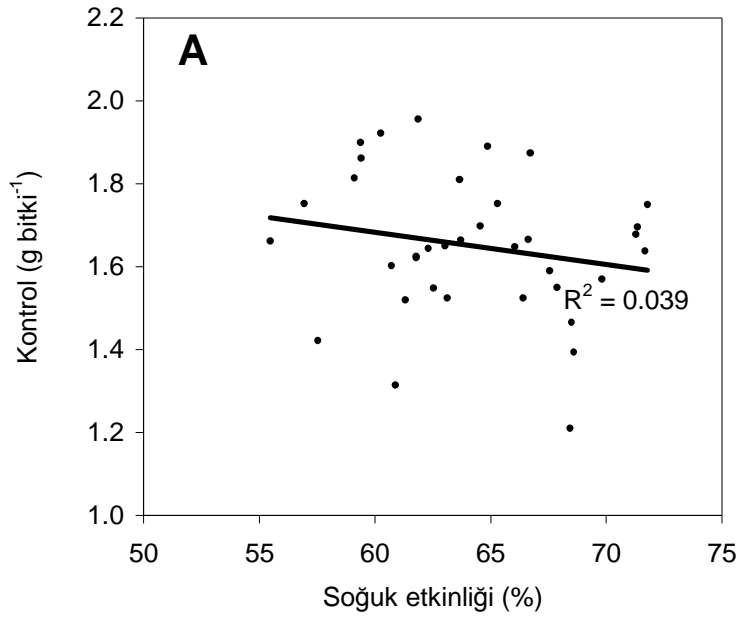
Şekil 4.2. Substrat ortamında 36 gün yetiştirilen 41 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki kuru madde üretimi ile soğuk etkinliği arasındaki ilişki.

Çizelge 4.3. Substrat ortamında 30 gün yetiştirilen 36 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki kuru madde üretimi ve soğuk etkinliği değerleri (soğuk etkinliği= soğuk uygulamasındaki kuru madde üretimi/kontrol koşullarındaki kuru madde üretimi*100).

Genotip	Kuru madde üretimi		Soğuk Etkinliği (%)
	*Kontrol (g bitki ⁻¹)	†Soğuk (g bitki ⁻¹)	
LM 513	1.75 ± 0.09	1.26 ± 0.08	71.8
Lignon C.19.18	1.64 ± 0.12	1.17 ± 0.11	71.7
194	1.70 ± 0.17	1.21 ± 0.19	71.3
Dalmone	1.68 ± 0.14	1.20 ± 0.17	71.3
Bolero	1.57 ± 0.21	1.10 ± 0.10	69.8
Alta	1.39 ± 0.07	0.96 ± 0.06	68.6
1009-9	1.47 ± 0.05	1.00 ± 0.11	68.5
H-8892	1.21 ± 0.16	0.83 ± 0.14	68.4
Shasta	1.55 ± 0.08	1.05 ± 0.08	67.9
Amber ez	1.59 ± 0.11	1.07 ± 0.06	67.5
1071-34	1.87 ± 0.11	1.25 ± 0.05	66.7
Super 6 HES 58	1.67 ± 0.17	1.11 ± 0.07	66.6
00-4	1.52 ± 0.11	1.01 ± 0.06	66.4
Rio Grande	1.65 ± 0.11	1.09 ± 0.05	66.0
1071-35	1.75 ± 0.23	1.14 ± 0.13	65.3
1071-33	1.89 ± 0.12	1.23 ± 0.06	64.9
Falcon	1.70 ± 0.22	1.10 ± 0.07	64.5
Seminis 42	1.66 ± 0.07	1.06 ± 0.11	63.7
Marilyn	1.81 ± 0.06	1.15 ± 0.15	63.6
93-10	1.52 ± 0.09	0.96 ± 0.06	63.1
Rio Fuego	1.65 ± 0.10	1.04 ± 0.08	63.0
Halay 344	1.55 ± 0.14	0.97 ± 0.11	62.5
LM 512	1.64 ± 0.16	1.02 ± 0.05	62.3
Cambell 133	1.96 ± 0.13	1.21 ± 0.14	61.9
1048-28	1.63 ± 0.09	1.00 ± 0.06	61.8
Urbana	1.62 ± 0.08	1.00 ± 0.09	61.8
H-2274 (May)	1.52 ± 0.09	0.93 ± 0.09	61.3
Roza	1.31 ± 0.12	0.80 ± 0.11	60.9
1048-16	1.60 ± 0.11	0.97 ± 0.08	60.7
1071-22	1.92 ± 0.14	1.16 ± 0.12	60.2
1071-32	1.86 ± 0.09	1.11 ± 0.15	59.4
LM 428	1.90 ± 0.08	1.13 ± 0.12	59.4
Kagome 931	1.81 ± 0.06	1.07 ± 0.20	59.1
Seminis 40	1.42 ± 0.17	0.82 ± 0.04	57.5
Pitenza	1.75 ± 0.09	1.00 ± 0.16	56.9
Tuğba	1.66 ± 0.17	0.92 ± 0.09	55.5
Ortalama	1.65	1.06	64.2

*büyüme periyodu boyunca 18/24°C gece/gündüz sıcaklığı

†15. günden sonra 8/16°C gece/gündüz sıcaklığı uygulaması



Şekil 4.3. Substrat ortamında 30 gün yetiştirilen 36 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki yeşil aksam kuru madde üretimi ile soğuk etkinliği arasındaki ilişki.

4.1.4. IV. Screening Denemesi

I., II. ve III screening denemelerinde test edilen çok sayıda domates genotipinden elde edilen sonuçların teyid edilmesi amacıyla sözkonusu denemelerde soğuk etkinliği çok yüksek ve çok düşük bulunan domates genotipleri bu denemede (IV. screening denemesi) yeniden test edilmiştir.

Toplam 29 domates genotipinin yeniden test edildiği IV. screening denemesinde soğuk etkinliği % 30.7 ile % 55.9 arasında değişerek ortalama % 45.1 bulunmuştur (Çizelge 4.4). Soğuk etkinliği değerleri ile kuru madde üretimleri arasındaki ilişki incelendiğinde, önceki deneme sonuçları ile uyumlu olarak kontrol koşullarındaki verimin soğuk etkinliği ile ilişkili olmadığı, buna karşın soğuk uygulamasındaki verim ve soğuk etkinliği arasında oldukça önemli düzeyde ($p<0.001$) pozitif bir ilişkinin olduğu teyid edilmiştir (Şekil 4.4).

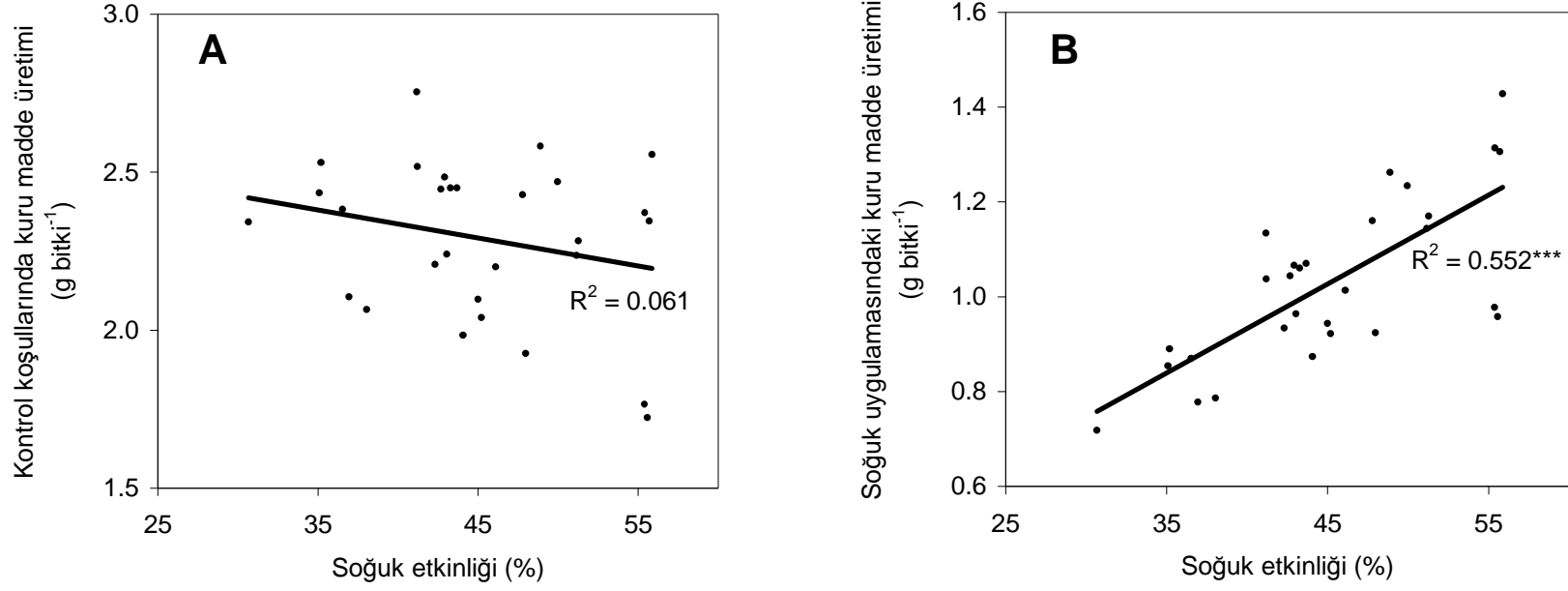
Domates genotiplerinin IV. denemedeki performanslarını önceki denemelerle karşılaştırmasının kolay olması için her denemeye ait soğuk etkinliği değerleri % sıralı konuma göre hesaplanarak (% 0: soğuk etkinliği en düşük genotip, % 100: soğuk etkinliği en yüksek genotip) çizelge 4.5'te gösterilmiştir. Buna göre, TR63233 ve TR55711'in istisnai durumu hariç, I. II. veya III. screening denemelerinde çok yüksek soğuk etkinliği gösteren genotipler, IV. denemede yeniden test edildiklerinde yine benzer performans göstermiştir. I. II. veya III. screening denemelerinde çok düşük etkinliğe sahip çeşitler ise IV. denemede soğuk etkinliği bakımından yine en alt sıralarda yer almıştır (Çizelge 4.5). Elde edilen bu sonuç, daha önce yapılan screening denemelerin sonuçlarının isabetli ve tekrarlanabilir olduğunu göstermektedir. I., II. veya III. denemedeki soğuk etkinliği değerleri IV. denemenin değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak oldukça önemli ($p<0.001$) pozitif bir ilişki bulunduğu görülebilir (Şekil 4.5).

Çizelge 4.4. Substrat ortamında 32 gün yetiştirilen 29 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki kuru madde üretimi ve soğuk etkinliği değerleri (soğuk etkinliği = soğuk uygulamasındaki kuru madde üretimi/kontrol koşullarındaki kuru madde üretimi*100).

Genotip	Kuru madde üretimi		Soğuk Etkinliği (%)
	*Kontrol	†Soğuk	
	(g bitki ⁻¹)		
LM 513	2.56 ± 0.13	1.43 ± 0.06	55.9
TR52414	2.35 ± 0.33	1.31 ± 0.13	55.7
TR63233	1.72 ± 0.21	0.96 ± 0.23	55.6
TR49646	2.37 ± 0.20	1.31 ± 0.09	55.4
D 2274	1.77 ± 0.47	0.98 ± 0.18	55.4
Lignon C.19.18	2.28 ± 0.17	1.17 ± 0.09	51.3
Arizona	2.24 ± 0.14	1.14 ± 0.17	51.2
TR55711	2.47 ± 0.21	1.23 ± 0.16	50.0
TR43484	2.58 ± 0.17	1.26 ± 0.14	48.9
Pearson	1.93 ± 0.19	0.92 ± 0.21	48.0
TR49449	2.43 ± 0.20	1.16 ± 0.02	47.8
Romitel	2.20 ± 0.24	1.01 ± 0.06	46.1
1009-8	2.04 ± 0.18	0.92 ± 0.14	45.2
Dalmone	2.10 ± 0.25	0.94 ± 0.16	45.0
Pakmor	1.98 ± 0.32	0.87 ± 0.19	44.1
Bolero	2.45 ± 0.15	1.07 ± 0.10	43.7
W156	2.45 ± 0.13	1.06 ± 0.07	43.3
194	2.24 ± 0.14	0.96 ± 0.12	43.0
Fer	2.48 ± 0.52	1.07 ± 0.20	42.9
Lignon S ₈	2.45 ± 0.14	1.04 ± 0.19	42.7
227/1	2.21 ± 0.12	0.93 ± 0.20	42.3
Kagome 931	2.52 ± 0.11	1.04 ± 0.20	41.2
1071-32	2.75 ± 0.08	1.13 ± 0.15	41.2
Seminis 40	2.07 ± 0.31	0.79 ± 0.15	38.0
1009-6	2.11 ± 0.18	0.78 ± 0.16	36.9
Pitenza	2.38 ± 0.26	0.87 ± 0.07	36.5
Sundance	2.53 ± 0.20	0.89 ± 0.27	35.2
Golie	2.43 ± 0.25	0.85 ± 0.13	35.1
Tuğba	2.34 ± 0.11	0.72 ± 0.17	30.7
Ortalama	2.29	1.03	45.1

*büyüme periyodu boyunca 18/24 °C gece/gündüz sıcaklığı

†18. günden sonra 8/16°C gece/gündüz sıcaklığı uygulaması

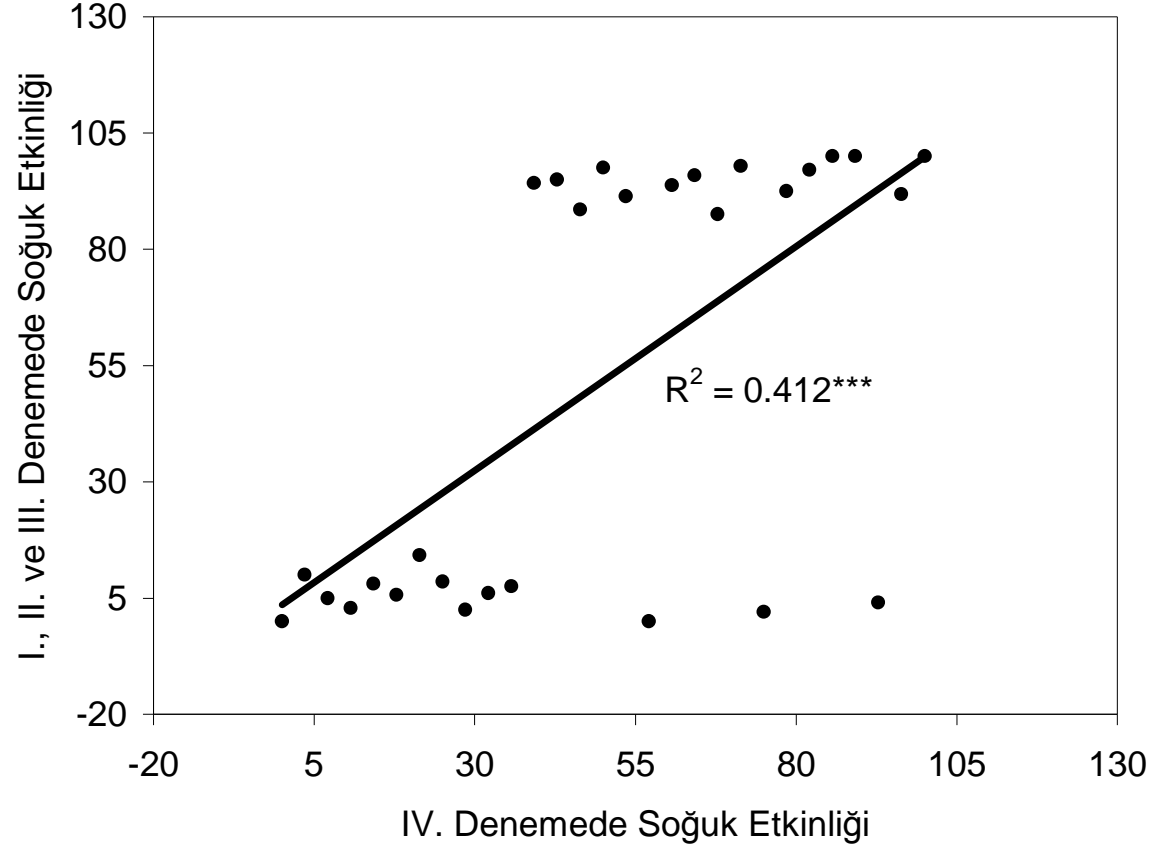


Şekil 4.4. Substrat ortamında 31 gün yetiştirilen 29 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki kuru madde üretimi ile soğuk etkinliği arasındaki ilişki

Çizelge 4.5. I., II. ve III. screening denemelerinde soğuk etkinliği çok yüksek veya çok düşük bulunan domates genotiplerinin yeniden test edildiği IV. denemedeki soğuk etkinliği değerleri.

