

## Biber ( *Capsicum annuum* L. cv. Kahramanmaraş-Acı ) Fidelerinde Bakır Sülfatın (CuSO<sub>4</sub>) Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL) Enzim Aktivitesi, Fenolik Maddeler ve Toplam Klorofil Üzerine Etkisi

Esra KOÇ\*, Cemil İŞLEK, Ayşen Sülün ÜSTÜN  
Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü - Tandoğan /Ankara  
Alınış tarihi:08.10.2008, Kabul tarihi:11.06.2009

**Özet:** Bu çalışmada biber ( *Capsicum annuum* L. cv. Kahramanmaraş-Acı) fidelerinde Fenilalanin amonyum liyaz enzimi, klorofil ve fenoliklere bakır sülfat (CuSO<sub>4</sub>)' ın etkisi araştırılmıştır. 7-8 yapraklı fideler 24 saat süresince 0.5 M konsantrasyonundaki CuSO<sub>4</sub> çözeltisine maruz bırakılmışlardır. 0, 0,5, 1,5, 3, 6, 12 ve 24 saat sonra CuSO<sub>4</sub>'a maruz bırakılan fidelerde Fenilalanin amonyum liyaz (PAL) aktivitesi, toplam klorofil ve toplam fenolik içerikleri tespit edilmiştir. Bakır sülfata maruz bırakılan fidelerin yapraklarında toplam klorofil içeriğinin azalmasına karşın PAL aktivitesinde ve fenolik madde miktarında artma tespit edilmiştir. Buna göre en yüksek PAL aktivitesi uygulamanın 3. ve 24.saatinde, en yüksek toplam fenolik miktarı 3.saatte bulunmuş, klorofil miktarındaki en yüksek azalma ise 24. saatin sonunda görülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** Bakır, Biber, Fenilalanin Amonyum Liyaz, Klorofil, Fenolik Bileşik

## Effect of Copper Sulphate ( CuSO<sub>4</sub> ) on Phenylalanine Ammonia Lyase Enzyme Activity, Phenolic Compounds and Total Chlorophyll in Pepper ( *Capsicum annuum* L. cv. Kahramanmaraş-Acı ) Seedlings

**Abstract:** In this study, the effect of copper sulphate (CuSO<sub>4</sub>) on phenolics, chlorophyll and PAL activity in pepper ( *Capsicum annuum* L. cv. Kahramanmaraş-Acı) seedlings were researched. 7-8 leafed seedlings were exposed to 0,5 M CuSO<sub>4</sub> for 24 hours. After 0, 0,5, 1,5, 3, 6, 12 and 24 hours, exposed to the CuSO<sub>4</sub>; total chlorophyll, total phenolic contents and Phenylalanine ammonia lyase (PAL) activity of seedlings were determined. Although total chlorophyll content decreased in the leaves of seedlings that are exposed to CuSO<sub>4</sub>, increase in PAL activity and phenolic compound contents were determined. According to this, the greatest PAL activity at the 3<sup>rd</sup> and 24<sup>th</sup> hour of the application, the greatest amount of total phenolic compounds were observed at the 3<sup>rd</sup> hour of the application and the greatest decrease in chlorophyll content was observed at the end of the 24 hours.

**Keywords:** Copper, Pepper, Phenylalanine ammonia lyase, Chlorophyll, Phenolic compounds.

### Giriş

İnsan ve hayvanlarda olduğu gibi bitkiler de çevresel streslere karşı kendilerini koruyabilmek için çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bunlar bitkideki morfolojik engeller ve bazı biyokimyasal olaylar arasında değişen bir dizi faktörlerdir. Bitkilerdeki biyokimyasal olaylardan sonra sentezlenen fenolik bileşikler gibi sekonder metabolitler savunmada önemli rol oynamaktadırlar (Günçan ve Durmuşoğlu, 2004).

