



**KARAERİK ÜZÜM ÇEŞİDİ KIŞ GÖZLERİNİN
AKLİMASYON-DAYANIKLILIK- DEAKLİMASYON
EVRELERİNDEKİ BİYOKİMYASAL İÇERİKLERİ İLE
SOĞUĞA DAYANIMLARI ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN BELİRLENMESİ**

Merve RENDE

Yüksek Lisans Tezi

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Bağ Yetiştirme ve Islahı Bilim Dalı

Doç. Dr. Cafer KÖSE

2017

Her Hakkı Saklıdır

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KARAERİK ÜZÜM ÇEŞİDİ KIŞ GÖZLERİNİN AKLİMASYON
DAYANIKLILIK- DEAKLİMASYON EVRELERİNDEKİ BİYOKİMYASAL
İÇERİKLERİ İLE SOĞUĞA DAYANIMLARI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
BELİRLENMESİ**

Merve RENDE

**BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI
Bağ Yetiştirme ve Islahı Bilim Dalı**

**ERZURUM
2017**

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

KARAERİK ÜZÜM ÇEŞİDİ KIŞ GÖZLERİNİN AKLİMASYON
DAYANIKLILIK- DEAKLİMASYON EVRELERİNDEKİ BİYOKİMYASAL
İÇERİKLERİ İLE SOĞUĞA DAYANIMLARI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
BELİRLENMESİ

Doç. Dr. Cafer KÖSE danışmanlığında, Merve RENDE tarafından hazırlanan bu çalışma 10/03/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı – Bağ Yetiştirme ve Islahı Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Rüstem CANGİ

İmza:

Üye : Prof. Dr. Atilla DURSUN

İmza:

Üye : Doç. Dr. Cafer KÖSE

İmza:

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 16/03/2017 tarih ve 11/51 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cavit KAZAZ
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP, projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: 2015-386

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

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KARAERİK ÜZÜM ÇEŞİDİ KIŞ GÖZLERİNİN AKLİMASYON DAYANIKLILIK- DEAKLİMASYON EVRELERİNDEKİ BİYOKİMYASAL İÇERİKLERİ İLE SOĞUĞA DAYANIMLARI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN BELİRLENMESİ

Merve RENDE

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Bağ Yetiştirme ve Islahı Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Cafer KÖSE

Bu çalışma, Karaerik üzüm çeşidinin 2015-2016 kış dönemi içerisinde aklımasyon, dayanıklılık ve deaklımasyon evrelerini kapsayan 6 farklı örnekleme tarihinde alınan kış gözlerinin düşük sıcaklığa toleranslarını belirlemek ve biyokimyasal parametrelerle tolerans ilişkisini ortaya koymak amacıyla yürütülmüştür. Araştırmada çeşide ait kış gözlerinin primer tomurcuklarında yüksek (HTE) ve düşük (LTE) sıcaklık exotermelerinin meydana geldiği sıcaklık değerleri ile söz konusu gözlerin lipid peroksidasyonu (MDA), toplam karbonhidrat, toplam suda çözünebilir protein, askorbat peroxidaz (APX), peroksidaz (POX), süperoksid dismutaz (SOD), polifenoloksidaz (PPO), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve siglent oksijen (O_2^-) analizleri yapılarak tolerans seviyeleri belirlenmiştir. Çalışmada çeşidin kış gözlerinde hücre arası buz oluşumunun göstergesi olan mHTE değerleri $-4,00^{\circ}C$ ile $-9,80^{\circ}C$ arasında, hücre içi donmanın dolayısıyla %50 primer tomurcuk ölümünün göstergesini temsil eden mLTE değerlerinin ise $-6,20^{\circ}C$ ile $-12,70^{\circ}C$ arasında meydana geldiği belirlenmiştir. Ayrıca kış gözlerine ait protein ($r = -0,433$), karbonhidrat ($r = -0,486$), O_2^- ($r = -0,515$), POX ($r = 0,586$) ve MDA ($r = -0,490$) içerikleri hücre içi donma sıcaklığının temsili olan mLTE değerleri arasındaki ilişki önemli bulunurken, SOD, H_2O_2 ve PPO ve APX içerikleri arasındaki ilişki önemsiz bulunmuştur. Sonuç olarak, kış gözlerinin belirlenen dönemsel tolerans değerlerinin, çeşit için daha gerçekçi hasar tahminlerini mümkün kılacağı ve buna bağlı olarak daha doğru ve güvenilir önlemler alınabileceği ve/veya uygulamalar yapılabileceği düşüncesindeyiz. Bunun yanında, don toleransı ile ilişkili bulunan protein, karbonhidrat, süperoksid radikali ve peroksidaz içeriklerine yapılacak müdahalelerin düşük sıcaklık zararını önleme ve/veya azaltmada etkili olabilecektir. Bu çalışmanın farklı ekoloji ve iklim şartlarında farklı çeşitlerle de yürütülmesi sonuçların güvenilirliği ve doğruluğunu daha da artıracaktır.

2017, 92 sayfa

Anahtar Kelimeler: Asma, antioksidan aktivitesi, Erzincan, Karaerik, LTE

ABSTRACT

Master Thesis

THE DETERMINATION OF RELATION BETWEEN COLD HARDINESS AND BIOCHEMICAL CONTENTS OF WINTER BUDS OF GRAPEVINE cv. KARAERIK IN ACCLIMATION-HARDINESS-DEACCLIMATION PHASES

Merve RENDE

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Horticulture

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Cafer KÖSE

This study was performed to evaluate the relationship between biochemical parameters and low temperature tolerance, and to determine the low temperature tolerance of the buds that was took at the six different sampling dates, belonged to the acclimation, hardening and de-acclimation phases of the Karaerik grape variety during 2015-2016 winter period. The tolerance levels of the primary buds by doing the analysis such as bud lipid peroxidation (MDA), total carbohydrate, total soluble protein, ascorbate peroxidase (APX), peroxidase (POX), superoxide dismutase (SOD), polyphenoloxidase (PPO), hydrogen peroxide (H₂O₂), siglent oksijen (O₂⁻) with the temperature data of low and high temperature exotherms were determined in this research. The mHTE data, showed that ice forming between cells, as -4,00°C to -9,80°C, mLTE data that showed %50 of primary buds death as the results of intra-cell freezing between -6,20°C to -12.70°C, in the winter buds of the variety were reported. Also, the relationship between the protein (r= -0,433), carbohydrate (r= -0,486), O₂⁻ (r= -0,515), POX (r= 0,586), MDA (r= -0,490) that included to the winter buds and mLTE that indicated the intra-cell freezing was significant, but the relationship between H₂O₂ content, SOD, PPO, APX activity and mLTE was non-significant. As a result, we think that the low temperature tolerance of winter buds determined at different periods will be probable to forecast more realistic damage for the variety and, thanks to this, it should be attend to solve this problem and/or do application for solving this problem. Furthermore, intervention application to protein, carbohydrate, superoxide radical and peroxidase related to intra-cell freezing temperature will be effective for the preventing and /or decreasing of low temperature damage. This study explained that results for the production of different varieties at the different ecological and climate condition have increased in the credibility and correctness of our results.

2017, 92 pages

Keywords: Antioxidant activity, Erzincan, grapevine, Karaerik, LTE

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak sunmuş olduğum bu çalışma, 2015-386 no'lu Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi olarak desteklenmiş ve Ziraat-Fakültesi Termal Aniliz Laboratuvarında yapılmıştır.

Tez konusunun seçiminden yürütülmesi ve sonuçlandırılmasına kadar bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren, kullandığı her kelimenin hayatıma kattığı önemini asla unutmayacağım saygıdeğer danışman hocam Sayın Doç. Dr. Cafer KÖSE'ye en kalbi duygularıyla şükranlarımı sunarım.

Yapmış olduğum bu tez çalışması boyunca katkılardan dolayı Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölüm Başkanı değerli hocam Sayın Prof. Dr. Atilla DURSUN'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında ilgi ve yardımlarını gördüğüm kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Ökkeş ATICI'ya, arazi ve laboratuvar çalışmalarımınla beraber tez yazım süreci boyunca da benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen Sayın Özkan KAYA'ya, laboratuvar çalışmalarım esnasında yanımda olan ilgi ve desteğini hiç bir zaman esirgemeyen kıymetli arkadaşım Sayın Dr. Deniz TİRYAKİ'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Erzincan'da yürütmüş olduğum çalışmamda örnek alımlarında yardımcı olan ve çalışmamızı bağında yürütmemize izin veren değerli büyüğüm merhum Faruk AKSUN ile oğlu Yusuf AKSUN'a ve bu günlere gelmemde her daim yanımda olan, tüm zorlukları benimle göğüsleyen, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen babama, anneme ve kardeşlerime minnettarım.

Merve RENDE

Şubat, 2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	6
2.1. Bitkilerde Buz Nükleasyonu, Düşük Sıcaklık Hasarı ve Diferansiyel Termal Analiz	6
2.2. Düşük Sıcaklığa Toleransta Etkili Unsurlar	10
2.2.1. Düşük sıcaklığa toleransta etkili abiyotik faktörler.....	10
2.2.2. Düşük sıcaklığa toleransta etkili olan biyotik faktörler.....	16
2.2.2.a. Süperoksit dismutaz (SOD).....	18
2.2.2.b. Askorbat peroksidaz (APX)	18
2.2.2.c. Peroksidaz (POX).....	18
2.2.2.d. Polifenol oksidaz (PPO)	19
2.2.2.e. Toplam karbonhidrat	21
2.2.2.f. Proteinler	22
2.2.2.g. Yağlar	24
2.3. Araştırmanın Yürütüldüğü Bölge Hakkında Genel Bilgi.....	27
2.3.1. Araştırma alanının coğrafi yapısı	27
2.3.2. Araştırmanın yapıldığı ilin ekolojik özellikleri	27
2.3.3. Erzincan'da meyvecilik ve bağıcılığın durumu.....	30
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	32
3.1. Materyal.....	32
3.2. Yöntem	33
3.2.1. Araştırma örneklerinin alınması ve muhafazası	33
3.2.2. Kış gözlerinde DTA testleri	34

3.2.3. Antioksidan enzim ve biyokimyasal parametrelerdeki değişimlerinin belirlenmesi.....	36
3.2.3.a. Çözünür protein miktarının tayini	37
3.2.3.b. Toplam karbonhidrat içeriğinin belirlenmesi	38
3.2.3.c. Lipid peroksidasyon düzeyinin tayini.....	39
3.2.3.d. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) miktarının belirlenmesi	39
3.2.3.e. Süperoksit anyonu (O ₂ ^{•-}) miktarının belirlenmesi	40
3.2.3.f. Süperoksit dismutaz aktivitesinin belirlenmesi.....	41
3.2.3.g. Peroksidaz (POX) aktivitesinin belirlenmesi	42
3.2.3.h. Polifenoloksidaz (PPO) aktivitesinin belirlenmesi.....	43
3.2.3.i. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin belirlenmesi.....	44
3.2.4. Verilerin istatistik analizi	44
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	46
4.1. Yüksek ve Düşük Sıcaklık Ekzotermlerinin Görüldüğü Sıcaklık Değerleri	46
4.2. Kış Gözlerinin Suda Çözünebilir Toplam Protein Miktarı	50
4.3. Kış Gözlerinin Toplam Karbonhidrat Miktarı.....	51
4.4. Kış Gözlerinin Lipid Peroksidasyon Düzeyi.....	52
4.5. Kış Gözü Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Miktarı	53
4.6. Kış Gözü Süperoksit Anyon (O ₂ ^{•-}) Miktarı	54
4.7. Kış Gözlerinde Süperoksit Dismutaz Aktivitesi	55
4.8. Kış Gözlerinde Peroksidaz Aktivitesi	56
4.9. Kış Gözlerinde Polifenol Oksidaz Aktivitesi	57
4.10. Kış Gözlerinde Askorbat Peroksidaz Aktivitesi.....	58
4.11. Biyokimyasal Parametreler ile Kış Gözü Primer Tümörüklerinin Don Toleransı Arasındaki İlişki.....	59
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	61
KAYNAKLAR	75
ÖZGEÇMİŞ	93

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

'	: Dakika
"	: Saniye
%	: Yüzde
°	: Derece
°C	: Santigrant derece
µL	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
APX	: Askorbat peroksidaz
Abs	: Absorbans
AsA	: Askorbik asit
BCA	: Bişinkonik asit
CAT	: Katalaz
DTA	: Diferansiyel termal analizör
E.C	: Elektriksel İletkenlik
E.Ü	: Enzim ünitesi
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
g	: Gram
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HTE	: Yüksek sıcaklık exotermi
km	: Kilometre
LPO	: Lipid peroksidasyon
LTE	: Düşük sıcaklık exotermi
LTE ₅₀	: %50 ölüm değeri
m	: Metre
mLTE ₅₀	: %50 ölüm sıcaklığının ortalama düşük sıcaklık exotermi
mM	: Milimolar
nmol	: Nano mol

O ₂ ⁻	: Süperoksit anyon
OH ⁻	: Hidroksil radikali
POX	: Peroksidaz
PPO	: Polifenol oksidaz
PVP	: Polivinilpirrolidon
ROS	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Devir/dakika
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiobarbutirik asit
TCA	: Trikloroasetik asit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Üzümlü ilçesine ait 30 Kasım 2015-10 Mart 2017 tarihleri arasındaki maximum, minimum ve ortalama sıcaklık değerlerindeki değişim	30
Şekil 3.1. Denemenin yürütüldüğü bağın ve baran sisteminin genel görünümü	33
Şekil 3.2. Kış gözlerinin primer tomurcuklarına termokapıl yerleştirilmesi	34
Şekil 3.3. Kış gözleri ve termokapıl yüzeyinin silikonla kaplanması.....	35
Şekil 3.4. Karaerik üzüm çeşidi kış gözlerinin alüminyum folyo ile sarılması	35
Şekil 4.1. Kış gözü primer tomurcuklarının hücre arası ve hücre içi buz oluşumunun görüldüğü ortalama sıcaklık değerlerindeki mevsimsel değişim	49
Şekil 4.2. Kış gözü suda çözünebilir toplam protein miktarındaki dönemsel değişim...	51
Şekil 4.3. Kış gözü toplam karbonhidrat miktarındaki dönemsel değişim	52
Şekil 4.4. Kış gözü MDA miktarındaki dönemsel değişim	53
Şekil 4.5. Kış gözü hidrojen peroksit miktarındaki dönemsel değişim	54
Şekil 4.6. Kış gözlü süperoksit anyonu miktarındaki dönemsel değişim	55
Şekil 4.7. Kış gözlerinde süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin dönemsel değişimi	56
Şekil 4.8. Kış gözlerinde peroksidaz (POX) aktivitesinin dönemsel değişimi.....	57
Şekil 4.9. Kış gözlerinde polifenol oksidaz aktivitesinin dönemsel değişimi	58
Şekil 4.10. Kış gözlerinde askorbat peroksidaz aktivitesinin dönemsel değişimi	59

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Araştırmanın yürütüldüğü yıllarda Erzincan İli'ne ait bazı meteorolojik veriler	29
Çizelge 2.2. Türlerle göre Erzincan ili meyve üretim alanı ve miktarları	31
Çizelge 4.1. Kış gözlerinde yüksek sıcaklık ekzotermelerinin (HTE) görüldüğü maksimum (HTE_{max}) ve minimum (HTE_{min}) sıcaklık değerlerinin ($^{\circ}C$) mevsimsel değişimi.....	47
Çizelge 4.2. Kış gözlerinde düşük sıcaklık ekzotermelerinin (LTE) görüldüğü maksimum (LTE_{max}) ve minimum (LTE_{min}) sıcaklık değerlerinin ($^{\circ}C$) mevsimsel değişimi.....	48
Çizelge 4.3. Kış gözlerinde hücre arası (mHTE)ve hücre içi (mLTE) buz oluşum sıcaklıkları ile biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyon katsayıları (r) ve önem seviyeleri.....	60

1. GİRİŞ

Jeolojik bulgulara göre geçmişi 150 milyon yıl öncesine dayanan asma, yerkürenin en eski bitki grupları arasında yer alır ve dünya üzerinde kültürü yapılan en eski meyve türlerinden biridir. Dünya üzerinde çok geniş bir alana yayılmış bulunan asma türleri içerisinde en önemlisi, halen dünya üzüm üretiminin %90'ından fazlasını sağlayan *V. vinifera* L. türüdür. Bağcılık tarihi bu türün kültüre alınması ile başlamıştır. Asma ve Anadolu uygarlıkları ile iç içe olan bağcılık kültürü, doğu ve batı medeniyetlerinin sosyal ve ekonomik yapısı içerisinde her dönemde önemli yer tutmuştur. Öyleki, bazı toplumlarda asma ve şarap mistik bir önem kazanmış, farklı isimlerle bağcılık ve şarap tanrıları betimlenmiştir (Oraman 1972; Fidan 1985; Mullins *et al.* 1992; Çelik vd 1998; Köse 2002). Bununla birlikte farklı tüketim ve pekçok değerlendirme şekline sahip olması asmayı, üzerinde yoğun bir şekilde durulan ve yetiştiriciliğine oldukça fazla önem verilen bir kültür bitkisi yapmıştır. Birleşmiş Milletler, Gıda ve Tarım Örgütü'nün verilerine göre dünyada 7 milyon 155 bin ha alandaki 69 milyon ton'luk üretimi ile dünyada en fazla üretimi yapılan ikinci meyvedir (Zhang *et al.* 2012; FAO 2016). Bunun yanında kolay çoğaltılabilmesi, iklim ve toprak istekleri yönünden çok seçici olmayışı gibi nedenlerle asma, ticari öneme sahip meyve türleri arasında muhtemelen en geniş yayılma alanına sahip türdür (Wample *et al.* 1991). Bu tür güney yarım kürede 30.-40. enlem dereceleri, kuzey yarım kürede ise 30.-50. enlem dereceleri arasında yetiştirilmektedir. Ancak bu bağcılık sınırları, güney yarım kürede 12., kuzey yarım kürede ise 57. enlem derecelerine kadar genişleyebilmektedir (Winkler *et al.* 1974; Wample *et al.* 1991; Mullins *et al.* 1992; Çelik vd 1998).

Bir çok meyve türünün gen merkezi ve doğal yayılma alanı içerisinde bulunan ülkemiz, aynı zamanda birçok meyve türünün de ilk kültüre alındığı yerdir (Özbek 1955; Ülkümen 1973; Samancı 1985; Ağaoğlu vd 1995). Asmanın ilk kültüre alındığı ve bağcılık tarihinin başladığı yer olarak büyük bir öneme sahip Anadolu'da 5-6 bin yıllık eski ve köklü bir bağcılık kültürü ile birlikte farklı tüketim alışkanlığı ve ekolojik şartların farklılığı sayesinde zengin bir asma gen potansiyeli oluşmuştur (Mullins *et al.* 1992; Çelik vd 1998; Ağaoğlu 1999).

Asma, ürün verimi ve 1.200'ün üzerindeki çeşit sayısı ile hem ekonomik hem de genetik kaynak oluşturma yönüyle ülkemizin önemli bir bitkisidir. Son istatistiklere göre ülkemizde 461.000 ha alanda, 3.650.000 ton üzüm üretimi gerçekleştirilmiştir (TÜİK 2016). Dünya sıralamasında Türkiye, bağ alanı bakımından beşinci, üretim miktarı bakımından ise altıncı sırada yer almaktadır (FAO 2016). Dünya üzüm üretiminin %5,6'sına sahip olan Türkiye, 893 kg/da değeri ile birim alandan alınan verim bakımından bağcılıkla uğraşan birçok ülkeye göre oldukça geridedir (FAO 2016). Bu gerikalmışlığın pekçok nedeninden biri de dünyanın çoğu önemli bağcı ülkesi gibi ülkemizin de, bağcılığı sınırlandıran ve ekonomik yetiştiricilik potansiyeli üzerinde olumsuz etkilere sahip stres faktörünün etkisi altında olmasıdır.

Küresel olarak değerlendirildiğinde ticari bağcılık sofralık, kurutmalık, meyve suyu ve şaraplık gibi farklı amaçlara yönelik yapılmaktadır. Geniş coğrafi yayılış alanları içerisinde, bu üretim amaçlarına yönelik çok elverişli alanlar olduğu gibi, üretim ve kaliteyi sınırlandıran, ekonomik yetiştiriciliğin limitlerini zorlayıcı çevresel stres faktörlerine sahip, bağ alanlarının oranı da azımsanmayacak kadar yüksektir (Mickelbert *et al.* 2006). Özellikle karasal iklim şartlarında başarılı bir bağcılık pek çok sınırlayıcı faktörle karşı karşıyadır (Cindric and Kovac 1988). Bağcılığın coğrafi yayılımını sınırlandıran bu faktörlerinden birisi de sıcaklıktır. Sıcaklık bitki büyümesini etkileyen temel çevresel faktörlerden biridir. Bu yüzden herhangi bir genotipin coğrafi dağılımı ve yetiştiricilik potansiyeli, sıcaklığa bağlı olarak değişmektedir (Lynn *et al.* 2006; Zhang *et al.* 2012).

Asmaların düşük sıcaklık toleransı; başta genetik yapı olmak üzere, düşük sıcaklığın derecesi, süresi, düşme hızı, dinlenme dönemi sıcaklıkları, asmanın üzerine aşılandığı anaç, bağın konumu, rakımı, budama zamanı ve yöntemi, ürün yükü, terbiye şekli ve destek sistemi, sulama, gübreleme (özellikle azot), hastalık ve zararlıların kontrol düzeyi gibi birçok faktöre bağlıdır (Khanizadeh *et al.* 2005; Çelik vd 2008). Başka bir ifade ile düşük sıcaklığa dayanım; kültürel uygulamalar ve çevresel faktörlere bağlı olarak, asma çeşit ve dokuları arasında farklılık gösteren karmaşık ve dinamik bir yapıya sahiptir (Williams *et al.* 1994; Keller 2015). Bu karmaşık ve dinamik yapı

nedeniyle asma çeşit veya dokularının zarar gördüğü düşük sıcaklık bakımından, kesin bir değer vermek mümkün değildir. Doğu Asya (*V. amurensis*) ve Kuzeydoğu Amerika (*V. riparia*) asma türleri -40°C 'ye kadar olan düşük sıcaklıklara dayanıklılık gösterebilirken, dünya üzerinde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan *Vitis vinifera* L. çeşitleri ise en fazla -25°C 'lik kış sıcaklıklarına dayanabilir (Fennell 2004; Mills *et al.* 2006; Davenport *et al.* 2008; Ferguson *et al.* 2011; Ferguson *et al.* 2014; Keller 2015). Diğer taraftan *V. vinifera* L. çeşitleri için -12°C 'de kış gözlerinin, -16°C 'de dalların ve -20°C 'de ise kolların zarar görmeye başladığı ifade edilmektedir (Çelik vd 1998).

Donma noktası altındaki düşük sıcaklıklar, verim ve kalite kayıpları yanında doku ve organ zararlarına neden olabilir hatta bitkinin tamamen ölümüne kadar varan hasarlar meydana getirebilir (Linden 2002). Bunun yanında şiddetli zararlardan sonra şekli bozulmuş asmalara yeniden şekil vermek ve bağlardan belirli bir zaman ürün alınmaması da yaşanan sıkıntılar arasındadır (Köse ve Güteryüz 2011; Lean 2011). Ayrıca, kış soğukları bağlarda, bağ kanseri (*Agrobacterium vitis*) yayılımını da artırmaktadır (Zabadal *et al.* 2007).

Nitekim, yapılan çalışmalarda dünya üzüm üretiminin her yıl ortalama %5-15'inin soğuk zararı nedeniyle kayba uğradığı tahmin edilmektedir (Evans 2000; Zabadal *et al.* 2007). Zabadal *et al.* (2007) *V. vinifera* bağlarında kış soğuklarının tahmin edilen ekonomik zararının yılda 25.000 \$/acre olduğunu bildirmektedirler.

Amerika Birleşik Devletleri'nde Finger Lake Bölgesi'nde 2004 yılında yaşanan kış soğuklarının *V. vinifera* L. türüne ait üzüm üretimini %50 oranında azaltmıştır. Finger Lake Bölgesi'nde Ocak 2004'te meydana gelen kış donlarının direkt ürün kaybı değerinin 1,7 milyon \$ olduğu, bu değere şarap satışları eklendiğinde ise toplam kaybın 41,5 milyon \$'a ulaştığı bildirilmektedir. Söz konusu yılı takip eden 4 yıllık periyottaki kayıplar da dikkate alındığında Ocak 2004 teki kış donlarının New York şarap endüstrisinde meydana getirdiği toplam zararın 63,6 milyon \$ olduğu tahmin edilmektedir (Martinson and White 2004; Zabadal *et al.* 2007).

Dami *et al.* (2012) Wooster, Ohio'daki bağlarda 2009 da -26°C 'ye düşen kış soğuklarının çeşitlere göre değişmekle birlikte %40 ile %98 oranında göz zararına neden olduğunu bildirmişlerdir.

Köse ve Güteryüz de, Üzümlü ilçesi (Erzincan) Karaerik üzüm bağlarında yaptıkları çalışmalarda 2007-2008 kış döneminde -22.2°C 'ye kadar düşen sıcaklıkların ilçe genelinde kış gözü primer tomurcuklarında ortalama %64.0 oranında (Köse ve Güteryüz 2009), sonraki yıl ise Aralık 2008–Şubat 2009 kış döneminde zaman zaman -14.6°C 'ye kadar düşen sıcaklıkların da ilçe genelinde kış gözü primer tomurcuklarında ortalama %45,6 oranında zarar meydana getirdiğini tespit etmişlerdir (Köse ve Güteryüz 2011).

Son yıllarda yaşanan küresel iklim değişikliği ile meydana gelen sıcaklık artışı, düşük sıcaklık zararı ihtimalini azaltacak gibi görünmektedir. Ancak, küresel iklim değişikliği sonucu yaşanan kuraklık ve sıcaklık dalgalanmalarının, özellikle kar örtüsünün koruyucu etkisinden istifade edilen bağ alanlarında, kar örtüsünün azalmasına bağlı olarak, düşük sıcaklık zararını artıracığı, verim ve kalite kayıplarına neden olabileceği belirtilmektedir (Khanizadeh *et al.* 2005; Köse ve Güteryüz 2009). Bu nedenle, yetiştiricileri, toptancıları, üzüm üretimine dayalı işletme ve sanayi kuruluşlarını önemli kayıplara uğratan, sektör için büyük zorluklar ve sınırlamalara neden olan düşük sıcaklıkların zararlı etkilerinin azaltılması pratik bağcılık için büyük bir önem taşımaktadır (Keller and Mills 2007).

Düşük sıcaklıkların etkili olduğu ve bağcılık limitlerinin zorlandığı bölgelerde, don hasarını en aza indirebilmek için, kültürel uygulamalar en iyi şekilde yapılmalı, hasar sonrası etkili tedbirler alınmalı, alınan tedbirlerin etkinliği artırılmalı, daha etkin yeni tedbirler geliştirilmeli, genetik kaynaklar içerisinde düşük sıcaklığa dayanıklı çeşitler seçilmeli ve/veya yeni çeşitler geliştirilmelidir. Bu amaçlara ulaşmada; temelde donma noktası altındaki sıcaklıklarda asmaların canlı kalabilme mekanizmalarının ve aklimasyon-deaklimasyon süreci içerisinde düşük sıcaklığa uyumunu sağlayan fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler mekanizmaların aydınlatılması zorunludur (Quamme 1991; Fennel 2004).

Bu çalışmanın temel amacı aklimasyon (alışma), dayanıklılık ve deaklimasyon (dayanımın azalması) süreci içerisinde asmanın düşük sıcaklığa dayanım düzeyindeki değişim ve don toleransı üzerinde etkili olabilecek biyokimyasal değişimlerin belirlenmesidir. Böylece, elde edilecek veriler ile düşük sıcaklığa maruz kalan asma germplazmalarının soğuğa dayanımlarının belirlenmesinde, gerekli bilginin sağlanabileceği kanaatindeyiz. Bununla birlikte; don toleransı üzerinde etkili kültürel uygulamaların etkinlikleri, hasar sonrası alınacak önlemler daha güvenilir şekilde belirlenebilecek ve etkinlikleri artırılacaktır. Bunlara ilave olarak, farklı amaçlara yönelik olarak gelecekte yapılacak çalışmalara temel teşkil edecek veri ve bilgi birikiminin sağlanması çalışmanın hedefleri içerisinde yer almaktadır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Bitkilerde Buz Nükleasyonu, Düşük Sıcaklık Hasarı ve Diferansiyel Termal Analiz

Düşük sıcaklık stresi, diğer pek çok bitki türünde olduğu gibi asmada da bitkilerin hasar gördüğü sıcaklık derecesine göre; üşüme ve donma stresleri olarak ikiye ayrılır (Levitt 1980). Tropik kökenli asma türleri genellikle üşümeye duyarlı olup, 0°C ile 15°C sıcaklık aralığında üşüme hasarına uğrarlar (Keller 2015). Bitkilerde hücre içi veya hücre dışı buz oluşumu ile ilgili olan donma stresi, sıfırın altındaki sıcaklıklarda meydana gelir ve üşüme stresinden daha büyük hasarlara neden olur. Hasara neden olan düşük sıcaklıklar, enzim aktivitelerinde azalmalara, hücresel zararın sertleşmesine, hücre içinde bulunan reaktif oksijen türlerinden (ROS) süperoksit anyonu (O_2^-) ile RNA sekonder ve protein yapılarındaki kararlılıkların bozulmasına, singlet oksijen (1O_2), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($OH\cdot$) birikimine, bitkide fotosentezin düzensizleşmesine ve hücre zararlarından sızıntıların oluşmasına neden olmaktadır (Ruelland and Zachowski 2010; Turan 2012). Düşük sıcaklık nedeniyle meydana gelen bu fonksiyon bozuklukları asmalar üzerinde yapılan çalışmalar ile de ortaya koyulmuştur (Ma *et al.* 2010; Kaya 2011; Zhang *et al.* 2012). Nitekim Fas'ta yapılan bir çalışmada Syrah ve Merlot (*Vitis vinifera*. L) üzüm çeşitlerinin latent gözleri temmuz ayından mart ayına kadar aylık periyotlarla alınmış ve alınan örneklerin hücre içerisinde meydana gelen fenolik içerikleri ile H_2O_2 'nin gözlerdeki aktivite seyri belirlenmiştir. Deaklimasyonun başlangıcı olan ağustos ayının ortasında gözlerdeki toplam fenolik maddelerin birikimi hızlı bir şekilde artış göstermiştir. Bununla beraber kasım ayının ortasında hava sıcaklığının düşmesi gözlerde H_2O_2 miktarındaki artışı tetiklemiş ve fenolik maddelerde azalmalar belirlenmiştir. Sonuçlara göre latent gözlerde H_2O_2 seviyesi sıcaklık azalışı ve günlerin kışalmasına bağlı olarak dormansi ve dormansi öncesi aşamalarda linear bir azalış göstermiştir (Said *et al.* 2014). Diğer yandan farklı bir çalışmada gün uzunluğundaki azalmayla beraber süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve askorbat peroksidaz gibi antioksidan (APX) maddelerin arttığı belirlenirken bu maddelerdeki artışla beraber H_2O_2 miktarını azaldığı tespit edilmiştir (Verslues *et al.*

2007). Ayrıca H_2O_2 seviyesinin dormansi aşamasında hafif arttığı ve kış soğuklarında ise maksimum düzeye ulaştığı görülmüştür (Wanping *et al.* 2009). Benzer bir şekilde asma gözlerinin dinlenme olduğu dönemde H_2O_2 seviyesinin arttığı görülürken bu artışı antioksidan maddelerin yok ettiği de tespit edilmiştir (Or *et al.* 2000).

Bir çok bitki türünde hücre çözeltisinin süper soğuma (deep super cooling) özelliği bitkilerin dondan korunmasında önemli bir role sahiptir. Süper soğuma özelliği sayesinde hücre çözeltisi antifiriz özellik göstererek buz kristali oluşturmadan $-38^{\circ}C$ 'ye kadar soğuyabilir (Rajashekar *et al.* 1982; Rajashekar and Reid 1989). Süper soğuma sırasında hücrenin protoplazması buz nükleasyonu için gerekli çekirdek oluşumunu baskı altına alır. Ayrıca, hücre çeperi, hem buzun hücreler arasından, çepere doğru büyümesini hem de buhar basıncı değişimine bağlı olarak, sıvı haldeki suyun protoplazmadan hücreler arasındaki buzlu bölgeye çıkışını önler. Bu sayede süper soğuma, doku suyunun buz nükleasyon sıcaklığını düşürerek dokuların dondan korunmasını sağlar. Asmanın da içerisinde bulunduğu pek çok türde yapılan çalışmalarda donmaya karşı direncin, süper soğuma sayesinde teorik donma noktasının altındaki sıcaklıklarda buz nükleasyonunun engellenmesi sonucu gerçekleştiği ortaya koyulmuştur (Wisniewski and Arora 1993).

Donma sıcaklığında buz nükleasyonu önce hücreler arası boşlukta başlar ve bu aşamada Yüksek Sıcaklık Ekzotermi (HTE) denilen sıcaklık yükselmesi görülür. Hücre arasındaki suyun donması osmotik bir etki yaparak simplastik suyun apoplasta geçmesine ve donmasına neden olur. Bu durum hücrelerde su eksikliğine yol açar. Başlangıçta sadece apoplastik su donduğundan bitki fazla zarar görmez ve burada don öldürücü değildir. Simplastik su miktarı azalmış ve hücre içi yoğunluk artmış olduğundan simplastik su hemen donmaz. Ancak, düşük sıcaklığın devam etmesiyle simplastik su da donmaya başlar ve bu aşamada Düşük Sıcaklık Ekzotermi (LTE) meydana gelir ve bu noktada buz kristallerinin oluşumu hücredeki biyolojik zarları parçalayarak veya dehidratif etki yaparak zararlanmalara neden olur ve don bu noktada öldürücüdür (Burke *et al.* 1976; Levitt 1980; Ashworth *et al.* 1982; Andrews and Proebsting 1987; Wample *et al.* 1990; Wisniewski 1995).

Don zararı ile ilişkili oldukları bilinen (Nus *et al.* 1981) düşük sıcaklık ekzotermlerinin farklı organ veya dokularda meydana geldikleri sıcaklık değerleri ise termal analiz yöntemleriyle (DTA) ile tespit edilerek doku ve organlardaki don zararı belirlenmektedir (Quamme 1991).

Farklı gelişme dönemlerinde düşük sıcaklığa maruz kalan bitkilerde, Diferansiyel Termal Analiz, Nükleer Magnetik Resonans, Infrared Video Termografy, Magnetic Resonans Görüntüleme, Düşük Sıcaklık Elektron Mikroskobu, Diferansiyel Scanning Calorimetre, Tripheny Tetrazolium Chlorid Redüksiyonu, Elektriksel İletkenlik ve Doku Kahverengileşmesi gibi farklı ölçüm ve analiz teknikleri kullanılmaktadır (Yadava *et al.* 1978; Quamme 1991; Aslantaş ve Köse 2004; Fennell 2004). Teknolojik gelişmeler zaman içerisinde kullanılan alet ve ekipmanların değişimine neden olsa da temel olarak kış gözlerinin donması esnasında ortaya çıkan ekzoterm sıcaklıklarının belirlenmesi esasına dayanan termal analiz yöntemleri günümüzde de önemini korumaktadır. Ayrıca çoğu bitki türünde olduğu gibi asmada da gözlerin düşük sıcaklık toleranslarının belirlenmesinde DTA yaygın olarak kullanılan bir metot olarak ortaya çıkmıştır (Fennell 2004; Mills *et al.* 2006).