Genotip	Farklı Denemelerdeki Soğuk Etkinliği			
	I.	II.	III.	IV.
		(% sıralı konum*)		
LM 513			100.0	100.0
TR52414	91.8			96.4
TR63233	4.0			92.8
TR49646	100.0			89.2
D-2274		100.0		85.7
Lignon C.19.18			97.1	82.1
Arizona		92.5		78.5
TR55711	2.0			75.0
TR43484	97.9			71.4
Pearson		87.5		67.8
TR49449	95.9			64.2
Romitel	93.8			60.7
1009-8	0.0			57.1
Dalmone			91.4	53.5
Pakmor		97.5		50.0
Bolero			88.5	46.4
W156		95.0		42.8
194			94.2	39.2
Fer		7.5		35.7
Lignon S ₃	6.1			32.1
227/1		2.5		28.5
Kagome 931			8.5	25.0
1071-32			14.2	21.4
Seminis 40			5.7	17.8
1009-6	8.1			14.2
Pitenza			2.8	10.7
Sundance		5.0		7.1
Golie		10.0		3.5
Tuğba			0.0	0.0
Ortalama	50.0	55.3	50.2	50.0

* farklı denemelere ait soğuk etkinliği değerleri % sıralı konuma göre Excel programında hesaplanarak verilmiştir.



Şekil 4.5. Domates genotiplerinin I., II. ve III. screening denemelerindeki soğuk etkinliği ile IV. denemede soğuk etkinliği değerleri arasındaki ilişki.

4.1.5. V. Screening Denemesi

V. Screening denemesinde düşük sıcaklık stresinin uygulandığı periyodun yaklaşık % 50 azaltıldığında (9 gün 8-16 °C gece/gündüz) bunun, önceki soğuk etkinliği değerlerinden ne derece farklılık göstereceğinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Bu amaçla, IV. screening denemesi ile 2. kez test edilen 29 domates genotipi tekrar denemeye alınmış, ancak bu kez önceki denemeden farklı olarak, düşük sıcaklık stresinin uygulandığı periyot yaklaşık % 50 azaltılarak 9 güne indirilmiştir. Düşük sıcaklık stresi uygulanan periyodun azaltılması sonucunda soğuk etkinliği değerlerinin ortalaması % 73.9 gibi yüksek bir değer almıştır. Ancak bu durum domates genotiplerinin soğuk etkinliği değerleri arasındaki varyasyonu etkilememiştir. Toplam 29 genotipin test edildiği V. screening denemesinde soğuk etkinliği değerleri % 43.6 ile % 99.3 arasında oldukça geniş değişim göstermiştir (Çizelge 4.6). Önceki denemelerdekine benzer olarak, soğuk uygulamasında, yüksek kuru madde verimine sahip olan genotiplerin soğuk etkinliği de yüksek (ör. W 156, TR55711, LM 513 ve Arizona), düşük kuru madde verimine sahip olan genotiplerin soğuk etkinliği düşük (ör. Sundance, Pakmor, Tuğba ve Lignon S₃) bulunmuştur (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6). Kontrol koşullarında genotiplerin oluşturduğu kuru madde üretimi ve soğuk etkinliği arasında ise böyle bir ilişki bulunmamıştır (Şekil 4.6). Farklı periyotlarda düşük sıcaklık stresi (IV. screening denemesi: 20 gün, V. screening denemesi: 9 gün) ile domates genotiplerinin sahip oldukları soğuk etkinliği değerleri arasında önemli düzeyde ilişki olduğu ($p < 0.01$) Şekil 4.7'de gösterilmiştir.

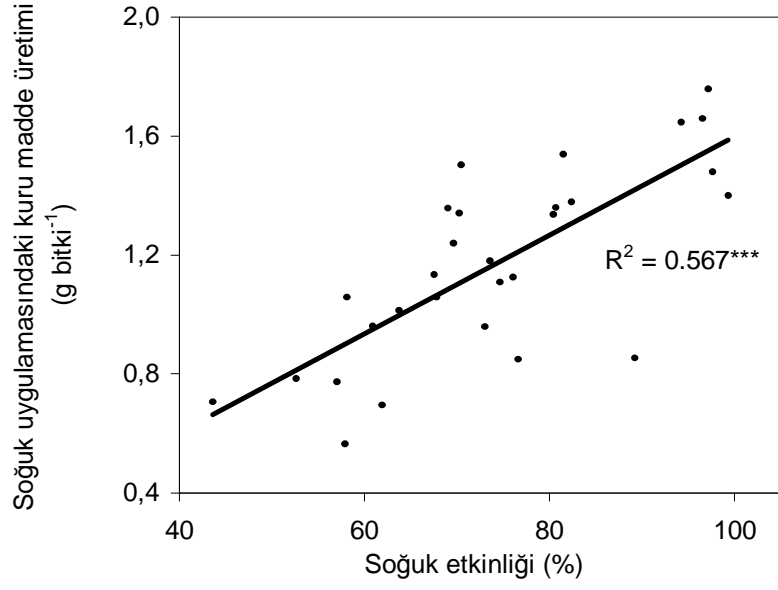
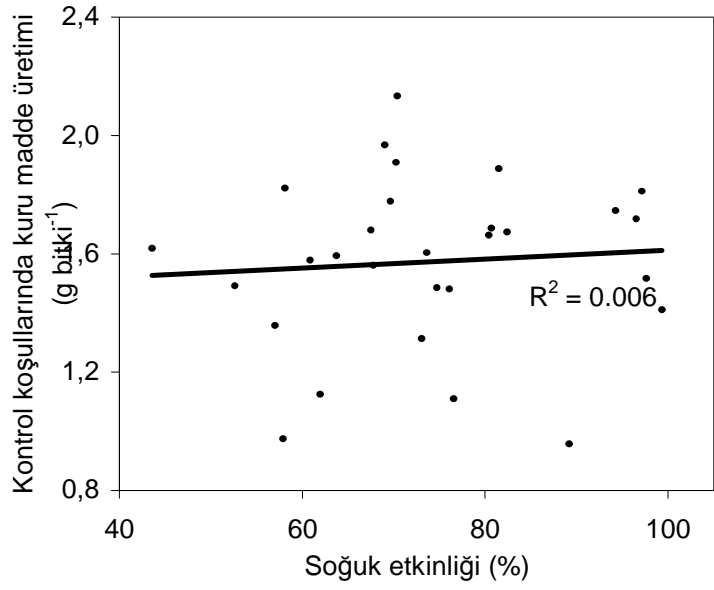
IV. ve V. screening denemelerinde ortak olarak test edilen Tuğba, Sundance, Pitenza, Golie ve Lignon S₃ adlı genotipler 9 veya 20 günlük düşük sıcaklık stresi periyodunda benzer oranda etkilenecek her iki durumda da düşük soğuk etkinliği değerleri almıştır (Şekil 4.7). Buna benzer olarak, 20 gün düşük sıcaklık stresi uygulandığında soğuk etkinliği yüksek bulunan LM 513, D-2274, Arizona ve Lignon C.19.18 adlı genotiplerin 9 günlük soğuk etkinliği değerleri de oldukça yüksek bulunmuştur (Şekil 4.7).

Çizelge 4.6. Substrat ortamında 28 gün yetiştirilen 29 farklı domates genotipinin kontrol ve soğuk uygulaması koşullarındaki kuru madde üretimi ve soğuk etkinliği değerleri (soğuk etkinliği = soğuk uygulamasındaki kuru madde üretimi/kontrol koşullarındaki kuru madde üretimi*100).

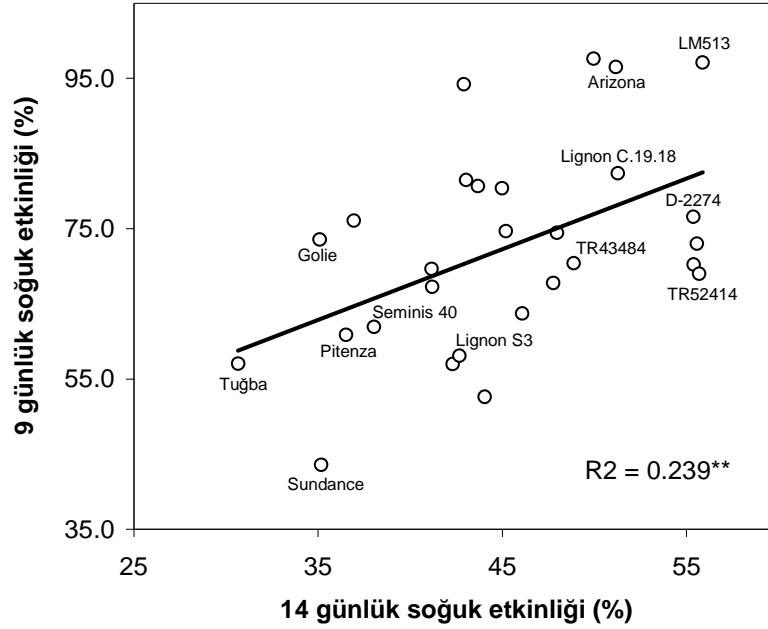
Genotip	Kuru madde üretimi		Soğuk Etkinliği (%)
	*Kontrol	†Soğuk	
	(g bitki ⁻¹)		
W156	1.41 ± 0.29	1.40 ± 0.31	99.3
TR55711	1.52 ± 0.07	1.48 ± 0.09	97.6
LM 513	1.81 ± 0.26	1.76 ± 0.09	97.1
Arizona	1.72 ± 0.23	1.66 ± 0.08	96.5
Fer	1.75 ± 0.17	1.65 ± 0.33	94.2
69237	0.96 ± 0.31	0.85 ± 0.18	89.2
Lignon C.19.18	1.67 ± 0.12	1.38 ± 0.37	82.4
194	1.89 ± 0.34	1.54 ± 0.17	81.5
Bolero	1.69 ± 0.16	1.36 ± 0.26	80.7
Dalmone	1.66 ± 0.24	1.34 ± 0.15	80.4
D-2274	1.11 ± 0.12	0.85 ± 0.29	76.6
1009-6	1.48 ± 0.20	1.13 ± 0.12	76.1
1009-8	1.48 ± 0.17	1.11 ± 0.15	74.7
Golie	1.60 ± 0.25	1.18 ± 0.13	73.6
TR63233	1.31 ± 0.21	0.96 ± 0.25	73.0
TR43484	2.13 ± 0.19	1.50 ± 0.12	70.4
TR49646	1.91 ± 0.21	1.34 ± 0.31	70.2
1071-32	1.78 ± 0.13	1.24 ± 0.14	69.6
TR52414	1.97 ± 0.24	1.36 ± 0.19	69.0
TR49449	1.56 ± 0.29	1.06 ± 0.34	67.8
Kagome 931	1.69 ± 0.13	1.13 ± 0.22	67.3
Romitel	1.59 ± 0.27	1.01 ± 0.20	63.7
Seminis 40	1.12 ± 0.14	0.70 ± 0.08	61.9
Pitenza	1.58 ± 0.14	0.96 ± 0.16	60.9
Lignon S ₃	1.82 ± 0.07	1.06 ± 0.19	58.1
Tuğba	1.36 ± 0.14	0.77 ± 0.21	57.0
227/1	0.99 ± 0.23	0.56 ± 0.08	57.0
Pakmor	1.49 ± 0.23	0.78 ± 0.22	52.6
Sundance	1.62 ± 0.41	0.71 ± 0.08	43.6
Ortalama	1.57	1.17	73.9

*büyüme periyodu boyunca 18/24°C gece/gündüz sıcaklığı

†19. günden sonra 8/16°C gece/gündüz sıcaklığı uygulaması



Şekil 4.6. Substrat ortamında 28 gün yetiştirilen 29 farklı domates genotipinin soğuk ve kontrol uygulaması koşullarındaki kuru madde üretimi ile soğuk etkinliği arasındaki ilişki.



Şekil 4.7. Domates genotiplerinin 9 ve 14 günlük soğuk etkinlikleri arasındaki ilişki.

4.2. Domates Genotiplerinin Farklı Soğuk Etkinliğinden Sorumlu Olabilecek Antioksidatif Sistemlerin Araştırılması

Bu deneme, screening denemelerinde soğuk etkinliği bakımından birbirinden oldukça farklı bulunan 6 duyarlı (Lignon S₃, Seminis 40, Golie, Pitenza, Sundance ve Tuğba) ve 6 tolerant (LM 513, D 2274, TR52414, Arizona, Lignon C.19.18 ve TR43484) domates genotipi ile bölüm 3.2.5.' deki gibi yürütülmüştür.

4.2.1. Antosiyanin Konsantrasyonu

Domates genotiplerinin kontrol koşullarındaki antosiyanin konsantrasyonu ortalama 795 birim olarak 294 ile 1232 birim arasında oldukça geniş bir varyasyon göstermiştir (Çizelge 4.7). Yapılan düşük sıcaklık uygulaması sonucunda tüm genotiplerin ortalaması bazında antosiyanin konsantrasyonu 3.1 kat artarak 2457 birime yükselmiştir. Soğuk uygulamasında en yüksek konsantrasyon 3916, en düşük konsantrasyon ise 1368 birim olmuştur (Çizelge 4.7). Domates genotiplerinin kontrol veya soğuk uygulamalarındaki antosiyanin konsantrasyonu ile soğuk etkinlikleri arasında bir ilişki bulunmamıştır. Örneğin düşük sıcaklık uygulaması sonucunda

antosiyenin konsantrasyonu benzer oranda artan çeşitlerin (LM 513 ve Tuğba) soğuk etkinliklerinin ise oldukça farklıdır (Çizelge 4.5, Şekil 4.7 ve Çizelge 4.7). Soğuk etkinliği düşük bulunan genotiplerin kontrol koşullarında (Seminis 40) ve soğuk uygulamasında (Pitenza) en yüksek antosiyenin konsantrasyonuna sahip olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.7. Soğuk etkinliği birbirinden farklı 12 domates genotipinin kontrol ve soğuk (8/16 °C gece/gündüz) uygulamalarındaki antosiyenin konsantrasyonu.

