



Determination of Morphological and Biochemical Responses of Some Cherry Rootstocks to Calcium Stress under *In Vitro* Conditions

Muzaffer İpek^{1,a}, Şeyma Arıkan^{1,b,*}, Lütfi Pırlak^{1,c}, Ahmet Eşitken^{1,d}, Murat Şahin^{5,e}

¹University of Selçuk, Department of Horticulture, Konya, Türkiye

⁵University of Siirt, Department of Horticulture, Konya, Türkiye

*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Research Article</i></p> <p>Received : 19-06-2023 Accepted : 21-08-2023</p> <p>Keywords: Antioxidant Enzymes Calcium <i>In vitro</i> Sweet cherry rootstocks Abiotic stress</p>	<p>High calcium content in the soil is an important abiotic stress factor that limits the yield and survival of plants. While calcareous soils cover more than 30% of the land worldwide, the soils in almost all regions of our country, except for the Black Sea region, have a high calcium content. Fruit species, including cherries, are generally highly sensitive to high calcium content. In this context, the presence of rootstocks that provide tolerance to high calcium content in fruit cultivation and the determination of the tolerance of existing rootstocks to calcium are of great importance. Therefore, this study aims to determine the morphological and biochemical responses of Mazzard, Mahaleb, MaxMa 14, CAP-6P, and PHL-C rootstocks, which were propagated under <i>in vitro</i> conditions, to different levels of calcium (Control, 1.0%, 3.0%, and 5.0% CaCO₃). Under stress conditions, in addition to morphological characteristics such as plant height, root development, leaf area, plant fresh and dry weight, leaf relative water content, and membrane permeability, biochemical characteristics such as catalase, peroxidase, superoxide dismutase, hydrogen peroxide, proline, and protein content, as well as iron activities (iron content in plants, active iron content, iron chelate reductase activity in plants, and iron chelate activity in roots) were determined in stressed plants. In the experiment, it was determined that as the CaCO₃ level increased in the medium, the tolerance of the rootstocks decreased. However, measurements taken on the 15th day of the experiment revealed that the MaxMa-14 cherry rootstock showed better growth compared to other cherry rootstocks.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 11(9): 1648-1655, 2023

*In Vitro*da Yetiştirilen Bazı Kiraz Anaçlarının Kireç Stresine Gösterdiği Tepkiler

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Araştırma Makalesi</i></p> <p>Geliş : 19-06-2023 Kabul : 21-08-2023</p> <p>Anahtar Kelimeler: Antioksidan Enzimler <i>In vitro</i> Kiraz Anaçları Kireç Abiotik stres</p>	<p>Topraktaki yüksek kireç içeriği bitkilerin verimini ve yaşamını sınırlandıran önemli abiyotik stres faktörlerindedir. Kireçli topraklar dünyadaki karaların %30'dan fazlasını kaplarken, ülkemizde ise Karadeniz Bölgesi hariç hemen hemen tüm bölgelerimizin topraklarının kireç içeriği oldukça yüksektir. Kiraz da dâhil olmakla birlikte meyve türleri genel olarak yüksek kireç içeriğine oldukça duyarlıdır. Bu bağlamda meyve yetiştiriciliğinde topraktaki yüksek kireç içeriğine dayanıklılık sağlayan anaçların varlığı ve mevcut anaçların kirece dayanımının belirlenmesi önem arz etmektedir. Bu amaçla, <i>in vitro</i> koşullarda çoğaltılan Kuş kirazı, Mahlep, MaxMa 14, CAP-6P ve PHL-C anaçlarının farklı kireç seviyelerinde (Kontrol, %1,0, %3,0 ve %5,0 CaCO₃) morfolojik ve biyokimyasal tepkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Stres altındaki bitkilerde, bitki ve kök gelişimi gibi morfolojik özellikleri ile membran geçirgenliği ve yaprak oransal su içeriği gibi fizyolojik özelliklerinin yanında, peroksidaz, süperoksidaz dismutaz, hidrojen peroksit, prolin ve protein miktarı gibi biyokimyasal özellikler ve demir aktiviteleri (bitkilerde demir içeriği, aktif demir içeriği, bitkilerde demir şelat redüktaz aktivitesi ve köklerde demir şelat aktivitesi) belirlenmiştir. Denemede ortamda CaCO₃ seviyesi arttıkça anaçların dayanımının azaldığı belirlenmiştir. Ancak denemenin 15. gününde yapılan ölçümlerde MaxMa-14 kiraz anaçının diğer kiraz anaçlarına göre daha iyi bir gelişim gösterdiği tespit edilmiştir.</p>

^a mipek@selcuk.edu.tr

^c pirlak@selcuk.edu.tr

^e muratsahin@siirt.edu.tr

^b <https://orcid.org/0000-0002-5773-7236>

^d <https://orcid.org/0000-0003-3630-3591>

^e <https://orcid.org/0000-0002-5667-5483>

^b arikan@selcuk.edu.tr

^d aesitken@selcuk.edu.tr

^b <https://orcid.org/0000-0002-4328-0263>

^e <https://orcid.org/0000-0002-6140-7782>



Giriş

Toprak verimliliği, bitki besin yönetimi ile ilişkili karmaşık bir kalite özelliğidir. Toprağın verimlilik özelliği, mevcut besin durumu ve kendi rezervlerinden besin sağlama yeteneği üzerine odaklanır. Toprak verimliliği kontrol edilebilir ve kısa ve uzun vadede sürdürülebilir tarım üretimi için bitki beslenmesinin optimizasyonu açısından çok önemlidir (Vose, 1983). Biyolojik, kimyasal ve fiziksel pek çok toprak özelliği besin elementi dinamiklerini ve elverişliliğini doğrudan ve dolaylı olarak etkilemektedir. Bitki büyümesinin en üst düzeyde olması için yeterli miktarda mineral besin sağlanması gereklidir. Ancak, toprakta yeterli miktarlarda temel besin maddeleri bulunmasına rağmen, bitkilerde bu mineral besinlerin bulunmaması nedeniyle hala eksiklikler gösterebilir. Bitkiler, mikro besin ihtiyaçlarını kök bölgesinde bulunabilirliklerine bağlı olarak karşılar. Mikro besinlerin geçici havuzdan kazanılması, topraktaki biyolojik faaliyetler, çevrenin fiziksel faktörleri (sıcaklık, pH, ışık yoğunluğu vb.) ve kültürel uygulamalar tarafından da etkilenir. Bitkilerin genetik özellikleri ve stres eğilimleri de mikro besinlerin kazanılmasını etkiler (İpek ve Eşitken, 2017). Bitki beslenmesinin ve tarımsal üretimin kullanılabilirliğini sınırlayan birçok faktör bulunmaktadır. Bunlardan ilki, kurak ve yarı kurak iklim özelliklerine sahip olan 600 milyon hektardan fazla alanı kaplayan kireçtir ve diğeri tuzluluktur (Leytem ve Mikkelsen, 2005; Li ve ark., 2005). Kalkerli topraklar, toprak-su ilişkileri, verimlilik ve bitki büyümesi ile ilgili olarak toprağın fiziksel ve kimyasal özelliklerini doğrudan etkiler. Subtropikal ve yarı kurak alanlarda, toprak tuzluluğu ve alkaliliği ile çinko ve demir ile ilişkili beslenme problemleri yaygındır (Çelik ve ark., 2012). Bu topraklar genellikle yüksek pH'a sahip ortamlarda fosforun kalsiyum ile kompleks bileşikler oluşturması ve demir, mangan, çinko, bakır ve bor gibi mikro besin elementlerinin düşük çözünürlüğü nedenlerinden dolayı besin elementlerinin elverişliliğinin zayıf olan topraklar olarak nitelendirilir (Marschner, 1995). Bundan dolayı, kireçli topraklarda yetiştirilen bitkilerde özellikle de duyarlı meyve türlerinde en sık karşılaşılan sorun P ve Fe gibi elementlerin noksanlıklarıdır. Bu açıdan yetiştirilen meyve türlerinin kireç kaynaklı kloroz duyarlılığını bilmek önemlidir. Kireç kaynaklı kloroz duyarlılığı açısından meyve türlerinin, duyarlıdan toleranslıya doğru sıralaması maviyemiş> çilek> şeftali> armut> kivi> kiraz> erik> elma> vişne şeklindedir (Wertheim ve Webster, 2005).

