



Tarım Bilimleri Dergisi
Tar. Bil. Der.

Dergi web sayfası:
www.agri.ankara.edu.tr/dergi

Journal of Agricultural Sciences

Journal homepage:
www.agri.ankara.edu.tr/journal

Kiraz Anaçlarının *in vitro* Koşullarda Tuz Stresine Tolerans Mekanizmalarının Fizyolojik Parametreler ve Antioksidan Enzim İzofomları ile Belirlenmesi

Figen ERASLAN^a, Şerife Evrim ARICI^b, İbrahim ERDAL^a, Zeliha KÜÇÜKYUMUK^a

^aSüleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, 32260, Isparta, TÜRKİYE

^bSüleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 32260, Isparta, TÜRKİYE

ESER BİLGİSİ

Araştırma Makalesi

Sorumlu Yazar: Figen ERASLAN, E-posta: figeneraslan@sdu.edu.tr, Tel: +90 (246) 211 85 93

Geliş Tarihi: 02 Aralık 2014, Düzeltmelerin Gelişi: 29 Temmuz 2015, Kabul: 03 Ağustos 2015

ÖZET

Tuzluluk, bitkilerde gelişim ve verimi sınırlayan önemli abiyotik stres koşullarının başında gelmektedir. Kiraz anaçlarının tuz stresi toleransları ile ilgili bilgiler oldukça sınırlıdır. Bu çalışmada, ülkemizde yetiştirilen üç kiraz anacının; Colt (*Prunus avium* x *Prunus pseudocerasus*), Gisela 5 (*Prunus cerasus* x *Prunus avium*) ve Maxma (*Prunus mahaleb* x *Prunus avium*), tuz stresine tolerans mekanizmaları *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Kiraz anaçlarının tuz stresine toleranslarını belirlemek amacıyla Murashige ve Skoog (MS) ortamına 0, 25 ve 50 mM NaCl uygulanmıştır. Anaçlarda; sürgün gelişimi, lipid peroksidasyonu (MDA), membran geçirgenliği (MG), toplam antioksidan aktivitesi (TAA), prolin içeriği, toplam klorofil içeriği, katalaz (CAT, EC 1.11.1.6) ve peroksidaz (POD, EC 1.11.1.7) antioksidan enzim izoformları ile Na ve Cl konsantrasyonları belirlenmiştir. Tuz stresi anaçların sürgün gelişimini ve toplam klorofil içeriğini kontrole göre azaltırken MDA içeriğini, MG, TAA ve prolin içeriğini artırmıştır. Anaçların stres koşullarında sürgün POD enzim aktivitesi artmış ve üç farklı POD izoformu elde edilmiştir. Maxma anacının POD aktivitesi diğer anaçların POD aktivitesinden daha düşük olmuştur. Anaçların CAT izoformlarında ise uygulamalar ve anaçlar arasında belirgin bir farklılık elde edilmemiştir. Bütün parametreler birlikte değerlendirildiğinde, NaCl stresine Maxma anacının hassas, Colt anacının orta derecede hassas ve Gisela 5 anacının da dayanıklı olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Enzim izoformu; Katalaz; Kiraz anaçları; Peroksidaz; Tuz stresi

Evaluation of Salt Tolerance Mechanisms with Physiological and Antioxidant Enzyme Isoform Parameters in *in vitro* Sweet Cherry Rootstocks

ARTICLE INFO

Research Article

Corresponding Author: Figen ERASLAN, E-mail: figeneraslan@sdu.edu.tr, Tel: +90 (246) 211 85 93

Received: 02 December 2014, Received in Revised Form: 29 July 2015, Accepted: 03 August 2015

ABSTRACT

Abiotic stress such as salinity is an important factor that limits plant growth and performance. Information regarding the genotypic variation for salinity stress tolerance in sweet cherry rootstocks is limited. In this study, salinity tolerance mechanisms of three sweet cherry rootstocks, namely; Colt (*Prunus avium* x *Prunus pseudocerasus*), Gisela 5 (*Prunus cerasus* x *Prunus avium*) and Maxma (*Prunus mahaleb* x *Prunus avium*), grown widely in Turkey were investigated under *in vitro* condition. The three rootstocks were cultured *in vitro* on MS medium supplemented with 0, 25 and 50 mM sodium chloride (NaCl). The Shoot growth, lipid peroxidation (MDA), membrane permeability (MP), total antioxidant activity (TAA), proline, total chlorophyll contents, catalase (CAT, EC 1.11.1.6) and peroxidase (POD, EC 1.11.1.7) antioxidant enzyme isoforms of rootstocks were studied. Compared to the control, salinity resulted in a reduction in the shoot growth and total chlorophyll contents. Contrary to this, MDA contents, MP, TAA and proline contents were increased by salinity. Activity of POD in the shoot of rootstocks was increased and three different POD isoforms were exhibited under saline conditions. The activity of POD was lower in the Maxma than the Colt and Gisela 5 rootstock. Salinity did not significantly change the CAT isoforms of the rootstocks. Regarding the all parameters studied, the rootstocks can be classified to their salt tolerance as sensitive (Maxma), moderately sensitive (Colt) and resistant (Gisela 5).

Keywords: Catalase; Enzyme isoform; Peroxidase; Salinity stress; Sweet cherry rootstocks

© Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi

1. Giriş

Sulama suyundaki tuz düzeylerine bağlı olarak dünyanın pek çok yerinde özellikle kurak ve yarı kurak bölgelerde topraklar tuzlanmakta ve bunun sonucu olarak bitkisel üretimde önemli azalmalar meydana gelmektedir (Singh et al 2000). Dünyada 100-110 milyon hektar (ha) olan yarı kurak tarımsal alanın 20-30 milyon ha'ı tuz birikiminden önemli şekilde zarar görmekte ve her yıl 0.25-0.50 milyon ha tarımsal alanda tuz birikimi sonucu tarım yapılamamaktadır (FAO 2002).

Dünya kiraz üretimi 2012 yılı itibarıyla 2,256,519 ton' dur. Kiraz üretimi bakımından 480,748 ton ile ilk sırada yer alan Türkiye'yi, Amerika Birleşik Devletleri, İran, İtalya ve İspanya takip etmektedir. Dünya kiraz üretiminde % 21.3'lük payıyla birinci sırada yer alan Türkiye'nin kiraz üretimindeki bu payı yıldan yıla artış göstermektedir (FAO 2012).