Genotip	Antosiyenin konsantrasyonu		soğuk/kontrol
	Kontrol	Soğuk	
	(relatif*)		
Arizona	792 ± 51	1936 ± 354	2.4
D-2274	752 ± 30	1964 ± 277	2.6
Lignon C.19.18	560 ± 142	1774 ± 163	3.2
LM 513	1062 ± 120	3062 ± 360	2.9
TR43484	628 ± 100	3140 ± 374	5.0
TR52414	294 ± 27	1368 ± 181	4.7
Golie	708 ± 52	2432 ± 438	3.4
Lignon S ₃	458 ± 33	1982 ± 249	4.3
Pitenza	978 ± 22	3916 ± 186	4.0
Seminis 40	1232 ± 50	2560 ± 445	2.1
Sundance	1116 ± 255	2582 ± 531	2.3
Tuğba	960 ± 88	2762 ± 352	2.9
Ortalama	795	2457	3.1

*ABS₅₃₆-ABS₆₀₀*1000

4.2.2. Askorbik Asit Konsantrasyonu (AsA)

Soğuk veya kontrol uygulamalarındaki askorbik asit değerleri ile genotiplerin soğuk etkinliği arasında önemli bir ilişki bulunmamıştır (Çizelge 4.5 ve 4.8). Kontrolde Golie ve soğuk uygulamasında TR52414 en yüksek değeri alırken D 2274 genotipi her iki uygulamada da en düşük askorbik asit konsantrasyonuna sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.8). Genotiplerin ortalama askorbik asit konsantrasyonu kontrolde 135'ten soğuk uygulamasında 165 µg g⁻¹ TA değerine çıkarak % 18 oranında artış göstermiştir (Çizelge 4.8). Askorbik asit oranındaki artışlar genotip bazında incelendiğinde genelde soğuk etkinliği düşük genotiplerin uygulamalar arasında farklılık göstermediği, buna karşın, yüksek soğuk etkinliğine sahip genotiplerde askorbik asit konsantrasyonunun 1.2 ile (D 2274) 1.9 kat (Arizona) kadar arttığı belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda, domates genotiplerinin soğuk etkinliği değerleri ile soğuktaki askorbik asit

konsantrasyonunun kontroldeki askorbik asit konsantrasyonuna oranı arasında önemli ($P < 0.05$) düzeyde pozitif bir ilişki bulunduğunu saptanmıştır.

Çizelge 4.8. Soğuk etkinliği birbirinden farklı 12 domates genotipinin kontrol ve soğuk ($8/16$ °C gece/gündüz) uygulamalarındaki askorbik asit konsantrasyonu (AsA).

Genotip	Askorbik asit		soğuk/kontrol
	Kontrol	Soğuk	
	(µg g ⁻¹ TA)		
Arizona	112 ± 22	209 ± 36	1.9
D-2274	70 ± 10	84 ± 23	1.2
Lignon C.19.18	117 ± 18	175 ± 20	1.5
LM 513	149 ± 17	188 ± 37	1.3
TR43484	103 ± 28	161 ± 39	1.6
TR52414	178 ± 25	231 ± 41	1.3
Golie	180 ± 27	173 ± 45	1.0
Lignon S ₃	148 ± 16	136 ± 44	0.9
Pitenza	136 ± 15	139 ± 34	1.0
Seminis 40	153 ± 24	160 ± 21	1.0
Sundance	144 ± 23	143 ± 19	1.0
Tuğba	129 ± 30	178 ± 12	1.4
Ortalama	135	165	1.2

4.2.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

Ölçülen antioksidatif enzimler arasında soğuk uygulamasından en fazla etkilenen süperoksit dismutaz (SOD) olmuştur. SOD aktivitesi test edilen tüm domates genotiplerinde soğuk uygulamasında % 6 (Tuğba) ile % 102 (Pitenza) arasında değişen oranlarda artmıştır (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.8). Ancak genotiplerin soğuk etkinliği ile SOD aktivitesindeki söz konusu değişim arasında önemli bir ilişki bulunmamıştır. Örneğin soğuk etkinliği yüksek D 2274 ve TR52414 (Çizelge 4.5) genotiplerinin SOD aktivitelerindeki artış oranı, soğuk etkinliği düşük Lignon S₃ ve Seminis 40 (Çizelge 4.5) genotipleri ile büyük benzerlik göstermiştir (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.8). Soğuk uygulamasında SOD aktivitesi en fazla (Pitenza) ve en az (Tuğba) etkilenen genotiplerin (Çizelge 4.9) her ikisinde soğuk etkinliği düşük genotipler oluşu (Çizelge 4.5) bu sonucu desteklemektedir. Diğer taraftan, SOD aktivitesindeki geniş varyasyonun yanı sıra, soğuk etkinliği yüksek genotiplerin SOD aktivitesindeki ortalama artış (% 49) soğuk etkinliği düşük genotiplerden (% 38) daha fazla olmuştur (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Soğuk etkinliği birbirinden farklı 12 domates genotipinin kontrol ve soğuk (8/16 °C gece/gündüz) uygulamalarındaki süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi.

Genotip	Kontrol		Soğukta Artış (%)
	(U mg ⁻¹ protein)		
Arizona	7.3 ± 0.7	9.5 ± 1.0	30
D-2274	5.3 ± 0.7	7.5 ± 1.4	41
Lignon C.19.18	8.5 ± 0.3	9.2 ± 0.5	9
LM 513	7.9 ± 0.5	14.5 ± 0.7	84
TR43484	6.3 ± 1.0	11.8 ± 1.8	88
TR52414	8.5 ± 1.4	12.2 ± 0.2	44
Golie	7.3 ± 1.3	8.6 ± 1.3	18
Lignon S ₃	6.1 ± 0.5	9.0 ± 0.7	47
Pitenza	7.5 ± 0.1	15.1 ± 0.9	102
Seminis 40	5.5 ± 0.6	7.5 ± 1.5	37
Sundance	8.5 ± 0.8	10.1 ± 1.3	18
Tuğba	9.4 ± 1.8	10.0 ± 1.3	6
Ortalama	7.3	10.4	44

4.2.4. Askorbat Peroksidaz (APaz) Aktivitesi

Askorbat Peroksidaz (APaz) aktivitesindeki artış oranı soğuk uygulaması sonucu ortalama % 15 bulunmuştur (Çizelge 4.10). SOD'dan farklı olarak, APaz aktivitesi bazı genotiplerde (TR52414, Lignon C.19.18, Golie, Tuğba ve Seminis 40) soğuk uygulamasıyla birlikte azalmıştır (Çizelge 4.10). Buna karşın APaz ve SOD aktivitelerinin soğuktaki artış oranları arasında önemli ilişki olduğu ($p < 0.05$) belirlenmiştir. Başka bir deyişle domates genotiplerinde APaz ve SOD aktivitesi soğuk uygulamasına benzer şekilde tepki göstermiştir (Şekil 4.8, Çizelge 4.9 ve 4.10). Domates genotiplerinin kontrol veya soğuk uygulamasındaki APaz aktiviteleri ile soğuk etkinliği arasında ise ilişki bulunmamıştır (Çizelge 4.5 ve 4.10).

Çizelge 4.10. Soğuk etkinliği birbirinden farklı 12 domates genotipinin kontrol ve soğuk (8/16 °C gece/gündüz) uygulamalarındaki askorbat peroksidaz enzim (APaz) aktivitesi

Genotip	Kontrol		Soğukta Artış (%)
	APaz (µmol mg ⁻¹ protein min ⁻¹)		
Arizona	0.32 ± 0.02	0.36 ± 0.02	14
D-2274	0.21 ± 0.00	0.30 ± 0.03	40
Lignon C.19.18	0.34 ± 0.03	0.33 ± 0.03	-4
LM 513	0.28 ± 0.06	0.36 ± 0.03	31
TR43484	0.33 ± 0.01	0.39 ± 0.04	18
TR52414	0.33 ± 0.01	0.31 ± 0.02	-5
Golie	0.45 ± 0.04	0.35 ± 0.01	-23
Lignon S ₃	0.31 ± 0.03	0.37 ± 0.01	20
Pitenza	0.27 ± 0.04	0.51 ± 0.04	91
Seminis 40	0.28 ± 0.04	0.22 ± 0.03	-22
Sundance	0.32 ± 0.05	0.41 ± 0.01	29
Tuğba	0.41 ± 0.05	0.38 ± 0.05	-8
Ortalama	0.32	0.36	15

4.2.5. Glutatiyon Redüktaz (GRaz) Aktivitesi

Soğuk etkinliği yüksek D 2274 ve LM 513 hariç, diğer 10 domates genotipinde glutatiyon redüktaz (GRaz) aktivitesi soğuk uygulamasıyla birlikte azalmıştır (Çizelge 4.11, Şekil 4.8). Ancak soğuk etkinliği ile GRaz aktivitesindeki değişim arasında bir ilişki bulunmamıştır. Örneğin soğuk etkinliği birbirinden oldukça farklı bulunan Tuğba ve Lignon C.19.18'in GRaz aktivitesi soğuk uygulaması sonucu benzer oranda azalmıştır (Şekil 4.5 ve 4.8; Çizelge 4.5 ve 4.11). Domates genotiplerinde ölçümü yapılan diğer antioksidatif enzimler ile GRaz aktivitesi arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki saptanmıştır.

Çizelge 4.11. Soğuk etkinliği birbirinden farklı 12 domates genotipinin kontrol ve soğuk (8/16 °C gece/gündüz) uygulamalarındaki glutatiyon redüktaz (GRaz) enzim aktivitesi.

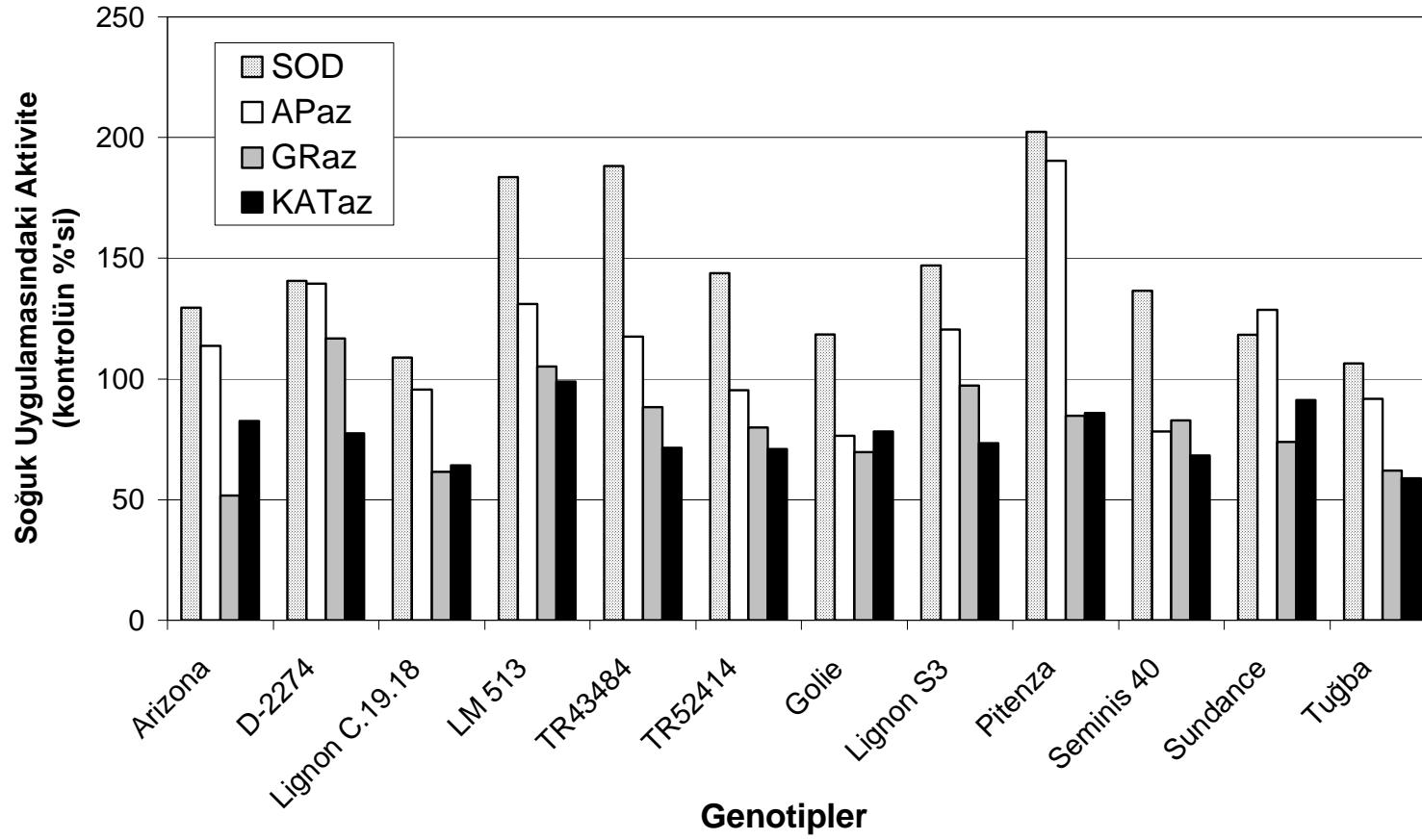
Genotip	Kontrol	Soğuk	Soğukta Artış
	(nmol mg ⁻¹ protein min ⁻¹)		(%)
Arizona	23.0 ± 3.7	11.9 ± 1.1	-48
D-2274	13.0 ± 1.5	15.2 ± 1.8	17
Lignon C.19.18	20.8 ± 0.5	12.8 ± 1.9	-39
LM 513	20.8 ± 0.5	21.9 ± 4.0	5
TR43484	19.2 ± 0.9	16.9 ± 2.0	-12
TR52414	20.5 ± 0.7	16.4 ± 3.3	-20
Golie	25.8 ± 1.5	18.0 ± 1.3	-30
Lignon S ₃	17.2 ± 3.1	16.7 ± 4.5	-3
Pitenza	24.6 ± 1.2	20.8 ± 3.4	-15
Seminis 40	18.1 ± 3.6	15.0 ± 3.6	-17
Sundance	29.1 ± 1.8	21.4 ± 1.8	-26
Tuğba	34.7 ± 3.2	21.5 ± 2.9	-38
Ortalama	22.2	17.4	-19

4.2.6. Katalaz (KATaz) Aktivitesi

Soğuk uygulaması sonucu KATaz aktivitesi test edilen tüm domates genotiplerinde azalmıştır (Çizelge 4.12 ve Şekil 4.8). KATaz aktivitesindeki azalma Tuğba'da % 41'den LM 513'te % 1'e kadar oldukça geniş bir varyasyon göstermiştir (Çizelge 4.12). Ancak bu varyasyonla genotiplerin soğuk etkinliğindeki varyasyon arasında istatistiksel olarak bir ilişki bulunmamıştır.

Çizelge 4.12. Soğuk etkinliği birbirinden farklı 12 domates genotipinin kontrol ve soğuk (8/16 °C gece/gündüz) uygulamalarındaki katalaz (KATaz) enzim aktivitesi.