Ülkemizde Karadeniz Bölgesi hariç diğer bölgelerimizin hemen hemen tamamı yüksek kireçli toprak özellikleri göstermektedir. Bundan dolayı, Türkiye'de toprak kireç miktarının yüksekliğine bağlı olarak birçok bölgede diğer yaprağını dökmeyen meyvelerle beraber armut, şeftali, ayva, elma, erik ve birçok meyve türünde kireçli topraklarla ilişkili Fe klorozuna sıkça karşılaşılmaktadır. Kirece bağlı oluşan kloroz dolayısıyla hem önemli verim kayıpları gerçekleşmekte hem de üretici sorunu çözmek için fazla gübre kullanımına giderek girdi masraflarını artırmaktadır. Bu açıdan meyve yetiştiriciliğinde girdi masraflarını azaltacak, kireç kaynaklı beslenme sorunlarını hafifletecek, hızlı ve uzun süre etkili uygulamaların geliştirilmesi büyük öneme sahiptir. Bu da yetiştiricilikte dayanıklı anaçların

kullanılması ile giderilmektedir. Ancak bu uygulama her meyve türü için sorunu çözmeye yeterli gelmemektedir. Bazı türlerde toleranslı anaçların varlığı mevcut olmazken bazı türler için kullanılan anaçların stres şartlarındaki tepkileri bilinmemektedir. Bu konu ile ilgili çalışmalar daha çok arazi ve saksı şartlarında (Turunçgiller, Şeftali, Armut ve Ayva) yapılmış olsa da *in vitro* şartlarda yapılan çalışmalarda ise çoğu asma anaçlarında olmak üzere armut ve şeftalide çok az çalışma mevcuttur. Bu bağlamda hem arazi hem de doku kültüründe kiraz anaçları ile ilgili literatürler sınırlı kalmıştır.

Materyal ve Yöntem

Çalışmada, *in vitro* şartlarda yetiştirilen Kuş kirazı, Mahlep, MaxMa-14, CAP-6P ve PHL-C anaçlarının farklı kireç seviyelerinde morfolojik ve biyokimyasal tepkileri belirlenmiştir. Denemede 4 farklı kireç seviyesi (Kontrol, % 1,0 CaCO₃, % 3,0 CaCO₃ ve % 5,0 CaCO₃) uygulanmıştır.

Mikro Çeliklerin Yüzey Sterilizasyonu ve Bitkilerinin Çoğaltılması

Doku kültüründe çoğaltılan ve dış ortamda büyümesi sağlanan donör bitkilerden alınan sürgünlerin üzerindeki yapraklar temizlenerek yarım saat musluk suyunda tutulmuşlardır. Daha sonra yüzey sterilizasyonu için sürgünler makas yardımıyla tek tomurcuklu nodal eksplantlara ayrılarak mikro çelikler elde edilmiştir. Steril kabine alınan mikro çelikler 30 dk steril saf suda çalkalandıktan sonra % 70' lik etil alkolde 1-2 dk bekletilmiştir. Etil alkol süzöldükten sonra mikro çelikler birkaç damla Tween-20 ilave edilmiş % 10' luk NaOCl çözeltisinde çalkalanarak 5 dk boyunca tutulmuştur. Mikro çelikler süzöldükten sonra steril saf su ile durulma işlemi yapılmıştır. Yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra mikro çelikler sürgün ortamına aktarılmaya hazır hale gelmiştir (Hepaksoy, 2004). Hazır hale gelen mikro çelikler içerisinde 0,5 mg l⁻¹ GA₃ bulunan Murashige ve Skoog (1962) (MS) ortamına aktarılmıştır. Sürgün ortamına alındıktan yaklaşık bir ay sonra mikro çelikler üzerindeki tomurcuğun sürmesiyle elde edilen yeni sürgünler 1 mg l⁻¹ BA içeren MS çoğaltma ortamında kültüre alınarak çoğaltılması sağlanmıştır (Ruzic ve ark., 2000). Çoğaltma ortamında alınan bitkicikler 4. hafta sonunda kültür ortamından alınarak kardeş bitkiler ayrılmış ve yeni çoğaltma ortamına aktarılmıştır. Yeterli bitki sayısına ulaşıldıktan sonra elde edilen bitkiler kireç uygulamasına alınmıştır.

Kireç Uygulamasının Yapılması

Doku kültürü şartlarında çoğaltılan ve bitki boyları yaklaşık 1.5cm gelen bitkiler köksüz şekilde stres ortamlarına aktarılmış ve ortamlara eklenen 1,0 mg l⁻¹ IBA ile ortam içinde köklenmeleri sağlanmıştır. Yapılan bu uygulama ile strese alınan bitkilerde başarı sağlanmış ve bitkilerin gelişimleri, kök oluşturmaları ve strese karşı tepkileri belirlenmiştir. MS temel besi ortamına 4 farklı kireç seviyesi için %0 (kontrol), %1, %3 ve %5 kalsiyum karbonat (CaCO₃) eklenmiş ve eklenen kireç sonrası pH değeri olduğu şekilde bırakılmıştır.

Çalışmada bitki boyu, bitki yaş ve kuru ağırlıkları, yaprak alanı gibi morfolojik, yaprak oransal su içeriği (YOSİ) ve membran geçirgenliği gibi fizyolojik özellikler ve protein, prolin, H₂O₂ ve MDA içerikleri, katalaz, süperoksit dismutaz, peroksidaz enzim aktiviteleri gibi biyokimyasal analizler ile bitkilerdeki demir ve aktif demir miktarları ile bitkide ve kökteki demir şelat redüktaz (FC-R) aktiviteleri incelenmiştir. Ölçüm ve analizler için yaprak örnekleri ortamlardaki bitkilerden yoğun belirtilerin meydana geldiği 15. günde alınarak yapılmıştır.