Tuzluluğa karşı hassas bitkiler gurubunda yer alan (Kotuby-Amachar et al 2000) ve ülkemiz için önemli bir ihracat ürünü olan kirazın, yetiştiriciliğinin yoğun olduğu Ege, Akdeniz ve Marmara bölgelerinin belirli yörelerinde karşılaşılan tarımsal sorunlar arasında; sulama suyu kalitesinin her geçen gün bozulması, fazla

verim almaya yönelik aşırı gübreleme ve yanlış sulama yöntemlerinin kullanılması ilk sıralarda yer almaktadır. Bu sorunlardan kaynaklanabilecek olası tuzlulaşma riskine karşılık, tuz stresine toleranslı kiraz anaçlarının seçiminde, bitkilerin fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmalarındaki değişimlerin bilinmesi oldukça önemlidir. Bu nedenle özellikle tarımsal açıdan sorunlu alanlarda stres koşullarına dayanıklı anaçların seçilmesi ve yetiştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Giderek azalan tarım alanlarında, strese yol açan olumsuz çevre koşullarına karşı bitkisel üretimde verimliliği artırabilmek çok önemlidir. Verim artışı, stres koşullarına dayanıklı bireylerin seçilmesi veya ıslahıyla mümkündür.

Abiyotik stres koşullarında bütün bitkilerde oksidatif zararlanmalar meydana gelmekte ve anılan bu stres koşullarına dayanmak veya stresten kaçmak için bitki türlerinin ve çeşitlerinin geliştirmiş oldukları mekanizmalar birbirlerinden oldukça farklılık göstermektedir. Bu nedenle kimi bitki tür veya çeşitleri abiyotik stres koşullarından daha şiddetli etkilenirken kimi bitki tür veya çeşitleri dayanıklılık göstermektedir. Bu farklılıklar bitki türleri arasında olabileceği gibi aynı türün farklı çeşitleri arasında da önemli oranda görülebilmektedir.

Tuz stresine tolerans bakımından anaçlar ve çeşitler arasında önemli farklılıklar görüldüğü Troncoso et al (1999), Singh et al (2000) ve Fisarakis et al (2001) tarafından asma anaçları, Dragišić Maksimović et al (2013) tarafından arpa çeşitleri, Turner et al (2013) tarafından nohut çeşitleri ve Balal et al (2011) tarafından turunçgil anaçları ile yapılan çalışmalarda belirtilmiştir.

Abiyotik stres koşullarında, yaprak nispi nem içeriği ve yaprak su potansiyelinin düşmesi sonucu bitkilerde fotosentez oranı azalmaktadır (Lawlor 2001). Tuzlu koşullarda fotosentez oranının azalmasının temel sebebinin stomatal sınırlanmadan kaynaklandığı bilinmektedir (Cornic 1996). Tuz stresi altında stomaların kapanmasına bağlı olarak fotosentez oranı ve içsel CO₂ konsantrasyonunun azalması fotosentez metabolizmasını engellemektedir. Tuz stresinde stomaların kapanması bitkilerin beslenme durumlarını da olumsuz etkilemektedir (Oren et al 1999). Stres koşullarında stomaların kapanmasına bağlı olarak yaprakların mezofil dokularında CO₂ seviyesinin hızla düşmesi ve süperoksit radikallerinin (O₂•-) artmasıyla bitki dokularında moleküler oksijen ile rekabet eden nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADP)'lar indirgenerek nikotinamid adenin dinükleotit fosfat hidrojen (NADPH) birikmektedir. Bu koşullarda bitki dokularında NADP miktarı azalmakta ve oksijen alternatif elektron alıcısı olarak görev yapmaktadır. Bu durumda bitki dokularında indirgenmiş oksijen türevleri olan süperoksit radikalleri (O₂•-), ve bunun indirgenmiş formu olan hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil (OH•-) radikalleri oluşmaktadır (Cadenas 1989; Sairam & Saxena 2000). Aktif oksijen çeşitleri olarak adlandırılan bu radikaller, bitkilerde lipid peroksidasyonuna, membran zararlanmasına, proteinlerin bozunmasına, enzimlerin inaktivasyonuna, pigmentlerin azalmasına ve deoksiribonükleik asit (DNA) zincirlerinin bozunmasına yol açmaktadır (Fridovich 1986; Liebler et al 1986; Davies 1987; Imlay & Linn 1988). Bitkilerin süper oksit radikali ve H₂O₂ toksitesini önleyebilmeleri, oksidatif strese karşı önemli savunma mekanizmaları olan antioksidatif enzimler aracılığıyla sağlanmaktadır. Bitkiler, hücrelerini toksik olan aktif oksijen çeşitlerinin zararlarından süperoksit dismutaz,

askorbat peroksidaz, glutasyon redüktaz, katalaz enzimleri ve bunların metabolitleri olan glutasyon, askorbik asit, α-tokoferol ve karotenoidler aracılığıyla korumaktadırlar (Liebler et al 1986; Sairam et al 1998; Sairam & Saxena 2000). Antioksidan sistemleri güçlü olan çeşit veya türlerin stres koşullarına toleransları artmaktadır.

Bu çalışmada, üç farklı kiraz anacının (Colt, Gisela 5 ve Maxma) *in vitro* koşullarda tuz stresine toleransları; sürgünlerin toplam klorofil içeriği, membran geçirgenlikleri, lipid peroksidasyonu, toplam antioksidan aktivitesi, prolin içerikleri, katalaz ve peroksidaz antioksidan enzim izoformları gibi bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametreler belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada, bitki materyali olarak üç farklı kiraz anacına [Colt (*Prunus avium* x *Prunus pseudocerasus*), Gisela 5 (*Prunus cerasus* x *Prunus avium*), Maxma (*Prunus mahaleb* x *Prunus avium*)] ait sürgün uçları kullanılmıştır. İlkbahar döneminde bitkiler uyanmaya başladığında kiraz anaçlarından alınan sürgün uçları yüzeysel dezenfeksiyonunu sağlamak amacıyla, % 70'lik etanol içerisinde 2 dakika bekletilmiş, daha sonra 1-2 damla Tween-20 içeren % 5'lik sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde 10 dakika süre ile çalkalanmış ve steril saf su ile her biri 5'er dakika olmak üzere üç kez yıkanmıştır. Doku kültürü çalışmalarının bütün aşamalarında temel besin ortamı olarak Murashige ve Skoog ortamı (MS, Sigma-Aldrich) + 1 mg L⁻¹ BAP (benzil amino purin) + 0.02 mg L⁻¹ NAA (naftalen asetik asit) + % 3 sakkaroz + % 0.7 agar kullanılmıştır (Murashige & Skoog 1962). Besin ortamları, pH'ları 5.7'ye ayarlandıktan sonra. 121 °C sıcaklık ve 1.2 atm basınç altında 20 dakika süre ile otoklavda steril edilmişlerdir. Steril edilen sürgün uçları (20 mm) kurutma kâğıtları ile kurutulduktan sonra hazırlanan MS besin ortamı içerisinde kültüre alınmıştır. Gelişen bitkiler, tuz stresi yaratmak amacıyla 0, 25 ve 50 mM NaCl ilave edilmiş MS (800 mL iç hacme sahip cam kavanozlar içerisinde

100'er mL olacak şekilde dağıtılmış) besin ortamı içerisinde dört hafta süreyle kültüre alınmıştır.

Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre dört tekerrürlü ve her tekerrürde 10 bitki olacak şekilde kurulmuştur. Çoğaltmanın tüm aşamalarında besin ortamlarına dikilen kültürler, sıcaklığı 25 ± 1 °C ve gün uzunluğu 16/8 saat aydınlık/karanlık ve ışık yoğunluğu 3000 lux olarak ayarlanmış olan kültür odalarında gelişmeye bırakılmışlardır.

Dört haftalık gelişme döneminden sonra ortamlar içerisinden çıkarılan bitkilerin beş adedinde sürgün boyu, sürgün sayısı ve yaş ağırlıkları belirlendikten sonra sabit ağırlığa gelinceye kadar 65 °C sıcaklığa ayarlı havalı kurutma fırınında kurutularak kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Geri kalan bitkiler içerisinden bir adet bitkinin tamamı alınarak membran geçirgenliği analizi Shen & Yan (2002)'a göre hasat sırasında yapıldıktan sonra kalan bitkiler bütün olarak enzim izoformlarının çıkarılması ve diğer analizler için -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

Dondurulmuş bitki örneklerinde lipid peroksidasyonu (MDA) Heath & Packer (1968) ve Sairam & Saxena (2000), toplam antioksidan aktivite Prieto et al (1999), prolin Bates et al (1973) ve toplam klorofil Arnon (1946) ve Withan et al (1971) tarafından bildirildiği şekilde belirlenmiştir. Enzim (protein) ise Gulen & Eris (2004) tarafından belirtildiği şekilde ekstrakte edilmiştir.

Ekstraksiyon sonucunda elde edilen toplam protein miktarının belirlenmesinde Bradford (1976) yöntemi kullanılmıştır. Peroksidaz ve katalaz izoenzim kalıplarının belirlenmesi amacıyla Native-Page yöntemi kullanılmıştır. Ekstrakte edilen protein örnekleri % 7.5'lik poliakrilamid jelde Laemmli (1970) yöntemine göre sodyum dodesil sülfat (SDS) katılmaksızın elektroforezde yürütülmüştür. Elektroforez işlemi sonunda jeller POD izoenzimi için Wendel & Weeden (1989) ve CAT enzimi için Wolfe (1976)'e göre spesifik boyamalara tabi tutulmuştur.

Dört haftalık gelişme döneminden sonra ortamlar içerisinden çıkarılan bitkilerin beş adedinde sürgün boyu, sürgün sayısı ve yaş ağırlıkları belirlendikten sonra sabit ağırlığa gelinceye kadar 65 °C sıcaklığa

ayarlı havalı kurutma fırınında kurutularak kuru ağırlıkları belirlendikten sonra kurutulmuş ve öğütülmüş bitki örnekleri mikro dalga fırında yağ yakma yöntemi ($\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$) ile yakıldıktan sonra Na fleymfotometre (Jenway PFP7, ELE Instrument Co. Ltd) ile, Cl ise öğütülmüş kuru bitki örneklerinde AgNO_3 ile titre edilerek belirlenmiştir (Johnson & Ulrich 1975).

Araştırma sonunda elde edilen veriler MINITAB paket programı kullanılarak varyans analizi ile değerlendirilmiş, ortalamalar arasındaki farkın önemlilik durumu ise MSTAT paket programı kullanılarak Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile belirlenmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Bitki gelişimi

In vitro koşullarda yetiştirilen kiraz anaçlarının yaş ve kuru ağırlığı ile sürgün sayısı üzerine anaç (A) ve uygulamanın (NaCl) (T) etkisi önemli olurken anaç x uygulama (AxT) interaksyonunun etkisi önemsiz olmuştur (Çizelge 1). Tuz (NaCl) uygulaması ile birlikte anaçların yaş ve kuru ağırlıkları ile sürgün sayısı azalmıştır. Anaçların yaş ağırlık ortalamaları incelendiğinde en düşük yaş ağırlığın Maxma anacından elde edildiği görülürken Gisela 5 ve Colt anaçları arasındaki farkın istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Tuz uygulaması kuru ağırlığı en fazla Maxma anacında azaltmış (% 30.7), bunu sırasıyla Colt (% 27.1) ve Gisela 5 (% 22.8) anacı izlemiştir. Anaçlar birlikte değerlendirildiğinde, ortalama sürgün sayısı 50 mM NaCl uygulaması ile kontrole göre önemli oranda azalmış, Gisela 5 ve Colt anaçlarının sürgün sayısı Maxma anacından daha düşük olmuştur. Anaçların sürgün boyu üzerine AxT interaksyonunun etkisi önemli olmuştur. Tuz uygulaması ile anaçların sürgün boyu azalmış, en kısa sürgün boyu 50 mM NaCl uygulaması ile Maxma anacından elde edilmiştir (Çizelge 1).

Tuz stresi bitkilerde bir seri fizyolojik ve biyokimyasal sürecin olumsuz etkilenmesine yol açar. Termaat & Munns (1986) ve Ruiz et al

Çizelge 1- *In vitro* koşullarda NaCl uygulamasının kiraz anaçlarının yaş (YA) ve kuru ağırlığı (KA) ile sürgün sayısı (SS) ve sürgün boyu (SB) üzerine etkisi*Table 1- Effect of NaCl on fresh (FW) and dry weight (DW), number of shoots (NS) and shoot length (SL) of sweet cherry rootstocks grown in vitro*

<i>Anaçlar</i>	<i>NaCl</i> (mM)	<i>YA</i> (g 5 bitki ⁻¹)	<i>KA</i> (g 5 bitki ⁻¹)	<i>SS</i> (bitki ⁻¹)	<i>SB</i> (cm)
Gisela 5	0	10.50	1.45	4.97	3.30 a
	25	9.31	1.18	4.92	2.97 b
	50	10.40	1.12	3.73	3.08 ab
Maxma	0	8.40	0.88	6.35	2.50 cd
	25	5.84	0.61	6.35	2.33 cd
	50	5.21	0.66	4.55	1.98 e
Colt	0	11.40	1.18	5.75	3.21 ab
	25	7.15	0.86	4.50	2.63 c
	50	8.62	0.97	3.55	2.31d
<i>Ortalama</i>					
	0	10.10 a	1.67 a	5.69 a	3.00
	25	7.43 b	0.88 b	5.26 a	2.64
	50	8.07 b	0.92 b	3.94 b	2.46
<i>Ortalama</i>					
Gisela 5		10.07 a	1.25 a	4.54 b	3.12
Maxma		6.48 b	0.72 c	5.75 a	2.27
Colt		9.05 a	1.01 b	4.60 b	2.71
<i>F-test</i>					
Anaç (A)		9.20**	13.79**	7.66**	55.50**
Tuz (T)		5.22*	4.67*	13.71**	23.88**
AxT		0.96 ^{öd}	0.13 ^{öd}	0.84 ^{öd}	3.96*