1989-1990 yıllarında Red Lake (*Ribes sativum*) ve Danka (*Ribes nigrum* L.) frenk üzümüne ait kış gözlerinde DTA testleri yapılmış ve aynı gözlerin biyofiziksel yapısı incelenmiştir. DTA testi sonucunda çiçek gözlerinin birden fazla düşük sıcaklık exotermine (LTE) sahip oldukları belirlenmiştir. DTA yöntemi sonucu elde edilen LTE değerleri ile canlılık testi (düşük sıcaklığa maruz bırakılan gözlerin oda sıcaklığında bekletilip ardından enzimatik kahverengileşme oranlarına mikroskop altında bakarak) uygulamasının ardından açan çiçeklerde görülen zarar düzeyleri birbiri ile ilişkili bulunmuştur. Çiçek salkımı sayısı veya tomurcuk başına çiçek sayısının LTE exotermine sayısının sayısı ile alakalı olmadığı görülmüştür. Birçok çiçeğin aynı anda donmasının bu duruma neden olabileceğini ifade etmişlerdir. Yapılan DTA deneyleri sonucu ile Danka çeşidinin exoterm sıcaklıklarının -14 ile -20°C'ler arasında olduğu görülmüştür (Warmund *et al.* 1991).

ABD'de 'Cabernet Sauvignon klonu ile Fer Servadau, Petit Verdot, Riesling, Viognier, Concord (*V. labrusca* L), Seyval (*Vitis* hybrid), ve Norton (*V.aestivalis* Michx.) üzüm çeşitlerinin dormant gözlerinin düşük sıcaklıklara toleransları hem arazideki gözlemler hem de DTA sonuçlarına göre değerlendirilmiştir. Hava sıcaklıklarının -24°C 'ye düşmesi ile Concord üzüm çeşidinde %15, Viognier çeşidin de ise %100 hasarın meydana geldiği tespit edilmiştir. Arazi şartlarında meydana gelen düşük sıcaklık hasarının meydana geldiği sıcaklık değeri ile DTA sonuçlarından elde edilen düşük sıcaklık hasarlarının meydana geldiği sıcaklık değerinin birbirine yakın olduğu (0°C ile $-1,5^{\circ}\text{C}$ 'lik bir fark) görülmüştür (Wolf and Cook 1994).

'Vignoles' ve 'Norton' üzüm çeşitlerinde nem kaybının DTA sonuçları üzerine nasıl bir etki yaptığını belirlemek için yapılan bir çalışmada 24°C oda sıcaklığında 2 dk içinde gözlerin toplam su içeriğini sırasıyla %6.3 ve %2.9'den daha çok kaybettiği ortaya konulmuştur. Çalışmada DTA ile göz su içeriği arasında pozitif bir ilişkinin olduğu ve göz su içeriğindeki azalma ile daha düşük sıcaklıklarda LTE değerleri olduğu kanaatine varılmıştır. Bu nedenle sağlıklı verilerin elde edilebilmesi için bağdan alınan örneklerde nemin korunup daha sonra DTA analiz testinin yapılmasının daha doğru olacağı kanaatine varılmıştır (Kovacs *et al.* 2002).

Amerikada yapılan bir çalışmada Riesling, Chardonnay, Pinot gris, Viognier, Cabernet Sauvignon, Merlot, Malbec ve Syrah üzüm çeşitlerinin aklimasyon ve deaklimasyon dönemlerinde kış gözlerinin LTE değerleri DTA testi yapılarak belirlenmiştir. Ayrıca kış gözlerinde yüzey neminin etkisi incelenmiş ve düşük sıcaklıklara olan hassasiyeti $3-4^{\circ}\text{C}$ azalttığı görülmüştür (Mills *et al.* 2006).

Çin'de yapılan başka bir çalışmada 20 yerli çeşit ve 5 yabancı (*V. amurensis*, *V. coignetiae*, *V.amurensis*, *V. amurensis* var. 'Yanshan', *V. riparia*) asma türünün kış gözleri nemli şartlarda (0, 150 μL , 200 μL ve 400 μL su uygulması) ve 0, 20, 40, 60, 70, 80, 90, 100, 110 ve 120 gün -4 ve -8°C sıcaklıklarda depolandıktan sonra bu gözlerde DTA analizi yapılarak LTE değerleri belirlenmiştir. Kış gözlerine 150 μL su uygulamasının daha tutarlı LTE değerleri oluşturduğu ve -4°C sıcaklıklarda 3 ay kalan

gözlerin ise düşük sıcaklıklara daha toleranslı oldukları görülmüştür. Çalışmada DTA sonuçlarına göre tür, çeşit ve türler arası melezleme ile elde edilen çeşitlerin mLTE değerleri sırasıyla; *V. vinifera* türüne ait çeşitlerin $-18,21^{\circ}\text{C}$, *V. vinifera* ve *V. labrusca* hibritlerinin $-20,16^{\circ}\text{C}$, *V. vinifera* ve *V. thunbergii* melezlerinin $-22,41^{\circ}\text{C}$, *V. vinifera* ve *V. amurensis* hibritlerinin $-22,41^{\circ}\text{C}$ ve yabanin türlerin ise $-24,02^{\circ}\text{C}$ olarak belirlenmiştir (Chai *et al.* 2015).

2.2. Düşük Sıcaklığa Toleransta Etkili Unsurlar

Düşük sıcaklıklar dünya üzerinde geniş bir yayılma alanına sahip olan asma gibi çok yıllık bitkilerde, bitkinin hayatta kalması yanında ürün verim ve kalitesini de doğrudan etkileyerek önemli oranda zarara sebep olabilmektedir (Winkler *et al.* 1974; Alberdi and Corcuera 1991; Zhang *et al.* 2012). Nitekim pekçok bitki türünde olduğu gibi asmalarda da düşük sıcaklığa tolerans biyotik ve abiyotik faktörün birbiri ile olan etkileşimlerine bağlı karmaşık bir durumdur. Genel olarak genetik yapıya bağlı olarak kontrol edilen bu durum, düşük sıcaklığın derecesine, bitkinin düşük sıcaklıklara maruz kaldığı süreye ve döneme, bitkinin bünyesindeki çözülebilir şeker ile prolin içeriğine, bitkinin içerisinde bulunan büyümeyi düzenleyicilerin dengesine (Yang *et al.* 1982) ve son araştırma sonuçlarına göre antifiriz özelliğindeki apoplastik polipeptitleri sentezleyebilme yeteneklerine göre farklılık göstermektedir (Hale and Orcutt 1987; Urritia *et al.* 1992; Griffith *et al.* 1992, 1997; Hon *et al.* 1994; Atıcı ve Nalbantoğlu 1999, 2003; Yu and Griffith 2001; Taşgın 2004; Taşgın *et al.* 2006). Bununla beraber asmanın düşük sıcaklıklara toleransı; üzerine aşılandığı anaca, bağın konumuna, rakımına, budama zamanı ve yöntemine, ürün yüküne, koltuk sürgünü varlığına, terbiye şekli ve destek sistemine, sulanmasına, gübrenmesine bağlı olarak değişmektedir (Khanizadeh *et al.* 2005; Köse 2006; Çelik vd 2008; Köse ve Güleryüz 2009; Kaya 2011)

2.2.1. Düşük sıcaklığa toleransta etkili abiyotik faktörler

Düşük sıcaklıklara tolerans temel olarak genetik faktörlere bağlı olmakla beraber çevresel, abiyotik unsurlar da düşük sıcaklığa dayanım üzerinde önemli etkilere sahiptir

(Levitt 1980; Sakai and Larcher 1987; Guy 1990). Düşük sıcaklığa dayanımın ve/veya toleransın dinamik yapısı nedeniyle tolerans üzerinde etkili olan abiyotik unsurları, net olarak ortaya koymak mümkün olmamakla birlikte, yapılan çalışmalarda asmaların düşük sıcaklığa toleransında etkili olan abiyotik faktörlerin başında, gün uzunluğu, sıcaklık, topografya, ışık, kuraklık ve tuzluluk gibi unsurların yer aldığı belirtilmektedir (Keller 2015). Bununla birlikte, sıcaklığın azalması ve günlerin kısalması, düşük sıcaklıklara tolerans sağlanmasında temel çevresel faktörler olarak dikkate alınmaktadır (Grant 2012).

Bilindiği gibi soğuğa tolerans genel olarak bir aklımasyon ve deaklımasyon dizisini takip etmektedir. Soğuğa toleransın ilk aşamasını aklımasyon oluşturmaktadır. Aklımasyon esnasında tüm bitkiler gibi asmalar da düşük, fakat donma derecesinde olmayan sıcaklık düşüşüne paralel olarak soğuğa dayanım kabiliyeti kazanırlar (Richardson *et al.* 1974; Grant 2012). Aklımasyon hem düşük sıcaklıklara hassas hem de toleranslı çeşitlerin tamamında meydana gelebilmektedir (Grant 2012).

Soğuğa aklımasyon iki aşamalı bir süreç olup ilk aşama yaz sonu veya erken sonbaharda günlerin kısalması ve hava sıcaklıklarının düşmeye başladığı dönem ile başlamaktadır. Bu dönemde bitki düşük sıcaklıklara karşı kendini korumak veya tolerans sağlamak için morfolojik ve fizyolojik olayları başlatır. Bu olaylar büyümenin kısıtlanması, göz dormansisinin teşvik edilmesi, kısmi dona toleransın gelişimi ve çevresel şartlarının neden olduğu düşük sıcaklık streslerine karşı hücre bileşenlerini korumak için, meydana gelen biyokimyasal değişimlerdir (Levitt 1980; Sakai and Larcher 1987; Guy 1990). Aklımasyonun ilk aşamasında büyümenin kesilmesi ve dormansinin başlaması için, kısa günler doğrudan etkili olmakta (Weiser 1970; Levitt 1980; Sakai and Larcher 1987) ve uygun olmayan çevre şartları nedeniyle büyüme inhibe edildiğinden sürgünlerde periderm yapının gelişmesi ile endodormansi olayı teşvik edilmektedir (Levitt 1980; Sakai and Larcher 1987). Washington'da yapılan bir çalışmada asma çubuklarında aklımasyon döneminin ağustos ayının 3. haftasında başladığı görülmüştür (Ahmedullah 1985). Concord üzüm çeşidinde yapılan çalışmada ise gün uzunluğunun kısalmasına paralel olarak çeşidin dinlenmeye daha erken girdiği

ve bu durumun düşük sıcaklıklara toleransı arttığı belirlenmiştir. Sürgünlerde büyüme oranı uzun gün uygulamalarında, kısa gün uygulamalarına kıyasla daha fazla olmuş ve *V. labruscana* türünde 12 saat kısa gün uygulaması periderm gelişimini önemli oranda artırarak gözlerde dormansiyi başlatmış ve ilerletmiştir (Wolpert and Howell 1986b). Diğer yandan Riesling üzüm çeşidinde ise kısa gün şartlarının aklimasyonu tetiklemediği görülmüştür (Schnabel and Wample 1987). *V. riparia* türü ve Concord üzüm çeşidinde kısa günler gelişmenin durmasını ve dormansinin başlamasını teşvik ederek dona toleransı artırmıştır (Fennell and Hoover 1991; Fennell and Mathiason 2002). Kısa günlerin Seyval Blanc üzüm çeşidinde olgunlaşma ve dormansiyi etkilemediği görülürken; *V. riparia* türünden daha yavaş bir şekilde uyum sağlamasına rağmen F1 (*V. riparia* x Seyval Blanc) melezinin pişkinleşme ve dona toleransını artırmıştır (Wake and Fennell 2000; Fennell and Mathiason 2002). Benzer bir şekilde kısa günler C-1613 (*V. solonis* X Othello [*V. labruscana* X *V. riparia* X *V. vinifera*]) anacında aklimasyonu hızlandırarak periderm gelişimini tetiklemiştir (Fennell 2004).

Bununla birlikte fotoperiyodun don toleransı üzerindeki etkisinin sıcaklığın etkisi kadar belirgin olmadığı da belirtilmektedir. Kısa günlerin tomurcuklarda dormansiyi uyarttığı ancak, tomurcuğun tamamen soğuğa aklime olabilmesi için düşük sıcaklıkların gerekli olduğu ifade edilmektedir (Fennell and Hoover 1991). Ancak, ölüme neden olan düşük sıcaklıkların fotoperiyot ve öncesindeki sıcaklıklara da bağlı olarak değiştiği de bildirilmektedir (Mills *et al.* 2006).

Soğuğa aklimasyonun ikinci aşaması ise sonbaharın sonuna doğru hava sıcaklığının azaldığı dönemdir ve bu dönem fotoperiyottan bağımsız olarak meydana gelir. Bu süre içerisinde sonbaharın sonuna doğru meydana gelen ilk dondurucu soğuklar ile düşük sıcaklığa toleranstaki hızlı artış birbirine denk gelmiş olup, bitkide moleküler, hücresel ve organ seviyelerinde çok sayıda değişim de tamamlanmıştır. Aktif yaz büyümesi esnasında don zararına karşı hassas olan asmalar, hava sıcaklığının -10°C 'nin altına düşmesi ile süper soğuma yeteneği kazanırlar (Burke *et al.* 1976). Bunun yanında bitki, hücre mebranlarındaki kararsızlığa neden olan abiyotik ve biyotik stres şartlarına cevap olarak hücre içi kalsiyum seviyesini yükseltmektedir. Bu durum düşük sıcaklığa duyarlı

olan gen ifadelerinin de artışına neden olur (Plieth *et al.* 1999; Knight and Knight 2000; Örvar *et al.* 2000; Smallwood and Bolwes 2002). Böylece birçok gen sinyali metabolik yollarını içeren gen ifadesi değişiklikleri soğuğa aklimasyonu başlatarak dona dayanıklılıkta artışa neden olmaktadır. Böylece soğuktan sorumlu ya da soğuk ile düzenlenen COR (cold regulation) genler birçok farklı proteini kodlarlar (Stockinger *et al.* 1997; Liu *et al.* 1998; Thomashow *et al.* 2001; Xiao *et al.* 2006). Düşük sıcaklıkla indüklenen genlerin ifadelerinin sonucunda birçok farklı şeker, şeker türevi maddeler ve protein sentezi gerçekleşmektedir. Düşük sıcaklık ile ilgili indüklenebilen proteinler arasında en önemlileri dehidrinler, donma karşıtı (antifreeze) proteinler, ısı şoku (heat shock) proteinleri ve soğuk şoku (cold shock) proteinleridir (Thomashow 1999; Fowler and Thomashow 2002; Wisniewski *et al.* 2003; Grant 2012).

Yapılan çalışmalar sonbaharda hava sıcaklıklarının 10°C'nin altına düşmesi ile Concord üzüm çeşidine ait kış gözlerinin dona karşı toleranslarının hızlıca arttığını göstermiştir (Wolpert and Howell 1985b). Bununla beraber düşük hava sıcaklıkları omcalarda aklimasyonu başlatması yanında ve don toleransını artırması yanında don toleransının şiddetini de değiştirmektedir. Concord, Riesling ve Cabernet Sauvignon üzüm çeşitlerinin -5°C'nin altındaki sıcaklıklara maruz kalması durumunda maximum don toleransı kazandıkları görülmüştür (Wolf and Cook 1992). Ayrıca -5°C'ye maruz bırakılan Seyval Blanc üzüm çeşidinin kış gözlerinin, düşük sıcaklık uygulaması yapılmamış olanlara kıyasla daha fazla tolerans gösterdiği belirlenmiştir (Slater *et al.* 1991). Yine benzer şekilde hava sıcaklıklarının 0°C'nin altına düşmesi ile Chardonnay üzüm çeşidinin don toleransının maximum seviyeye ulaştığı görülmüştür (Jones *et al.* 1999).

Bununla beraber düşük sıcaklıklara karşı toleransa, hava sıcaklıklarında meydana gelen değişimlere ilave olarak herhangi bir bölgenin topografik özellikleri de etki etmektedir.

Öyleki bir bölgede çukurda kalan alanlar yüksek alanlara oranla daha düşük hava sıcaklığına sahip olmaktadır. Bu durum soğuk hava dalgasının yukarıdan aşağıya doğru akışı ve çukur alanlara çöküşü ile açıklanmaktadır (Fennell 2004; Zabadal *et al.*

2007). Örneğin çukur alanda yetiştirilen Concord üzüm çeşidinin sürgün ve gözlerinin yüksek alanda bulunanlardan daha hızlı aklımasyon gösterdiği ve düşük sıcaklıklara daha fazla toleranslı olduğu görülmüş ve yüksek bölgelerde yetiştirilen üzümlerin çukur bölgelere oranla daha yavaş deaklimasyona girdiği tespit edilmiştir (Stergios and Howell 1977).

Diğer yandan kış sonuna doğru artan hava sıcaklıkları gözlerde düşük sıcaklık toleransını azaltarak deaklimasyon sürecini başlatmakta ve bu süreç göz patlamasının sonu ile aktif büyümenin başladığı döneme denk gelmektedir (Martinson 2001; Jones 2016). Merlot, Riesling, ve Muller- Thurgau (*V. vinifera*) üzüm çeşitlerinde hava sıcaklığının 4°C'nin üstüne çıkması ile deaklimasyon sürecinin başladığı görülmüştür (Hamman *et al.* 1990; Hubácková 1996). *V. riparia* asma türünde havaların ısınmasıyla beraber kış gözlerinin düşük sıcaklık exoterm sıcaklığı (LTE) -4.5°C'de meydana gelmiş, ardından 24 saat bu sıcaklıkta bekletilen gözlerde yapılan analizlerde ise LTE değerlerinin daha yüksek sıcaklıklarda meydana geldiği belirlenmiştir (Pierquet *et al.* 1977). Seyyal Blanc üzüm çeşidine ait sürgün ve kış gözlerinin şubat ayında sıcaklıkların 16°C'ye ulaşması ve bu sıcaklığa maruz kalması sonucu ocak ayına oranla daha hızlı bir şekilde deaklimasyona girdiği belirlenmiştir. Asma gözleri hava sıcaklığının 3°C olması durumunda 12 ile 24 saat içerisinde deaklimasyonu başlatırlar ve 48 saat içerisinde bu sıcaklıkta dona toleranslarını kaybederler (Slater *et al.* 1991). Concord, Riesling ve Cabernet Sauvignon üzüm çeşitlerinde kış gözleri 16 gün boyunca 23°C sıcaklıklara tabi tutulmuş ve bu durum çeşitlerde deaklimasyonu başlatmıştır. Ayrıca deaklimasyonun ilk olarak Concord çeşidinde ardından Riesling ve Cabernet Sauvignon çeşitlerinde meydana geldiği görülmüştür (Wolf and Cook 1992).

Nitekim, aklımasyon ve deaklimasyon oranları dinamik olarak değişir ve birbirine dönüşebilirler (Damborska 1978; Wolf and Cook 1992; Gu *et al.* 2002), fakat göz patlaması yaklaştıkça soğuğa toleransta meydana gelen kayıp birbirine dönüşebilirliği durdurur (Fennell 2004; Kalberer *et al.* 2006). Zira kış sıcaklıkların mevsim normalleri üzerinde seyretmesi durumunda artan hava sıcaklıkları gözlerin deaklimasyona girmesine neden olabilir. Ancak kış gözleri kısa süreli sıcaklıkların ardından yeniden

düşük sıcaklıklara maruz kalırlar ise tekrardan aklimasyona girebilirler; fakat bir kez göz patlaması başlamışsa aklimasyona girme olayı gerçekleşemez (Stergios and Howell 1977; Schnabel and Wample 1987; Fuller and Telli 1999). Bu nedenle genetik olarak erkenden uyanmaya meyilli olan genotipler ilkbahar donlarına karşı hassastırlar (Anderson *et al.* 1980; Lipe *et al.* 1992; Fuller and Telli 1999).

Kanopi içerisinde ışık yoğunluğunun dağılımı çubuk ve gözlerde pişkinleşme ve karbonhidrat rezerv seviyelerini etkilemektedir. Aklimasyonun ilk aşamasında kanopinin dışında güneş ışığına daha fazla maruz kalarak pişkinleşmiş çubuklar, kanopinin içinde ışığı yeterince alamamış ve güneş ışığı alamadığı için de gölgede kalarak yeterince pişkinleşmemiş sürgünlere oranla düşük sıcaklıklara karşı daha toleranslı olmuşlardır (Wolpert and Howell 1986a). Taç içerisindeki yüksek ışık seviyesinden dolayı daha fazla fotosentez yapan omcalarda karbonhidrat depo miktarı arttığı için çubuk ve gözlerde düşük sıcaklık tolerans seviyesi yükselmiştir (Stergios and Howell 1977; Hamman *et al.* 1996; Jones *et al.* 1999).

Bütün bunlara ilave olarak, kuraklık, tuzluluk, ışık, yüksek ve düşük sıcaklık gibi abiyotik stres unsurlarının, oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengeyi bozarak bitkilerde oksidatif strese neden oldukları ve böylece düşük sıcaklık toleransının azaldığı da bilinmektedir (Farooq *et al.* 2008). Özellikle düşük sıcaklık stresi bitki hücrelerinin farklı bölümlerindeki reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretilmesine neden olmaktadır (Pinheiro *et al.* 2004). ROS oluşumu ya moleküler oksijenin (O_2) bir, iki veya üç elektron kullanarak sırasıyla süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) veya hidroksil radikaline (OH^{\cdot}) indirgenmesiyle ya da aşırı eksitasyon enerjisinin singlet oksijenini (1O_2) oluşturmak üzere O_2 'ye transferi ile başlamaktadır (Jaleel *et al.* 2009). ROS türlerinin yüksek konsantrasyonlarda birikimi; bitki hücrelerindeki DNA, protein, lipidler, klorofil ve hücre zarı gibi değerli biyomoleküllere zarar verebilir (Blokina *et al.* 2003).

2.2.2. Düşük sıcaklığa toleransta etkili olan biyotik faktörler

Çevresel abiyotik unsurlar yanında külleme, mildiyö, leafroll (yaprak kıvrıcıklığı) ve Kırmızı Leke Virüsü gibi biyotik faktörler de don toleransı üzerinde etkili unsurlardır. Zira bu viral ve mantari hastalıklar vejetasyon dönemi içerisinde uygun gelişme eşikleri (nem ve sıcaklık) ve şartlarına ulaştığında ortaya çıkarak asma yapraklarında fotosentez aktiviteyi ve organlarda ise gelişmeyi olumsuz yönde etkilemektedirler. Böylece asma organlarında yetersiz karbon rezervleri oluşmakta ve bu durum ise düşük kış sıcaklıklarına karşı toleransı azaltmaktadır (Willwerth *et al.* 2014). Görüldüğü gibi bitkiler gerek içsel gerekse dışsal biyotik faktörlerle düşük sıcaklık toleranslarını düzenleyebilirler.

Pek çok bitki türü gibi asmalar da düşük sıcaklık toleransını artırmak için birçok savunma sistemi geliştirirler. Düşük sıcaklıklara karşı tolerans kazanılmasında, antioksidan savunma sistemlerinin önemli role sahip olduğu pekçok çalışma ile ortaya koyulmuştur (Foyer *et al.* 1994; Zabalza *et al.* 2008; Zhang *et al.* 2012). Bitki hücrelerinde reaktif oksijen türlerini (ROS) uzaklaştırıcı sistemler, oksidatif stresin etkileri azaltmada ve dolayısıyla düşük sıcaklıklara tolerans kazanmada önemli rol oynarlar (Foyer *et al.* 1994; Ali *et al.* 2008; Zabalza *et al.* 2008; Gill and Tuteja 2010). Nitekim, düşük sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde meydana gelen reaktif oksijen türleri ($O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2) antioksidan maddeler tarafından uzaklaştırılmadığı zaman, hücre membran yapısı ve fonksiyonunda bozulmalara yol açarak membran lipitleri (yağ asitlerinin peroksidasyonu) ve proteinlerin (denaturasyon) (Fridovich 1991; Mitler 2002) zarar görmesine neden olabilirler (Min *et al.* 2014).

ROS uzaklaştırıcı sistemler enzimatik antioksidanlar [peroksidaz (POX), süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon peroksidaz (GPX)] ve enzimatik olmayan antioksidanlar [askorbik asit (AsA), glutatyon (GSH), α -tokoferol (vitamin E), karotenoidler ve flavonoidler] olarak ikiye ayrılır (Gill and Tuteja 2010).

Kloroplast ve mitokondride H_2O_2 'i uzaklaştıran askorbat peroksidaz (APX), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon redüktaz (GR) enzimatik antioksidanlardır. Katalaz (CAT) ve peroksidaz (POX) ise H_2O_2 'yi ortadan kaldırmada, serbest radikalleri ve yükseltgenmiş ara ürünleri etkisizleştirmede ya da uzaklaştırmada görev alırlar (Karpinski and Muhlenbock 2007; Sang *et al.* 2007). Glutatyon redüktaz ve glutatyon dehidrogenaz, askorbat peroksidaz ile birlikte askorbat-glutatyon döngüsünde görev alırlar. Her iki enzim de indirgenmiş glutatyon (GSH) ve askorbat havuzunun devamlılığını sağlayacak reaksiyonları katalizleyip bitkilerdeki antioksidan sistemlerin doğru fonksiyon gösterebilmeleri için anahtar rol oynarlar (Davenport *et al.* 2003).

Düşük sıcaklıklara karşı adaptasyon sürecinde; bu enzimatik antioksidan sistemlere ilave olarak lipid peroksidasyon, toplam karbonhidrat ve toplam suda çözünebilir protein miktarındaki değişimlerin de etkili olduğu düşünölmektedir (Wang *et al.* 2000; Zhang *et al.* 2012; Grant 2012; Grant and Dami 2015).

Düşük sıcaklığın en temel etkilerinden biri de hücrenin osmotik potansiyelini değiştiren ve akabinde buzun olduğu apoplastik boşluk ile hücre içindeki çözelti arasındaki su potansiyeli farkını azaltan ve böylelikle hücrenin su kaybını engelleyen osmolitlerin birikimidir (Tester and Davenport 2003). Bu maddeler, bitki metabolizmasına zarar vermeksizin yüksek konsantrasyonlarda birikerek hem osmotik potansiyeli düşürmek suretiyle bitkinin su alımını sağlamakta hem de subselular bileşenlerin (proteinler ve zarlar gibi) yapısal bütönlüklerinin korunmasına ve serbest radikallerin uzaklaştırılmasına yardım etmektedirler (Williamson *et al.* 2002; Turan 2012). Düşük sıcaklık stresi sırasında çeşitli bitkilerde olduğu gibi asmalarda da prolin, çözüner şeker, protein, nişasta, glisin, betain gibi osmolitlerin arttığını gösteren birçok araştırma bulunmaktadır (Nayyar *et al.* 2005; Park *et al.* 2006; Ruelland *et al.* 2009; Kaur *et al.* 2011; Kaya 2011; Zhang *et al.* 2012).

Düşük sıcaklıklara karşı tolerans mekanizmasında, bitki öz suyunda çözünebilir karbonhidrat, aminoasit ve membran lipid bileşimindeki değişimler ile protein, enzim aktivitesi ve antioksidant sistemlerde meydana gelen biyokimyasal olaylar önemli rol

oyunmaktadır. Tüm bitkilerde olduğu gibi asmalarda da düşük sıcaklığa tolerans mekanizmasının açıklanmasında bu maddelerin nasıl rol oynadığının anlaşılması oldukça önemlidir. Düşük sıcaklıklara tolerans mekanizmasında önemli paya sahip olan bu maddelerin bir kısmı aşağıda mevcut literatürlerden yararlanılarak açıklanmaya çalışılmıştır.

2.2.2.a. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz biyolojik oksidasyon ürünleri sonucu üretilen toksik olarak indirgenmiş oksijen türlerine karşı savunmada önemli rol oynayan bir enzimdir (Jaleel *et al.* 2009). Hücre içinde bulunan SOD'lar, ROS'lara (reaktif oksijen türleri) karşı savunmanın ilk basamağını oluşturmaktadırlar (Alscher *et al.* 2002). Biyotik ve abiyotik stresler sonucu oluşan oksidatif stress, bitki bünyesinde bulunan SOD'ların hücre içinde ifadelerinin artmasına neden olmakta ve stres altındaki bitkilerin hayatta kalmalarında önemli görevler üstlenmektedirler (Gill and Tuteja 2010).

2.2.2.b. Askorbat peroksidaz (APX)

Askorbat peroksidaz birçok bitki ve organizmada bulunan, ROS (reaktif oksijen türleri) uzaklaştırmada ve ROS'lara karşı gerçekleştirilen savunmada önemli görevleri üstlenen enzimdir. Askorbat peroksidaz; askorbat-glutatyon döngüsünün ilk enzimi olup mitokondri, kloroplast, sitozol, apoplast ve peroksizomlarda bulunarak H_2O_2 'yi suya indirgeyen antioksidan olmasından dolayı (Bowler *et al.* 1992; Jimenez *et al.* 1997; Noctor and Foyer 1998; Vranova 2002) hidrojen peroksitin, kloroplast ve diğer hücresel yapılarda oluşabilecek oksidatif zararların önlenmesi, APX enziminin yardımı ile gerçekleştirilebilmektedir (Foyer *et al.* 1994).

2.2.2.c. Peroksidaz (POX)

Peroksidaz enzimi H_2O_2 'yi kullanarak fenoller ve hidrokinonlar gibi birçok aromatik bileşenlerin dehidrojenasyonunu katalizleyen, (Bergmeyer and Grabl 1983) SOD ve

CAT ile birlikte ROS'ların temizlenmesinde kritik rol alan antioksidan enzimdir (Banci 1997; Kim *et al.* 2000). Çoklu moleküler tipine ve geniş bir hücre altı dağılımına sahip olan POX enzimi bitkilerde hücre çeperinde, vakuollerde, membrana bağlı ribozomlarda ve bitki dokularının ekstrasellular alanlarında geniş oranda bulunmaktadır. Peroksidazların pek çok fizyolojik olayla ilişkisi olduğu ve metabolizmada aktif bir rol oynadığı belirlenmiştir (Durmuş 2003). Stres altındaki bitkilerde peroksidaz aktivitesinin arttığı bilinmektedir (Asada 1992) POX, elverişsiz çevresel faktörler altında üretilen zararlı oksijen radikallerinin seviyesini düzenler ve bitki hücrelerinin önemli koruyucu enzimlerinden birisidir (Bakardjieva and Christov 1996).

2.2.2.d. Polifenol oksidaz (PPO)

PPO, bitki dokularında yaygın olarak görülen oksidoredüktaz enzim grubuna dahil olan bir enzim grubu içinde yer almaktadır. Bitkisel dokularda öncelikle latent formlar halinde sentezlenmekte ve zamanla çeşitli etkenlerle, örneğin dokuda doğal olarak bulunan proteazlar veya etilen gibi birtakım solunum metabolitlerince aktif hale getirilmektedirler (Yemenicioğlu *et al.* 1997). Bitkilerdeki PPO'nun görevi henüz tam olarak bilinmese de bağışıklık reaksiyonlarında, bitki bileşenlerinin biyosentezinde yer aldığı ve fotosentez yapan dokularda serbest radikal süpürücü olarak davrandığı (Heimdal *et al.* 1994), hasar görmüş yaprak yüzeylerinde çürümeye, ayrıca böceklere ve bitki patojenlerine karşı savunmada görevli olduğu ileri sürülmektedir (Aydemir 2004).

Düşük sıcaklık şartlarına maruz kalan bitkilerde antioksidatif sistemler reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu oksidatif stresi engellemede veya stresin hafifletilmesinde görev alırlar (Xu *et al.* 2008). ROS birikiminin artışı oksidatif stres hasarının gelişmesiyle ilişkilidir. Enzimatik antioksidanlar ROS'ları uzaklaştırmada önemli görevler üstlendiği ve bitkilerin düşük sıcaklıklara maruz kalması sonucu aktivitelerinin arttığı çalışmalarda ortaya koyulmuştur (Hodges *et al.* 1997; Parvanova *et al.* 2004; Öktem *et al.* 2008). Ancak düşük sıcaklıklara maruz kalan asma bitkisinin kış gözlerinde antioksidant maddelerin değişimleri ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. Nitekim Kaya (2011), Karaerik üzüm çeşidi üzerinde yaptığı çalışmasında koltuk

sürgünü bulunan gözlerde SOD, POX ve PPO miktarının koltuk sürgünü bulunmayan boğumlardaki gözlerinkinden daha düşük olduğunu tespit etmiştir. Diğer yandan farklı bitki gruplarının dinlenme aşamalarını kapsayan aklımasyon, dayanıklılık ve deaklımasyon evreleri içerisinde hücre içi antioksidan enzimlerin etki mekanizmaları hakkında çalışmalar da mevcuttur. Örneğin 11 farklı zeytin çeşidinde ağustos ayından şubat ayına kadar yaprak örnekleri alınarak antioksidan madde değişimleri incelenmiştir. Toplanan yaprak örnekleri -5, -10, -15 ve -20°C sıcaklıklara 10 saat maruz bırakılmış ve aklımasyon aşamasında SOD, POD, APX, CAT ve toplam protein içeriğinin arttığı görülmüştür. Çalışma sonuçlarına göre soğuğa aklımasyon ve deaklımasyon aşamalarında bitkinin LT₅₀ değeri ile POD, CAT ve PPO maddeleri arasında güçlü bir ilişki olduğunu ve düşük sıcaklıkların meydana geldiği bölgelerde çeşit seçiminde bu maddelerdeki değişimlerin seçim kriteri olarak kullanılabilceği kanaatine varılmıştır (Xi, *et al.* 2013). Benzer bir şekilde ladin ve alaçam bitkilerinde soğuğa aklımasyon evresi içerisinde SOD aktivitesinin arttığı görülmüştür (Tandy *et al.* 1989; Tao and Jin 1992). Ancak düşük sıcaklıklara maruz kalan bitkilerde SOD aktivitesinin toleransı artırdığına dair bir ilişki kurulamamıştır (McKersie *et al.* 1999; Hashempour *et al.* 2014). APX düşük sıcaklığın neden olduğu oksidatif streslere karşı H₂O₂'yi ayrıştıran, askorbat-glutasyon döngüsünün anahtar enzimi olan (Sudhakar *et al.* 2001) ve kavak ağaçlarının yapraklarını güçlendirerek düşük sıcaklıklara karşı toleransını artıran enzim olarak belirlenmiştir (Lin *et al.* 2005; Luo *et al.* 2007). Diğer yandan zeytin genotiplerinde düşük sıcaklıklara karşı tolerans ile APX arasında herhangi bir ilişkinin olmadığı rapor edilmiştir (Cansev *et al.* 2009). H₂O₂ ile tepkimeye girerek H₂O ve O₂'yi oluşturan ve stres sonucu meydana gelen POX enzimi (Sudhakar *et al.* 2001), *Prunus tomentosa* bitki türünde aklımasyon döneminde yüksek oranda bulunması ile LT₅₀ değerlerinde azalmaya sebep olarak bitkinin düşük sıcaklıklara toleransını artırmıştır (Lin *et al.* 2005). POX enzimi ile aynı işlevi gören CAT enzimi *P. suaveolens* türünün aklımasyon aşamasında soğuğa tolerans ile LT₅₀ değerleri arasında güçlü bir ilişkinin olduğu görülmüştür (Luo *et al.* 2007). Benzer bir şekilde zeytin yapraklarında bulunan CAT ile enzimi düşük sıcaklıklara tolerans arasında doğrudan bağlantı bulunmuştur (Cansev *et al.* 2009; Hashempour *et al.* 2014). PPO enzimi düşük sıcaklıkların uyartımları ile ortaya çıkarak bitkilerde donma sonucu oluşabilecek ciddi

oksidatif streslere karşı önemli role sahip olan ve farklı zeytin çeşitlerinde dona karşı mukavemeti ve toleransı artıran antioksidan enzim olarak ifade edilmiştir (Ortega-Garcı'a and Perago'n 2009).