Genotip	Kontrol	Soğuk	Soğukta Artış
	(nmol mg ⁻¹ protein min ⁻¹)		(%)
Arizona	7.6 ± 0.9	6.3 ± 0.1	-18
D-2274	7.9 ± 0.6	6.1 ± 0.5	-23
Lignon C.19.18	11.0 ± 0.6	7.1 ± 0.6	-36
LM 513	7.8 ± 0.7	7.7 ± 0.9	-1
TR43484	8.6 ± 0.2	6.2 ± 0.8	-29
TR52414	8.3 ± 0.6	5.9 ± 0.1	-29
Golie	9.5 ± 0.5	7.4 ± 0.5	-22
Lignon S ₃	7.6 ± 0.6	5.6 ± 0.4	-27
Pitenza	9.4 ± 0.2	8.1 ± 0.3	-14
Seminis 40	8.9 ± 0.6	6.1 ± 0.2	-32
Sundance	9.2 ± 0.7	8.4 ± 0.7	-9
Tuğba	12.6 ± 1.0	7.4 ± 0.7	-41
Ortalama	9.0	6.9	-23



Şekil 4.8. Soğuk etkinliği birbirinden farklı 12 domates genotipinde soğuk uygulamasındaki antioksidatif enzimlerin değişimi.

4.2.7. Protein Konsantrasyonu

Soğuk uygulaması yaprakların protein konsantrasyonunun ortalama % 16.5 artmasına neden olmuştur (Çizelge 4.13). Protein konsantrasyonundaki artış oranı bazı çeşitlerde daha yüksek olurken (Tuğba ve Arizona), bazı çeşitlerde ise fazla değişim göstermemiştir (TR43484, LM 513, Pitenza ve Lignon S₃). Soğuk etkinliği ile protein konsantrasyonundaki soğuk uygulamasına bağlı değişim arasında ilişki bulunmamıştır.

Çizelge 4.13. Soğuk etkinliği birbirinden farklı 12 domates genotipinin kontrol ve soğuk (8/16 °C gece/gündüz) uygulamalarındaki protein konsantrasyonu.

Genotip	Protein		soğuk/kontrol
	Kontrol	Soğuk	
	(mg g ⁻¹ TA)		
Arizona	15.2 ± 1.9	23.5 ± 0.3	1.5
D-2274	21.9 ± 0.1	23.3 ± 0.9	1.1
Lignon C.19.18	19.0 ± 0.4	22.7 ± 1.2	1.2
LM 513	22.5 ± 1.9	21.9 ± 1.3	1.0
TR43484	17.7 ± 0.5	20.2 ± 1.0	1.1
TR52414	17.1 ± 0.6	22.6 ± 0.9	1.3
Golie	18.7 ± 1.6	23.8 ± 1.3	1.3
Lignon S ₃	25.1 ± 1.3	23.3 ± 0.3	0.9
Pitenza	21.2 ± 1.3	20.4 ± 0.2	1.0
Seminis 40	19.4 ± 1.4	25.2 ± 0.8	1.3
Sundance	18.3 ± 1.2	20.8 ± 0.4	1.1
Tuğba	17.2 ± 1.2	23.7 ± 0.3	1.4
Ortalama	19.4	22.6	1.2

4.3. Donma Derecesine Yakın Düşük Gece Sıcaklığının Paraquat Toleransına Etkisinin Araştırılması

Bitkiler bölüm 3.2.2'deki anlatıldığı şekilde yetiştirilerek bölüm 3.2.13' deki gibi PQ tolerans testine tabi tutulmuşlardır. Soğuk ve PQ uygulaması yapılmadığında beklenildiği gibi en yüksek klorofil değerleri elde edilmiştir. Bu durumda klorofil konsantrasyonu 31.8 (TR52414) ile 53.8 (Seminis 40) arasında değişim göstererek bir yaprak segmenti başına ortalama 44.1 µg bulunmuştur (Çizelge 4.14). Tek başına soğuk uygulaması, klorofil konsantrasyonunun kontrol koşullarına göre ortalama % 26 azalarak 32.6 µg segment⁻¹ düzeyine inmesine neden olmuştur. Yaprak

segmentlerine 200 µM PQ uygulandığı durumda ise (PQ₂₀₀), paraquat), klorofil konsantrasyonu kontrol bitkilerinde % 56, soğuk uygulanan bitkilerde ise % 39 oranında azalmıştır. PQ₂₀₀ uygulamasında PQ₀'dan farklı olarak, kontrol ve soğuk uygulamaları ile yetiştirilen bitkilerin klorofil değerleri çok az varyasyon göstermiştir (Çizelge 4.14). Sonuçları düşük sıcaklık stresi uygulandığında PQ toleransının arttığını göstermektedir.

Çizelge 4.14. Hasat öncesi 9 gün süreyle geceleri uygulanan düşük sıcaklık stresinin (8 saat 2±1°C) 32 günlük 8 farklı domates genotipinde yaprak segmentlerinin klorofil konsantrasyonu ile belirlenen paraquat (PQ) toleransına etkisi (PQ toleransı= PQ₂₀₀/PQ₀*100).

Genotip	SE* (%)	Klorofil konsantrasyonu				PQ toleransı		
		PQ ₀		PQ ₂₀₀		Kontrol	Soğuk	soğuk/kontrol
		Kontrol	Soğuk	Kontrol	Soğuk			
		(µg klorofil segment ⁻¹)				(%)		
LM 512	-	51.7 ± 3.5	36.3 ± 3.4	30.9 ± 3.3	27.4 ± 3.9	59.7	75.4	1.3
LM 513	55.9	45.4 ± 0.6	31.5 ± 1.4	25.3 ± 3.4	23.4 ± 3.3	55.8	74.4	1.3
TR52414	55.7	31.8 ± 2.0	21.9 ± 0.9	6.7 ± 2.7	17.9 ± 0.4	21.0	82.0	3.9
Arizona	51.2	43.0 ± 2.3	34.3 ± 2.0	6.6 ± 3.0	8.8 ± 1.7	15.5	25.7	1.7
Lignon S3	42.7	44.5 ± 0.1	31.2 ± 1.2	20.7 ± 2.7	15.7 ± 1.2	46.6	50.2	1.1
Seminis 40	38.0	53.8 ± 0.2	39.9 ± 0.9	29.6 ± 1.9	20.7 ± 0.8	55.0	51.7	0.9
Sundance	35.2	36.4 ± 1.7	27.7 ± 1.9	14.6 ± 1.0	19.8 ± 1.7	40.2	71.5	1.8
Tuğba	30.7	46.6 ± 2.2	37.6 ± 0.2	20.7 ± 2.2	25.1 ± 2.2	44.4	66.7	1.5
Ortalama	44.2	44.1	32.6	19.4	19.9	42.3	62.2	1.7

Bu denemede uygulanan düşük sıcaklık stresi, genotiplerin PQ toleransının ortalama 1.7 kat artmasına neden olmuştur (Çizelge 4.14). Test edilen 8 genotipten biri (Seminis 40) haricinde diğer genotiplerin soğuktaki PQ toleransı değişik oranlarda artış göstermiştir. Söz konusu artışlar Lignon S₃'de 1.1 ile TR52414'de 3.9 kat arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.14). Ancak, domates genotiplerinin PQ toleransı değerleri ile soğuk etkinliği değerleri arasında önemli bir ilişki bulunmamıştır. Örneğin ortalamanın üzerinde soğuk etkinliği değerine sahip Arizona çeşidinin PQ toleransı, hem soğuk hem de kontrol uygulamalarında en düşük değerleri almıştır. Tuğba genotipi ise soğuk etkinliği çok düşük olduğu halde kontrol ve soğuk uygulamalarında ortalamanın üzerinde PQ toleransı göstermiştir (Çizelge 4.14). Bu istisnaların dışında, önceki denemelerde en yüksek soğuk etkinliğine sahip çeşitlerin (LM 512, LM 513 ve TR52414) soğuk uygulamasındaki PQ toleransı da en yüksek değerleri almıştır (Çizelge 4.14).

4.4. Düşük Sıcaklık Stresi Öncesinde Yapraftan Uygulanan Salisilik Asit (SA), Hidrojen Peroksit (H₂O₂) ve Paraquat (PQ)'ın Antioksidan Bileşiklere Etkisinin Araştırılması

Bu deneme, soğuk stresi öncesi çok düşük dozlarda uygulanan hidrojen peroksit (H₂O₂) ve paraquat (PQ) gibi oksidatif stres arttırıcıların (OSA) düşük sıcaklığa toleranstaki etkisi için düşük sıcaklığa orta düzeyde dayanıklı (LM 512 ve H-2274) ve duyarlı (Semini 40 ve Lignon S3) olan 4 domates genotipi ile bölüm 3.2.6.'deki gibi yürütülmüştür. Düşük sıcaklık uygulaması sonunda büyümesini tamamlamış genç yapraklarda antosiyanin, total çözümlü SH grupları (-SH) ve askorbik asit (AsA), H₂O₂ ve klorofil konsantrasyonları (SPAD değeri olarak) belirlenmiştir.

Yaprakların klorofil konsantrasyonu (SPAD değerleri) bitkilere uygulanan 10 günlük sıcaklık rejimi sonucunda ortalama % 30 azalmıştır. Oksidatif stresi arttırıcı (OSA) maddeler uygulanmadığında (kontrol: H₂O) ve optimum sıcaklık rejiminde (20/24°C) ortalama SPAD değeri 50, düşük sıcaklık rejiminde ise (2/19°C) 35 bulunmuştur (Çizelge 4.15). Yapılan farklı yaprak uygulamalarının domates genotiplerinin kontrol veya düşük sıcaklık rejiminde SPAD değerlerine önemli bir etkisi olmamıştır. Bunun bir sonucu olarak SPAD değerlerinin düşük sıcaklıktaki azalış oranları (%) tüm yaprak uygulamaları için ortalama anlamda benzer değerler almıştır (Çizelge 4.15). Genotipler tek tek incelendiğinde ise düşük sıcaklıkta azalan SPAD değerlerinin yaprak uygulamalarından kısmen etkilenebildiği görülebilir. Örneğin OSA uygulanmadığında düşük sıcaklıkta SPAD değeri % 27 azalan Lignon S3'te yapraftan PQ uygulaması bu değer % 40 azalmasına neden olmuştur. Buna karşın LM 512 genotipinde ise değişik yaprak uygulamalarının klorofil içeriğine hemen hiç etkisi olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.15.).

Çizelge 4.15. Önceden yapılan değişik yaprak uygulamalarının düşük sıcaklık stresi uygulanan farklı domates genotiplerinde yaprakların klorofil içeriğine (SPAD değeri) etkisi.

Uygulama	Genotip	20/24 °C (SPAD değeri)	2/19 °C	%de azalış
Kontrol (H ₂ O)	H 2274	48 ± 1	32 ± 1	35
	Lignon S3	44 ± 1	32 ± 1	27
	LM 512	55 ± 1	33 ± 1	39
	Sem. 40	52 ± 4	42 ± 7	18
	Ortalama	50	35	30
0.5 mM Salisilik Asit	H 2274	48 ± 1	38 ± 1	20
	Lignon S3	42 ± 1	27 ± 2	37
	LM 512	51 ± 4	33 ± 1	35
	Sem. 40	52 ± 2	38 ± 1	27
	Ortalama	48	34	30
20 mM H ₂ O ₂	H 2274	50 ± 1	38 ± 1	24
	Lignon S3	47 ± 5	33 ± 1	29
	LM 512	55 ± 2	34 ± 1	38
	Sem. 40	60 ± 7	38 ± 1	37
	Ortalama	53	36	32
25 µM paraquat	H 2274	53 ± 4	36 ± 1	32
	Lignon S3	47 ± 1	28 ± 1	40
	LM 512	51 ± 5	34 ± 1	34
	Sem. 40	56 ± 2	37 ± 2	34
	Ortalama	52	34	35

Farklı yaprak uygulamaları ve sıcaklık rejimlerinin yeşil aksamın hidrojen peroksit (H_2O_2) içeriğine etkisini belirlemek amacıyla yaprakların H_2O_2 içerikleri belirlenmiştir (Çizelge 4.16.). Optimum sıcaklık rejiminde yetiştirilen bitkilerde farklı yaprak uygulamalarının H_2O_2 konsantrasyonuna etkisi görülmemiştir. Düşük sıcaklık stresi sonucunda H-2274 genotipi dışında diğer genotiplerin H_2O_2 konsantrasyonu azalmıştır. Toksik bir O_2 türevi olan H_2O_2 'in düşük sıcaklıkla birlikte azalması H_2O_2 'in detoksifikasyonunda (H_2O 'ya dönüştürülerek zararsız hale dönüştürülmesi) ve/veya oluşumunda rol oynayan süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APaz), glutatyon redüktaz (GRaz), katalaz (KATaz) ve diğer peroksidaz grubu enzimlerin sentezi ve aktivitesindeki değişimlerden kaynaklanabilir. Nitekim düşük sıcaklık öncesinde yapraklara yapılan OSA uygulamaları dokulardaki H_2O_2 konsantrasyonunun daha da azalmasına sebep olmuştur (Çizelge 4.16.). Genotipler arasında da yaprak uygulamalarının bu etkisi büyük farklılıklar göstermiştir. Örneğin H-2274 genotipinde yapraktan H_2O_2 ve H_2O uygulaması yaprak dokularındaki H_2O_2 konsantrasyonuna etki yapmazken, PQ ve SA uygulamalarında sırasıyla % 28 ve % 46 oranında azalmaya neden olmuştur. Seminis 40 genotipi ise SA dışında diğer yaprak uygulamalarının hepsinde H_2O_2 konsantrasyonu en fazla azalan genotiptir. Bu genotipin SA uygulamasındaki H_2O_2 konsantrasyonu ise önemli bir değişim göstermemiştir (Çizelge 4.16.).

Çizelge 4.16. Farklı domates genotiplerinde düşük sıcaklık stresi altında önceden yapılan değişik yaprak uygulamalarıyla yaprakların hidrojen peroksit (H_2O_2) konsantrasyonuna etkisi.

