



Evaluation of the Effects of Specific Extracts of *Raphanus Sativus* Tuber on Total Protein Content and Peroxidase Activity Against *Botrytis cinerea* in *Vicia Faba*

Nergis Kaya^{1,a,*}, Tayfun Kaya^{2,b}, Soner Yiğit^{3,c}

¹Çanakkale Onsekiz Mart University, Biga Vocational School, Food Processing Department, Çanakkale, Türkiye,

²Çanakkale Onsekiz Mart University, Graduate School of Education, Çanakkale, Türkiye

³Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Agriculture, Çanakkale, Türkiye

*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Research Article</p> <p>Received : 02/06/2022 Accepted : 29/09/2022</p> <p>Keywords: Vicia faba Gray mold Total protein Peroxidase Antioxidan defense system</p>	<p>The antioxidant defense system of the medicinal plant <i>Raphanus sativus</i> L. tuber in terms of total protein content and peroxidase (POX) activity against gray mold disease caused by <i>Botrytis cinerea</i> fungus on <i>Vicia faba</i> L. (bean) leaves was analyzed spectrophotometrically. Stock solutions of distilled water, ethanol and methanol extracts of <i>R. sativus</i> tuber were prepared with dimethyl sulfoxide (DMSO). A spore suspension of 10⁵ spores/mL of <i>B. cinerea</i> was prepared. The leaves of <i>V. faba</i> were treated with distilled water (negative control), only DMSO, only <i>B. cinerea</i> (positive control), only extract treatment (distilled water, ethanol and methanol extract) and <i>B. cinerea</i> applications after extract treatments. The leaves were extracted in accordance with the methods to be analyzed. Analyzes of the supernatants obtained from the extracts were performed spectrophotometrically. As a result of the research, it was determined that the total protein content increased in the extract: fungus treatment groups compared to the group treated with distilled water (negative control). However, it was determined that it decreased in generally compared to the group that was only treated with fungus (positive control). POX activity was found to be increased compared to the negative control group. Total protein content and POX activity increased in only the extract groups compared to the negative control group. The highest POX activity was obtained from the treatment of 10 mg/mL distilled water: fungus. In this respect, it can be stated that the best antioxidant activity among the extract: fungus treated groups is 10 mg/mL distilled water: fungus treatment. From this point of view, it can be stated that <i>R. sativus</i> distilled water, ethanol and methanol extracts give an antioxidant defense response in <i>V. faba</i> leaves.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 10(9): 1680-1687, 2022

Raphanus Sativus Yumrusu Belirli Ekstraktlarının Etkisinin *Vicia Faba* Üzerinde *Botrytis Cinerea*'ya Karşı Toplam Protein İçeriği ve Peroksidaz Aktivitesinin Değerlendirilmesi

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p>Araştırma Makalesi</p> <p>Geliş : 02/06/2022 Kabul : 29/09/2022</p> <p>Anahtar Kelimeler: Vicia faba Kurşuni küf Toplam protein Peroksidaz Antioksidan savunma sistemi</p>	<p>Tıbbi bitki <i>Raphanus sativus</i> L. yumru kökünün su, etanol ve metanol ekstraktlarının <i>Vicia faba</i> L. (bakla) yapraklarında <i>Botrytis cinerea</i> fungusunun oluşturacağı kurşuni küf hastalığına karşı toplam protein içeriği ve peroksidaz (POX) aktivitesi bakımından bitkide meydana getirebileceği antioksidan savunma sistemi spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir. <i>R. sativus</i> yumru kökünün su, etanol ve metanol ekstraktlarının stok solüsyonları dimetil sülfoksit (DMSO) ile hazırlanmıştır. 10⁵ spor/mL <i>B. cinerea</i> spor süspansiyonu hazırlanmıştır. <i>V. faba</i> yapraklarına sadece distile su (negatif kontrol), sadece DMSO, sadece <i>B. cinerea</i> (pozitif kontrol), sadece ekstrakt uygulamaları (distile su, etanol ve metanol ekstraktı) ve ekstrakt uygulamaları sonrasında <i>B. cinerea</i> uygulaması gerçekleştirilmiştir. Yapraklar, analizi yapılacak olan yöntemlere uygun olarak ekstrakte edilmiştir. Ekstraktlardan elde edilen süpernatantlardan analizler spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonucunda, toplam protein içeriğinin distile su uygulanan (negatif kontrol) gruba kıyasla ekstrakt: fungus uygulama gruplarında artış gösterdiği saptanmıştır. Fakat sadece fungus uygulanan (pozitif kontrol) gruba kıyasla genel olarak azaldığı belirlenmiştir. POX aktivitesinin ise, negatif kontrol grubuna kıyasla artış gösterdiği saptanmıştır. Toplam protein içeriği ve POX aktivitesi, sadece ekstrakt uygulanan gruplarda negatif kontrol grubuna göre artış göstermiştir. En yüksek POX aktivitesi, 10 mg/mL distile su: fungus uygulamasından elde edilmiştir. Bu açıdan, ekstrakt: fungus uygulanan gruplar arasında en iyi antioksidan aktivitenin 10 mg/mL distile su: fungus uygulaması olduğu belirtilebilmektedir. Bu açıdan bakıldığında, <i>R. sativus</i> saf su, etanol ve metanol ekstraktlarının <i>V. faba</i> yapraklarında antioksidan savunma yanıtı verdiği belirtilebilmektedir.</p>

^a nergisskkaya@gmail.com
^c soneryigit@comu.edu.tr

^b <https://orcid.org/0000-0002-4206-1149> | kayatayfun@outlook.com
^c <https://orcid.org/0000-0002-2899-2246>

^b <https://orcid.org/0000-0002-6808-3338>



Giriş

Tarımsal alanlarda sentetik bitki aktivatörleri ve elisitörler kullanılarak bitkilerin çeşitli biyotik stres faktörlerine karşı direnci arttırılmaya çalışılmaktadır. Ayrıca, her ne kadar bu sentetik bitki aktivatörü ve elisitörlerin zararı olmadığı belirtilse bile, bu tip sentetik kimyasalların geniş çapta kullanılması yerine günümüzde bu sentetik kimyasalların yerine, bitkilerde doğal olarak üretilen ikincil bileşikler bulunmaktadır. Bu bileşiklerin biyolojik parçalanmaları kolay olduğu için tüketiciler ve çevre için daha sağlıklıdır. Son yıllarda bitki fizyologları bitkilerdeki bu doğal sekonder bileşikler çözen uygun çözücüler içinde elde edip uygulama yollarını araştırmaktadır. Bitkilerde doğal olarak üretilen bu bileşiklerin, biyolojik kontrol amacıyla özellikle organik tarım açısından sentetik bitki aktivatörü, elisitörler yerine kullanılabilmesi ileri sürülmektedir (Weston ve Duke, 2003).