2.2.2.e. Toplam karbonhidrat

Organik bileşiklerden olan karbonhidratlar düşük sıcaklık altında stoplazmanın osmotik potansiyelini artırarak donma sıcaklığını düşürürler (Levitt 1980, Sakai and Larcher 1987). Koruyucu maddeler olarak işlev görebilen karbonhidratlar ve bu karbonhidratların miktarları soğuğa tolerans ile doğrudan ilişkilidir (Wang 1987; Gusta *et al.* 2003; Zhang *et al.* 2012). Yapılan çalışmalar karbonhidratların otsu ve odunsu bitkilerde aklımasyon ile beraber sonbahar ve kış aylarında artış gösterdiğini, ilkbaharda deaklımasyon süreci ile azalmaya başladığını göstermiştir (Levitt 1980; Sakai and Larcher 1987; Grant 2012). Karbonhidratlar hücre vakuollerinde birikerek hücrenin su tutma kabiliyetini artırarak donmanın neden olduğu dehidrasyon derecesini düşürürler (Sakai and Larcher 1987). Ayrıca düşük sıcaklıklarda karbonhidratların protoplazmada metabolize olması, diğer koruyucu maddelerin oluşumuna ve enerjinin açığa çıkmasına neden olmaktadır. Bu nedenle karbonhidratlar hücre zarının korunmasında önemli bir koruyucu olarak görev yaparlar (Sakai and Larcher 1987).

Bitkiler karbonhidratların içerisinde yer alan bünyelerindeki şekerleri, glukoz, rafinoz, fruktoz, sükroz ve staçiyoz olarak biriktirirler. Şekerler arasında olan oligosakaritlerin rafinoz ailesi, (RFO) aklımasyon döneminde düşük sıcaklığa toleransta özel bir yere sahip olduğu için donma esnasında proteinlerin kararlılığını ve hücre mebranlarını korumaktadır (Grant 2012). Genel olarak rafinoz ailesinin (RFO) bitki bünyesindeki oranı, düşük sıcaklıklara bir tepki olarak ilkbaharda artış gösterdiği, en soğuk dönem olan kış ortasında maksimum seviyeye ulaştığı ve sonbahara doğru azalmaya başladığı tespit edilmiştir (Stushnoff *et al.* 1993). Stushnoff *et al.* (1993) raporunda odunsu türlerin birkaçında bitki bünyesinde bulunan rafinoz ve staçiyoz konsantasyonunun düşük sıcaklıklara tolerans ile güçlü bir ilişki içerisinde olduğunu bildirmişlerdir. Ancak bazı araştırmacılar hem otsu hem de odunsu bitkilerde düşük sıcaklığa toleransın

artmasında rafinoz ailesinin (RFO) çözünebilir toplam şekerlerden daha etkili olduğunu belirlemişler (Bachmann *et al.* 1994; Hamman *et al.* 1996; Castonguay and Nadeau 1998; Stushnoff *et al.* 1998; Taji *et al.* 2002).

Rafinoz asma dokularında küçük bir karbonhidrattır (Wample and Bary 1992; Barka and Audran 1996; Hamman *et al.* 1996; Jones *et al.* 1999; Badulescu and Ernst 2006). Ancak yine de *Vitis* türleri için düşük sıcaklığa aklimasyon ve dona toleransta önemlidir. Hamman *et al.* (1996) Riesling ve Chardonnay üzüm (*Vitis vinifera* L.) çeşitlerinde yaptıkları bir çalışmada, glukoz, fruktoz, rafinoz ve staçiyozun dona dayanıklılıkla ilişkili olduğunu, bu şekerlerin soğuğa alışmanın başladığı ağustos ayından itibaren tomurcuklarda artmaya başladığını ve maksimum dayanıklılığın gerçekleştiği aralık ve ocak aylarında en yüksek seviyeye ulaştığını tespit etmişlerdir.

Glukoz, fruktoz, ve sukroz seviyeleri Cabernet Sauvignon (*V. vinifera*) üzüm çeşidinde dona dayanımının artması ile ilişkilendirilmiştir, ancak kış ortasında dona dayanımda küçük değişimler ve karbonhidratlarda büyük değişimler meydana geldiği için doğrudan bir ilişki olmadığı görülmüştür (Wample and Bary 1992). Yapılan çalışmalarda rafinoz-sakkarozun hibrit çeşit olan Valiant'ın don toleransı üzerine etki ettiği belirlenmiştir (Stushnoff *et al.* 1993). Çözünebilir şekerlerin don toleransı üzerine etkisinin araştırılması sonucunda fruktoz, sukroz ve rafinozun don toleransı üzerine direk etkisinin olduğunu, glukozun ise dolaylı etkisinin olduğu belirtilmiştir. Diğer yandan 2010-2011 kış döneminde 5 ayrı zamanda Karaerik üzüm çeşidine ait, koltuk sürgünü bulunan ve bulunmayan boğumlardan alınan kış gözlerinin düşük sıcaklığa toleransını belirlemek ve biyokimyasal parametrelerle soğuğa dayanıklılık arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacıyla yapılan bir çalışmada, koltuk sürgünü bulunan gözlerde çözünebilir şeker içeriğinin koltuk sürgünü bulunmayan kış gözlerine oranla daha düşük seviyede olduğu tespit edilmiştir (Kaya 2011).

2.2.2.f. Proteinler

Düşük sıcaklık stresi altında yüksek molekül ağırlıklı maddelerin yıkımı ile ya da sentez

miktarının artmasından dolayı çözünebilir protein içeriği de artar (Wang 1987). Çözünebilir protein gibi maddelerin etkisi ile serbest suyun kullanılma payında azalma meydana gelmekte ve hücreler arası bağlı suyun miktarı da artmaktadır. Ayrıca çözünebilir protein bir bitkinin soğuğa toleransını artırmanın yanında soğuğa dayanıklılık genlerini de düzenleyebilir (Puvısac 1982; Stepokus 1982; Dionne *et al.* 2001). Serbest aminoasit ve çözünebilir protein miktarları birbirleri ile güçlü ilişkilidir ve her ikisi de protoplastın su tutma kapasitesini artırmaya eğilimlidirler (Lyons 1973; Guy 1990; Jahlır 1998; Dionne *et al.* 2001).

Don toleransı üzerinde etkili rol oynayan proteinler aklimasyonun başlaması ile birikmeye başlamaktadırlar. Bu proteinlerin bir kısmı, düşük sıcaklıklara karşı koruyucu olan kriyoproteinler, kinaz regülâtörleri, dehidrin içeren maddeler ve intraselüler proteinlerdir (Jarillo 1994; Close 1997; Wisniewski 1999). Düşük sıcaklığa karşı koruyucu etkiye sahip olan intraselüler proteinler, proteinlerin işlevsel özelliklerini ve donma-erime süresince membranların yapısını korumaktır. Donma stresinden koruyucu bir protein olan β -1,3 glukanaazın, donma ve erimeye karşı tilakoidleri koruduğu yapılan bir çalışmada ortaya konulmuştur (Hincha *et al.* 1997).

Genellikle bitkilerin düşük sıcaklıklara toleransları esnasında bünyelerindeki eriyebilir proteinlerin miktarının oransal olarak arttığı, dona toleranslı tür ve çeşitlerde bu oranın yüksek, dayanıksız çeşitlerde ise düşük olduğu belirtilmektedir (Levit 1980; Eriş 1995). Proteinlerin yapı taşlarını oluşturan aminoasitlerin dona dayanımdaki etkileri üzerine yapılan çalışmalarda, toplam aminoasit içeriği ile don toleransı arasında belirgin bir ilişki saptanamamasına rağmen, spesifik bazı aminoasitlerin pişkinleşme ile paralel bir değişim gösterdiği belirlenmiştir (Eriş 1980). Özellikle, dona dayanıklılığın en yüksek olduğu dönemde arginin (Sagisaka 1974) ve prolin (Wither and King 1979; Eriş 1980) gibi aminoasitlerin miktarında önemli artışlar olduğu çeşitli araştırmalarda ortaya konulmuştur. Asma tomurcuklarındaki çözünebilir proteinler dormansi uyartımları ile kısa gün uzunluğunda artış göstermiştir ve 27 kD LEA gibi proteinler soğuğa aklime olmuş tomurcuklarda daha fazla bulunmuştur (Salzman *et al.* 1996; Wake and Fennel 2000).

2.2.2.g. Yağlar

Bitki bünyesinde bulunan hücre zarının lipid içeriği bitkinin soğuk hassasiyeti ya da toleransında büyük öneme sahiptir (Mahajan and Tuteja 2005). Hücre zarının karakteristik yapısı büyük oranda fosfolipid, serbest ve glikozlanmış sterol ve serebrosidlerden (monoglikosilseramidler) meydana gelmiştir. Hücre zarlarındaki lipid çeşitleri aynı olsa da farklı bitki türleri arasında sterol, fosfolipid ve serebrosid oranları değişiklik göstermektedir. Düşük sıcaklığa maruz kalma esnasında hücre zarının lipid içeriğinde bir dizi değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Bu değişimler hücre zarının fosfolipid oranında artış şeklinde görülmektedir. Soğuk stresinin artması ile beraber, düşük sıcaklığa toleransın en üst düzeyde olduğu dönemde, hücre zarındaki serebrosidlerin miktarı düşer, fakat azalma oranı bitki türlerine göre farklılık arzeder (Uemura and Steponkus 1989). Diğer yandan hücre zarı lipidlerinin faz ve akışkanlık özellikleri yağ asidi doymunluk derecesinden etkilediğinden türler arasında hücre zarının yağ asidi doymunluğu ile bitkinin düşük sıcaklıklara toleransı birbirleriyle ilişki içerisindedir. Zar lipidleri doymuş ve doymamış olmak üzere iki çeşit yağ asidinden meydana gelmektedir. Doymuş yağ asidi içeren yağlar, doymamış yağ asidi içeren yağlardan daha yüksek sıcaklıklarda katı hale geçerler. Bu nedenle, hücre zarındaki doymamış yağ asitlerinin bağıl oranı zar akışkanlığına olumsuz etki etmektedir. Hücre zarının yarı kristal fazdan jel fazına dönüştüğü sıcaklık “geçiş sıcaklığı” olarak ifade edilmektedir. Bu durum, soğuğa toleranslı olan bitkilerin hücre zarlarının sıvı mozaik fazdan katı jel fazına geçme eğilimini artırmakta ve böylece hücre zarında iyon sızıntılarına sebep olmaktadır (Mahajan and Tuteja 2005; Bakht *et al.* 2006; Uemura *et al.* 2006; Wang *et al.* 2006). Düşük sıcaklığa maruz kalan bitkide soğuk, hücre zarlarındaki fosfolipid moleküllerinin açıl kuyrukları tarafından algılanır ve fosfolipidlerin polar kutupları birbirine yaklaşır. Böylece, sıvı mozaik fazdaki bölgeler sıkı ve düşük kinetikli lipidleri ve sert paketlenmiş açıl zincirlerini içeren jel fazı formuna dönüşür. Hücre zarı tabakasında bir jel fazı formunun bulunması integral zar proteinlerinin doğru fonksiyon göstermesine engel olacağından hücre zarı etkili geçirgenlik özelliğini sürdürmez (Lyons 1973; Vigh *et al.* 1998; Bakht *et al.* 2006). Düşük sıcaklığın zar lipidlerinin faz özellikleri üzerine bu etkisi nedeniyle turgor kaybı

ve sitoplazmik sıvı sızıntısı oluşur ve hücre bütünlüğü bozulur (Vigh *et al.* 1998; Martz *et al.* 2006; Morsy *et al.* 2007). Eğer bitki kısa süreli olarak düşük sıcaklığa maruz kalırsa meydana gelen bu olumsuz etkiler onarılabilmektedir. Stresin uzun süreli olması durumunda ise enerji metabolizmasının eksikliği, foto sistemlerin bozulması, hücre otolizi ve ölüm gibi zararlar birbirini takip eder (Turan 2012). Tüm bu nedenlerden dolayı hücre zarının yapısında bulunan yağlar, düşük sıcaklığa toleransta önemli bir yere sahiptir. Yağlar sıcaklığın normal seviyelerde olduğu şartlarda sıvı halde bulunan ancak sıcaklık düşüşüne paralel olarak katı hale geçip hücre zarının hassasiyetini artırmaktadırlar (Sakai and Larcher 1987). Örneğin Ankara koşullarında yetiştirilen Aris Bacchus üzüm çeşidi üzerine yapılan çalışmada; dokulardaki yağ içeriği ile düşük sıcaklığa tolerans arasında doğrusal ilişki olduğu görülmüştür. Kış gözlerinde yağ içeriğinin ekim ayından itibaren artış gösterdiği, kış aylarında maksimum seviyede olduğu tespit edilmiştir. Yaz ayları içerisinde yapılan incelemede ise hücre içlerindeki yağ damlacık miktarının çok az seviyede olduğu görülmüştür (Eriş 1979).

Diğer yandan düşük sıcaklıklara maruz kalan bitkilerin don toleransı üzerinde önemli bir paya sahip olan lipid peroksidasyonu çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı sonucu meydana gelmekte (Leshem 1987) ve soğuğa hassasiyet bakımından bir indikatör olduğu düşünülmektedir (Jouve *et al.* 1993; Alonso *et al.* 1997; Queiroz *et al.* 1998). Doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı olan lipid peroksidasyon serbest radikallerin uyardığı hücre yıkımında önemli bir mekanizmaya sahiptir. Lipid peroksidasyonu membran bütünlüğünün yok olmasına ve hücrenin elektrolit geçirgenliğinin artmasına neden olmaktadır. Lipitlerdeki doymamış yağ asitleri, otooksidasyona eğilimli olup, otooksidasyon ise iki çift bağ arasındaki etilen grubunun çevresinden kolayca etkilenecek hidrojen atomunun birini kaybetmesi ile oluşan serbest radikaller sonucu ortaya çıkmaktadır (Wood and Smith 1991). Otooksidasyon sonucu veya daha farklı yollardan oluşan serbest radikallerin oranı, savunma mekanizmalarının kapasitesini azaltacak oranda olursa, organizmadaki biyomoleküller bu durumdan olumsuz olarak etkilenmektedirler. Bu etkiye en duyarlı olan moleküller lipidlerdir. Membranlardaki yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyon vererek peroksidasyon ürünlerini oluştururlar. Çünkü kendi kendini devam

ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Lipid peroksidasyonu ile oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür (Akkuş 1995). Nitekim Karaerik üzüm çeşidi üzerinde yürütülen çalışmadan elde edilen verilere göre; düşük sıcaklık stresinden kaynaklanan oksidatif stres koltuk sürgünü bulunduran ve koltuk sürgünü bulundurmayan boğumlardaki kış gözlerinin hücresel zarlarında lipid peroksidasyonuna neden olmuş ve soğuk stresine maruz kalan bu gözlerde lipid peroksidasyon ürünü olan MDA içeriğini artırmıştır (Kaya 2011). Farklı bir çalışmada ise Çin’de yetiştirilen 18 yabancı türe ait (*V. amurensis*, *V. yeshanensis*, *V. adstricta*, *V. pseudoreticulata*, *V. quinquangularis*, *V. piasezkii*, *V. hancockii*, *V. ficifolia*, *V. romanetii*, *V. davidii*, *V. piasezkii* var. *pagnucii*, *V. bashantica*, *V. liubaensis*, *V. qinlingensis*, *V. davidii* var. *cyanocarpa*, *V. wilsonae*, *V. baihensis*, ve *V. davidii* var. *ningiangensis*) 64 alt tip ve Amerikan asma türünden (*V. riparia*, *V. arizonica*, *V. rupestris*, *V. rotundifolia*, *V. californica* (yüksek derecede toleranslı), *V. labrusca*, *V. cinerea* (orta derecede toleranslı) ve en fazla toleranslı olan *V. riparia* Mcadams türlerinde düşük sıcaklıklara tolerans analizi yapılmış ve düşük sıcaklık zararı ile MDA arasında doğrusal bir ilişki bulunmuştur (Zhang *et al.*2012).

Karimi *et al.* (2015) 15 farklı üzüm (*Vitis vinifera* L.) çeşidinin aklımasyon ile deaklımasyon aşamalarını kapsayan 6 aylık süre içerisinde tetrazolium testi ile kış gözlerindeki düşük sıcaklık hasarını ve çözünebilir proteinler, toplam fenoller ve MDA değişimlerini incelemişlerdir. Araştırmacılar düşük sıcaklıklara tolerans bakımından dönem ve çeşitler arasında önemli farklılıklar gözlemlerken en dayanıklı dönemin ocak ayı olduğunu görmüşlerdir. Bununla birlikte çeşitlerde dinlenmenin başında ve sonunda ölçülen MDA seviyesinin ocak ayında ölçülen değerlerden daha düşük seviyede olduğu görülmüştür. Ayrıca MDA seviyesinin toleranslı olan Khalili ve Bidane Ghermez çeşitlerinde, hassas olan Perlette ve Yaquti çeşitlerine göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

2.3. Araştırmanın Yürütüldüğü Bölge Hakkında Genel Bilgi

2.3.1. Araştırma alanının coğrafi yapısı

Erzincan ili mikroklima özelliğıe sahip olup Türkiye'de dokuz tarım bölgesinden biri olan Kuzeydoğı Tarım Bölgesi içerisinde yer almaktadır. Erzincan Ovası, güneyinde Elazığ, Malatya, Tunceli ve Bingöl, doğusunda Erzurum, batısında Sivas, kuzeyinde ise Gümüşhane, Giresun ve Bayburt illeri ile komşudur. Deniz seviyesinden yaklaşık 1200 m yüksekliğe sahip olan Erzincan Ovası 39°- 44° doğu boylamları ve 39°- 29° batı enlemleri üzerinde yer almaktadır (Akkan 1964).

Üzümlü İlçesi, Doğı Anadolu Bölgesi'nin Yukarı Fırat Bölümünde, Erzincan İli sınırlarının kuzeydoğı tarafında ve 38° 30' kuzey enlemleri ile 39° 61' doğu boylamları üzerinde yer almaktadır (Köse 2002). İlçe arazisinin büyük bölümü (%80) Erzincan havzasının kuzeyinde uzanan Esence dağları (3549 m.) içerisinde, küçük bir bölümü (%20) de Erzincan ovasında (1200 m.) bulunmaktadır. Üzümlü, kapladığı alan itibariyle Otlukbeli'den (254 km²) sonra Erzincan'ın ikinci küçük ilçesi olup, yüzölçümü 410 km² dir (İştar 1968; Odabaş 1976; Gülerüz 1977). İlçe merkeze 22 km uzaklıkta olup rakımı 1400 m'dir (Kalkan vd 2011).

Erzincan Ovası'nın kuzeyinde bulunan ve Keşiş Dağı'nın yamacında konumlanan Üzümlü ilçesi doğu batı yönünde uzanır. Erzincan ilinde bağıcılığın yapıldığı en önemli yerleşim alanıdır. Mikroklima ikliminin sağlamış olduğı avantaja paralel olarak toprakları da verimli olan üzümlü ilçesi ve köylerinde bu nedenlerle bağıcılık hızlı şekilde ilerlemiştir.

2.3.2. Araştırmanın yapıldığı ilin ekolojik özellikleri

Erzincan Doğı Anadolu Bölgesi'nin Kuzey Batı bölümü yukarı Fırat havzasında 39° 02'- 40° 05' kuzey enlemleri ile 38° 16'- 40° 45' doğu boylamları arasında yer almaktadır. İlin yüzölçümü 11.903 km² olup il merkezinin denizden yüksekliği 1.185

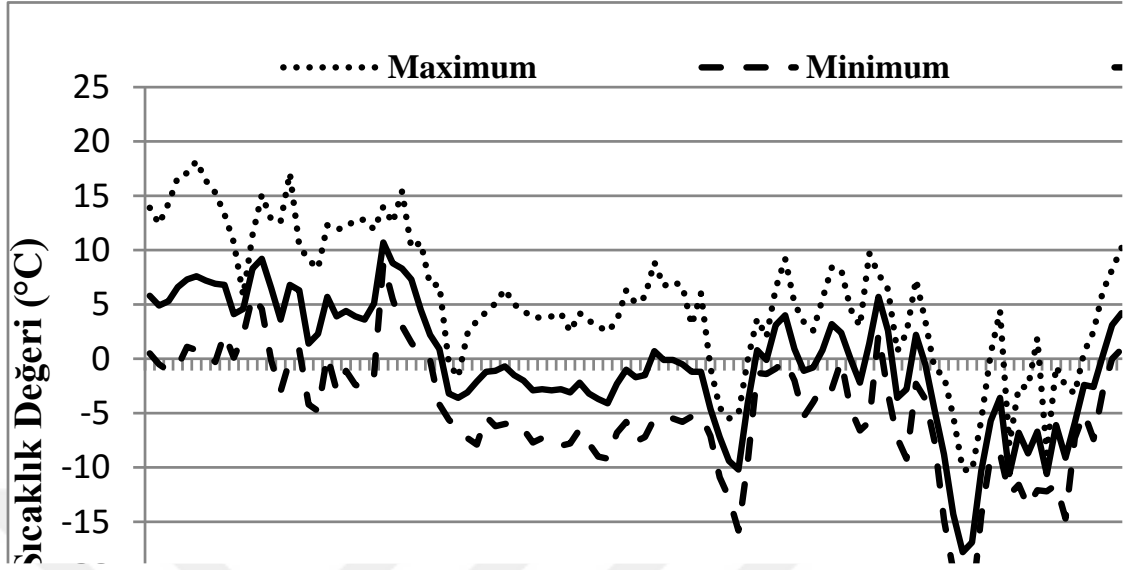
metredir, genellikle dağlar ve platolarla kaplıdır. Dağlar belli bir sıra içerisinde güneybatıdan Munzur, kuzeybatıdan Refahiye Dağları Erzincan il sınırlarına kadar uzanmaktadır. Karasu Irmağı ve Kop Dağı, doğudan Erzurum'dan gelip, batıya doğru uzanmakta, il alanını derinlemesine ve aralarında geniş düzlükler bırakacak şekilde bölmektedir. Erzincan ilinde ovalar, birbirine boğazlarla bağlanarak doğu batı ve kuzey güney doğrultusunda uzanır ve dağ sıraları arasındaki çöküntü alanlarında yer almaktadır. Erzincan Ovası'nın denizden ortalama yüksekliği 1.218 metre olup ovanın uzunluğu 40 km, toplam alanı ise 500 km² dir. Kalın bir alüvyon tabakasıyla kaplı olan ovada, sulu tarım yapılmaktadır (Akkan, 1964).

Erzincan ili hem karasal iklim özelliğine sahip olması hem de yer yer ovalarla ve dağlarla çevrili olmasından dolayı, iklim yapısı zaman zaman değişik karakterlerde kendini gösterebilmektedir. Ancak Doğu Anadolu Bölgesi'nde yer alan Elazığ ve Malatya dışındaki diğer tüm illerden daha ılıman bir iklim tipine de sahiptir. İlin uzun yıllar iklim verilerine göre (1950-2015); yıllık ortalama sıcaklık 10,95°C, ortalama en yüksek sıcaklık 17,3°C, ortalama en düşük sıcaklık 4,87°C ve aylık toplam yağış miktarı ortalaması ise 31,40 mm olarak belirlenmiştir (Anonim 2016). İl genelinde 2015-2016 yılları içerisinde en soğuk ay ocak ayı olup sıcaklıklar -5,7°C'ye kadar inerken, en sıcak ay ağustos olup maksimum sıcaklık 35,3°C'ye çıkmaktadır (Çizelge 2.1). Araştırmanın yapıldığı 2015-2016 yıllarının iklim verilerine bakıldığında iki yıla ait yıllık sıcaklık ortalaması 15,28°C'dir. Erzincan, çevre illere göre daha uzun ve sıcak yaz mevsimi yaşamaktadır. Kış mevsiminde doğudan gelen Sibiryaya kaynaklı hava kütlelerinin tesirinde kaldığı için oldukça sert kış günleri yaşanmaktadır. Yağış itibarıyla iki yıla ait verilere göre 35,27 mm'lik yağış ortalamasına sahip olan il, yıl içerisinde en fazla yağışı 138,2 mm ile mayıs ayında, en az yağışı ise 2015 yılının temmuz ve eylül aylarında ise yağış yoktur. 2015-2016 yıllarına ait iki yıllık ortalama iklim verilerine göre en yağışlı mevsim ilkbahar olup, yağışın %45,89'u bu mevsimde, %27,92'si kış, %15,79'u sonbahar, ve %10,38'i de yaz mevsiminde kaydedilmiştir. İki yıla ait nem ortalaması ise %44,18'dir (Anonim 2016). Araştırma kapsamında önemli olan meteorolojik göstergeler ilçede meteoroloji istasyonunun bulunmaması nedeniyle ilçe ile hemen hemen aynı iklime sahip olan Erzincan ili meteorolojik istasyonundan

alınarak değerlendirme yapılmıştır (Anonim 2016). Çalışmanın gerçekleştiği yıla ait önemli meteorolojik veriler Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Araştırmanın yürütüldüğü yıllarda Erzincan İli’ne ait bazı meteorolojik veriler (Anonim 2016).

Yıllar	Değerler	Aylar											
		Oca k	Şub at	Mar t	Nisa n	Ma yıs	Hazir an	Tem muz	Ağusto s	Eylü l	Eki m	Kası m	Aralı k
2015	Ort. Sıcaklık (°C)	-2,1	3,5	7,4	11,7	17,6	23,6	29,4	29,5	27,3	15,7	8,3	0,4
	Min. Sıcaklık (°C)	-5,7	-1,5	1,5	4,6	8,9	13,9	17,2	18,5	14,4	8,5	1,3	-5,6
	Max. Sıcaklık (°C)	1,2	7,3	11,8	15,6	22,9	29,1	34,1	34,8	32,4	19,6	13,6	5,3
	Yıllık Yağış (mm)	41,4	24,4	60,9	50,4	55	19,1	-	9,2	-	59,8	4,8	19,6
	Nisbi Nem (%)	73,4	62,7	53,6	45,8	46,4	36,9	24,5	27	21,1	57	49,1	58,8
2016	Ort. Sıcaklık (°C)	-1,4	2,9	9,1	16,5	17,5	23,3	27,7	30,2	21,2	17	4,0	-3,7
	Min. Sıcaklık (°C)	-5,3	-2,5	2,2	6,6	9,3	13,9	16,9	17,9	11,2	6,5	-7,1	-20,7
	Max. Sıcaklık (°C)	1,2	6,2	12,7	20,7	21,5	27,3	32,3	35,3	26,1	22,2	21,7	7,9
	Yıllık Yağış (mm)	58,6	50,8	46	33,6	138,2	38	13,6	7	37,6	8	40	70,2
	Nisbi Nem (%)	62,9	64,2	43,4	32,5	47,2	39,1	30,3	24	35,5	36,7	65,3	85,8



Şekil 2.1. Üzümlü ilçesine ait 30 Kasım 2015-10 Mart 2017 tarihleri arasındaki maksimum, minimum ve ortalama sıcaklık değerlerindeki değişim (Anonim 2017).

2.3.3. Erzincan'da meyvecilik ve bağcılığın durumu

Kuzeydoğu Anadolu Tarım Bölgesi içerisinde bulunan Erzincan meyvecilik bakımından uygun bir ekolojiye sahiptir. İl genelinde meyvecilik yerleşim alanları civarında, ovayı saran yüksek dağların eteklerindeki alüvyal materyalden oluşmuş arazilerde ve tarla ziraatı yapılan bölgelerde sınır ağacı olarak yapılmaktadır (Güleryüz 1977). Ayrıca bölgede kiraz ve elma türleri başta olmak üzere kapama bahçeler şeklinde meyve yetiştiriciliğinin önemli oranda arttığı da görülmektedir (Güleryüz 1995). İl genelinde yetiştiriciliği yapılan meyve-bağ alanları ve bu alanlardan elde edilen ürünlere ait verim değerleri Çizelge 2.2'de sunulmuştur.

Kuzeydoğu Anadolu Tarım Bölgesi içerisinde yer alan Erzincan ili sahip olduğu 1547gd'lik etkili sıcaklık toplamı ve 195 günlük (Çelik vd 1998) vejetasyon süresi ile bölge bağcılığı açısından önemli bir konuma sahiptir. Erzincan İli'nde üzüm yaklaşık 900 ha alanda yetiştirilmekte olup bu alan içerisinden yaklaşık 3.116 ton üzüm üretimi elde edilmektedir (TÜİK 2015). Her ne kadar bölgede farklı üzüm çeşitleri yetiştirilse de, bölgenin tek standart çeşidi olan, çevre illerde de aranılan ve yüksek fiyatlara alıcı bulan Karaerik üzüm çeşidi ilin tarıma dayalı ekonomisinde kritik değere sahiptir.

Çizelge 2.2. Türlerine göre Erzincan ili meyve üretim alanı ve miktarları (TÜİK 2015)

Ürün Adı	Alan (dekar)	Üretim (ton)	Ağaç Başına Ortalama Verim (kg)	Meyve Veren Yaşta Ağaç Sayısı (Adet)	Meyve Vermeyen Yaşta Ağaç Sayısı (Adet)	Toplam Ağaç Sayısı (Adet)
Üzüm	9.000	3.166	352*	-	-	-
Elma	12.141	12.990	47,8	286.905	125.412	412.317
Armut	2.213	2.870	26	109.045	33.847	142.892
Ayva	11	157	21	7.370	3.207	10.577
Şeftali	100	242	19	12.890	3.635	16.525
Erik	124	571	14	40.406	12.875	53.281
Kayısı	5.186	2.419	17	139.283	26.592	165.875
Zerdali	2.027	3.274	17	195.130	46.585	241.715
Kiraz	1.575	1.958	30	65.985	40.408	106.393
Vişne	326	813	27	30.405	10.321	40.726
Kızılcık	0	33	9	3.870	942	4.812
İğde	1	40	10	4.010	2.050	6.060
Çilek	404	245	606*	-	-	-
Dut	165	4.242	34	124.065	22.466	146.531
T. Hurması	0	5	14	350	152	502

*Dekara verim (kg/da)

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Aklımasyon dayanıklılık ve deaklımasyon dönemlerini kapsayacak şekilde 6 farklı örnekleme tarihinde alınan kış gözlerinin biyokimyasal içerikleri ile don toleransları arasındaki ilişkinin belirlenmeye çalışıldığı bu çalışma; Erzincan ilinde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan Karaerik (*Vitis vinifera* L.) üzüm çeşidi üzerinde yürütülmüştür. Cimin üzümü olarak da anılan Karaerik üzüm çeşidi, Eylül ayı sonu ile ekim ayı başlarında olgunlaşan, büyük salkım ve iri taneli, mor-siyah renkli, kalın kabuklu, sofralık bir çeşittir. Yörede eylül ayı sonu ile ekim ayı başlarında, %17 suda çözünür kuru madde değerinde hasad edilen çeşit, kendine has aroması ile tanınmakta, il geneli ve komşu illerde büyük rağbet görmekte ve yetiştiricilere önemli bir gelir sağlamaktadır (Köse 2002).

Bazal gözlerinin verimli olması nedeniyle kış budamasında genel olarak 3. veya 4. göz üzerinden budanmaktadır. Ancak, son yıllarda bağ alanlarında etkisini daha fazla hissettiren küresel iklim değişikliği, kış soğuklarının şiddetinin artmasına ve omcalar da önemli düzeyde düşük sıcaklık zararlarının ortaya çıkmasına nedeniyle bağlarda farklı kış budama uygulamaları denenmeye başlamıştır (Küpe, 2013).

Çalışma, Üzümlü ilçesinde (Erzincan) 1250 m rakımda ve 30° 40' 50.72" K - 39° 41' 17.42" D, 39° 40' 52.35" K - 39° 41' 13.72" D, 39° 40' 50.66" K - 30° 41' 13.44" D, 39° 40' 49.96" K - 39° 41' 17.53" D köşe koordinatlarında bulunan, tam verim çağındaki bir bağda yürütülmüştür. Sıra arası ve sıra üzeri dikim mesafeleri 2.5 m x 2.0 m olan bağda, omcalar yöreye özgü Baran sisteminde terbiye edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Denemenin yürütüldüğü bağın ve baran sisteminin genel görünümü (Orjinal)

3.2. Yöntem

3.2.1. Araştırma örneklerinin alınması ve muhafazası

Çalışmada Karaerik üzüm çeşidinin bir yaşlı dalları (çubuk) üzerinde bulunan ilk 4 kış gözü kullanılmıştır. Dayanımın kazanılması (aklimasyon), dayanıklılık ve dayanımın azalması (deaklimasyon) dönemleri olmak üzere toplam 3 dönemde ve her dönem için 2 farklı örnekleme zamanında örnekler alınmıştır. Üzümlü (Erzincan) ekolojisinde Karaerik üzüm çeşidi üzerinde daha önce yürütülen çalışmalar (Kaya, 2011) temel alınarak çubuklar aklimasyon dönemi için 30 Kasım 2015 ve 20 Aralık 2015 tarihlerinde, dayanıklılık dönemi için 10 Ocak 2016 ve 30 Ocak 2016 tarihlerinde, deaklimasyon dönemi için 20 Şubat 2016 ve 10 Mart 2016 tarihlerinde alınmıştır.