Uygulama	Genotip	20/24 °C ($\mu\text{mol } H_2O_2 \text{ m}^{-2} \text{ yaprak}$)	2/19 °C	*%'de azalış
Kontrol (H_2O)	H 2274	0.76 ± 0.13	0.81 ± 0.07	-7
	Lignon S3	1.09 ± 0.18	0.88 ± 0.07	20
	LM 512	1.12 ± 0.03	0.93 ± 0.10	16
	Sem. 40	1.18 ± 0.07	0.92 ± 0.05	22
	Ortalama	1.04	0.89	13
0.5 mM Salisilik Asit	H 2274	1.02 ± 0.12	0.55 ± 0.01	46
	Lignon S3	1.11 ± 0.01	0.71 ± 0.13	36
	LM 512	1.09 ± 0.03	0.71 ± 0.11	34
	Sem. 40	1.03 ± 0.15	0.85 ± 0.05	17
	Ortalama	1.06	0.71	33
20 mM H_2O_2	H 2274	0.87 ± 0.04	0.88 ± 0.17	-1
	Lignon S3	1.03 ± 0.09	0.61 ± 0.06	41
	LM 512	1.05 ± 0.02	0.76 ± 0.04	28
	Sem. 40	1.30 ± 0.02	0.72 ± 0.15	45
	Ortalama	1.06	0.74	28
25 μM paraquat	H 2274	0.90 ± 0.07	0.64 ± 0.05	28
	Lignon S3	1.12 ± 0.06	0.73 ± 0.13	35
	LM 512	1.17 ± 0.13	0.77 ± 0.05	34
	Sem. 40	1.19 ± 0.11	0.72 ± 0.05	40
	Ortalama	1.10	0.72	34

*negatif değerler % artış oranını göstermektedir

Daha önceki denemelerde düşük sıcaklık stresi uygulamasıyla domates yapraklarının antosiyanin konsantrasyonunda çok büyük artışlar olduğu ancak bu artışların genotiplerin sahip olduğu soğuk etkinliği ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir (bkz. Bölüm 4.2.1.). Yapraktan OSA uygulamalarının optimum ve düşük sıcaklık rejimindeki antosiyanin düzeyine etkisi konusu araştırılmıştır. Yapılan tüm OSA uygulamaları optimum sıcaklık rejimi ile yetiştirilen bitkilerin antosiyanin konsantrasyonunu ortalama % 30 oranında azaltmıştır. Genotipler tek tek ele alındığında OSA uygulamalarıyla hem antosiyanin konsantrasyonu önemli düzeyde azalan (Lignon S3) veya etkilenmeyen (H 2274) genotiplerin olduğu görülebilir (Çizelge 4.17). Düşük sıcaklık uygulandığında ise, antosiyanin konsantrasyonu önemli düzeyde artmıştır (ortalama 2.5 kat artış). Düşük sıcaklıkla gelen bu artış,

bazı genotipsel farkların yanısıra, SA (2.6 kat) ve PQ (2.1 kat) uygulamalarında kontroldekine (OSA yerine H₂O uygulandığında) benzer oranda bulunmuştur. Yapraktan H₂O₂ uygulaması ise düşük sıcaklık rejiminde oluşan antosiyanin artışını önemli ölçüde teşvik etmiştir (4.6 kat artış) (Çizelge 4.17). Örneğin optimum sıcaklık rejiminde antosiyanin konsantrasyonu OSA uygulamalarında en fazla azalan Lignon S3 genotipinde H₂O₂ ve düşük sıcaklık birlikte uygulandığında antosiyanin konsantrasyonunun 6.3 katına çıktığı saptanmıştır (Çizelge 4.17). Lignon S3 genotipine H₂O₂ uygulanmadığı durumda ise söz konusu artış oranının ancak 1.7 kat olduğu Çizelge 4.17.'de görülmektedir. Sonuçlar önceden düşük dozda H₂O₂ uygulamasının düşük sıcaklıklarda antosiyanin sentezini teşvik edebildiğini göstermektedir.

Çizelge 4.17. Önceden yapılan değişik yaprak uygulamalarının düşük sıcaklık stresi uygulanan farklı domates genotiplerinde yaprakların antosiyanin konsantrasyonuna etkisi.

Uygulama	Genotip	Kontrol	Soğuk	soğuk/kontrol
		(relatif*)		
Kontrol (H ₂ O)	H 2274	153 ± 37	576 ± 57	3.8
	Lignon S3	135 ± 5	229 ± 34	1.7
	LM 512	189 ± 36	439 ± 22	2.3
	Sem. 40	249 ± 44	523 ± 22	2.1
	Ortalama	182	442	2.5
0.5 mM Salisilik Asit	H 2274	161 ± 5	490 ± 82	3.0
	Lignon S3	83 ± 3	235 ± 27	2.8
	LM 512	148 ± 8	356 ± 29	2.4
	Sem. 40	183 ± 12	417 ± 63	2.3
	Ortalama	144	374	2.6
20 mM H ₂ O ₂	H 2274	150 ± 12	719 ± 35	4.8
	Lignon S3	84 ± 28	531 ± 36	6.3
	LM 512	97 ± 34	462 ± 51	4.8
	Sem. 40	208 ± 27	490 ± 21	2.4
	Ortalama	135	551	4.6
25 µM paraquat	H 2274	149 ± 25	444 ± 29	3.0
	Lignon S3	79 ± 25	116 ± 5	1.5
	LM 512	154 ± 29	265 ± 29	1.7
	Sem. 40	186 ± 8	452 ± 52	2.4
	Ortalama	142	319	2.1

*ABS₅₃₆-ABS₆₀₀*1000

Sıcaklık rejimi optimum olduğunda, yapılan OSA uygulamalarından SA'in SH-gruplarının artışına neden olduğu, buna karşın PQ ve H₂O₂ uygulamalarının ise SH-grubu konsantrasyonunu düşürdüğü Çizelge 4.18.'den görülebilir. Ancak standart sapma değerlerinin yüksek oluşu her iki etkinin de önemli düzeyde olmadığına işaret etmektedir. Yüksek standart sapma değerlerine karşın, düşük sıcaklık rejimi incelendiğinde ise SH-grubu konsantrasyonunun SA yaprak uygulaması ile ortalama 1.6 kat ve H₂O₂ uygulaması 2.3 kat arasında arttığı saptanmıştır (Çizelge 4.18). PQ ve H₂O₂ uygulamaları düşük sıcaklıkta SH-grubu konsantrasyonundaki artışı teşvik ederken SA uygulaması ise etkili olmamıştır. Bitkilerin oksidatif strese karşı korunmasında önemli bir antioksidan olan çözüdür

SH-gruplarının düşük sıcaklık stresi öncesinde yapraktan PQ ve H₂O₂ uygulamalarıyla kısmen arttırılabileceği gösterilmiştir.

Antioksidan olmasının yanısıra, antioksidatif enzimlerin substratı olarak da oksidatif strese karşı görev yapan askorbik asit (AsA), optimum sıcaklık rejiminde SA uygulamasından etkilenmezken H₂O₂ ve PQ uygulamalarında % 50 oranında azalmıştır. Bitkiler düşük sıcaklık rejimi uygulandığında ise, PQ (2.4 kat) ve H₂O₂ (2.6 kat) uygulamalarında daha fazla olmak kaydıyla, AsA konsantrasyonu tüm genotiplerin ortalaması bazında önemli oranda (soğuk/kontrol oranı) artmıştır (Çizelge 4.19). Ancak artış oranları yerine konsantrasyon değerlerine bakıldığında, hiçbir OSA uygulamasının düşük sıcaklık stresinde AsA konsantrasyonunu kontrole göre (OSA yerine H₂O uygulaması) arttırdığı söylenemez (Çizelge 4.19). Sonuçlar düşük sıcaklık stresine giren domates bitkilerinde AsA konsantrasyonunun genotipten genotipe farklı olmak kaydıyla önemli miktarda arttığını ancak OSA uygulamalarının düşük sıcaklıktaki AsA konsantrasyonundan çok optimum koşullardaki AsA konsantrasyonuna etki yaptığını göstermiştir. Analizlerden 12 gün önce uygulanan H₂O₂ ve PQ'nin AsA konsantrasyonunun kontrole göre halen % 50 düşük bulunmasına sebep olmuştur. Düşük sıcaklık uygulandığında ise bu durum hızla tersine dönerek azalan AsA düşük sıcaklık uygulamasıyla yüksek oranda geri kazanılmıştır. Bu sonuç bitkilerin özellikle düşük sıcaklıklarda dokularda yüksek miktarlarda AsA bulundurmaları gerektiğine işaret etmektedir.

Çizelge 4.18. Önceden yapılan değişik yaprak uygulamalarının düşük sıcaklık stresi uygulanan farklı domates genotiplerinde yaprakların SH-grupları konsantrasyonuna etkisi.

Uygulama	Genotip	20/24 °C ($\mu\text{g g}^{-1}$ TA)	2/19 °C	soğuk/kontrol
Kontrol (H ₂ O)	H-2274	125 ± 1	223 ± 16	1.8
	Lignon S ₃	126 ± 29	226 ± 73	1.8
	LM-512	153 ± 4	282 ± 19	1.8
	Seminis-40	150 ± 2	258 ± 19	1.7
	Ortalama	138	247	1.8
0.5 mM Salisilik Asit	H-2274	158 ± 15	268 ± 29	1.7
	Lignon S ₃	169 ± 7	217 ± 20	1.3
	LM-512	147 ± 4	229 ± 36	1.6
	Seminis-40	156 ± 18	261 ± 14	1.7
	Ortalama	157	244	1.6
20 mM H ₂ O ₂	H-2274	112 ± 1	296 ± 48	2.7
	Lignon S ₃	114 ± 28	234 ± 44	2.1
	LM-512	125 ± 10	280 ± 9	2.2
	Seminis-40	129 ± 37	282 ± 23	2.2
	Ortalama	120	273	2.3
25 μM paraquat	H-2274	124 ± 18	262 ± 46	2.1
	Lignon S ₃	100 ± 19	256 ± 19	2.6
	LM-512	141 ± 11	255 ± 38	1.8
	Seminis-40	143 ± 14	281 ± 20	2.0
	Ortalama	127	264	2.1

Çizelge 4.19. Önceden yapılan değişik yaprak uygulamalarının düşük sıcaklık stresi uygulanan farklı domates genotiplerinde yaprakların askorbik asit (AsA) konsantrasyonuna etkisi.

Uygulama	Genotip	20/24 °C	2/19 °C	soğuk/kontrol
		(µg g ⁻¹ TA)		
Kontrol (H ₂ O)	H-2274	37 ± 13	56 ± 20	1.5
	Lignon S ₃	28 ± 4	76 ± 21	2.7
	LM-512	73 ± 7	74 ± 21	1.0
	Seminis-40	42 ± 1	59 ± 24	1.4
	Ortalama	45	66	1.7
0.5 mM Salisilik Asit	H-2274	53 ± 17	50 ± 23	1.0
	Lignon S ₃	47 ± 31	55 ± 4	1.2
	LM-512	39 ± 18	79 ± 6	2.0
	Seminis-40	43 ± 23	50 ± 26	1.2
	Ortalama	45	59	1.3
20 mM H ₂ O ₂	H-2274	19 ± 13	54 ± 18	2.8
	Lignon S ₃	20 ± 4	33 ± 10	1.7
	LM-512	20 ± 10	68 ± 24	3.4
	Seminis-40	25 ± 1	59 ± 21	2.4
	Ortalama	21	53	2.6
25 µM paraquat	H-2274	12 ± 1	28 ± 7	2.3
	Lignon S ₃	12 ± 2	29 ± 9	2.4
	LM-512	20 ± 0	54 ± 3	2.7
	Seminis-40	37 ± 5	72 ± 1	2.0
	Ortalama	20	46	2.4

4.5. Düşük Sıcaklık Stresi Süresince Antioksidatif Sistemlerinin Farklı Yaştaki Yapraklarda Araştırılması

Daha önceki antioksidatif savunma sistemlerinin incelendiği denemelerde belirli bir süre yapılan düşük sıcaklık uygulamalarında büyümesini tamamlamış genç yapraklardaki değişim incelenmiştir. Bu denemede düşük sıcaklık uygulandığında bazı genotiplerin özellikle yaşlı yapraklarında düşük sıcaklığa bağlı daha fazla klorofil kaybı (kloroz ve nekroz) olduğu gözlenmiştir. Aynı bitkinin farklı yaştaki yapraklarında düşük sıcaklığın farklı düzeyde etki yaptığı dikkate alındığında antioksidatif sistemlerin etkinliğinin bitki dokularının yaşı ile değişebileceği düşünülebilir. Farklı günlerde yapılan ölçümlerle düşük sıcaklığın uygulandığı süre

içerisinde “büyümekte olan genç” ve “büyümesini tamamlamış yaşlı” yapraklarda antioksidatif sistemlerdeki değişim incelenmiştir.

Denemede soğuk etkinliği düşük 1071-32 ve Lignon S3 ve soğuk etkinliği yüksek LM 513 ve TR 52414 domates genotipleri kullanılmıştır. Bitkiler 3.2.2. deki gibi yetiştirilerek 1,5 L saksılara alınmıştır. (Bölüm 3.2.7.) Hasat gününde 0, 2, 4, 6 ve 8 gün düşük sıcaklık stresi (2/24°C, 8 saat gece/12 saat gündüz) uygulanmış aynı yaşta bitkiler elde edilmiş ve bu bitkilerin genç ve yaşlı yapraklardan ayrı ayrı alınan örneklerde klorofil (SPAD), antosiyanin, süperoksit dismütaz (SOD), glutatanyon redüktaz (GRaz), askorbat peroksidaz (APaz), katalaz (KATaz) ve protein belirlenmiştir.

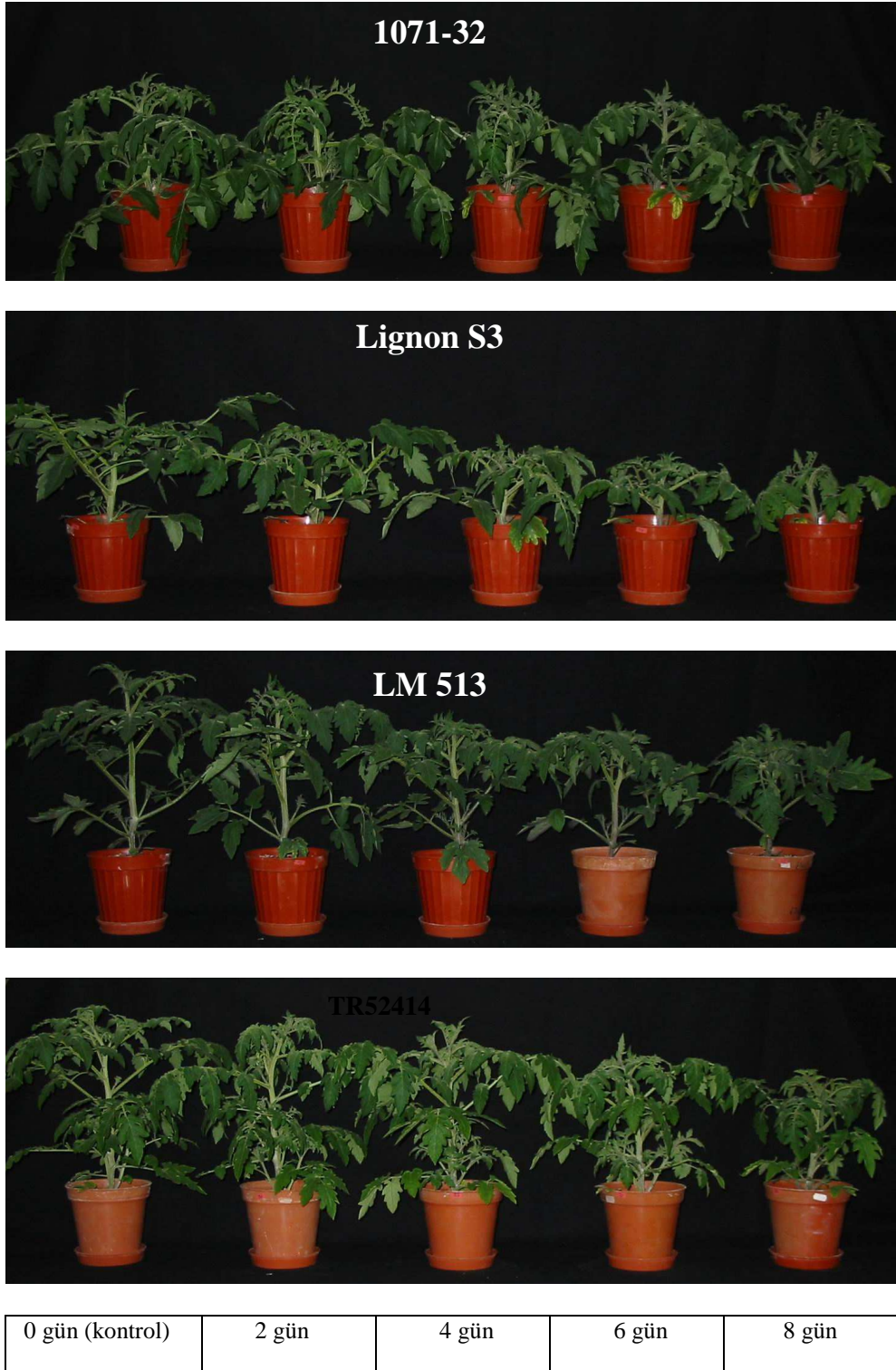
Düşük sıcaklık uygulamasının 2. gününden itibaren tüm genotiplerin kuru madde verimi zamanla azalmıştır (Çizelge 4.20). Kuru madde üretimindeki zamana bağlı değişimler genotipler arasında farklılık göstermiştir (Şekil 4.9). Düşük sıcaklık uygulamasının sonunda (8. gün) genotiplerin kontrole göre oluşturdukları kuru madde verimi % 52 (LM 513) ile % 37 (Lignon S3) arasında değişmiştir (Çizelge 4.20.).

