

Tuz Stresi Altındaki Hıyar Bitkilerinde Ekzojen Askorbik Asit Uygulamalarının Fotosistem II Aktivitesi Üzerindeki Etkileri

Sezen TOKSOY KÖSEOĞLU^{1*}, Ali DOĞRU²

^{1,2}Sakarya Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 54050, Sakarya, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-1564-9465> ²<https://orcid.org/0000-0003-0060-4691>

✉: sezentoksoy@sakarya.edu.tr

ÖZET

Tuz stresi (100 mM NaCl) altındaki Beith Alpha hıyar (*Cucumis sativus* L.) çeşidinde ekzojen askorbik asit uygulamasının fotosistem II aktivitesi üzerindeki etkileri klorofil a floresansı tekniği yardımıyla araştırılmıştır. Tuz stresi hıyar yapraklarında fotosistem II'nin hem donör hem de akseptör bölgesindeki elektron hareketlerini inhibe etmiştir. Ayrıca tuz stresinin hıyar bitkisinde aktif reaksiyon merkezi miktarını ve kinonA ile plastokinonun indirgenme yeteneğini azalttığı, indirgenmiş reaksiyon merkezlerinin birikimini ve termal disipasyon enerjisini artırdığı belirlenmiştir. Askorbik asit uygulaması ise hıyar bitkilerinde tuz stresinin fotosistem II'nin donör ve akseptör bölgesindeki elektron hareketleri üzerindeki olumsuz etkisini ortadan kaldırmıştır. Ek olarak askorbik asit uygulaması hıyar yapraklarındaki aktif reaksiyon merkezi miktarını ve kinonA ile plastokinonun indirgenme yeteneğini artırırken, indirgenmiş reaksiyon merkezi miktarını ve termal disipasyon enerjisini azaltmıştır. Sonuç olarak askorbik asidin hıyar yapraklarında tuz toleransını artırdığı ve bu yaklaşımın tarımsal amaçlarla kullanılabileceği söylenebilir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 04.05.2020

Kabul Tarihi : 17.12.2020

Anahtar Kelimeler

Hıyar

Cucumis sativus L.

Askorbik asit

PSII aktivitesi

Tuz toleransı

Effects of Exogenous Ascorbic Acid Application on Photosystem II Activity in Cucumber Plants under Salt Stress

ABSTRACT

The effects of the exogenous ascorbic acid application on photosystem II activity were investigated in salt-stressed (100 mM NaCl) cucumber (*Cucumis sativus* L.) cv. Beith Alpha through chlorophyll a fluorescence technique. Salt stress inhibited electron movements both in donor and acceptor site of photosystem II in cucumber leaves. In addition, salt application led to the decreased level of active reaction centers, the accumulation of the reduced reaction centers, the decreased ability of quinonA and plastoquinon to reduce and the increased thermal dissipation in cucumber leaves. Ascorbic acid, on the other hand, ameliorated the adverse effect of salt stress on electron movements in donor and acceptor site of photosystem II in cucumber plants. Moreover, ascorbic acid caused to the increased level of active reaction centers, the decreased level of accumulation of the reduced reaction centers, the increased ability of quinonA and plastoquinon to reduce and the decreased thermal dissipation in cucumber leaves. As a result, it might be concluded that ascorbic acid application improved salt tolerance in cucumber plants and it may be used for agricultural purposes.

Research Article

Article History

Received : 04.05.2020

Accepted : 17.12.2020

Keywords

Cucumber

Cucumis sativus L.

Ascorbic acid

PSII activity

Salt tolerance

Atif İçin: Toksoy Köseoğlu S, Doğru A 2021. Tuz Stresi Altındaki Hıyar Bitkilerinde Ekzojen Askorbik Asit Uygulamalarının Fotosistem II Aktivitesi Üzerindeki Etkileri. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 24 (4): 757-765. DOI:10.18016/ksutarimdog.vi.732141.

To Cite: Toksoy Köseoğlu S, Doğru A 2021. Tuz Stresi Altındaki Hıyar Bitkilerinde Ekzojen Askorbik Asit Uygulamalarının Fotosistem II Aktivitesi Üzerindeki Etkileri. KSU J. Agric Nat 24 (4): 757-765. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.732141.

GİRİŞ

Bitkilerin büyümesini ve verimini engelleyen topraktaki yüksek tuz konsantrasyonları, kurak bölgelerdeki tarımsal faaliyetler için sık karşılaşılan bir problemdir. Sulama suyunun kalitesi, tuz birikimi ve tarımsal verimliliğin azalmasına neden olan ana faktörlerden biridir (Dolatabadian ve Saleh Jouneghani, 2009). Ozmotik stres, iyon dengesizlikleri ve iyonların metabolik süreç üzerindeki doğrudan toksik etkileri, tuz stresinin neden olduğu en önemli fizyolojik bozukluklardır (Munns ve ark., 2006). Tuz stresi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu oksidatif hasarı da indüklemektedir (Azevedo-Neto ve ark., 2006). Bunun yanında tuz stresinin fotosentez üzerinde de önemli zararlı etkileri bulunmaktadır (Jajoo, 2013). Mehta ve ark. (2010a, b) yüksek tuz stresinin, fotosistemII'nin donör bölgesinde elektron taşıma oranlarını yaklaşık %75 ve akseptör bölgesinde yaklaşık %25 oranında inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Bu nedenle nihai bir çözüm olmasa da, bitkilerde tuz toleransının iyileştirilmesi, tarımda verim istikrarı sağlayabilmektedir (Flowers ve Yeo, 1995).

Askorbat (AsA) veya askorbik asit / C vitamini, yüksek bitkilerin sitozolünde sentezlenen, suda çözünen ve ROS'un zararlı etkilerini azaltan en güçlü antioksidandır. Birçok bitki hücresi tipinde, özellikle fotosentetik hücrelerde organellerde, meristemlerde ve bazı meyvelerde apoplastlarda bulunur. AsA'nın bitkilerdeki büyüme, farklılaşma ve metabolizma gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir. Bir dizi oksijenaz ve hidroksilaz enzimi için bir kofaktör olmasının yanı sıra (De Tullio, 2004), membranların korunması (Li ve Jin, 2007), birçok serbest radikal indirgenmesi, birçok enzim aktivitesinin artırılması ve böylece oksidatif stresin neden olduğu hasarın en aza indirilmesi konusunda fonksiyoneldir (Foyer ve Noctor, 2005a, b). Bitki hücrelerinde H₂O₂ detoksifikasyonu için en önemli indirgeyici substrat AsA'tir. Bunun yanında birçok ROS (¹O₂, O₂⁻, HO• gibi) ve lipit hidroperoksidazlarla da reaksiyona giren önemli bir antioksidandır (Shigeoka ve ark., 2002; Foyer, 2004). AsA içeriği daha yüksek olan bitkiler oksidatif strese karşı daha iyi koruma göstermektedir. Bu nedenle, oksidatif stresi en aza indirmek ve bitki metabolik süreçlerini düzenlemek için daha yüksek AsA seviyeleri önemlidir (Athar ve ark., 2008).