Faklı seviyelerde CaCO₃ içeren ortamdan alınan bitkilerin 15. gün sonunda hassas terazi yardımıyla kök ve bitki yaş ağırlıkları belirlenmiş ve daha sonra aynı örnekler etüvde iki gün süreyle kurutulduktan sonra kuru ağırlıkları alınmıştır. Bitki boyu, kök boğazından büyüme ucuna kadar olan bölge dijital kumpas ile ölçülmüştür. Uygulamalar sonunda bitkilerden alınan yaprak örneklerinin alanları Winfolia paket programı aracılığıyla belirlenmiştir (İpek ve ark., 2009).

Yaprak oransal su içeriği (YOSİ), bitkilerden elde edilen taze, turgor ve kuru ağırlıkların Sanchez ve ark., (2004) ve Demiral ve Türkan (2005)' in belirttiği formül yardımıyla oranlanarak % olarak hesaplanmıştır. Membran geçirgenliği, elektrolit sızıntısı hesaplanarak Lutts ve ark., (1996) tarafından açıklanan yöntemle göre analiz edilmiştir. Bunun için yapraklardan alınan yaprak diskleri içerisine 10 ml saf su buluna cam tüplerde bir gün süreyle çalkalanmıştır. Çalkalandıktan sonra EC ölçülerek (C₁) kaydedilip 20 dk 120°C'de otoklav yapılmıştır. Örnekler soğumaları beklendikten sonra yine EC ölçümü yapılmıştır (C₂). Membran geçirgenliği C₁/C₂ olarak hesaplandı ve yüzde olarak belirlenmiştir.

Bitki yapraklarından alınan örneklerde "Bradford" metoduna göre protein tayini yapılmıştır. Absorbsiyonlar spektrometrede 595 nm'de ölçülmüştür. Sonuçlar "mg protein/g taze doku cinsinden hesap edilmiştir. (Bradford, 1976). Prolin içeriği asit-ninhidrin yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak µmolar/g taze yaprak prolin cinsinden standart grafik kullanılarak hesaplanmıştır (Bates ve ark., 1973). Yaprak dokularında malondialdehit (MDA) miktarı, başlıca tiobarbiturik asit reaktif çeşidi (TBARS) ve lipid peroksidasyon ürününün spektrofotometrede 532 nm ve 600 nm'de ölçülmesiyle belirlenmiştir (Heath ve Packer, 1968). H₂O₂ miktarı spektrofotometrik olarak 390 nm'de ölçülmüştür. Sonuçlar standart eğri kullanılarak hesaplanmıştır (Velikova ve ark., 2000).

Katalaz (KAT) aktivitesi, 240 nm'de absorbansın 3 dk boyunca doğrusal olarak dakika başına azalması ile hesaplanmıştır. Havir ve Mchale'nin (1987) Luck'e (1965) dayandırarak uyguladığı standart grafik yardımıyla g yaprak başına düşen enzim ünitesi (EU g⁻¹ yaprak) olarak tespit edilmiştir (1987; Gong ve ark., 2001). Peroksidaz (POD) aktivite tayini, absorbansın 5 dakika boyunca 470 nm'de dakika başına doğrusal olarak arttığı kısımdaki absorpsiyon artışı oranlanarak belirlenmiştir. Sonuçlar g yaprak başına düşen enzim ünitesi (EU g⁻¹ yaprak) olarak verilmiştir (Ye ve ark., 2003). Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, 560 nm'de gözlenen nitro blue tetrazolyumun (NBT) indirgenmesinin inhibisyonuna neden olan enzim miktarının spektrofotometrik olarak belirlenip g yaprak başına düşen enzim ünitesi (EU g⁻¹ yaprak) cinsinden hesaplanması esasına dayanır. (Agarwal ve Pandey, 2004, Yordanova ve ark., 2004).

Fe içerikleri, bitkilerden alınan yaprak örneklerinin nitrik asit-hidrojen peroksit (2:3) ile hazırlanan çözeltide mikrodalga yaş yakma ünitesine (Mertens 2005a) tabi tutulduktan sonra ICP-OES spektrofotometresinde okunarak tespit edilmiştir (Mertens 2005b). Aktif demir içeriğini belirlemek için bitki örnekleri toplandıktan 4 saat sonra dokular 1-2 mm kalınlığında parçalara ayrılmıştır (Takkar ve Kaur 1984). 2 gr doku örnekleri 20 ml 1 N HCl ile karıştırılacak ve 24 saat bekletildikten sonra filtre edilmiş ve Fe içeriği ICP-OES spektrofotometresinde okunmak suretiyle belirlenmiştir. Bitkilerle demir şelat redüktaz (FC-R) aktivitesi Carpena (1983) tarafından geliştirilen yöntem doku kültürü şartlarında yetiştirilen bitkilere uyarlanarak belirlenmiştir. Kök uçlarında demir şelat redüktaz (FC-R) aktivitesi Bienfait ve ark., (1983)' na dayanarak 535 nm dalga boyunda ölçülerek hesaplanmıştır.

İstatiksel Analiz

Tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 20 bitki olacak şekilde kurulan çalışmada elde edilen verilerin istatiksel analizinde SPSS 23.0 programı kullanılmıştır.

Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Bu çalışmada, *in vitro* şartlarda bazı kiraz anaçlarının kireç varlığında gösterdiği tepkiler arasındaki farklılıklar belirlenmiştir. Sonuçlarda, morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal kriterler ve beslenme özellikleri bakımından anaçlar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmuş olup Çizelge 1. Çizelge 2. ve Çizelge 3.' de verilmiştir. Daha önce de yapılan bazı çalışmalarda da verilerimizi doğrulayan benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Morfolojik Gözlemler ve Ölçümler

Bitki boy ölçümlerine göre en uzun bitki boyu Mahlep anacının kontrol bitkilerinden elde edilirken (4,49 cm) elde edilirken bunu PHL-C (3,81 cm), CAP-6P (3,16 cm), Kuş kirazı (3,56 cm), ve MaxMa-14 (2,70 cm) ve takip etmiştir. Bitki boylarındaki değişim dikkate alındığında en fazla bitki gelişiminde azalma %54,6 ile PHL-C anacında meydana gelirken en düşük değer %27,4 ile MaxMa-14 anacından elde edilmiştir. Bitki yaş ağırlıklarına ait veriler incelendiğinde kontrol grubu bitkiler en fazla ağırlığa sahip olurken en düşük bitki yaş ağırlıkları kiraz anaçlarının %5 CaCO₃ içeren ortamlarda büyütülen bitkilerinden elde edilmiştir. En yüksek bitki yaş ağırlığı CAP-6P'nin kontrol grubundan (1,83 g) elde edilirken en düşük bitki yaş ağırlığı %5 CaCO₃ içeren ortamda Kuş Kirazı anacından (0,94 g) elde edilmiştir (Çizelge 1.). Donnini ve ark., (2008) demir noksanlığının MA ve BA29 ayva anaçlarında etkisini belirlemek için potasyum bikarbonat içeren ortamda bu anaçları yetiştirmiş olup deneme sonucunda tüm bitkilerin yaş ağırlığında düşüş olduğunu belirtmişlerdir. Bitki kuru ağırlıkları, bitki yaş ağırlıklarıyla benzer şekilde sonuçlar vermiştir ve en düşük ağırlıklara kiraz anaçlarının %5 CaCO₃ içeren ortamlarda büyütülen bitkileri sahip olurken, en yüksek değerler kontrol gruplarından tespit edilmiştir. En fazla bitki kuru ağırlığı CAP-6P'nin kontrol grubundan (0,64 g) elde edilirken en düşük bitki yaş ağırlığı %5 CaCO₃ içeren ortamda Kuş Kirazı anacından (0,21g) elde edilmiştir.