Ağır metaller endüstriyel faaliyetler, kentsel atıklar, madencilik, tarımda gübre ve pestisid kullanılması, motorlu taşıtların eksoz gazları ve volkanik faaliyet gibi pek çok kaynaktan etrafa yayılmakta, tarım ve ziraat ile ormancılıkta büyük problemler oluşturmaktadır. Ağır metallerin çevrede yaygın bir şekilde birikmesi, bitkiden insana hemen her çeşit organizma için boyutları giderek artan bir tehlike oluşturmaktadır (Kırbağ ve Munzuroğlu, 2006).

Çevrede ağır metallerin varlığı bitki metabolizmasını çeşitli düzeyde etkilemektedir ve dokuların içine alınım ve taşınma olaylarında görev yapan farklı mekanizmaları aktive etmektedirler. Bakır bitkiler için önemli bir mikroelementtir (Owen, 1982). Fakat bu elementin fazla

alınması bitki büyümesini, dokuların su içeriğini ve fotosentezi etkilemektedir. Ayrıca ağır metaller membran lipidlerinin de dahil olduğu biyomoleküllere hasar vererek oksidatif stresin oluşmasına neden olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna neden olmaktadır ( Burzynski ve Klobus, 2004).

*Solanaceae* familyasının bir üyesi olan biberin anavatanı Amerika olup, Amerika kıtasında kültüre alınan ilk bitkiler arasındadır. Amerikanın keşfinden sonra İspanya'ya getirilen bu bitkinin 30 kadar türü olduğuna dair bilgiler mevcuttur. Ancak bu türlerden *Capsicum annuum* L. dışında kalanların ekonomik anlamda sebze olarak tarımı yalnızca Amerika'nın orta ve güney bölgelerinde yapılmaktadır (Abak ve Pitrat, 1981).

Biber dünyanın tropikal, subtropikal ve ılıman iklim etkisindeki birçok ülkede önemli yer tutan bir sebzedir. Bir tarım bitkisi olan biber bütün dünyada olduğu gibi yurdumuzda da önemli besin maddeleri arasında sayılmakta ve geniş alanlarda tarımı yapılmaktadır. Ülkemizde Kahramanmaraş, Gaziantep, Urfa, Diyarbakır, Adıyaman ve Hatay illerinin bazı yörelerinde tarla tarımı, Antalya, İçel, Muğla ve İzmir illerinde ise

seracılık üretiminde önemli bir yer tutmaktadır (Üstün, 1991).

Biyotik ve abiyotik stres bitki hücrelerinde birçok karışık savunma mekanizmasını harekete geçirmektedir. PAL enzimi birçok farklı strese karşı bitki savunmasında görev yapan bir enzimdir. Yaralanma, patojen infeksiyonu, U.V ve birçok çevresel faktör sonucunda PAL aktivitesinde artış olduğu saptanmıştır PAL fenilpropanoid yolundaki ilk enzimidir ve L-fenilalaninini trans sinamik asite katalizlemektedir. Fenilpropanoid yolundaki bu ilk adım taninler, kumarinleri flavanoidler, izoflavanoidler vs . ürünü meydana getirmektedir (Pereira ve Filipe, 1998).

Bitkilerin stres faktörlerine karşı olan toleransları farklıdır. Bunda bitkinin türü, stres faktörü, strese maruz kalma süresi ve strese maruz kalan doku veya organın yapısı etkilidir. Bitkilerin bu ağır metallere karşı hangi tepkiler verdiğini ve hangi savunma mekanizmaları geliştirdiğini belirlemek oldukça önemlidir. Bu araştırmada Kahramanmaraş-Acı biber çeşidine bakır sülfatın ( $CuSO_4$ ) farklı konsantrasyonlarının savunma mekanizmaları üzerindeki etkileri belirlenmeye çalışılmıştır.