AsA, bitki stres toleransında önemli rol oynar. Askorbik asit seviyeleri azalmış mutantlar strese karşı aşırı duyarlıdır (Conklin ve ark., 1996). Birçok çalışma, askorbik asidin abiyotik strese karşı bitki toleransını iyileştirmede önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur (Shalata ve Neumann, 2001; Athar ve ark., 2008; Ahmad ve ark., 2008a, b, 2009, 2010a, b, c, 2011; Ahmad ve Umar, 2011). Tuz stresi altında

askorbat seviyelerindeki artış ve hücrede redoks homeostazının sağlanması kök büyümesi için çok önemlidir (Hernandez ve ark., 2010). Tuzluluk nedeniyle AsA konsantrasyonunda artış diğer araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir (Panda ve Upadhyay, 2004; Parida ve ark., 2004). Bazı bulgular bitkilerde tuzluluğa bağlı solgunluğun, zarar verici ROS'un hücresel aktivitesindeki artışıyla ilişkili olduğunu ve AsA'nın bitkilerin hayatta kalması üzerindeki artan etkisinin ROS üretiminin kısmi inhibisyonu ile ilgili olduğunu göstermiştir. Tuz stresi altında ekzojen askorbik asit uygulamasıyla kök, gövde ve yaprak dokularında ROS ile lipit peroksidasyon seviyesinde azalma gözlenmiştir (Shalata ve Neumann, 2001). Farklı çalışmalar, stresli bitkilerin yapraklarındaki AsA içeriğinin artan tuz stresi düzeyleriyle artma eğiliminde olduğunu göstermiştir (Mohamed ve ark., 2010). Agarwal ve Shaheen, (2007) *Momordica charantia*'nın yapraklarındaki AsA konsantrasyonunun kontrole kıyasla NaCl stresi altında arttığını bildirmiştir. Hamada ve Al Hakimi, (2009), ekzojen olarak uygulanan AsA'nın, özellikle orta ve düşük tuzluluk seviyelerine maruz kalan bitkilerde uyarıcı bir etki sağlayarak tuz stresinin net fotosentetik hız, pigment biyosentezi ve membran bütünlüğü üzerindeki kısmen veya tamamen engelleyici etkilerini raporlamıştır. Beltagi (2008), NaCl (40 mM) ile AsA uygulaması arasında önemli bir sinerjistik etki gözlemlemiştir; burada AsA, *Cicer arietinum*'da Chl a ve Chl b stabilite indeksini artırmıştır. Khafagy ve ark. (2009), AsA uygulanmış tuz stresi altındaki biber (*Capsicum annum* L.) tohumlarının Chl a ve b miktarlarının, sadece tuza tabi tutulanlara kıyasla önemli ölçüde arttığını kaydetmiştir. Azzedine ve ark. (2011), C vitamini uygulamasının, artan yaprak alanı, klorofil ve karotenoid içerikleri, artan prolin birikimi ve azalmış H₂O₂ içeriği nedeniyle tuz stresinin bitki büyümesi üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmek için etkili olduğunu bildirmiştir. Dehghan ve ark. (2011), ekzojen olarak uygulanan AsA'nın, tuz stresinin, soya (*Glycine max* (L.) Merr.) fidelerinin büyümesi üzerindeki olumsuz etkilerini önlediğini bildirmiştir. AsA, CAT, POD ve SOD aktivitelerinde bir artışla birlikte tuz stresli bitkilerin büyümesinde artışa neden olmuştur. *In vitro* yetiştirilen şeker kamışı bitkilerine askorbik asit ön işlemi, CAT ve POD aktivitelerinin ve çözünür protein içeriklerinin yanı sıra kök uzunluğunu artırarak tuz toleransını artırmıştır (Munir ve Aftab, 2011). Ekzojen askorbik asit uygulamasının patates (*Solanum tuberosum* L.) bitkisindeki CAT ve SOD aktivitelerini artırarak tuzluluk toleransını iyileştirdiği de bulunmuştur (Sajid ve Aftab, 2009).

Tarımsal topraklardaki tuzluluk her geçen gün Türkiye topraklarının tarımsal verimliliği için büyüyen bir tehdit oluşturmaktadır. Hıyar dünyada ve

Türkiye’de özellikle sera yetiştiriciliğinde önemli ekim alanına sahip bir bitki türüdür. Buna göre, bu çalışmanın amacı, tuz stresi altındaki hıyar bitkilerine ekzojen olarak uygulanan askorbik asidin fotosistem II aktivitesi üzerindeki etkilerini klorofil a floresansı tekniği yardımıyla araştırmaktır.

MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada bitki materyali olarak hıyar (*Cucumis sativus* L.) çeşidi Beith Alpha kullanılmıştır.

Büyüme Koşulları ve Deneysel Plan

Eşit büyüklükte ve sağlam olan tohumlar seçilerek cam petri kaplarında bidistile su ile ıslatılmış kurutma kağıtları arasına yerleştirilmiştir. Petri kapları 24 °C sıcaklık ve %40-50 oransal neme sahip olan iklim dolabında karanlık ortamda çimlenmeye bırakılmıştır. Üç gün sonra birörnek fideler perlit ve ½ oranında sulandırılmış Hoagland besin çözeltisi içeren saksılara transfer edilerek 25/18 °C sıcaklık (gündüz/gece), 16/8 saat fotoperiyot (gündüz/gece), %50±5 oransal nem ve 200 µmol foton m⁻² s⁻¹ ışık şiddetine sahip iklim dolabına yerleştirilmiştir. On günlük olan bitkiler her grup için 20 saksı olacak şekilde dört gruba ayrılmıştır. Birinci grupta bulunan kontrol bitkileri çalışmanın sonuna kadar ½ oranında sulandırılmış Hoagland besin çözeltisi ile sulanırken; ikinci gruptaki

bitkilere Hoagland çözeltisinde hazırlanmış tuz (100 mM NaCl) stresi, üçüncü gruptaki bitkilere Hoagland Besin çözeltisine karıştırılarak askorbik asit (150 ppm), dördüncü gruptaki bitkilere ise Hoagland çözeltisinde tuz stresi ile birlikte askorbik asit uygulaması (100 mM NaCl+150 ppm askorbik asit) yapılmıştır. Uygulamalardan 5 gün sonra klorofil a floresansı ölçümleri yapılmıştır. Uygulama Tesadüf Parselleri Deneme Deseni’nde iki faktörlü ve 3 tekrarlı yürütülmüştür.