Her bir örnekleme tarihi için üzerinde 6-7 göz bulunan 150 adet çubuk alınmıştır. Gözlerde oluşabilecek nem kaybını engellemek için alınan çubuklar polietilen torbalara yerleştirilerek laboratuvara getirilmiştir (Kaya 2011). Laboratuvara getirilen çelikler biri biyokimyasal analizler için diğeri DTA testleri için kullanılmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. Lipit peroksidasyon düzeyi, toplam karbonhidrat seviyesi, toplam suda çözünebilir protein içeriği, süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, katalaz, glutatyon

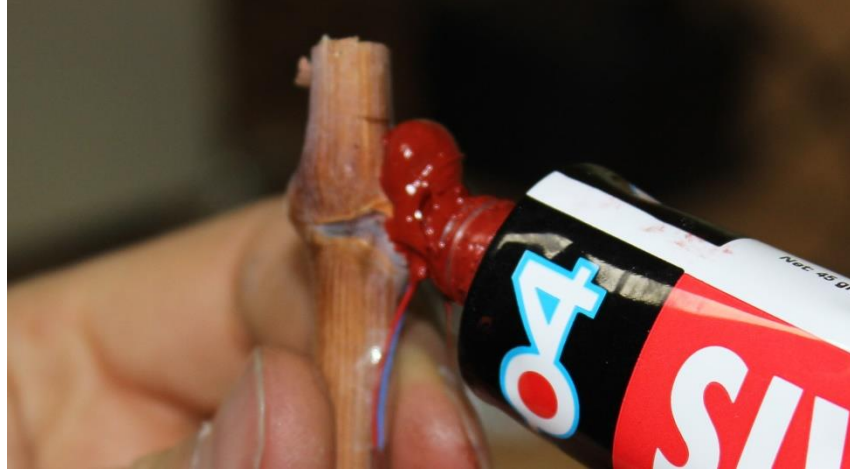
redüktaz, peroksidaz, polifenoloksidaz ve askorbot peroksidaz aktivitelerinin belirlenmesi için (biyokimyasal analizler için) ayrılan çubukların ilk 4 boğumundan alınan kış gözleri analizler yapıncaya kadar -86°C 'de muhafaza edilmiştir (Kaya 2011). DTA testleri için ayrılan çubuklardan aynı gün alınan bir gözlü çeliklerde don testleri gerçekleştirilmiştir (Quamme 1983).

3.2.2. Kış gözlerinde DTA testleri

DTA testleri kış gözü primer tomurcuklarında gerçekleştirilmiştir. Bu amaç için, DTA test grubu çubuklarının ilk 4 boğumundan 5-7cm uzunluğunda tek gözlü çelikler, 4 tekerrür ve her tekerrürde 4 çelik olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan çeliklerde bulunan kış gözlerinin primer tomurcuklarına 36 gauge (0,13 mm) kalınlığındaki "T" tipi bakır konstant termokapıl yerleştirilmiş ve test sürecinde primer tomurcuklarda meydana gelecek ekzoterm sıcaklığındaki kayıpları önleyerek, yüksek (HTE) ve düşük (LTE) sıcaklık ekzoterm değerlerinin doğruluğunu ve güvenilirliğini artırmak için göz ve termokapıl yüzeyi termal özelliği olmayan silikonla kaplanmış ve alüminyum folyo ile sarılmıştır (Şekil 3.2, Şekil 3.3 ve Şekil 3.4) (Quamme 1983).



Şekil 3.2. Kış gözlerinin primer tomurcuklarına termokapıl yerleştirilmesi (Orjinal)



Şekil 3.3. Kış gözleri ve termokaplı yüzeyinin silikonla kaplanması (Orjinal)

Hazırlanan test örnekleri sıcaklık kontrollü test kabine (Tenney Junior Test Chamber Model TUJR with Patlow 1462) yerleştirilerek DTA testleri yapılmıştır. Test çemberine yerleştirilen örnekler saatte 4°C'lik sıcaklık düşüş hızında test edilmişlerdir. Testler +4°C'den başlamış ve -40°C'de sonlandırılmıştır (Ashworth and Rowse 1982; Andrews *et al.* 1983; Montano *et al.* 1987).



Şekil 3.4. Karaerik üzüm çeşidi kış gözlerinin alüminyum folyo ile sarılması (Orjinal)

DTA test aşamasında primer tomurculardan elde edilen ekzoterm sıcaklık değerleri datalogger (Alborm model) ile 3sn aralıklarla bilgisayar ortamına kaydedilmiştir. Verilerin işlenmesi ile hem yüksek (HTE) hem de düşük sıcaklık exotermelerinin (LTE)

görüldüğü sıcaklık değerleri belirlenmiştir. Böylece hücre arası donmanın göstergesi olarak; yüksek sıcaklık ekzotermelerinin (HTE) görüldüğü ortalama sıcaklık değeri (mHTE) ve hücre içi donma dolayısıyla primer tomurcuklardaki ölüm noktasının göstergesi olan düşük sıcaklık ekzotermelerinin (LTE) görüldüğü ortalama sıcaklık değeri (mLTE) hesaplanmıştır (Li 2014).

3.2.3. Antioksidan enzim ve biyokimyasal parametrelerdeki değişimlerinin belirlenmesi

Bir kısım araştırmacı tarafından düşük sıcaklıklara dayanıklı bitkilerde, soğuk stresine karşı dayanımı artıran özel mekanizmaların bulunduğu ileri sürülmektedir (Griffith 1997; Hoshino 1999; Ewart 1999; Yu and Griffith 2001; Atıcı and Nalbantoğlu 2003; Taşgın *et al.* 2006; Mutlu 2009; Esim 2011). Diğer taraftan düşük sıcaklıklara karşı dayanımın kazanılması sırasında, bitki doku ve organlarında hücresel düzeyde artan antioksidan savunma aktivitesinin, don toleransının artmasında önemli bir role sahip olduğu birçok çalışma ile belirtilmiştir (Yang *et al.* 2001; Posmyk *et al.* 2005; Morsy *et al.* 2007; Esim 2011; Kaya 2011). Bu amaçla, çalışmamızda diğer pekçok bitki türünde olduğu gibi asmalarda da soğuğa karşı toleransın sağlanmasında muhtemel rolü olabilecek çözünür protein, lipit peroksidasyonu (MDA), toplam karbonhidrat, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit anyon miktarı (O_2), yanında, peroksidaz (POX), polifenol oksidaz (PPO) askorbat peroksidaz (APX) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzim aktivitelerinin, aklimasyon, dayanıklılık ve deaklimasyon dönemlerindeki değişimleri belirlenerek asmalarda söz konusu parametrelerin kış gözü primer tomurcuğunun don toleransı üzerindeki etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi için; kış gözlerinde 1 yaşlı sürgünler üzerinde yer alan ilk 4 gözden 0,25 gr doku örneği alınarak, örnekler sıvı azot ile havan içerisinde tamamen toz haline getirilmiş ve üzerine 5 ml 0,1M'lık fosfat tamponu (KH_2PO_4 , pH:7.8) eklenerek homojenize edilmiştir. Homojenat ependorf tüplerine aktarılmış ve 15 dakika boyunca $+4^{\circ}C$ 'de ve 15.000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Bu işlemin ardından homojenatın süpernatant kısmı alınarak süperoksit dismutaz (SOD),

polifenoloksidaz (PPO), askorbat peroksidaz (APX) ve peroksidaz (POX) aktivitelerinin belirlenmesinde enzim kaynağı (enzim ekstraktı) olarak kullanılmıştır.

3.2.3.a. Çözünür protein miktarının tayini

Aklımasyon, dayanıklılık ve deaklımasyon dönemlerinin her biri için iki farklı zamanda çubukların ilk 4 gözünden alınan örneklerde çözünebilir protein miktarı Smith *et al.* (1985) metoduna göre belirlenmiştir. Küçük parçalara ayrılmış kış gözlerinden 0,25 gr örnek alınarak 5 ml 0,1 M fosfat tamponunda (pH:6,75) havan içerisinde ezilerek homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat ependorf tüplerine aktarılmış ve +4°C’de 15.000 rpm’de 15 dk santrifüjlendikten sonra, meydana gelen süpernatanttan 5 µl alınmış ve üzerine BCA (bicononic asid) reaktifinden 200 µl ilave edilmiş, mikroyellere yerleştirilmiş ve pleytler içeriğiyle beraber kısa bir müddet çalkalandıktan sonra 60°C’de 15 dk bekletilmiştir. Örneklerin absorbansı 562 nm’de multiscanda okunmuştur. Örneklerin çözünebilir protein içeriğinin hesaplanmasında kullanılacak olan standart grafiğın hazırlanmasında stok BSA (bovine serum albumin) çözeltisi kullanılmıştır. Standart grafiğın hazırlanmasında 1 ml’inde 1 mg protein içeren standart sığır albumin (BSA) karışımından 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12 µg protein içeren hacimler, tüplere alınıp, saf su ile bütün tüplerin hacimleri 12 µl’ye tamamlanmıştır. Sonrasında kuyucukların her birine 200 µl BCA reaktifi ilave edilip karıştırılmıştır. Yapılan spektrofotometrik ölçümler sonucunda, 562 nm’deki absorbans değerlerine karşılık gelen protein değerlerinden yararlanarak standart grafik oluşturulmuştur (Smith *et al.* 1985; Chan and Wasserman 1993). Elde edilen standart grafik eğrisinden kurve faktörü hesaplanmış ve aşağıdaki formülden yararlanılarak protein miktarları mg/g doku cinsinden belirlenmiştir.

$$\text{Protein miktarı (mg/gr)} = \frac{A_{562} \times \text{KF}}{\text{SF} \times \text{Örnek Miktarı (gr)}}$$

Seyreltme Faktörü (SF) = 0.001

Kürve Faktörü (KF) = 0,01875 (Standart grafikten yararlanılmıştır)

3.2.3.b. Toplam karbonhidrat içeriğinin belirlenmesi

Kış gözlerinin karbonhidrat içeriği Dische Z. (1962)'e göre belirlenmiştir. Çubukların ilk 4 boğumundan alınarak küçük parçalara ayrılmış gözlerden 0,25 gr örnek alınmış ve örnekler sıvı azot yardımı ile havanda toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen örnekler 5ml soğuk HCl (2,5 N) içerisinde homojenize edilmiştir. Homojenatlar 3 saat sıcak su banyosunda bekletilmiş ardından soğuk su banyosunda soğutulmuştur. Homojenatların üzerlerine, köpürme duruncaya kadar katı Na₂CO₃ ilave edilmiştir. Köpürme durunca homojenat hacimleri saf su ile 50 ml'ye tamamlanmış ve 15.000 rpm'de 15 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüjlenen homojenatlardan 1 ml süpernatant alınarak üzerine 4 ml antron çözeltisi ilave edilmiş ve tekrar soğuk suya konularak soğutulmuş ve 630 nm'deki absorpsiyon değişimleri spektrofotometrede ölçülmüştür. Aşağıdaki formül kullanılarak gözlerin içerdiği toplam karbonhidrat miktarı mg/gr doku olarak tespit edilmiştir. Toplam karbonhidrat miktarının belirlenmesinde kullanılacak standart grafik için: Glukoz 1 ml de 1 mg olacak şekilde hazırlanmıştır. Örnekler 30 ml saf suda 30 mg glukoz çözünmüştür. Glukoz stoğundan 10 ml alınıp ve 100 ml saf suya seyreltilmiştir. 80 ml (%95'lik) H₂SO₄ alınarak üzerine 160 mg anthron ilave edilip karıştırılmıştır. Working reagentten sırası ile 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 ve 1 ml alınıp total hacimleri 1ml olacak şekilde her biri safsu ile tamamlanmıştır. En son olarak da her bir tüp üzerine 4 ml anthrone reagent eklenmiş ve çok yavaş bir şekilde vortekslenmiştir. Tüpler 7-8 dk su banyosunda kaynama sıcaklığında bekletildikten sonra çıkarılıp soğuk su banyosunda soğutulmuştur. Son olarak tüplerde oluşan yeşil renkli çözeltiler açık renkten koyu renge doğru 630 nm de okunup standart grafik çizilmiştir.

$$\text{Toplam KH miktarı (mg/gr)} = \frac{A_{630} \times \text{KF}}{\text{SF} \times \text{Örnek Miktarı (gr)}}$$

Seyreltme Faktörü (SF) = 0,02

Kürve Faktörü (KF) = 0,2 (Standart grafikten yararlanılmıştır)

3.2.3.c. Lipid peroksidasyon düzeyinin tayini

Soğuğa maruz kalan bitkilerde lipid peroksidasyon aktivitesinin ve buna bağlı olarak malondialdehid (MDA) miktarının arttığını bilinmektedir. Bu nedenle lipid peroksidasyon düzeyinin göstergesi olarak MDA miktarı esas alınmaktadır. Malondialdehid miktarının belirlenmesi için asma gözlerinden 0.25 gr örnek alınmış ve örnekler sıvı azotta ezildikten sonra üzerine 5 ml %5'lik TCA (trikloroasetik asit) ilave edilerek havanda tamamen homojenize edilmiştir. Homojenat ependorf tüplerine aktarılarak 4°C, 10.000 xg'de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Homojenatın süpernatant kısmından 1 ml alınarak üzerine %0.5'lik TBA+%20'lik TCA içeren karışımdan 1 ml ilave edildikten sonra reaksiyon karışımı kaynar suda 30 dakika inkübe edilmiş ve tüplerin buz banyosuna alınmasıyla reaksiyon durdurulmuştur. Reaksiyonu durdurulan örnekler tekrar 4°C, 10.000 xg'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Alınan süpernatant kısmın 532 nm dalga boyundaki absorbans değeri ve 600 nm dalga boyundaki non-spesifik absorbans değerleri tespit edilmiştir.

$$\text{MDA (nmol/gr)} = \frac{A_{532} - A_{600}}{155} \times 1000 \times 2 \times 20$$

Förmülü kullanılarak MDA içeriği nmol/gr doku olarak belirlenmiştir (Heath and Packer 1968; Jaleel *et al.* 2008).

3.2.3.d. Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarının belirlenmesi

Kış gözlerinin hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarının belirlenmesinde He *et al.* (2005) in kullandığı metot esas alınmıştır. Göz dokularından alınan örnekler (0.25 gr) sıvı azot ile havanda tamamen parçalandıktan sonra 5 ml, -20°C aseton içerisinde homojenize edilmiş ve homojenat ependorf tüplerine aktarılmıştır. Homojenat 4°C ve 10.000 xg'de 10 dakika santrifüjlendikten sonra supernatant kısmından 1.5 ml alınmıştır. Alınan süpernatant üzerine %5'lik titanyum disülfattan (Ti(SO₄)₂) 0.15 ml ve %19'luk amonyum hidroksitten (NH₄OH) 0.3 ml ilave edilmiştir. Çökelek oluşumunun ardından

karışım, 4°C 10.000 *xg*'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant kısmı uzaklaştırıldıktan sonra elde edilen pelet 3 ml 2 M'lık H₂SO₄ (sülfürik asit) içinde çözülmüş ve 415 nm'de absorbansı belirlenerek kaydedilmiştir. Elde edilen ortalama absorbans değerlerinden,

$$\text{H}_2\text{O}_2 (\mu\text{g}/\text{gr}) = \frac{A_{415} \times \text{KF}}{\text{SF} \times \text{Örnek Miktarı (gr)}}$$

Seyreltme Faktörü (SF) = 0,3

Kürve Faktörü (KF) = 0,2 (Standart grafikten yararlanılmıştır)

formülü yardımıyla gr doku başına düşen H₂O₂ miktarı (μg) hesaplanmıştır (He *et al.* 2005).

Förmülde yer alan kurve faktörü (KF), hazırlanan standart grafik eğrisinden hesaplanmıştır. Bunun için; 3 mM'lık %35'lik H₂O₂ stok çözeltisinden ependorf tüplerine sırasıyla; 3.6, 7.2, 10.8, 14.4, 18, 21.6, 25.2, 28.8, 32.4 ve 36 ng ilave edilmiştir. Tüpün hacmi aseton ile 1.5 ml'ye tamamlanmış ve her bir tüpe 0.15 ml %5'lik Ti(SO₄)₂ ve 0.3 ml %19'luk NH₄OH ilave edilmiştir. Çökelek oluşumunun ardından karışım, 4°C ve 10.000 *xg*'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Tüpün süpernatant kısmı uzaklaştırıldıktan sonra elde edilen pelet, 3 ml H₂SO₄ (2 molar) içinde çözülmüş ve çözeltinin absorbansı 415 nm'de köre karşı okunmuştur. Absorbans değerlerine karşılık gelen ng H₂O₂ değerlerinden faydalanılarak standart grafik eğrisi elde edilmiştir.

3.2.3.e. Süperoksit anyonu (O₂^{•-}) miktarının belirlenmesi

Soğuğa aklimasyonda kritik öneme sahip süperoksit anyonu (O₂^{•-}) miktarının belirlenmesi için kış gözlemlerinden 0,25 gr numune alınmış ve havan içerisinde toz haline gelinceye kadar ezilen numunelerin üzerine 5 ml fosfat tamponu (65 mM K₂HPO₄, pH:

7.8) ilave edilerek homojenizasyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen homojenat ependorf tüplerine aktarılarak 4°C ve 5000 xg'de 10 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası tüpün üst kısmında oluşan süpernatanttan 1ml alınarak üzerine 10 mM'lık hydroxilaminden 0.1 ml ve fosfat tamponundan da 0.9 ml eklenerek karışım, 25°C'de 20 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucu karışımdan 1 ml alınıp üzerine 17 mM'lık aminobenzen sülfonik asitten 1 ml ve 17 mM'lık 1-naftilaminden 1 ml eklenerek 20 dakika süresince 25°C'de ikinci kez inkübe edilmiştir. Süre sonunda karışımın 530 nm dalga boyundaki absorbansı kaydedilmiştir (Yildiztugay *et al.* 2014). Aşağıdaki formül yardımı ile süperoksit anyonu miktarı µg/gr doku olarak belirlenmiştir.

$$O_2^- (\mu\text{g/gr}) = \frac{A_{530} \times \text{KF}}{\text{SF} \times \text{Örnek Miktarı (gr)}}$$

Seyreltme Faktörü (SF) = 0,2

Kürve Faktörü (KF) = 6,35 (Standart grafikten yararlanılmıştır)

Kürve faktörünün hesaplanmasında kullanılan standart grafik eğrisinin oluşturulması için, 50 µM'lık NaNO₂⁻ çözeltisinden 0, 2, 4, 6, 8 ve 10 ml alınarak ependorf tüplerinde son hacim saf su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır. Elde edilen karışımlardan 1 ml alınıp üzerlerine 1 ml 17 mM'lık aminobenzen sülfonik asit ve 1 ml 17 mM'lık 1-naftilamin eklenerek oda sıcaklığında 20 dk inkübe edilmiştir. Süre sonunda karışımın absorbansı 530 nm'de okunarak kaydedilmiştir (Liu *et al.* 2010). Absorbans değerlerine karşılık gelen µg O₂⁻ değerlerinden faydalanılarak standart grafik eğrisi elde edilmiş ve küre faktörü hesaplanmıştır.

3.2.3.f. Süperoksit dismutaz aktivitesinin belirlenmesi

Farklı dayanıklılık dönemlerinde alınan kış gözlerinin süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi, nitro blue tetrazolium'un (NBT) süperoksit radikalleri ve mavi renkli formazona fotokimyasal olarak indirgenmesini inhibe etme yeteneğinin belirlenmesine dayanmaktadır (Beauchamp and Fridovich 1971). SOD aktivitesi

ölçümü için hazırlanan reaksiyon karışımı 50 mM KH₂PO₄ (pH: 7.8), 13 mM metiyonin, 75 mM NBT, 0.1 mM EDTA dan oluşmaktadır. Hazırlanan 2 mM riboflavin ise reaksiyon karışımına ilave edilmemiştir. NBT ile riboflavin ışıktan etkilenebileceği için hazırlanan tüm karışımlar, alüminyum folyoya sarılmış cam beher içerisinde saklanmıştır. Aktivite ölçümü için 3 ml'lik spektrofotometre küvetine yukarıdaki riboflavin içermeyen reaksiyon karışımından 2.84 ml alınmış ve üzerine 100 µl enzim ekstraktı pipetlenmiştir. Tüp içerisine 2 mM'lık riboflavin çözeltisinden 60 µl pipetlenip karıştırıldıktan hemen sonra, oda sıcaklığında 300 µmol m⁻²s⁻¹'lik beyaz bir ışık kaynağı önüne yerleştirilmek suretiyle reaksiyon başlatılmıştır. Işık kaynağının karşısında 15 dk tutulmuş ve reaksiyon ışık kaynağının kapatılmasıyla durdurulmuştur. 15 dakika içerisinde NBT'nin renk açılma yoğunluğuna bağlı absorbans değişimi 560 nm dalga boyunda köre karşı tespit edilmiştir.

SOD aktivitesinin 1 ünitesi, 560 nm'de gözlenen NBT indirgenmesinin %50 azalmasına neden olan enzim miktarı olarak kabul edilmiş (Yordanova *et al.* 2004; Ning *et al.* 2015) ve aşağıdaki formül yardımı ile kış gözlerinin SOD aktivitesi EU/mg protein olarak tayin edilmiştir.

$$\text{SOD (EU/mgprotein)} = \frac{[A_{560} / (\text{Kör abs}/2)] \times 1000}{\text{Protein (mg/gr)} \times 0,25 \times 20}$$

3.2.3.g. Peroksidaz (POX) aktivitesinin belirlenmesi

Çevresel stres faktörleri altında üretilen zararlı oksijen radikallerin seviyesini düzenlemede rol oynayan ve bitki hücrelerinin en önemli koruyucu enzimlerinden birisi olan peroksidaz (POX) enziminin (Bakardjieva and Christov 1996) aktivite tayini guaikol ve H₂O₂'nin substrat olduğu reaksiyonun bir ürünü olan renkli bileşiğin meydana getirdiği absorbans artışının 470 nm absorbasında izlenmesi esasına dayanmaktadır. Aktivite ölçümü için spektrofotometre küveti içerisine 0.1 M'lık NaH₂PO₄ (pH: 5.5) ve 5 mM'lık guaikol içeren substrat karışımından 3 ml koyulmuş ve

üzerine 10 µl enzim ekstraktı ilave edilmiştir. Bileşiğin absorbansı 470 nm dalga 1Er dakika 5 dakika boyunca kaydedilmiş ve 1 dakikadaki absorbans artışı belirlenmiştir.

$$\text{POX (EU/mgprotein)} = \frac{(1\text{dk Abs artışı} / 0,01) \times 1000}{\text{Protein (mg/gr)} \times 0,25 \times 2}$$

25°C’de 1 dakikada absorbansı 0.01 seviyesinde arttıran enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak ifade edilmiş ve yukarıdaki formül kullanılarak POX aktivitesi mg protein başına düşen enzim ünitesi olarak saptanmıştır (Ye *et al.* 2003).

3.2.3.h. Polifenoloksidaz (PPO) aktivitesinin belirlenmesi

Polifenoloksidaz (PPO) aktivitesi Flurkey (1985)’e göre belirlenmiştir. Aktivite tayini, bir o-fenol olan katekolün, oksijen varlığında oldukça dayanıklı bir form olan kahverengi-sarı renkli kinona dönüşümünde gözlenen renk koyulaşmasına bağlı olarak meydana gelen absorbans değişiminin (420 nm dalga boyundaki) spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanmaktadır.

PPO aktivitesinin belirlenmesinde 3 ml’lik spektrofotometre küvetine; 0,2 M sodyum fosfat tamponunda hazırlanmış olan 25 mM’lık katekol içeren substrat çözeltisinden 2,90 ml koyulup üzerine 100 µl enzim ekstraktı eklenmiş ve absorbanstaki artış 1 dakika aralıklarla 5 dakika boyunca kaydedilmiştir.

$$\text{PPO (EU/mgprotein)} = \frac{(1\text{dk Abs artışı} / 0,001) \times 1000}{\text{Protein (mg/gr)} \times 0,25 \times 20}$$

formülü kullanılarak PPO aktivitesi mg protein başına düşen enzim ünitesi olarak saptanmıştır. 25°C’de 1 dakikada absorbansı 0.001 arttıran enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak kabul edilmiştir (Flurkey 1985).

3.2.3.i. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin belirlenmesi

Soğuk stresi ile arttığı bildirilen askorbat peroksidaz (APX) enziminin (Genisel 2012) aktivitesi Nakano ve Asada (1981) tarafından önerilen protokole uygun olarak tayin edilmiştir. APX aktivitesi ölçümü; H₂O₂ bağımlı askorbik asit oksidasyonundan kaynaklanan absorbans düşüşünün 290 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak belirlenmesi esasına dayanmaktadır.

APX aktivitesinin belirlenmesi için, 2.90 ml reaksiyon karışımı (50 mM NaH₂PO₄ + 0.5 mM Askorbik asit + 0.1 mM Na₂EDTA + 2 mM H₂O₂) içerisine 100 µl enzim ekstraktı ilave edilmesi ile reaksiyon başlatılmıştır. 290 nm'deki absorbansın düşüşü 1'er dakika aralıklarla 3 dakika boyunca kaydedilerek dakikadaki absorbans düşüşü belirlenmiş ve

$$\text{APX (EU/mgprotein)} = \frac{(\text{1dk Abs artışı} / 2,8) \times 1000}{\text{Protein (mg/gr)} \times 0,25 \times 2}$$

formülü ile hesaplanarak APX aktivitesi; EU/mg protein olarak tayin edilmiştir. Askorbik asitin ekstinksiyon katsayısı 2,8 olarak dikkate alınmıştır (Nakano ve Asada 1981).

3.2.4. Verilerin istatistik analizi

Karaerik üzüm çeşidi kış gözlerinin biyokimyasal içerikleri ve kış gözü primer tomurcuklarının soğuğa dayanımlarındaki mevsimsel değişim ve çeşidin kış gözü primer tomurcuklarının don toleransı ile biyokimyasal içeriği arasındaki ilişkinin belirlenmeye çalışıldığı bu çalışmada; elde edilen veriler SPSS paket programında tam şansa bağlı deneme deseninde test edilmiştir.

Çalışmada incelenen parametrelerin dönemsel değişimleri Duncan oklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır. Biyokimyasal parametrelerin don toleransı ile ilişkisinin belirlenmesi için, hem mHTE hem de mLTE değerleri ile biyokimyasal parametreler korealasyon analizine tabi tutulmuştur (Nason and Alessandro 2010).



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada; Karaerik üzüm çeşidi kış gözlerinin aklımasyon, dayanıklılık ve deaklımasyon süreçlerini kapsayan farklı dönemlerdeki don toleransları ve biyokimyasal içeriklerindeki değişimler incelenerek kış gözü primer tomurcuklarının don toleransları ile bu biyokimyasal parametreler arasındaki ilişkiler belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

4.1. Yüksek ve Düşük Sıcaklık Ekzotermlerinin Görüldüğü Sıcaklık Değerleri

Kış gözü primer tomurcuklarında hücre arası buz oluşum sıcaklığı, yüksek sıcaklık ekzotermlerinin meydana geldiği sıcaklıklara (HTE), hücre içi buz oluşum sıcaklığı ise düşük sıcaklık ekzotermlerinin meydana geldiği sıcaklıklara (LTE) göre belirlenmiştir.

Kış gözü don toleransları, primer tomurcukların %50 oranında öldüğü ortalama sıcaklıklar değerlerine ($mLTE_{50}$) göre tespit edilmiştir. Don toleransı üzerinde yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunda sadece, primer tomurcukların %50 oranında öldüğü sıcaklık değeri ($mLTE_{50}$) dikkate alınsa da, bu çalışmada hücre arası ve hücre içi buz oluşumunun hangi sıcaklık aralığında gerçekleştiğini de tespit edebilmek adına HTE_{max} , HTE_{min} , LTE_{max} ve LTE_{min} değerleri de belirlenmiştir.

Karaerik üzüm çeşidinin aklımasyon (30.11.2015–20.12.2015), dayanıklılık (10.01.2016–30.01.2016) ve deaklımasyon (20.02.2016–10.03.2016) periyodlarının her biri için iki farklı zamanda alınan kış gözlerinde DTA analizi ile belirlenen HTE_{max} , HTE_{min} , LTE_{max} ve LTE_{min} değerleri Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2’de, kış gözü primer tomurcuğunda hücre arası buz oluşumunun görüldüğü ortalama sıcaklıkların ($mHTE$) ve hücre içi buz oluşumunun dolayısıyla %50 ölümün görüldüğü sıcaklıkların ($mLTE_{50}$) mevsimsel değişimi ve bu değerlere ait istatistiki değerlendirmeler ise Şekil 4.1’de verilmiştir.

Genel olarak değerlendirildiğinde Karaerik üzüm çeşidi kış gözü primer tomurcuklarında hücre arası buz oluşumunun $-4,00^{\circ}\text{C}$ (6. dönem HTE_{\max}) ile $-9,80^{\circ}\text{C}$ 'ler (3. dönem HTE_{\min}) arasında meydana geldiği belirlenmiştir. Deaklimasyon periyodunda kış gözü primer tomurcuğunda hücre arası buz oluşumu diğer periyotlara göre daha yüksek sıcaklıklarda meydana gelirken, aklimasyon periyodunda hücre arası donmanın diğer periyotlara göre daha düşük sıcaklık değerlerinde gerçekleştiği görülmüştür (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Kış gözlerinde yüksek sıcaklık ekzotermilerinin (HTE) görüldüğü maksimum (HTE_{\max}) ve minimum (HTE_{\min}) sıcaklık değerlerinin ($^{\circ}\text{C}$) mevsimsel değişimi

PERİYOD	DÖNEMLER	TARİH	HTE_{\max}	HTE_{\min}
Aklimasyon	1. Dönem	30.11.2015	-5,50	-8,90
	2. Dönem	20.12.2015	-5,70	-8,20
Dayanıklılık	3. Dönem	10.01.2016	-5,70	-9,80
	4. Dönem	30.01.2016	-5,10	-8,20
Deaklimasyon	5. Dönem	20.02.2016	-4,40	-7,80
	6. Dönem	10.03.2016	-4,00	-7,80

Bu bağlamda primer tomurcukların hücre arası donmaya karşı en dayanıklı oldukları dönem olan 3. dönemde (dayanıklılık periyodu) hücre arası buz oluşumunun $-5,70^{\circ}\text{C}$ ile $-9,80^{\circ}\text{C}$ arasında meydana gelirken, en hassas oldukları dönem olan 6. dönemde ise (deaklimasyon periyodu) $-4,00^{\circ}\text{C}$ ile $-7,80^{\circ}\text{C}$ arasında meydana geldiği saptanmıştır (Çizelge 4.1).

Kış gözü primer tomurcuklarında belirlenen LTE_{\max} ve LTE_{\min} değerlerinde de genel olarak HTE_{\max} ve HTE_{\min} değerlerinin değişimine benzer bir dönemsel değişim görülmüştür (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2). 2015 sonbahar ve 2016 kış-ilkbahar periyodunu içine alan bu çalışmada, 6 farklı örnekleme tarihinde alınan kış gözlerinin düşük sıcaklık ekzoterm değerleri (LTE) incelendiğinde, ilk primer tomurcuk ölümlerinin başladığı sıcaklık değeri (LTE_{\max}) $-6,20^{\circ}\text{C}$ olarak aklimasyon periyodunun başlangıcı olan 1. dönemde tespit edilmiştir. Göz ölümlerinin meydana geldikleri en düşük sıcaklıklar ise dayanıklılık periyodu içerisinde 3. dönemde gözlenmiştir. Bu

dönemde ilk donan gözün donma sıcaklığı $-8,10^{\circ}\text{C}$ olarak belirlenirken, en son donan gözün donma sıcaklığı $-12,70^{\circ}\text{C}$ olarak tespit edilmiştir.

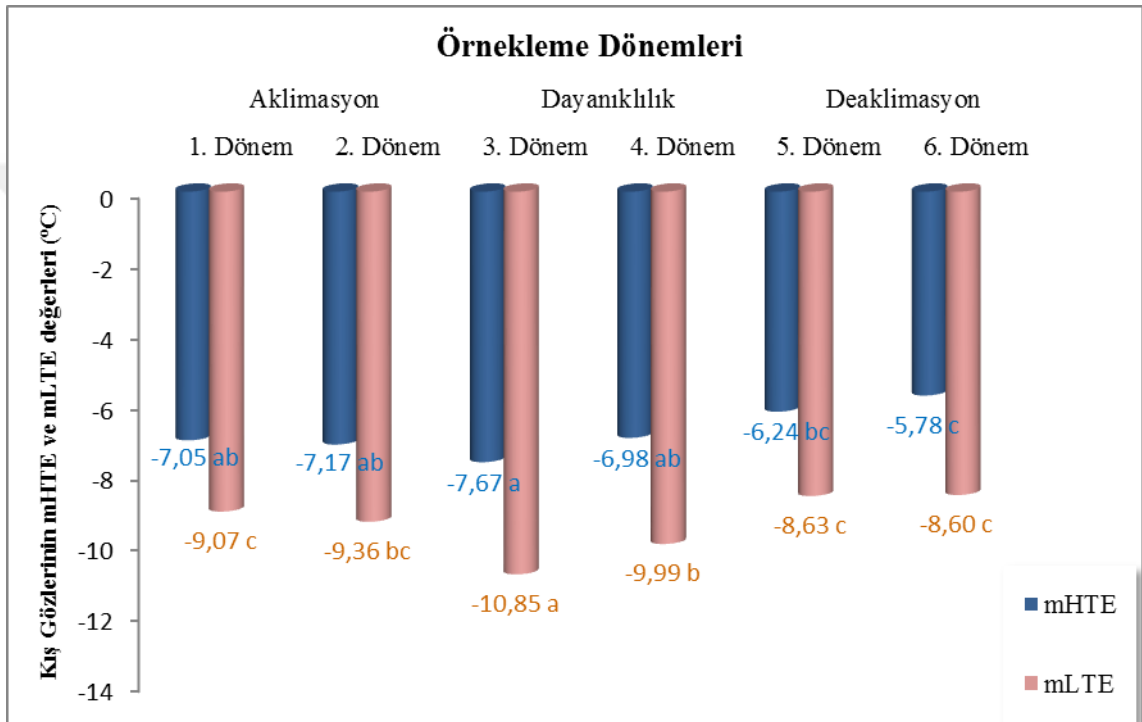
Deaklimasyon periyodunda (20.02.2016-10.03.2016) alınan gözlerde ise primer tomurcuk ölümleri LTE_{\max} $-6,70^{\circ}\text{C}$ 'de (5. dönem) başlamış ve LTE_{\min} $-10,90^{\circ}\text{C}$ 'ye (6. dönem) kadar devam etmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde kış gözü primer tomurcuklarının dayanabildikleri en düşük sıcaklık değerlerinin, başka bir ifade ile don toleranslarının, aklimasyon (1. ve 2. dönemler) ve deaklimasyon (5. ve 6. dönemler) periyodlarında, dayanıklılık periyoduna (3. ve 4. dönemler) göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Kış gözlerinde düşük sıcaklık ekzotermilerinin (LTE) görüldüğü maksimum (LTE_{\max}) ve minimum (LTE_{\min}) sıcaklık değerlerinin ($^{\circ}\text{C}$) mevsimsel değişimi.

PERİYOD	DÖNEMLER	TARİH	LTE_{\max}	LTE_{\min}
Aklimasyon	1. Dönem	30.11.2015	-6,20	-11,20
	2. Dönem	20.12.2015	-6,70	-10,80
Dayanıklılık	3. Dönem	10.01.2016	-8,10	-12,70
	4. Dönem	30.01.2016	-6,50	-11,60
Deaklimasyon	5. Dönem	20.02.2016	-6,70	-10,00
	6. Dönem	10.03.2016	-7,50	-10,90

Dona dayanıklılık terminolojisinde ifade edildiği şekli ile dayanımın kazanılması (aklimasyon), dayanıklılık ve dayanımın azalması (deaklimasyon) olmak üzere toplam 3 periyotta ve her periyod için 2 farklı dönemde alınan kış gözlerinin ortalama yüksek sıcaklık ekzoterm değerlerinin (mHTE) mevsimsel değişimi ile bu değerlere ait istatistiki değerlendirme Şekil 4.1'de verilmiştir. Genel olarak bakıldığında kış gözü primer tomurcuklarında hücreler arası buz oluşumu deaklimasyon dönemlerinde (5. ve 6. dönemler), aklimasyon (1. ve 2. dönemler) ve dayanıklılık dönemlerine (3. ve 4. dönemler) kıyasla daha yüksek sıcaklıklarda meydana gelmiştir. Hücre arası buz oluşum sıcaklığı bakımından dönemler arasındaki farklılıklar istatistiki olarak ($p \leq 0.01$) önemli

bulunmuştur. Bu bağlamda, hücre arası donmaya karşı primer tomurcukların en dirençli oldukları 3. dönemde hücre arası buz oluşumu -7.67°C 'de meydana gelirken, en hassas oldukları 6. dönemde -5.78°C 'de görülmüştür. Bunun yanında, hücre arası donmanın meydana geldiği sıcaklık değeri bakımından aklimasyon ve dayanıklılık periyotlarındaki dönemlerin benzer sonuçlara sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Kış gözü primer tomurcuklarının hücre arası ve hücre içi buz oluşumunun görüldüğü ortalama sıcaklık değerlerindeki mevsimsel değişim

*Örnekleme dönemleri içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $p \leq 0.01$ önem seviyesinde anlamsızdır.

