

## **Biber tohumlarında yaşlanma esnasında asit fosfataz enziminde meydana gelen değişimler\***

**Mustafa DEMİRKAYA<sup>1</sup>, Karl Josef DIETZ<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Safiye Çıkrıkçıoğlu MYO, Bahçe Tarımı Programı, KAYSERİ

<sup>2</sup>Bielefeld Üniversitesi Bitki Fizyolojisi ve Biyokimyası Bölümü, Bielefeld, ALMANYA

\*Bu çalışmada; Asit fosfataz analizleri, TÜBİTAK-BİDEP(2007) tarafından desteklenen doktora sonrası "Deutsche Forschungsgemeinschaft" (DFG) Almanya Araştırma Programı çerçevesinde Bielefeld Üniversitesi Biyoloji Bölümü Biyokimya laboratuvarında yapılmıştır. Bu Araştırma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (SÇA-07-01) tarafından desteklenmiştir.

Alınış tarihi: 14 Ekim 2016, Kabul tarihi: 14 Aralık 2016

Sorumlu yazar: Mustafa DEMİRKAYA, e-posta:mustafad@erciyes.edu.tr

### **Öz**

Enzimlerin parçalanmasının biber tohumlarda canlılık kaybının önemli nedenlerinden biri olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmektedir. Bu çalışmada canlılığını kısa sürede kaybeden biber tohumlarında, farklı canlılık seviyelerinde ortaya çıkan asit fosfataz enzimlerin değişimleri incelenmiştir. Bu amaçla Demre Sivri, Yalova Çarliston ve Kandil Dolma çeşidi biber tohumlarında %80, 60, 40 ve 20 canlılık seviyeleri kontrollü yaşlandırma uygulamaları ile elde edilmiştir. Daha sonra bu canlılık seviyelerindeki asit fosfataz aktivitesi ölçümleri yapılmıştır. Bu çalışma da % 80, 60, 40 ve 20 canlılıktaki Demre Sivri, Kandil Dolma ve Yalova Çarliston çeşitleri tohumlarında, asit fosfataz aktiviteleri sırası ile 3.60, 2.90, 2.552 ve 2.17 mmol L<sup>-1</sup>g<sup>-1</sup>, 3.28, 2.58, 2.20 ve 1.72 mmol L<sup>-1</sup>g<sup>-1</sup>, 2.70, 2.27, 2.00 ve 1.84 mmol L<sup>-1</sup>g<sup>-1</sup>, olarak ölçülmüştür. Ayrıca, Demre Sivri, Kandil Dolma ve Yalova Çarliston çeşitleri biber tohumlarında canlılık kaybı ile asit fosfataz enzimi parçalanması arasında sırası ile 0.976, 0.986 ve 0.978 (0.01 düzeyinde önemli) korelasyon tespit edilmiştir. Tohumların yaşlanması ile beraber en yavaş asit fosfataz enzimi aktivitesi kaybı %32 ile Yalova Çarliston çeşidinde, en yüksek asit fosfat enzimi aktivitesi kaybı ise %48 ile Kandil Dolma çeşidinde tespit edilmiştir. Böylece biber tohumlarında yaşlanma ile ortaya çıkan biyo-

kimyasal değişimlerin çeşitlere göre değişebileceği tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Biber, tohum, canlılık, asit fosfataz

### **Changes in acid phosphatase enzyme during ageing in pepper seeds**

#### **Abstract**

Enzyme disintegration is suggested to be among the most significant reasons for the loss in viability of pepper seeds. In this study, changes in acid phosphatase activity accompanied the loss of vigor indifferent pepper seeds which occurred in short time. For this purposes, 80, 60, 40 and 20% vigor levels were adjusted in Demre Sivri, Yalova Çarliston and Kandil Dolma pepper cultivars through controlled aging procedures. Then, acid phosphatase enzyme activities were measured at these vigor levels. The acid phosphatase activities at 80, 60, 40 and 20% viability levels of the pepper cultivars were as follows: 3.60, 2.90, 2.552 and 2.17 mmol L<sup>-1</sup>g<sup>-1</sup> in Demre Sivri, 3.28, 2.58, 2.20 and 1.72 mmol L<sup>-1</sup>g<sup>-1</sup> in Kandil Dolma, and 2.70, 2.27, 2.00 and 1.84 mmol L<sup>-1</sup>g<sup>-1</sup> in Yalova Çarliston. The correlation coefficients between vigor loss in Demre Sivri, Kandil Dolma and Yalova Çarliston pepper cultivars and acid phosphatase disintegration were respectively observed as 0.976, 0.986 and 0.978 (significant at

0.01 level). The steepest loss in acid phosphatase was seen for Kandil Dolma with 48%, while the least loss was detected for Yalova Çarliston with only 32%, indicating some differences in biochemistry accompanying viability loss.

