



## Biber Genotiplerinde Peroksidaz ve Katalaz İçeriklerinin *Phytophthora capsici*'ye Dayanıklılık Üzerine Etkileri

Muhemet Zeki KARİPÇİN<sup>1\*</sup>, Emre DEMİRER DURAK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Siirt, TÜRKİYE

<sup>2</sup>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Van, TÜRKİYE

Geliş Tarihi/Received: 28.11.2017

Kabul Tarihi/Accepted: 13.02.2018

ORCID ID (Yazar sırasına göre / by author order)

orcid.org/0000-0003-2053-6286 orcid.org/0000-0001-5757-6332

\*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: zkaripcin@siirt.edu.tr

**Özet:** Yerel biber genotiplerinde *Phytophthora capsici*'ye dayanıklılık amacıyla yürütülen bu çalışmada, 60 adet biber genotipi kullanılmıştır. Araştırmada; kontrol olarak *P. capsici*'ye dayanıklı CM 334 (Criollos de Morelos 334) genotipi seçilmiş, peroksidaz ve katalaz enzim içerikleri araştırılan tüm materyallere iki inokulasyon uygulanmıştır. İlk inokulasyon sonucunda CM 334 no'lu genotip ve 3 (P1), 13 (Urfa), 25 (UKST), 38 (Uİ), 48 (UKDT) ve 57 (ANKSB) no'lu yerli genotipler ölmemiştir. İkinci inokulasyon sonucunda ise sadece CM 334 no'lu genotip hayatta kalarak sürgün oluşumuna devam etmiştir. Her iki inokulasyonda da kısmi veya tam dayanıklılık gösteren genotiplerin enzim içeriklerinin de yüksek seviyelerde olduğu, özellikle peroksidaz enzim içeriğinin belirgin bir şekilde ayırıcı olduğu sonucuna varılmıştır. İlk inokulasyonda dayanıklılık gösteren tüm genotiplerin peroksidaz içeriği yüksek olarak belirlenirken, katalaz içeriği dayanıklı ve hassas çeşitlerde çok belirgin olarak ortaya çıkmamıştır. Ayrıca, *P. capsici*'ye dayanıklılığın gelişmenin ilk evrelerinden daha çok, bitki gelişiminin son evrelerinde ortaya çıktığı belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, ilk inokulasyonda dahi kısmi dayanıklılık gösteren materyallerin ıslah materyalleri olabileceği ve melezleme programlarına dâhil edilebileceği tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Biber, *Phytophthora capsici*, peroksidaz, katalaz

## The Effects of Peroxidase and Catalase Components of Pepper Genotypes on *Phytophthora capsici* Resistance

**Abstract:** In this study, sixty landrace pepper genotypes were used to test the resistance to *Phytophthora capsici*. The CM 334 (Criollos de Morelos 334) *P. capsici* resistant genotype was selected as the control, and two inoculations were applied to all the materials evaluated for peroxidase and catalase enzyme contents. As a result of the first inoculation, genotype CM 334 and native genotypes 3 (P1), 13 (Urfa), 25 (UKST), 38 (UD), 48 (UKDT) and 57 (ANKSB) survived. As a result of the second (last) inoculation, only the CM 334 genotype survived and continued to form shoots. In both inoculations, it was concluded that the enzyme contents of genotypes showing partial or complete resistance were also at elevated levels, especially the peroxidase enzyme content was specifically distinctive. Peroxidase content of all genotypes showing resistance in the first inoculation was high, but catalase content was not very apparent in resistant and sensitive varieties. It has also been determined that *P. capsici* resistance appeared in the last stages of plant development, rather than in the initial stages of development. As a result of the study, it was determined that materials showing partial resistance even in the first inoculation, could be breeding materials and used in hybridization programs.

**Keywords:** Pepper, *Phytophthora capsici*, peroxidase, catalase

## 1. Giriş

Bitkiler, insanların yaşam enerjisi kaynaklarından biri olmalarından dolayı her çağda insanlar için vazgeçilmez olmuşlardır. Bitki yetiştiriciliğindeki en önemli kriterlerden biri verimdir. Doğanın inisiyatifine bırakılmayan bitkilerin yetiştirildiği alanların her geçen gün artmasıyla birlikte, hastalık ve zararlıların yoğunluğu da artış göstermiştir. Birim alandan yüksek verim elde edebilmek için, hastalık ve zararlıların engellenmesine yönelik çözümlerin üretilmesi gerekmektedir. Bu çözümlerin başında da, ıslah çalışmaları sonucu geliştirilmiş, biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklı yeni çeşitlerin elde edilmesi gelmektedir.