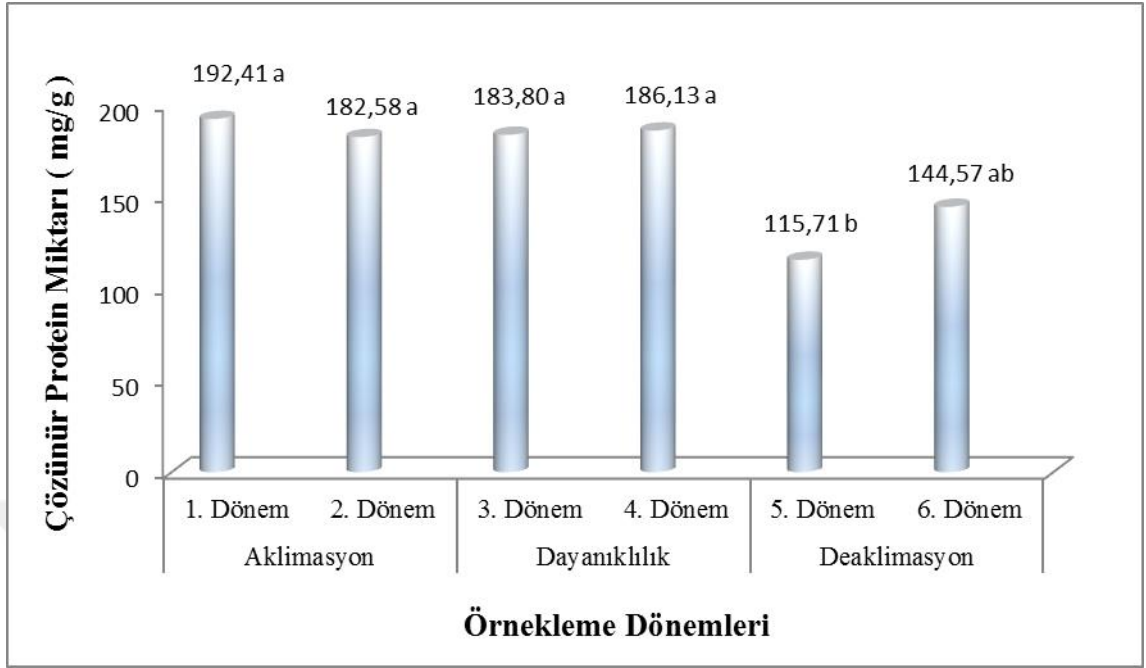
Pek çok türde olduğu gibi, asmada da don toleransının göstergesi olarak, kış gözlerin ortalama düşük sıcaklık ekzoterm sıcaklıkları (mLTE) dikkate alınmaktadır. Bu değer aynı zamanda kış gözlerinin %50'sinin öldüğü sıcaklık (LT_{50}) değerinin de göstergesi olarak değerlendirilir. Bu çalışmada da don toleransının temel göstergesi olarak değerlendirilen mLTE değeri 1. ve 2. dönemlerde (aklimasyon periyodu) sırasıyla -9.07°C ve -9.36°C iken, 3. ve 4. dönemleri kapsayan dayanıklılık periyodunda ise sırasıyla -10.85°C ve -9.99°C olarak saptanmıştır. Dayanıklılık periyodunu takip eden, 5.ve 6. dönemlerde (deaklimasyon periyodu) ise kış gözlerinin %50 ölüm sıcaklığının,

sırasıyla -8.63°C ve -8.60°C ile diğer dönemlere göre daha yüksek değerlerde olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1). Çalışmamızda gözlerin %50'sinin öldüğü sıcaklık değerinin en yüksek dolayısıyla, don toleransının en düşük düzeyde olduğu periyodu, deaklimasyon periyodu (5. ve 6. dönemler) olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte kış gözlerinin don toleransları bakımından aklimasyon periyodundaki dönemler (1. ve 2. dönemler) ile deaklimasyon periyodundaki dönemler (5. ve 6. dönemler) arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Üçüncü ve dördüncü dönemleri içine alan dayanıklılık periyodunda ise gözlerin don toleransının diğer dönemlere göre genel olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında, don toleransının 3. döneme kadar kademeli bir artış ve sonrasında da kademeli bir azalış gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.1). Genel olarak kış gözü primer tomurcuklarının don toleransının 1. dönemden itibaren kademeli olarak artmaya başladığı, 3. dönemde en yüksek seviyeye ulaştığı ve bu dönemden sonra tekrar kademeli olarak azalarak 6. dönemde en düşük seviyeye ulaştığı belirlenmiştir (Şekil 4.1).

4.2. Kış Gözlerinin Suda Çözünebilir Toplam Protein Miktarı

Karaerik üzüm çeşidi kış gözlerinin suda çözünebilir toplam protein miktarındaki mevsimsel değişim ve bu değerlere ait istatistiki değerlendirme sonuçları Şekil 4.2'de verilmiştir. Kış gözlerinin suda çözünebilir toplam protein içerikleri arasındaki dönemsel farklılıklar $p \leq 0.01$ seviyesinde önemli bulunmuştur.

Çalışmanın ilk 4 dönemini kapsayan aklimasyon ve dayanıklılık periyodunda 182.58mg/g (2. dönem) ile 192.41mg/g (1. dönem) aralığında olan suda çözünebilir toplam protein içeriğinin, deaklimasyon periyodunda hızlı bir düşüş ile 115.71mg/g ile 144.57mg/g düzeyine gerilediği belirlenmiştir. Deaklimasyon periyodu içerisinde 5. ve 6. dönemlerdeki suda çözünebilir toplam protein içerikleri arasındaki fark istatistiki olarak önemsiz bulunmuş olsa da 5. dönemde en düşük seviyesinde olan suda çözünebilir toplam protein içeriğinin 6. dönemde tekrar artmaya başladığı görülmüştür.



Şekil 4.2. Kış gözü suda çözünebilir toplam protein miktarındaki dönemsel değişim

*Örneklem dönemleri içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $p \leq 0.01$ önem seviyesinde anlamsızdır.

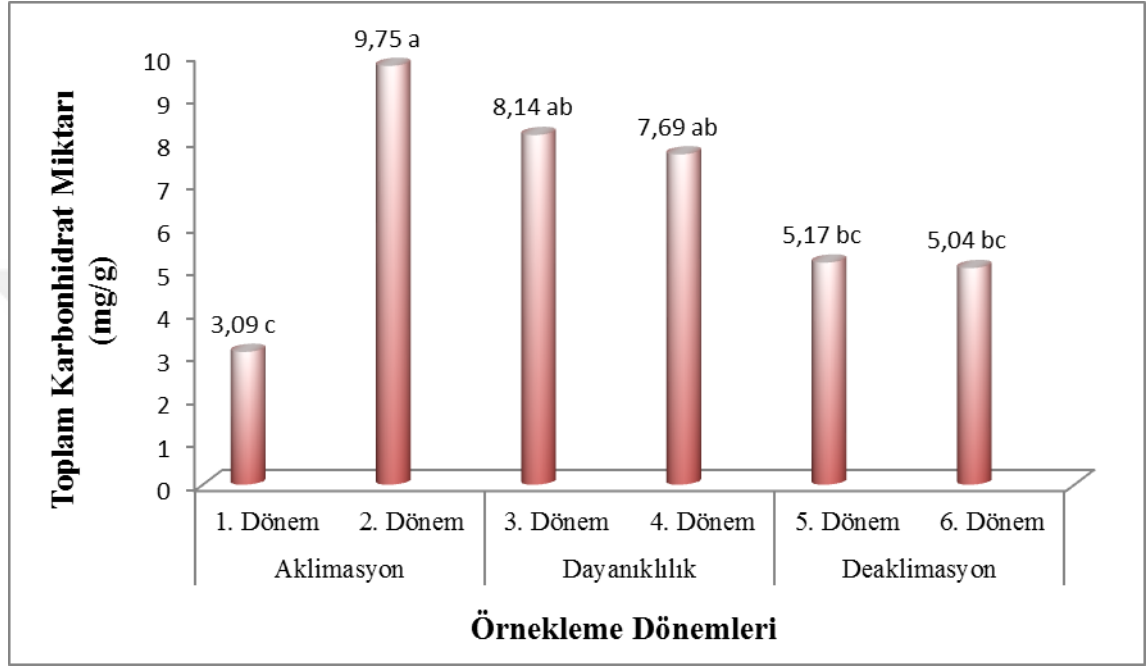
Aklımasyon ve dayanıklılık periyodlarındaki suda çözünebilir toplam protein içerikleri istatistiki değerlendirmede benzer bulunurken deaklımasyon periyodundaki suda çözünebilir toplam protein içeriğinin genel olarak bu iki periyottan farklı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2).

4.3. Kış Gözlerinin Toplam Karbonhidrat Miktarı

Karaerik üzüm çeşidinin aklımasyon, dayanıklılık ve deaklımasyon periyotlarının her biri için 2 farklı zamanda alınan kış gözlerinin içerdiği toplam karbonhidrat (KH) miktarının dönemsel değişimi ve dönemler arasındaki farklılığın istatistiki değerlendirmesi Şekil 4.3'te sunulmuştur.

Farklı dönemlerde alınan kış gözlerinin KH içerikleri arasındaki farklar istatistiki olarak ($p \leq 0.01$) önemli bulunmuştur. Aklımasyon periyodunun başlangıcı olan 1. dönemde en düşük seviyede (3.09mg/g) olan kış gözü toplam karbonhidrat içeriği 2. dönemde en üst

düzeğe (9.75mg/g) ulaşmıştır. Bu dönemden sonra toplam karbonhidrat içeriği dayanıklılık ve deaklimasyon periyodları süresince kademeli olarak azalmıştır (Şekil 4.3).



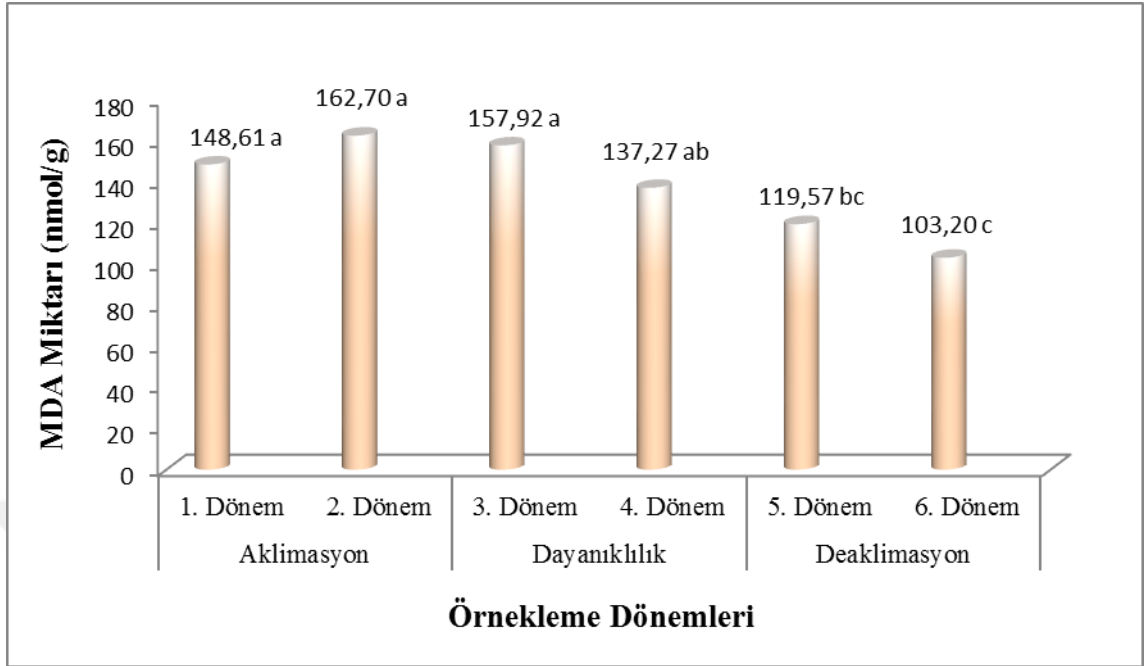
Şekil 4.3. Kış gözü toplam karbonhidrat miktarındaki dönemsel değişim

*Örnekleme dönemleri içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $p \leq 0.01$ önem seviyesinde anlamsızdır.

4.4. Kış Gözlerinin Lipid Peroksidasyon Düzeyi

Kış gözlerindeki lipit peroksidasyon düzeyinin göstergesi olan MDA miktarının döneme bağlı olarak istatistikî öneme sahip ($p \leq 0.01$) farklılık gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.4).

Araştırmanın ilk döneminde kış gözlerinde 148,61 nmol/g olan MDA içeriği 2. dönemde en üst düzeğe, 162,70 nmol/g değerine ulaşmıştır. Bu dönemden sonra MDA içeriği dayanıklılık ve deaklimasyon periyodları süresince kademeli olarak azalmıştır (Şekil 4.4).



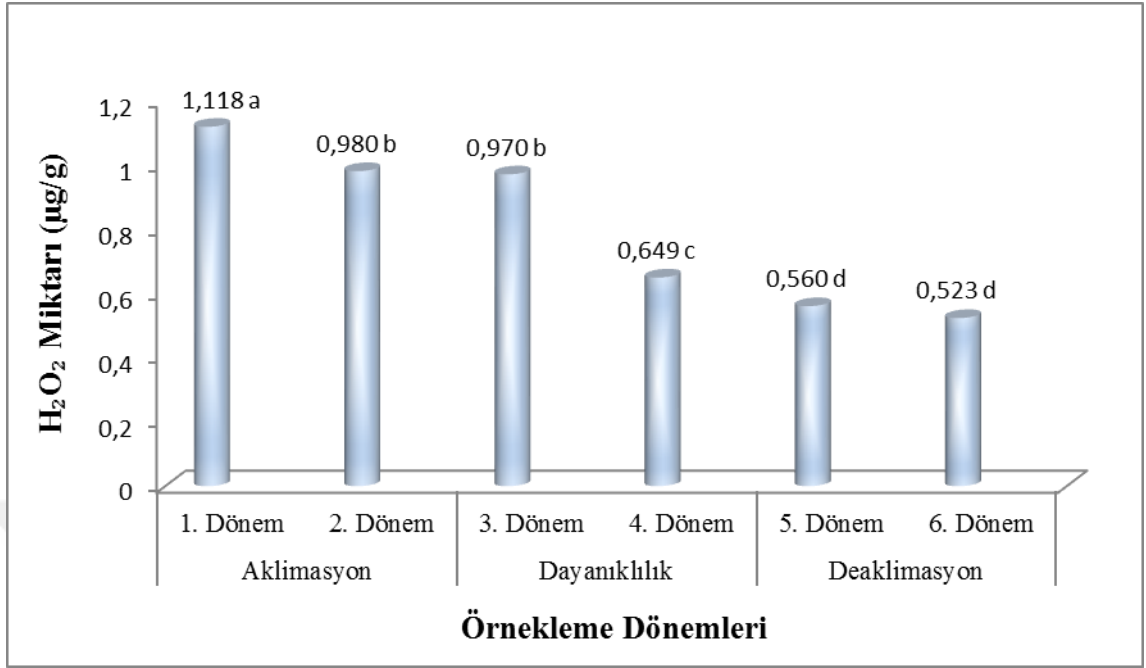
Şekil 4.4. Kış gözü MDA miktarındaki dönemsel değişim

*Örnekleme dönemleri içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $p \leq 0.01$ önem seviyesinde anlamsızdır.

4.5. Kış Gözü Hidrojen Peroksit (H_2O_2) Miktarı

Düşük sıcaklığın kış gözlerinde meydana getirdiği hasarın diğer bir göstergesi olan H_2O_2 miktarı bakımından incelenen dönemler arasında istatistiksel öneme sahip ($p \leq 0.01$) farklılıklar belirlenmiştir (Şekil 4.5).

Çalışmada farklı dönemlerde alınan kış gözleri içerisinde, en yüksek hidrojen peroksit ($1.118 \mu\text{g/g}$) içeriği 1. dönemde alınan kış gözlerinde belirlenmiştir. Bu dönemi takiben hidrojen peroksit içeriğinde sürekli bir azalış olduğu belirlenmiştir. Ancak, 2. ve 3. dönemler arasındaki azalış ile 4. ve 5. dönemler arasındaki azalış istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Birbirini takip eden dönemler arasında en önemli azalış $0,32 \mu\text{g/g}$ ile 3. ve 4. dönemler arasında meydana gelmiştir (Şekil 4.5).



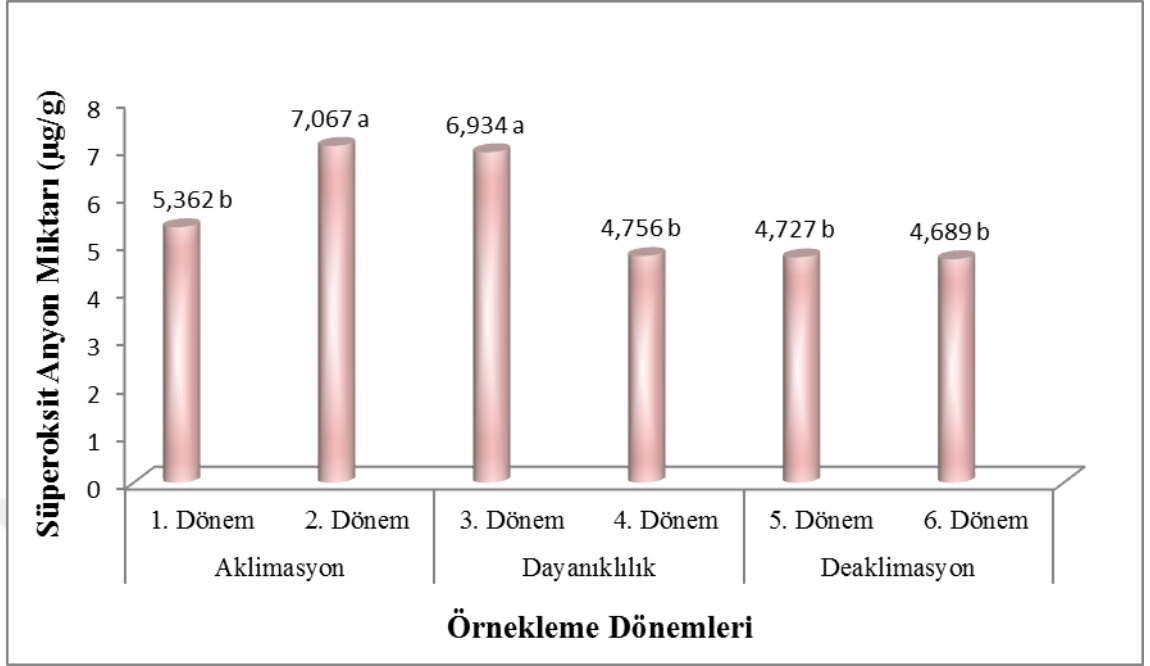
Şekil 4.5. Kış gözü hidrojen peroksit miktarındaki dönemsel değişim

*Örnekleme dönemleri içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $p \leq 0.01$ önem seviyesinde anlamsızdır.

4.6. Kış Gözü Süperoksit Anyon ($O_2^{\cdot-}$) Miktarı

Düşük sıcaklık stresi neticesinde kış gözlerinde oluşan süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$) miktarındaki dönemsel farklılıklar $p \leq 0.01$ seviyesinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Şekil 4.6).

Aralarında yapılan karşılaştırmada süperoksit anyonu miktarı bakımından dönemlerin 2 istatistiki grupta yer aldığı görülmüştür. Çalışmanın 2. ve 3. dönemlerinde alınan kış gözlerinin süperoksit anyonu miktarının diğer dönemlere göre önemli derecede ($p \leq 0.01$) daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 2. ve 3. dönemlerin ortalama süperoksit anyonu miktarı, diğer grubu oluşturan 1., 4., 5. ve 6. dönemlerin ortalama $O_2^{\cdot-}$ miktarından %30,24 daha yüksek bulunmuştur. Kış gözü $O_2^{\cdot-}$ miktarının en yüksek ($7,067 \mu\text{g/g}$) olduğu dönem 2. dönem iken, en düşük ($4,689 \mu\text{g/g}$) olduğu dönem 6. dönem olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.6).



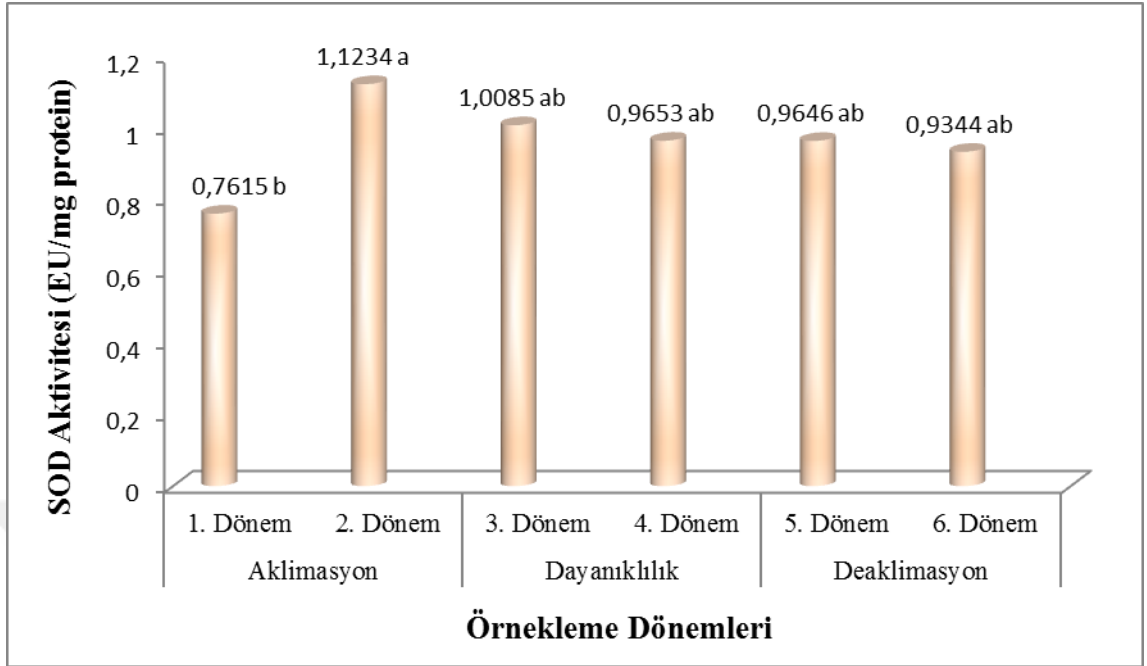
Şekil 4.6. Kış gözlü süperoksit anyonu miktarındaki dönemsel değişim

*Örnekleme dönemleri içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $p \leq 0.01$ önem seviyesinde anlamsızdır.

4.7. Kış Gözlerinde Süperoksit Dismutaz Aktivitesi

Karaerik üzüm çeşidi kış gözlerinin süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesindeki dönemsel değişim ve süperoksit dismutaz aktivitesi bakımından dönemler arasındaki farklılığın istatistiki ($p \leq 0.05$) değerlendirmesi Şekil 4.7’de verilmiştir.

Kış gözlerinin SOD aktivitesi yönünden dönemler arasındaki tek istatistiki farklılık (0,3619 EU/mg protein) 1. dönem (0,7615 EU/mg protein) ile 2. dönem (1,1234 EU/mg protein) arasında belirlenmiştir. Kış gözlerinin SOD aktivitesi yönünden diğer dönemler arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. 1. dönemde en düşük seviyede olan SOD 2. dönemde maksimuma ulaşmış ve bu dönemden sonra 6. döneme kadar istatistiki olarak ($p \leq 0.05$) stabil kalmıştır.

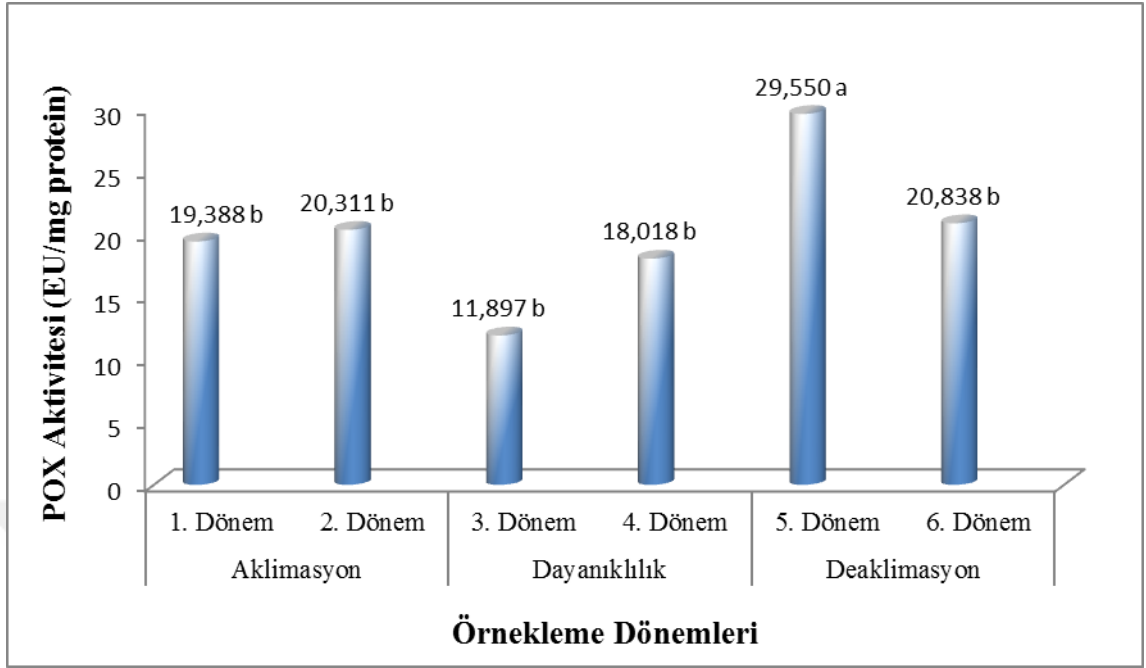


Şekil 4.7. Kış gözlerinde süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin dönemsel değişimi
*Örneklem dönemleri arasındaki farklılık istatistik olarak ($p \leq 0.05$) önemsiz bulunmuştur.

4.8. Kış Gözlerinde Peroksidaz Aktivitesi

Karaerik üzüm çeşidi kış gözlerinin peroksidaz aktivitelerindeki dönemsel değişim ve peroksidaz aktivitesi yönünden dönemler arasındaki farklılıkların istatistik olarak ($p \leq 0.01$) önemli olduğu Şekil 4.8’de görülmektedir.

Kış gözlerinin peroksidaz aktivitelerinin dönemsel olarak dalgalı bir değişim gösterdiği belirlenmiştir. Kış gözlerinin POX aktivitesi yönünden istatistik olarak sadece 5. dönem ile diğer dönemler arasındaki farklılık önemli bulunmuş olsa da; kış gözlerinde benzer peroksidaz aktivitesi görülen 1. ve 2. dönemden sonra aktivitede önemli bir azalma olmuş ve 3. dönemde aktivitenin minimum seviyede olduğu gözlenmiştir. Üçüncü dönemden sonra peroksidaz aktivitesi artarak 5. dönemde maksimuma ulaşmıştır. Bu dönemden sonra aktivitede tekrar bir azalma belirlenmiştir.



Şekil 4.8. Kış gözlerinde peroksidaz (POX) aktivitesinin dönemsel değişimi

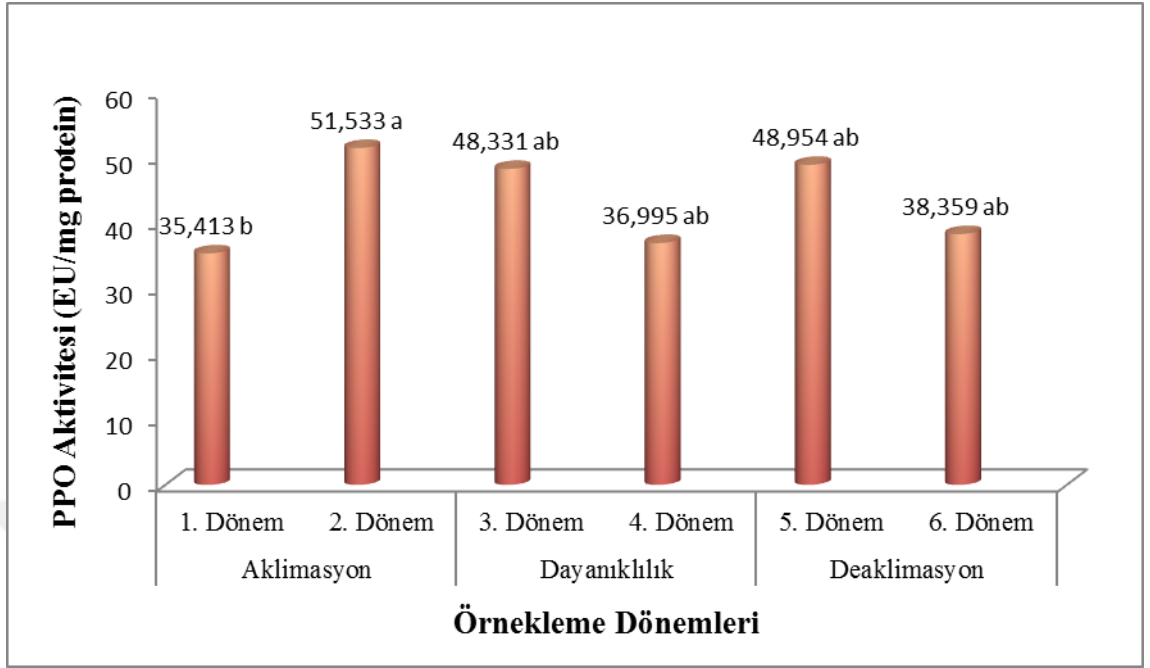
*Örneklem dönemleri içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $p \leq 0.01$ önem seviyesinde anlamsızdır.

Altıncı dönem ile 1., 2., 3. ve 4. dönemler arasındaki farklılık istatistiki olarak önemsiz bulunmuş olsa da; aklimasyon, dayanıklılık ve deaklimasyon periyodları karşılaştırıldığında genel olarak peroksidaz aktivitesinin dayanıklılık periyodunda düşük, deaklimasyon periyodunda ise yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.8).

4.9. Kış Gözlerinde Polifenol Oksidaz Aktivitesi

Çalışmada, farklı dönemlerde alınan kış gözlerinde, polifenol oksidaz aktivitesinin istatistiki olarak ($p \leq 0.01$) önemli farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.9).

Kış gözlerinin PPO aktivitesi yönünden dönemler arasındaki tek istatistiki farklılık 1. dönem ile 2. dönem arasında belirlenmiştir. Kış gözlerinin PPO aktivitesi yönünden diğer dönemler arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur (Şekil 4.9). Kış gözlerinde polifenol oksidaz (PPO) aktivitesinin de dönemsel olarak dalgalı bir değişim gösterdiği tespit edilmiştir.



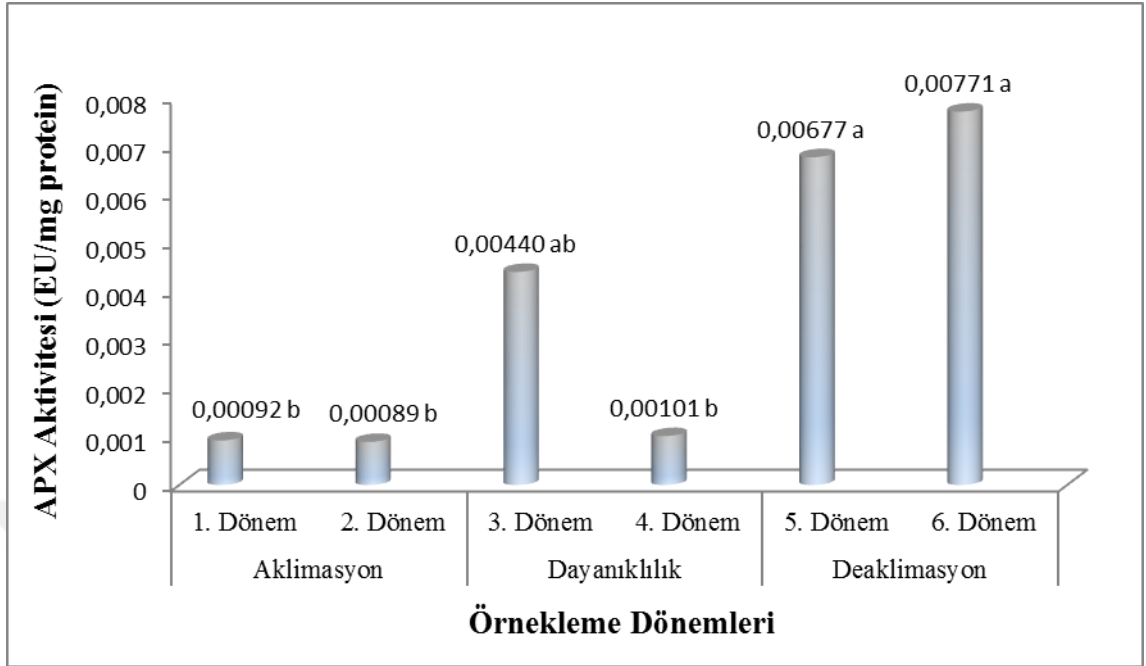
Şekil 4.9. Kış gözlerinde polifenol oksidaz aktivitesinin dönemsel değişimi

*Örneklem dönemleri içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $p \leq 0.01$ önem seviyesinde anlamsızdır.

Araştırmanın ilk döneminde en düşük düzeyde (35,413 EU/mg protein) bulunan polifenol oksidaz aktivitesi bu dönemin ardından 2. dönemde maksimuma (51,533 EU/mg protein) ulaşmıştır. Bu dönemden sonra azalmaya başlayan PPO aktivitesi 4. dönemde tekrar başlangıç aktivitesine benzer ($p \leq 0.01$) bir düzeye gerilemiştir. Beşinci dönemde tekrar maksimuma yakın bir PPO aktivitesi belirlenmiş ardından 6. dönemde aktivite yine minimum düzeye yakın bir değere gerilemiştir.