**Key words:** Pepper, seed, viability, acid phosphatase

## Giriş

Tohum canlılığı ve gücünü etkileyen faktörler genellikle hasat öncesi ve hasat sonrası olmak üzere iki kısımda incelenmektedir. Şehirli (1997), hasat öncesi tohumların canlılığını etkileyen en önemli faktörün tohum olgunluğu olduğunu, dölleme ile tohumun olgunlaşmasına kadar geçen sürede etkili çevre koşullarının tohumun canlılığı ve gücünü etkilediğini belirtmiştir. Tohumlardaki yaşlanma hızını etkileyen en önemli çevresel faktörler nispi nem ve sıcaklıktır (Harrington, 1973; Şehirli, 1997; Sağsöz, 2000). Yaşlanma ile birlikte tohumlarda çeşitli parametrelerde değişim söz konusudur. Yaşlanma ile birlikte tohumun gücü ve canlılığı azalmaktadır. Ancak, bu canlılık ve güç kayıpları tohum tür ve çeşitlerine göre değişmektedir. Tohumlarda yaşlanmanın nedenleri ile ilgili birçok teori ileriye sürülmüştür. Tohumların yaşlanma nedeni olarak ileri sürülen teorilerden en önemlilerinden bir tanesi, enzimlerin yapılarındaki temel değişiklikler sonucu enzim azalması ve inaktivasyonudur (Basavarajappa, 1991; Livesley ve Bray, 1991; Kalpana ve Rao, 1993; Blackman ve Leopold, 1993; Salama ve Pearce, 1993; Basra ve Malik, 1994; Aung ve Mc Donald, 1995; Bailly ve ark., 1996; Murthy ve Sun, 2000; Sağsöz, 2000; Goel ve ark., 2002; Zeng ve ark., 2004; Lehner ve ark., 2008; Demirkaya ve ark., 2010; Demirkaya, 2013). Enzim aktivitesinin azalması, solunum potansiyelini ve ATP oluşumunu, dolayısıyla çimlenmede tohuma sağlanan besin miktarını düşürmektedir. Enzimlerin makromoleküler yapısındaki değişiklikler onların etkinliklerinin azalmasına neden olmaktadır. Enzimler, ince yapının kısmen kıvrılması veya kıvrılmaması, polimerlerin şeklinin yoğunlaşması ve alt birimlerin azalması gibi, şekilsel değişikliklere uğrayabilmektedirler (Sağsöz, 2000). Karşılaştırmalı çeşitli araştırmalar, serbest radikal aracılığı ile lipid peroksidasyonu, enzim inaktivasyonu ya da proteinlerin azalması, hücre bütünlüğünün dağılması ve genetik hasarı, tohum yaşlanmasının temel

nedenleri olarak tanımlanmıştır (Priestley, 1986; Smith ve Berjak, 1995; Walters, 1998; Mc Donald, 1999; Li ve ark., 2007).

Asit fosfataz enziminin fizyolojik fonksiyonu büyümekte olan filizlere inorganik fosfat sağlamaktır. Bitki tohumlarında şekerlerin çok sayıda değişik fosfat esterleri ve substratları depolanmaktadır. Bu fosfat esterleri filizlenme sırasında hidrolize olur. Bu sırada elde edilen karbonhidratlar enerji kaynağı olarak, fosfatlar da yeni hücre yapımında kullanılabilir hale gelir. Yeni RNA ve DNA temel yapılarında fosfata ihtiyaç duyarlar (Aykanat, 2001).

Bu çalışmada Demre Sivri, Yalova Çarliston ve Kandil Dolma Çeşitleri tohumların da yaşlanma ile meydana gelen asit fosfataz enzimi değişimleri incelenmiştir.

## Materyal ve Metot

Bu araştırmada bitkisel materyal olarak, May Tohumculuk Zir. San. Tic. Ltd. Şti.'den temin edilen Demre Sivri, Kandil Dolma ve Yalova Çarliston biber çeşitleri tohumları kullanılmıştır.