Klorofil a Floresansı Ölçümleri

Klorofil a floresansı ölçümleri bitkilerin yapraklarında bitki verimlilik analizatörü (HandyPEA florometresi Hansatech Instruments Ltd., Pentney, King’s Lynn, Norfolk, England) yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ölçüm için kullanılacak iyi gelişmiş yapraklar, yaprak klipsleri yardımıyla 45-60 dakika karanlık adaptasyonuna maruz bırakılmıştır. Daha sonra yaprak yüzeylerine 3,500 µmol m⁻² s⁻¹ şiddetinde ışık uygulanmış ve elde edilen parametrelerin değerlendirilmesi PeaPlus ve BioLyzer adlı programlarla uygulanan JIP testi ile yapılmıştır (Bussotti ve ark., 2007). JIP testi fotosentetik organizmalar üzerindeki çevresel etkileri analiz etmek için kullanılan kolay uygulanabilir hızlı bir testtir. JIP testi ile ilgili terminoloji Çizelge 1’ de verilmiştir.

Çizelge 1. Klorofil a floresansı ölçümlerine bağlı olarak ölçülen ve hesaplanan JIP testi parametreleri (Doğru, 2019).

Table 1. JIP test parameters measured and calculated based on chlorophyll a fluorescence measurements (Doğru, 2019)

Parametreler (Parameters)	
F_0	Karanlık adaptasyonu sağlanmış örnekte tüm FS II reaksiyon merkezlerinin açık olduğu andaki minimum floresans
F_m	Karanlık adaptasyonu sağlanmış örnekte tüm FS II reaksiyon merkezlerinin kapalı olduğu andaki maksimum floresans
F_v	Fotokimyasal olmayan tüm prosesler minimum seviyede iken maksimum değişken floresans
F_v/F_m	FS II’ nin maksimum kuantum etkinliği
F_v/F_0	Hill reaksiyonu (fotoliz) etkinliği
ABS/RC	Reaksiyon merkezi başına FS II’nin ortalama anten boyutu
ET_0/RC	FS II’de reaksiyon merkezi başına Q_A ’dan sonraki basamaklardaki maksimum elektron taşınımı
TR_0/RC	FS II’de reaksiyon merkezi başına yakalanan ve Q_A ’nın indirgenmesini sağlayan maksimum enerji
DI_0/RC	FS II’de reaksiyon merkezi başına fotokimyasal olaylar dışında kaybedilen dissipasyon enerjisi
RC/ABS	FS II’deki anten klorofilleri başına aktif reaksiyon merkezi miktarı
$Alan$	OJIP eğrisinin üzerinde kalan, F_0 ile F_m arasında bulunan ve indirgenmiş plastokinon (PQ) havuzunun boyutunu ifade eden bölge
t_{F_m}	F_m ’ye ulaşılması için gereken zaman
$\Delta V/\Delta t_0$	Kapalı (indirgenmiş) reaksiyon merkezlerinin birikim hızı
N	F_m ’ye ulaşılıncaya kadar geçen sürede Q_A ’nın indirgenme sayısı
PI_{ABS}	Performans indeksi
SFI_{ABS}	FS II’nin yapısal ve fonksiyonel durumunun indikatörü
S_M	Tüm reaksiyon merkezlerinin indirgenmesi için gereken enerji
Ψ_0	Yakalanan bir eksitonun bir elektronu Q_A ’dan elektron taşınım sistemine hareket ettirme etkinliği
ϕ_{D0}	Termal dissipasyonun kuantum verimi
ϕ_{E0}	Q_A ’dan PQ’ya elektron taşınımının kuantum verimi
ϕ_{P0}	Primer fotokimyasal olayların maksimum kuantum verimi
$\phi_0/(1-\phi_0)$	Işığa bağımlı olan fotokimyasal reaksiyonların performans göstergesi
$\Psi_0/(1-\Psi_0)$	Işığa bağımlı olmayan karanlık reaksiyonların performans göstergesi

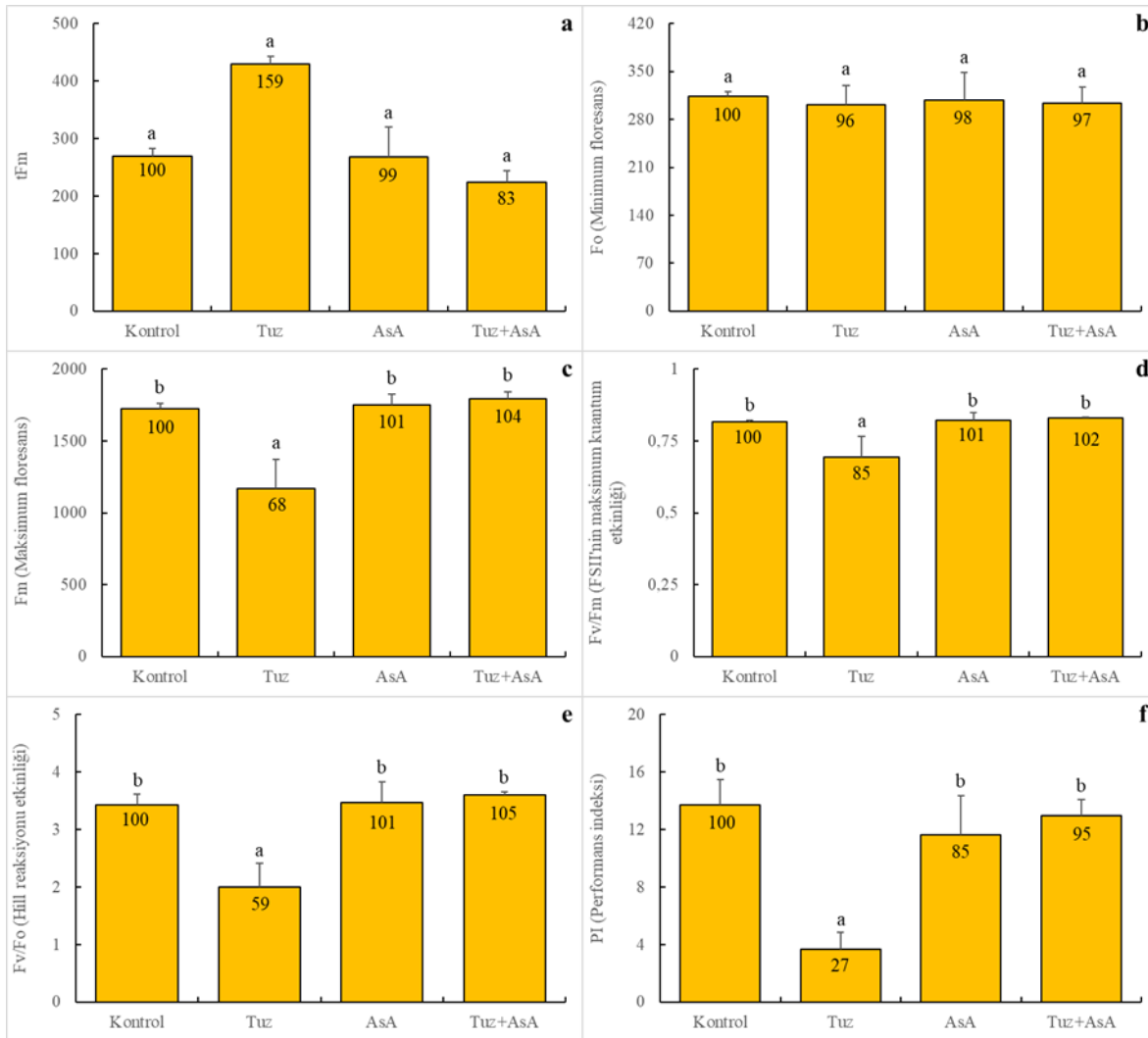
İstatistik Analizler

Elde edilen verilerin aritmetik ortalama ve standart hataları hesaplanmış, daha sonra verilere SPSS 22.0 paket programı kullanılarak, istatistiki varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Her bir bağımsız değişken için uygulamaların kontrole göre neden olduğu farkın önem kontrolü (Anlamlı Önemli Fark; AÖF) %5 düzeyinde Duncan testi ile hesaplanmıştır.