Tarım sektöründe ürün kaybına neden olan en önemli biyotik stres faktörlerinden biri patojenlerdir. Özellikle funguslar hızlı üredikleri, hızlı yayıldıkları ve birçok olumsuz koşula karşı dirençli oldukları için mücadeleleri zor biyotik stres faktörleridir (Patykowski ve Urbanek, 2003). *Botrytis cinerea* (kurşuni küf), dünya çapında 200'den fazla ürün türünde ciddi kayıplara neden olmaktadır (Adongo ve ark., 2012). *B. cinerea* fungusunun konukçuları arasında bakla (*Vicia faba*) bulunmaktadır (Harper ve ark., 1981). *Vicia faba* üzerinde kurşuni küf hastalığına neden olmaktadır (Rahman ve ark., 2002). Bu hastalık, önemli derecede ürün kayıplarına neden olabilmektedir (Gaunt, 1983).

Bitkilerden elde edilen doğal maddelerin farklı patojenlere etkili olduğu tespit edilmiştir. Kekik yağı, asmada *B. cinerea*'ya karşı karşı iyi bir fungusit kadar etkili olmaktadır (Daferera ve ark., 2002). İnsan sağlığı ve beslenmesi açısından önemli bir yere sahip olan turp (*Raphanus sativus* L.) Brassicaceae (Cruciferae) familyasına ait kökleri tüketilen bir sebze türüdür. Turp kökleri, depo kök (yumru kök) olup yedek besin depo etmektedir (Perez Gutierrez ve Perez, 2004). Farklı turp türlerinin enzimatik analizi, turpların antioksidan enzimleri içerdiğini ortaya koymuştur (Choudhary ve ark. 2012). Lugasi ve ark. (2005) turp kökü ekstraktının *in vitro* antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Turp ham ekstraktının antioksidan enzimleri içerdiği belirtilmiştir (Takaya ve ark, 2003). Beevi ve ark (2012), *R. sativus* kökünde en bol bulunan fenolik bileşiğin sinapik asit olduğunu bildirmiştir. Levine ve ark (2008), kök ekstraktlarının yaprak ekstraktlarından çok daha fazla antioksidan kapasiteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Beevi ve ark (2012), bitki ekstraktlarının temel antioksidan aktivitesinin serbest radikal temizleme yeteneği olduğunu belirtmiştir.

Araştırmada, tarımsal alanlarda *V. faba* türünde önemli ürün kayıplarına neden olan *B. cinerea* fungusunun neden olduğu kurşuni küfün etkisini ortadan kaldırabilmek için bitki savunma sistemi elemanlarının aktive edilmesinde çeşitli tıbbi aktivitelerinin yanı sıra antioksidan aktiviteye sahip olan *R. sativus* yumru kökünün belirli ekstraktlarının (saf su, etanol ve metanol ekstraktları) alternatif olabilme potansiyeli araştırılmıştır. Böylece, bitkilerin fitopatojenlere karşı fizyolojik dirençteki değişimlerin araştırılması planlanmıştır. Bu amaçla; negatif kontrol (sadece saf su uygulanan *V. faba*), pozitif kontrol (sadece *B. cinerea*

uygulanan *V. faba*), sadece dimetil sülfoksit (DMSO) ve sadece *R. sativus* yumru kökünün belirli ekstraktlarının uygulandığı bitkilere kıyasla *R. sativus* belirli ekstraktlarının uygulanmasının ardından fungus uygulamaları ile *V. faba* yapraklarında toplam protein içeriği ve peroksidaz aktivitesinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Materyal

Vicia faba (bakla), *Raphanus sativus* (turp) bitkisel materyal olarak kullanılmıştır.

Metod

Vicia Faba Bitkilerinin Yetiştirilmesi

Vicia faba (bakla) fideleri, $24 \pm 2^\circ \text{C}$ 'de, 12 saat ışıklı ve 12 saat karanlık koşullarda yetiştirilmiştir. Tohum ekimleri torf ve perlit içeren saksılara yapılmıştır.

Raphanus sativus Yumru Kökünün Ekstraksiyonu

Ezilen turplar her bir grupta 70 gram olacak şekilde 300'er ml çözücü (distile su, EtOH, MeOH) içinde soxhlet ile ekstrakte edilmiştir. Soxhletten elde edilen materyal beherler içine alınarak 24 saat boyunca 60°C 'de su banyosuna tabi tutulmuştur. Geriye kalan turp ekstraktı analizlere kadar buzdolabında saklanmıştır.

Hazırlanan *R. sativus* saf su, etanol ve metanol ekstraktlarından, 100 mg/ml olarak stok solüsyonlar DMSO (dimetil sülfoksit) ile hazırlanmıştır. Dimetil sülfoksit, organokükürt bileşimidir. Renksiz ve sıvı halde olan bileşik önemli bir polar çözücüdür. Bu nedenle elde edilen ekstraktlar içindeki tıbbi açıdan önemli sekonder metabolitlerin çözünmesi amacıyla, ekstraktlardan stok solüsyon hazırlanmasında literatüre uygun olarak DMSO kullanılmıştır (Özceylan ve Akı, 2020; Ronen ve Galun, 1984; Seelly ve ark, 1972).

Vicia Faba Yapraklarına Uygulamaların Yapılması

V. faba yapraklarına; sadece distile su, sadece DMSO, sadece fungus uygulaması yapılmıştır. Diğer grup *V. faba* yapraklarına, *R. sativus* yumrusu belirli ekstraktları (distile su, etanol ve metanol ekstraktları) ilk kez (1.gün) uygulanmasının ardından 3. gün uygulanmıştır. Ekstraktların uygulanmasından 24 ve 48 saat sonra *V. faba* yapraklarının hasatı gerçekleştirilmiştir. Diğer grup *V. faba* yapraklarına ise, ekstrakt uygulamalarının ardından, potato dextrose agar (PDA) içinde geliştirilen 10^5 spor/ml konsantrasyonundaki spor süspansiyonu *B. cinerea* (kurşuni küf) ile spreyleme yapılarak enfekte edilmiştir. Spor süspansiyonu, uniform spor dağılımını sağlamak için %0.03 tween-20 ilave edilen steril distile suda hazırlanmıştır (Ben-Shalom ve ark, 2003). Uygulamaların tümü spreyleme ile gerçekleştirilmiştir. *V. faba* yapraklarına yapılan tüm uygulamalar 24 ve 48 saat süresince gerçekleştirilmiştir. Bu süreler sonunda *V. faba* yaprakları hasat edilmiştir.