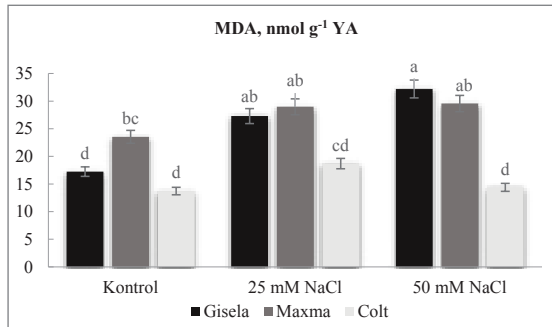
*, P<0.05; **, P<0.01; öd, önemli değil; A, anaç; T, tuz uygulaması; AxT, interaksyon; aynı sütündeki farklı harfler Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre farkların önemli olduğunu gösterir; değerler dört tekrerrün ortalamasıdır

(1999)'a göre tuz stresinin bitki gelişimi üzerine olan bu olumsuz etkileri ozmotik ve iyonik olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Kiraz anaçlarının sürgün gelişimi, yaş ve kuru ağırlığı NaCl uygulaması ile önemli oranda azalmıştır. Benzer sonuçlar Gisela 5 anacında Erturk et al (2007) tarafından, kiraz anaçlarında [GF 677 (*Prunus persica* × *Prunus amygdalus*) ve Nemared (*Prunus persica*)] Sotiropoulos et al (2006a) ve M9 elma anacında Sotiropoulos (2007) tarafından da bildirilmiştir.

3.2. Lipid peroksidasyonu, toplam antioksidan aktivite, membran geçirgenliği, prolin ve toplam klorofil içeriği

In vitro koşullarda kiraz anaçlarının lipid peroksidasyonu ve toplam antioksidan aktivitesi üzerine AxT interaksyonunun etkisi önemli olmuştur (Şekil 1 ve Şekil 2). Tuz uygulaması Gisela 5 anacının lipid peroksidasyonunu önemli derecede artırırken, Maxma ve Colt anaçlarının lipid peroksidasyonunda önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Ortalama lipid peroksidasyonunun

Maxma anacında diğer anaçlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Abiyotik stres etmeni ile karşılaşan bitkilerde membran lipidlerinin peroksidasyonu hücresel boyutta stres içeren zararlanmanın bir göstergesidir. Bu sebeple MDA içeriği, membran lipidlerinin peroksidasyonunun ve oksidatif zararlanmaların bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir (Gunes et al 2007). Tuz stresi altında MDA içeriğinin arttığı çeşitli çalışmalarda da bildirilmiştir (Gunes et al 2007; Sekmen et al 2007; Eraslan et al 2007; 2008). Tuza toleransı yüksek olan genotiplerin düşük MDA miktarına yani daha az lipid peroksidasyonuna sahip olduğu, lipid peroksidasyonu fazla olan genotiplerin ise tuza daha fazla duyarlılık gösterdikleri çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Gossett et al (1994), tuz uygulaması ile hassas bir pamuk çeşidinde lipid peroksidasyonunun dayanıklı çeşitten % 51 oranında daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Benzer sonuçlar; Kuşvuran et al (2007) tarafından kavun genotiplerinde, Sekmen et al (2007) tarafından tuza hassas ve dayanıklı sınırotu çeşitlerinde ve Shalata & Tal (1998) tarafından ise domates genotiplerinde bildirilmiştir. Bu çalışmada da stres koşulunda en yüksek MDA içeriğinin Maxma anacında olduğu belirlenmiştir. Anaçların tuzdan etkilenme düzeyi



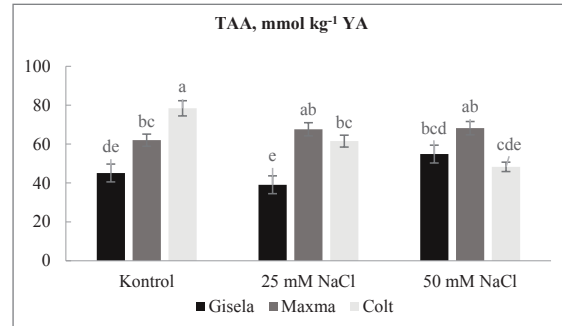
Şekil 1- *In vitro* koşullarda NaCl uygulamasının kiraz anaçlarının lipid peroksidasyonuna (MDA) etkisi [F-Test: Anaç: **; Tuz: **; AxT: * (, P<0.01; *, P<0.05)]**

Figure 1- Effect of NaCl on lipid peroxidation (MDA) of sweet cherry rootstocks grown *in vitro* [F-Test: Rootstock: **; Treatments: **; RxT: * (**, P<0.01; *, P<0.05)]

ile sürgün MDA içeriği arasında ilişki olduğu, MDA içeriğindeki artışa göre yapılan sıralama ile tuza tolerans özelliğinin bağlantılı olduğu sonucuna varılmıştır.

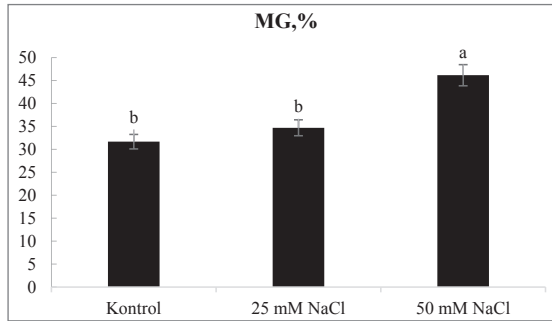
Tuz uygulaması Colt anacının toplam antioksidan aktivitesini azaltmış, Maxma anacının toplam antioksidan aktivitesinde önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Gisela 5 anacında ise yüksek tuz düzeyine göre düşük tuz düzeyinde toplam antioksidan aktivite daha düşük olmuştur (Şekil 2). Toplam antioksidan aktivite ortalama olarak Maxma anacında en yüksek seviyede olmuş bunu sırasıyla Colt ve Gisela 5 anaçları izlemiştir. Yapılan çeşitli araştırmalarda da yetiştirme ortamında NaCl konsantrasyonunun artması ile bitki yapraklarında toplam antioksidan aktivitenin arttığı bildirilmiştir (Molassiotis et al 2006; Eraslan et al 2007).