Biber (*Capsicum annuum* L.) dünya genelinde üretim miktarı açısından en önemli sebze türlerinden biridir. Türkiye’de 105.000 ha alanda 2.457.822 ton biber üretimi yapılmaktadır (Anonim, 2016). Üretim miktarı açısından Çin ilk sırada yer alırken, yıllara göre değişmekle birlikte Meksika ve Türkiye ikinci ve üçüncü sırayı paylaşmaktadır. Ancak biber üretimi tüm bitki gelişim evrelerinde, biyotik stres faktörlerinden biri olan *Phytophthora capsici*’den olumsuz yönde etkilenmektedir. *Phytophthora çürüklüğü*, ilk olarak 1918 yılında New Mexico (ABD)’da biber bitkisinde saptanmıştır (Leonian, 1922). Oomycetes sınıfına ait *Phytophthora capsici* adlı fungal patojen, *Solanacea* ve *Cucurbitacea* familyalarındaki bitki türlerinde ve özellikle de *Capsicum* cinsinde kök boğazı yanıklığı hastalığı oluşturmakta ve yetiştiricilikte önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. *P. capsici* ile mücadelede; dayanıklı çeşit kullanımı, yeterli dozda fungusit kullanımı, ürün rotasyonu ve kültürel uygulamalar en önemli yaklaşımlar olarak bilinmektedir (Jung ve ark., 2005). Ancak, biber yetiştiriciliği yapılan bazı bölgelerde, aşırı dozda fungusit kullanımının, hastalıkla mücadelede yetersiz olduğu bildirilmektedir (Parra ve Ristaino, 1998). *P. capsici* genomu fungusit direnci geliştirecek plastisiteye sahiptir (Tyler, 2001). Bitkiler patojen saldırısına maruz kaldıklarında aktif oksijen türlerinin üretimi ve birikimi gibi çeşitli savunma mekanizmalarını devreye koyarlar (Mehdy, 1994). Aktif oksijen türlerinin üretimi aerobik şartlarda yaşayan bütün organizmalarda meydana gelen genel bir olaydır. Aktif oksijen türleri bitki savunmasında farklı görevler üstlenirler. Bu roller arasında sekonder mesajcı olarak, yapısal savunma bileşenlerinin sentezinde substrat olarak ya da bitki hücreleri ve patojenin ölümüne yol açan toksik ajan olarak görev alırlar (Gayoso ve ark., 2004). Bitkiler patojen saldırısına maruz kaldıklarında meydana gelen ilk olaylar arasında, reaktif oksijen türleri (ROT) üretimi de yer almaktadır. Bitkilerde oksidatif yanıklık olarak

adlandırılan patojen saldırısı sonucu ROT birikimi ve eş zamanlı olarak hücre dışı pH değerinin, iyon akışının ve protein degradasyonu ile immobilizasyonunun değişmesi patojenleri direkt olarak etkiler. Bu değişiklikler sonucu bitkilerde ki fotosentez hızı düşer, elektrolit sızıntısı artar ve yaşlanma hızlanır (Sharma ve Davis, 1997). Bu durum patojenle bulaşık olan konukçu hücrenin ölümüne neden olur ve sonuçta patojenin daha fazla yayılması önlenir (Gechev ve ark., 2006). Reaktif oksijen türlerinin direkt antimikrobiyal rolü yanında savunma mekanizmasında yer alan genlerin indüksiyonuyla ilgili hücresel sinyalizasyonda da yer aldığı bilinmektedir (Desikan ve ark., 2000; Caverzan ve ark., 2016).

Kültürü yapılan bitkilerde görülen, mücadelesi çok zaman alan ve maddi yükü ağır olan hastalık ve yine üreticilerin büyük kayıplara uğramasında hastalıklar kadar etkili olan zararlıların yayılmasını önlemek amacıyla üç yol izlenmektedir. Bu yollardan ilki, kimyasal ilaç uygulamaları; ikincisi, kültürel/agronomik uygulamalar (ekim/dikim zamanı, budama, sulama, gübreleme vb.) son olarak ve en önemlisi de dayanıklı çeşit kullanmaktır. Kimyasal mücadele yöntemleri, hastalıkların ve zararlıların belli oranlarda yayılmasını engellemesine rağmen; üreticiler ve araştırmacılar bakımından büyük riskler oluşturması, maliyet (girdi) artışına sebep olması, çevrede ve ürün üzerinde kalıntı bırakması nedeniyle zorunlu olmadıkça kullanılmaması gereken yöntemlerdir. Ayrıca, gerek kimyasal gerekse agronomik tedbirler çoğu zamanlarda istenilen anlamda hastalık ve zararlılarla mücadelede etkili olamamaktadır. Hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı çeşit geliştirmek, bu konuda en etkili strateji olarak karşımıza çıkmaktadır. Dayanıklı çeşit geliştirme bitkide verim kaybını önlemekle birlikte, aynı zamanda kullanılan kimyasal ilaçların gerek çevre ve insan sağlığı, gerekse ürünler üzerindeki olumsuz etkisini de ortadan kaldıracaktır.