Denemeden bitki yaş ağırlığı ve kuru ağırlığı için sökülen bitkiler tartıldığında kontrol grubuna göre en fazla yaş ağırlık kaybı %22,9 ile CAP-6P anacında olurken en az yaş ağırlık kaybı %8,7 ile Kuş Kirazından elde edilmiştir. Kuru ağırlık verileri incelendiğinde kuru ağırlık kaybının en fazla olduğu anaç %50 ile CAP-6P anacı olurken en az kuru ağırlık kaybı ise %41,6 ile Kuş Kirazı anacından elde edilmiştir. Bizim çalışmamıza benzer olarak Cinelli (1993), Ct.S.306 ve MA ayva anaçlarında yapmış olduğu çalışmada bikarbonat içeriği arttıkça yapılan ölçüm ve gözlem değerlerinde azalmalar olduğunu belirlemiştir. Conference armut çeşidi ve BA29 anacının kireç kaynaklı kloroza toleranslarını belirlemek üzere yapılan çalışmada bikarbonat içeren besin ortamlarında BA29 anacının kök uzamasında azalma olduğu tespit edilmiştir (Donnini ve ark., 2011). Yaprak alanları her kiraz anacında benzer sonuçları ortaya çıkarmış olup, kontrol grubunda en geniş alana sahip olunurken, kireç oranı arttıkça yaprak alanlarında azalmalar ortaya çıkmıştır. En geniş yaprak alanı MaxMa-14'ün kontrol grubundan (2,45 cm²) elde edilirken en küçük yaprak alanı %5 CaCO₃ içeren ortamda CAP-6P'den (1,01 cm²) elde edilmiştir. Bitkilerin kontrol grubunda yer alan bitkilerine ait yaprakların en yüksek kireç seviyesindeki bitkilerde bulunan yaprakların alanlarına oranı göz önüne alındığında, yaprak alanlarındaki en fazla azalış %46,5 ile CAP-6P anacından en düşük azalış ise Mahlep anacında (%19,3) elde edilmiştir (Çizelge 1.). Yapılan bitki boyu, yaprak alanı, bitki yaş ve kuru ağırlığı ölçümlerinde MaxMa-14 anacı stres koşullarında daha az gelişim kayıplarına sahip olduğundan çalışmada kullanılan diğer anaçlara göre daha iyi performans gösterdiği belirlenmiştir. Bitkilerde, sağlıklı

bir büyüme, hücrelerin turgoritesinin sağlanmasına, ozmotik dengenin korunmasına ve fotosentez yapmasına bağlıdır. Klorozdan kaynaklanan klorofil sentezinin yetersizliği fotosentezin azalmasına ve azalan fotosentez sonucu bitki bünyesine yeteri kadar suyun alınmamasına neden olur. Böylece su ile birlikte yeterli mineral alınmaması sonucunda da bitki gelişiminde yavaşlama ve aksamalar söz konusudur. Bu durumda bitki boyunun uzamasının yavaşlaması ya da durması, yaprak alanının genişlemesinde yavaşlama ya da durma ve buna bağlı olarak bitki biyokütlesinde azalmalar meydana gelebilecektir (İpek ve Eşitken, 2017; İpek, 2015). Çalışmamızda morfolojik olarak gelişimde yavaşlamalar yeterli fotosentez yapılamaması ve besi ortamı içinde köklerin kireç içeriğinden dolayı yeteri kadar çalışmamasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Fizyolojik analizler

Stres altındaki bitkilerde, kök büyümesinin azalması sonucunda köklerin yeterli su alamaması, yaprakların su içeriğinde bir azalma meydana getirmektedir. Bitkilerdeki su miktarı, turgoritenin korunmasını ve bitkilerin topraktan mineralleri emme yeteneğini sağlar. Bununla birlikte, stres şartlarında hücre yapısının korunması, hücre zarındaki proteinlerin özellikleri ile lipid bileşiklerinin yapısına bağlıdır. Stres koşulları altında hücre zarlarında meydana gelen hasar, iyonların ortama sızmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla, enzim aktivitelerini yürüten veya osmotik düzenlemeleri gerçekleştiren genotiplerde hücre hasarı daha düşük seviyelerde meydana gelmektedir (Kuşvuran, 2010, İpek, 2015).

Çizelge 1. Kiraz Anaçlarında yapılan morfolojik ölçümler ve fizyolojik analizler

Table 1. Morphological measurements and physiological analyses conducted on Sweet cherry Rootstocks.

		Bitki Boyu (cm)	Bitki Yaş Ağırlığı (g)	Bitki Kuru Ağırlığı (g)	Yaprak Alanı (cm ²)	YOSİ (%)	Membran Geçirgenliği (%)
CAP-6P	Kontrol	3,16 a	1,83 a	0,64 a	1,89 a	75,0 a	48,1 d
	%1 CaCO ₃	2,92 ab	1,68 b	0,50 b	1,67 b	59,3 b	62,4 c
	%3 CaCO ₃	2,45 b	1,53 c	0,42 c	1,33 c	49,6 c	68,9 b
	%5 CaCO ₃	1,63 c	1,41 d	0,32 d	1,01 d	40,1 d	77,6 a
	Ortalama	2,55 c	1,61 a	0,47 a	1,47 d	56,0 c	64,2 c
Kuş Kirazı	Kontrol	3,56 a	1,03 a	0,36 a	1,82 a	77,9 a	45,8 d
	%1 CaCO ₃	3,22 ab	1,00 ab	0,30 b	1,68 b	63,4 b	56,5 c
	%3 CaCO ₃	3,12 b	0,98 b	0,27 c	1,53 c	51,5 c	63,7 b
	%5 CaCO ₃	2,48 c	0,94 c	0,21 d	1,41 d	45,3 d	73,7 a
	Ortalama	3,11 b	0,99 e	0,28 e	1,61 c	59,5 a	59,9 e
Mahlep	Kontrol	3,38 b	1,14 a	0,40 a	1,76 a	76,6 a	47,3 d
	%1 CaCO ₃	3,89 b	1,07 b	0,32 b	1,58 b	62,3 b	59,9 c
	%3 CaCO ₃	3,38 b	1,03 c	0,28 c	1,52 bc	50,5 c	67,3 b
	%5 CaCO ₃	3,38 b	0,99 c	0,23 d	1,42 c	42,6 d	76,3 a
	Ortalama	3,59 a	1,06 d	0,31 d	1,57 c	55,3 c	62,6 d
MAXMA-14	Kontrol	2,70 a	1,59 a	0,56 a	2,45 a	72,0 a	51,1 d
	%1 CaCO ₃	2,37 b	1,51 b	0,45 b	2,25 ab	61,4 b	67,7 c
	%3 CaCO ₃	2,19 c	1,47 bc	0,41 c	2,16 bc	50,9 c	73,7 b
	%5 CaCO ₃	1,96 d	1,43 c	0,32 d	1,97 c	37,1 d	80,6 a
	Ortalama	2,31 c	1,50 b	0,43 b	2,21 a	58,0 b	68,2 a
PHL-C	Kontrol	3,81 a	1,48 a	0,51 a	2,10 a	71,1 a	49,1 d
	%1 CaCO ₃	3,27 a	1,38 ab	0,41 b	1,75 b	57,9 b	65,7 c
	%3 CaCO ₃	2,87 a	1,31 bc	0,36 c	1,64 bc	48,9 c	71,9 b
	%5 CaCO ₃	1,73 b	1,21 c	0,28 d	1,54 c	38,9 d	79,6 a
	Ortalama	2,92 b	1,35 c	0,39 c	1,76 b	54,2 d	66,5 b

Çizelge 2. Kiraz anaçlarında yapılan biyokimyasal analizler
Table 2. Biochemical analyses conducted on Sweet cherry Rootstocks.