## Materyal ve Metod

### *Bitkisel Materyal*

Araştırmada bitkisel materyal olarak Kahramanmaraş-Acı (*Capsicum annuum* cv. Kahramanmaraş-Acı) biber çeşidi kullanılmıştır. Kahramanmaraş-Acı biber çeşidi Kahramanmaraş Tarımsal Araştırma Enstitüsünden temin edilmiştir.

Kahramanmaraş-Acı biber çeşidine ait tohumlar % 0,75 sodyum hipoklorürde 1-2 dakika bekletildikten sonra steril su ile iyice yıkanarak yüzeysel sterilizasyonu yapılmıştır. Tohumlar bahçe toprağı-elenmiş yanmış ahır gübresi-ince kum (1:1:1 v/v/v) bulunan saksılara 5 cm aralık olacak şekilde hazırlanmış yuvaya bırakılmış ve gün aşırı sulanarak çimlenmeye bırakılmıştır. Sera şartlarında gelişen fideler 2-3 yapraklı evreye geldiklerinde içlerinde eşit büyüme gösterenler seçilmiş ve saksılarda seyreltme yapılmıştır. Yaklaşık iki aylık süre sonunda 7-8 yapraklı evreye erişen fideler bitkisel materyal olarak kullanılmıştır.

Kahramanmaraş-Acı fidelerinin yapraklarına 0,5 M  $CuSO_4$  (Bakır sülfat) ve % 0,05 Tween-20 içeren bir solüsyon püskürtülmüştür. Bu fidelerden 0, 0,5, 1,5, 3, 6, 12 ve 24 saat sonra rastgele yaprak örnekleri toplanmıştır. Kontrol bitkilerine ise içinde % 0,05 Tween-20 bulunan steril distile su püskürtülerek aynı zaman noktalarında yapraklar toplanmıştır. Toplanan bütün yaprak materyali sıvı azottan geçirildikten sonra analize kadar -80 °C'de saklanmıştır.

### *Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL) Aktivitesinin Belirlenmesi*

0,1 gram taze yaprak örneği içinde % 1 polivinilprolidone (PVP) ve 1 mM Fenilmetilsülfonil (PMSF) bulunan pH 6,5 olan 50 mM sodyum fosfat tamponu (ekstraksiyon ) ile homojenize edilmiştir. Daha sonra homojenat 4°C'de

25 dakika 10.000g'de santrifüjlenmiştir. Bu homojenattan alınan süpernatant, fenilalanin amonyum liyaz aktivitesinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

Fenilalanin amonyum liyaz aktivitesinin belirlenmesi için spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır (Pascholati vd. 1986). 100 µl enzim ekstraktı ve 1000 µl % 0,2 Fenilalanin solüsyonu ile 37°C'de bir saat reaksiyona sokulmuş ve L- fenilalaninin trans sinamik asite dönüşümü 290 (A<sub>290</sub>) nm' de absorbanansı okunmuştur. Fenilalanin amonyum liyaz aktivitesi sinamik asidin standartı hazırlanarak belirlenmiştir ve µmol sinamik asit saat<sup>-1</sup> olarak ifade edilmiştir.

### *Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi*

0,1 gr taze yaprak örneği 5 ml % 80 metil alkol ile homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnek 80°C'de 15 dak. inkübe edilmiş ve 500g 'de 10 dak. santrifüj edilmiştir. Pelet tekrar 2,5 ml % 80 metil alkol ile homojenize edilmiş, 80°C'de 15 dak. inkübe edilerek 500g 'de 10 dak. santrifüj edilmiştir. Peletten elde edilen süpernatant diğerine eklenmiştir. Süpernatant 80°C'de kurutulmuş ve 1 ml % 80 metil alkol ile tekrar süspansiyon edilmiştir. Bu süspansiyon toplam fenolik madde miktarının tayininde kullanılmıştır (Gayosa vd., 2004).