Bitkisel üretim gerçekleştirilen alanlarda; bitki, patojen ve çevre koşullarında sürekli değişiklikler meydana gelmektedir. Dolayısıyla, insanlar yeni çözüm yolları aramak zorundadırlar ve özellikle bitkilerde tam dirençlilik/dayanıklılık gösteren yeni veya multi özellikli genotiplerin elde edilmesi gereklilik arz etmektedir. İnsan eliyle tabiata yapılan müdahale maalesef patojenlerin yeni varyasyon oluşturmalarına da sebep olmaktadır. Birçok yerel genotiplerde mevcut olan endofit mikroorganizmalar, patojenin bitkiye ilk girişinden itibaren karşı savunmayı gerçekleştirmektedir. Bitki savunması yetersiz olması durumunda hastalık bitkide yayılış göstererek etkisini arttırmaktadır. Bazı mikroorganizmaların bazı

genotiplerde etkili olduğu, bazılarının ise sadece belirli türlerde etkili olduğu, hatta aynı patojenin farklı ırkları farklı bitkilerde hastalık oluşturarak etkin olduğu, aynı familyadaki farklı türlerin hastalıklara farklı tepkiler verdiği tespit edilmiştir (Flor, 1971; Deverall, 1977; Holub ve ark., 1994). Bununla birlikte, *P. capsici*'ye dayanıklı biber hatları, yabancı hatlar veya yabancı biber türlerine yakın olup, yetiştiriciliği yapılan biber çeşitlerine fazlaca uzak, meyveleri küçük ve acıdır. Dayanıklılık sağlayan genlerin belirlenerek hassas durumdaki kültür çeşitlerine aktarılması veya melezleme programıyla yeni dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi gerekmektedir (Palloix ve ark., 1990). Bu çalışma, biber gen havuzunda yer alan 60 adet biber genotipinde, klasik test yöntemleriyle *P. capsici*'ye dayanıklı olabilecek ümitvar genotiplerin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Bitkisel ve fungal materyal

Araştırmada, Siirt Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait biber gen havuzunda bulunan 60

adet biber genotipi ve kontrol bitkisi olarak *P. capsici*'ye dayanıklı CM 334 (Criollos de Morelos 334) genotipi kullanılmıştır. Denemede kullanılan genotiplerin meyve şekli ve acılık durumu ile *P. capsici*'ye dayanım durumu Tablo 1'de verilmiştir. Araştırma, 2017 yılı yetiştirme sezonunda gerçekleştirilmiştir.

Fungal materyal; Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nden temin edilmiştir. Kullanılan izolat, türünün en agresif izolatıdır.

### 2.2. Arazi çalışmaları

Arazi çalışmaları, Siirt Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü araştırma ve uygulama alanında yürütülmüştür. Biber genotiplerine ait tohumlar Nisan ayının son haftasında viyollere ekilmiştir. Fideler 4-5 yapraklı olunca ilk inokulasyon gerçekleştirilmiştir. İlk inokulasyonda dayanıklı olan genotiplerin fideleri asıl yerlerine dikilmiştir. *P. capsici*'nin biber genotiplerine etkisi iki aşamada incelenmiştir. İlk aşamada, fide döneminde genotiplerin dayanıklı

**Tablo 1.** Çalışmada kullanılan materyaller, meyve şekli, acılık durumları ve *P. capsici*'ye dayanıklılık durumları

Genotip/ Çeşit no	Meyve şekli	Acılık durumu	<i>P. capsici</i> 'e dayanıklılığı	Genotip/ Çeşit no	Meyve şekli	Acılık durumu	<i>P. capsici</i> 'e dayanıklılığı
1	D	Acı değil	ÇH	31	K	Acı	H
2	D	Az acı	ÇH	32	YKS	Acı	H
3	K	Acı	KD	33	YKS	Az acı	H
4	YKS	Acı	H	34	K	Az acı	H
5	K	Acı	H	35	K	Az acı	H
6	YKS	Az acı	H	36	K	Acı	H
7	YKS	Az acı	H	37	K	Az acı	H
8	YKS	Acı	H	38	YKS	Acı	KD
9	K	Acı	H	39	YKS	Az acı	H
10	K	Acı	DY	40	K	Acı	H
11	K	Acı	H	41	YKS	Az acı	H
12	D	Acı değil	ÇH	42	K	Acı	H
13	K	Acı	KD	43	D	Acı değil	ÇH
14	K	Acı	H	44	K	Acı	H
15	YKS	Az acı	H	45	D	Acı değil	ÇH
16	YKS	Acı	H	46	K	Acı	H
17	YKS	Acı değil	H	47	K	Acı	H
18	K	Acı	H	48	K	Acı	KD
19	K	Acı	H	49	YKS	Az acı	H
20	YKS	Acı	H	50	K	Az acı	H
21	D	Acı değil	ÇH	51	K	Az acı	H
22	YKS	Acı değil	H	52	K	Acı	H
23	YKS	Az acı	H	53	K	Az acı	H
24	K	Az acı	H	54	K	Acı	H
25	K	Acı	KD	55	K	Acı	H
26	K	Acı	H	56	YKS	Acı	H
27	YKS	Az acı	H	57	K	Acı	KD
28	K	Acı	H	58	K	Acı	H
29	K	Az acı	H	59	K	Az acı	H
30	D	Acı değil	ÇH	60	K	Az acı	H