		MDA ¹	H ₂ O ₂ ²	Protein ³	Prolin ³	KAT ⁴	SOD ⁴	POD ⁴
CAP-6P	Kontrol	0,089 d	17,9 d	40,4 a	80,3 d	50,0 d	300,4 c	1115 d
	%1 CaCO ₃	0,102 c	41,0 c	31,5 b	99,4 c	64,0 c	322,8 b	2051 c
	%3 CaCO ₃	0,149 b	49,1 b	25,0 c	120,1 b	85,0 b	329,7 b	2301 b
	%5 CaCO ₃	0,168 a	83,5 a	19,8 d	150,3 a	114,0 a	344,0 a	2413 a
	Ortalama	0,127 a	47,8 a	29,2 c	112,5 c	78,2 d	398,6 d	1970 d
Kuş Kirazı	Kontrol	0,057 d	15,6 d	44,1 a	83,2 d	65,0 d	444,1 d	1331 c
	%1 CaCO ₃	0,065 c	17,5 c	34,9 b	104,4 c	130,0 c	529,8 c	3175 b
	%3 CaCO ₃	0,071 b	18,2 b	27,1 c	125,7 b	145,0 b	574,4 b	4096 a
	%5 CaCO ₃	0,086 a	28,4 a	21,6 d	158,3 a	175,0 a	682,8 a	4106 a
	Ortalama	0,070 c	19,9 c	31,9 a	117,9 a	128,7 b	557,7 b	3177 b
Mahlep	Kontrol	0,062 d	16,4 c	41,8 a	81,8 d	60,0 d	374,4 d	1143 d
	%1 CaCO ₃	0,073 c	30,0 b	32,7 b	101,5 c	100,0 c	451,9 c	2674 c
	%3 CaCO ₃	0,085 b	30,3 b	26,1 c	121,7 b	115,0 b	488,8 b	2994 b
	%5 CaCO ₃	0,098 a	44,0 a	20,6 d	153,6 a	130,0 a	544,3 a	3186 a
	Ortalama	0,080 b	30,2 b	26,3 e	107,0 e	101,2 c	464,8 c	2499 c
MAXMA-14	Kontrol	0,047 c	13,2 c	35,7 a	76,3 d	74,0 d	443,7 d	1348 d
	%1 CaCO ₃	0,052 c	14,5 b	28,6 b	96,5 c	125,0 c	553,5 c	3545 c
	%3 CaCO ₃	0,065 b	15,2 b	22,9 c	114,2 b	165,0 b	664,5 b	4616 b
	%5 CaCO ₃	0,077 a	25,1 a	18,3 d	141,2 a	210,0 a	739,1 a	5025 a
	Ortalama	0,060 d	17,0 c	30,2 b	114,6 b	143,5 a	600,1 a	3633 a
PHL-C	Kontrol	0,073 d	16,5 d	38,2 a	79,3 d	33,0 c	356,1 d	903 c
	%1 CaCO ₃	0,115 c	29,3 c	30,5 b	98,5 c	34,0 c	390,6 c	1441 b
	%3 CaCO ₃	0,132 b	34,6 b	23,7 c	115,5 b	60,0 b	403,1 b	1502 b
	%5 CaCO ₃	0,141 a	50,1 a	19,1 d	147,5 a	100,0a	444,6 a	1857 a
	Ortalama	0,115 a	32,6 b	27,8 d	110,2 d	56,7 e	324,2 e	1426 e

¹(nmol ml⁻¹ TA); ²(µmol g⁻¹ TA); ³(µg g⁻¹ TA); ⁴(EU g⁻¹ TA)

Çizelge 3. Kiraz anaçlarında Fe beslenme analizleri
Table 3. Iron (Fe) nutrition analysis in sweet cherry rootstocks.

		Fe (mg kg ⁻¹)	Aktif Fe (mg kg ⁻¹)	Bitkilerde Demir Şelat Redüktaz (nmol gr ⁻¹ TA h ⁻¹)	Köklerde Demir Şelat Redüktaz (nmol gr ⁻¹ TA h ⁻¹)
CAP-6P	Kontrol	124,9	11,4 d	36,2 d	80,6 d
	%1 CaCO ₃	122,9	15,4 c	48,4 c	96,4 c
	%3 CaCO ₃	114,0	19,8 b	55,4 b	103,6 b
	%5 CaCO ₃	102,8	22,63 a	61,8 a	121,0 a
	Ortalama	116,1 bc	17,33 d	50,5 c	100,4 b
Kuş Kirazı	Kontrol	127,9	13,0 d	44,1 d	89,1 d
	%1 CaCO ₃	125,3	16,8 c	51,3 c	99,0 c
	%3 CaCO ₃	123,1	20,2 b	57,5 b	109,7 b
	%5 CaCO ₃	118,5	25,1 a	80,9 a	147,1 a
	Ortalama	123,7 ab	18,8 b	58,5 a	111,2 a
Mahlep	Kontrol	141,1 a	12,3 d	41,5 d	91,8 d
	%1 CaCO ₃	117,6 b	16,3 c	50,2 c	99,8 c
	%3 CaCO ₃	109,3 b	20,0 b	56,4 b	113,2 b
	%5 CaCO ₃	102,6 b	24,5 a	79,4 a	152,9 a
	Ortalama	117,7 bc	18,3 c	56,9 ab	114,4 a
MAXMA-14	Kontrol	130,7	9,8 d	20,7 d	53,3 d
	%1 CaCO ₃	128,5	14,8 c	47,4 c	93,5 c
	%3 CaCO ₃	127,2	19,3 b	54,3 b	100,9 b
	%5 CaCO ₃	125,4	21,9 a	60,0 a	115,2 a
	Ortalama	127,9 a	16,5 e	45,6 d	90,7 c
PHL-C	Kontrol	121,6	13,6 d	45,8 c	85,4 d
	%1 CaCO ₃	112,0	18,6 c	52,2 b	97,5 c
	%3 CaCO ₃	109,7	21,2 b	55,6 b	106,2 b
	%5 CaCO ₃	103,7	25,7 a	58,4 a	130,4 a
	Ortalama	111,8 c	19,8 a	53,2 b	104,9 b