Uygulamalar öncesinde, farklı çeşitlere ait Biber tohumlarının başlangıç nem kapsamalarının birbirine mümkün olduğunca yakın olması amaçlanmıştır. Böylece değişik parametreler açısından, çeşitler arasında meydana gelecek olan farklılıkların nem kapsamından kaynaklanma olasılığı ortadan kaldırılmıştır. Tohumlarda nem düzeylerinin sabitlenebilmesi için her çeşit ayrı bir tepsiye konularak iyice yayılmış, 20°C'de ve %50±5 oransal nemde 14 gün boyunca iklim dolabında bekletildikten sonra nem kapsamaları dengelenmiştir. Tohum nem kapsamaları Demre Sivride %8.01, Kandil Dolma % 8.02 ve Yalova Çarliston çeşidinde ise % 8.02 olmuştur.

Biber tohumlarında nem kapsamı tayini, Uluslararası Tohum Deneme Birliği (International Seed Testing Association - ISTA) Kuralları'na uygun olarak, Düşük Sabit Sıcaklıktaki Fırın Yöntemi'ne göre yapılmıştır (Anonim, 1999). Çimlendirme testi, 25± 1°C'de ve ISTA kurallarına bağlı kalınarak yapılmıştır (Anonim, 1999). Çimlendirme testleri temin edilen tohumların başlangıçtaki canlılığını belirlemek, yaşlandırma uygulamalarından sonra elde edilen canlılığı bulmak için yapılmıştır.

Tohumdan sızan maddelerin elektriksel iletkenliğinin ölçümü için, Pandey (1989a)'in çalışmasından modifiye edilerek 200 adet Biber tohumu tartıldıktan sonra 20°C'de 80 mL saf suda 24 saat bekletilerek yapılmıştır (İlbi 1998). Ortalama çimlenme süresi Ellis ve Roberts (1981)'e göre hesaplanmıştır. Asit fosfataz enzimi (Ferreira ve ark., 1998)'den modifiye edilerek aşağıdaki şekilde yapılmıştır. Biber tohumları kurşun değirmende iyice ezilmiş 2 gr tohumu 10 ml Acetat tampon çözeltisi pH 5.4 çözeltisi içinde homojenize edilmiş ve 5 dakika buz içinde bekletilmiştir. Daha sonra 10 gram kiesel gel den süzülerek enzim ölçümü için gerekli süzünü elde edilmiştir.

Daha sonra bu çözelti 37 derecede 5 dakika su banyosunda bekletilerek aşağıdaki şekilde enzim ölçümü yapılmıştır.

0.5 ml 0.025 M p- Nitrofenolfosfat

0.25 ml distile su

0.75 ml 0.2 M Acetat tampon çözeltisi pH 5.4

0.5 ml 37 derecede 5 dakika bekletilmiş enzim çözeltisi ilave edilmiş

0.5 ml 1 M NaOH çözeltisi

Toplamda 2.5 ml karışım 405 nm spektrofotometre de okunmuştur.

Daha sonra "Lambert beer" eşitliğinden yararlanarak enzim aktivitesi hesaplanmıştır.

Deneme tesadüf parselleri deneme desenine uygun olarak kurulup yürütülmüştür. Verilerin istatistiki olarak değerlendirilmesi "SPSS 13.0 for Windows" istatistik programında yapılmış, ortalamalar arasındaki farklılıklar 0.05 önemlilik seviyesinde LSD testine göre belirlenmiştir.

### Bulgular ve Tartışma

Demre Sivri, Kandil Dolma ve Yalova Çarliston biber tohumlarında canlılık kaybı ile Asit fosfataz aktivitesinde meydana gelen azalmalar ile ortalama çimlenme süresi ve elektriksel iletkenlikte ortaya çıkan artışlar tüm çeşitlerde önemli ( $P < 0.05$ ) bulunmuştur. Diğer bir deyişle, tohumlarda canlılık kaybı ile birlikte enzim aktivitesi de azalırken, ortalama çimlenme süresi ve elektriksel iletkenlikte artmıştır. Bu durum biber tohumlarında enzim parçalanması ile birlikte tohum gücünün de azaldığını ortaya koymaktadır. (Çizelge 1, 2 ve 3). Çalışmamızda biber tohumlarında yaşlanma ile birlikte asit fosfataz aktivitesinin azaldığını görüyoruz. Bu sonuçlar, (Thompson ve ark., 1987) yaşlanma ile enzim ve fonksiyonlarının kaybolduğu tezi ile paralellik göstermiştir.

