



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***Erwinia amylovora* ENFEKSİYONUNDAN
SONRA ELMA ve ARMUT ÇEŞİTLERİNDEKİ
BAZI ANTİOKSİDATİF ENZİM
SEVİYELERİNİN BELİRLENMESİ**

ESRA KARACİF
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Haziran-2012
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Esra KARACİF tarafından hazırlanan “*Erwinia amylovora* enfeksiyonundan sonra elma ve armut çeşitlerindeki bazı antioksidatif enzim seviyelerinin belirlenmesi” adlı tez çalışması 30.05.2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda yüksek lisans olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Nuh BOYRAZ

.....

Üye

Yrd. Doç. Dr. Kubilay K. BAŞTAŞ

.....

Üye

Prof. Dr. Ahmet EŞİTKEN

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Aşır GENÇ

FBE Müdürü

Bu tez çalışması Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 12201012 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Esra KARACİF

30.05.2012

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

***Erwinia amylovora* Enfeksiyonundan Sonra Elma ve Armut Çeşitlerindeki Bazı Antioksidatif Enzim Seviyelerinin Belirlenmesi**

Esra KARACİF

**Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı**

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Kubilay K. BAŞTAŞ

Yıl 2012, Sayfa 73

Jüri

Prof. Dr. Nuh BOYRAZ

Prof. Dr. Ahmet EŞİTKEN

Yrd. Doç. Dr. Kubilay K. BAŞTAŞ

Erwinia amylovora'nın sebep olduğu ateş yanıklığı elma ve armutta çok tahripkar bir hastalıktır. Bu çalışmada, patojen tarafından farklı elma ve armut çeşitlerinin enfeksiyon başlangıcında, bazı antioksidatif enzimlerin muhtemel değişimleri değerlendirilmiştir. Denemeler M9 anaçlı elma (Golden, Gala, Skarlet, Breaburn) ve armut (Santa Maria, Ankara) fidanları üzerinde yürütülmüştür. Bitkiler 25°C ±2, %60-65 nisbi nem, doğal fotoperiyot ve sera koşulları altında saksılarda yetiştirilmişlerdir. Yüksek virulent streyn Ea 43b'nin 10⁸ cfu/ml konsantrasyonundaki süspansiyon ile inokule edilen bitkilerden inokulasyondan sonraki 24 ve 72. saatlerde yaprak örnekleri alınmıştır. Kontrol bitki yapraklarına saf su inokule edilmiştir. Toplanan örnekler homojenize edilmiş, spektrofotometrik bir metotla hidrojen peroksidaz (H₂O₂), süperoksit dismutaz, katalaz, askorbat peroksidaz, prolin miktarı ve klorofil konsantrasyon seviyeleri belirlenmiştir. Tüm denemeler her örnekleme zamanı için minimum 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Veriler ANOVA varyans analizi ve Duncan çoklu oran testi ile istatistiki olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, tüm farklı elma ve armut çeşitlerinde kontrol bitkilere kıyasla prolin miktarı ve klorofil konsantrasyon seviyelerinin artışı belirlenirken hidrojen peroksidaz enzimi en yüksek aktiviteyi göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Erwinia amylovora*, antioksidan enzim elma, armut ve oksidatif stress

ABSTRACT

MS/THESIS

Determination of Levels of Some antioxidative Enzymes After Infection with *Erwinia amylovora* of Apple and Pear Varieties

Esra KARACİF

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
PLANT PROTECTION

Advisor: Yrd. Doç. Dr. Kubilay K. BAŞTAŞ

Year 2012, Pages 73

Jury

Prof. Dr. Nuh BOYRAZ

Prof. Dr. Ahmet EŞİTKEN

Yrd. Doç. Dr. Kubilay K. BAŞTAŞ

Fire blight, the caused by *Erwinia amylovora*, is a very destructive disease on apple and pear. In this study, it was examined the possible involvement of anti-oxidative enzymes in the initiation of infection of different apple and pear cultivars by the pathogen. The experiments were performed on seedlings from apple cultivars (Gala, Golden, Scarlet and Braeburn) with M9 rootstock and pear cultivars (Santa Maria and Ankara). Plants were grown in individual pots in the greenhouse at 25°C ±2 and in 60-65% relative humidity and under natural photoperiod conditions. They were inoculated a suspension (10⁸ cfu ml⁻¹) with highly virulent strain Ea43 and sampled at various times for 24th and 72nd hours. Control plants were inoculated with sterile distilled water. Collected samples were homogenized and measured by a spectrophotometric method and determined hydrogen peroxidase (H₂O₂), ascorbate peroxidase, super oxide-dismutase, catalase, proline accumulation and chlorophyll concentration levels. All experiments were performed with a minimum of three tissue sample replicates per time point. The data were statistically evaluated by ANOVA variance analyze and Duncan multiple range tests. Obtaining to results, while proline accumulation and chlorophyll concentration levels determined to increase, H₂O₂ showed the highest activity in all different apple and pear cultivars in comparison with control plants.