YKS: Yarı kapya-sivri, D: Dolmalık, K: Kapya, H: Hassas, ÇH: Çok hassas, KD: Kısmi dayanıklı, DY: Dayanıklı

ya da duyarlı oldukları belirlenmiştir. Daha sonra, dayanıklı olan genotipler seçilerek tarla şartlarında fideden sonraki dönemde bitkilere patojenin etkisi incelenmiştir.

### 2.3. Laboratuvar çalışmaları

Ekimden önce biber tohumları % 2'lik sodyum hidroksit solüsyonunda 5 dakika bekletilerek yüzeysel dezenfeksiyona tabi tutulmuş, ardından iki kez steril saf sudan geçirilmiştir. Fide yetiştirme ortamı olarak torf kullanılmıştır. Deneme, 3 tekrürlü ve her bir tekrürde 10 bitki olacak şekilde planlanmıştır. Fideler 3-4 yapraklı olduklarında *P. capsici*'nin zoosporlarını içeren spor solüsyonu ile bulaştırılmıştır. Bunun için *P. capsici*'nin (9 cm'lik petrielerde) Patates Dekstroz Agar besi yerinde inkübatörde 25 °C'de karanlıkta saf olarak geliştirilmiş ve 7 günlük kültürleri kullanılmıştır.

### 2.4. Fungus inokülasyonu

Sporlanma sağlanması için petrieler 2 gün ışık altında bırakılmıştır. Her bir petrinin içine 20 mL steril distile su konulup buzdolabında 4 °C'de 40 dakika inkübe edilmiş, sonrasında 30 dakika oda sıcaklığında tutulmuştur. Böylece fungusun zoospor oluşumu teşvik edilmiştir. *P. capsici*'nin zoosporları iki katlı tülbent vasıtasıyla süzülerek toplanmıştır. Daha sonra fungusun zoosporları hemositometre yardımıyla  $2 \times 10^6$  zoospor ml<sup>-1</sup> konsantrasyonunda ayarlanmıştır. Bu solüsyondan 3 ml alınarak patojen inokülasyonu yapılacak olan fidelerin kök çevresine inokule edilmiştir. İlk inokülasyondan sonra hayatta kalan fidelere ilk aşamada belirtildiği gibi ikinci inokülasyon da yapılmıştır.

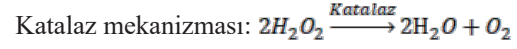
### 2.5. Enzim aktivitesi tayini

İnokule edilmemiş kontrol grubundaki hassas genotiplerden örnekler alınarak, peroksidaz ve katalaz enzim tespiti yapılmıştır.

Katalaz ve peroksidaz enzim tayinleri; Siirt Üniversitesi, Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde Thermo Scientific UV-VIS cihazı ile yapılmıştır. Soğuk zincir kurallarına uyularak alınan bitki yaprağı örnekleri, homojenizatör ile homojenizatör içinde 5 dakika süreyle parçalanmış; 15000 rpm'de +4 °C'de 1 saat santrifüj edilmiştir. Tampon çözeltisine eklenen substratın 100 µl homojenantta her iki enzim aktivite ölçümü gerçekleştirilmiştir.

Katalaz enzim aktivitesi ölçümü, Jebara ve ark. (2005) tarafından bildirilen yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Enzim aktivitesi ve enzim hesaplama formülü aşağıda verilmiştir. Cihaz kalibrasyonu yapıldıktan sonra ölçüm 240 nm'de

kuvars küvet içerisinde 3 tekrürlü olacak şekilde yapılmıştır. Hesaplama yapılarak EU ml<sup>-1</sup> değerleri elde edilmiştir.

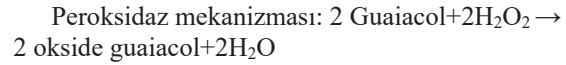


Katalaz hesaplaması, Eşitlik 1 yardımıyla yapılmıştır.

$$EU/ml = 3.45 \times (sf) / dk \times (V_E) \quad (1)$$

Burada; 3.45, 240 nm'de absorbansın 0.45'ten 0.40'a azalması için 3 ml reaksiyon karışımında üretilen hidrojen peroksidin 3.45 µmol'ünün parçalanmasına karşılık gelir; sf, seyreltme faktörünü; dk, 240 nm'de absorbansın 0.45'ten 0.40 azalması için gereken süreyi; V<sub>E</sub>, kullanılan enzim miktarını ifade etmektedir.