Çizelge 1. Kandil Dolma çeşidi biber tohumlarında farklı canlılık seviyelerinde ölçülen Asit fosfataz enzimi aktivitesi ( $\text{mmol L}^{-1}\text{g}^{-1}$ ), Ortalama çimlenme süresi ve elektriksel iletkenlik ( $\mu\text{S/cm/g}$ ) değerleri

Çimlenme(%)	Asit fosfataz	Ortalama çimlenme süresi (gün)	Elektriksel iletkenlik( $\mu\text{S/cm/g}$ )
80	3.279 a	10.44 c	121.06 d
60	2.576 b	14.42 b	124.49 c
40	2.197 c	15.73 a	131.39 b
20	1.722 d	16.78 a	138.66 a

\* Farklı harfler uygulama grupları arasındaki farklılığı göstermektedir ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 2. Yalova Çarliston çeşidi biber tohumlarında farklı canlılık seviyelerinde ölçülen Asit fosfataz enzimi aktivitesi ( $\text{mmol L}^{-1}\text{g}^{-1}$ ), Ortalama çimlenme süresi ve elektriksel iletkenlik ( $\mu\text{S/cm/g}$ ) değerleri

Çimlenme(%)	Asit fosfataz	Ortalama çimlenme süresi (gün)	Elektriksel iletkenlik ( $\mu\text{S/cm/g}$ )
80	2.695 a	7.58 d	170.78 d
60	2.271 b	13.54 c	175.30 c
40	2.001 c	16.37 b	178.57 b
20	1.838 d	18.66 a	182.52 a

\* Farklı harfler uygulama grupları arasındaki farklılığı göstermektedir ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 3. Demre Sivri çeşidi biber tohumlarında farklı canlılık seviyelerinde ölçülen Asit fosfataz enzimi aktivitesi ( $\text{mmol L}^{-1}\text{g}^{-1}$ ), Ortalama çimlenme süresi ve elektriksel iletkenlik ( $\mu\text{S/cm/g}$ ) değerleri

Çimlenme(%)	Asit Fosfataz	Ortalama Çimlenme Süresi (gün)	Elektriksel İletkenlik ( $\mu\text{S/cm/g}$ )
80	3.599 a	7.56 c	118.86 d
60	2.901 b	15.79 b	124.87 c
40	2.552 c	17.19 a	129.69 b
20	2.166 d	18.00 a	135.79 a

\* Farklı harfler uygulama grupları arasındaki farklılığı göstermektedir ( $P<0.05$ ).

Tohumların yaşlanması ile beraber meydana gelen oransal asit fosfataz enzimi aktivitesi kaybı %32 ile en az Yalova Çarliston çeşidinde, en yüksek asit fosfataz enzimi aktivitesi kaybı ise %48 ile Kandil Dolma çeşidinde, Demre Sivri çeşidinde ise %39.83 olarak tespit edilmiştir. Böylece biber tohumlarında

yaşlanma ile ortaya çıkan biyokimyasal değişimlerin çeşitlere göre değişebileceği tespit edilmiştir (Çizelge 4). Bu sonuçlar (Demirkaya ve ark., 2010)'un soğan tohumlarında yaptığı çalışma ile benzerlik göstermiştir.

Çizelge 4. Biber tohumları ekstraktında canlılık kaybı ile ortaya çıkan oransal asit fosfataz aktiviteleri (%)

Çimlenme(%)	Kandil Dolma	Yalova Çarliston	Demre Sivri
80	100	100	100
60	78.53	84.25	80.62
40	66.98	74.26	70.90
20	52.51	68.21	60.17

Demre Sivri, Kandil Dolma ve Yalova çarliston çeşitleri tohumlarında, Asit Fosfataz enzimidaki parçalanma ile çimlenme oranı ile tohumlardaki canlılık kaybı arasında yüksek oranda pozitif bir korelasyon tespit edilirken, ortalama çimlenme süresi ve elektriksel iletkenlik arasında yüksek oranda negatif bir korelasyon bulunmuştur. Bu sonuçlar (Goel ve ark., 2002) pamuk tohumlarında, (Lehner ve ark., 2008)'ün ayçiçeği tohumlarında yaptığı çalışmalar ile paralellik göstermiştir. Bu

sonuçlardan faydalanarak Asit fosfataz enzimi analiz edilerek tohum popülasyonlarının çimlenme oranı, ortalama çimlenme süresi (tohum gücü) ve elektriksel iletkenlik (hücre membranlarının bozulmasının bir göstergesi) hakkında bir varsayım yapılabilmesine imkan sağlayacaktır. Biber tohumlarında normal bir çimlenme testinin ortalama olarak 21 gün sürdüğü düşünüldüğünde, asit fosfataz enzimi analizinin zaman ve ekonomik yönden kolaylıklar sağlayabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 3.5. Demre Sivri, Kandil Dolma ve Yalova çarliston çeşitleri biber tohumlarında, asit fosfataz (AF), çimlenme oranı (ÇO), ortalama çimlenme süresi (OÇS) ve elektriksel iletkenlik (Eİ) parametrelerinin korelasyon matrisi