BULGULAR

Tuz stresi (100 mM NaCl), askorbik asit (150 ppm AsA) ve tuz+askorbik asit (100 mM NaCl+150 ppm AsA) uygulamalarının hıyar yapraklarındaki bazı klorofil a

floresansı parametreleri üzerindeki etkisi Şekil 1'de verilmiştir. Buna göre tF_m (maksimum floresansa ulaşıncaya kadar geçen süre) ve F_o 'da (minimum floresans) uygulamalar sonucunda kontrol bitkilerine göre istatistiksel bir değişim gözlenmemiştir ($P>0.05$) (Şekil 1a ve b). Tuz stresi uygulaması hıyar yapraklarındaki F_m (maksimum floresans) değerini kontrole göre %32, F_v/F_m (fotosistem II'nin maksimum kuantum etkinliği) oranını %15, F_v/F_o (Hill reaksiyonu etkinliği) oranını %41 ve PI 'yı (performans indeksi) ise %73 oranında ve istatistiksel olarak belirgin derecede azaltmıştır ($P<0.05$) (Şekil 1c, d, e ve f).



Şekil 1. Kök yoluyla uygulanan askorbik asidin (150 ppm) tuz stresi (100 mM NaCl) altındaki hıyar yapraklarındaki (a) tF_m , (b) F_o , (c) F_m , (d) F_v/F_m , (e) F_v/F_o ve (f) PI üzerine etkisi (Barların üzerindeki farklı harfler uygulamalar arasındaki farkın Duncan testine göre $P=0.05$ seviyesinde farklı olduğunu, barların içindeki rakamlar ise kontrole göre değişimi % olarak göstermektedir, kontrol=100; AsA: askorbik asit).

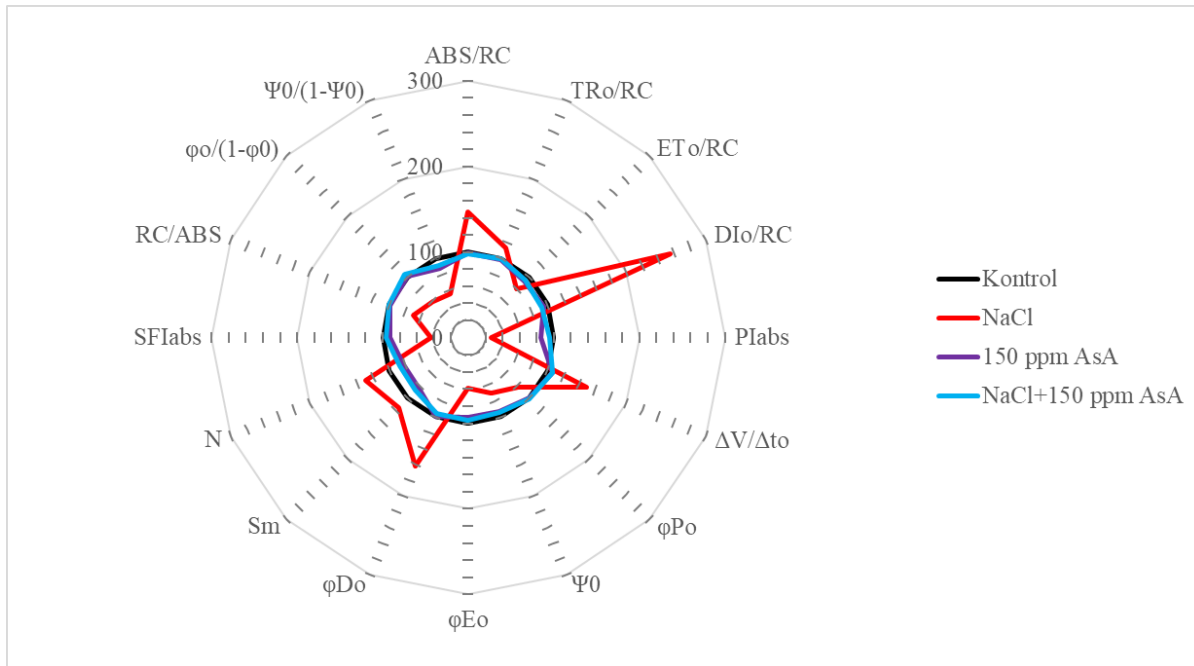
Figure 1. Effect of root-applied ascorbic acid (150 ppm) on (a) tF_m , (b) F_o , (c) F_m , (d) F_v/F_m , (e) F_v/F_o and (f) PI in cucumber leaves under salt stress (100 mM NaCl) (The different letters on the bars show that the difference between the applications is different at the level of $P = 0.05$ according to the Duncan test, and the numbers in the bars show the change in% of the control, control = 100; AsA: ascorbic acid)

Sadece askorbik asit uygulaması ise bu parametrelerde kontrollere göre istatistiksel bir değişime yol açmamıştır ($P>0.05$). Ancak tuz stresi altındaki hıyar bitkilerinde gerçekleştirilen askorbik asit uygulamaları F_m , F_v/F_m , F_v/F_o ve $PI'yı$ sadece tuz stresi uygulanan bitkilerle karşılaştırıldığında sırasıyla %36, %17, %46 ve %68 oranında artırmış ve istatistiksel olarak kontrol bitkilerinde elde edilen değerlere ulaşmasını sağlamıştır ($P<0.05$).

Tuz stresi (100 mM NaCl), askorbik asit (150 ppm AsA) ve tuz+askorbik asit (100 mM NaCl+150 ppm AsA) uygulamalarının hıyar yapraklarındaki bazı JIP testi parametreleri üzerindeki etkisi Şekil 2'de verilmiştir. Buna göre SM (tüm reaksiyon merkezlerinin indirgenmesi için gerekli enerji), N (F_m 'ye ulaşılıncaya kadar geçen sürede kinonA'nın indirgenme sayısı) ve TR_o/RC (fotosistem II'de reaksiyon merkezi başına yakalanan ve kinonA'nın indirgenmesini sağlayan maksimum enerji) parametrelerinin uygulamalardan kontrollerle karşılaştırıldığında istatistiksel anlamda etkilenmediği gözlenmiştir (Şekil 2).