Kiraz anaçlarının membran geçirgenliği, prolin ve toplam klorofil içeriği üzerine tuz uygulamasının etkisi önemli olurken anaç ve AxT etkisinin etkisi istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Anaçların membran geçirgenliğini 50 mM dozundaki tuz uygulaması, kontrol ve 25 mM tuz dozuna göre önemli oranda artırmıştır (Şekil 3). Abiyotik stres koşullarında bitkilerin membran



Şekil 2- *In vitro* koşullarda NaCl uygulamasının kiraz anaçlarının toplam antioksidan aktivitesine (TAA) etkisi [F-Test: Anaç: **; Tuz: ^{öd}; AxT: ** (, P<0.01; ^{öd}, önemli değil)]**

Figure 2- Effect of NaCl on non-enzymetic total antioxidant activity (TAA) of sweet cherry rootstocks grown *in vitro* [F-Test: Rootstock: **; Treatments: ^{ns}; RxT: ** (**, P<0.01; ns, non-significant)]



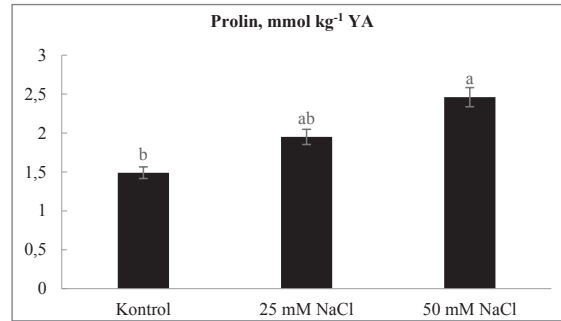
Şekil 3- *In vitro* koşullarda NaCl uygulamasının kiraz anaçlarının ortalama membran geçirgenliğine (MG) etkisi [F-Test: Anaç: ^{öd}; Tuz: **; AxT: ^{öd} (, P<0.01; ^{öd}, önemli değil)]**

Figure 3- Effect of NaCl on average membrane permeability of sweet cherry rootstocks grown in vitro [F-Test: Rootstock: ^{ns}; Treatments: **; RxT: ^{ns} (*, P<0.01; ns, non-significant)]

geçirgenliğinin arttığını bildiren pek çok araştırma bulunmaktadır (Alpaslan & Gunes 2001; Ismail 2004; Gunes et al 2007).

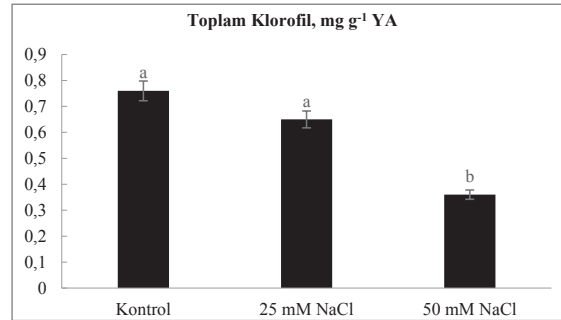
Artan dozda NaCl uygulaması anaçların prolin içeriklerini kontrole göre artırmış ancak prolin içeriğindeki artış yüksek tuz düzeyinde kontrole göre önemli olmuştur. (Şekil 4). Tarımsal ekosistemde herhangi bir stres etmeni (ağır metal toksisitesi, besin maddesi eksikliği, kuraklık, tuzluluk vb) ile karşılaşan bitkilerin olumsuz koşullara adapte olabilmek için bünyelerinde prolin miktarını artırdıkları belirtilmektedir (Hare & Cress 1997). Tuz stresi altında bitkilerde prolin içeriğinin arttığı Aziz et al (1999), Tarakcioglu & Inal (2002) ve Ismail (2004) tarafından da bildirilmiştir. Wang & Han (2009), yonca çeşitleri ile yaptıkları çalışmada prolin birikiminin tuza toleransın bir sonucu olabileceğini belirtmiştir.

Artan dozda NaCl uygulaması anaçların klorofil içeriklerini kontrole göre azaltmış ancak klorofil içeriğindeki azalış yüksek tuz düzeyinde kontrole göre önemli olmuştur (Şekil 5). Tuz (NaCl) stresinde klorofil içeriğinin azalması, tuzluluğun bitkiler tarafından Mg ve Fe gibi iyonların alınımı olumsuz etkilemesi, bunun sonucu olarak kloroplast oluşumunun ve klorofil biyosentezinin azalması şeklinde açıklanmaktadır (Neocleous & Vasilakakis



Şekil 4- *In vitro* koşullarda NaCl uygulamasının kiraz anaçlarının ortalama prolin içeriğine etkisi [F-Test: Anaç: ^{öd}; Tuz: **; AxT: ^{öd} (, P<0.01; ^{öd}, önemli değil)]**

Figure 4- Effect of NaCl on average proline concentrations of sweet cherry rootstocks grown in vitro [F-Test: Rootstock: ^{ns}; Treatments: **; RxT: ^{ns} (*, P<0.01; ns, non-significant)]



Şekil 5- *In vitro* koşullarda NaCl uygulamasının kiraz anaçlarının ortalama toplam klorofil içeriğine etkisi [F-Test: Anaç: ^{öd}; Tuz: **; AxT: ^{öd} (, P<0.01; ^{öd}, önemli değil)]**

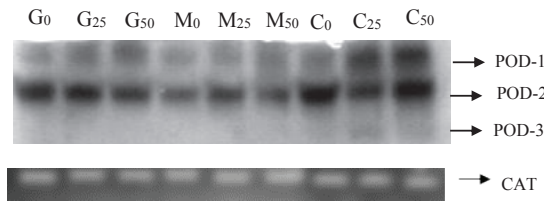
Figure 5- Effect of NaCl on average total chlorophyll concentrations of sweet cherry rootstocks grown in vitro [F-Test: Rootstock: ^{ns}; Treatments: **; RxT: ^{ns} (**, P<0.01; ns, non-significant)]

2007). Sotiropoulos et al (2006b), tuz uygulaması ile klorofil içeriğinin kiraz anaçlarında azaldığını ancak Gisela 5'in CAB 6P' ye göre daha fazla klorofil içerdiğini belirtmiştir. Tuz uygulaması ile bitkide klorofil içeriğinin azaldığına ait benzer sonuçlar Erturk et al (2007) tarafından Gisela 5 kiraz anacında ve Papadakis et al (2007) tarafından farklı kiraz çeşitlerinde de bildirilmiştir.