Demre Sivri		Kandil Dolma		Yalova Çarliston	
	AF		AF		AF
AF	1.00	AF	1.00	AF	1.00
ÇO	0.976*	ÇO	0.986*	ÇO	0.978*
OÇS	-0.935*	OÇS	-0.962*	OÇS	-0.990*
Eİ	-0.970*	Eİ	-0.935*	Eİ	-0.966*

\*  $P<0.01$  düzeyinde önemli bulunan korelasyon değerlerini göstermektedir.

Literatürde Asit fosfatazın fizyolojik fonksiyonu hakkında; büyümekte olan filizlere inorganik fosfat sağladığı belirtilmektedir (Aykanat, 2001). Fosfor bilindiği gibi bitkilerde çiçek ve meyve sayısını artırmaktadır. Nitekim (Demirkaya ve Gerçek, 2013)'ün yaptığı bir çalışmada örtü altında yetiştirdikleri Demre Sivri çeşidinde 91.5 meyve (adet bitki<sup>-1</sup>), ve

Yalova Çarliston çeşidinde 76.37 meyve (adet bitki<sup>-1</sup>) elde edilmiştir. Asit fosfataz aktiviteleri ise sırası ile 3.599 ve 2.695 ( $\text{mmol L}^{-1}\text{g}^{-1}$ ) olarak tespit edilmiştir. Meyve sayısı ve asit fosfataz enzimi aktivitesi arasında yüksek oranda (0.913) pozitif bir korelasyon tesbit edilmiştir. Bu sonuçlar tohumlardaki asit fosfataz aktivitesi ile biber

bitkilerinin yetiştiricilikte oluşturacağı meyve sayısı hakkında varsayım yapılabileceği ihtimalini ortaya koymaktadır. Ancak buradaki çalışma örtü altında yapılmıştır. Bu nedenle, farklı ekolojik şartlarda, örtü altı ve açıkta ve farklı çeşitlerde biber yetiştiriciliği yapılarak, tohumdaki asit fosfataz aktivitesi ile çiçek ve meyve sayısı arasında bir korelasyonun olup olmadığının araştırılması yerinde olacaktır.