Tuz stresi alan (OJIP eğrisinin üzerinde kalan ve F_o ile F_m arasındaki bölgenin büyüklüğü) parametresini kontrolle karşılaştırıldığında %47, Ψ_o 'ı (yakalanan bir eksitonun bir elektronu kinonA'dan elektron taşınım sistemine hareket ettirme etkinliği) %30, $\Psi_o/(1-\Psi_o)$ 'ı (ışığa bağımlı olmayan karanlık reaksiyonların performans göstergesi) %45, ϕP_o 'ı (primer fotokimyasal olayların maksimum kuantum verimi) %18, ϕE_o 'ı (kinonA'dan plastokinona elektron

taşınımının kuantum verimi) %41, SFIABS'yi (fotosistem II'nin yapısal ve fonksiyonel durumunun indikatörü) %55, RC/ABS'yi (fotosistem II'de anten klorofilleri başına aktif reaksiyon merkezi miktarı) %29, $\phi_o/(1-\phi_o)$ 'ı (fotokimyasal reaksiyonların performans göstergesi) %41, $PI'yı$ (performans indeksi) %74 ve ET_o/RC 'yi (fotosistem II'de reaksiyon merkezi başına kinonA'dan sonraki basamaklardaki maksimum elektron taşınımı) %20 oranında azaltmıştır ($P<0.05$) (Şekil 2). Ancak tuz stresi altındaki hıyar bitkilerine uygulanan askorbik asit ET_o/RC hariç bu parametreleri, sadece tuz stresi uygulanan bitkilerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli derecede artırmıştır ($P<0.05$) (Şekil 2). Sadece askorbik asit uygulaması ise bu parametrelerde istatistiksel olarak önemli bir değişime yol açmamıştır ($P>0.05$). Tuz stresi hıyar yapraklarındaki $\Delta V/\Delta t_o$ 'yu (kapalı reaksiyon merkezlerinin birikim hızı) kontrole göre %50, ϕD_o 'ı (termal disipasyonun kuantum verimi) %62, ABS/RC'yi (reaksiyon merkezi başına fotosistem II'nin ortalama anten boyutu) %47 ve DI_o/RC 'yi (fotosistem II'de reaksiyon merkezi başına non-fotokimyasal yolla kaybedilen disipasyon enerjisi) %156 oranında artırmıştır ($P<0.05$) (Şekil 2). Sadece askorbik asit uygulaması bu parametrelerde istatistiksel bir değişime neden olmamıştır ($P>0.05$). Ancak tuz stresi altındaki hıyar bitkilerine uygulanan askorbik asit, bu parametreleri sadece tuz stresi altındaki bitkilerle karşılaştırıldığında belirgin oranda azaltmıştır ($P<0.05$) (Şekil 2).



Şekil 2. Kök yoluyla uygulanan askorbik asidin (50 μM) tuz stresi (100 mM NaCl) altındaki hıyar yapraklarındaki bazı JIP testi parametreleri üzerindeki etkisi (AsA: Askorbik asit).

Figure 2. Effect of root-applied ascorbic acid (50 μM) on some JIP test parameters in cucumber leaves under salt stress (100 mM NaCl) (AsA: Ascorbic acid).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bitkilerde tuz toleransının gelişmesi ekonomik bakımdan önemlidir. Tuz toleransı bir bitkinin tuzlu koşullar altında yaşam döngüsünü tamamlayabilme yeteneği olarak tanımlanmıştır (Doğru ve Canavar, 2020). Geleneksel ıslah yöntemlerinin kullanılmasıyla günümüze kadar tuz stresine belli oranda tolerans geliştirmiş genotipler elde edilmiştir (Noble ve ark., 1984; Ashraf, 1994; Shannon, 1998; Ashraf, 2002). Ancak bitkilerde tuz toleransı kavramı oldukça karmaşık bir mekanizmaya sahiptir. Bunun sebepleri arasında tuz toleransının hem farklı bitki türleri hem de aynı türün farklı genotipleri arasında önemli varyasyonlar göstermesi de bulunmaktadır (Ashraf, 1994; Ashraf, 2002; Doğru ve Yılmaz Kaçar, 2019). Bunun dışında ekonomik öneme sahip olan bitkilerde tuz toleransının artırılması için yapılan ıslah çalışmalarında kullanılabilecek güvenilir bir parametrenin eksikliği de söz konusudur (Kalaji ve Pietkiewicz, 2004). Ancak yapılan çalışmalar bitkilerde tuz stresine verilen metabolik cevapların temel amacının fotosentetik aygıtı tuz stresinin olumsuz etkilerinden korumak ve fotosentetik etkinliğin sürdürülmesini sağlamak olduğu ortaya çıkarılmıştır (Papageorgiou ve Murata, 1995; Kalaji ve Guo, 2008; Tanaka ve ark., 1999). Bu da stres altındaki bitkilerde fotosentez olayının sürekliliğinin önemini göstermektedir. Fotosentetik aktivitede meydana gelen değişimler gelişmiş bitkilerde bir stres sensörü olarak kabul edilmektedir (Doğru ve Canavar, 2020). Günümüzde fotosentetik aktivitenin ölçülmesi için en modern ve güvenilir tekniğin klorofil a floresansı olduğu bildirilmiştir (Maxwell ve Johnson, 2000; Doğru, 2019; Doğru ve Çakırlar 2020a, 2020b). Bu çalışmada hıyar bitkilerine uygulanan tuz stresi FSII'nin maksimum kuantum etkinliğini (Fv/Fm) kontrole göre belirgin derecede azaltmıştır. Fv/Fm oranı birçok gelişmiş bitkide sayısal değer olarak 0.83 civarındadır ve bu değer azalması bir fotoinhibisyon göstergesi olarak kabul edilmektedir (Björkman ve Demmig, 1987). Bu sonuç hıyar bitkisinde tuz stresinin etkisiyle FSII birimlerindeki elektron taşınım reaksiyonlarının belli oranda inhibe edildiğini göstermektedir (Doğru ve Çakırlar, 2020a). Çalışmanın sonuçları tuz stresinin hıyar yapraklarında minimum floresansı (Fo) etkilemediğini, ancak maksimum floresans (Fm) değerini kontrole göre azalttığını göstermiştir. Georgieva ve Lichtenthaler (1999) Fm değerinin FSII'nin akseptör bölgesinin indirgenme durumunu gösterdiğini bildirmiştir. Buna göre bu çalışmada uygulanan tuz stresinin hıyar bitkilerindeki FSII birimlerinin akseptör bölgesinin indirgenmesini engellediği sonucuna varılabilir. Bitki ıslahı oldukça uzun zaman alan bir süreçtir. Bu nedenle ıslah çalışmalarından elde edilen başarı oranının sınırlı kaldığı rapor edilmiştir (Ashraf ve ark., 2008).