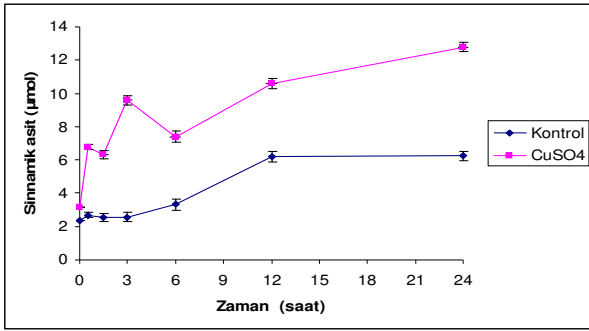
Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde Folin ciocaltaeu yöntemi kullanılmıştır (Singleton ve Rossi, 1965). 100 µl ekstrakt 10 kez seyreltilmiş Folin ciocaltaeu ile oda sıcaklığında 5 dak inkübe edilmiştir. Bu çözeltiye 750 µl sodyum bikarbonat solüsyonu eklenmiş ve oda sıcaklığında 90 dak. inkübe edilmiştir. 765 nm'de absorbanans değişimi spektrofotometrede kaydedilmiştir. Fenolik madde miktarı gallik asit standartı kullanılarak hesaplanmıştır.

### *Toplam Klorofil Miktarının Belirlenmesi*

Klorofil ekstraksiyonu % 80 lik aseton kullanılarak taze yaprak materyalinden yapılmıştır. Toplam klorofil ölçümü 750 nm'ye sıfırlanmış Cecil 5000 spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. Klorofil miktarları Porra vd. (1989) tarafından verilen eşitliklerin kullanılması ile hesaplanmıştır.

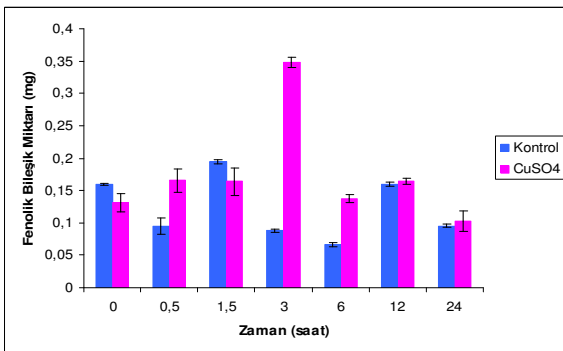
## Bulgular

Yapraklara uygulanan yüksek  $CuSO_4$  2. saatten itibaren bitkilerdeki PAL aktivitesini etkilemiş ve deneyin 3. ve 24. saatinde PAL aktivitesinde önemli bir artışın olduğu saptanmıştır. 0,5 M  $CuSO_4$  uygulanmış fidelerden üç saat sonra alınmış yaprak örneklerindeki enzim aktivitesi kontrolleriyle karşılaştırıldığında yaklaşık olarak 4 kat artış olduğu, 24 saat sonra alınmış yaprak örneklerinde ise en yüksek enzim aktivitesine sahip olduğu görülmüştür (Şekil 1).



Şekil 1. Zamana bağlı olarak kontrol grubunda ve bakır sülfat uygulanmış örneklerdeki fenilalanin amonyum liyaz aktivitesindeki değişimler

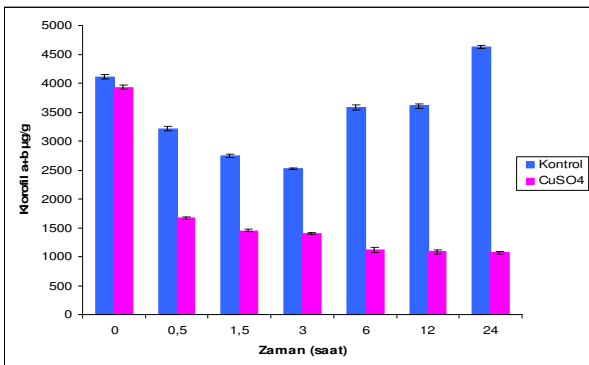
Aynı şekilde yapraklara uygulanan 0,5 M  $CuSO_4$  çözeltisinin bitkilerde toplam fenolik madde miktarını etkilediği ve özellikle de 3. saatte kontrol grubuna göre önemli bir artışın olduğu saptanmıştır (Şekil 2)