### Kaynaklar

- Aung, U.T., McDonald, M.B. 1995. Changes in Esterase Activity Associated With Peanut (*Arachis hypogea* L.) Seed Deterioration, Seed Sci. & Technol. 20: 233-240
- Aykanat, Y.T., 2001. Patates kabuğu, Kolza Tohumu, Karanlık ve Aydınlıkta Yetiştirilmiş Kolza Filizlerinden Asit Fosfataz Enziminin Kısmi Saflaştırılması. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. 91. S.
- Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F., Côme, D., 1996. Changes in Malondialdehyde Content and in Superoxide Dismutase, Catalase and Glutathione Reductase Activities in Sunflower Seeds as Related to Deterioration during Accelerated Ageing. Physiologia Plantarum. 97: 104-110.
- Basavarajappa, B.S., Shetty, H.S., Prakash, H.S., 1991., Membrane Deterioration and Other Biochemical Changes, Associated with Accelerated Ageing of Maize Seeds. Seed Sci. & Technol. 19: 279-286.
- Basra, B.S., Malik, C.P. 1994. Amelioration of the Effects of Ageing in Onion Seeds. Biologia Plantarum. 36(3): 365-371
- Blackman, S., Leopold, A.C., 1993. Chemical and Physical Factors in Seed Deterioration, Basic and Applied Aspects of Seed Biology (IVth International Workshop on Seeds, France, 20-24, July,1992.) Vol. 3: 731-737.
- Demirkaya, M., Dietz K.J., Sivritepe H.Ö., 2010. Changes in Antioxidant Enzymes during Ageing of Onion Seeds. Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj 38 (1) 2010 pp.49-52
- Demirkaya, M., 2013. Relationships Between Antioxidant Enzymes and Physiological Variations Occur During Ageing of Pepper Seeds. Horticulture, Environment, and Biotechnology 54(2) :97-102.
- Demirkaya, M., Gerçek, S., 2013. Farklı Renkli Su Yastıklarının Sera Koşullarında Biberin (*Capsicum annum* L.) Verimi ve Su Kullanma Etkinliği Üzerine Etkileri. Tarım Bilimleri Dergisi, 19: 281- 288 DOI: 10.1501/Tarimbil\_0000001253
- Ellis RH, Roberts EH (1981). The Quantification of Aging and Survival in Orthodox Seeds. Seed Sci. Technol. 9: 373-409.
- Ferreira, C.V., Granjeiro, J.M., Taga, E.M., Aoyama, H., 1998. Purification and characterization of multiple forms of soybean seed acid phosphatases. Plant Physiol. Biochem., 36 (1998), pp.
- Goel, A., Goel, A.K., Sheoran, I.S., 2002. Changes in Oxidative Stress Enzymes During Artificial Ageing in Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Seeds. J. Plant Physiol. 160: 1093-1100.
- Harrington, J.F., 1973. Biochemical Basis of Seed Longevity. Seed Sci. & Techn., 1: 453-461.
- İlbi, H. 1998. Biber Tohumlarında Yaşlanma ve Yaşlanma ile Oluşan Vigor Kayıplarının İyileştirilmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. 203 s.
- Kalpana, R., Rao, M.K.V., 1993. Lowered Lipoxygenase Activity in Seeds of Pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Mill. sp.) Cultivars during Accelerated Ageing. Seed Sci. & Technol. 21: 269-272.
- Li, J., Zhang, Y., Yu, Z., Wang, Y., Yang, Y., Liu, Z., Jiang, J., Song, M., Wu, Y., 2007. Superior storage stability in low lipoxygenase maize varieties. Journal of Stored Products Research 43: 530-534
- McDonald, M.B., 1999. Seed Deterioration: Physiology, Repair and Assessment. Seed Sci. & Technol. 27 (1): 177-237.
- Lehner, A., Mamadou, N., Poels, P., Côme, D., Bailly, C., Corbineau, F., 2008. Changes in soluble carbohydrates, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the embryo during ageing in wheat grains. J. Cereal Sci. 47: 555-565.
- Livesley, M.A., Bray C.M., 1991. The Effects of Ageing Upon  $\alpha$ -amylase Production and Protein Synthesis by Wheat Aleurone Layers Ann. Bot. 68: 69-73.
- Murthy, U.M.N., Sun, W.Q., 2000. Protein Modification by Amadori and Maillard Reactions during Seed Storage: Roles of Sugar Hydrolysis and Lipid Peroxidation. J. Exp. Bot. 51(348): 1221-1228.
- Pandey, D.K. 1989a. Amelioration of the Effect of Ageing in Onion Seeds. Indian J. Plant Physiol. 32(4): 379-382.
- Priestley, D.A., 1986. Morphological, Structural and Biochemical Changes Associated with Seed Ageing: Implication for Seed Storage and Persistence in Soil (Comstock Publishing Associates, Ithaca and London), pp. 125-195.
- Sağsöz, S., 2000. Tohumluk Bilimi. Atatürk Üniversitesi Yayınları No: 677, Ziraat Fakültesi Yayınları No: 302, Ders Kitapları Serisi No: 54, 187 s.

- Salama, A.M., Pearce, R.G., 1993. Ageing of Cucumber and Onion Seeds: Phospholipase D, Lipoxygenase Activity and Changes in: Phospholipid Content, *J. Exp. Bot.* 44: 1253-1265.
- Smith, M.T., Berjak, P., 1995. Deteriorative Changes Associated with the Loss of Viability of Stored Desiccation Tolerant and Desiccation Sensitive Seeds. In "Seed Development and Germination" (Eds. Kigel, J. and Galili, G.), New York, pp. 701-746.
- Şehirali, S., 1997. Tohumluk ve Teknolojisi. Fakülteler Matbaası. İstanbul. 422 s.
- Thompson, J.E., Legge, R.L., Barber, R.F., 1987. The Role of Free Radicals in Senescence and Wounding, *New Phytologist*. 105: 317-344.
- Walters, C., 1998. Understanding the Mechanisms and Kinetics of Seed Ageing. *Seed Sci. Res.* 8: 223-244.
- Zeng, X.Y., Chen, R.Z., Fu, J.R., Zhang, X.W., 2004. The Effects of Water Content During Storage on Physiological Activity of Cucumber. *Plant Cell Preview*. Published Online May 21.