Günümüzde bitkilerde tuz toleransının geliştirilmesi için antioksidan etkinliğe sahip bazı moleküllerin, bazı bitki besin elementlerinin ve bitki büyüme düzenleyicilerinin uygulanması söz konusudur.

Askorbik asit suda çözünme özelliğine sahip olan antioksidan bir moleküldür (Mittal ve ark., 2018). Askorbik asit bitkilerdeki direkt antioksidan fonksiyonunun yanı sıra fotosentezin regülasyonu, hormon biyosentezi, hücre bölünmesi, çiçeklenme, senesens, hücre büyümesi ve diğer antioksidan moleküllerin rejenerasyonu gibi fizyolojik olaylarda önemli fonksiyonları vardır (Pastori ve ark., 2003). Askorbik asidin aynı zamanda tuz stresi koşullarında bazı bitki türlerinin dokularında birikim gösterdiği ve tuz toleransının sağlanmasında önemli bir bileşen olduğu belirlenmiştir (Irfan ve ark., 2019). Askorbik asit uygulamalarının bazı bitkilerde tuz toleransının artmasını sağladığı da rapor edilmiştir (Davey ve ark., 2000; Mohamed ve ark., 2010; Billah ve ark., 2017; Hegazi ve El-Shraiy, 2017). Bu çalışmanın sonuçları tuz stresi altındaki hıyar bitkilerine uygulanan askorbik asidin, tuz stresinin FSII birimlerindeki elektron hareketleri üzerindeki kısıtlayıcı etkisini ortadan kaldırdığını ve FSII'nin akseptör bölgesinin daha kolay indirgenmesini sağladığını göstermiştir. Nitekim askorbik asit uygulaması tuz stresi altındaki hıyar bitkilerinde Fm ve Fv/Fm'nin önemli derecede artmasını sağlamıştır. Benzer şekilde bu çalışmada Hill reaksiyonunun etkinliği (Fv/Fo) tuz stresi uygulanan hıyar bitkilerinde kontrole göre azalmış, ancak askorbik asit uygulaması bu oranın artmasını sağlamıştır. Bu oran FSII'nin lümen bakan kısmında bulunan ve suyu parçalamaktan sorumlu olan yapının etkinliğini ifade etmektedir. Bu yapı tuz stresi gibi çevresel stres faktörlerine karşı fotosentetik elektron taşınım sisteminin en duyarlı bölgesidir. Pereira ve ark. (2000) bu oranda meydana gelen azalmanın fotosentetik elektron taşınımında meydana gelen azalmanın bir göstergesi olduğunu rapor etmiştir. Fricke ve Peters (2002) ile Doğru ve Canavar (2020) tuz stresi altındaki bitkilerde su alımının belli oranda engellediğini bildirmiştir. Bu durum tuz stresi altındaki hıyar bitkilerinde Fv/Fo oranının azalmasına neden olmuş olabilir. Askorbik asit uygulaması ise tuz stresine maruz bırakılmış olan hıyar bitkilerinin ortama olan su ilişkilerini regüle ederek veya suyu parçalayan sistemi koruyarak bu oranın artmasını sağlamış olabilir. Bu sonuç aynı zamanda askorbik asit uygulamasının FSII'nin donör bölgesinin oksitlenme yeteneğini artırdığını da açıkça göstermektedir. Bunun yanı sıra bu çalışmada tuz stresi uygulaması hıyar bitkilerinde fotokimyasal reaksiyonların performansını ($\phi_0/(1-\phi_0)$) da azaltmıştır. Muhtemelen fotokimyasal reaksiyonların yavaşlaması ve buna bağlı olarak fotosentezin elektron taşınım reaksiyonlarının ATP ve NADPH gibi ürünlerinin sentez hızının azalması fotokimyasal

olmayan karanlık reaksiyonların performansının ($\Psi_0/(1-\Psi_0)$) da azalmasına yol açmıştır. Elde edilen sonuçlara göre tuz stresi altındaki hıyar bitkilerinde fotosentetik elektron taşınım reaksiyonlarının yavaşlamasının bir nedeni de aktif reaksiyon merkezlerinin miktarının (RC/ABS) azalması olabilir. DIO/RC (FSII'de reaksiyon merkezi başına fotokimyasal olmayan olaylarda kaybedilen disipasyon enerjisi) ve ϕD_0 (termal disipasyonun kuantum verimi) parametrelerinde tuz stresi uygulaması sonucunda meydana gelen azalmalar da bu fikri destekler niteliktedir. Nitekim Kalaji ve ark. (2011) de tuz stresi altındaki arpa bitkilerinde aktif reaksiyon merkezi miktarındaki azalmanın nedeni olarak DIO/RC ve ϕD_0 'daki artışı göstermiştir. Askorbik asit uygulaması ise tuz stresi uygulanan hıyar bitkilerinde fotokimyasal ve fotokimyasal olmayan reaksiyonların performansını ve aktif reaksiyon merkezi miktarını artırmıştır. Buna paralel olarak fotokimyasal olmayan olaylarda kaybedilen disipasyon enerjisi ve termal disipasyonun kuantum verimi de azalmıştır. Bu çalışmada ayrıca kapalı reaksiyon merkezlerinin birikim hızı ($\Delta V/\Delta t_0$) tuz stresi uygulaması altındaki hıyar bitkilerinde önemli derecede artış göstermiştir. Bu sonuç da reaksiyon merkezlerinin tuz stresi etkisiyle indirgenmediğini ve kinonA'nın indirgenme yeteneğinin azaldığını açıkça göstermektedir. Askorbik asit uygulaması ise $\Delta V/\Delta t_0$ değerini azaltarak kinonA'nın indirgenme yeteneğini artırmıştır. Sonuçlar aynı zamanda hıyar bitkilerinde tuz stresinin etkisiyle elektron taşınım sisteminin kinonA'dan sonraki bölümünde de elektron taşınım reaksiyonlarının belli oranda inhibe edildiğini göstermiştir. Nitekim FSII'de reaksiyon merkezi başına kinonA'dan sonraki basamaklardaki maksimum elektron taşınımı (ETo/RC), kinonA'dan plastokinona elektron taşınımının kuantum verimi (ϕE_0), yakalanan bir eksitonun bir elektronu kinonA'dan elektron taşınım sistemine hareket ettirme yeteneği (Ψ_0) ve indirgenmiş plastokinon havuzunun boyutu (alan) parametrelerinde tuz stresi etkisiyle belirgin azalmalar tespit edilmiştir. Ancak askorbik asit uygulaması bu parametrelerin istatistiksel olarak artmasına ve kontrol seviyesine ulaşmasını sağlamıştır. Tüm bu değişimlerle uyumlu olarak, FSII'nin yapısal ve fonksiyonel durumunun indikatörü olan SFIABS parametresi de tuz stresi etkisiyle azalırken, tuz stresi altındaki hıyar bitkilerine yapılan askorbik asit uygulaması ile artış göstermiştir.