Şekil 2. Zamana bağlı olarak kontrol grubunda ve bakır sülfat uygulanmış örneklerdeki toplam fenolik madde miktarındaki değişimler

3. saatten sonra kontrol gruplarına göre fenolik maddelerin miktarında yine bir artış olduğu görülmüştür. Fakat toplam fenolik madde miktarında 3. saatten sonra azalma tespit edilmiştir. Buna karşın 0 ile 1,5 saat'lik zaman aralığında fenolik madde miktarının kontrollerine göre azaldığı belirlenmiştir (Şekil 2).

Yapraklara uygulanan 0,5 M  $CuSO_4$  çözeltisinin toplam klorofil miktarını da etkilediği görülmüştür. Kontrol gruplarına göre toplam klorofil miktarında en belirgin azalmalar 6. saatteki uygulamadan sonra tespit edilirken toplam klorofil miktarındaki en fazla azalma ise 24. saatin sonunda bulunmuştur (Şekil 3)



Şekil 3. Zamana bağlı olarak kontrol grubunda ve bakır sülfat uygulanmış örneklerdeki toplam klorofil miktarındaki değişimler

## Tartışma ve Sonuç

Bitkiler yaşamları süresince birçok stres faktörü ile karşılaşmaktadırlar. Bitki üzerinde tek başlarına ender olarak etki yapabilen bu stres faktörleri, genellikle etkilerini eş zamanlı olarak gerçekleştirmektedirler. Biyotik (patojen, diğer organizmalarla rekabet vb.) ve abiyotik (kuraklık, tuzluluk, radyasyon, yüksek sıcaklık ve ağır metal vb.) stresler ekonomik önemi olan tüm bitkilerin normal fizyolojik işlevlerinde değişikliklere yol açmaktadır. Tüm bu stresler bitkilerin biyosentetik kapasitelerini azaltır, normal fonksiyonlarını değiştirir ve bitkilerin ölümüne yol açabilecek zararlara neden olabilir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005).

Son yıllarda nüfustaki hızlı artış, enerji ve besin yetersizliği, düzensiz kentleşme, insanların aşırı tüketim isteği ve baş döndürücü bir hızla gelişen teknolojik ilerlemeler, çevre kirliliği sorununun önemini iyice hissettirir hale getirmiştir. Çevre kirliliğini artıran ve ekolojik dengenin bozulmasında önemli rol oynayan endüstri kuruluşlarının başında, atık sularında ağır metal içeren kuruluşlar gelmektedir. İlgili endüstri kuruluşları, süreçleri gereği çeşitli ağır metalleri kullanmakta ve atıklarında bakır, civa, çinko, kobalt, demir, kurşun, krom, arsenik ve gümüş gibi metal iyonlarını ihtiva etmektedir. Bu metaller içerisinde bakır, kurşun, çinko, kobalt, kadmiyum, krom, nikel, arsenik, civa ve gümüş gibi metal iyonları, kalıcı etkilerinden dolayı canlı sistemleri ve çevre sağlığı yönünden önem taşımakta olup belirli bir sınırı aşınca da son derece toksik etki göstermektedir (Sağlam ve Cihangir, 1995).