Vicia Faba Yapraklarının Ekstraksiyonu

Genç olan *V. faba* yapraklarından alınmıştır. Hassas terazide 0,5 gram olarak tartılmıştır. Bu yapraklar, analizi yapılacak toplam protein içeriği ve peroksidase (POX) aktivite ölçümü için farklı ekstraksiyon tamponu ile ekstrakte edilmiştir. Her 0,5 gram yaprak örneği, ekstraksiyon tamponu ile porselen havanda havan tokmağı ile ezilmiştir.

Toplam protein analizi için ekstraksiyon, Bradford (1976) metoduna göre yapılmıştır. Bradford (1976)'ya göre; ekstraksiyon tamponu 1mM EDTANa₂ içeren 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH=7,8) olarak hazırlanmıştır. POX (peroksidaz) analizi için ekstraksiyon, Kanner ve Kinsella (1983) metoduna göre yapılmıştır. Kanner ve Kinsella (1983)'ya göre; genç yapraklar ekstraksiyon tamponu olarak soğuk 0.05M sodyum asetat tamponu (pH=6,5) olan porselen havanda ezilmiştir.

Bitki Örneklerinden Spektrofotometrik Analiz Metodları

Toplam Protein İçeriğinin Spektrofotometrik Analizi

Toplam protein miktarının Bradford (1976) metoduna uygun olarak spektrofotometrik analizi amacıyla, süpernatant üzerine reaktif (Protein reagent brillant blue G-250) eklenmiştir. 10-15 dk süreyle karanlık ortama kaldırılmıştır. Bu sürenin sonunda 595nm'de spektrofotometrede ölçümlere başlanmıştır. Alınan süpernant miktarı 100'er µl olduğundan ml'deki protein miktarını bulmak için bulunan protein değeri 10 ile çarpılmıştır (1000 µl=1 ml).

Peroksidaz Aktivitesinin Spektrofotometrik Analizi

Peroksidaz (POX) enzim analizi Kanner ve Kinsella (1983) metoduna uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Belirlenen oranda bitki örneği reaksiyon karışımına alındıktan sonra final hacim sodyum fosfat tamponu ile 1 ml'ye tamamlanır. Pyrogallol, H₂O₂, sodyum fosfat tamponu ve örnek küvete aktarılmıştır. Spektrofotometrede kinetik reaksiyon analizi için, 300 nm'de 120 saniye süreyle ölçüm yapılmıştır. 120 saniyede her 5 saniyede bir alınan absorbans değerleri ve bu

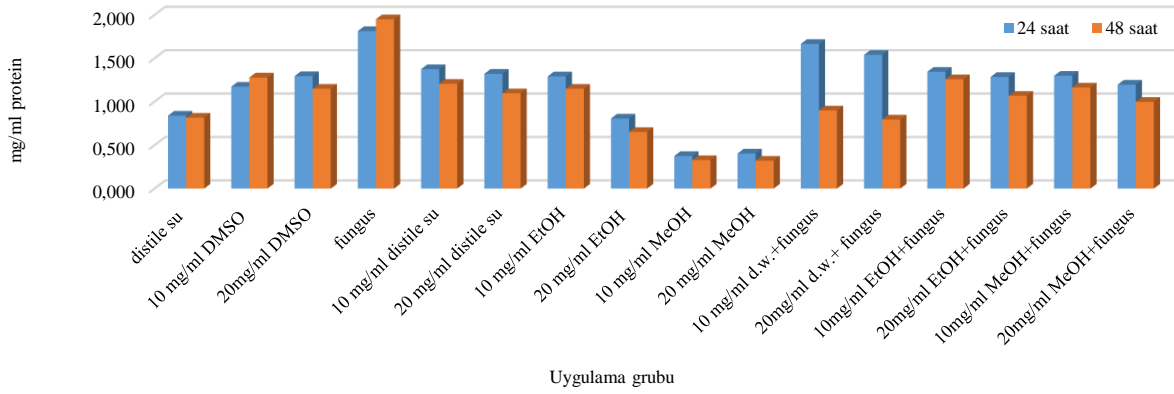
değerlere bağlı olarak bilgisayar tarafından oluşturulan grafik kaydedilmiştir.

İstatistiksel Analiz

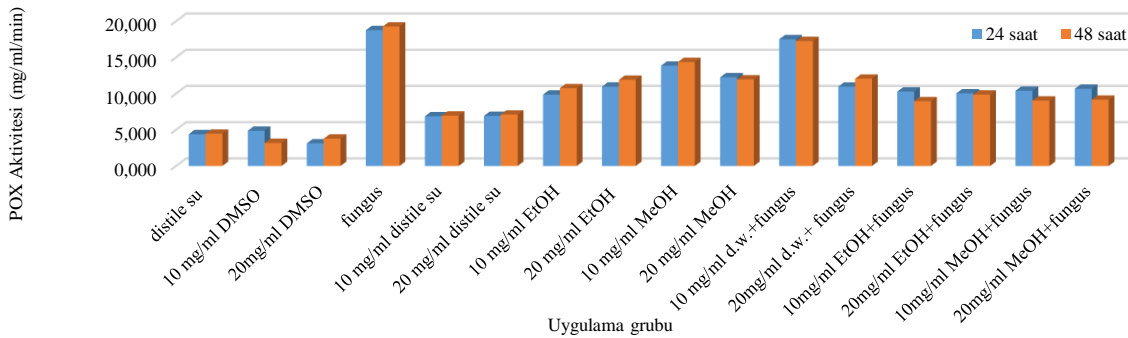
Toplam protein, POX üzerine grup ve zaman'ın birlikte etkisini incelemek amacıyla faktöriyel düzende Varyans Analizi Tekniği'nden yararlanılmıştır. Farklılıkların hangi grup ya da alt gruptan kaynaklandığını belirlemek amacıyla da Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Çalışmada dikkate alınan tüm istatistiksel analizler R-Project programlama dili kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Araştırmanın sonucunda, ekstrakt:fungus uygulama gruplarında toplam protein içeriğinin sadece distile su uygulanan (negatif kontrol) gruba kıyasla artış gösterdiği fakat sadece fungus uygulanan (pozitif kontrol) gruba kıyasla genel olarak azaldığı saptanmıştır. POX aktivitesinin ise, negatif kontrol grubuna kıyasla artış gösterdiği saptanmıştır. Toplam protein içeriği ve POX aktivitesi, sadece ekstrakt uygulanan gruplarda negatif kontrol grubuna göre artış göstermiştir. En yüksek POX aktivitesinin 10 mg/ml distile su:fungus uygulamasından elde edilmiştir. Bu açıdan, ekstrakt:fungus uygulanan gruplar arasında en iyi antioksidan aktivitenin 10 mg/ml distile su:fungus uygulaması olduğu belirtilebilmektedir. Toplam protein içeriği ve peroksidaz aktivitesi sırasıyla Şekil 1 ve Şekil 2'de gösterilmiştir. Toplam protein içeriği ve peroksidaz aktivitesi bakımından grup ve zamana göre Tukey Testi sonuçları ise sırasıyla Çizelge 1 ve Çizelge 2'de verilmiştir.