Sonuç olarak; askorbik asidin bitkilerdeki fotosentetik etkinliği ve fotokimyasal aktivitesi üzerindeki çalışmalar oldukça sınırlıdır ve bu konuda çok az bilgi mevcuttur. Elde edilen sonuçlar tuz stresinin hıyar bitkilerinde fotosentezin elektron taşınım reaksiyonlarını sistemin farklı bölgelerinde belirgin derecede inhibe ettiğini göstermiştir. Sonuçlar tuz

stresinin hıyar bitkilerinde FSII'nin hem donör hem de akseptör bölgesindeki elektron hareketlerini belirli derecede inhibe ettiğini, askorbik asit uygulamasının ise bu inhibisyonu ortadan kaldırdığını göstermiştir. Bunun dışında tuz stresi aktif reaksiyon merkezlerinin miktarını azaltmış ve reaksiyon merkezlerinin oksitlenmesini ve kinonA ile plastokinonun indirgenme yeteneklerini azaltmış, termal disipasyon enerjisini artırmış ancak askorbik asit uygulaması bu olumsuz etkileri ortadan kaldırarak FSII'nin yapısal ve fonksiyonel olarak daha iyi durumda olmasını sağlamıştır. Buna göre, kök yoluyla gerçekleştirilen askorbik asit uygulamalarının hıyar bitkilerinde tuz stresinin PSII aktivitesi üzerindeki inhibitör etkisini ortadan kaldırdığını ve bu yaklaşımın tarımda kullanılmasıyla tuz stresinin yol açtığı ekonomik kayıpların önüne geçilebileceği sonucuna varılabilir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Agarwal S, Shaheen R 2007. Stimulation of antioxidant system and lipid peroxidation by abiotic stresses in leaves of *Momordica charantia*. *Braz J Plant Physiol* 19: 149–161.
- Ahmad P, Jhon R, Sarwat M, Umar S 2008a. Responses of proline, lipid peroxidation and antioxidative enzymes in two varieties of *Pisum sativum* L. under salt stress. *Int J Plant Produc* 2(4): 353–366.
- Ahmad P, Sarwat M, Sharma S 2008b. Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants. *J Plant Biol* 51(3): 167–173.
- Ahmad P, Jeleel CA, Azooz MM, Nabi G 2009. Generation of ROS and non-enzymatic antioxidants during abiotic stress in plants. *Bot Res Intern* 2: 11–20.
- Ahmad P, Jaleel CA, Salem MA, Nabi G, Sharma S 2010a. Roles of enzymatic and non enzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Crit Rev Biotechnol* 30(3): 161–175.
- Ahmad P, Jaleel CA, Sharma S 2010b. Antioxidative defence system, lipid peroxidation, proline metabolizing enzymes and biochemical activity in two genotypes of *Morus alba* L. subjected to NaCl stress. *Russ J Plant Physiol* 57: 509–517.
- Ahmad P, Umar S, Sharma S 2010c. Mechanism of free radical scavenging and role of phytohormones during abiotic stress in plants. In: Ashraf M, Ozturk M, Ahmad MSA (eds) *Plant adaptation and*

- phytoremediation. Springer, Dordrecht/Heidelberg/London/New York, pp 99–10.
- Ahmad P, Nabi G, Ashraf M 2011. Cadmium-induced oxidative damage in mustard [*Brassica juncea* (L.) Czern. & Coss.] plants can be alleviated by salicylic acid. *South Afr J Bot* 77: 36–44.
- Ahmad P, Umar S 2011. Oxidative stress: role of antioxidants in plants. Studium Press, New Delhi.
- Ashraf M 1994. Breeding for salinity tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Science* 13: 17-42.
- Ashraf M 2002. Salt tolerance of cotton some new advances. *Critical Reviews in Plant Sciences* 21: 1–30.
- Ashraf M, Athar HR, Harris PJC, Kwon TR 2008. Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. *Advances in Agronomy* 97: 45–110.
- Athar HR, Khan A, Ashraf M 2008. Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. *Environ Exp Bot* 63: 224–231.
- Azevedo-Neto D, Prisco J, Eneas J, De Abreu C, Gomes E 2006. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt sensitive maize varieties. *Environ. Exp. Bot.* 56: 87-94.
- Azzedine F, Gherroucha H, Baka M 2011. Improvement of salt tolerance in durum wheat by ascorbic acid application. *J Stress Physiol Biochem* 7: 27–37.
- Beltagi MS 2008. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) induced anabolic changes for salt tolerance in chick pea (*Cicer arietinum* L.) plants. *Afr J Plant Sci* 2: 118–123.
- Billah M, Rohman MM, Hossain N, Shalim Uddin M 2017. Exogenous ascorbic acid improved tolerance in maize (*Zea mays* L.) by increasing antioxidant activity under salinity stress. *African Journal of Agricultural Research* 12: 1437–1446.
- Bjorkman O, Demmig B, 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170: 489–504.
- Conklin PL, Williams EH, Last RL 1996. Environmental stress sensitivity of an ascorbic acid-deficient Arabidopsis mutant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 9970–9974.
- Davey MW, Mantagu MV, Dirk I, Maite S, Angelos K, Smirnoff N, Binenzie IJJ, Strain JJ, Favell D, Fletcher J 2000. Plant ascorbic acid chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *J Sci Food and Agri* 80: 825–850.
- De Tullio MC 2004. How does ascorbic acid prevent scurvy? A survey of the nonantioxidant functions of vitamin C. In: Asard H (ed) *Vitamin C: its function and biochemistry in animals and plants*. Garland Science/BIOS Scientific Publishers, London/New York, pp 176–190.
- Dehghan G, Rezazadeh L, Habibi G 2011. Exogenous ascorbate improves antioxidant defense system and induces salinity tolerance in soybean seedlings. *Acta Biol Szeged* 55: 261–264.
- Doğru A, Çakırlar H 2020a. Is leaf age a predictor for cold tolerance in winter oilseed rape plants? *Functional Plant Biology* 47: 250–262.
- Doğru A, Çakırlar H 2020b. Effects of leaf age on chlorophyll fluorescence and antioxidant enzymes in winter rapeseeds leaves under cold acclimation conditions. *Brazilian Journal of Botany* 43: 11–20.
- Doğru A 2019. Bazı arpa genotiplerinde kurşun toleransının klorofil a floresansı ile değerlendirilmesi. *Bartın University International Journal of Natural and Applied Science* 2(2): 228–238.
- Doğru A, Canavar S 2020. Bitkilerde tuz toleransının fizyolojik ve biyokimyasal bileşenleri. *Academic Platform Journal of Engineering and Science* 8(1): 155–174.
- Doğru A, Yılmaz Kaçar M 2019. A preliminary study on salt tolerance of some barley genotypes. *SAU Journal of Science* 23: 755–762.
- Dolatabadian A, Saleh Jouneghani R 2009. Impact of Exogenous ascorbic acid on antioxidant activity and some physiological traits of common bean subjected to salinity stress. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj* 37(2): 165–172.
- Flowers, T, Yeo A 1995. Breeding for salinity resistance in crop plants: where next? *Aust. J. Plant Physiol.* 22: 875–884.
- Foyer 2004. The role of ascorbic acid in defense networks and signaling in plants. In: Asard H (ed) *Vitamin C: its function and biochemistry in animals and plants*. Garland Science/BIOS Scientific Publishers, London/New York, pp 73–91.
- Foyer CH, Noctor G 2005a. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell* 17: 1866–1875.
- Foyer CH, Noctor G 2005b. Oxidant and antioxidant signaling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant Cell Environ* 28: 1056–1071.
- Fricke W, Peters WS 2002. The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. A study at the cell level. *Plant Physiology* 129: 374–388.
- Georgieva K, Lichtenthaler HL 1999. Photosynthetic activity and acclimation ability of pea plants to low and high temperature treatment as studied by means of chlorophyll fluorescence. *Journal of Plant Physiology* 155: 416–423.
- Hamada AM, Al-Hakimi AM 2009. Exogenous ascorbic acid or thiamine increases the resistance of sunflower and maize plants to salt stress. *Acta Agron Hung* 57: 335–347.
- Hegazi AM, El-Shraiy AM, 2017. Stimulation of Photosynthetic Pigments, Anthocyanin,