4.10. Kış Gözlerinde Askorbat Peroksidaz Aktivitesi

2015 sonbahar-kış ve 2016 kış-ilkbahar periyodunu içine alan bu çalışmada, Karaerik üzüm çeşidi kış gözlerinin askorbat peroksidaz (APX) aktivitesindeki değişim, dönemsel olarak önemli ($p \leq 0.05$) farklılıklar göstermiştir.



Şekil 4.10. Kış gözlerinde askorbat peroksidaz aktivitesinin dönemsel değişimi

*Örneklem dönemleri içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $p \leq 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) negatif etkilerinin bertaraf edilmesinde rol aldığı bilinen ve bir antoksidan enzim olan askorbat peroksidazın (APX), farklı dönemlerde alınan Karaeik üzüm çeşidi kış gözlerinde 0,00089 EU/mg protein ile 0,00771 EU/mg protein arasında oldukça düşük bir aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bununla beraber aktivitenin özellikle deaklimasyon periyodunda (5. ve 6. dönemler) diğer periyotlardan daha yüksek düzeyde olduğu görülmüştür. Araştırmanın ilk 4 döneminde kış gözlerinin APX aktivitesi istatistiki olarak ($p \leq 0.05$) benzer bulunmuş olsa da 3. dönemde APX aktivitesinin 1., 2. ve 4. dönemlerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.10).

4.11. Biyokimyasal Parametreler ile Kış Gözü Primer Tomurcuklarının Don Toleransı Arasındaki İlişki

Çalışmanın temel amaçlarından biri olan Karaerik üzüm çeşidinde don toleransı ile biyokimyasal değişim arasındaki ilişkinin belirlenmesi adına, biyokimyasal parametreler ile hücre arası buz oluşumunun görüldüğü ortalama sıcaklık (mHTE) ve

hücre içi buz oluşumunun görüldüğü ortalama sıcaklık (mLTE) değerleri korelasyon analizine tabi tutulmuş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3'te sunulmuştur.

Araştırmada incelenen tüm dönemler birlikte değerlendirildiğinde (Çizelge 4.3); Karaerik üzüm çeşidinde hücre arasında buz nükleasyonunun görüldüğü ortalama sıcaklık değeri ile POX aktivitesi arasında pozitif, protein, toplam karbonhidrat, MDA, H₂O₂ ve O₂⁻ miktarları arasında ise negatif bir ilişkinin olduğu tespit edilmiştir. Hücre arası buz oluşumunun görüldüğü sıcaklık (mHTE) ile SOD, PPO ve APX aktiviteleri arasındaki ilişkiler istatistiki olarak önemsiz bulunurken, diğer parametreler arasındaki ilişkiler istatistiki olarak ($p \leq 0.01$ veya $p \leq 0.05$) önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.3. Kış gözlerinde hücre arası (mHTE)ve hücre içi (mLTE) buz oluşum sıcaklıkları ile biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyon katsayıları (r) ve önem seviyeleri

	Protein	KH	MDA	H ₂ O ₂	O ₂ ⁻	SOD	POX	PPO	APX
mHTE	-0,483*	-0,414*	-0,678**	-0,623**	-0,550**	0,070 ^{ns}	0,570**	-0,145 ^{ns}	0,337 ^{ns}
mLTE	-0,433*	-0,486*	-0,490*	-0,360 ^{ns}	-0,515**	-0,163 ^{ns}	0,586**	-0,194 ^{ns}	0,309 ^{ns}

ns: önemsiz, **: $p \leq 0,01$ 'de önemli, *: $p \leq 0,05$ 'de önemli

Aynı zamanda kış gözü primer tomurcuklarının %50'sinin öldüğü sıcaklık değeri olan, hücre içi buz oluşumun görüldüğü ortalama sıcaklık değeri (mLTE) ile POX aktivitesi arasında pozitif bir ilişki belirlenirken, protein, toplam karbonhidrat, MDA ve O₂⁻ miktarları arasındaki ilişkinin negatif olduğu tespit edilmiştir. Kış gözü primer tomurcuklarının %50 oranında öldüğü sıcaklık (mLTE) ile H₂O₂ miktarı, SOD, PPO ve APX aktiviteleri arasındaki ilişkiler istatistiki olarak önemsiz bulunurken, diğer parametreler arasındaki ilişkiler istatistiki olarak ($p \leq 0.01$ veya $p \leq 0.05$) önemli bulunmuştur (Çizelge 4.3). Bunun yanında her ne kadar istatistiki olarak önemsiz bulunmuş olsalar da, süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ile mHTE arasındaki ilişkinin pozitif, mLTE arasındaki ilişkinin ise negatif yönlü olduğu görülmüştür.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Doğu Anadolu Bölgesi'nin mikroklima alanı içerisinde bulunan Erzincan ili zaman zaman düşük kış sıcaklıklarına maruz kalmaktadır. Bu durum yetiştiriciliğin yapıldığı bağ alanlarını olumsuz yönde etkileyerek üreticilerin ekonomik ve iş gücü yönüyle mali kayıplara uğramasına neden olmaktadır. Bu problemin çözümüne katkıda bulunmak adına yaptığımız çalışmada bölge ekolojisine adapte olmuş ve yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan Karaerik üzüm çeşidinin, 2015-2016 yılındaki dinlenme dönemi kapsayan aklımasyon, dayanıklılık, deaklimasyon evreleri içerisinde düşük sıcaklıkların kış gözleri üzerindeki etkisi ve biyokimyasal parametrelerle soğuğa tolerans ilişkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Düşük sıcaklıklara tolerans termlerinde genel olarak pek çok türde olduğu gibi asmalarda da kış gözlerinin %50'sinin öldüğü sıcaklık değerleri ($mLTE_{50}$) don toleransında dikkate alınmaktadır (Andrews *et al.* 1984; Köse 2006; Mills *et al.* 2006). Bu nedenle yürütülen bu çalışmada çeşide ait kış gözlerinin primer tomurcuklarında ölümün meydana geldiği hücre içi (simplastik bölge) suyun donma noktası ($mLTE$) belirlenmiştir. Ayrıca gözlerde hücre arası (apoplastik bölge) donmanın meydana geldiği sıcaklık aralığının belirlenmesi adına yüksek sıcaklık exotermeleri de ($mHTE$, HTE_{min} , HTE_{max}) tespit edilmiştir. Diğer yandan çalışmada aklımasyon, dayanıklılık ve deaklimasyon evrelerinde, kış gözlerindeki hücresel düzeyde meydana gelen biyokimyasal maddelerdeki değişim oranlarının, don toleransı üzerine nasıl bir etki yaptığı da saptanmıştır.

Karaerik üzüm çeşidi üzerinde yürütülen bu çalışmada, primer tomurcukların hücreler arası ve hücre içi buz oluşum sıcaklıklarının dönemlere bağlı olarak farklı sıcaklık aralıklarında meydana geldiği belirlenmiştir. Hücre arası buz oluşumunun göstergesi olan yüksek sıcaklık ekzotermelerinin $-4,00^{\circ}C$ (6.dönem) ile $-9,80^{\circ}C$ (3.dönem) arasında meydana geldiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Karaerik üzüm çeşidi kış gözlerinde hücre içi donmanın dolayısıyla %50 primer tomurcuk ölümünün ise $-6,20^{\circ}C$ (LTE_{max}) ile $-12,70^{\circ}C$ (LTE_{min}) arasında meydana geldiği saptanmıştır (Çizelge 4.2).

Yüksek ve düşük sıcaklık ekzotermilerinin görüldüğü sıcaklık değerleri bakımından çalışmamızda elde edilen veriler birçok araştırmada elde edilen verilerle benzerlik göstermektedir. Zira; asmalarda dönem, çeşit ve türlere göre değişmekle beraber ortalama yüksek sıcaklık ekzotermilerinin -5°C ile -10°C , düşük sıcaklık ekzotermilerinin de -5°C ile -42°C arasındaki sıcaklıklarda meydana gelebileceği belirtilmektedir (Stushnoff and Burke 1977; Pierquet and Stushnoff 1980; Andrews *et al.* 1984; Fennell and Mathiason 2002; Fennell 2004; Mills *et al.* 2006). Karaerik üzüm çeşidinde koltuk sürgünü varlığının kış gözlerinin don toleransları üzerindeki etkilerinin belirlenmesine yönelik olarak yürütülen bir çalışmada kış gözü primer tomurcuklarının HTE değerlerinin, -5.5°C ile -8.1°C arasında, LTE değerlerinin de -9.6°C ile -12.7°C arasında değişim gösterdiği saptanmıştır (Kaya 2011). Aynı çeşit üzerinde pozisyonlarına göre kış gözlerinin don toleransındaki değişimlerin belirlendiği diğer bir çalışmada da çeşidin kış gözlerinde hücre arası buz oluşumunun -4.80°C ile -13.63°C arasında, hücre içi buz oluşumunun ise de dönemlere bağlı olarak -4.65°C ile -13.63°C 'ler arasında meydana geldiği tespit edilmiştir (Buztepe 2016). Bulgularımızı destekleyen bir diğer çalışmada da, Chardonnay, Pinot gris, Viognier, Riesling ve Cabernet Sauvignon üzüm çeşitlerinde hücre arası buz oluşum -5°C ile -10°C arasında, hücre içi donmanın da -18°C ile -23°C meydana geldiği tespit edilmiştir (Mills *et al.* 2006). Dayanıklılık dönemi olan ocak ayı içerisinde Cabernet Franc ve Concord çeşitleri ile Couderc 3309 anacına ait kış gözlerinin mHTE değerlerinin sırasıyla, -3°C ile -6.2°C , -6.1°C ile -7.3°C , -6°C ile -7.8°C arasında LTE₅₀ değerlerinin de -24.4°C ile -31.9°C ile, -21.7°C ile -27.3°C , -18.9°C ile -32.1°C arasında değiştiği belirlenen başka bir çalışma (Grant 2012) sonuçları da hücre arası ve hücre içi buz oluşumun görüldüğü sıcaklık aralığı dair bulgularımızı destekler niteliktedir. Ayrıca Köse (2006), farklı Amerikan asma anaçlarının Gemre ve Razakı üzüm çeşitlerinin don toleransı üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla yürüttüğü bir çalışmada kış gözlerinde HTE değerlerinin -3°C ile -8.6°C , LTE değerlerinin ise -20.1°C ile -23.3°C arasında değişim gösterdiğini belirlemiştir.

Çalışmamızda, primer tomurcuklarının deaklimasyon periyodunda (5. ve 6. dönemler) diğer periyodlara (aklimasyon ve dayanıklılık) göre apoplastik bölgede buz oluşumuna

daha hassas olduğu belirlenmiştir. İstatistiki olarak ($p \leq 0.01$) önemsiz bulunmuş olsa da primer tomurcuklar hücre arası donmaya karşı kasım ayının sonundan (1. Dönem) itibaren tedrici bir dayanıklılık kazanarak 10 Ocak'ta (3. dönem) dayanıklılıkları en üst düzeye ulaşmıştır. Bu dönemden sonra primer tomurcuklar hücre arası donmaya karşı dayanıklılıklarını kaybederek 10 Mart'ta (6. Dönem) hassasiyetin en üst düzeye ulaştığı tespit edilmiştir (Şekil 4.1). Bununla birlikte çalışmamızda, gözlerin %50'sinin öldüğü sıcaklık değeri (mLTE) yönüyle don toleransının ocak ayı içerisinde (dayanıklılık periyodu), kasım-aralık (aklimasyon periyodu) ve şubat-mart aylarına (deaklimasyon periyodu) oranla daha yüksek ($p \leq 0.01$) olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada incelenen dönemler itibarıyla, kasım ayı sonundan başlayarak artan don toleransının ocak ayı ortalarında maksimuma ulaştığı ve daha sonra azalarak mart ayı ortasında en düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1).

Asmalarda dinlenme döneminde düşük sıcaklıklara tolerans çeşitten çeşide, türden türe ve etken faktörler arasında yer alan hava sıcaklıklarına göre değişim göstermektedir (Schnabel and Wample 1987; Wolf and Cook 1992; Leinonen *et al.* 1995; Kanneganti *et al.* 1998; Ebel *et al.* 2005). Nitekim düşük sıcaklıklara tolerans genel olarak aklimasyon, dayanıklılık ve dayanıklılığın azalması (deaklimasyon) dizisini takip etmektedir (Ferguson *et al.* 2011). Asmalar aklimasyon esnasında sıcaklığın azalmasına paralel olarak soğuğa tolerans kabiliyeti kazanırlar (Richardson *et al.* 1974). Sıcaklığın azalışı kış gözlerinde dormansi ve aklimasyonu başlatarak dokulardaki su içeriğininde azalmasına neden olmaktadır (Fennell *et al.* 1996; Meiering *et al.* 1980; Salzman *et al.* 1996; Wolpert and Howell 1984,1985a,b). Zira göz su içeriğindeki değişimler düşük sıcaklıklara toleranstaki artış ile doğrudan ilişki içerisinde ve göz dokularının kristalleşme veya katılaşma olmaksızın sıfırın altındaki sıcaklıklarda soğuması olarak bilinen süpersoğuma özelliğinin artmasına da katkı sağlamaktadır (Bourne and Moore 1991; Pierquet *et al.* 1977; Quamme 1995; Zabadal *et al.* 2007; Grant 2012; Zhang *et al.* 2012). Aklimasyonun başlamasıyla beraber tüm gözlerde azalmaya başlayan su içeriği dayanıklılığın maksimum olduğu kış ortasında minimum düzeye inmekte ve ilkbaharda sıcaklıkların artışının olduğu deaklimasyonun başlamasına kadar sabit kalmaktadır (Salzman *et al.* 1996; Wolpert and Howell 1984, 1985b). Çalışma

sonuçlarımız incelendiğinde kış gözlerinde doku suyunun donması sonucu ortaya çıkan fizyon ısısını ile belirlenen exotermeler, genel olarak 1. dönemden itibaren azalan sıcaklıklar ve doku su içeriğine bağlı olarak hücre arası donmaya karşı tolerans kazanan primer tomurcuklarda 3. dönemden sonra, doku su içeriğinin artması, dayanımın azalması, günlük ortalama sıcaklıkların artması, dokularda fizyolojik faaliyetlerin artması gibi etkenlerle hücre arası ve hücre içi don toleransının azaldığı kanaatini uyandırmıştır. Bununla beraber çalışmalar ile benzerlik arz eden sonuçlarımıza bakıldığında; kış gözlerinin %50'sinin öldüğü ortalama sıcaklığın göstergesi olan mLTE değerlerinin, aklımasyonun başlangıcı ile kademeli olarak düşmeye başladığı, derin dinlenme dönemi olan ocak ayı içerisinde en düşük seviyeye ulaştığı ve ısınan hava sıcaklıkları ve artan doku su içeriği nedeniyle deaklimasyon döneminde tekrardan yükselişe geçtiği görülmüştür. Öyle ki Grant (2012), asma gözlerinde düşük sıcaklığa toleransın ocak ayında maksimum olduğu ve LTE₅₀ değerlerinin daha düşük sıcaklıklarda ortaya çıktığını, bunun yanında mart ve nisan aylarında asma gözlerinin düşük sıcaklığa toleransının ise azaldığını belirlemiştir. Ayrıca Concord çeşidinde kış gözlerinin don toleransının ağustos ayından kasım ayına doğru giderek arttığını görmüşlerdir. Bu durum aklımasyon, dayanıklılık ve deaklimasyon dönemleri içerisinde kış gözlerindeki su içeriği ve fizyolojik değişimlerle açıklanmıştır (Fennell 2004; Grant and Damı 2015). Ayrıca Kaya (2011), Karaerik üzüm çeşidinin kış gözlerinin don toleransının aklımasyonla beraber arttığı ve ocak ayında maksimum tolerans gösterdiğini belirlemiştir. Benzer bir şekilde Buztepe (2016), aynı çeşide ait kış gözlerinin tolerans derecelerinin yıldan yıla değişim gösterdiğini ve en düşük LTE değerlerinin aralık ve ocak ayları içerisinde belirlendiğini tespit etmiştir.

Pekçok bitki türünde (Levit 1980; Eriş 1995; Hıncha *et al.* 1997; Eriş *et al.* 2007) olduğu gibi asmada da proteinlerin kış gözlerinin düşük sıcaklıklara toleransında önemli role sahip olduğu belirtilmektedir (Grant 2012; Grand and Damı 2015). Çalışmamızda incelenen dönemler karşılaştırıldığında; genel olarak şubat–mart periyodunda çözülebilir protein içeriğinin daha düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.2). Sonuçlarımızla benzer olarak, pekçok çalışmada asma kış gözlerinde dona dayanımın kazanılması ve dona dayanıklılık periyodlarında protein içeriğinin yüksek olduğu

belirlenmiştir (Goldsmith 2009; Fennell 2004; Zhang *et al.* 2012). Nitekim, kısa fotoperiyodların dormansi uyartımları sürecinde asma kış gözlerinde çözünebilir proteinlerde artış sağladığı, özellikle 27 kD LEA benzeri proteinlerin soğuğa aklime olmuş tomurcuklarda yükseldiğine dair önemli bulgular bulunmaktadır (Salzman *et al.* 1996; Wake and Fennell 2000). Ayrıca düşük sıcaklık stresi altında yüksek molekül ağırlıklı maddelerin yıkımı ya da sentez miktarının artmasından dolayı çözünebilir protein içeriğinin arttığı da bilinmektedir (Wang 1987). Kaya (2011) yaptığı bir çalışmada Karaerik üzüm çeşidi kış gözlerinde, kasım ayında artmaya başlayan çözünebilir protein içeriğinin ocak ayında maksimuma ulaştığı ardından şubat mart aylarında kademeli olarak azalma gösterdiğini belirlemiştir.

Çalışmamıza konu olan dönemler itibariyle; kış gözünün çözünebilir protein içeriğinin hem hücre arası ($r=-0,483$) hem de hücre içi donma ($r=-0,433$) sıcaklıkları ile negatif ilişki içerisinde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Başka bir ifade ile Karaerik üzüm çeşidinde kış gözlerinde protein içeriği ile primer tomurcukların dona dayanıklılıkları arasında pozitif bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. Fennel (2004) proteinlerin düşük sıcaklıklara dayanıklılığa katkı sağlayabileceğini ancak asmalarda direkt bir etkinin belirlenemediğini bildirmiş olsa da Zhang *et al.* (2012) hem çözünebilir protein hem de prolin içeriğinin asmalarda düşük sıcaklıklara dayanıklılıkla pozitif ilişkili olduğunu ve düşük sıcaklığa toleransın göstergesi olarak kullanılacaklarını belirtmektedir. Proteinlerin hücre arası serbest suyu bağlamasıyla (Zhang *et al.* 2012), serbest su miktarında meydana gelen azalma dokularda süper soğumayı (supercooling) teşvik eder ve düşük sıcaklığa toleransı artırır (Pierquet *et al.* 1977; Bourne and Moore 1991; Quamme 1995; Fennel 2004). Ayrıca çözünebilir proteinlerin soğuğa dayanıklılık genlerini düzenleyebileceği de bildirilmektedir (Puvısac 1982; Stepokus 1982; Dionne *et al.* 2001). Bununla beraber proteinlerin hücre duvarını güçlendirmesi ve elastikiyetini artırması yanında hücrede buz kristallerinin büyümesini engelleyerek donma noktasını düşürdüğü dolayısıyla don toleransını artırdığı da bildirilmektedir. (Keller 2015). Anchoroguy *et al.* (1987) de proteinlerin, donma-erime süresince hücre membranların yapısını koruyarak, düşük sıcaklığa karşı toleransı artırdığını bildirmektedirler. Nitekim,

yapılan bir çalışmada donma stresinden koruyucu bir protein olan β -1,3 glukanazın, donma ve erimeye karşı tilakoidleri koruduğu saptanmıştır (Hincha *et al.* 1997).

Don toleransı üzerindeki etkileri yönünden genellikle proteinler ile birlikte anılan karbonhidratların (Levitt 1980; Fennel 2004; Grant 2012), hem otsu hem de odunsu dokuların düşük sıcaklık toleransını artırdığı belirtilmektedir (Sakai and Larcher 1987).

Çalışmamızda aklimasyon periyodunun başlangıcı olan kasım ayı sonunda en düşük seviyede olan kış gözü toplam karbonhidrat içeriği aralık-ocak aylarında yüksek seviyesini korumuş ve şubat-mart aylarında ise nispeten azalmıştır (Şekil 4.3). Toplam karbonhidratın düşük sıcaklığa aklimasyon periyodunda özel bir yere sahip olduğu rapor edilmiştir (Grant 2012). Genel olarak toplam karbonhidrat miktarının düşük sıcaklıklara bir tepki olarak sonbaharda artmaya başladığı, en soğuk ay olan kış ortasında maksimum seviyeye ulaştığı ve ilkbahara doğru tekrar azalış gösterdiği belirlenmiştir (Stushnoff *et al.* 1993). Riesling ve Chardonnay çeşitlerinde yapılan çalışmada, toplam karbonhidratların dona toleransla ilişkili olduğu, ayrıca soğuğa alışımın başladığı ağustos ayından itibaren tomurcuklarda artmaya başladığı ve maksimum dayanıklılığın gerçekleştiği aralık ve ocak aylarında en yüksek seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir (Hamman *et al.* 1996). Bunun yanında toplam karbonhidratların önemli bir kısmını oluşturan çözülebilir karbonhidratların da aklimasyon döneminde arttığı, dayanıklılıkta maksimuma ulaştığı ve ilkbaharda deaklimasyonla birlikte azaldığı bildirilmektedir (Levitt 1980; Sakai and Lacher 1987). Bu literatür sonuçları, karbonhidrat miktarının mevsimsel değişimi yönüyle çalışma sonuçlarımızı destekler niteliktedir.

Çalışmamıza konu olan dönemler itibariyle; kış gözünün toplam karbonhidrat miktarındaki artışın, hücre arası ($r=-0,414$) ve hücre içi buz oluşum ($r=-0,486$) sıcaklıklarını düşürdüğü belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Başka bir ifade ile Karaerik üzüm çeşidi kış gözlerinde artan karbonhidrat miktarı ile primer tomurcukların dona dayanıklılıkları artmaktadır. Fennel (2004) toplam karbonhidrat miktarının (nişasata + çözülebilir karbonhidratlar) don toleransı ile ilişkili olduğunu bildirmektedir. Ancak,

nişastanın don toleransı üzerindeki pozitif etkisi daha çok aklimasyon döneminde görülmekte, dayanıklılık döneminde düşük sıcaklıklara maruz kalan dokularda nişastanın şekere dönüşerek azalmasından dolayı, ilişkinin negatif olduğu belirtilmektedir (Wample and Bary 1992; Jones *et al.* 1999). Bu nedenle asmalar üzerinde yapılan pekçok çalışmada, çözülebilir karbonhidrat miktarı ile gözlerinin don toleransı arasındaki pozitif ilişkinin özellikle dayanıklılık döneminde daha belirgin olduğu belirtilmektedir (Warmund *et al.* 1986; Wample and Bary 1992; Seyedbagheri and Fallahi 1994; Hamman *et al.* 1996; Jones *et al.* 1999; Hamman and Damir 2000). Karbonhidratlar makro moleküllerle hidrojen bağı oluşturarak hücrenin su tutma kabiliyetini artırır ve donmanın neden olduğu dehidrasyon derecesini azaltarak don toleransını teşvik ederler (Crowe *et al.* 1988). Ayrıca düşük sıcaklıklarda karbonhidratların protoplazmada metabolize olması, diğer koruyucu maddelerin oluşumuna ve enerjinin açığa çıkmasını sağlamaktadır. Bu nedenle karbonhidratların donma esnasında proteinlerin kararlılığını sağlayarak ve hücre membranlarını koruyarak don toleransının artırılmasında önemli role sahip oldukları belirtilmektedir (Sakai and Larcher 1987; Grant 2012). Doku çözeltilisinde çözülebilir karbondihidratların artışının suyun donma noktasını düşürdüğü de bilinmektedir (Burke *et al.* 1976).

Çözülebilir karbonhidratların, don toleransı üzerindeki etkilerinin sadece miktara bağlı olmayıp çözülebilir şekerin çeşidi ile de alakalı olduğu pekçok çalışmada ortaya koyulmuştur (Fennel 2004; Stushnoff *et al.* 1993; Hamman *et al.* 1996; Grand and Damir 2015). Nitekim, Hamman *et al.* (1996) Riesling ve Chardonnay üzüm (*Vitis vinifera* L.) çeşitlerinde yaptıkları bir çalışmada, glukoz, fruktoz, rafinoz ve staçiyozun dona dayanıklılıkla ilişkili olduğunu, bu şekerlerin soğuğa alışmanın başladığı ağustos ayından itibaren tomurcuklarda artmaya başladığını ve maksimum dayanıklılığın gerçekleştiği aralık ve ocak aylarında en yüksek seviyeye ulaştığını ancak, sakkarozun etkisinin önemsiz olduğunu tespit etmişlerdir. Soğuğa dayanıklı olan Valiant üzüm çeşidinde rafinoz, sakkaroz ve glikozun don toleransı ile ilişkisi önemli bulunurken, fruktozun ilişkisinin önemsiz olduğu tespit edilmiştir (Stushnoff *et al.* 1993).

Düşük sıcaklık stresine maruz kalan hücrelerde, hücre homeostasisi (normal dengelerin korunması hali) bozulur ve reaktif oksijen türleri oluşumu artar. Reaktif oksijen türleri de bitki hücre membranlarında oksidatif zarara yol açar ve MDA gibi toksik maddelerin üretimini artırır (Prasad *et al.* 1994; Fadzillah *et al.* 1996; Liu *et al.* 2009, 2011; Xi *et al.* 2013). Bu yüzden MDA'nın bitkilerde oksidatif stresin derecesinin bir göstergesi olarak kullanılabileceği belirtilmektedir (Hodges *et al.* 1999).

Çalışmamızda kasım-ocak aylarında yüksek olan MDA içeriğinin deaklimasyon periyodu olan şubat-mart aylarında (5. dönemdeki azalış istatistiki olarak önemsiz bulunmuş olsa da) genel olarak daha düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.4).

Yapılan çalışmalarda çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'nın (Jouve *et al.* 1993; Xu *et al.* 2008), düşük sıcaklık stresinin süre ve yoğunluğuna bağlı olarak değişmekle birlikte genellikle aklimasyon ve dayanıklılık dönemlerinde deaklimasyon dönemine oranla daha yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır (Kaya 2011; Karimi *et al.* 2015). Nitekim, Karami *et al.* (2015) altı farklı üzüm çeşidi üzerinde yürüttükleri bir çalışmada bütün çeşitlerde en yüksek MDA içeriğinin dayanıklılık döneminde, en düşük MDA içeriğinin de deaklimasyon döneminde görüldüğünü tespit etmişlerdir. Kaya ve Köse (2016) da Karaerik üzüm çeşidi üzerinde yürüttüğü çalışmasında, hava sıcaklıkları ile ilişkilendirdiği MDA içeriğindeki dönemsel değişim yönüyle, çalışmamızla paralellik gösteren sonuçlar elde etmiştir. Bununla birlikte asmalarda düşük sıcaklık stresi ile MDA içeriği arasında belirlenen doğrusal bir ilişki (Zhang *et al.* 2012), deaklimasyon dönemine oranla hava sıcaklıklarının daha düşük olduğu, aklimasyon ve dayanıklılık dönemlerinde MDA içeriğinin daha yüksek oluşuna dair bulgularımızı açıklar niteliktedir.

Çalışmamıza konu olan dönemler itibariyle; hem hücre arası ($r=-0,414$) hem de hücre içinde ($r=-0,486$) buz oluşum sıcaklıklarının düşmesi MDA içeriğinde artışa neden olmaktadır (Çizelge 4.3). Başka bir ifade ile Karaerik üzüm çeşidi kış gözlerinin maruz kaldığı sıcaklık değeri düştükçe yani düşük sıcaklık stresi arttıkça MDA miktarı artmaktadır. Nitekim, pekçok bitki türünde düşük sıcaklık stresinin MDA içeriğini

artırdığı bildirilmektedir (Lynch and Steponkus 1987; Moon *et al.* 1995; Uemura *et al.* 1995; Lin *et al.* 2006; Öktem *et al.* 2008). Asmalarda da MDA içeriği ile düşük sıcaklık stresi arasında pozitif (Zhang *et al.* 2012; Theocharis *et al.* 2012; Xi *et al.* 2013), düşük sıcaklık stresine dayanım arasında ise negatif bir ilişki olduğu bildirilmektedir (Zhang *et al.* 2012; Karimi *et al.* 2015).

Düşük sıcaklık stresi, bitkelerde morfolojik, fizyolojik ve moleküler değişimler yanında istenmeyen biyokimyasal değişimlere de neden olur. Hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarındaki değişim, bu istenmeyen biyokimyasal değişimler içerisinde değerlendirilmektedir (Bajguz and Hayat 2009; Liu *et al.* 2009, 2011).

Bu çalışmada kasım ayında daklimasyon periyodunun başında alınan kış gözlerinde maksimum seviyede olan H_2O_2 miktarı, bu dönemi takiben sürekli bir azalış ile deaklimasyonun sonuna kadar (10 mart) azalma göstermiştir (Şekil 4.5). Asma kış gözlerinde hidrojen peroksit içeriğinin dönemsel değişimleri pek az çalışma ile ortaya konulmuştur. Merlot üzüm çeşidi üzerinde yürütülen bir çalışmada hidrojen peroksit içeriğinin mevsimsel olarak önemli değişimler gösterdiği belirlenmiştir. Genel olarak temmuz ayı içerisinde maksimum düzeyde olan H_2O_2 içeriğinin ekim ayı sonuna kadar azaldığı daha sonra kasım ortasına kadar arttığı akabinde aralık ayı ortasına kadar tekrar düştüğü tespit edilmiştir. Aralık ayı sonuna doğru bir miktar artış gözlenmiş akabinde ocak ayı sonuna kadar kademeli bir azalış olduğu belirlenmiştir. Şubat ayı süresince kademeli bir artış saptanmıştır (Said *et al.* 2014). Bu sonuçlar, çalışmamızda incelenen dönemler itibarıyla bulgularımızla örtüşür niteliktedir. Bunun yanında çalışmamızda aklimasyon başında yüksek olan hidrojen peroksit içeriğinin aralık ve ocak (2., 3. ve 4. dönemler) aylarında bir miktar azalmanın gün uzunluğundaki kısalma ve superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve askorbat peroksidaz (APX) aktivitelerindeki artıştan kaynaklanabileceği kanaatindeyiz. Nitekim, Verslues *et al.* (2007) gün uzunluğundaki kısalma ve superoksit dismutaz, katalaz ve askorbat peroksidaz aktivitelerindeki artışın H_2O_2 içeriğini azalttığını bildirmektedir (Verslues *et al.* 2007). Çalışmamızda da SOD ve APX aktivitelerindeki dönemsel değişimler incelendiğinde (Şekil 4.7 ve Şekil 4.10) bu enzimlerin ayrı ayrı veya birlikte etki göstererek H_2O_2 içeriğinde azalmaya neden

olabileceği kanaatine varılabilir. Said *et al* (2014) bulgularının aksine çalışmamızda şubat, mart aylarında meydana gelen azalış, bu dönemlerde, hem SOD hem de APX miktarlarının yüksek olmasından (Şekil 4.7 ve Şekil 4.10) kaynaklanabilir. Ayrıca, aralık ve ocak ayı başında H₂O₂ içeriğinde düşüşün daha az olması bu dönemlerdeki düşük sıcaklık stresinden kaynaklanmış olabilir. Zira, kış soğuklarının hidrojen peroksit seviyelerinde kısmi yükselişlere neden olabileceği belirtilmektedir (Wanping *et al.* 2009).

Çalışmamıza konu olan dönemler itibariyle; kış gözünün H₂O₂ miktarı ile hücre arası ($r = -0,623$) donma sıcaklığı arasındaki ilişki önemli bulunurken, hücre içi donma sıcaklığı arasındaki ilişki önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.3). Dokuların donma sıcaklığı ile H₂O₂ miktarı arasındaki ilişkiyi ortaya koyan veya açıklayan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte, dokuların donma sıcaklığının daha düşük olması, dokuların daha uzun süre ve daha şiddetli strese maruz kalması demektir. Bu nedenle daha düşük sıcaklıklarda donan dokularda stresin süresinde ve şiddetindeki artışa bağlı olarak daha fazla hidrojen peroksit üretimi olabileceği kanaatindeyiz. Nitekim, düşük sıcaklık stresinin süresi ve şiddeti arttıkça H₂O₂ miktarının arttığına dair pekçok çalışma bulunmaktadır (Or *et al.* 2000; Sudhakar *et al.* 2001; Wanping *et al.* 2009; Hashempour *et al.* 2014). Ancak, H₂O₂ miktarı ile hücre içi donma sıcaklığı arasındaki ilişkinin neden önemsiz olduğu tam olarak anlaşılamamıştır. Son on yılda, özellikle stres altındaki bitkilerin apoplastik bölgelerinde bulunan bileşikler üzerinde yapılan yoğun araştırmalarda; bitkinin çevresel streslere cevabında ve streslere tolerans kazanmasında apoplastik bölgenin büyük önem taşıdığı gerçeği dikkate alındığında (Michael *et al.* 1993; Wang *et al.* 2004); H₂O₂ miktarı ile hücre arası donma sıcaklığı arasındaki ilişkinin, hücre içi donma sıcaklığı arasındaki ilişkiden daha belirgin olabileceği düşüncesindeyiz.

Düşük sıcaklık stresinin bitkilerde meydana getirdiği, istenmeyen biyokimyasal değişimlerden bir diğeri de süperoksit anyonu (O₂⁻) birikimidir (Bajguz and Hayat, 2009; Liu *et al.* 2009, 2011). Çalışmamızda incelenen dönemler içerisinde aralık sonu

ve ocak ayı başında, diğer zamanlara göre kış gözlerinde süperoksit anyonu (O_2^-) miktarının daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Asma kış gözlerinde süperoksit anyonunun dönemsel değişimi üzerinde herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır. Zira süperoksit anyonu üzerindeki çalışmalar son 10 yıl içerisinde önem kazanmıştır (Mattila *et al.* 2015). Bununla birlikte farklı bitki türlerinde düşük sıcaklık stresine maruz kalan dokularda süperoksit anyonu miktarının arttığına dair önemli bulgular mevcuttur (Hola *et al.* 2007; Bajguz and Hayat 2009; Liu *et al.* 2009, 2011; Aazami *et al.* 2014; Min *et al.* 2014). Bu çalışma sonuçlarına dayanarak, aralık sonu ve ocak ayı başında süperoksit anyonu içeriğinin diğer zamanlara göre daha yüksek oluşunun, söz konusu dönemlerdeki hava sıcaklıklarının diğer dönemlere göre daha düşük olmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamıza konu olan dönemler itibariyle; kış gözünün süperoksit anyonu miktarı ile hücre arası ($r = -0,550$) ve hücre içinde ($r = -0,515$) donma derecesi arasında önemli bir ilişki ($p \leq 0,01$) belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Bu ilişkileri doğrulayacak benzer çalışmalar bulunmamaktadır. Donma sıcaklığının daha düşük olması durumunda, dokular daha uzun süre ve şiddette strese maruz kalacaktır. Bu nedenle donma sıcaklıkları daha düşük olan dokularda süperoksit anyonu miktarının da artabileceği düşünülmektedir. Nitekim, yapılan çalışmalarda (Hola *et al.* 2007; Bajguz and Hayat 2009; Liu *et al.* 2009, 2011; Aazami *et al.* 2014; Min *et al.* 2014) düşük sıcaklık stresine maruz kalan bitki dokularında süperoksit anyonu miktarının arttığını bildirmektedir.