Peroksidaz enziminin aktivite ölçümü, Şişecioğlu ve ark. (2010)'nın uyguladığı prosedüre göre spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Bu prosedür, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tarafından guaiacol kromojenik substratın yükseltgenmesi ve oluşan renkli bileşiğin meydana getirdiği absorbans artışının 470 nm'de izlenmesi esasına dayanmaktadır. Enzim aktivitesi ve enzim hesaplama formülü aşağıda verilmiştir. Cihaz kalibrasyonu yapıldıktan sonra ölçüm 470 nm'de kuvars küvet içerisinde 3 tekrürlü olacak şekilde yapılmıştır. Hesaplama yapılarak EU ml<sup>-1</sup> değerleri saptanmıştır.



Peroksidaz değerinin hesaplanmasında Eşitlik 2'den yararlanılmıştır.

$$EU / ml = [(\text{Peroksidaz 1 dakika oluşan absorbansın farkı}) \times df] / l \times (0.01) \quad (2)$$

Burada; df, dilüsyon faktörünü; l, enzim birimi başına dakikadaki artışı; 0.01, kullanılan enzim homojenatın miktarını ifade etmektedir.

$$\text{Ünite / mg protein} = (\text{Ünite / ml enzim}) / (\text{mg protein / ml enzim})$$

### 2.6. Elde edilen verilerin değerlendirilmesi

İncelenen her bir özelliğin (Peroksidaz ve Katalaz), maksimum-minimum değerleri, ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır. Tüm bu işlemlerde Microsoft Windows işletim sistemleri tabanlı Microsoft Excel programı kullanılmıştır. Ayrıca ilk beşe giren genotiplere ait değerler arasında % değişimler de hesaplanmıştır.

## 3. Bulgular ve Tartışma

Genotiplere ait katalaz ve peroksidaz aktiviteleri Tablo 2'de, enzim aktiviteleri arasındaki değişimler ise Tablo 3'te verilmiştir. Çalışmada kullanılan genotipler enzim aktivitesi açısından

**Tablo 2.** Çalışmada kullanılan genotiplere ait katalaz ve peroksidaz aktiviteleri

Genotip	Peroksidaz (EU ml <sup>-1</sup> )	Std sapma	Genotip	Peroksidaz (EU ml <sup>-1</sup> )	Std sapma	Genotip	Katalaz (EU ml <sup>-1</sup> )	Std sapma	Genotip	Katalaz (EU ml <sup>-1</sup> )	Std sapma
10	0.074	0.002	51	0.025	0.007	10	2.96	0.02	43	0.64	0.04
3	0.057	0.001	14	0.022	0.001	8	1.55	0.05	2	0.62	0.12
38	0.054	0.009	46	0.022	0.004	56	1.55	0.06	59	0.62	0.07
57	0.053	0.014	42	0.021	0.011	9	1.51	0.03	52	0.61	0.21
11	0.048	0.001	39	0.021	0.009	11	1.44	0.03	36	0.60	0.04
13	0.048	0.000	6	0.018	0.001	13	1.11	0.07	51	0.60	0.02
25	0.048	0.004	29	0.018	0.000	15	1.11	0.03	19	0.60	0.04
48	0.047	0.007	32	0.017	0.006	7	1.07	0.08	55	0.60	0.09
34	0.044	0.008	41	0.017	0.005	3	0.99	0.06	58	0.58	0.07
59	0.043	0.001	18	0.016	0.000	6	0.99	0.05	26	0.58	0.06
26	0.043	0.025	19	0.015	0.002	33	0.96	0.03	28	0.58	0.03
28	0.043	0.003	23	0.015	0.001	29	0.93	0.08	39	0.57	0.05
35	0.041	0.003	33	0.014	0.007	34	0.91	0.06	30	0.56	0.04
5	0.041	0.001	16	0.013	0.001	60	0.89	0.13	35	0.54	0.06
54	0.041	0.004	49	0.012	0.003	38	0.87	0.07	21	0.52	0.04
37	0.041	0.011	43	0.012	0.003	25	0.84	0.03	48	0.50	0.14
36	0.041	0.008	15	0.011	0.001	37	0.83	0.04	45	0.50	0.02
58	0.041	0.002	17	0.011	0.000	41	0.83	0.10	24	0.49	0.05
24	0.040	0.006	22	0.011	0.004	57	0.83	0.04	40	0.48	0.07
31	0.040	0.009	4	0.011	0.000	22	0.82	0.03	31	0.47	0.05
55	0.038	0.002	20	0.010	0.000	53	0.81	0.05	49	0.46	0.04
47	0.038	0.028	27	0.009	0.002	16	0.78	0.01	44	0.45	0.04
9	0.036	0.002	7	0.009	0.000	27	0.71	0.03	1	0.43	0.10
40	0.036	0.007	8	0.008	0.001	47	0.69	0.03	42	0.40	0.24
52	0.033	0.002	30	0.007	0.001	50	0.69	0.03	5	0.35	0.15
60	0.032	0.002	12	0.006	0.001	20	0.68	0.13	46	0.34	0.08
50	0.030	0.006	2	0.006	0.000	17	0.68	0.03	32	0.28	0.07
53	0.030	0.006	45	0.005	0.001	18	0.68	0.02	12	0.20	0.12
56	0.028	0.008	1	0.005	0.001	54	0.66	0.02	4	0.13	0.00
44	0.027	0.006	21	0.003	0.000	14	0.65	0.06	23	0.04	0.08