- Antioxidant Enzymes in Salt Stressed Red Cabbage Plants by Ascorbic Acid and Potassium Silicate. *Middle East Journal of Agriculture Research* 6: 553–568.
- Hernandez M, Fernandez-Garcia N, Diaz-Vivancos P, Olmos E 2010. A different role for hydrogen peroxide and the antioxidative system under short and long salt stress in *Brassica oleracea* roots. *J Exp Bot* 61: 521–535.
- Irfan M, Nabeela Ilyas M, Rahman KU 2019. Effects of ascorbic acid against salt stress on the morphological and physiological parameters of *Solanum melongena* L. *Pure Appl. Biol.* 8(2): 1425–1443.
- Jajoo A 2013. Changes in Photosystem II in Response to Salt Stress P. Ahmad et al. (eds.), *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress*, Springer Science+Business Media, LLC 2013.
- Kalaji MH, Pietkiewicz S 1993. Salinity effects on plant growth and other physiological processes. *Acta Physiologia Plantarum* 143: 89–124.
- Kalaji MH, Guo P 2008. Chlorophyll fluorescence: a useful tool in barley plant breeding programs. Nova Publishers NY USA.
- Kalaji MH, Govindjee Bosa K, Koscielniak J, Golaszewska KZ 2011. Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO₂ assimilation of two Syrian barley landraces. *Environmental and Experimental Botany* 73: 64–72.
- Khafagy MA, Arafa AA, El-Banna MF 2009. Glycinebetaine and ascorbic acid can alleviate the harmful effects of NaCl salinity in sweet pepper. *Aust J Crop Sci* 3: 257–267.
- Li JM, Jin H 2007. Regulation of brassinosteroid signaling. *Trends Plant Sci* 12: 37–41.
- Maxwell K, Johnson NG 2000. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659–668.
- Mehta P, Allakhverdiev SI, Jajoo A 2010a. Characterization of photosystem II heterogeneity in response to high salt stress in wheat leaves (*Triticum aestivum*). *Photosynth Res* 105: 249–255.
- Mehta P, Jajoo A, Mathur S, Bharti S 2010b. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiol Biochem* 48: 16–20.
- Mittal N, Thakur S, Verma H, Kaur A 2018. Interactive effect of salinity and ascorbic acid on *Brassica rapa* L. plants. *Global Journal of Bioscience and biotechnology* 7(1): 27–29.
- Mohamed MA, Matter MA, Saker MM 2010. Effect of salt stress on some defense mechanisms of transgenic and wild potato clones (*Solanum tuberosum* L.) grown in vitro. *Nat Sci* 12: 181–193.
- Munir N, Aftab F 2011. Enhancement of salt tolerance in sugarcane by ascorbic acid pretreatment. *Afr J Biotechnol* 10: 18362–18370.
- Munns R, James R, Läuchli A 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Bot.* 57(5): 1025–1043.
- Noble CL, Halloran GM, West DW 1984. Identification and selection for salt tolerance in lucerne (*Medicago sativa* L.). *Australian Journal of Agricultural Research* 35: 239–252.
- Panda SK, Upadhyay RK 2004. Salt stress injury induces oxidative alterations and antioxidative defence in the roots of *Lemna minor*. *Biol Plant* 48: 249–253.
- Papageorgiou GC, Murata N 1995. The unusually strong stabilizing effects of glycine betaine on the structure and function of the oxygen-evolving photosystem complex. *Photosynthesis Research* 44: 243–252.
- Parida AK, Das AB, Mohanty P 2004. Investigations on the antioxidative defense responses to NaCl stress in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: differential regulations of isoforms of some antioxidative enzymes. *Plant Growth Regul* 42: 213–226.
- Pastori GM, Kiddle G, Antoniw J, Bernard S, Veljovic-Jovanovic S, Verrier PJ, Noctor G, Foyer CH 2003. Leaf vitamin C contents modulate plant defense transcripts and regulate genes that control development through hormone signaling. *Plant Cell* 15: 939–951.
- Pereira WE, de Siqueira DL, Martinez CA, Puiatti M 2000. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminum stress. *Journal of Plant Physiology* 157: 513–520.
- Sajid ZA, Aftab F 2009. Amelioration of salinity tolerance in *Solanum tuberosum* L. by exogenous application of ascorbic acid. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 45(5): 540–549.
- Shalata A, Neumann PM 2001. Exogenous ascorbic acid (Vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. *J Exp Bot* 52: 2207–2211.
- Shannon MC 1998. Adaptation of plants to salinity. *Advances in Agronomy* 60: 75–119.
- Shigeoka S, Ishikawa T, Tamoi M, Miyagawa Y, Takeda T, Yabuta Y, Yoshimura K 2002 Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *J Exp Bot* 53: 1305–1319.
- SPSS 2013. IBM SPSS Statistics 22.0 for Windows. Armonk, NY.
- Tanaka Y, Hibino T, Hayashi Y, Tanaka A, Kishitani S, Takabe T, Yokota S, Takabe T 1999. Salt tolerance of transgenic rice overexpressing yeast mitochondrial Mn-SOD in chloroplasts. *Plant Science* 148: 131–138.
- Wang-Pruski G, Schofield A 2012. *Potato: Improving Crop Productivity and Abiotic Stress Tolerance. (Improving Crop Resistance to Abiotic Stress, First Edition. Ed. Tuteja N, Singh Gill S, Tiburcio AF, Tuteja R Published 2012 by Wiley-VCH Verlag GmbH, Co. KGaA.*