3.3. Peroksidaz (POD) ve katalaz (CAT) enzim izoformları

Farklı dozlarda NaCl uygulanan kiraz anaçlarının peroksidaz (POD) ve katalaz (CAT) enzim izoformları Şekil 6'da verilmiştir. Kiraz anaçlarının POD profillerindeki bantlarının farklı olarak yoğunlaştığı gözlenmiştir. Peroksidaz profillerindeki ilk bantlarda 25 ve 50 mM NaCl içeren MS ortamı üzerinde gelişen kiraz anaçlarının POD bandının kontrol grubuna göre daha yoğun olduğu ve Maxma anacının diğer anaçlara göre daha az yoğunlukta bant oluşturduğu gözlenmiştir. Özellikle 25 ve 50 mM NaCl içeren MS ortamı üzerinde gelişen Colt kiraz anacının yoğun bir peroksidaz bandı oluşturduğu tespit edilmiştir. Peroksidaz profillerindeki 3. bantlar sadece 25 ve 50 mM NaCl içeren MS ortamı üzerinde gelişen Colt anacında çok az bir yoğunlukta gözlenmiştir. Anaçlar arasında POD izoformu değerlendirildiğinde en düşük aktivasyonun Maxma anacında görüldüğü ve bunu sırasıyla Gisela 5 ve Colt anaçlarının izlediği belirlenmiştir.

Tuzlu ortamda POD enzim aktivasyonu ve izoform sayısındaki artış çeltik yapraklarında (Lee et al 2001), *Suaeda nudiflora*'nın kalluslarında (Cherian & Reddy 2003), ve MM106 elma anacının yaprak ve sürgünlerinde (Molassiotis et al 2006) tespit edilmiştir. Wang & Han (2009) tuzlu koşullarda yetişen yonca çeşitlerinden dayanıklı olanların POD aktivitelerini ve izoform sayısını artırarak tuza karşı tolerans geliştirebileceğini belirtmiştir.



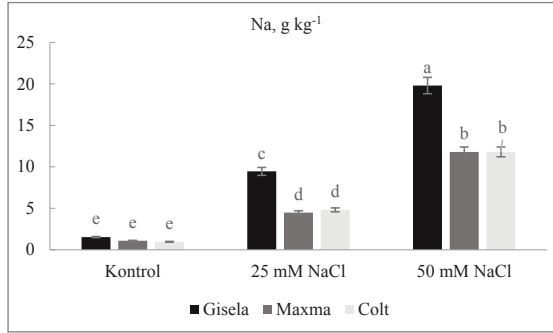
Şekil 6- *In vitro* koşullarda NaCl uygulanan kiraz anaçlarının peroksidaz (POD) ve katalaz (CAT) enzim izoformları. G, Gisela 5; M, Maxma; C, Colt; 0, kontrol; 25, 25 mM NaCl; 50, 50 mM NaCl

Figure 6- Effect of NaCl on peroxidase (POD) and catalase (CAT) antioxidant enzyme isoforms of sweet cherry rootstocks in vitro. G, Gisela 5; M, Maxma; C, Colt; 0, control; 25, 25 mM NaCl; 50, 50 mM NaCl

Stres koşullarında bitkilerde birikebilen hidrojen peroksidin (H_2O_2) parçalanmasında (detoksifikasyonu) etkili olan enzimler katalaz, askorbat-glutasyon döngüsüne katılan glutasyon reduktaz ve askorbat peroksidaz enzimleridir. Farklı dozlarda NaCl içeren ortamlar üzerinde gelişen Gisela 5, Maxma ve Colt kiraz anaçlarının CAT enzim izoformları, kiraz anaçlarının katalaz profillerinde bantlar tespit edildiğini fakat bantlar arasında belirgin bir fark olmadığını göstermiştir (Şekil 6). Tuza toleransı farklı olan karpuz çeşitlerinde tuz stresinin etkisini araştıran Yaşar et al (2008) tuz stresi koşullarında CAT aktivitesinin özellikle tuza toleranslı çeşitlerde çok ciddi artışlar gösterirken duyarlı çeşitlerde çok daha düşük seviyede artış göstermesinin tuz stresi altında CAT enzim aktivitesini artırma konusunda tuza toleranslı çeşitlerin daha yetenekli olmasından kaynaklandığını ve bu görüşün yaygın şekilde kabul edildiğini bildirmişlerdir. Chinta et al (2001), dut bitkisinde tuzlu koşullarda CAT enzim aktivitesinin arttığını, Lee et al (2001) ve Asish et al (2004) ise tuzlu ortamlarda katalaz enzim aktivasyonunun azaldığını belirtmişlerdir. Bu durum CAT enzim aktivitesinin bitki tür ve çeşidi ile araştırma koşullarına göre değişebileceğini göstermektedir.

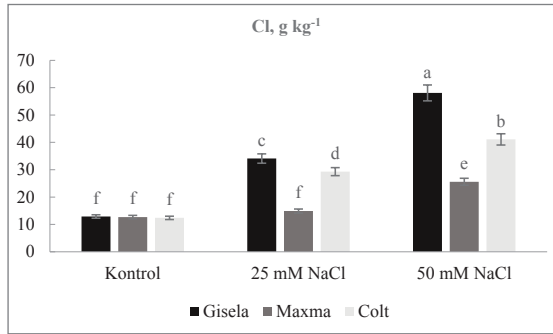
3.4. Bitki Na ve Cl konsantrasyonları

Kiraz anaçlarının Na ve Cl konsantrasyonları üzerine AxT interaksyonunun etkisi önemli olmuştur. Uygulanan NaCl dozu arttıkça bitki Na ve Cl konsantrasyonları artmıştır (Şekil 7 ve 8). Tuzlu koşullarda Gisela 5 kiraz anacının Na ve Cl konsantrasyonlarının Maxma ve Colt kiraz anaçlarının Na ve Cl konsantrasyonlarından daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Güneş et al (2003) asma anaçlarında, Papadakis et al (2007) farklı kiraz çeşitlerinde, Karakullukçu & Adak (2008) nohut çeşitlerinde, Karimi & Hasanpour (2014) nar çeşitlerinde, NaCl uygulaması ile sürgün Na ve Cl konsantrasyonlarının önemli oranda arttığını ve Na ve Cl birikimi yönünden anaç veya çeşitler arasında fark olduğunu belirtmişlerdir. Kuşvuran et al (2008), Na ve Cl konsantrasyonlarının tuza toleranslı ve hassas kavun genotiplerinin belirlenmesi açısından etkin bir parametre olabileceğini belirtmiştir.