Uzun süre düşük sıcaklık (20 gün 8/16°C) uygulanarak yapılan screening denemelerinde soğuk etkinliği oldukça düşük bulunan 1071-32 ise kısa süreli ve çok düşük gece sıcaklığı (8 gün 2/24°C) uygulanan bu denemede LM 513 ile birlikte en az kuru madde kaybı gösteren genotip olmuştur. Yapılan kısa süreli (9 gün 8/16°C) diğer bir screening denemesinde de (4.1.5. V. Screening Denemesi) 1071-32 genotipi ortalamaya yakın bir soğuk etkinliği göstermiştir. Bu sonuç düşük sıcaklıkta geçen süreye ve düşük sıcaklığın derecesine bağlı olarak bazı genotiplerde kuru madde üretiminin önemli farklılık gösterebildiğine işaret etmektedir. Bu konuyla ilgili olarak daha önce yapılan bir denemede 9 günlük soğuk etkinliği ile 20 günlük soğuk etkinliği arasında önemli düzeyde ($P<0.01$) ilişki olduğu gösterilmiştir (Şekil 4.7. Domates genotiplerinin 9 ve 14 günlük soğuk etkinlikleri arasındaki ilişki).

Çizelge 4.20. Sekiz gün süreyle uygulanan düşük gece sıcaklığının ($2\pm 1^{\circ}\text{C}$) 4 farklı domates genotipinde kuru madde üretimine etkisi.

Düşük sıcaklık uygulaması (gün)	Çeşit							
	1071-32		Lignon S3		LM 513		TR 52414	
	(g bitki ⁻¹)	(*)	(g bitki ⁻¹)	(*)	(g bitki ⁻¹)	(*)	(g bitki ⁻¹)	(*)
0	7.9 ± 0.7	100	8.2 ± 0.5	100	9.9 ± 0.2	100	10.3 ± 0.7	100
2	6.7 ± 0.1	85	6.9 ± 0.6	84	8.5 ± 0.5	85	7.7 ± 0.7	75
4	6.4 ± 0.3	81	5.7 ± 0.8	69	8.0 ± 0.2	81	8.1 ± 0.6	79
6	6.1 ± 0.2	77	5.0 ± 0.6	61	6.6 ± 0.4	67	6.8 ± 0.7	66
8	4.2 ± 0.5	52	3.1 ± 0.8	37	5.2 ± 0.6	52	4.5 ± 0.2	44

* kontrole göre (0 gün) % miktar.



Şekil 4.9. Aynı yaştaki (35 gün) domates genotiplerinde 0, 2, 4, 6 ve 8 günlük düşük sıcaklık (2/24°C, 8 saat gece/16 saat gündüz) uygulaması sonucu yeşil aksamda kuru madde kaybı.

Genç yaprakların klorofil konsantrasyonuna (SPAD değerleri) düşük sıcaklık uygulaması TR52414 genotipi dışında önemli etki yapmamıştır. TR52414'te ise düşük sıcaklık uygulamasının 8. gününde SPAD değeri kontrolün % 77'sine inmiştir (Çizelge 4.21). Yaşlı yaprakların SPAD değeri ise tüm genotiplerde soğuk uygulanan 6. ve 8. günde belirgin oranda azalmıştır (Çizelge 4.21). Önceki denemelerde edinilen gözlemlerle uyumlu olarak düşük sıcaklık uygulaması özellikle yaşlı yapraklarda klorofil kaybına neden olurken bu durumun soğuk etkinliği düşük genotiplerde daha da belirgin olduğu görülmüştür. Yaşlı yapraklarda SPAD değeri 8 günün sonunda Lignon S3'te % 33 ve 1071-32'de % 20 oranında azalırken, LM 513 % 12 ve TR 52414'te % 10 oranında azalmıştır (Çizelge 4.21). Domates genotiplerinin klorofil içeriğinin özellikle yaşlı yapraklarda ve düşük sıcaklık uygulamasının son döneminde (6. ve 8. günlerde) farklılaşması klorofil içeriğindeki azalmanın düşük sıcaklığa karşı gösterilen bir tepki değil, artan dozda uygulanan stresin bir sonucu olarak düşünülebilir. Burada sadece 2 dayanıklı ve 2 duyarlı genotipte elde edilen sonuçlara göre yaşlı yapraklardaki klorofil içeriği düşük sıcaklıklarda domates genotiplerinin soğuk etkinliği ile ilişkili olabileceğini göstermiştir.

Çizelge 4.21. Sekiz gün süreyle uygulanan düşük gece sıcaklığının ($2\pm 1^{\circ}\text{C}$) 4 farklı domates genotipinde genç ve yaşlı yaprakların klorofil içeriğine (SPAD değeri) etkisi.

Yaprak Yaşı	Düşüksıcaklık Uygulaması (gün)	Çeşit							
		1071-32		Lignon S3		LM 513		TR 52414	
		(SPAD)	(%*)	(SPAD)	(%*)	(SPAD)	(%*)	(SPAD)	(%*)
Genç	0	52.2 ± 0.6	100	54.5 ± 1.2	100	63.0 ± 0.5	100	52.3 ± 0.6	100
	2	53.5 ± 0.9	102	55.3 ± 0.9	102	61.8 ± 1.8	98	53.3 ± 1.8	102
	4	50.9 ± 1.2	98	55.2 ± 1.8	101	59.8 ± 2.0	95	52.6 ± 0.3	101
	6	51.9 ± 0.8	100	56.0 ± 1.0	103	62.4 ± 1.1	99	47.9 ± 2.4	92
	8	51.1 ± 3.3	98	54.2 ± 2.7	100	60.4 ± 0.6	96	40.3 ± 4.2	77
Yaşlı	0	46.6 ± 0.7	100	59.0 ± 0.9	100	62.1 ± 1.5	100	38.5 ± 0.7	100
	2	51.7 ± 1.1	111	56.3 ± 1.7	95	63.4 ± 1.5	102	38.4 ± 1.4	100
	4	51.8 ± 2.3	111	57.1 ± 2.4	97	54.9 ± 1.3	89	39.5 ± 1.4	103
	6	50.1 ± 0.5	108	47.3 ± 0.6	80	53.8 ± 1.3	87	36.9 ± 0.2	96
	8	37.3 ± 5.9	80	39.3 ± 8.6	67	54.7 ± 2.5	88	34.6 ± 0.7	90

* kontrole göre (0 gün) % miktar.

Domates genotiplerinin genç yapraklarında antosiyanin konsantrasyonu düşük sıcaklık uygulanan 2. günden itibaren artmaya başlamıştır. Düşük sıcaklık uygulaması süresince 2 gün arayla yapılan ölçümlerde 1071-32 genotipi hariç diğer genotiplerin antosiyanin miktarı genç yapraklarda doğrusala yakın bir şekilde artmıştır. Antosiyanin konsantrasyonu 1071-32’de ise henüz 2. günde % 231 artmış, ilerleyen günlerde ise önemli bir değişim gözlenmemiştir. Soğuk etkinliği düşük Lignon S3 ve 1071-32 genotiplerinde antosiyanin artışı, hem genç hem de yaşlı yapraklarda soğuk etkinliği yüksek genotipler olan LM 513 ve TR52414’den çok daha fazla olmuştur. 8 gün süren düşük sıcaklık uygulaması sonunda yaşlı yapraklarda antosiyanin miktarı TR52414’te 1.5 kat 1071-32 4.7 kat ve Lignon S3’te 3.6 katlık bir artış saptanmıştır. Screening denemelerinde çok yüksek soğuk etkinliği gösteren LM 513’te ise yaşlı yaprakların antosiyanin konsantrasyonu soğuk uygulamasının 2. ve 4. gününde azalmış, 6. ve 8. günlerde ise artarak yeniden kontrol düzeyine gelmiştir (Çizelge 4.22).

Çizelge 4.22. Sekiz gün süreyle uygulanan düşük gece sıcaklığının ($2\pm 1^{\circ}\text{C}$) 4 farklı domates genotipinde genç ve yaşlı yaprakların antosiyanin konsantrasyonuna etkisi.

Yaprak Yaşı	Düşüksıcaklık Uygulaması (gün)	Çeşit							
		1071-32		Lignon S3		LM 513		TR 52414	
		(ABS ₅₃₆₋₆₀₀)	(*%)	(ABS ₅₃₆₋₆₀₀)	(*%)	(ABS ₅₃₆₋₆₀₀)	(*%)	(ABS ₅₃₆₋₆₀₀)	(*%)
Genç	0	1.2 ± 0.3	100	1.6 ± 0.0	100	2.1 ± 0.8	100	1.3 ± 0.2	100
	2	2.8 ± 0.7	231	1.6 ± 0.4	102	2.1 ± 0.6	100	1.6 ± 0.2	126
	4	1.9 ± 0.3	160	2.2 ± 0.1	140	3.1 ± 0.6	150	1.5 ± 0.1	119
	6	2.6 ± 0.5	218	2.6 ± 0.2	162	3.6 ± 0.6	174	1.9 ± 0.0	149
	8	2.6 ± 0.4	220	3.1 ± 0.5	197	3.4 ± 0.2	164	1.8 ± 0.2	143
Yaşlı	0	1.0 ± 0.1	100	1.2 ± 0.3	100	6.2 ± 0.0	100	1.3 ± 0.3	100
	2	1.2 ± 0.1	115	1.3 ± 0.0	102	4.3 ± 0.8	70	1.5 ± 0.2	112
	4	1.4 ± 0.1	136	1.4 ± 0.3	115	3.1 ± 0.9	51	1.0 ± 0.0	78
	6	1.8 ± 0.2	177	2.2 ± 0.1	176	6.1 ± 0.8	98	1.3 ± 0.1	100
	8	4.9 ± 0.8	467	4.4 ± 0.1	355	6.7 ± 0.4	108	1.9 ± 0.2	149

* kontrole göre (0 gün) % miktar.

Genç yapraklarda protein konsantrasyonu düşük sıcaklık uygulanan süre içerisinde azalan artan ya da değişmeyen değerler göstermiştir. Standart sapmalar dikkate alındığında düşük sıcaklıkta geçen süre boyunca genç yapraklarda protein konsantrasyonu önemli bir farklılaşma göstermemiştir (Çizelge 4.23). Yaşlı yapraklarda ise soğuk etkinliği farklı genotipler arasında protein konsantrasyonundaki değişim bakımından önemli farklar olduğu saptanmıştır. Yaşlı

yapraklarda yüksek soğuk etkinliğine sahip genotiplerde protein konsantrasyonunda artış olduğu, düşük soğuk etkinliğine sahip genotiplerde ise azalış belirlenmiştir (Çizelge 4.23). Yaprak ekstraksiyonlarında total çözümlü protein değerleri ile elde edilen bu sonuç, özellikle yaşlı yaprakların protein konsantrasyonundaki değişimlerin domates genotiplerinde soğuk etkinliği ile ilişkili olabileceğine işaret etmektedir.

Çizelge 4.23. Sekiz gün süreyle uygulanan düşük gece sıcaklığının ($2\pm 1^{\circ}\text{C}$) 4 farklı domates genotipinde genç ve yaşlı yaprakların protein konsantrasyonuna etkisi.

Yaprak Yaşı	Düşüksıcaklık Uygulaması (gün)	Çeşit							
		1071-32		Lignon S3		LM 513		TR 52414	
		(mg g^{-1} TA)	(*)	(mg g^{-1} TA)	(*)	(mg g^{-1} TA)	(*)	(mg g^{-1} TA)	(*)
Genç	0	49 ± 2	100	42 ± 4	100	53 ± 4	100	53 ± 6	100
	2	56 ± 4	113	52 ± 4	124	57 ± 1	106	50 ± 3	93
	4	52 ± 4	106	45 ± 7	108	62 ± 2	115	72 ± 3	135
	6	54 ± 6	108	55 ± 3	132	68 ± 1	127	59 ± 4	110
	8	41 ± 5	82	50 ± 3	121	61 ± 0	115	48 ± 9	90
Yaşlı	0	23 ± 6	100	25 ± 3	100	17 ± 2	100	16 ± 4	100
	2	20 ± 2	89	20 ± 1	80	22 ± 1	124	14 ± 1	85
	4	21 ± 2	91	21 ± 2	84	22 ± 2	128	14 ± 1	88
	6	16 ± 1	70	15 ± 2	62	23 ± 1	132	14 ± 2	89
	8	13 ± 2	56	18 ± 3	71	23 ± 2	134	24 ± 2	148

*kontrol göre (0. gün) % miktar.

Düşük sıcaklık uygulamasıyla genç yaprakların APaz aktivitesi genotipler arasında değişik oranlarda artmıştır. APaz aktivitesindeki artışlar Lignon S3'te (4.2 kat) ve TR52414'te (3.2 kat) düşük sıcaklık uygulanan süreyle orantılı şekilde olurken LM 513'te (1.4 kat) 4. günden sonra önemli değişim olmamıştır (Çizelge 4.24). 1071-32 genotipinde ise henüz düşük sıcaklık uygulamasının 2. gününde 5.2 kat artan APaz aktivitesindeki değişim 8. günde 7.0 kata çıkmıştır. 1071-32 genotipinde genç yapraklarda görülen hızlı ve büyük orandaki APaz aktivasyonunun yaşlı yapraklarda da olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.24). Yaşlı yapraklarda APaz aktivitesi 8. gün sonunda 1071-32'de 4.7 kat artarken Lignon S3 ve LM 513'te önemli değişim olmamıştır. TR 52414'te ise ilk 6 günde 1.6 katlık bir artış olsa da 8. gün sonundaki artış oranı 1.3 kata gerilemiştir. Sonuçlar APaz aktivitesinin henüz büyümesini tamamlamamış genç yapraklarda ve özellikle soğuk etkinliği düşük genotiplerde önemli oranda arttığını göstermiştir. Yaşlı yapraklarda ise benzer bir artış oranı sadece bir genotipte gözlenmiştir. Öte yandan artış oranları yerine gerçek

aktivite değerleri incelendiğinde ise yaşlı yapraklarda APaz aktivitesinin genç yapraklardan 2-7 kat daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.24).