Düşük sıcaklık stresi bitkilerde lipid peroksidasyonunun artması, membrane bozulmaları, proteinlerin degradasyonu ve metabolik fonksiyonların bozulması gibi oksidatif zararlara neden olan reaktif oksijen türlerini (ROS) artırmaktadır (Lin *et al.* 2005; Hashempour *et al.* 2014). Bu oksidatif zararları azaltmak veya onlardan korunmak için; bitkiler reaktif oksijen türlerini bertaraf eden enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidan sistemler geliştirirler (Wise 1995; Lee and Lee 2000; Hashempour *et al.* 2014). Enzimatik antioksidan sistemleri içerisinde süperoksit dismutaz (SOD) süperoksit radikallerini bertaraf eder, peroksidaz (POX) hidrojen peroksidi (H_2O_2) su ve

oksijene dönüştürür, askorbat peoksidaz (APX) hidrojen peroksidi (H_2O_2) ayrıştırır. (Sudhakar *et al.* 2001). Bunun yanında polifenol oksidaz (PPO) bitkilerin oksidatif zarardan kaçınmasında rol oynar (Ortega-Garcia and Peragon 2009).

Çalışmamızda kış gözlerinin SOD ve PPO aktivitesinin kasım ayı sonunda en düşük seviyesinde iken önemli bir artış göstererek, aralık ayında en yüksek seviyesine ulaşmış ve hem SOD hem de PPO içeriği mart ayına kadar istatistiki olarak aynı seviyede kalmıştır (Şekil 4.7 ve Şekil 4.9). Kasım ayı sonundan sonra soğuk stresinin yaşanmaya başlaması ile artan reaktif oksijen türlerinin oksidatif zararını azaltmak için SOD ve miktarının da arttığı kanaatindeyiz. Zira, kasım ayı sonunda düşük olan süperoksit anyonun miktarının aralık ve ocak ayında yüksek seviyelere ulaşmıştır (Şekil 4.6). SOD'un süperoksit radikallerini bertaraf etmede, PPO'nun da oksidatif zarardan kaçınmada rol aldığı bilinmektedir (Sudhakar *et al.* 2001; Ortega-Garcia and Peragon 2009). Bununla birlikte enzimatik antioksidan üretiminin düşük sıcaklıklar ile uyarıldığı da bilinmektedir (Jaleel *et al.* 2009). Bu nedenle kasım ayından sonra azalan sıcaklıkların da kış gözlerinde SOD ve PPO içeriğini artırması muhtemeldir.

Çalışmamıza konu olan dönemler itibariyle; kış gözünün SOD ve PPO içerikleri ile hem hücre arası hem de hücre içi buz oluşum sıcaklığı arasındaki ilişkiler istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Bununla birlikte özellikle ölümün kaçınılmaz olduğu hücre içi donma sıcaklığı ile hem SOD hem de PPO içeriği arasındaki ilişkinin negatif yönlü olması (her ne kadar önemsiz bulunmuş olsa da), her iki antioksidanın da kısmen de olsa don toleransı üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir (Çizelge 4.3). Zira, asma kış gözleri üzerinde yapılan çalışmalara pek rastlanılmamış olsa da, diğer birçok bitki türünde düşük sıcaklık stresine dayanıklılık ile antioksidan sistemler arasında pozitif ilişkiler olduğu belirlenmiştir (Babu and Devraj 2008; Almeselmani *et al.* 2009; Zhao *et al.* 2009; Gill and Tuteja 2010; Hasanuzzaman *et al.* 2012). Kaya (2011) koltuk sürgünü varlığının asma kış gözlerinin don toleransı üzerindeki etkilerini belirlemeye yönelik olarak yaptığı çalışmada; koltuk sürgünü bulunmayan boğumlardan alınan kış gözlerinin, koltuk sürgünü bulunan boğumlardan alınan kış gözlerine oranla dona daha dayanıklı olduklarını ve bu gözlerde PPO ve SOD içeriğinin koltuk sürgünü

bulunan boğumlardan alınan kış gözlerinden daha yüksek olduğunu belirlemiştir. Bu bağlamda araştırmacının bulguları sonuçlarımızı destekler niteliktedir.

Askorbat peroksidaz (APX) ve peroksidaz (POX) da reaktif oksijen türlerinin (ROS) zararlı etkilerinin bertaraf edilmesinde etkili olan diğer enzimatik antioksidanlardır. Çalışmamızda genel olarak POX (Şekil 4.8) ve APX (Şekil 4.10) aktivitelerinin deaklimasyon dönemlerinde (20 Şubat ve 10 Mart) diğer dönemlere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çalışmaların sınırlı ve yeni olması nedeniyle bu iki enzimin neden deaklimasyon periyodunda daha yüksek olduğu net olarak açıklanamamıştır. Bununla birlikte deaklimasyon periyodunda hidrojen peroksidin diğer dönemlere göre daha düşük olması (Şekil 4.5) dolaylı olarak bu iki enzimin deaklimasyon döneminde yüksek bulunuşunu açıklayabilir. Zira, POX ve APX, bir reaktif oksijen türü olan H_2O_2 'i su ve oksijene dönüştüren ve ayrıştıran antioksidan enzimlerdir (Sudhakar *et al.* 2001; Karpinski and Muhlenbock 2007; Sang *et al.* 2007; Turan 2012; Hashempour *et al.* 2014).

İncelediğimiz dönemler itibariyle; kış gözünün POX içeriği ile hem hücre içi hem de hücre arası dona dayanım düzeyleri arasında önemli ($p \leq 0.01$) bir pozitif ilişki olduğu belirlenmiştir. Ancak APX içeriği ile hem hücre arası hem de hücre içi buz oluşum sıcaklığı arasındaki ilişki önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.3). Dikkate değer pek çok çalışmada reaktif oksijen türlerinin temizlenmesi ile düşük sıcaklık stresine tolerans arasında doğrudan bir ilişki olduğu belirtilmektedir (Huang and Guo 2005; Suzuki and Mittler 2006; Almeselmani *et al.* 2009; Hasanuzzaman *et al.* 2013; Awasthi *et al.* 2015). Bu nedenle, don toleransındaki artışın, bitkinin antioksidan sisteminde yer alan enzimlerin aktivitesindeki artışla ilişkili olduğu bildirilmektedir (Huang and Guo 2005; Almeselmani *et al.* 2006; Suzuki and Mittler 2006; Hasauzzaman *et al.* 2013). Ancak çalışmamızda POX ve APX (ilişki önemsiz olsa da) aktivitesi ile genel anlamda don toleransı arasındaki ilişkinin negatif bulunması net olarak açıklanamamıştır. Bu durumun muhtemelen deaklimasyon dönemindeki miktarların diğer dönemlere göre daha yüksek oluşundan kaynaklandığı kanaatindeyiz. Başka bir ifade ile deaklimasyon dönemlerinde hem enzim içeriklerinin ve hem de donma değerlerinin yüksek oluşu

korelasyon analizinde ilişkinin pozitif yönlü olmasına yol açmış olabilir. Diğer taraftan zeytinlerde yapılan bir çalışmada APX ile %50 ölüm sıcaklığı arasındaki ilişkinin önemsiz olduğuna dair bulgular da mevcuttur. Bu bulgu çalışmamızda %50 ölüm sıcaklığı ile APX arasındaki önemsiz ilişkiyi, doğrular niteliktedir (Hashempour *et al.* 2014).

Litaratürlerle asma dormant gözleri üzerine antioksidan enzim aktiviteleri ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıda olsa da yapılan araştırmalarla önemli oranda benzerlik gösteren çalışmamızda Karaerik üzüm çeşidine ait kış gözlerinin aklimasyon, dayanıklılık ve deaklimasyon dönemleri içerisinde düşük sıcaklıklara tolerans derecesi ve biyokimyasal parametrelerin don toleransı üzerine olan etkileri ortaya konulmaya çalışılmıştır. Araştırma sonuçlarımız incelendiğinde; son 10 yılda meydana gelen iklimsel değişimlerin neden olduğu düşük sıcaklık hasarlarının azaltılması veya engellenebilmesi adına yapılan arayışlar için yeni verilerle farklı bir bakış açısı sağlanacaktır. Öyleki bundan sonra yürütülecek çalışmalarda çeşide ait kış gözlerinin dönemsel olarak belirlenen maksimum tolerans değerlerinin daha gerçekçi hasar seviyesi tahminlerini mümkün kılacağı ve buna bağlı olarak ilkbaharda kış budaması için bırakılacak göz sayısı daha güvenilir şekilde ayarlanabileceği düşüncesindeyiz. Diğer yandan Karaerik üzüm çeşidi üzerinde yapılan bu çalışmada gerek hücre arası buz oluşum sıcaklığı gerekse hücre içi buz oluşum sıcaklığı yönüyle primer tomurcuğun don toleransı ile biyokimyasal içerikleri arasındaki ilişkiler, bu anlamda asmalarda ilk bulgular olup diğer üzüm çeşitleri ve yöreler de yapılacak olan çalışmalara bir ışık tutacaktır. Bununla birlikte; özellikle hücre içi donma sıcaklığı temelinde don toleransı ile pozitif ilişkili bulunan protein, karbonhidrat süperoksit radikali ve peroksidaz içeriklerinde yapılacak müdahalelerin düşük sıcaklık zararını önleme ve/veya azaltmada etkili olabileceği kanaatini taşımaktayız. Ancak, bu çalışmanın farklı ekoloji ve iklim şartlarında farklı çeşitlerle de yürütülmesinin sonuçların güvenilirliği ve doğruluğunu daha da artıracığı kesindir.

KAYNAKLAR

- Aazami M. A., Mahna, N. and Hasani, R. N., 2014. Salicylic acid effects antioxidant system of some grape cultivar under cold stress conditions. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences. Iran, November, 280-290.
- Ağaoğlu, Y.S., 1999. Bilimsel ve Uygulamalı Bağcılık (Asma Biyolojisi). Kavaklıdere Eğitim Yayınları No:1, 205 s, Ankara.
- Ağaoğlu, Y.S., Çelik, H., Çelik, M., Fidan, Y., Gülşen, Y., Günay, A., Halloran, N., Köksal, İ. ve Yanmaz, R., 1995. Genel Bahçe Bitkileri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Eğitim, Araştırma ve Geliştirme Vakfı No:4, 309 s, Ankara.
- Ahmedullah, M., 1985. An analysis of winter injury to grapevines as a result of two severe winters in Washington. Fruit Var. J. 39(4):29-34.
- Akkan, E., 1964. Erzincan ovası ve çevresinin jeoformolojisi. Ankara Üniv. Dil ve Tarih- Coğrafya Fak. Yay. No: 153, 108s, Ankara.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkiler, Mimoza Yayınları, Konya.
- Alberdi, M., Corcuera, L.J., 1991. Cold acclimation in plants. Phytochemistry 30, 3177-3184.
- Ali, B., Hasan, S.A., Hayat, S., Hayat, Q., Yadav, S., Fariduddin, Q. and Ahmad, A., 2008. A role for brassinosteroids in the amelioration of aluminium stress through antioxidant system in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek), Environ. Exp. Bot., 62, 153-159.
- Almeselmani, M., Deshmukh, P. S., Sairam, R. K., Kushwaha, S. R., and Singh, T. P., 2006. Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress. Plant Science, 171, 382-388.
- Almeselmani, M., Deshmukh, P.S. and Sairam, R.K., 2009. High temperature stress tolerance in wheat genotypes: role of antioxidant defence enzymes. Acta Agronomica Hungarica, 57, 1-14.
- Alonso, A., Queiroz, CS., and Magalhães, AC., 1997. Chilling stress leads to increased cell membrane rigidity in roots of coffee (*Coffea arabica* L.) seedlings. Biochim. Biophys. Acta 1323:75-84.
- Alscher, R.G., Ertürk, N., and Heath, L.S., 2002. Role of superoxide dismutases (SOD) in controlling oxidative stress in plants. J. Exp. Bot., 53, 1331-1341.
- Anchordoguy, T. J., Rudolph, A. S., Carpenter, J. F., and Crowe, J. H., 1987. Modes of interaction of cryoprotectants with membrane phospholipids during freezing. Cryobiology 24, 324-331.
- Anderson, K. A., Howell, G. S. and Wolpert, J. A., 1980. Phenological development of different Vitis (grape) cultivars (Relation to freeze damage). Fruit Varieties Journal 34:5-7.
- Andrews, P. K., Sandidge, C. R. and Toyama, T. K., 1984. Deep supercooling of dormant and deacclimating Vitis buds. Amer. J. Enol. Viticult. 35:175-177.
- Andrews, P.K. and Proebsting, E.L., 1987. Effect of temperature on the deep supercooling characteristic of dormant and deacclimated sweet chery flower buds. J.Amer. Soc. Hort.Sci., 112(2), 334-340.
- Andrews, P.K., Proebsting, E.L. and Campbell, G.S., 1983. An exotherm sensor for measuring the cold hardiness of deep-supercooled flower buds by differential

- thermal analysis Hort. Science 18(1), 77-78.
- Andrews, P. K., Proebsting, E. L. and Lee, G. S., 1987. A conceptual model of changes in deep supercooling of dormant sweet cherry flower buds. Journal of the American Society for Horticultural Science 112: 320–324.
- Anonim, 2016. Erzincan İli Meteorolojik Verileri. Meteoroloji Bölge Müdürlüğü, Erzurum.
- Anonim, 2017. Meteorological data of Erzincan province. Regional Directorate of Meteorology, Erzurum. Environment date: 01.02.2017.
- Asada, K., 1992. Ascorbate peroxidase-a hydrogen peroxidescavenging enzyme in plants. Physiol Plant, 85, 235-241.
- Ashworth, H. N. and Rowse, D. J., 1982. Wascular development in dormant prunus flower buds and its relationship to supercooling. Hort. Science 17(5): 790-791.
- Aslantaş, R. ve Köse, C., 2004. Meyve türlerinde dona dayanımın belirlenmesinde termal analiz uygulamaları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fak. Derg. Sayı, D-2, 2004.
- Atıcı, Ö. and Nalbantoğlu, B., 1999. Effect of apoplastic proteins on freezing tolerance in leaves. Phytochemistry, (50), 755-761.
- Atıcı, Ö., and Nalbantoğlu, B., 2003. Antifreeze proteins in higher plants. Phytochemistry, 64, 1187-1196.
- Awasthi, R., Bhandari, K. and Nayyar, H., 2015. Temperature stress and redox homeostasis in agricultural crops. Frontiers in Environmental Science doi: 10.3389/fenvs.).00011.
- Aydemir, T., 2004. Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from artichoke (*Cynara sclymus* L.). Heads Food Chemistry, 87(1), 59–67.
- Babu, N. R. and Devraj, V. R., 2008. High temperature and salt stress response in French bean (*Phaseolus vulgaris*). Australian Journal of Crop Science, 2, 40-48.
- Bachmann, M., Matile, P. and Keller, F., 1994. Metabolism of the raffinose family of oligosaccharides in leaves of *Ajuga reptans*: cold acclimation, translocation and sink to source transition: discovery of chain elongation enzyme. Plant Physiol. 105:1335-1345.
- Badulescu, R., and Ernst, M., 2006. Changes of temperature exotherms and soluble sugars in grapevine (*Vitis vinefera* L.) buds during winter. J. Appl. Bot. Food Qual. 80: 165-170.
- Bajguz, A., and Hayat S., 2009. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. Plant Physiol Biochem 47:1–8.
- Bakardjieva, N. and Christov, K., 1996. Effect of calcium and zinc ions on the sensitivity of peroxidase from moses (*Mnium sp.*) and ferns (*Polydium vulgare*) to hight temperature. Can. J. Bot., 74, 1665-1670.
- Bakht, J., Bano, A. and Dominy, P., 2006. The role of abscisic acid and low temperature in chickpea (*Cicer arietinum*) cold tolerance. Effects on plasma membrane structure and function, J. Exp. Bot., 57, 3707-3715.
- Banci, L., 1997. Structural properties of peroxidase. J. Biotech., (53), 253-263.
- Barka, E. A. and Audran, J. C., 1996. Response des vignes champenoises aux temperatures negatives: effet d'un refroidissement controle sur les reserves glucidiques du complexe gemmaire avant et au cours du debourrement. Can. J. Bot. 74: 492-505.
- Beauchamp, C., and Fridovich, I., 1971. Superoxide dismutase: improved assay and an

- assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44, 276-287.
- Bergmeyer, J. and Grabl, M., 1983. *Methods of Enzymatic Analysis* (Third Edition), pp.190-302, Germany.
- Blokhina, O., Virolainen, E., Gagerstedt, K. V., 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review, *Ann. Bot. (Lond)*, 91, 179-194.
- Bourne T. F. and Moore, J. N., 1991. Primary bud hardiness of four genotypes in Arkansas. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 116: 835-837.
- Bowler, C. M., Montagu, V. and Inze, D., 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43:83-116.
- Burke, M. J., Gusta, L.V., Quamme, H.A., Weiser, C.J., and Li, P.H., 1976. Freezing and injury in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 27:507-528.
- Buztepe, A., 2016. Üzümlü İlçesi (Erzincan) Koşullarında Yetiştirilen Karaerik Üzüm Çeşidinde Pozisyonlarına Bağlı Olarak Kış Gözlerinin Dona Toleranslarının Belirlenmesi Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Cansev, A., Gulen, H. and Eris, A., 2009. Cold-hardiness of olive (*Olea europaea* L.) cultivars in cold-acclimated and non-acclimated stages seasonal alteration of antioxidative enzymes and dehydrin like proteins. *J Agric Sci* 147:51-61.
- Castonguay, Y. and Nadeau, P., 1998. Crop Physiology and Metabolism: Enzymatic control of soluble carbohydrate accumulation in cold-acclimated crowns of Alfalfa. *Crop Sci.* 38: 1183-1189.
- Chai, F., Zhu, W., Xiang, Y., Xin, H. and Li, S., 2015. Optimized method for detecting the cold hardiness of grape dormant bud by low temperature exotherms (LTE) analysis and its utilization, *Acta Horticulturae Sinica.* 42: 140-148.
- Chan, K., Y. and Wasserman, B. P., 1993. Rapid Solid-Phase Determination of Cereal Protein Using Bicinchoninic Acid. *Cereal. Chem.* 70 (1), 27-28.
- Cindric, P. and Kovac, V., 1988. Breeding new grapevine cultivars with high cold hardiness. *Annual Report of The Minnesota grape Growers Cooperative (MGGA)*, 36-47.
- Close, T.J., 1997. Dehydrins: a commonality in response of plants to dehydrations and low temperature. *Physiologia Plantarum* 100, 291-296.
- Crowe, J. H., Carpenter, J. F., Rudolf, A.S., Wistrom, C.A., Spargo, B. J. and Anchooguy, T.J., 1988. Interaction of sugars with membranes. *Biochem. Biophys. Acta.* 947: 367-384.
- Çelik, H., Ağaoğlu, Y.S., Fidan, Y., Marasalı, B., ve Söylemezoğlu, G., 1998. Genel Bağcılık. Sun Fidan A.Ş. Mesleki Kitaplar Serisi No: 1, 253 s, Ankara.
- Çelik, H., Erdemir, D., Değirmenci, D., 2008. 2005-2006 Kış dönemi soğuklarının Kalecik (Ankara) koşullarında yetiştirilen üzüm çeşitlerinde yol açtığı zararlar. Türkiye V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Cilt II, 451-454, 04-07 Eylül, Erzurum.
- Damborska, M., 1978. The effect of higher winter temperatures on changes of the frost resistance of grapevine buds. *Vitis* 17: 341-349.
- Dami, I. E., Ennahli, S., 2012. Assessment of Winter Injuriy in Grape Cultivars and Pruning Strategies Following a Freezing Stres Event. *American Journal of Enology and Viticulture.* 63 (1), 106-111.

- Davenport, J. R., Stevens, R. G., Whitley, K. M., 2008. Spatial and temporal distribution of soil moisture in drip-irrigated vineyards. *HortScience* 43, 229–235.
- Davenport, S. B., Gallego, S. M., Benavides, M. P., Tomaro, M. L., 2003. Behaviour of antioxidant defense system in the adaptive response to salt stress in *Helianthus annuus* L. cell, *Plant Growth Regul.*, 40, 81-88.
- Dionne, J., Castonguay, Y., Nadeau, P. and Desjardins, Y., 2001. Freezing tolerance and carbohydrate changes during cold acclimation of green-type annual bluegrass (*Poa annua* L.) ecotypes. *Crop Sci.* 41, 443-451.
- Dische, Z., 1962. Color reaktions of carbohydrates. *Methods in carbohydrate chemistry*, 1, 475, 514.
- Durmuş, N., 2003. Büyümeği düzenleyici maddelerin oksidatif stres üzerine etkileri. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü., Trabzon.
- Ebel, R. C., Lang, P., Zhang, C. K., Dane, F. and Dozier, W. A., 2005. Identification of cold acclimated genes in leaves of Citrus unshiu by mRNA differential display. *Gene* 359, 111–118. doi:10.1016/j.gene.2005.06.013.
- Eriş, A., 1979. *Vitis vinifera* L. nin bazı çeşitlerinde tomurcuk hücrelerindeki yağ ve benzerlerinin yıllık değişimleri ve düşük sıcaklıklara dayanıklılıktaki rolleri. Ankara Üniv. Zir. Fak. Yay., 718, Konferanslar 19, Ankara.
- Eriş, A., 1980. Aminoacides in grape buds during domadcy. *Garape and Wine Centennial Symposium Proceedings*, 18-21. Cune 1980, Davis, 53-55.
- Eriş, A., 1995. Bahçe Bitkileri Fizyolojisi. Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ders Notları, No:11 Bursa.
- Eriş, A., Gulen, H., Barut, E., and Cansev, A., 2007. Annual patterns of total soluble sugars and proteins related to cold-hardiness in olive (*Olea europaea* L. ‘Gemlik’). *J Horti Sci Biotechnol* 82:597–604.
- Esim, N., 2011. Nitrik Oksitin Mısırdada (*Zea mays*) Düşük Sıcaklık Stresi Toleransı Üzerine Etkisi. Doktora tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum.
- Evans, R. A., 2000. "Reusable hot/cold therapeutic compress appliance." U.S. Patent No. 6,083,254. 4 Jul.
- Ewart, K.V., Lin, Q., Hew, C.L., 1999. Structure, function and evolution of antifreeze proteins. *Cellular Molecular Life Science* 55, 271–283.
- Fadzillah, N. M., Gill, V., Finch, RP., and Burdon, RH., 1996. Chilling, oxidative stress and antioxidant responses in shoot cultures of rice. *Planta* 199:552–556.
- FAOSTAT, 2016. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Erişim Tarihi: 20.01.2016.
- Farooq, M., Basra, S. M. A., Wahid, A., Cheema, Z.A., Cheema, M.A. and Khaliq, A., 2008. Physiological role of exogenously applied glycinebetaine in improving drought tolerance of fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.), *J. Agron. Crop. Sci.*, 194, 325-333.
- Fennell, A., 2004. Freezing tolerance and injury in grapevines. *In Adaptations and Responses of Woody Plants to Environmental Stresses*. R. Arora (Ed.), pp. 201-235. Hawthorn Press, Binghamton, NY.
- Fennell, A. and Hoover, E., 1991. Photoperiod influences growth, bud dormancy, and cold acclimation in *Vitis labruscana* and *V. riparia*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116:270-273.

- Fennell, A. and Mathiason, K., 2002. Early acclimation response in grapes (*Vitis*). p. 93–107. In: Li, C., E.T Palva (eds). Plant Cold Hardiness. Kluwer Academic, New York, N.Y.
- Fennell, A., Wake, C. and Molitor, P., 1996. Use of $^1\text{H-NMR}$ to determine grape bud water.
- Ferguson, J. C., Tarara, J.M., Mills, L. J., Grove, G. G. and Keller, M., 2011. Dynamic thermal time model of cold hardiness for dormant grapevine buds. *Ann. Bot.* 107, 389–396.
- Ferguson, J.C., Moyer, M.M., Mills, L. J., Hoogenboom, G. and Keller, M., 2014. Modeling Dormant Bud Cold Hardiness and Bud break in Twenty-Three *Vitis* Genotypes.
- Fidan, Y., 1985. Özel Bağcılık. Ankara Üni. Ziraat Fakültesi Yay. No: 930, 401 s, Ankara.
- Flurkey, W.H., 1985. In vitro biosynthesis of *Vicia faba* polyphenoloxidase. *Plant Physiol.*, (79), 564-567.
- Fowler, S. and Thomashow, M.F., 2002. Arabidopsis transcriptome profiling indicates that multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the CBF cold response pathway, *Plant Cell*, 14, 1675-1690.
- Foyer, C. H., Lelandais, M., Kunert, K. J., 1994. Photooxidative stress in plants, *Physiol. Planta.*, 92, 696-717.
- Fridovich, I., 1991. *Curro Top. Plalll Physiol.* 6: 1-5.
- Fuller, M.P. and Telli, G., 1999. An investigation of the frost hardiness of grapevine (*Vitis vinifera*) during bud break. *Ann. Appl. Biol.* 135:589-595.
- Genisel, M., Turk, H. and Erdal, S., 2012. Exogenous progesterone application protects chickpea seedlings against chilling-induced oxidative stress. *Acta Physiol Plant* DOI 10.1007/s11738-012-1070-3.
- Gill, S.S. and Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants, *Plant Physiol. Biochem.*, 48, 909-930.
- Goldsmith, L.T., 2009. Freezing tolerance and dehydrin protein expression in ‘Frontenac’ and ‘Seyval blanc’ grapevine bark and xylem cane tissues during acclimation, midwinter, and deacclimation. MSc Dissertations, Iowa State University, p 94.
- Grant, T. N. and Dami, I. E., 2015. Physiological and Biochemical Seasonal Changes in *Vitis* Genotypes with Contrasting Freezing Tolerance. *American Journal of Enology and Viticulture*, ajev-2014.
- Grant, T. N. L., 2012. Characterization of Cold and Short Day Acclimation in Grape Genotypes of Contrasting Freezing Tolerance (Doctoral dissertation, The Ohio State University).
- Griffith, M., Ala, P., Yang, D. S. C., Hon, W. C., Moffatt, B. A., 1992. Antifreeze protein produced endogenously in winter rye leaves. *Plant Physiology*, (100), 593–596.
- Griffith, M., Antikainen, M., Hon, W. C., Pihakaski M. K., Yu, X. M., Chun, J.U., Yang, D. S. C., 1997. Antifreeze proteins in winter rye. *Physiologia Plantarum* 100, 327–332.
- Gu, S., Ding, P., Howard, S., 2002. Effect of temperature and exposure time on cold hardiness of primary buds during the dormant season in ‘Concord’, ‘Norton’, ‘Vignoles’ and ‘St. Vincent’ grapevines. *Journal of Horticultural Science and*

- Biotechnology 77: 635–639.
- Gusta, L., Wisiniewski, V., Nesbitt, M., Tanino, N. T., 2003. Factors to consider in Artificial freeze tests. *Acta Hort.* ISHS 618, 493-507.
- Guy, C. L., 1990. Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41, 187-223.
- Güleryüz, M., 1977. Erzincanda yetiştirilen bazı önemli elma ve armut çeşitlerinin pomolojileri ile dölleme biyolojileri üzerinde araştırmalar. Atatürk.Üniv. Zir. Fak. Yay. No:483, 229,180s, Erzurum.
- Güleryüz, M., 1995. Selection of the quality-fruited wild apricot (*Prunus armeniaca* L.) forms resident to spring late frost in Erzincan plain. *Acta Hort.* 488, 165-169.
- Hale, M. G., and Orcutt D. M., 1987. *The physiology of plants under stress*, John Wiley and Sons, 206p. New York.
- Hamman, Jr, R. A., Dami, I. E., Walsh, T. M. and Stushnoff, C., 1996. Seasonal carbohydrate changes and cold hardiness of Chardonnay and Riesling grapevines. *Am. J. Enol. Vitic.* 47:31-36.
- Hamman, Jr., R. A., Renquist, A.R. and Hughes, H. G., 1990. Pruning effects on cold hardiness and water content during deacclimation of Merlot bud and cane tissues. *Am. J. Enol. Vitic.* 41:251-260.
- Hamman, R. A., Jr., and Dami, I. E., 2000. Effects of irrigation on wine grape growth and fruit quality. *HortTechnology* 10:162-168.
- Hasanuzzaman, M. and Hossain, M. A., Teixeira da Silva, J. A., Fujita, M., 2012. Plant Responses and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defenses is a key factors. In: Bandi V, Shanker AK, Shanker C, Mandapaka M (eds) *Crop Stress and its management: Perspectives and strategies*. Berlin: Springer;. 261-316.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K. and Fujita, M., 2013. Extreme Temperature Responses, Oxidative Stress and Antioxidant Defense in Plants. Additional information is available at the end of the chapter: *Plant Responses and Applications in Agriculture* <http://dx.doi.org/10.5772/54833>.
- Hashempour, A., Ghasemnezhad, M., Ghazvini, R. F., Sohani, M. M., 2014. Olive (*Olea europaea* L.) freezing tolerance related to antioxidant enzymes activity during cold acclimation and non acclimation. *Acta Physiol. Plant* 36 3231–3241 10.1007/s11738-014-1689-3.
- He, Y. L., Liu, Y. L., Cao, W. X., Huai, M. F., Xu, B.G., Huang, B. G., 2005. Effects of salicylic acid on heat tolerance associated with antioxidant metabolism in Kentucky bluegrass. *Crop Sci.*, 45, 988-995.
- Heath, R. L. and Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys* 125 189-198.
- Heimdal, H., Larsen, L.M. and Poll, L. 1994. Characterization of polyphenol oxidase from photosynthetic and vascular lettuce tissues (*Lactuca saliva*). *J. Agric. Food. Chem.* 42, 1428-1433.
- Hincha, D. K., Meins, Jr, F., Schmitt, J. M., 1997. B-1,3-Glucanase is cryoprotective in vitro and accumulated in leaves during cold acclimation. *Plant Physiology* 114, 1077–1083.
- Hodges, D. M., Andrews, C. J., Johnson, D. A. and Hamilton, R. I., 1997. Antioxidant enzyme and compound responses to chilling stress and their combining abilities in differentially sensitive maize hybrids. *Crop Science* 37, 857–863.

- Hodges, D. M., Delong, J. M., Forney, C. F., Prange, R. K., 1999. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta* 207: 604–611.
- Hola, D., Kocova, M., Rothova, O., Wilhelmova, N., Benesova, M., 2007. Recovery of maize (*Zea mays* L.) inbreds and hybrids from chilling stress of various duration: Photosynthesis and antioxidant enzymes. *Journal of Plant Physiology* 164, 868-877.
- Hon, W. C., Griffith, M., Chong, P., Yang, D. S. C., 1994. Extraction and isolation of antifreeze protein from winter rye (*Secale cereale* L.) leaves. *Plant Physiol.*, (104), 971-980.
- Hoshino, T., Odaria, M., Yoshida, M., Tsuda, S., 1999. Physiological and biochemical significance of antifreeze substances in plants. *J. Plant Res.* 112, 255-261.
- Huang, M. and Guo, Z., 2005. Responses of antioxidant system to chilling stress in two rice cultivars differing in sensitivity. *Biologia Plantarum*, 49, 81-84.
- Hubácková, M., 1996. Dependence of grapevine bud cold hardiness on fluctuations in winter temperatures. *Am. J. Enol. Vitic.* 47: 100-102.
- İştar, A., 1968. Erzincan merkez ilçesinde yetiştirilen üzüm çeşitlerinin ampelografileri ile kuru madde, asit analizleri üzerine bir araştırma. *Atatürk. Üniv. Zir. Fak. Zir. Arş. Ens. Arş. Bülteni* No: 33,41s, Erzurum.
- Jaleel, C. A., Riadh, K., Gopi, R., Manivannan, P., Inès, J., Al Juburi, H. J., Chang Xing, Z., Hong Bo, S., Panneerselvam, R., 2009. Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints, *Acta Physiol. Planta.*, 31, 427-436.
- Jaleel, C. A., Sankar, B., Sridharan, R., Panneerselvam, R., 2008. Soil salinity alters growth, chlorophyll content, and secondary metabolite accumulation in *Catharanthus roseus*. *Turk. J. Biol.*, (32), 79–83.
- Jahlır, W., 1998. Studies on frost resistance of some grapevine cultivars. *Agric. Sci.* 7, 161-173.
- Jarillo, J.A., Capel, J., Leyva, A., Martinez Zapater, J. M., Salinas, J., 1994. Two related low-temperature-inducible genes of *Arabidopsis* encode proteins showing high homology to 14-3-3 proteins, a family of putative kinase regulators. *Plant Molecular Biology* 25, 693–704.
- Jimenez, A., Hernandez, J. A., Del Rio, L. A., Sevilla, F., 1997. Evidence for the presence of the ascorbate-glutathione cycle in mitochondria and peroxisomes of pea (*Pisum sativum* L.) leaves. *Plant Physiol* 114: 275–284.
- Jones, K. S., 2016. Cold hardiness and dormancy, pp 58-64. *Wines and Vines*, March 2016.
- Jones, K. S., Paroschy, J., McKersie, B. D., Bowley, S. R., 1999. Carbohydrate composition and freezing tolerance of canes and buds in *Vitis vinifera*. *J Plant Physiol* 155:101–106.
- Jouve, L., Engelmann, F., Noirot, M., Charrier, A., 1993. Evaluation of biochemical markers (sugar, proline, malondialdehyde and ethylene) for cold sensitivity in microcuttings of two coffee species. *Plant Sci.*, 91, 109-116.
- Kalberer, S. R., Wisniewski, M., Arora, R., 2006. Deacclimation and reacclimation of cold-hardy plants: current understanding and emerging concepts. *Plant Science* 171: 3–16.