Yaprakların su içerikleri bakımında değerleri incelendiğinde strese girmemiş bitkilerde su içeriği daha fazla olurken stresin şiddeti arttıkça su içeriğinde de azalmalar ortaya çıkmıştır. En düşük YOSİ değeri MaxMa-14 anacında %5 CaCO₃ içeren ortamdan elde edilirken, en yüksek YOSİ değeri Kuş kirazından elde edilmiştir. Yaprak oransal su içeriği bakımından en az kayıp yaşayan anaç %41,8 ile kuş kirazı anacı olurken en fazla su kaybı MaxMa-14 anacında (%48,4) ölçülmüştür. Yapraklarda membran zararlanması en fazla stresin en şiddetli olduğu %5 CaCO₃ içeren ortamdan elde edilirken, en az zararlanma ise kontrol (%0 CaCO₃) bitkilerinde tespit edilmiştir. Membran zararlanması en fazla MaxMa-14 anacında elde edilirken en az zararlanma Kuş Kirazından elde edilmiştir. Membran zararlanması en az MaxMa-14 anacında (%57,7) tespit edilirken en fazla zararlanma ise %62,1 ile PHL-C anacında belirlenmiştir (Çizelge 1.). Her iki fizyolojik durum için Kuş Kirazı ve MaxMa-14 anaçlarının daha toleranslı olduğu düşünülmektedir.

Biyokimyasal Analizler

Denemeye alınan kiraz anaçlarına ait MDA analizi sonucunda en yüksek MDA içeriği 0,168 nmol ml⁻¹ TA ile CAP-6P anacında olurken, en düşük değer ise 0,470 nmol ml⁻¹ TA ile MaxMa-14 anacından elde edilmiştir. Kontrol grubu bitkilerinde protein en yüksek değerlere sahip olurken, stresin verdiği zararlanma sebebiyle proteinlerde meydana gelen azalmalar sebebiyle en düşük değer kireç stresinin en şiddetli olduğu ortamlardan elde edilmiştir. En yüksek değer Kuş Kirazı anacından (44,1 µg g⁻¹ TA) elde edilirken en düşük protein değeri MaxMa-14 anacından (18,3 µg g⁻¹ TA) elde edilmiştir (Çizelge 2.). Ozmotik dengenin devamlılığını ve artan metabolik aktiviteye uyum sağlamak için, stres şartlarında bitkilerde protein sentezi artmaktadır. Ancak belirli bir süre sonrasında ise protein sentezinde azalmalar başlar ve protein miktarı düşmektedir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005; Çırak ve Esenal, 2006). Anaçlarda meydana gelen protein miktarındaki düşüşler MDA miktarındaki artışlarla ilişkilendirilebilir. Protein miktarları bakımından en fazla kayıp yaşayan anaç MaxMa-14 anacı (%487) olurken MDA miktarlarındaki artış ile de anaçlar arasında üçüncü sırada yer almıştır. MDA miktarlarındaki en fazla artış %93,1 ile PHL-C anacında meydana gelmiştir. Anaçların prolin içerikleri en yüksek değerlere kireç uygulamasının en yüksek seviyesinden elde edilirken en düşük prolin seviyesi kontrol grubuna ait bitkilerden elde edilmiştir. Kuş Kirazı anacı (158,3 µg g⁻¹ TA) en yüksek prolin değerine sahip olurken en düşük prolin değeri MaxMa-14 anacından (76,3 µg g⁻¹ TA) elde edilmiştir (Çizelge 2.). Çalışmada yer alan kiraz anaçları içerisinde stres altında en fazla prolin miktarındaki artış %90,2 ile Kuş Kirazı anacı olurken bunu %87,7 ile Mahlep anacı takip etmiştir. Bu iki anaçın strese karşı ozmotik dengenin korunmasında daha başarılı olduğu söylenebilir. Stres şartlarında bitkiler, ozmotik dengenin düzenlenebilmesi için sitoplazma ve organellerinde prolin gibi bazı çözünebilir maddeler biriktirirler. Bu maddeler enzimler üzerinde pozitif bir etkiye sahip olurken membran bütünlüğünü de sağlayarak ozmotik dengenin sağlanmasında de görev almaktadırlar (Asraf ve Foolad, 2007; İpek, 2015).

Donnini ve ark., (2011), demir noksanlığında Conference armut çeşidi ve BA29 anacının, ortamda

Fe+Bikarbonat varlığında ise BA29'un ROT üretiminin arttığını tespit etmişlerdir. Abiyotik stres faktörlerine maruz kalan bitkilerde görülen oksidatif stres, hücrelerde hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi bazı çeşitli reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşmasına neden olur (Arıkan ve ark., 2017). Kiraz anaçlarının stres altında oluşturdukları H₂O₂ miktarı en yüksek değere 83,5 µmol g⁻¹ TA ile en yüksek değere CAP-6P anacında ortaya çıkarken, en düşük değere 13,2 µmol g⁻¹ TA ile MaxMa-14 anacında ortaya çıkmıştır (Çizelge 2.). Çalışmada stres altında yer alan anaçlarda hidrojen peroksit birikimi en fazla %366 ile CAP-6P ve %203,6 ile PHL-C anacında birikirken, en az birikim %82 ile Kuş Kirazı ve %90,1 ile MaxMa-14 anaçlarında belirlenmiştir. Hidrojen peroksit ile mücadele yer alan antioksidan enzimlerin üretimini incelediğimizde tüm anaçlarda bu enzimlerin artış göstermiş olduğu ancak bazılarının diğer anaçlara göre daha fazla bir antioksidan enzim üretimine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bitkiler oluşan ROT' ları etkisiz hale getirmek için SOD, POD, KAT ve GR gibi bazı enzimatik antioksidantları kullanmaktadır. Bunlar gibi enzimatik antioksidantlar bitkilerde strese toleransını artırmayı sağlayacak stratejiler oluşturmaktadır (Arıkan ve ark., 2017). Kiraz anaçlarının KAT enzim aktivitesi kireç seviyesi ile birlikte artmıştır. En yüksek KAT aktivitesi MaxMa-14 anacından (210,0 EU g⁻¹ TA) elde edilirken, en düşük değer ise PHL-C anacından (33,0 ve 34,0 EU g⁻¹ TA) elde edilmiştir. Anaçlarının SOD enzim aktivitesi katalaz enzim aktivitesinde olduğu gibi kireç seviyesi ile birlikte artış göstermiştir. En yüksek SOD aktivitesi MaxMa-14 anacından (739,1 EU g⁻¹ TA) elde edilirken, en düşük değer ise CAP-6P anacından (300,4 EU g⁻¹ TA) elde edilmiştir (Çizelge 2.). Bizim çalışmamıza benzer olarak Conference armut çeşidinin ortamdaki bikarbonata bağlı olarak POD enzim aktivitesinin arttığı ve bu artışın H₂O₂ miktarındaki artışa karşın bitkilerin meydana getirdiği savunma mekanizması olduğu belirtilmiştir (Donnini ve ark., 2011). Stres altındaki anaçlarının POD enzim aktivitesi incelendiğinde, POD değerlerinin de diğer iki enzimdeki gibi benzer sonuçlara sahip olduğu belirlenmiştir. En yüksek POD aktivitesi MaxMa-14 anacından (5025,7 EU g⁻¹ TA) elde edilirken, en düşük değer ise PHL-C anacından (903,0 EU g⁻¹ TA) elde edilmiştir (Çizelge 2.). Beş farklı şeftali anacında yapılan bir çalışmada, demir uygulanması olmayan ortamdaki anaçların KAT, SOD ve POD aktivitesi artmıştır. Ortamdaki NaHCO₃ varlığında ise şeftali çöğür anacı hariç diğer anaçların SOD aktivitesi artarken, POD aktivitesinin ise GF-677 ve Saint Julien 655/2 anaçlarında arttığı belirtilmiştir (Molassiotis ve ark., 2005).