**Tablo 3.** Çalışmada kullanılan genotiplere ait katalaz ve peroksidaz aktiviteleri değişimi

Enzimler	Minimum değer	Genotip	Maksimum değer	Genotip	Ortalama değer	Standart sapma
Peroksidaz (n=60)	0.003	21	0.074	10	0.0270	0.0044
Katalaz (n=60)	0.040	23	2.960	10	0.7393	0.0622

değerlendirildiğinde, 10 no'lu genotip peroksidaz yönünden 0.0744 EU ml<sup>-1</sup> değeri ile en yüksek aktiviteyi gösterirken, bu genotipi sırasıyla 3 (0.0568 EU ml<sup>-1</sup>), 38 (0.0540 EU ml<sup>-1</sup>), 57 (0.0533 EU ml<sup>-1</sup>) ve 11 (0.0482 EU ml<sup>-1</sup>) no'lu genotipler izlemiştir (Tablo 2). Elde edilen sonuçlar katalaz aktivitesi açısından değerlendirildiğinde ise 10 no'lu genotip benzer bir profil sergilerken (2.9571 EU ml<sup>-1</sup>), bu genotipi 8 (1.5525 EU ml<sup>-1</sup>), 56 (1.5525 EU ml<sup>-1</sup>), 9 (1.5146 EU ml<sup>-1</sup>) ve 11

(1.4441 EU ml<sup>-1</sup>) no'lu genotipler takip etmiştir (Tablo 2). Enzim sonuçları değerlendirildiğinde, genotiplerin göstermiş olduğu katalaz ve peroksidaz aktivitesi farklılıklar sergilemiştir. Ancak 10, 11 ve 13 no'lu genotipler her iki enzim aktivitesi açısından Tablo 2'de üst sıralarda yer almışlardır. En yüksek ilk beş sonuç yüzde olarak ele alındığında, ilk beş genotip arasındaki en düşük aktivite veren 11 no'lu genotip ile kıyaslama sonucunda 10 no'lu genotip (yarı yabani genotip,

CM 334) peroksidaz aktivitesi olarak % 154.357, katalaz aktivitesi % 204.761 daha yüksek çıkmış ve her iki enzim aktivitesinde en üst sırayı almıştır. 11 no' lu genotip ile yapılan karşılaştırmaya göre peroksidaz aktiviteleri, 3 no'lu genotipte % 117.84, 38 no'lu genotipte % 112.00 ve 57 no'lu genotipte % 110.58 oranlarında; katalaz aktiviteleri için ise 8 ve 56 no'lu genotiplerde % 107.50, 9 no'lu genotipte ise % 104.71 oranlarında belirgin bir artış gözlenmiştir. Yarı yabani bir genotip olan CM-334 her iki enzim aktivitesi açısından en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Tablo 3 incelendiğinde ise, genotiplere ait; peroksidaz değerlerinin 0.074 ile 0.040 EU ml<sup>-1</sup>, katalaz enzim aktivitesinin 0.003 ile 2.960 EU ml<sup>-1</sup> aralıklarında değişmiştir. Ortalama değerlerde ise; peroksidaz ortalama değeri 0.027 EU ml<sup>-1</sup> olarak belirlenirken, katalaz enzim ortalama değerinin ise 0.7393 EU ml<sup>-1</sup> olduğu saptanmıştır. Katalaz enzim aktivite ortalama değerinin, peroksidaz enzim aktivite ortalama değerlerinden yüksek olduğu, en yüksek enzim aktivite değerinin yine katalaz enzimine ait olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3). Yapılan çalışmalarla bu genotipin bütün *P. capsici* izolatlarına karşı direnç gösterdiği bildirilmiştir (Lamour ve ark., 2012). Bu literatür bulgusu, bizim çalışma sonuçlarımızla da benzerlik göstermiştir. Çok dayanıklı veya dayanıklı olarak bulunan genotiplerin verim ve meyve kaliteleri ticari biber yetiştiriciliğinde kullanılmayacak kadar kalitesiz durumdadır. *P. capsici*'ye dayanıklı olan CM-334 no'lu genotipin meyve kalitesi ve verim değerleri düşük seviyededir.