Şekil 1. Toplam protein içeriği
Figure 1. Total protein content



Şekil 2. Peroksidaz aktivitesi
Figure 2. Peroxidase activity

Çizelge 1. Toplam Protein içeriği (mg/ml protein) bakımından grup ve zamana göre Tukey Testi sonuçları
Table 1. Tukey Test results by group and time in terms of Total Protein content (mg/ml protein)

Uygulama grubu	24 saat		48 saat		Toplam	
	Ortalama	Standart Hata	Ortalama	Standart Hata	Ortalama	Standart Hata
d.w. (NC)	0,840 Fa	0,005	0,817 Ga	0,002	0,829	0,007
10 mg/ml DMSO	1,174 Eb	0,004	1,280 Ba	0,082	1,227	0,045
20mg/ml DMSO	1,296 CDEa	0,007	1,150 BCDB	0,018	1,223	0,043
Fungus (PC)	1,814 Ab	0,004	1,950 Aa	0,002	1,882	0,039
10 mg/ml dw	1,375 Ca	0,004	1,207 BCb	0,013	1,291	0,049
20 mg/ml dw	1,322 CDa	0,002	1,098 CDEb	0,007	1,210	0,065
10 mg/ml EtOH	1,293 CDEa	0,002	1,150 BCDB	0,002	1,221	0,041
20 mg/ml EtOH	0,807 Fa	0,002	0,652 Hb	0,007	0,730	0,045
10 mg/ml MeOH	0,375 Ga	0,003	0,328 Ia	0,008	0,352	0,014
20 mg/ml MeOH	0,404 Ga	0,003	0,322 Ib	0,007	0,363	0,024
10 mg/ml d.w.+fungus	1,666 Ba	0,004	0,900 FGb	0,014	1,283	0,221
20mg/ml d.w.+ fungus	1,540 Ba	0,002	0,795 Gb	0,005	1,168	0,215
10mg/ml EtOH+fungus	1,346 Ca	0,003	1,260 Bb	0,009	1,302	0,025
20mg/ml EtOH+fungus	1,286 CDEa	0,003	1,068 DEb	0,024	1,177	0,064
10mg/ml MeOH+fungus	1,299 CDEa	0,014	1,164 BCDB	0,012	1,231	0,040
20mg/ml MeOH+fungus	1,197 DEa	0,005	0,999 EFb	0,116	1,098	0,074
Toplam	1,189	0,070	1,009	0,068	1,099	0,050

Aynı Zaman'da farklı büyük harflerle gösterilen Grup ortalamaları arasındaki farklar önemlidir ($P \leq 0,05$); Aynı Grup'ta farklı küçük harflerle gösterilen Zaman ortalamaları arasındaki fark önemlidir ($P \leq 0,05$); Kısaltmalar: d.w: distile su, DMSO: Dimetil sülfoksit, EtOH:Etanol, MeOH:Metanol

Çizelge 2. Peroksidaz enzimi (U/mg protein) bakımından grup ve zamana göre Tukey Testi sonuçları
Table 2. Tukey Test results by group and time in terms of peroxidase enzyme (U/mg protein)

Uygulama grubu	24 saat		48 saat		Toplam	
	Ortalama	Standart Hata	Ortalama	Standart Hata	Ortalama	Standart Hata
d.w. (NC)	4,388 Ka	0,010	0,455 Kb	0,023	2,422	1,135
10 mg/ml DMSO	4,864 Ja	0,013	3,182 Jb	0,007	4,023	0,486
20mg/ml DMSO	3,122 Lb	0,012	3,772 Ia	0,021	3,447	0,188
Fungus (PC)	18,750 Ab	0,038	19,250 Aa	0,020	19,000	0,145
10 mg/ml dw	6,866 Ia	0,006	6,956 Ha	0,022	6,911	0,028
20 mg/ml dw	6,916 Ib	0,014	7,098 Ha	0,024	7,007	0,054
10 mg/ml EtOH	9,850 Hb	0,019	10,737 Ea	0,022	10,293	0,256
20 mg/ml EtOH	10,959 Eb	0,027	11,894 Da	0,021	11,426	0,270
10 mg/ml MeOH	13,850 Cb	0,016	14,350 Ca	0,029	14,100	0,145
20 mg/ml MeOH	12,250 Da	0,145	11,950 Db	0,019	12,100	0,105
10 mg/ml d.w.+fungus	17,500 Ba	0,152	17,250 Bb	0,037	17,375	0,096
20mg/ml d.w.+ fungus	10,952 Eb	0,016	12,050 Da	0,026	11,501	0,317
10mg/ml EtOH+fungus	10,274 Ga	0,023	8,942 Gb	0,025	9,608	0,385
20mg/ml EtOH+fungus	10,028 Ha	0,013	9,849 Fb	0,012	9,939	0,052
10mg/ml MeOH+fungus	10,388 Ga	0,020	9,028 Gb	0,016	9,708	0,393
20mg/ml MeOH+fungus	10,668 Fa	0,026	9,152 Gb	0,007	9,910	0,438
Toplam	10,101	0,751	9,745	0,858	9,923	0,566

Aynı Zaman'da farklı büyük harflerle gösterilen Grup ortalamaları arasındaki farklar önemlidir ($P \leq 0,05$); Aynı Grup'ta farklı küçük harflerle gösterilen Zaman ortalamaları arasındaki fark önemlidir ($P \leq 0,05$); Kısaltmalar: d.w: distile su, DMSO: Dimetil sülfoksit, EtOH:Etanol, MeOH:Metanol

Mahmoud ve ark (2004), sağlıklı bakla bitkisine kıyasla tek başına *Botrytis fabae* ile enfekte bakla bitkisinde POX aktivitesinin artış gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, en yüksek POX aktivitesinin sadece enfekte olan bakla bitkisinde olduğunu belirtmiştir. Sağlıklı kontrol bakla bitkisi ile karşılaştırıldığında *Eucalyptus citriodora* yaprak ekstraktı ve *Ipomoea carnea* yaprak ekstraktı ile muamele edilen enfekte bakla bitkisinde daha fazla POX aktivitesi olduğu saptanmıştır.