Yaşlı yapraklarda yüksek APaz aktivitesi hücresel düzeydeki H_2O_2 konsantrasyonu ile ilişkili olabilir. Ayrıca yaşlı yapraklarda belirlenen yüksek SOD aktiviteleri de bunu desteklemektedir. Yüksek SOD aktivitesi sonucu oluşan H_2O_2 'nin zincirleme reaksiyonlarla daha zararlı O_2 türevlerine dönüşmeden etkili bir şekilde zararsız hale getirilmesinde APaz'ın önemli rolü bulunmaktadır.

Çizelge 4.24. Sekiz gün süreyle uygulanan düşük gece sıcaklığının ($2\pm 1^\circ C$) 4 farklı domates genotipinde genç ve yaşlı yaprakların askorbat peroksidaz (APaz: $nmol\ mg^{-1}\ prt.\ dk^{-1}$) aktivitesine etkisi.

Yaprak Yaşı	Düşük sıcaklık uygulaması (gün)	Çeşit							
		1071-32		Lignon S3		LM 513		TR 52414	
		APaz	(**%)	APaz	(**%)	APaz	(**%)	APaz	(**%)
Genç	0	17 ± 1	100	29 ± 1	100	74 ± 6	100	41 ± 5	100
	2	88 ± 4	524	51 ± 2	175	56 ± 1	76	78 ± 7	190
	4	92 ± 7	544	122 ± 1	417	101 ± 1	135	73 ± 5	177
	6	91 ± 17	543	126 ± 7	432	95 ± 4	127	107 ± 8	260
	8	132 ± 16	785	132 ± 4	453	107 ± 10	144	144 ± 3	352
Yaşlı	0	121 ± 15	100	267 ± 25	100	300 ± 8	100	183 ± 15	100
	2	284 ± 20	235	340 ± 10	127	241 ± 25	80	306 ± 24	168
	4	261 ± 14	216	388 ± 9	145	292 ± 25	97	299 ± 26	164
	6	399 ± 19	331	382 ± 16	143	276 ± 21	92	322 ± 42	176
	8	523 ± 12	434	300 ± 38	113	304 ± 27	101	230 ± 17	126

*kontrolle göre (0. gün) % miktar

Glutasyon redüktaz (GRaz) aktivitesinde ise KATaz ve APaz'in aksine genç ve yaşlı yapraklardaki reel aktivite bakımından büyük farklar bulunmamaktadır (Çizelge 4.25). Bunun yanı sıra GRaz aktivitesi hem genotipler arasında hem de düşük sıcaklıkta geçen süre boyunca oldukça farklı değişimler göstermiştir. Genç yapraklarda GRaz aktivitesi düşük sıcaklık uygulamasının 2. gününden itibaren TR52414'te % 10 ve 1071-32'te % 29 oranında azalmış ve ilerleyen günlerde yeniden artarak kontrol bitkilerinin seviyesine LM 512 veya daha üzerine TR 52414 çıkmıştır (Çizelge 4.25). Yaşlı yapraklarda ise GRaz aktivitesinde gözlenen önce azalış ve sonrasında görülen artış trendi belirgin olarak 1071-32'de ve kısmen de Lignon S3'te gözlenmiştir. Yüksek soğuk etkinliği gösteren TR52414 ve LM 513'te ise yaşlı yaprakların GRaz aktivitesi 6. ve 8. günlerde azalmaya devam ederek sırasıyla kontrolün % 75 ve % 48'ine inmiştir (Çizelge 4.25).

Çizelge 4.25. Sekiz gün süreyle uygulanan düşük gece sıcaklığının ($2\pm 1^{\circ}\text{C}$) 4 farklı domates genotipinde genç ve yaşlı yaprakların glutatyon redüktaz (GRaz: $\text{nmol mg}^{-1} \text{prt. dk}^{-1}$) aktivitesine etkisi.

Yaprak Yaşı	Düşük sıcaklık uygulaması (gün)	Çeşit							
		1071-32		Lignon S3		LM 513		TR 52414	
		GRaz	(*)	GRaz	(*)	GRaz	(*)	GRaz	(*)
Genç	0	10.3 ± 1.2	100	11.2 ± 1.6	100	11.0 ± 0.5	100	12.7 ± 1.8	100
	2	7.3 ± 0.4	71	9.4 ± 0.3	84	8.3 ± 0.7	75	9.5 ± 0.0	75
	4	9.3 ± 0.7	90	12.5 ± 0.9	112	8.5 ± 0.9	78	8.6 ± 0.2	68
	6	9.8 ± 1.4	95	12.3 ± 0.4	110	10.0 ± 1.3	91	14.0 ± 1.5	110
	8	13.0 ± 0.7	126	13.4 ± 2.0	120	12.1 ± 0.1	110	19.6 ± 0.0	154
Yaşlı	0	14.8 ± 1.2	100	13.3 ± 0.6	100	11.8 ± 0.6	100	24.2 ± 1.8	100
	2	10.5 ± 0.7	71	11.1 ± 1.0	83	9.5 ± 1.1	80	12.4 ± 0.0	51
	4	9.1 ± 0.8	62	12.2 ± 1.0	92	13.3 ± 0.2	113	13.8 ± 1.6	57
	6	13.9 ± 0.6	94	9.6 ± 1.7	72	10.0 ± 0.3	85	10.6 ± 1.8	44
	8	16.7 ± 1.3	112	14.4 ± 1.1	108	7.7 ± 0.7	66	9.0 ± 0.3	37

*kontrolle göre (0. gün) % miktar

APaz'dekine benzer şekilde katalaz (KATaz) aktivitesi yaşlı yapraklarda genç yapraklardakinden 2-7 kat daha fazla bulunmuştur. Düşük sıcaklık uygulaması genotiplerin genç yapraklarında KATaz aktivitesine önemli etki yapmamıştır (Çizelge 4.26). Yaşlı yapraklardan elde edilen sonuçlar ise TR 52414 ve 1071-32 genotiplerinde önemli farklar bulunmazken LM 513 ve Lignon S3 genotiplerinde KATaz aktivitesi düşük sıcaklık uygulamasıyla azalma eğilimi göstermiştir. Düşük sıcaklık uygulanan 8 günün sonunda bu genotiplerin KATaz aktiviteleri kontrol bitkilerinin % 59 ve % 50'üne düşmüştür (Çizelge 4.26). Ancak KATaz aktivitesi bakımından düşük sıcaklıkta benzer şekilde değişim gösteren Lignon S3 ve LM 513 genotiplerinin soğuk etkinliklerinin ise çok farklı oluşu, bazı genotiplerde gözlenen KATaz aktivitesindeki azalmaların soğuk etkinliği ile ilişkili olmadığına işaret etmektedir. Daha önceki denemelerde buradaki sonuçlara benzer şekilde farklı domates genotiplerinde KATaz aktivitesinin düşük sıcaklıklarda azaldığı veya değişmediği gösterilmiştir.

Çizelge 4.26. Sekiz gün süreyle uygulanan düşük gece sıcaklığının ($2\pm 1^{\circ}\text{C}$) 4 farklı domates genotipinde genç ve yaşlı yaprakların katalaz (KATaz: $\text{nmol mg}^{-1} \text{prt. dk}^{-1}$) aktivitesine etkisi.

Yaprak Yaşı	Düşük sıcaklık uygulaması (gün)	Çeşit							
		1071-32		Lignon S3		LM 513		TR 52414	
		KATaz	(**%)	KATaz	(**%)	KATaz	(**%)	KATaz	(**%)
Genç	0	2.8 ± 0.2	100	3.4 ± 0.3	100	3.0 ± 0.3	100	3.5 ± 0.1	100
	2	3.1 ± 0.2	111	3.1 ± 0.2	91	3.1 ± 0.3	103	3.1 ± 0.2	89
	4	2.9 ± 0.3	104	3.5 ± 0.1	104	3.0 ± 0.2	98	2.6 ± 0.1	75
	6	3.3 ± 0.3	116	3.1 ± 0.3	92	2.8 ± 0.1	91	3.4 ± 0.4	98
	8	3.6 ± 0.2	126	3.2 ± 0.3	93	3.2 ± 0.2	106	2.9 ± 0.1	83
Yaşlı	0	8.4 ± 2.9	100	12.9 ± 1.1	100	19.5 ± 0.7	100	6.1 ± 0.8	100
	2	14.8 ± 1.9	177	15.5 ± 0.5	120	13.9 ± 1.5	71	7.5 ± 0.1	123
	4	12.8 ± 1.5	154	10.8 ± 0.5	84	8.4 ± 2.2	43	7.9 ± 0.8	130
	6	16.4 ± 0.7	197	11.7 ± 0.5	91	8.2 ± 0.2	42	10.3 ± 1.0	168
	8	16.8 ± 0.4	200	5.7 ± 1.1	44	10.6 ± 0.3	54	4.8 ± 0.5	78

*kontrolle göre (0. gün) % miktar

TR 52414 ve 1071-32 genotiplerinde düşük sıcaklık uygulaması sonucunda SOD aktivitesi önemli değişim göstermezken LM 512 ve Lignon S3'de ise SOD aktivitesi kısmen azalmıştır (Çizelge 4.27). Yaşlı yapraklarda yapılan analizler kontrol koşullarında SOD aktivitesinin genç yapraklardan 3-7 kat fazla olduğunu ve soğuk uygulamasında yaşlı yapraklardaki SOD aktivitesinin daha fazla etkilendiğini göstermiştir. Soğuk etkinliği düşük genotiplerde yaşlı yapraklarda SOD aktivitesi 2., 6. ve 8. günlerde artarak 1071-32'de 2.5 ve Lignon S3'te 1.6 katına çıkmıştır (Çizelge 4.27). LM 512 ve TR 52414'te ise 8 gün sonunda SOD aktivitesi kontrolün % 82 ve % 83'üne inmiştir (Çizelge 4.27). Bu sonuçlar yaşlı yapraklarda SOD aktivitesinin soğuk etkinliğinde önemli bir kriter olabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.27. Sekiz gün süreyle uygulanan düşük gece sıcaklığının ($2\pm 1^{\circ}\text{C}$) 4 farklı domates genotipinde genç ve yaşlı yaprakların süperoksit dismütaz (SOD: $\text{U mg}^{-1} \text{prt.}$) aktivitesine etkisi.

Yaprak Yaşı	Düşük sıcaklık uygulaması (gün)	Çeşit							
		1071-32		Lignon S3		LM 513		TR 52414	
		SOD	(**%)	SOD	(**%)	SOD	(**%)	SOD	(**%)
Genç	0	1.14 ± 0.03	100	1.30 ± 0.14	100	1.04 ± 0.08	100	1.11 ± 0.11	100
	2	0.98 ± 0.04	87	0.84 ± 0.07	65	0.97 ± 0.06	93	1.25 ± 0.08	113
	4	1.18 ± 0.05	104	1.28 ± 0.01	99	0.89 ± 0.06	86	0.80 ± 0.03	72
	6	1.07 ± 0.07	94	1.06 ± 0.07	81	0.86 ± 0.02	83	0.86 ± 0.14	77
	8	1.28 ± 0.03	113	0.90 ± 0.03	69	0.80 ± 0.12	77	1.10 ± 0.08	99
Yaşlı	0	2.50 ± 0.15	100	3.39 ± 0.31	100	5.61 ± 0.23	100	4.29 ± 0.38	100
	2	4.97 ± 0.11	198	4.42 ± 0.26	130	4.35 ± 0.34	78	6.14 ± 0.18	143
	4	4.23 ± 0.07	169	3.82 ± 0.45	113	4.35 ± 0.40	77	6.71 ± 0.46	156
	6	5.88 ± 0.43	235	6.55 ± 0.45	193	4.22 ± 0.25	75	7.12 ± 0.84	166
	8	7.06 ± 0.21	282	4.47 ± 0.50	132	4.32 ± 0.36	77	3.87 ± 0.29	90

*kontrolle göre (0. gün) % miktar

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Domates bitkisi Güney ve Orta Amerika'nın tropik ve sub-tropik yörelerinden yayılmıştır. Bir çok hassas bitki türünde olduğu gibi domates yetiştiriciliği yapılan alanları coğrafi iklim koşulları belirlemektedir. Domateste düşük sıcaklıktan etkilenme oranını, başka bir deyişle soğuk etkinliğini araştırmada farklı sıcaklık rejimleri kullanılmıştır. Örneğin Foolad ve Lin (2001) vejetatif dönemde 10/15 °C gece/gündüz sıcaklığını kullanarak soğuk tolerans indeksini kuru madde üretimi ile belirlemiştir. Bu çalışmada ayrıca, domateste soğuk toleransının kalıtsal ve genetik geçişli olabileceği gösterilmiştir Foolad ve Lin (2001). Venema ve ark. (2000) ise düşük sıcaklığa toleransı 14/16 °C gece/gündüz sıcaklığını temel olarak fotosentetik etkinlik bakımından araştırmışlardır. Tilakoid membranlarda biyokimyasal ve fonksiyonel özelliklerin düşük sıcaklıktaki değişiminin araştırılmasında, domates bitkilerine 14 saat fotoperiyodla 3 gün 2 °C düşük sıcaklık uygulaması yapılmıştır (Walker ve ark., 1991). Yukarıda adı geçen ve farklı sıcaklık rejimlerinde yapılan çalışmalarda domates genotiplerinin düşük sıcaklık toleransında varyasyon olduğu bildirilmektedir. Bu tez çalışmasında yürütülen screening denemelerinde domates bitkisinin turfanda yetiştiriciliğinde oluşabilecek düşük sıcaklık stresine yakın bir değer olan 8/16 °C gece/gündüz sıcaklığı temel alınmıştır. Screening denemelerinde 137 domates genotipinin soğuk etkinliği (düşük sıcaklıkta kuru madde oluşturma kapasitesi) aynı deneysel koşullarda yürütülen 3 farklı denemeyle belirlenmiştir.

Screening denemeleri sonucunda soğuk etkinliği bakımından test edilen domates genotipleri arasında seleksiyona imkan veren oldukça geniş bir varyasyon olduğu belirlenmiştir. Test edilen domates genotipleri arasında dayanıklı ve duyarlı olanlar kendi aralarında yeniden test edildiklerinde, dayanıklı olanlar yine dayanıklı ve duyarlı olanlarda yine duyarlı sınıfa girmiştir. ($P < 0,001$; Şekil 4.5.). Bu sonuç genotiplerin gösterdiği performansların tekrarlanabilir olduğunu göstermektedir. Ayrıca düşük sıcaklık stresinin uygulandığı süre kısaltıldığında da önemli bir performans değişikliği gözlenmemiştir (Şekil 4.7).