Şekil 7- *In vitro* koşullarda NaCl uygulamasının kiraz anaçlarının Na konsantrasyonuna etkisi [F-Test: Anaç: **; Tuz: **; AxT: ** (, P<0.01)]**

Figure 7- Effect of NaCl on Na concentrations of sweet cherry rootstocks grown in vitro [F-Test: Rootstock: ** Treatments: **; RxT: ** (**, P<0.01)]



Şekil 8- *In vitro* koşullarda NaCl uygulamasının kiraz anaçlarının Cl konsantrasyonuna etkisi [F-Test: Anaç: **; Tuz: **; A*T: ** (, P<0.01)]**

Figure 8- Effect of NaCl on Cl concentrations of sweet cherry rootstocks grown in vitro [F-Test: Rootstock: ** Treatments: **; RxT: ** (**, P<0.01)]

4. Sonuç

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, tüm anaçların sürgün gelişimi tuz stresinden olumsuz etkilenmiştir. Stres koşullarında anaçların fizyolojik ve biyokimyasal yapılarında önemli değişiklikler meydana gelmiştir. Tuzluluğa toleransın belirlenmesinde sürgün gelişimi ile uyumlu bir şekilde sürgün lipid peroksidasyonu, toplam antioksidan ve POD enzim aktivitelerinin strese

dayanım mekanizmasında seçim kriteri olarak kullanılabilceği belirlenmiş, stres koşulunda en yüksek lipid peroksidasyonu ve en düşük POD enzim aktivasyonu Maxma anaçından elde edilmiştir. Tüm gelişim ve fizyolojik parametreler birlikte değerlendirildiğinde tuzluluk stresinden en fazla etkilenen anaçın Maxma ve en az etkilenen anaçın Gisela 5 olduğu, Colt anaçının ise tuz stresinden orta derecede etkilendiği sonucuna varılmıştır.

Teşekkür

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK, Proje No:108 O 250) tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Alpaslan M & Gunes A (2001). Interactive effects of boron and salinity stress on the growth, membrane permeability and mineral composition of tomato and cucumber plants. *Plant and Soil* **236**: 123-128
- Arnon D M (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* **24**: 1-15
- Asish K P, Anath B D & Prasanna M (2004). Defense potentials to NaCl in mangrove, *Bruguiera parviflora*: Differential changes of isoforms of some antioxidative enzymes. *Journal of Plant Physiology* **161**: 531-542
- Aziz A, Martin-Tanguy J & Lather F (1999). Salt stress-induced proline accumulation and changes in tyramine and polyamine levels are linked to ionic adjustment in tomato leaf discs. *Plant Science* **145**: 83-91
- Balal R M, Ashraf M Y, Khan M M, Jaskani M J & Ashfaq M (2011). Influence of salt stress on growth and biochemical parameters of citrus rootstocks. *Pakistan Journal of Botany* **43**(4): 2135-2141
- Bates L S, Waldren R P & Teare I D (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* **39**: 205-207
- Bradford M M (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* **72**: 248-254
- Cadenas S E (1989). Biochemistry of oxygen toxicity. *Annual Review Biochemistry* **58**: 79-110

- Cherian S & Reddy M P (2003). Evaluation of NaCl tolerance in the callus cultures of *Suaeda nudiflora* Moq. *Biologia Plantarum* **46**: 193-198
- Chinta S, Lakshmi A & Giridarakumar S (2001). Change in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science* **161**: 613-619
- Cornic G (1996). Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture-not by affecting ATP synthesis. *Trends in Plant Science* **1**: 21-26
- Davies K J A (1987). Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. General aspects. *Journal of Biological Chemistry* **262**: 9895-9901
- Dragišić Maksimović J, Zhang J, Zeng F, Živanović B D, Shabala L, Zhou M & Shabala S (2013). Linking oxidative and salinity stress tolerance in barley: Can root antioxidant enzyme activity be used as a measure of stress tolerance? *Plant and Soil* **365**: 141-155
- Eraslan F, Inal A, Savasturk O & Gunes A (2007). Changes in antioxidative system and membrane damage of lettuce in response to salinity and boron toxicity. *Scientia Horticulturae* **114**: 5-10
- Eraslan F, Inal A, Pilbeam D J & Gunes A (2008). Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea* L. cv. Matador) grown under boron toxicity and salinity. *Plant Growth Regulation* **55**: 207-219
- Erturk U, Sivritepe N, Yerlikaya C, Bor M, Ozdemir F & Turkan I (2007). Responses of the cherry rootstock to salinity *in vitro*. *Biologia Plantarum* **51**(3): 597-600
- FAO (2002). Crops and drops. Making the best use of water for agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy
- FAO (2012). Agricultural Statistics, Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.faostat.fao.org>, Accessed: 29 October 2014
- Fisarakis I, Chartzoulakis K & Stavrakas D (2001). Response of Sultana vines (*V. vinifera* L.) on six rootstocks to NaCl salinity exposure and recovery. *Agricultural Water Management* **51**(1): 13-27
- Fridovich I (1986). Biological effects of superoxide radical. *Archives of Biochemistry Biophysics* **247**: 1-11
- Gossett D R, Millhollon E P & Lucas M C (1994). Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. *Crop Science* **34**: 706-714
- Gulen H & Eris A (2004). Effect of heat stress on peroxidase activity and protein content in strawberry plants. *Plant Science* **166**(3): 739-744
- Güneş A, Çelik H, Alpaslan M, Söylemezoğlu G, Eraslan F, Yaşa Z & Koç Ö (2003). Asmaların (*Vitis* spp.) bor toksisitesi ve tuzluluğa karşı toleransının belirlenmesine yönelik olarak bor, sodyum ve klor alımlarının karşılaştırılması. *Tarım Bilimleri Dergisi-Journal of Agricultural Sciences* **9**: 428-434
- Gunes A, Inal A, Bagci E G & Pilbeam D (2007). Silicon-mediated changes of some physiological and enzymatic parameters symptomatic for oxidative stress in spinach and tomato grown in sodic-B toxic soil. *Plant and Soil* **290**: 103-114
- Hare P D & Cress W A (1997). Metabolic implication of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation* **21**: 79-102
- Heath R L & Packer L (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **125**: 189-198
- Imlay J A & Linn S (1988). DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science* **240**: 1302-1309
- Ismail A M (2004). Response of maize and sorghum to excess boron and salinity. *Biologia Plantarum* **47**(2): 313-316
- Johnson J M & Ulrich A (1975). Analytical Methods for Use in Plant Analysis. II. California: *Agricultural Experimental Station Bulletin*
- Karakullukçu E & Adak M S (2008). Bazı nohut (*Cicer arietinum* L.) çeşitlerinin tuza toleranslarının belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi-Journal of Agricultural Sciences* **14**(4): 313-319
- Karimi H R & Hasanpour Z (2014). Effects of salinity and water stress on growth and macro nutrients concentration of pomegranate (*Punica granatum* L.). *Journal of Plant Nutrition* **37**: 1937-1951
- Kuşvuran Ş, Ellialtıoğlu Ş, Abak K & Yaşar F (2007). Bazı kavun (*cucumis* sp.) genotiplerinin tuz stresine tepkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi-Journal of Agricultural Sciences* **13**(4): 395-404
- Kuşvuran Ş, Yaşar F, Abak K & Ellialtıoğlu Ş (2008). Tuz stresi altında yetiştirilen tuza tolerant ve duyarlı *Cucumis* sp.'nin bazı genotiplerinde lipid peroksidasyonu, klorofil ve iyon miktarlarında