Bitkiler, biyotik ve abiyotik herhangi bir stres faktörüyle karşılaştıklarında biyokimyasal ve fizyolojik olarak bazı tepkiler ortaya çıkmakta; bazı kimyasal bileşiklerin sentezlenmesi söz konusu olmaktadır. Stres koşullarında çeşitli ozmoregülatörler veya antimikrobiyal özellik gösteren maddeler, genotiplere göre değişen miktarlarda, bitki bünyesinde sentezlenmektedir. Stres faktörleri ile yüz yüze gelen bitkilerde strese karşı yanıtlar çok kompleks olaylar dizinini içermektedir. Stresle uyarılmış bitkide, stres faktörleri ilk olarak bitki hücre duvarlarında ve zarlarda yerleşen reseptörler tarafından kabul edilir ve strese ait sinyaller meydana gelir. Bu sinyallerin transdüksiyonu ile genlerin düzenlenmesi ve metabolik işleyişteki değişimler ortaya çıkarken, sonuçta bitkinin strese karşı yanıtı da ortaya çıkar (Edreva, 1998).

Ağır metallerin bitkiye etkisi sonucu dokularda ki bu metallerin varlığı ile redüksiyon ve oksidasyon olayları sırasında kloroplast, mitokondri gibi hücre organellerinin de elektron taşınımı sonucu bitki hücrelerinde düşük düzeylerde reaktif oksijen türleri (ROS) meydana gelmektedir. Bitkilerdeki bu ROS'ların meydana gelme nedenlerinden biri bakır iyonlarının güçlü redoks özelliğine sahip olması ile açıklanmaktadır. Yüksek sitotoksik özelliğe sahip olan ROS'lerin oluşumu ve birikimi bitki hücresinde sıkı kontrol altındadır. Bitkiler hücreleri ROS'lerin meydana getirdiği oksidatif hasardan çeşitli savunma mekanizmaları ile kendilerini korumaktadırlar. Stres koşulları altında hücreleri korumak ve ROS düzeylerini kontrol altında tutabilmek ve ROS'u

ortadan kaldırabilmek için fenilpropanoid yolunda etkili olan PAL ve fenolik madde gibi savunma sistemleri harekete geçirilmektedir. Bu yüzden bitkiler savunma sırasında PAL aktivitesi ile metallerin toksik özelliklerini azaltan antioksidatif fenolikleri meydana getirmekte (Lin vd.2005) ve fenolik metabolizmayı artırmaktadır (Sgherri vd.2003). Fenoller serbest radikalleri ortadan kaldırmada etkisiz hale getirmede güçlü ve ideal bir kimyaya sahiptirler. Fenollerin antioksidant özellikleri hidrojen ve elektron donorları olarak ve zincir kırıcı olarak görev yapmaktadırlar. Yapılan araştırmalar fenoliklerin bitki hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i etkisiz kılmakta etkili olduğunu da göstermiştir (Takahama ve Oniki, 1997). Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar yüksek bakır konsantrasyonun PAL aktivitesini uyardığını ve toplam fenolik miktarında bir artış olduğu gerçeğini desteklemiştir. Dolayısıyla PAL aktivitesi ve fenolik bileşiklerin oluşumu arasında bir korelasyon olduğu da görülmüştür.

Çeşitli araştırmacılar tarafından metal kirliliğine bağlı olarak değişik bitki türlerinde klorofil miktarının azaldığı da rapor edilmiştir. Ağır metal stresine bağlı olarak klorofil içeriğinde görülen azalma, klorofil biyosentez yolunda iş gören enzimlerin ağır metaller tarafından engellenmesinin bir sonucu olabilir. Ağır metallerin serbest radikal oluşumuna neden olduğu ve bu yolla tilakoid membran lipidlerinin oksidatif yıkımına sebep olduğu anlaşılmıştır (Kırbağ ve Munzuroğlu, 2006). Çalışmamızda görülen klorofil miktarındaki azalma bu ve benzeri durumlardan dolayı klorofil yıkımının artması veya sentezinin engellenmesi yoluyla meydana gelmiş olabilir.