İlk inokülasyon sonucu çalışmada kullanılan toplam 60 genotipten 7 tanesi (3, 10, 13, 25, 38, 48 ve 57 no'lu genotipler) hayatta kalırken, diğerlerinde hastalık belirtileri çok belirgin şekilde gözlemlenmiş ve kısa süre içinde ölmüşlerdir. Black ve ark. (1991), Ortega ve ark. (1995) ve Pochard ve ark. (1983) tarafından, özellikle *P. capsici*'ye karşı dayanıklı çeşit geliştirilememesinin handikaplarından biri olarak, erken uyarıların gözardı edilmesinden kaynaklandığı, bitkilerde dayanıklılığın olup olmadığının ancak bitkinin patojenle (*P. capsici*) karşılaşmasıyla (bulaşmasıyla) ortaya çıkabildiği belirtilmiştir. Bununla birlikte, Kim ve ark. (1989) *P. capsici*'ye dayanıklılığın bitkinin 12 yapraklı olduğu dönemlerde arttığını bildirmişlerdir. İkinci inokülasyon sonucu ise 10 no'lu genotip hariç diğer genotiplerin tamamı ölmüştür. Elde edilen veriler incelendiğinde ilk inokülasyon sonucu hayatta kalan genotiplerin aynı zamanda en yüksek peroksidaz enzim aktivitesine sahip olan genotipler oldukları görülmektedir (Tablo 2). Bulgularımız, Ortega ve ark. (1991)'nin bulgularıyla

örtüşmektedir. Fidelerin içinde bulunduğu gelişme dönemi, inokülasyonda kullanılan izolat, inokülasyonda kullanılan zoospor konsantrasyonu ve kullanılan inokülasyon metodu genotiplerin dayanıklılık profillerinin belirlenmesinde etkili olmaktadır. Lee ve ark. (2001)'nin belirttiği gibi, inokülasyonda kullanılan izolat konsantrasyonu arttıkça virülant etki artmıştır. Diğer taraftan genotiplerin içinde gelişme dönemi, dayanıklılığın belirlenmesinde önem arz etmektedir. Gelişme döneminin başında patojenden çok fazla etkilenmezken, fideler 4 gerçek yaprağa ulaştığında ilk belirtiler gözlemlenebildiği tespitlerimiz, Bosland ve Lindsey (1991)'in sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Bitkinin farklı kısımları için dayanıklılığı sağlayan genetik mekanizmalar birbirinden farklı olduğu (Sy ve ark., 2005) için çalışmada kullanılan materyalin alındığı kısım da önem arz etmektedir.

#### 4. Sonuçlar

Gen havuzumuzdan temin edilen genotiplerin çok az bir kısmı hastalığın başlangıcında hastalığı kontrol edebilecek düzeyde kısmi dayanıklı olduğunu göstermiş, büyük çoğunluğu ilk inokülasyonda ölmüştür. Her iki inokülasyonda da dayanıklılık gösteren CM 334 no'lu genotip, her iki inokülasyon sonucunda hiçbir hastalık belirtisi göstermezken, kısmi dayanıklılık gösteren P1, 13 (Urfa), 25 (UKST), 38 (Uİ), 48 (UKDT), 57 (ANKSB) genotiplerin yapraklarında ilk inokülasyonda hafif belirtiler belirlenmesine rağmen, bu genotiplerde yeni sürgün oluşumu tespit edilmiştir. Ancak bu genotipler de ikinci inokülasyonda hastalık belirtileri inokülasyonun ilk haftasından itibaren yüksek oranda ortaya çıkmış ve yaklaşık olarak 2 haftada ölümler gözlemlenmiştir. İnokülasyondan sonraki ilk 7 gün ıslahçılar için önemlidir. Çalışma sonuçlarımıza göre, inokülasyonun ilk haftasında dirençlilik göstermeye başlayan kısmi dayanıklı genotiplerimizin umutvar olduğunu (ilk iki haftalık sürede ölmemiş olmaları ve ikinci inokülasyondan sonra hastalıktan dolayı ölmeleri) ve bu genotiplerin ıslah materyali olarak değerlendirilebilmesinin faydalı olabileceği düşünülmektedir.

#### Teşekkür

Bu çalışma; Siirt Üniversitesi (SİÜ), Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinatörlüğü tarafından SİÜFEB-38 no'lu proje ile desteklenmiştir.