Besin Analizleri

Kireçli topraklarda bitki beslemesini etkileyen en büyük olumsuzluklardan birisi de topraktan besin elementi alınmasında yaşanan sorunlardır. Genellikle kireç oranı yüksek topraklarda başta Fe ve P gibi elementler olmakla beraber mikro ve makro elementlerin hemen hepsinin alımı zorlaşmakta ve bitki kirece bağlı noksanlık belirtileri göstermeye başlamaktadır (İpek ve Eşitken, 2017). Yaptığımız çalışma ile kiraz anaçlarının demir beslenmesi bakımından düşüşler yaşadığı en fazla demir miktarında azalış ise %17,7 ile CAP-6P anacında olduğu bunu PHL-C anacının (%14,7) takip ettiği belirlenmiştir. Kiraz

anaçlarına ait demir analizi sonuçlarına göre en düşük Fe içeriği PHL-C anacından ($111,8 \text{ mg kg}^{-1}$) elde edilirken bunu CAP-6P ($116,1 \text{ mg kg}^{-1}$), Mahlep ($117,7 \text{ mg kg}^{-1}$), Kuş Kirazı ($123,7 \text{ mg kg}^{-1}$) ve MaxMa-14 ($127,9 \text{ mg kg}^{-1}$) anacı takip etmiştir (Çizelge 3.). Tspouridis ve ark. (2005)'nin yaptıkları çalışmada GF-677 anacının kireçli ve kurak topraklara en dayanıklı anaç olduğu tespit edilmiş olup bu anaç üzerine yapılan çeşitlerin demir alımı yüksek olmuştur. Loadel ve My Crest seftali çeşitleri ise en düşük demir alımını gösterirken Sun Crest ise demir noksanlığında ölmüştür Benzer şekilde *Prunus* anaçlarında yapılan çalışmada ortamda bikarbonat varlığına bağlı olarak bitkilerin demir ve toplam klorofil miktarının azaldığı belirtilmiştir (Molassiotis ve ark., 2005). Denemeye alınan kiraz anaçlarının aktif demir içerikleri istatistiki olarak önemli bulunmuştur. En yüksek aktif demir içeriği PHL-C anacından ($25,7 \text{ mg kg}^{-1}$) elde edilirken en düşük aktif demir içeriği ise MaxMa-14 anacından ($21,9 \text{ mg kg}^{-1}$) belirlenmiştir (Çizelge 3.). Aktif demir içeriği bakımından kontrol grubuna göre en fazla artış yaklaşık %123 oranında artış ile MaxMa-14 anacından elde edilmiştir. Kontrol grubuna baktığımızda en yüksek aktif demir içeriğine sahip olan PHL-C anacı stres şiddeti artışıyla daha düşük seviyede aktif demirde artış göstermiştir. Donnini ve ark., (2008) demir noksanlığının bitkilerdeki etkilerini belirlemek için yaptığı çalışmada, bikarbonat uygulamasına bağlı olarak MA ayva anacının ve Conference armut çeşidinin klorofil, β -karoten ve aktif Fe konsantrasyonunun azaldığını tespit etmişlerdir. Yapraklarda yapılan demir şelat redüktaz aktivitesinde en yüksek değer Kuş Kirazı anacından ($80,9 \text{ nmol gr}^{-1} \text{ TA h}^{-1}$) elde edilirken en düşük değer PHL-C anacından ($60,0 \text{ nmol gr}^{-1} \text{ TA h}^{-1}$) elde edilmiştir. Demir şelat redüktaz aktivitesindeki artış en fazla MaxMa-14 anacından (%189,8) elde edilirken en düşük aktivite ise %27,5 ile PHL-C anacından elde edilmiştir. Köklerde yapılan demir şelat redüktaz aktivitesi analizleri sonucunda Mahlep anacı ($152,9 \text{ nmol gr}^{-1} \text{ TA h}^{-1}$) en yüksek değere sahip olurken en düşük değer MaxMa-14 anacından ($115,2 \text{ nmol gr}^{-1} \text{ TA h}^{-1}$) elde edilmiştir (Çizelge 3.). De La Guardia ve Alcantara (2002) demir olmayan koşullarda yetiştirilen bitkilerin kök FC-R aktivitesini incelediğinde, zeytinde azaldığı, ayva ve armutta arttığını saptanmıştır. Demir noksan koşullarda beş farklı *Prunus* anacının hepsinde ve ortamda 5 mM NaHCO_3 varlığında GF-677 anacının kök F-CR aktivitesinin arttığı, ortamda 10 mM NaHCO_3 varlığında ise GF-677 dışındaki anaçların F-CR aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir (Molassiotis ve ark., 2005).

Sonuçlar

Bu çalışma ile farklı kireç seviyesine sahip besi ortamı şartlarında kiraz anaçlarında büyüme, gelişme, antioksidan enzim aktivitesi ve Fe alımını etkileyen özellikler araştırılmıştır. Denemeye alınan kiraz anaçlarına ait bitkilerin %5 CaCO_3 içeren besi ortamlarında ilk hafta sonunda zararlanmaya başladığı ve denemenin 10.günü itibariyle yüksek oranda ölümlerin ortaya çıktığı görülmüştür. Denemenin 15.gününde yapılan ölçümlerde MaxMa-14 kiraz anacının diğer kiraz anaçlarına göre daha iyi bir gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. Kireçli şartlarda denemede kullanılan bazı kiraz anaçlarının, bitki gelişimini artırdığı, antioksidan enzim aktivitesini artırarak strese

tolerans kazanmasına katkıda bulunduğu, Fe şelat redüktaz enzim aktivitesini artırarak da besi ortamından Fe alımını teşvik ettiği belirlenmiştir. Buna göre kireçli toprak şartlarında yapılacak meyve yetiştiriciliğinde denemede öne çıkan anaçların kullanılması kireçli toprak şartlarında meyve yetiştiriciliğinde tavsiye edilebilir.