- meydana gelen değişimler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi* **18**(1): 13-20
- Kotuby-Amacher J, Koenig R & Kitchen B (2000). Salinity and Plant Tolerance. Electronic Publication AG-SO-03, Utah State University Extension, Logan.
- Laemmli U K (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**: 680-685
- Lawlor D W (2001). Limitation of photosynthesis in water stressed leaves: Stomata vs. metabolism and the role of ATP. *Annals of Botany* **89**: 1-15
- Lee D H, Kim T S & Lee C B (2001). The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Physiology* **158**: 737-745
- Liebler D C, Kling D S & Reed D J (1986). Antioxidant protection of phospholipid bilayers by α -tocopherol. Control of α -tocopherol status and lipid peroxidation by ascorbic acid and glutathione. *Journal of Biological Chemistry* **261**: 12114-12119
- Molassiotis A N, Sotiropoulos T E, Tanou G, Kofidis G, Diamantidis G & Therios I (2006). Antioxidant and anatomical responses in shoot culture of the apple rootstock MM 106 treated with NaCl, KCl, mannitol or sorbitol. *Biologia Plantarum* **50**(1): 61-68
- Murashige T & Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* **15**(3): 473-497
- Neocleous D & Vasilakakis M (2007). Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. 'Autumn Bliss'). *Scientia Horticulturae* **112**: 282-289
- Oren R, Sperry J S, Katul G G, Pataki D E, Ewers B E, Phillips N & Schaffer K V R (1999). Survey and synthesis of intra and inter specific variation of stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. *Plant Cell & Environment* **22**: 1515-1526
- Papadakis I E, Veneti G, Chatzissavvidis C, Sotiropoulos T E, Dimassi K N & Therios I N (2007). Growth, mineral composition, leaf chlorophyll and water relationships of two cherry varieties under NaCl-induced salinity stress. *Soil Science & Plant Nutrition* **53**(3): 252-258
- Prieto P, Pineda M & Aguilar M (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry* **269**: 337-341
- Ruiz D, Martinez V & Cerda A (1999). Demarcating specific ion (NaCl, Cl⁻, Na⁺) and osmotic effects in the response of two citrus rootstocks to salinity. *Scientia Horticulturae* **80**: 213-224
- Sairam R K & Saxena D C (2000). Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: Possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy & Crop Science* **184**: 55-61
- Sairam R K, Deshmukhi P S & Saxena D C (1998). Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. *Biologia Plantarum* **41**(3): 387-394
- Sekmen A H, Turkan I & Takio S (2007). Differential responses of antioxidative enzymes and lipid peroxidation to salt stress in salt-tolerant *Plantago maritima* and salt-sensitive *Plantago media*. *Physiologia Plantarum* **131**(3): 399-411
- Shalata A & Tal M (1998). The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in the leaf of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii*. *Physiologia Plantarum* **104**: 169-174
- Shen H & Yan X (2002). Membrane permeability in roots of crotalaria seedlings as affected by low temperature and low phosphorus stress. *Journal of Plant Nutrition* **25**(5): 1033-1047
- Singh S K, Sharma H C, Goswami A M, Datta S P & Singh S P (2000). *In vitro* growth and leaf composition of grapevine cultivars as affected by sodium chloride. *Biologia Plantarum* **43**(2): 283-286
- Sotiropoulos T E, Dimassi K N, Tsiarakoglou V & Therios I N (2006a). Responses of two *Prunus* rootstocks to KCl induced salinity *in vitro*. *Biologia Plantarum* **50**(3): 477-480
- Sotiropoulos T E, Therios I N, Almaliotis D, Papadakis I & Dimassi K N (2006b). Response of cherry rootstocks to boron and salinity. *Journal of Plant Nutrition* **29**: 1691-1698
- Sotiropoulos T E (2007). Effect of NaCl and CaCl₂ on growth and contents of minerals, chlorophyll, proline and sugars in the apple rootstock M 4 cultured *in vitro*. *Biologia Plantarum* **51**(1): 177-180
- Tarakcioglu C & Inal A (2002). Changes induced by salinity, demarcating specific ion ratio (Na/Cl) and osmolality in ion and proline accumulation, nitrate reductase activity and growth performance of lettuce. *Journal of Plant Nutrition* **25**(1): 27-41
- Termaat A & Munns R (1986). Use of concentrated macronutrient solutions to separate osmotic from

- NaCl-specific effects on plant growth. *Australian Journal of Plant Physiology* **13**: 509-522
- Troncoso A, Matte C, Cantos M & Lavee S (1999). Evaluation of salt tolerance of *in vitro*-grown grapevine rootstock varieties. *Vitis* **38**: 55-60
- Turner N C, Colmer T D, Quealy J, Pushpavalli R, Krishnamurthy L, Kaur J, Singh G, Siddique K H M & Vadez V (2013). Salinity tolerance and ion accumulation in chickpea (*Cicer arietinum* L.) subjected to salt stress. *Plant and Soil* **365**: 347-361
- Wang X & Han J (2009). Changes of proline content, activity, and active isoforms of antioxidative enzymes in two alfalfa cultivars under salt stress. *Agricultural Sciences in China* **8**(4): 432-440
- Wendel J F & Weeden N F (1989). Visualization and interpretation of plant isozymes. In: D E Soltis & P S Soltis (Eds), *Isozymes in Plant Biology*, Dioscorides Press, Portland, Oregon, pp. 5-44
- Withan F H, Blaydes D F & Dewlin R M (1971). Experiments in Plant Physiology. New York, Von Nostrand Reinhold Company, pp. 55-56
- Wolfe W H (1976). Identification of grape varieties by isozyme banding patterns. *American Journal of Enology Viticulture* **27**: 68-73
- Yaşar F, Ellialtıoğlu Ş, Özpáy T & Uzal Ö (2008). Tuz stresinin karpuzda (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansf.) antioksidatif enzim (SOD, CAT, APX ve GR) aktivitesi üzerine etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi* **18**(1): 51-55