#### Kaynaklar

Anonim, 2016. Bitkisel Üretim İstatistikleri. Türkiye İstatistik Kurumu, (<http://www.tuik.gov.tr/>)

- PreTablo.do?alt\_id=1001), (Erişim tarihi: 05.12.2017).
- Black, L.L., Green, S.K., Hartman, G.L., Poulos, J.M., 1991. Pepper Diseases: A Field Guide. Asian Vegetable Research and Development Center, AVRDC Publication, pp. 54-56.
- Bosland, P., Lindsey, D., 1991. A seedling screen for Phytophthora root rot of pepper, *Capsicum annuum*. *Plant Disease*, 75(10): 1048-1050.
- Caverzan, A., Casassola, A., Brammer, S.P., 2016. Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plant tolerance to stress. (Eds: A.K. Shanker and C. Shanker), *Abiotic and Biotic Stress in Plants-Recent Advances and Future Perspectives*, Intech Book, pp. 463-480.
- Desikan, R., Neill, S.J., Hancock, J.T., 2000. Hydrogen peroxide-induced gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(5): 773-778.
- Deverall, B.J., 1977. Mediation of Host-Parasite Specificity. Defense Mechanism of Plants, Cambridge University Press, pp. 75-110.
- Flor, H.H., 1971. Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review of Phytopathology*, 9(1): 275-296.
- Gayoso, C., Pomar, F., Merino, F., Bernal, M., 2004. Oxidative metabolism and phenolic compounds in *Capsicum annuum* L. var. *annuum* infected by *Phytophthora capsici* Leon. *Scientia Horticulturae*, 102(1): 1-13.
- Gechev, T.S., Van Breusegem, F., Stone, J.M., Denev, I., Laloi, C., 2006. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. *Bioessays*, 28(11): 1091-1101.
- Holub, E.B., Beynon, J.L., Crude, I.R., 1994. Phenotypic and genotypic characterization between isolates of *Peronospora parasitica* and accessions of *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 7(2): 223-239.
- Jebara, S., Jebara, M., Liman, F., Aouani, E., 2005. Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean nodules under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 162(8): 929-936.
- Jung, W.J., Jin, Y.L., Kim, K.Y., Park, R.D., Kim, T.H., 2005. Changes in pathogenesis-related proteins in pepper plants with regard to biological control of phytophthora blight with *Paenibacillus illinoisensis*. *BioControl*, 50(1): 165-178.
- Kim, Y.J., Hwang, B.K., Park, K.W., 1989. Expression of age-related resistance in pepper plants infected with *Phytophthora capsici*. *Plant Disease*, 73(9): 745-747.
- Lamour, K.H., Stam, R., Jupe, J., Huitema, E., 2012. The oomycete broad-host-range pathogen *Phytophthora capsici*. *Molecular Plant Pathology*, 13(4): 329-337.
- Lee, B.K., Kim, B.S., Chang, S.W., Hwang, B.K., 2001. Aggressiveness to pumpkin cultivars of isolates of *Phytophthora capsici* from pumpkin and pepper. *Plant Disease*, 85(5): 497-500.
- Leonian, L.H., 1922. Stem and fruit blight of peppers caused by *Phytophthora capsici* sp. nov. *Phytopathology*, 12(9): 401-408.
- Mehdy, M.C., 1994. Active oxygen species in plant defense against pathogens. *Plant Physiology*, 105(2): 467-472.
- Ortega, R.G., Español, C.P., Zueco, J.C., 1991. Genetics of resistance to *Phytophthora capsici* in the pepper line "SCM-334". *Plant Breeding*, 107(1): 50-55.
- Ortega, R.G., Espanol, C.P., Zueco, J.C., 1995. Interactions in the pepper-*Phytophthora capsici* system. *Plant Breeding*, 114(1): 74-77.
- Palloix, A., Daubeze, A.M., Phaly, T., Pochard, E., 1990. Breeding transgressive lines of pepper for resistance to *Phytophthora capsici* in a recurrent selection system. *Euphytica*, 51(2): 141-150.
- Parra, G., Ristaino, J., 1998. Insensitivity to Ridomil Gold (mefenoxam) found among field isolates of *Phytophthora capsici* causing *Phytophthora blight* on bell pepper in North Carolina and New Jersey. *Plant Disease*, 82(6): 711-711.
- Pochard, E., Molot, P.M., Dominguez, G., 1983. Etude de deux nouvelles sources de resistance a *P. capsici* chez le piment: Confirmation de existence trois composantes distinctes dans la resistance. *Agronomie*, 3(4): 333-342.
- Sharma, Y.K., Davis, K.R., 1997. The effects of ozone on antioxidant responses in plants. *Free Radical Biology and Medicine*, 23(3): 480-488.
- Sy, O., Bosland, P.W., Steiner, R., 2005. Inheritance of phytophthora stem blight resistance as compared to phytophthora root rot and phytophthora foliar blight resistance in *Capsicum annuum* L. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130(1): 75-78.
- Şişeciöğlu, M., Gülçin, İ., Çankaya, M., Atasever, A., Şehitoğlu, M.H., Kaya, H.B., Özdemir, H., 2010. Purification and characterization of peroxidase from Turkish black radish (*Raphanus sativus* L.). *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(12): 1187-1196.
- Tyler, B.M., 2001. Genetics and genomics of the oomycete-host interface. *TRENDS in Genetics*, 17(11): 611-614.