Domates genotiplerinin 8/16 °C gece/gündüz sıcaklık rejimindeki antioksidatif sistemler genel anlamda incelendiğinde antosiyanin ve süperoksit dizmutaz (SOD)' ın arttığı, askorbik asit (AsA) ve askorbat peroksidaz (APaz)' ın değişmediği, glutatyon redüktaz (GRaz) ve katalaz (KATaz)' ın azaldığı belirlenmiştir. Geceleri uygulanan kısa süreli düşük sıcaklık rejiminde ise (2/24 °C, 8/16 saat, gece/gündüz) genç yapraklarda sadece APaz ve GRaz artarken yaşlı yapraklarda KATaz dışında tüm antioksidatif enzim ve antioksidan maddelerin arttığı gösterilmiştir. KATaz aktivitesi ise tüm genotiplerde düşük sıcaklık stresi ile birlikte azalmıştır. Katalaz aktivitesinin düşük sıcaklıkla birlikte azalması başka bitki türlerinde de gösterilmiştir (MacRae ve Ferguson, 1985; Lee ve Lee, 2000; Kubo ve ark., 1999). Katalaz aktivitesindeki düşük sıcaklığa bağlı azalmanın farklı nedenleri olabileceği bildirilmiştir. Bunlar arasında uygulanan stres sonucu bir KATaz inhibitörünün oluşması, enzim sentezinin sekteye uğraması ve enzim sub-ünitelerinin yapısal deformasyonu sayılmaktadır (MacRae ve Ferguson, 1985). Antioksidan bileşiklerden SH-gruplarının düşük sıcaklıktaki değişimi ve antioksidatif fonksiyonları farklı bitkilerde ayrıntılı olarak incelenmiştir (Kocsy ve ark., 2001a). Örneğin buğdayın soğuk toleransında SH-grupları metabolizmasının önemli rol oynadığı savunulmaktadır (Kocsy ve ark., 2000a). Mısır bitkisinde SH-gruplarının (glutatyon) sentezi inhibe edildiğinde düşük sıcaklığa toleransın azaldığı (Kocsy ve ark., 2000b), bunun aksine glutatyon sentezi teşvik edildiğinde ise düşük sıcaklığa bağlı zararlanmaların azaltılabileceği bildirilmiştir (Kocsy ve ark. 2001b). Walker ve McKersie (1993)'e göre domateste 3 gün süreyle 2°C sıcaklık ve 250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık uyguladıkları çalışmada total askorbik asit ve glutatyon'un dayanıklı yabani çeşitte önemli oranda arttığını ancak bunların redükte:okside oranının azaldığını bildirmiştir. Katalaz dışında, düşük sıcaklık stresi genel anlamda domateste antioksidatif savunma sistemlerini aktive etmektedir. Paraquat (PQ) toleransının soğuk uygulamasıyla artması bu sonucu desteklemektedir. Başka bir deyişle önden uygulanan soğuk stresi ile domates bitkilerinde PQ uygulaması gibi oksidatif stres sonucu oluşan reaktif oksijen türevlerine dayanıklılık kazanılmaktadır. Ancak domates genotiplerinin önceden belirlenen soğuk etkinliği ile burada belirlenen antioksidatif özellikler arasında önemli ilişkiye rastlanmamıştır.

Test edilen domates genotiplerinin gösterdiği farklı soğuk toleransını açıklamada tek başına antioksidatif sistemlerdeki değişimler yeterli görünmemektedir. Ozmotik potansiyel (antifreeze etkisi), kök hidrolik iletkenliği, fotosentetik etkinlik gibi farklı bitkisel özelliklerde domateste soğuk etkinliğini belirleyici rol oynayabilir. Yapraktan yapılan oksidatif stres artırıcılar (OSA) uygulamalarından en uygun olanının hidrojen peroksit (H_2O_2) uygulaması olduğu görünmektedir. Soğuk stresi öncesinde yapraktan düşük dozda uygulanan H_2O_2 ile antosiyanin, SH-grupları ve askorbik asit düzeylerinde önemli artışlar sağlanmıştır. Bu çalışmada sadece tek doz ve tek dönemde yapılan OSA uygulamaları ile soğuktan korunmada kullanılacak uygulama yöntemi belirtmek mümkün değildir. İlerdeki çalışmalarda özellikle H_2O_2 'nin farklı doz ve dönemlerde uygulanması ile domateste soğuktan korunma için uygun yöntem ve kalibrasyon çalışmaları yapılabilir.

KAYNAKLAR

- ABAK, K. ve GÜLER (DAŞGAN), H.Y., 1994. Pollen fertility and the vegetative growth of various eggplant genotypes under low temperature greenhouse conditions. *Acta Horticulturae* 366, 85-91.
- ABAK, K., 1993. Protected Cultivation in Turkey. *Acta Horticulturae* 366, 33-44.
- ABAK, K., GÜLER (DAŞGAN), H. Y., ve BAYTORUN, N., 1995. A comparative study in heated and unheated plastic greenhouses of the Mediterranean Coastal Region of Turkey: Tomato plant growth, yield dynamics, crop quality and fuel consumption. *Acta Horticulturae* 412, 335-341.
- AROCA, R., IRIGOYEN, J.J., SANCHEZ-DIAZ, M., 2001. Photosynthetic characteristics and protective mechanisms against oxidative stress during chilling and subsequent recovery in two maize varieties differing in chilling sensitivity. *Plant Sci.*, 161: 719-726.
- ASADA, K. 2000. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. *Philos T Ror Soc. B.* 355: 1419-1430.
- BRADFORD, M. M. 1976 A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248-254
- 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.
- BRUGGEMANN, W., BEYEL, V., BRODKA, M., POTH, H., WEIL, M. and STOCKHAUS, J. 1999. Antioxidants and antioxidative enzymes in wild-type and transgenic *Lycopersicon* genotypes of different chilling tolerance. *Plant Science* 140: 145-154.
- CAKMAK, I. 1994. Activity of ascorbate-dependent H₂O₂-scavenging enzymes and leaf chlorosis are enhanced in magnesium and potassium deficient leaves, but not in phosphorus deficient leaves. *J. Experimental Botany* 45: 1259-1266.

- CAKMAK, I. 2000. Role of zinc in protecting plant cells from reactive oxygen species. *New Phytologist* 146: 185-205.
- CAKMAK, I. and MARSCHNER, H. 1992a. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. *Plant. Physiol.* 98: 1222-1227.
- CAKMAK, I. and MARSCHNER, H. 1992b. Magnesium deficiency enhances resistance to paraquat toxicity in bean leaves. *Plant, Cell and Environ.*, 15: 955-960
- CHOI, S. M., JEONG, S. W., JEONG, W. J., KWON, S. Y., CHOW, W. S., PARK, Y.II, 2002, Chloroplast Cu/Zn-superoxidase is a highly sensitive site in cucumber leaves chilled in the light, *Planta* 216: 315-324
- DAŞGAN, H.Y., ABAK, K. Ve BAYTORUN, N., 1994. İki farklı gece sıcaklığına sahip serada yetişen domates bitkilerinin çiçek tozu canlılık ve çimlenmeleri. *Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Adana-1995, Cilt II, S.12-16.*
- DAŞGAN, H.Y., ÖZDOĞAN, A.O., ABAK, K. ve KAFTANOĞLU, O., 1999. Comparison of honey bees (*Apis mellifera* L.) and Bumble bees (*Bombus terrestris*) as pollinators for melon (*Cucumis melo* L.) grown in greenhouses. *Acta Horticulturae* 492, 131-134.
- DİE, 1997 TARIMSAL YAPI ve ÜRETİM
- ELLMAN, G.L., 1959. Tissue sulphhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 82: 70-77
- FELLNER, M. SHAWNEY, V.K. 2001. Seed germination in a tomato male-sterile mutant is resistant to osmotic, salt and low-temperature stresses. *Theor Appl. Genet.* 102: 215-221.
- FOOLAD, M.R., CHEN, F.Q., LIN, G.Y. 1998. RFLP mapping of QTLs conferring cold tolerance during seed germination in an interspecific cross of tomato. *Mol. Breeding* 4: 519-529.
- FLOOLAD, M.R., LIN, G.Y., 2001 Genetic analysis of cold tolerance during vegetative growth in tomato, *Lycopersicon esculentum* mill, *Euphytica*, 122: 105-111.

- FOYER, C.H., and HALLIWELL, B., 1976. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta* 133: 21-25
- FOYER, C.H., LOPEZ-DELGADO, H., DAT, J.F. and SCOTT, I.M. 1997. Hydrogen peroxide- and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. *Physiol. Plant.* 100: 241-254.
- FOYER, C.H., NOCTOR, G. 2000. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signalling *New Phytol.* 146: 359-388.
- GIANNOPOLITIS, N., and RIES, S.K. 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in high plants. *Plant Physiol.* 59: 309-319
- GRESSEL, J. and GALUN, E. 1994. Genetic controls of photooxidant tolerance. In: Foyer CH, Mullineaux P. Eds. Causes of photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 237-273.
- [Http://faostat.fao.org](http://faostat.fao.org), 2004, Domates üretim verileri.
- HUTCHISON, R.S., GROOM, Q. and ORT, D.R., 2000. Differential effects of chilling induced photooxidation on the redox regulation of photosynthetic enzymes. *Biochemistry* 39: 6679-6688
- INZE, D. and VAN MONTAGU, M. 1995. Oxidative stress in plants. *Curr. Opin. Biotechnol.* 6: 153-158.
- KERDNAMEONGKOL, K., BHATIA, A., JOLY, R.J. and WOODSON, W.R. 1997. Oxidative stress and diurnal variation in chilling sensitivity of tomato seedlings. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 122: 485-490.
- KERDNAMEONGKOL, K. and WOODSON, R. 1999. Inhibition of catalase by antisense RNA increases susceptibility to oxidative stress and chilling injury in transgenic tomato plants. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 124: 330-336.
- KOCSY, G., SZALAI, G., VAGUJFALVI, A., STEHLI, L., OROSZ, G., GALIBA, G., 2000a, Genetic study of glutathione accumulation during cold hardening in wheat, *Planta* 210:295-301.

- KOCSY, G., von BALLMOOS, P., SUTER, M., RUEGSEGGER, A., GALLI, U., SZALAI, G., GALIBA, G., BRUNOLD, C., 2000b, Inhibition of glutathione synthesis reduces chilling tolerance in maize, *Planta* 211:528-536.
- KOCSY, G., GALIBA, G., BRUNOLD, C., 2001a, Role of glutathione in adaptation and signalling during chilling and cold acclimation in plants, *Physiologia Plantarum* 113: 158-164
- KOCSY, G., von BALLMOOS, P., RUEGSEGGER, A., SZALAI, G., GALIBA, G., 2001b, Increasing the glutathione content in a chilling-sensitive maize genotype using safeners increased protection against chilling-induced injury, *J.Plant Physiol.* 127: 1147-1156.
- KOROLEVA, O.Y., KRAUSE, G.H. and BRUGGEMANN, W. 2000. Effects of long-term chilling under excessive light on xanthophyll cycle activity and non-photochemical fluorescence quenching in *Lycopersicon* genotypes. *Journal of Plant Physiology.* 156: 341-349.
- KUBO, A., AONO, M., NAKAJIMA, N., SAJI, H., TANAKA, K. and KONDO, N., 1999, Differential responses in activity of antioxidant enzymes to different environmental stresses in *Arabidopsis thaliana*, *Journal of Plant Research.* 112: 279-290.
- LAW, M.Y., CHARLES, S.A., HALLIWELL, B. 1983. Glutathione and ascorbic acid in spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplasts. The effect of hydrogen peroxide and paraquat. *Biochem J* 210: 899-903
- LEE, D. H., LEE, C.B., 2000, Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gel enzyme activity assays, *Plant Science* 159: 75-85
- LEIPNER, J., FRACHEBOUD, Y. and STAMP, P. 1999. Effect of growing season on the photosynthetic apparatus and leaf antioxidative defenses in two maize genotypes of different chilling tolerance. *Environ. and Experiment. Botany.* 42: 129-139.
- LICHTENTHALER, H.K., WELLBURN, A. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem Soc. Trans.* 11: 591-592

- MACRAE, E.A. and FERGUSON, I.B., 1985, Changes in catalase activity and hydrogen peroxide concentration in plants in response to low temperature, *Physiol. Plant*, 65: 51-56
- MINOLTA CAMERA CO. 1989. Manuel for chlorophyll Meter SPAD-502 Minolta Camera Co., Osaka, JAPAN
- NAKANO, Y., ASADA, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol* 22: 867-880
- RIKIN, A., BLUMENFELD, A. ve RICHMOND, A.E. 1976 Chilling resistance as affected by stressing environments and abscisic acid. *Bot.Gaz.* 137:307-312
- 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.
- SCEBBA, F., SEBASTIANI, L., VITAGLIANO, C. 1999 Protective enzymes against activated oxygen species in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedling: Responses to cold acclimation. *Journal of Plant Physiology*, 155,6,762-768.
- SEPPANEN, M.M. and FAGERSTEDT, K. 2000. The role of superoxide dismutase activity in response to cold acclimation in potato. *Physiol. Plant.* 108: 279-285.
- SEPPANEN, M.M., MAJAHARJU, M., SOMERSALO, S. ve PEHU, E. 1998: Freezing tolerance, cold acclimation and oxidative stress in potato. Paraquat tolerance is related to accumulation but is poor indicator of freezing tolerance. *Physiol. Plant.* 102: 454-460.
- SEVGICAN, A. 1999. Örtüalti Sebzeçiliđi, Cilt-1. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 528. 1999
- SHAALTIEL, Y, GLAZER, A., BOCION, P.F. ve GRESSEL, J. 1988: Cross tolerance to herbicidal and environmental oxidants of plant biotypes tolerant to paraquat, sulfur dioxide, and ozone. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 31: 13-23.
- TRUCO, M.J., RANDALL, L.B., BLOOM, A.J. 2000. Detection of QTLs associated with shoot wilting and root ammonium uptake under chilling temperatures in

an interspecific backcross population from *Lycopersicon esculentum* x *L-hirsutum*. Theor Appl. Genet. 101: 1082-1092.

TÜRKİYE TOHUMCULAR ENDÜSTRİSİ (TÜRK-TED) 1999

VENEMA, J.H., POSTHUMUS, F., VAN HASSELT, P.R. 1999. Impact of suboptimal temperature on growth, photosynthesis, leaf pigments and carbohydrates of domestic and high-altitude wild *Lycopersicon* species. J Plant Physiol. 155: 711-718.

VENEMA, J.H., EEKHOF, M. and VAN HASSELT P., R., 2000, Analysis of low-temperature tolerance of a tomato (*Lycopersicon esculentum*) cybrid with chloroplast from a more chilling-tolerant *L.hirsutum* accession, Annals of Botany, 85: 799-807.

VENEMA, J.H., VILLERIUS, L. and VAN HASSELT, P.R. 2000. Effect of acclimation to suboptimal temperature on chilling-induced photodamage: Comparison between a domestic and high-altitude wild *Lycopersicon* species. Plant Science. 152: 153-163.

VURAL, H., EŞİYOK, D. ve DUMAN, I. 2000. Kültür Sebzeleri . Ege Üniversitesi Basımevi.

WALKER, M.A., MCKERSIE, BYAN, D., PAULS, K., PETER, 1991, Effects of chilling on the biochemical and functional properties of thylakoid membranes, Plant Physiology 97, 663-669.

WALKER, M.A., MCKERSIE, B., D., 1993, Role of the ascorbate-glutathione antioxidant system in chilling resistance of tomato, Plant Physiology 141: 234-239.

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.

ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında İzmir’de doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Adana’da tamamladım. 1998 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümünde lisans öğrenimime başladım. 2002 yılında lisans öğrenimimi dereceyle tamamladıktan sonra aynı yıl Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimime başladım. Halen aynı enstitünün Toprak Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrencisi olarak öğrenimime devam etmekteyim.