Tek başına fungus uygulaması, kontrole kıyasla POX aktivitesinde önemli bir artışa neden olmuştur. Araştırmamızdan elde edilen bu sonuç Karakuş ve ark

(2021) sonuçları ile uyumludur. Tek başına ekstrakt uygulamalarının ise, POX aktivitesini fungus uygulamasına kıyasla azalttığı saptanmıştır. Karakuş ve ark (2021), *B. cinerea* uygulanmasından 1 gün sonra esansiyel yağın uygulanması ile diğer uygulama grupları ile kıyaslandığında antioksidan enzim aktivitesini azaltmada daha etkili olduğunu saptamıştır. Bu durumun *Vitis vinifera* üzerinde *B. cinerea*'nın gelişimini engellemek için esansiyel yağ uygulanmasının bir sonucu olabileceği belirtilmiştir. Kuzniak ve Sklodowska (2001 ve 2005), *B. cinerea* ile enfekte domates yapraklarında daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, *B. cinerea*

enfeksiyonunu önlemek için domates yapraklarına rutin türevi olan o-hydroxyethyl uygulanmasının *B. cinerea* gelişimini engellediğini ve antioksidan enzim aktivitelerini azalttığı belirtilmiştir (Malolepsza ve Urbanek, 2000). Araştırmamız için ise, *V. faba* üzerinde *B. cinerea* gelişimini engellemek için POX aktivitesinin sadece fungus uygulanan gruba nazaran azalan aktivitesinin saptandığı belirtilebilmektedir.

El-Hendawy ve ark (2010) buğday, şeker pancarı, bakla bitkilerinin salisilik asit ile muamelesinden sonra peroksidaz ve polifenol oksidaz aktivitelerinde önemli bir artış olduğunu saptamıştır. Artan peroksidaz aktivitesinin birçok patojene karşı bitkilerde sistemik direnci uyardığı (Baysal ve ark, 2005) ve muz *Fusarium solgunluğuna* karşı dirence katkıda bulunabilecek birçok fizyolojik fonksiyonlarla bağlantılı olduğu belirtilmiştir (Thakker ve ark, 2013).

Araştırmamızda, tek başına fungus uygulamalarının POX aktivitesini negatif kontrol grubuna kıyasla arttırdığı saptanmıştır. Karakuş ve ark, (2021), oksidatif stresin, fungus uygulamasının neden olduğu oksidatif hasarı azaltmak için antioksidan enzimlerin aktivitesini uyardığını belirtmiştir.

Farag Hanaa ve ark (2011), *Azadirachta indica* (neem) ve *Salix babylonica* (willow) sulu ekstraktları ile muamelelenin *Fusarium oxysporum* ile enfekte ve enfekte olmayan domates kök ve filizlerinde incelemiştir. *Fusarium oxysporum* ile *A. indica* ve *S. babylonica* uygulamasından sonra, kontrol grubundaki enfekte olmayan fidelere kıyasla antioksidan savunma enzimlerinin (POX, CAT, SOD) yüksek aktivitesini uyardığı saptanmıştır. Kontrol grubu enfekte domates fidelerinde gözlenen yüksek POX, CAT ve SOD aktiviteleri belirlenmiştir. Enfeksiyondan sonra *A. indica* ve *S. babylonica* sulu ekstraktları ile muamele edilen fidelerde POX, CAT ve SOD aktivitelerinin kontroldekilere kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. *Fusarium oxysporum* ile domates fidelerinin enfeksiyonu sonucunda, antioksidan enzim aktivitelerinin (POX, CAT, SOD) arttığı belirtilmiştir.

Gholamnezhad (2019), *Azadirachta indica*, rezene, lavanta, kekik, adaçayı gibi bitki ekstraktları ile muamele edilen *B. cinerea* ile enfekte elma meyvesinde POX aktivitesinin tek başına *B. cinerea* ile enfekte meyveleri ile kıyaslandığında *Azadirachta indica* ekstraktı dışında çok önemli bir farklılık saptamamıştır. Araştırmanın sonucuna göre, bu bitki ekstraktlarının kimyasal fungusitlere alternatif bir seçenek olarak hastalığı kontrol etmek için kullanılabilirliği belirtilmiştir. Patojen varlığında bitki ekstraktları ile muamele edilen tüm elmalarındaki POX aktivitesinin, başlangıç seviyesine göre bir artış gösterdiği ve patojen muamelesinden 6 gün sonra maksimum seviyeye ulaştığı belirlenmiştir. Patojen olmadığında kontrol grubu elmalarında POX aktivitesinde herhangi bir değişiklik olmadığı saptanmıştır. *Azadirachta indica* ekstraktı dışındaki diğer ekstrakt uygulamalarının (lavanta, *Mentha pulegium*) tek başına patojen ile enfekte edilen elmalar ile benzer POX aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. Araştırmamızın sonucunda, en yüksek POX aktivitesi tek başına fungus uygulaması ile saptanmıştır. Ardından 10mg/ml su ekstraktı: fungus uygulamasından elde edilmiştir. Bu yönüyle incelendiğinde lavanta ekstraktı: fungus, *M. pulegium* ekstraktı: fungus

uygulamaları ile tek başına fungus uygulaması bakımından Gholamnezhad (2019) araştırma sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Kuzniak ve Sklodowska (2001 ve 2005), *B. cinerea* ile enfekte domates bitkilerinin yapraklarında antioksidan enzim aktivitelerinin daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmamızın sonucunda, Kuzniak ve Sklodowska (2001 ve 2005) sonuçları ile uyumlu olarak *B. cinerea* ile enfekte bakla yapraklarında negatif kontrole kıyasla daha yüksek antioksidan enzim aktiviteleri saptanmıştır.

Hussein ve ark (2018), *Citrullus colocynthis* sulu ekstraktı uygulanan soğan bitkilerinde, sağlıklı kontrol ve *Botrytis allii* ile enfekte kontrol soğan bitkilerine nazaran antioksidan enzimlerin içeriğinin arttığını tespit etmiştir. 0.-6. gün arasında enfekte kontrol soğan bitkisine kıyasla daha fazla POX aktivitesi saptanırken, 8. günde ekstrakt uygulanan grup ile kıyaslandığında enfekte kontrol grubunda daha fazla POX aktivitesi saptanmıştır. Araştırmamızda da, ekstrakt: fungusun ikisinin birlikte uygulandığı gruplara kıyasla tek başına fungus ile enfekte pozitif kontrol grubunda daha fazla POX aktivitesi görülmüştür.