- Kalkan, N. N., Karadoğan, B., Öz, M. H., Albayrak, S., 2011. Karaerik Üzüm Çeşidi İçin Uygun Terbiye Şekli ve Gövde Yüksekliğinin Belirlenmesi (I. aşama). Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü, Erzinan.
- Kanneganti, V. R., Rotz, C. A., Walgenbach, R. P., 1998. Modeling freezing injury in alfalfa to calculate forage yield: I. Model development and sensitivity analysis. *Agronomy Journal* 90: 687 – 697.
- Karimi, R., Ershadi, A., Esna, A. M., and Mashhadı, A. B. M., 2015. Seasonal Changes In Soluble Proteins, Total Phenol And Malondialdehyde Content And Their Relationship With Cold Hardiness Of Some Grapevine Cultivars. *Acta Physiologiae Plantarum* .999-1013.
- Karpinski, S. and Muhlenbock, P., 2007. Genetic, molecular and physiological mechanisms controlling cell death, defenses, and antioxidant network in response to abiotic and biotic stresses in plants, *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.*, 146, 60-66.
- Kaur, G., Kumar, S., Thakur, P., Malik, J.A., Bhandhari, K., Sharma, K. D., Nayyar, H., 2011. Involvement of proline in response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to chilling stress at reproductive stage. *Sci Horti* 128:174–181.
- Kaya, 2011. Üzümlü ilçesi (Erzinan) koşullarında yetiştirilen Karaerik üzüm çeşidinde koltuk sürgünü varlığının kış gözlerinin dona dayanımı üzerindeki etkilerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Kaya, Ö. ve Köse, C., 2016. Karaerik Üzüm Çeşidinde Koltuk Sürgünü Varlığının Kış Gözlerindeki Lipid Peroksidasyon Aktivitesine Etkisi. Uluslar arası Erzinan Sempozyumu. 28 Eylül - 1 Ekim 2016 (Basımda).
- Keller, M., 2015. The science of grapevines-anatomy and physiology. Burlington, MA: Academic Press.
- Keller, M., Mills, L. J., 2007. Effect of pruning on recovery and productivity of cold-injured Merlot grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture* 58: 351 – 357.
- Khanizadeh, S., Rekika, D., Levasseur, A., Groleav, Y., Richer, C., Fisher, H., 2005. The effects of different cultural and environmental factors on grapevine growth, winter hardiness and performance in three locations in Canada. *Small Fruit Rev.*, 4(3):3-28.
- Kim, C. Y., Lee, S. H., Park, H. C., Bae, C. G., Cheong, Y. H., Choi, Y. J., Han, C., Lee, S. Y., Lim, C. O. and Cho, M. J., 2000. Identification of rice blast fungal elicitor-responsive genes by differential display analysis. *MPMI*, 13 (4), 470–474.
- Knight, H. and Knight, M. R., 2000. Imaging spatial and cellular characteristics of low temperature calcium signature after cold acclimation in *Arabidopsis*, *J. Exp. Bot.*, 51, 1679-1686.
- Kovacs, L. G., Du, G. and Ding, P., 2002. Tissue moisture loss during sample preparation lowers exotherm temperatures in dormant grape buds. *HortScience*, 37(4), 701-704.
- Köse, C., 2002. Karaerik üzüm çeşidinin klon seleksiyon yoluyla ıslah üzerine bir araştırma. Atatürk. Üniv. Zir. Fak .Bahçe Bitkileri. Doktora tezi 2002.
- Köse, C., 2006. Temperature exotherms of dormant buds rootstock genotypes. Atatürk University, Faculty of Agriculture, Department of Horticulture, TR-25240

- Erzurum, Turkey.
- Köse, C., Güteryüz, M., 2009. Üzümlü İlçesi (Erzincan) Karaerik Üzüm Bağlarında 2007-2008 Kış Soğuklarının Kış Gözlerinde Yol Açtığı Zararlar. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Derg., 40(1): 55-60.
- Köse, C., Güteryüz, M., 2011. Üzümlü İlçesi (Erzincan) Karaerik Üzüm Bağlarında 2008-2009 Kış Soğuklarının Kış Gözlerinde Yol Açtığı Zararlar. Türkiye VI. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi 2011, Şanlıurfa. 215-222.
- Küpe, M., 2013. Üzümlü İlçesi (Erzincan) Koşullarında Yetiştirilen Karaerik Üzüm Çeşidinde Kış Soğuklarından Sonra Zarar Düzeyine Bağlı Olarak Uygun Budama Seviyelerinin Tespit Edilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Lean, S., 2011. Assessing and Managing Cold Damage in Vineyards Agricultural Services, SouthValley Sales/Grower's Supply.
- Lee, D. H. and Lee, C. B., 2000. Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gel enzyme activity assays, *Plant Sci.*, 159, 75-85.
- Leinonen, I., Repo, T., Hanninen, H., Burr, K. E., 1995. A second-order dynamic model for the frost hardiness of trees. *Annals of Botany* 76: 89 – 95.
- Leshem, Y. Y., 1987. Membrane phospholipid catabolism and Ca^{2+} activity in control of senescence. *Physiol Plant* 69 551-559.
- Levitt, J., 1980. Responses of plant to environmental stresses .1, Chilling freezing and high temperature stresses, 2nd Ed. New York Academic Press, 497 p.
- Li, S., 2014. Evaluation and Improvement of Freezing Tolerance in Cold Sensitive Grape Genotypes (Doctoral dissertation, The Ohio State University).
- Li, X. N., Cai, J., Liu, F. L., Dai, T. B., Cao, W. X., Dong, J., 2014. Physiological, proteomic and transcriptional responses of wheat to combination of drought or waterlogging with late spring low temperature. *Funct Plant Biol.* 41(7):690–703.
- Lin, K. H., Pai, F. H., Hwang, S. Y., Lo, H. F., 2006. Pre-treating paclobutrazol enhanced chilling tolerance of sweet potato. *Plant Growth Regul.*, (49), 249-262.
- Lin, S. Z., Zhang, Z. Y., Liu, W. F., Lin, Y. Z., Zhang, Q., Zhu, B. Q., 2005. Role of glucose-6-phosphate dehydrogenase in freezing—induced freezing resistance of *Populus suaveolens*. *J Plant Physiol Mol Biol* 35:34–40.
- Linden, L., 2002. Measuring cold hardiness in woody plants. Academic dissertation, University of Helsinki.
- Lipe, W. N. L., Baumhardt, C.W., Wendt and Rayburn, D. J., 1992. Differential thermal analysis of deacclimating Chardonnay and Cabernet Sauvignon grape buds as affected by evaporative cooling. *Am. J. Enol. Vitic.* 43:355-361.
- Liu, Q., Kasuga, M., Sakuma, Y., Abe, H., Miura, S., Yamaguchi Shinozaki, K., Shinozaki, K., 1998. Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low temperature responsive gene expression, respectively, in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 10: 1391–1406.
- Liu, Y. J., Jiang, H.F., Zhao, Z. G., An, L. Z., 2011. Abscisic acid is involved in brassinosteroids-induced chilling tolerance in the suspension cultured cells from *Chorispora bungeana*. *J Plant Physiol* 168:853–862.
- Liu, Y. J., Zhao, Z. G., Si, J., Di, C. X., Han, J., An, L. Z., 2009. Brassinosteroids alleviate chilling-induced oxidative damage by enhancing antioxidant defense

- system in suspension cultured cells of *Chorispora bungeana*. *Plant Growth Regul* 59:207–214.
- Liu, Z. J., Guo, Y. K., Bai, J. G., 2010. Exogenous hydrogen peroxide changes antioxidant enzyme activity and protects ultrastructure in leaves of two cucumber ecotypes under osmotic stress. *J. Plant Growth Regul.*, 29, 171–183.
- Luo, L., Lin, S. Z., Zheng, H. Q., Lei, Y., Zhang, Q., Zhang, Z. Y., 2007. The role of antioxidant system in freezing acclimation-induced freezing resistance of *Populus suaveolens* cuttings. *For Stud China* 9:107–113.
- Lynch, D. V. and Steponkus, P. L., 1987. Plasma membrane lipid alterations associated with cold acclimation of winter rye seedlings (*Secale cereale* L. cv. Puma). *Plant Physiology*, (83), 761-767.
- Lynn, J. M., Ferguson, J. N., Keller, M., 2006. Cold hardiness evaluation of grapevine buds and cane tissues. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(2):194-200.
- Lyons, J. M., 1973. Chilling injury in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 24, 445-466.
- Ma, Y. Y., Zhang, Y. L., Shao, H., Lu, J., 2010. Differential physio biochemical responses to cold stress of cold-tolerant and non-tolerant grapes (*Vitis* L.) from China. *J. Agron. Crop Sci.*, 196, 212-219.
- Mahajan, S. and Tuteja, N., 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview, *Arch. Biochem. Biophys.*, 444, 139-158.
- Martinson, T. E. and White, G. B., 2004. Estimate of crop and wine losses due to winter injury in the finger lakes.
- Martinson, T., 2001. How Grapevine Buds Gain and Lose Cold hardiness. *Appellation Cornell*, Issue 5. Available at: <https://grapesandwine.cals.cornell.edu/newsletters/appellation-cornell/2011newsletters/issue-5/how-grapevine-buds-gain-and-lose-cold>.
- Martz, F., Kiviniemi, S., Palva, T. E., Sutinen, M. L., 2006. Contribution of omega-3fatty acid desaturase and 3-ketoacyl-ACP synthase II (KASII) genes in the modulation of glycerolipid fatty acid composition during cold acclimation in birch leaves, *J. Exp. Bot.*, 57, 4, 897-909.
- Mattila, H., Khorobrykh, S., Havurinne, V. and Tyystjärvi, E., 2015. Reactive oxygen species: Reactions and detection from photosynthetic tissues. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 152.. 176–214.
- McKersie, B. D., Bowley, S. R., Jones, K.S., 1999. Winter survival of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutase. *Plant Physiol* 119:839–847.
- Meiering, A. G., Paroschy, J. H., Peterson, R. L., Hostetter, G. and Neff, A., 1980. Mechanical freezing injury in grapevine trunks. *Am. J. Enol. Vitic.* 31, 81-89.
- Michael, Sl., Huang, C. H., Romer, M. U., Wagner, E., Hu, P. C., Curiel, D. T., 1993. Binding incompetent adenovirus facilitates molecular conjugate-mediated gene transfer by the receptor-mediated endocytosis pathway. *J Biol Chem* 268:6866-6869.
- Mickelbert, M.V., Chapman, P., Collier-Christian, L., 2006. Endogenous levels and exogenous application of glycine betaine to grapevines. *Scientia Hortic.*, 111, 7-16.
- Mills, L. J., Ferguson, J. C., Keller, M., 2006. Cold-hardiness evaluation of grapevine buds and cane tissues. *American Journal of Enology and Viticulture* 57: 194 – 200.

- Min, K., Chen, K. and Arora, R., 2014. Effect of short-term versus prolonged freezing on freeze-thaw injury and post-thaw recovery in spinach: Importance in laboratory freeze-thaw protocols. *Environmental and Experimental Botany*, 106, 124-131.
- Mitler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, *Trends Plant Sci.*, 7, 405-410.
- Montano, J. M., Rebbubn, M., Hummer, K. and Lagerstedte, H. B., 1987. Differential thermal analysis for large scale evaluation for pear cold Hardiness. *Hort. Science* 22(6), 1335-1336.
- Moon, B. Y., Higashi, S., Gombos, Z., Murata, N., 1995. Unsaturation of the membrane lipids of chloroplasts stabilizes the photosynthetic machinery against low temperature photoinhibition in transgenic tobacco plants.
- Morsy, M. R., Jouve, L., Hausman, J. F., Hoffmann, L., Stewart, J. McD., 2007. Alteration of oxidative and carbohydrate metabolism under abiotic stress in two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes contrasting in chilling tolerance. *J. Plant Physiol.*, 164, 157-167.
- Mullins, M. G., Bouguet, A., Williams, L. E., 1992. *Biology of the Grapevine*. Cambridge University Press, Cambridge USA 239p.
- Mutlu, S., 2009. Salisilik asidin arpada (*Hordeum vulgare* L.) soğuk toleransını sağlama ve apoplastik ile simplastik proteinler üzerine etkilerinin incelenmesi. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Nakano, Y. and Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22:867-880.
- Nason, G. and Alessandro, C., 2010. Time series constationarity determination and test of stationarity. Ağustos 31.
- Nayyar, H., Bains, T. S., Kumar, S., 2005. Chilling stressed chickpea: effect of cold acclimation, calcium and abscisic acid on cryoprotective solutes and oxidative damage, *Environ. Exp. Bot.*, 54, 275-285.
- Ning, J., Ai, S., Yang, S., Cui, L., Chen, Y., Sun, L., Wang, R., Li, M. and Zeng, Z., 2015. Physiological and antioxidant responses of *Basella alba* to NaCl or Na₂SO₄ stress. *Acta Physiol Plant*, 37, 115-126.
- Noctor, G., Foyer, C. H., 1998. Ascorbate and glutathione keeping active oxygen under control. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 49:in press.
- Nus, N. L., J. L., Weigle and Schoradle, J. J., 1981. Superimposed amplified exotherm differential analysis system. *Hort.Science* 16:753-754.
- Odabaş, F., 1976. Erzinçan'da yetiştirilen bazı önemli üzüm çeşitlerinin floral gelişme devrelerinin tetkiki ile gözlerin buldukları yere göre verimliliğin saptanması ve bu çeşitlerin dölleme biyolojileri üzerinde araştırmalar. Atatürk Üniversitesi Yayınları No:466, Araştırma Serisi No:141. 130s. Erzurum.
- Or, E., Vilozny, I., Eyal, Y., Ogradovitch, A., 2000. The transduction of the signal for grape bud dormancy breaking induced by hydrogen cyanamide may involve the SNF-like protein kinase GDBRPK. *Plant Mol Biol* 43:483-94.
- Oraman, N., 1972. Bağcılık Tekniği II. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 62, 231, s, Ankara.
- Ortega Garcí'a, F., Perago'n, J., 2009. The response of phenylalanine ammonia-lyase, polyphenol oxidase and phenols to cold stress in the olive tree (*Olea europaea* L. cv. Picual). *J Sci Food Agric* 89:1565-1573.

- Öktem, H. A., Eyidoğan, F., Demirba, D., 2008. Antioxidant responses of lentil to cold and drought stress. *J Plant Biochem Biotechnol* 17: 15-21.
- Örvar, B. L., Sangwan, V., Omann, F., Dhindsa, R. S., 2000. Early steps in cold sensing by plant cells: the role of actin cytoskeleton and membrane fluidity, *Plant J.*, 23, 785-794.
- Özbek, S., 1955. Bağ-Bahçe Bitkilerinin Islahı. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 62, 231 s, Ankara.
- Park, E.J., Jeknić, Z., Chen, T.H., 2006. Exogenous application of glycinebetaine increases chilling tolerance in tomato plants, *Plant Cell Physiol.*, 47, 706-714.
- Parvanova, D., Ivanov, S., Konstantinova, T., Karanov, E., Atanassov, A., Tsvetkov, T., Alexieva, V., Djilianov, D., 2004. Transgenic tobacco plants accumulating osmolytes show reduced oxidative damage under freezing stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 42, 57-63.
- Pierquet, P., Stushnoff, C. and Burke, M. J., 1977. Low temperature exotherms in stem and bud tissues of *Vitis riparia* Michx. *J. Amer. Hort. Sci.* 102:54-55.
- Pierquet, P., Stushnoff C. 1980. Relationship of low temperature exotherms to cold injury in *Vitis riparia* Michx. *American Society for Enology and Viticulture*, 31: 1-6.
- Pinheiro, C., Passarinho, J. A., Ricardo, C. P., 2004. Effect of drought and rewatering on the metabolism of *Lupinus albus* organs, *J. Plant Physiol.*, 161, 1203-1210.
- Plieth, C., Hansen, U. P., Knight, H., Knight, M. R., 1999. Temperature sensing by plants: the primary characteristics of signal perception and calcium response. *The Plant Journal* 18(5):491-497.
- Posmyk, M. M., Bailly, C., Szafranska, K., Janas, K. M., Corbineau, F., 2005. Antioxidant enzymes and isoflavonoids in chilled soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seedlings, *J. Plant Physiol.*, (162), 403-412.
- Prasad, T. K., Anderson, M. O. and Stewart, C. R., 1994. Acclimation, hydrogen peroxide, and abscisic acid protect mitochondria against irreversible chilling injury in maize seedlings. *Plant Physiol.* 105, 619-627.
- Puvısac, Y. Y., 1982. Sugar and protein accumulation of grape fruit and leaves during cold hardening of young trees. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 02, 222-226.
- Quamme, H. A., 1983. Relationship of air temperature to water content and supercooling of overwintering peach flower buds. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 108, 697-701.
- Quamme, H. A., 1991. Application of thermal analysis to breeding fruit crops for increased cold hardiness. *HortSci.* 26:513-517.
- Quamme, H. A., Su, W. A. and Veto, L. J., 1995. Anatomical features facilitating supercooling of the flower within the dominant peach flower bud. 3. *Amer. Soc. Hort. Sci.* 120, 814-822.
- Queiroz, C. G. S., Alonso, A., Mares Guia, M., Magalhães, A. C., 1998. Chilling-induced changes in membrane fluidity and antioxidant enzyme activities in *Coffea Arabica* L. roots. *Biol. Plant.* 41:403-413.
- Rajashekar, C. B. and Reid, W., 1989. Deep supercooling in stem and bud tissues of pecan. *HortScience* 24:348-350.
- Rajashekar, C., Westwood, M. N. and Burke, M. J., 1982. Deep supercooling and cold hardiness in genus *Cyrus*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 107:968-972.
- Richardson, E. A., Seeley, S. D., Walker, D. R., 1974. A model for estimating the

- completion of rest for 'Redhaven' and 'Elberta' peach trees. Hort Science. 9:331–332.
- Ruelland, E. and Zachowski, A., 2010. How plants sense temperature, Environ. Exp. Bot., 69, 225-232.
- Ruelland, E., Vaultier, M. N., Zachowski, A., Hurry, V., 2009. Cold signalling and cold acclimation in plants, Adv. Bot. Res., 49, 35-150.
- Sagisaka, S., 1974. Transition of metabolisms in living poplar bark from growing to wintering stage and vice versa. Plant Physiol. 54, 544-549.
- Said, Q. S. A. I. B., Ez zohra, I. F., Mohamed, F. A. I. Z. E. and Tayeb, K. O. U. S. S. A., 2014. Changes in levels of hydrogen peroxide and phenolic compounds in grapevine latent buds during the annual cycle. International Journal of Scientific and Research Publications, 61.
- Sakai, A. and Larcher, W. L., 1987. Frost survival of plant responses and adaptation to freezing stress Spring- Verlag, Berlin p: 1-137.
- Salzman, R. A., Bressan, R. A., Hasegawa, P. M., Ashworth, E. N., Bordelon, B. P., 1996. Programmed accumulation of LEA-like proteins during desiccation and cold acclimation of over wintering grape buds. Plant Cell Environ 19:713–720.
- Samancı, H., 1985. Bağcılık. Tarımsal Araştırmaları Destekleme ve Geliştirme Vakfı, Yayın No: 10, 87 s, Yalova.
- Sang, H. L., Ahsan, N., Lee, K. W., Kim, D. H., Lee, D. G., Kwak, S. S., Kwon, S. Y., Kim, T. H., Lee, B. H., 2007. Simultaneous overexpression of both Cu/Zn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in transgenic tall fescue plants confers increased tolerance to a wide range of abiotic stresses, J. Plant Physiol., 64, 1626-1638.
- Schnabel, B. J., Wample, R. L., 1987. Dormancy and cold hardiness in *Vitis vinifera* L. cv. White Riesling as influenced by photoperiod and temperature. American Journal of Enology and Viticulture 34: 265–272.
- Seyedbagheri, M. M. and Fallahi, E., 1994. Physiological and environmental factors and horticultural practices influencing cold hardiness of grapevines. J. Small Fruit Vitic. 2:3-38. Viticult. 43:171–179.
- Slater, J. V., Warmund, M. R., George, M. F. and Ellersieck, M. R., 1991. Deacclimation of winter hardy Seyval blanc grape tissue after exposure to 16-degrees-C. Scientia Hort. 45(3):273-285.
- Smallwood, M. and Bolwes, D. J., 2002. Plants in a cold climate, Phil. Trans. R. Soc. Lond. B, 357, 831-847.
- Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D., Fujimoto, E. K., Goeke, N. M., Olson, B. J. and Klenk, D. C., 1985. Measurement of protein using bicin chonic acid. Analytical Biochemistry, 150, 76-85.
- Stepokus, P. L., 1982. Plant cold hardiness and freezing stress: mechanisms and crop implications. Acad. Press 02, 459-474.
- Stergios, B. G. and Howell, G. S., 1977. Effect of site on cold acclimation and deacclimation of Concord grapevines. Am. J. Enol. Vitic. 28:43-48.
- Stockinger, E. J., Gilmour, S. J., Thomashow, M. F., 1997. *Arabidopsis thaliana* *CBF1* encodes an AP2 domain-containing transcriptional activator that binds to the C-repeat/DRE, *acis*-acting DNA regulatory element that stimulates transcription in response to low temperature and water deficit. Proc Natl Acad Sci USA

- 94:1035–1040.
- Stushnoff, and Burke, M.J., 1977. Low temperature exotherms in stem and bud tissues of *Vitis riparia* Michx. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 102(1):54-55.
- Stushnoff, C., Remmek, R. L., Jr., Essences, V. and McNell, M., 1993. Low temperature induced biochemical mechanisms implications for cold acclimation and deacclimation, in interacting stresses on plants in changing climate. Edited by M.B.Jackson and C.R. Black Sprenger Verlag Berlin. NATO ASI Ser. I: 16. Pp.647-657.
- Stushnoff, C., Seufferheld, M. J. and Creegan, T., 1998. Oligosaccharides as endogenous cryoprotectants in woody plants. Pages 301-309 in P.H. Li and T.H.H. Chen, eds. Plant cold hardiness: Molecular biology, biochemistry and physiology. Plenum Press, New York.
- Sudhakar, C., Lakshmi, A., Giridarakumar, S., 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. Plant Sci. 161: 613–619.
- Suzuki, N. and Mittler, R., 2006. Reactive oxygen species and temperature stresses: a delicate balance between signaling and destruction. Physiologia Plantarum., , 126, 45-51.
- Taji, T., Ohsumi, C., Iuchi, S., Seki, M., Kasuga, M., Kobayashi, M., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K., 2002. Important roles of drought- and cold-inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. The Plant Journal. 29: 417-426.
- Tandy, N., Digulio, R., Richardson, C., 1989. Assay and electrophoresis of superoxide dismutase from red spruce (*Picea rubens* Sarg.), loblolly pine (*Pinus taeda* L.), and Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.) *Plant Physiology* 90,742–748.
- Tao, D. L., Jin, Y. H., 1992. Organic free radicals and free-radical scavengers in overwintering conifer needles. Sci Silvae Sin 28:194–197.
- Taşgın, E., 2004. Düşük sıcaklık ve salisilik asidin kışlık buğday yapraklarındaki donma toleransı, oksidatif enzim aktiviteleri ve apoplastik proteinler üzerine etkileri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Taşgın, E., Atıcı, Ö., Nalbantoğlu, B., Popova L.P., 2006. Effects of salicylic acid and cold treatments on protein levels and on the activities of antioxidant enzymes in the apoplast of winter wheat leaves. Phytochemistry (67), 710-715.
- Tester, M. and Davenport, R., 2003. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants, Ann. Bot., 91, 503-527.
- Theocharis, A., Clemente, C. and Barka, E. A., 2012. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures. *Planta* 235, 1091–1105.doi: 10.1007/s00425-012-1641.
- Thomashow, M. F., 2001. So what's new in the field of plant cold acclimation Lots Plant Physiol 125:89–93.
- Thomashow, M.F., 1999. Plant cold acclimation, Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 50, 571-599.
- Turan, M., Gulluce, M. and Şahin, F., 2012. Effects of Plant-GrowthPromoting Rhizobacteria on Yield, Growth, and Some Physiological Characteristics of Wheat and Barley Plants, Communications in Soil Science and Plant Analysis, 43:12, 1658-1673.
- Turan, Ö., 2012. Nohut Çeşitlerinde Düşük Sıcaklığa Dayanıklılığın Fizyolojik,

- Biyokimyasal ve Moleküler Düzeyde İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Anabilim Dalı (Doktora Tezi).
- TÜİK, 2015. Eşim tarihi: 15.07.2016. <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>.
- TÜİK, 2016. <http://www.tuik.gov.tr/Start.do;jsessionid=ysGXYgGPJ4k2Gbrk0BqF2MW9HZ>.
- Uemura, M. and Steponkus, P. L., 1989. Effect of cold acclimation on the incidence of two forms of freezing injury in protoplasts isolated from rye leaves, *Plant Physiol.*, 91, 1131-1137.
- Uemura, M., Joseph, R. A. and Stponkus, P. L., 1995. Cold acclimation of *Arabidopsis thaliana*: Effect on plasma membrane lipid composition and freeze-induced lesions. *Plant Physiol.* 109,15-30.
- Uemura, M., Tominaga, Y., Nakagawara, C., Shigematsu, S., Minami, A., Kawamura, Y., 2006. Responses of the plasma membrane to low temperatures, *Physiol. Planta.*, 126, 81-89.
- Urritia, M., Duman, J., Knight, C., 1992. Plant thermal hysteresis proteins. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1121-199.
- Ülkümen, L., 1973. Bağ-Bahçe Ziraati. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fak. Yayınları No:275, Erzurum.
- Verslues, P. E., Kim, Y. S. and Zhu, J. K., 2007. Altered ABA, proline and hydrogen peroxide in an *Arabidopsis* glutamate: glyoxylate amino transferase mutant. *Plant. Mol. Biol.* 64, 205–217.
- Vigh, L., Maresca, B., Harwood, J. L., 1998. Does the membrane's physical state control the expression of heat shock and other genes, *Trends Biochem. Sci.* 23, 369-374.
- Vranova, E., Inze, D. and Van, Breusegem, F., 2002. Signal transduction during oxidative stress. *J.Exp.Bot.* 53, 1227-1236.
- Wake, C. F. M. and Fennell, A., 2000. Morphological, physiological and dormancy responses of three *Vitis* genotypes to short photoperiod. *Physiol. Plant.* 109:203-210.
- Wample and Bary, A., 1992. Harvest date as a factor in carbohydrate storage and freezing tolerance of Cabernet Sauvignon grapevines. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 117: 32-36.
- Wample, R. L., Reisenauer, G., Bary, A., Schuetze, F., 1990. Microcomputer-controlled freezing, data acquisition and analysis system for cold hardiness evaluation. *Hort Science* 25: 973–976.
- Wample, R. L., Spayd, S. E., Evans, R. G., Stevens, R. G., 1991. Nitrogen fertilization and factors influencing grapevine cold hardiness. *Int. Sym. on Nitrogen in Grapes and Wine*, 120-125.
- Wang, L. X., Zhang, F. R., Li, R. F., Liang, Y. R., Liu, Y., 2000. The morphologic characteristics of starch grain in grape shoots and its relationship to cold resistance. *Acta Hortic. (China)* 27, 85-89.
- Wang, R. F., 1987. The kinds of plant hardiness criteria and their application. *Plant Physiology Communications (China)* 03, 49-55
- Wang, X., Li, W., Li, M., Welti, R., 2006. Profiling lipid changes in plant response to low temperatures, *Physiol. Planta*, 126, 90-96.
- Wang, Z. L. and Huang, B. R., 2004. Physiological recovery of Kentucky bluegrass from simultaneous drought and heat stress. *Crop Sci.* 44, 1729–1736.

- Wanping, Z., Biao, J., Weiguan, Li., Hui, Song., Yong song Yu. and Jinfeng, C., 2009. Polyamines enhance chilling tolerance of cucumber (*Cucumis sativus* L.) through modulating antioxidative system. *Scientia Horticulturae*. 122 (2), 200-208.
- Warmund, M., Milon, G. and Takeda, F., 1991. Süpercolling in floral buds of danka black and red lake red currants. *J. Amer Soc. Hort. Sci.*, 116(6): 1030-1034.
- Warmund, M.R., M.F. George, and J.R. Clark. 1986. Bud mortality and phloem injury of six blackberry cultivars subjected to low temperatures. *Fruit Var. J.* 40(4): 144-146.
- Weiser, C., J. 1970. Cold Resistance and Injury in Woody Plants. *Science* 169: 1269-1278.
- Williams, L. E., Dokoozlian, N. K., Wample, R., 1994. Grape. In: B. Schaffer, P. C. Andersen (Eds.): *Handbook of Environmental Physiology of Fruit Crops*. Vol. I: Temperate crops, 85-133. CRC Press, Orlando.
- Williamson, J. D., Jennings, D. B., Guo, W., Pharr, D. M., Ehrenshaft, M., 2002. Sugar alcohols, salt stress and fungal resistance: polyols – multifunctional plant protection, *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 127, 467-473.
- Willwerth, J., Jasinski, M. and Dowling, L., 2014. Impact of Cultural Practices on Cold Hardiness Dynamics of six *V. vinifera* cultivars. American Society for Enology and Viticulture. 65th ASEV National Conference and 39th ASEV-ES Conference, Austin TX. 23-27 June, <http://www.asev.org/sites/main/files/file-attachments/2014technicalabstracts.pdf>.
- Winkler, A. J., Cook, J. A., Kliewer, W. M. and Lider, L. A., 1974. *General Viti culture*. University of California Press, Berkeley, p. 60.
- Wise, R. R., 1995. Chilling-enhanced photooxidation: the production, action and study of reactive oxygen species produced during chilling in the light. *Photosynth Res* 45:79–97.
- Wisniewski, M. and Arora, R., 1993. Adaption and response of fruit trees to freezing temperatures, p. 299–320. In: A.R. Biggs (ed.). *Cytology, histology, and histochemistry of fruit tree diseases*. CRC Press, Boca Raton, Fla.
- Wisniewski, M. and G. Davis., 1995. Immuno gold localization of pectins and glycol proteins in tissues of peach with reference to deep supercooling. *Trees* 9:253–260.
- Wisniewski, M., Bassette, C. and Gusta, L. V., 2003. An Overview of Cold Hardiness in Woody Plants: Seeing the Forest Through the Trees. *Hort science*. 38(5):952-959.
- Wisniewski, M., Webb, R., Balsamo, R., Close, T. J., Yu, X. M., Griffith, M., 1999. Purification, immunolocalization, cryoprotective, and antifreeze activity of PCA60: a dehydrin from peach (*Prunus persica*). *Physiologia Plantarum* 105, 600–608.
- Wither, L. A. and King, P.J., 1979. A noted cryoprotectand for the freeze preservation of cultured cells of *Zea mays* L. *Plant Physiol.* 64, 675-678.
- Wolf, T. K. and Cook, M., 1992. Seasonal deacclimation patterns of 3 grape cultivars at constant warm temperature. *Am. J. Enol. Vitic.* 43:171-179.
- Wolf, T. K. and M.K. Cook. 1994. Cold hardiness of dormant buds of grape cultivars: comparison of thermal analysis and field survival. *HortScience* 29, 1453-1455.
- Wolpert, J. A. and Howell, G.S., 1985a. Cold acclimation of Concord grapevines. I.

- Variation in cold hardiness within the canopy. *Am. J. Enol. Vitic.* 36:185-188.
- Wolpert, J. A. and G.S. Howell., 1985b. Cold acclimation of Concord grapevines. II. Natural acclimation pattern and tissue moisture decline in canes and primary buds of bearing vines. *Am. J. Enol. Vitic.* 36:189-194.
- Wolpert, J. A. and Howell, G. S., 1984. Effects of cane length and dormant season pruning date on cold hardiness and water content of concord bud and cane tissues. *Am. J. Enol. Vitic.* 35:237-241.
- Wolpert, J.A. and Howell, G.S., 1986a. Cold acclimation of Concord grapevines. Relationship between cold hardiness, tissue water content, and maturation. *Vitis* 25:151-159.
- Wolpert, J.A. and Howell, G.S., 1986b. Effect of night interruption on cold acclimation of potted 'Concord' grapevines. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 111:16-20.
- Wood, E. S. and Simith, C. A., 1991. Molecular and Cell Biochemistry. Isolation and characterization of an antifreeze protein with ice nucleation activity from the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Can J Microbiol* 44, 64–73.
- Xi, Z., Wang, Z., Fang, Y., Hu, Z., Hu, Y., Deng, M., and Zhang, Z., 2013. Effects of 24-epibrassinolide on antioxidation defense and osmoregulation systems of young grape vines (*V. vinifera* L.) under chilling stress. *Plant Growth Regul* Doi 10.1007/s10725-013-9809-4.
- Xiao, H, Siddiqua, M., Braybrook, S., Nassuth, A., 2006. Three grape CBF/DREB1 genes respond to low temperature, drought and abscisic acid. *Plant, Cell and Environment.* 29:1410–1421.
- Xu, P. L., Guo, Y.K., Bai, J.G., Shang, L., Wang, X. J., 2008. Effects of long-term chilling on ultrastructure and antioxidant activity in leaves of two cucumber cultivars under low light, *Physiol. Planta.*, 132, 467-478.
- Yadava, U. L., Doud, S. L. and Weavear, D. J., 1978. Evaluation of different Metbots to Assess Cold Hardiness of Peach Trees. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 103(3), 318-321.
- Yang, D. S. C., Sax, A., Chakrabarty, A., Hew, C.L., 1982. Crystal structure of an antifreeze polypeptide and its mechanistic implications. *Nature*, (333), 232-237.
- Yang, S.J., Hosokawa, M., Mizuta, Y., Yun, J.G., Mano, J., Yazawa, S., 2001. Antioxidant capacity is correlated with susceptibility to leaf spot caused by a rapid temperature drop in *Saintpaulia* (*African violet*). *Sci. Hort.*, 88, 59-69.
- Ye, Y., Tam, N. F. Y., Wong, Y. S. and Lu, C. Y., 2003. Growth and physiological responses of two mangrove species (*Bruguiera gymnorrhiza* and *Kandelia candel*) to waterlogging. *Environmental and Experimental Botany.*, 49, 209-221.
- Yemenicioğlu, A., Özkan, M. and Cemeroglu, B., 1997. Heat inactivation kinetics of apple polyphenoloxidase and activation of its latent form. *J. Food Sci.* 62, 508–510.
- Yildiztugay, E., Konakçı, C. Ö. and Küçükök, M., 2014. Exogenous nitric oxide (as sodium nitroprusside) ameliorates polyethylene glycol-induced osmotic stress in hydroponically grown maize roots. *J Plant Growth Regul*, 33, 683–696.
- Yordanova, R. Y., Christov, K. N. and Popova, L. P., 2004. Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany*, 51, 93-101.
- Yu, X. M. and Griffith, M., 2001. Winter rye antifreeze activity increases in response to cold and drought, but not abscisic acid. *Physiologia Plantarum* 112, 78–86.

- Yu, X. M. and Griffith, M., Wiseman, S. B., 2001. Ethylene induces antifreeze activity in winter rye leaves. *Plant Physiology* 126, 1232– 1240.
- Zabadal, T. J., Dami, I. E., Goffinet, M. C., Martinson, T. E. and Chien, M. L., 2007. Winter injury to grapevines and methods of protection, Michigan State University Publications on Grape Production, Michigan, USA, p. 36-37.
- Zabalza, A., Gálvez, L., Marino, D., Royuela, M., Arrese Igor, C., González, E. M., 2008. The application of ascorbate or its immediate precursor, galactono-1, 4-lactone, does not affect the response of nitrogen-fixing pea nodules to water stress, *J. Plant Physiol*, 165, 805-812.
- Zhang, J., Wu, X., Niu, R., Liu, Y., Liu, N., Xu, W., Wang, Y., 2012. Coldresistance evaluation in 25 wild grape species. *Vitis* 51:153–160.
- Zhao, D. Y., Shen, L., Yu, M. M., Zheng, Y. and Sheng, J. P., 2009. Relationship between activities of antioxidant enzymes and cold tolerance of postharvest tomato fruits. *Food Science*. 14, 309-313.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Erzurum'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Erzurum'da tamamladı. 2009 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünden 2013 yılında mezun oldu. 2013 yılında başladığı Atatürk Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda lisansüstü öğrenimine devam etmektedir.