Teşekkür

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından 16401129 nolu proje ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Agarwal S, Pandey V. 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum*, 48(4): 555-560. Doi: 10.1023/B: BIOP.0000047152.07878.e7
- Arıkan Ş, İpek M, Pırlak L. 2017. Antioxidant Systems. 1st International Turkish World Engineering and Science Congress in Antalya, Turkey, 7-10 December 2017, pp. 1089-1094.
- Ashraf M, Foolad MR. 2007. Roles of glycine betaine ve proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59: 206- 216. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2005.12.006
- Bates LS, Waldren RP, Teare ID. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207. Doi: 10.1007/BF00018060
- Bienfait HE, Bino RJ, Vander Blick AM, Duivenvoorden JF, Fontaine FM. 1983. Characterization of ferric reducing activity in roots of Fe-deficient *Phaseolus vulgaris*. *Physiol. Plant*. 59:196-202. Doi: 10.1111/j.1399-3054.1983.tb00757.x
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248-254. Doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3
- Carpena O. 1983. Dinamica de nutrientes en portainjertos de citrus. I Congreso Mundial de la Asociacion de Viveiristas de Agrios. International Society of Citrus Nurserymen, Valencia, Spain.
- Cinelli F, Fisichella M, Muleo R. 2003. Morpho-Physiological approaches to investigate lime-induced chlorosis in deciduous fruit tree species. *Journal of Plant Nutrition*, 26:2277-2294. Doi: 10.1081/PLN-120024281
- Çırak C, Esendal E. 2006. Soyada Kuraklık Stresi. *OMÜ Zir. Fak. Dergisi*, 21(2): 231-237.
- Demiral T, Türkan İ, 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 53: 247-257. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2004.03.017
- Donnini S, Castagna A, Ranieri A, Zocchi, G. 2009. Differential responses in pear and quince genotypes induced by Fe deficiency and bicarbonate. *Journal of plant physiology*, 166 (11), 1181-1193. Doi: 10.1016/j.jplph.2009.01.007
- Donnini S, Dell'Orto M, Zocchi G. 2011. Oxidative stress responses and root lignification induced by Fe deficiency conditions in pear and quince genotypes. *Tree physiology*, 31(1), 102-113. Doi: https://doi.org/10.1093/treephys/tpq105
- Faust M. 1989. *Physiology of Temperate Zone Fruit Trees*. New York, USA: John Wiley & Sons, Inc. ISBN: 9780471817819
- Gong Y, Toivonen PM, Lau O, Wiersma PA. 2001. Antioxidant system level in 'Braeburn' apple is related to its browning disorder. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 42:259-64.

- Havir EA, McHale NA. 1987. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology* 84 (2):450-5. Doi: 10.1104/pp.84.2.450
- Hepaksoy S, 2004. Bazı kiraz anaçlarının mikroçoğaltımı üzerinde araştırmalar I. gelişme ve çoğalma, Ege. Üniv. Ziraat Fak. Derg., 41: 11- 22.
- İpek M. 2015. *In vitro* Şartlarda Garnem ve Myrobolan 29C Anaçlarının Kurak Stresine Karşı Tepkilerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Selçuk Üniversitesi, Konya, Türkiye
- İpek M, Eşitken A. 2017. The Scetions of PGPR on Micronutrient Availability in Soil and Plant under Calcareous Soil Conditions: An Evaluation Over Fe Nutrition. *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives: Volume 2: Microbial Interactions and Agro-Ecological Impacts*, Springer, Singapore. pp: 81-100. ISBN: 978-981-10-6592-7 (Print) 978-981-10-6593-4 (Online)
- İpek M, Pırlak L, Eşitken A, Dönmez MF, Şahin F. 2009. Kireçli Topraklarda Yetiştirilen Çilekte Bitki Büyümesini Artıran Bakterilerin (BBAB) Verim ve Gelişme Üzerine Etkileri. III. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, Kahramanmaraş, 10-12 Haziran 2009, pp.73-77.
- Kalefetoğlu T, Ekmekçi Y. 2005. The effect of drought on plants and tolerance mechanisms, G. U. Journal of Science. 18(4): 723-740.
- Kuşvuran Ş. 2010. Kavunlarda Kuraklık ve Tuzluluğa Toleransın Fizyolojik Mekanizmaları Arasındaki Bağlantılar. Doktora Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye.
- Lutts S, Kinet JM, Bouharmont J. 1996. Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Plant Growth Regulation*, 19: 207-218. Doi: 10.1007/BF00037793
- Marschner H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd ed. London, UK: Academic Press. ISBN: 978-0-12-384905-2
- Mertens D. 2005a. Official methods of analysis of AOAC International. 922.02. Plants Preparation of Laboratory Sample. *Official Methods of Analysis*, 18th edn. Horwitz, W., and G.W. Latimer, (Eds). Chapter 3, pp. 1-2, AOAC-International Suite 500, 481. North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland 20877-2417, USA.
- Mertens, D. 2005b. Official methods of analysis of AOAC International. 975.03. Metal in Plants and Pet Foods. *Official Methods of Analysis*, 18th edn. Horwitz, W., and G.W. Latimer, (Eds). Chapter 3, pp 3-4, AOAC-International Suite 500, 481. North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland 20877-2417, USA.
- Molassiotis AN, Diamantidis GC, Therios IN, Tsirakoglou V, Dimassi KN. 2005. Oxidative stress, antioxidant activity and Fe (III)-chelate reductase activity of five *Prunus* rootstocks explants in response to Fe deficiency. *Plant growth regulation*. 46, 69-78. Doi: 10.1007/s10725-005-6396-z
- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497. Doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- Ruzic D, Saric M, Cerovic R, Culafic L. 2000. Relationship between the concentration of macroelements, their uptake and multiplication of cherry rootstock Gisela 5 *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 63: 9-14. Doi: 10.1023/A:1006412901992
- Sanchez FJ, Andres EF, Tenorio JL, Ayerbe L. 2004. Growth of epicotyls, turgor maintenance and osmotic adjustment in pea plants (*Pisum sativum* L.) subjected to water stress. *Field Crops Research*, 86: 81-90. Doi: 10.1016/S0378-4290(03)00121-7
- Takkar PN, Kaur NP. 1984. HCl method for Fe⁺² estimation to resolve iron chlorosis in plants. *J. Plant Nutr.*, 7(1-5): 81-90. Doi: 10.1080/01904168409363176
- Thomidis T, Tsipouridis C. 2005. Influence of rootstocks, pH, iron supply (in nutrient solutions) and *Agrobacterium radiobacter* on chlorophyll and iron concentration in leaves of a peach variety. *Journal of plant nutrition*, 28(10), 1833-1842. Doi: 10.1080/01904160500251241
- Velikova V, Yordanov I, Edreva A. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science* 151 (1):59-66. Doi: 10.1016/S0168-9452(99)00197-1
- Vose PB. 1983. Rationale of selection for specific nutritional characters in crop improvement with *Phaseolus vulgaris* L. As a Case of Study. *Plant and Soil*, 72: 351-364. Doi: 10.1007/BF02181973
- Wertheim SJ, Webster AD. 2005. Rootstocks and interstems. In *Fundamentals of Temperate Zone Tree Fruit Production*, eds. J. Tromp, A.D. Webster, and S.J. Wertheim, 156-175. Leiden: Buckhuys Publ. ISBN: 0-90-5782-152-4
- Yardanova RY, Christov KN, Papova LP. 2004. Antrooxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. *Environ Exp Bot*. 51: 93-101. Doi: 10.1016/S0098-8472(03)00063-7
- Ye GN, Colburn SM, Xu CW, Hajdukiewicz PTJ, Staub JM. 2003. Persistence of unselected transgenic DNA during a plastid transformation and segregation approach to herbicide resistance. *Plant Physiology*, 133: 402-410. Doi: 10.1104/pp.103.021949