Kamara ve ark (2016), *B. cinerea* ile enfekte edilen farklı biber kültürlerinin savunma direncini uyarmak amacıyla organik bileşikler olarak salisilik asit (2-hidroksibenzoik asit), absisik asit, metil jasmonat ve organik olmayan bileşik olarak ise kalsiyum klorit ile muamele etmiştir. Belirtilen savunma sistemini uyarıcı bileşiklerin, biber kültürlerinde savunma sistemi enzimlerinin (peroksidaz, polifenol oksidaz vb) aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir. Böylece, bu tür bileşiklerin biberde kurşuni küf oluşumuna neden olan *B. cinerea*'yı kontrol etmek için biber direncini artırma potansiyelini açıklayabileceği belirtilmiştir. En yüksek artışın, peroksidaz için *B. cinerea* ile inokülasyondan nispeten 72 saat sonra meydana geldiği belirlenmiştir. Salisilik asidin, peroksidaz aktivitesini indüklemeye en etkili olduğu saptanmıştır.

Kitosanın domates ve salatalıkta (Ben ve ark, 2003), gül çalılarında (Wojdyla 2004) savunma sistemini uyardığı saptanmıştır. Kim ve Chen (2005), fesleğende kitosan ve metil jasmonatın, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)'in antioksidan aktivitesini sırasıyla 3.5 ve 2.3 kat arttırdığını bildirmiştir. Ortmann ve Moerschbacher (2006), kitin ya da kitosan içeren besin ortamında buğday hücrelerinin süspansiyon kültüründe ön inkübasyonunun hücre dışı peroksidaz aktivitesinde güçlü bir artışa neden olduğunu saptamıştır.

Ma ve ark (2014), *Triticum aestivum* (buğday) yapraklarının oligokitosan muamelesi ile POD dahil diğer belirli antioksidan enzim aktivitelerini uyardığını belirtmiştir.

Yapraklara uygulanan kitosanın, domates ile patatesten geç yanıklık ve salatalıktaki külleme gibi çeşitli bitki hastalık sistemlerinde hastalığa karşı direnci uyardığı tespit edilmiştir (Tuterev ve ark, 1996).

Sadece *B. cinerea* ile enfekte edilen domates bitkisine (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. —Perkozl) uygulamadan sonra günlere paralel olarak genellikle POX aktivitesinde artış tespit edilmiştir. Katalaz aktivitesinde ise, POX aktivitesinde kontrol grubuna göre azalma olduğu ortaya konmuştur (Malolepsza ve Rozalska 2005).

Malolepsza ve Rozalska (2005), *B. cinerea* uygulanmadan önce domates bitkilerine o-hidroksietilrutin ön muamelesi sonrasında fungus ile inokülasyondan 24 ve 48 saat sonra sadece fungus uygulanan gruba nazaran o-hidroksietilrutin: fungus uygulanan grupta antioksidan enzim aktivitesinin azaldığı belirlenmiştir.

Kuzniak ve Sklodowska (2001), domates yapraklarının *B. cinerea* ile enfeksiyonu sonucunda APX aktivitesinde artış olduğunu ortaya koymuştur. APX aktivitesinin inokülasyondan 1, 3, 4, 5 gün sonra arttığı belirlenmiştir.

Derbalah ve ark (2013), etkili mikroorganizmalar ve nanosilverin, baklada çikolata lekeli hastalığını kontrol etmek için fungusitlere alternatif olarak umut verici olduğunu ileri sürmüştür.

Ben-Shalom ve ark. (2003), salatalıkta *B. cinerea* inokülasyonundan 4 ya da 24 saat önce kitosan spreylemesinin, hastalık gelişimini sırasıyla %85'e ve %87'ye kadar azalttığı ortaya konmuştur. Çalışmanın sonucunda, kurşuni küfün kontrolünde kitosan bileşiğinin antifungal aktivitesinin önemli bir faktör olduğu sonucuna varılmıştır.

El-Komy (2014), *B. cinerea* ile enfekte *V. faba* bitkisinde antioksidan savunma sistemi enzimlerinin kontrol grubuna kıyasla arttığını saptamıştır. Araştırmamızda da bununla uyumlu olarak, POX aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla tek başına *B. cinerea* uygulaması ile artış gösterdiği saptanmıştır.

Mekawi ve ark (2019), iki organik asiti (salisilik ve sitrik asit) *B. cinerea* ile enfekte olan *C. annuum* türüne spreylemeyle uyguladığında peroksidaz ve polifenoloksidaz aktivitelerinin arttığı, salisilik ve sitrik asitin enfekte olan biberde savunma sistemini uyardığını saptamıştır.

Mitlerass ve ark (2006), peroksidaz aktivitesinin artmasının, hastalık direncinde rol oynayan fenolik bileşiklerin birikmesi yoluyla birçok hastalık tarafından enfeksiyona karşı direncin artmasıyla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur.

Hegazi ve El-Kot (2010), *Zinnia elegans* bitkilerine karanfil yağı püskürtülmesi sonucunda peroksidaz (POX) ve polifenoloksidaz (PPO) aktivitelerinin arttığını saptamıştır.

Hassan ve ark (2007), *B. fabae* ya da *B. cinerea* funguslarının neden olduğu çikolata lekeli hastalığına karşı belirli kimyasallar kullanıldığında hastalığın şiddetinde önemli bir azalmanın olduğunu gözlemiştir. Çikolata lekeli hastalığına karşı baklada sitrik asit benzoik asit ve salisilik asidin; uygulanan diğer kimyasal uyarıcılar (okzalik asit ve ribavirin) arasında en üstün pozitif direnç etkisini gösterdiği belirtilmiştir. Sitrik asit ve benzoik asit uygulanan baklada, en yüksek peroksidaz aktivitesinin gözlemlendiğini belirtmiştir.

Sedghi ve ark (2013), hasat öncesi ayçiçeğine salisilik asit püskürtülmesinin enzim aktivitesini (peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz) arttırdığını bildirmiştir.

Vergun ve Rakhmetov (2018), *R. sativus* L. var. oleiformis Pers. türünün sulu ekstraktının antioksidan aktivite gösterdiğini saptamıştır. Brassicaceae familyası bitkilerinin antioksidanların, askorbik asit ve karoten gibi vitaminlerin önemli bir kaynağı olduğu belirtilmiştir. Riaz ve ark (2010) ve Iqbal ve Javaid (2012), Brassicaceous bitki türlerinin metanolik ekstraktlarının, *Sclerotium rolfsii* ve *Fusarium oxysporum* f. sp. gladioli patojenlerini kontrol

etmek için kullandığı ve bu çalışmalardan umut verici sonuçlar elde edildiğini belirtmiştir. Bu açıdan bakıldığında, araştırmamızda *R. sativus* belirli ekstraktlarının *V. faba* yapraklarına fungus inokülasyonundan önce uygulanmasının antioksidan savunma sistemini uyarmasını açıklayabilmektedir.