Key Words; *Erwinia amylovora*, antioxidative enzyme, pear, apple, oksidative stress

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmada her an bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım çalışmalarım süresince yardımını esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Kubilay BAŞTAŞ'a çalışmalarım sırasında bölüm imkanlarından faydalanmamı sağlayan Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Prof. Dr. Aydın Güneş'e ilgi yardım ve desteğini gördüğüm Prof. Dr. Haydar HACISEFEROĞULLARI'na, Prof. Dr. Önder TÜRKMEN'e, Prof. Dr. Lütfi PIRLAK'a, Prof. Dr. Ahmet EŞİTKEN'e Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dr. Öğrencisi Özge ŞAHİN'e Araştırma Görevlisi Mehmet Burak TAŞKIN'a Laborant Özlem KART'a ve Yüksek Lisans arkadaşlarım Öznur EKİCİ ve Şerife ÇETİN'e teşekkür ederim. Ayrıca her an maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, tüm problemlerimi paylaşan aileme şükranlarımı sunarım.

Esra KARACİF

KONYA-2012

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
<i>Pyrus communis</i> ;	5
<i>Pyrus calleryana</i> ;	5
<i>Pyrus ussuriensis</i> ;	5
<i>Pyrus pyrifolia</i> ;	5
<i>Pyrus betulafolia</i> ;	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	23
3.1. Bitki Materyali.....	23
3.1.1. Yetiştirme koşulları	23
3.1.2. Denemede kullanılan kimyasallar, aletler ve cihazlar.....	23
3.1.3. Denemelerde kullanılan <i>Erwinia amylovora</i> izolatu	24
3.2. Yöntem	24
3.2.1. Bitkilerin <i>Erwinia amylovora</i> ile inokulasyonu	24
3.2.2. <i>Erwinia amylovora</i> 'nın re-izolasyonu.....	25
3.2.3. Biyokimyasal testler.....	26
3.2.4. Moleküler tanılama	26
3.2.5. Enzim analizi için bitki örneklerinin alınması.....	26
3.2.6. Antioksidan enzim analizleri için ekstrakt çıkarılması işlemleri....	26
3.2.7. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) konsantrasyonu belirlenmesi.....	26
3.2.8. Prolin içeriğinin belirlenmesi	27
3.2.9. Katalaz (CAT) aktivitesi belirlemesi.....	28
3.2.10. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi belirlemesi.....	28
3.2.11. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi belirlemesi	28
3.2.12. Toplam klorofil analizi	29
3.2.13. İstatistiksel analizler	29
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	30
4.1. <i>Erwinia amylovora</i> 'nın Re-İzolasyonu ve Tanınması.....	30

4.2. Elma Çeşitlerinde <i>Erwinia amylovora</i> Enfeksiyonu Sonrası Oluşan	
Biyotik.....	31
4.2.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enziminin aktivitesi.....	31
4.2.2. Katalaz (CAT) enziminin aktivitesi	32
4.2.3. Askorbat peroksidaz (APOX) enziminin aktivitesi	33
4.2.4. Hidrojen peroksit (H₂O₂) enziminin aktivitesi.....	34
4.2.5. Toplam klorofil miktarı	35
4.2.6. Prolin içeriğinin belirlenmesi	37
4.3. Armut Çeşitlerinde <i>Erwinia amylovora</i> Enfeksiyonu Sonrası Oluşan	
Biyotik Stresin Bazı Antioksidan Enzimler Üzerine Etkileri.....	38
4.3.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enziminin aktivitesi.....	38
4.3.2. Katalaz (CAT) enziminin aktivitesi	39
4.3.3. Askorbat peroksidaz (APOX) enziminin aktivitesi	40
4.3.4. Hidrojen peroksit (H₂O₂) konsantrasyonu aktivitesi	41
4.3.5. Toplam klorofil miktarı	42
4.3.6. Prolin içeriği.....	43
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR	49
EKLER	58
ÖZGEÇMİŞ	63