## Kaynaklar

- Abak, K., Pitrat, M. 1981. Biberlerde Kök Boğazı Yanıklığı (*Phytophthora Capsici* Leon.) Hastalığına Dayanıklılık Üzerinde Bir Araştırma. A.Ü.Z.F. Yıllığı, 29 (2-3-4), 943-947.
- Burzynski, M., Klobus, G. 2004. Changes of Photosynthetic Parameters in Cucumber Leaves Under Cu, Cd And Pb Stress. *Photosynthetica*, 42, 505-510.
- Edreva, A. 1998. Stress Physiology, Definitions and Concepts of Stress in 'Symposium Of Molecular Basis of Stress Physiology in Plants' pp. 4-32. 22-26 June, EBILTEM, Bornova-İzmir, Turkey.
- Gayosa, C., Pomar, F., Merino, F., Bernal, M.A. 2004. Oxidative Metabolism and Phenolic Compounds in *Capsicum Annuum* L. Var. *Annuum* infected by *Phytophthora Capsici* Leon. *Scientia Horticultures*, 102 (1), 1-13.
- Günçan, A., Durmuşoğlu, E. 2004. Bitkisel Kökenli Doğal İnsektisitler Üzerine Bir Değerlendirme. *HASAD* (ISSN 1302-1702 ), 233, 26-32.
- Kalefetoğlu, T., Ekmekçi, Y. 2005. The Effects of Drought on Plants on Plants and Tolerance Mechanism. *Gazi Üniversitesi. Fen Bilimleri Dergisi*, 18 (4), 723-740.
- Kırbağ, Z.F., Munzuroğlu, Ö. 2006. Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Fidelerinin Toplam Çözünbilir Protein, Prolin ve Klorofil Miktarları Üzerine Civa Klorürün (HgCl<sub>2</sub>) Etkileri, *Fırat Üniversitesi, Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 18 (1), 25-30.
- Lin, Ch-Ch., Chen, Li-M., Liu, Z.-H. 2005. Rapid Effect of Copper on Lignin Biosynthesis in Soybean Roots. *Plant Science*, 168, 855-861.
- Owen, C. 1982. *Biochemical Aspects of Copper*. Park Ridge, NJ: Noyes.
- Pascholati, S.F., Butler, L.G., Nicholson, R.L. 1986. Phenylalanine Ammonia Lyase Activity and Anthocyanin Accumulation in Wounded Maize Mesocotyls. *Journal Phytopathology*, 115, 165-172.
- Porra, P.J., Thompson, W.A., Kriedemann, P.E. 1989. Determination of Accurate Extinction Coefficients and Simultaneous Equations for Assaying Chlorophylls a and a Extracted with Four Different Solvents: Verification of The Concentration of Chlorophyll Standards by Atomic Absorption Spectroscopy. *Biochemistry Biophysics. Acta*, 975, 384-394.
- Pereira, P., Filipe, L. 1998. Studies on Phenylalanine: Ammonia-Lyase and Peroxidases in Cassava (*Manihot Esculenta* Crantz) During Root Post-Harvest Deterioration and Interaction With *Xanthomonas*. The Faculty of Graduate Studies of the University of Guelph A Thesis of Doctor of Philosophy .
- Sağlam, N., Cihangir, N. 1995. Ağır Metallerin Biyolojik Süreçlerle Biyosorbisyonu Çalışmaları. *Hacettepe Üniversitesi Eğitim, Fakültesi Dergisi*, 11,157-161.
- Sgherri, C., Cosi, E., Navari-Izzo, F. 2003. Phenols and Antioxidative Status of Raphanus Sativus Grown in Copper Excess. *Physiologia Plantarum*, 118, 21-28.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. 1965. Orthofer and R.M. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by means of The Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, pp.152-178.
- Takahama, U., Oniki, T. 1997. A Peroxide/Phenolics/Ascorbate System Can Scavenge Hydrogen Peroxide in Plant Cells. *Physiologia Plantarum*, 101, 845-852.
- Üstün, A.S. 1991. Biberlerde Kök Boğazı Yanıklığı (*Phytophthora Capsici* Leon.) Hastalığına Dayanıklılığın Nedenlerinin Fizyolojik ve Biyokimyasal Olarak İncelenmesi. *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.