Sonuç

Günümüzde bitki hastalıkları ile mücadelede yoğun miktarda sentetik bitki aktivatörü ve elisitör kullanılmaktadır. Araştırmada, bu kimyasalların yerine daha ekolojik olabilecek tıbbi bitki ekstraktlarının bitki savunma sistemi uyarıcısı olarak kullanılabilirliğinin araştırılması hedeflenmiştir. Araştırmanın sonucunda *R. sativus* su, etanol ve metanol ekstraktlarının baklada *B. cinerea* enfeksiyonuna karşı antioksidan savunma sistemini uyarıcı etkisinin bulunduğu belirtilebilir. Belirtilen *R. sativus* ekstraktlarının baklada bitki direncini artırma potansiyeli bulunmaktadır. Bu şekilde baklada *B. cinerea* ile enfeksiyona karşı, *R. sativus* saf su, etanol ve metanol ekstraktları ile bakla savunma sisteminin uyarımı ile kurşuni küf hastalığına karşı bitkinin direncinin artırılması ve tarımsal alanlarda kullanılması olası olan bitki aktivatörleri, fungusit gibi kimyasalların kullanımını sınırlandırılabilirliği düşünülmektedir. Araştırmanın sonuçlarına dayanarak, tarımda zararlı kimyasalların kullanımını azaltmak ve gelecekte halk sağlığını korumak için bu tür biyo-ürünlerin Botrytis hastalığının kontrolü amacıyla baklada antioksidan savunma sisteminin uyarılmasında daha geniş çapta uygulanması tavsiye edilmektedir.

Teşekkür

Bu araştırma makalesi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenen FBA-2020-3165 numaralı projeden üretilmiştir.

Kaynaklar

- Adongo JO, Alice WN, Omolo JO, Cheplogoi PK, Otake DO. 2012. In Vitro Inhibition of *Botrytis Cinerea*-Causative Agent for Grey Mold by Crude Extracts of Basidiomycetes Fungi. Science Journal of Biotechnology, 2012: 1-3.
- Baysal Ö, Gürsoy YZ, Örnek H, Duru A. 2005. Induction of oxidants in tomato leaves treated with DL-β-Amino butyric acid (BABA) and infected with *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. European Journal of Plant Pathology, 112(4): 361-369.
- Beauchamp C, Fridovich I. 1971. Superoxide Dismutase: Improved Assay and Applicable to Acrylamid Gels. Anal. Biochem, 44: 276-287.
- Beevi SS, Mangamoori LN, Gowda BB. 2012. Polyphenolics profile and antioxidant properties of *Raphanus sativus* L. Natural Product Research, 26(6): 557-563.
- Ben-Shalom N, Ardia R, Pinto R, Akib C, Fallik E. 2003. Controlling gray mould caused by *Botrytis cinerea* in cucumber plants by means of chitosan. Crop Protection, 22 (2): 285-290.
- Bergmeyer N. 1970. Methoden Der Enzymatischen Analyse. Akademie Verlag, DOI: <https://doi.org/10.1002/bange.1971083222203>.

- Bradford MM. 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Caglar M. 2017. Bitki Aktivatörlerinin *Lavandula Angustifolia* Mill. Bitkisinin Toplam Protein Miktarı Ve Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, Türkiye.
- Choudhary SP, Kanwar M, Bhardwaj R, Yu JQ, Tran LS. 2012. Chromium Stress Mitigation By Polyamine-Brassinosteroid Application Involves Phytohormonal and Physiological Strategies In *Raphanus Sativus* L. *Plos One*, DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033210>.
- Daferera DJ, Basil NZ, Polissiou MG. 2002. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.* and *Clavibacter michiganensis* sub sp. *Michiganensis*, *Crop Protection*, (22): 39-44.
- Derbalah AS, El-Kot GA, Hafez YM, Omar AF. 2013. Non-traditional Methods to Control Chocolate Spot of Faba bean Caused by *Botrytis fabae* Sard under Greenhouse Conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 23(1): 137-144.
- El-Hendawy S, Shaban W, Sakagami JI. 2010. Does treating faba bean seeds with chemical inducers simultaneously increase chocolate spot disease resistance and yield under field conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 34(6): 475-485.
- El-Komy MH. (2014). Comparative analysis of defense responses in chocolate spot-resistant and-susceptible faba bean (*Vicia faba*) cultivars following infection by the necrotrophic fungus *Botrytis fabae*. *The plant pathology journal*, 30(4): 355.
- Farag Hanaa RM, Abdou ZA, Salama DA, Ibrahim MAR, Srour HAM. 2011. Effect of neem and willow aqueous extracts on fusarium wilt disease in tomato seedlings: Induction of antioxidant defensive enzymes. *Annals of Agricultural Sciences*, 56 (1): 1-7.
- Foyer CH, Halliwell B. 1976. Presence of Glutathione and Glutathione Reductase in Chloroplasts: A Proposed Role in Ascorbic Acid Metabolism. *Planta*, 133:21-25.
- Gaunt, RE. 1983. Shoot diseases caused by fungal pathogens. *Faba Bean (Vicia faba L.)*. Hebblethwaite PD (ed.), Butterworths, London, UK.
- Gholamnezhad J. 2019. Effect of plant extracts on activity of some defense enzymes of apple fruit in interaction with *Botrytis cinerea*. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(1): 115-123.
- Giannopolities N, Ries SK. 1977. Superoxide Dismutase. Occurrence in Higher Plants. *Plant Physiol*, 59: 309-314.
- Gutiérrez RMP, Perez RL. 2004. *Raphanus sativus* (Radish): Their Chemistry and Biology. *The Scientific World Journal*, 4: 811–837.
- Harper AM, Strange RN, Langcake P. 1981. Characterization of the nutrients required by *Botrytis cinerea* to infect broad bean leaves. *Physiological Plant Pathology*, 19(2): 153-167.
- Hassan ME, Abd El-Rahman SS, El-Abbasi IH, Mikhail MS. (2007). Changes in peroxidase activity due to resistance induced against faba bean chocolate spot disease. *Egypt. J. Phytopathol*, 35(1): 35-48.
- Hegazi MA, El-Kot GAN. 2010. Efficacy of Some Essential Oils on Controlling Powdery Mildew on *Zinnia Elegans* L.). *Journal of Agricultural Science*, 2(4): 63.
- Hussein M, Abo-Elyousr KA, Hassan MA, Hashem M, Hassan EA, Alamri SA. (2018). Induction of defense mechanisms involved in disease resistance of onion blight disease caused by *Botrytis allii*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28(1): 1-11.
- Iqbal D, Javaid A. 2012. Bioassays guided fractionation of *Coronopus didymus* for its antifungal activity against *Sclerotium rolfsii*. *Natural Product Research*, 26(17): 1638-1644.
- Kamara A, El-Argawy E, Korany AE, Amer G. 2016. Potential of certain cultivars and resistance inducers to control gray mould (*Botrytis cinerea*) of pepper (*Capsicum annuum* L.). *African Journal of Microbiology Research*, 10(45): 1926-1937.
- Karakuş S, Atıcı Ö, Köse C, Aydın İ. 2021. *Nepeta meyeri* essential oil ameliorates fungal infection and the antioxidant response in grapevines (*Vitis vinifera*) infections by gray mold (*Botrytis cinerea*). *Acta Physiologiae Plantarum*, 43(12): 1-11.
- Kim HJ. 2005. Characterization of bioactive compounds in essential oils, fermented anchovy sauce, and edible plants, and, induction of phytochemicals from edible plants using methyl jasmonate (MeJA) and chitosan. *Doktora Tezi*, Clemson University, USA.
- Kuzniak E, Sklodowska M. 2001. Ascorbate, glutathione and related enzymes in chloroplasts of tomato leaves infected by *Botrytis cinerea*. *Plant Sci*, 160(4): 723–731.
- Kuzniak E, Sklodowska M. 2005. Fungal pathogen-induced changes in the antioxidant systems of leaf peroxisomes from infected tomato plants. *Planta*, 222(1):192–200.
- Levine LH, Bisbee PA, Richards JT, Birmele MN, Prior RL, Perchonok M, Dixon M, Yorino NC, Stutte GW, Wheeler RM. 2008. Quality characteristics of the radish grown under reduced atmospheric pressure. *Advances in Space Research*, 41(5): 754–762.
- Lugasi A, Blazovics A, Hagymasi K, Kocsis I, Kery A. 2005. Antioxidant effect of squeezed juice from black radish (*Raphanus sativus* L. var niger) in alimentary hyperlipidaemia in rats. *Phytother Res*, 19: 587–591.
- Ma LJ, Li YY, Wang LL, Li XM, Liu T, Bu N. 2014. Germination and Physiological Response of Wheat (*Triticum aestivum*) to Pre-soaking with Oligochitosan. *International journal of agriculture & biology*, 16(4).
- Madhava RKV, Sresty TV. 2000. Antioxidative Parameters in The Seedlings of Pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millspaugh) in Response to Zn and Ni Stresses. *Plant Sci.*, 157: 113-128.
- Małolepsza U, Rozalska S. 2005. Nitric oxide and hydrogen peroxide in tomato resistance. Nitric oxide modulates hydrogen peroxide level in o-hydroxyethylrutin-induced resistance to *Botrytis cinerea* in tomato. *Plant Physiol Biochem* 43(6): 623–635.
- Małolepsza U, Urbanek H. 2000. The oxidants and antioxidant enzymes in tomato leaves treated with o-hydroxyethylrutin and infected with *Botrytis cinerea*. *Eur J Plant Pathol*, 106(7): 657–665.
- Mekawi EM, Khafagi EY, Abdel-Rahman FA. 2019. Effect of pre-harvest application with some organic acids and plant oils on antioxidant properties and resistance to *Botrytis cinerea* in pepper fruits. *Scientia Horticulturae*, 257: 108736.
- Nakano Y, Asada K. 1981. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. *Plant and Cell Physiol*, 22(5): 867-880.
- Ortmann I, Moerschbacher BM. 2006. Spent growth medium of *Pantoea agglomerans* primes wheat suspension cells for augmented accumulation of hydrogen peroxide and enhanced peroxidase activity upon elicitation. *Planta*, 224(4): 963-970.
- Özceylan Z, Akı C. 2020. Effects of Ginger Extracts on Total Protein Amount and Peroxidase Activity in *Solanum lycopersicum* L. *Journal of Scientific Perspectives*, 4(2): 169-176.
- Patykowski J, Urbanek H. 2003. Activity of enzymes related to H₂O₂ generation and metabolism in leaf apoplastic fraction of tomato leaves infected with *Botrytis cinerea*. *Journal of Phytopathology*, 151(3): 153-161.
- Rahman MZ, Honda Y, Islam SZ, Arase S. 2002. Effect of metabolic inhibitors on red light-induced resistance of broad bean (*Vicia faba* L.) against *Botrytis cinerea*. *Journal Phytopathol.*, 150: 463-468.

- Riaz T, Khan SN, Javaid A. 2010. Management of Fusarium corm rot of gladiolus (*Gladiolus grandiflorus* sect. Blandus cv. Aarti) by using leaves of allelopathic plants. African Journal of Biotechnology, 9(30): 4681-4686.
- Ronen R, Galun M. 1984. Pigment extraction from lichens with dimethyl sulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation. Environmental and experimental botany, 24(3): 239-245.
- Sedghi M, Basiri HK, Sharifi RS. 2013. Effects of salicylic acid on the antioxidant enzymes activity in sunflower. Annales of West University of Timisoara. Series of Biology, 16(2): 67.
- Seely GR, Duncan MJ, Vidaver WE. 1972. Preparative and analytical extraction of pigments from brown algae with dimethyl sulfoxide. Marine Biology, 12(2): 184-188.
- Takaya Y, Kondo Y, Furukawa T, Niwa M. 2003. Antioxidant constituents of radish sprout (Kaiware-daikon), *Raphanus sativus* L. Journal of agricultural and food chemistry, 51(27): 8061-8066.
- Thakker JN, Patel S, Dhandhukia PC. 2013. Induction of defense-related enzymes in banana plants: Effect of live and dead pathogenic strain of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. International Scholarly Research Notices, DOI: <http://dx.doi.org/10.5402/2013/601303>.
- Tiuterev S, Yakubchik M, Tarlakovsky S, Popova E, Vytsky V, Dorofeyeva T. 1996. Chitosan: mechanism of action and ways of using as ecologically safe means in enhancement of plant disease resistance. Archives of Phytopathology & Plant Protection, 30(4): 323-332.
- Vergun OM, Rakhmetov DB. 2018. Antioxidant potential of some plants of Brassicaceae Burnett and Poaceae Barnhart. Інтродукція рослин, (1): 87-95.
- Weston LA, Duke SO. 2003. Weed and crop allelopathy. Crit Rev Plant Sci., 22: 367-389.
- Wojdyła AT. 2004. Chitosan (biochikol 020 PC) in the control of some ornamental foliage diseases. Communications in agricultural and applied biological sciences, 69(4): 705-715.