SİMGELER VE KISALTMALAR

APX: Askorbat Peroksidaz

CAT: Katalaz

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

AsA: Askorbik asit

% : Yüzde

M: Molar

mM: Milimolar

EDTA: Etilendiamintetreatetik asit

GR: Glutatiyon Redüktaz

ml: mililitre

NBT: Nitroblue tetrazolium chloride

O₂⁻: Süperoksit Radikal

°C: Santigrat derece

OH⁻: Hidroksil Radikal

EDTA: Etilendiamin tetra asetik asit

nm: Nanometre

NBT: Nitro blue tetrazolium klorür

ROS: Reaktif oksijen türleri

SA: Salisilik asit

µM: Mikromolar

µL: Mikrolitre

ABA: Absisik Asit

CO₂: Karbondioksit

POX: Peroksidaz

SOD: Süperoksit Dismütaz

Cm: santimetre

M: Molar

mg/l: miligram / litre

dak: dakika

NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

GSH: okside glutasyonu

GSSG: indirgenmiş glutasyon

1. GİRİŞ

Türkiye, dünya üzerinde bulunduğu coğrafi konumu nedeniyle tüm meyve türleri için oldukça elverişli bir iklime sahiptir. Bu bakımdan Türkiye, bahçe bitkileri kültürünün doğuş yeri, dünyada yetişen birçok meyve türünün ana vatanı konumundadır (Ağaoğlu ve ark., 1997).

Türkiye’de yetiştirilmekte olan meyve türlerinin önemli bir kısmını ılıman iklim meyveleri oluşturmaktadır. Bunlar içerisinde elma, fındık, armut, şeftali, kaysı, erik, kiraz, ceviz, kestane, ayva, badem, antepfıstığı gibi türler yaygın olarak yetiştirilmektedir. Ülkemizde yumuşak çekirdekli meyve üretimi, tarımda önemli bir yere sahiptir. Yıllık 17.729.300 ton olan meyve üretiminin 3.280.082’lik kısmını yumuşak çekirdekli meyve üretimi oluşturmaktadır. Yumuşak çekirdekli meyvelerinden elma 2.782.365 ton ve armut 384.244 ton üretim değerine sahiptir (Anonim-2009).

Yumuşak çekirdekli meyve üretimini olumsuz yönde etkileyerek üretim miktarının düşmesine neden olan pek çok abiyotik ve biyotik faktörler bulunmaktadır. Bu faktörler canlılarda stres oluşturarak bitkiyi normal yaşam seyrinden uzaklaşmaktadır. Kuraklık, tuzluluk, sıcaklık, virus, fungus, bakteri vb. birçok faktör tarafından bitki strese maruz kalmaktadır.

Bitkilerde hastalık yapma yeteneği belirlenen ilk bakteriyel etmen *Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow ve ark.’nın neden olduğu ateş yanıklığı hastalığının, armut, elma, ayva, yenedünya gibi yumuşak çekirdekli meyve türlerinin içinde bulunduğu Rosaceae familyasının 37 cinsine ait 129 türde belirti oluşturduğu rapor edilmiştir. Bu cinslerin içinde en şiddetli yanıklık belirtisi gösterenler ve ekonomik olarak zarar görenler; başta *Pyrus* ve *Malus* olmak üzere *Cydonia*, *Cotoneaster*, *Crataegus*, *Pyracantha* ve *Sorbus* cinsleridir. Ateş yanıklığının bilinen en eski gözlemleri 1780’de ABD’de Newyork Hudson Vadisi’ndedir. Bu tarihten sonra, hastalık başta ABD olmak üzere dünya ülkelerine hızla yayılmaya başlamıştır (Zwet ve Keil, 1979).

Türkiye’de ilk defa 1985 yılında Afyon ili Sultandağı ilçesinde armutlarda tespit edilerek kesin tanısı yapılan hastalığın elma, armut, ayva ve yenedünyalarda da bulunduğu bildirilmiştir ve özellikle ülkemizde de armutlarda büyük zararlara neden olan bir hastalıktır (Öktem ve Benlioğlu, 1998; Momol ve Yeğen, 1993).

Patojen açısından elverişli şartlarda, hastalığın bitkideki ilerleyişi çok hızlı olmakta ve böylece kısa bir sürede, çok önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. 1900-1910 arasında Kalifornya’daki toplam armut ağacı sayısında %28 oranında düşüş

tespit edilmiştir. 1908'e Holister ve Santa Clara Vadisi'ndeki armut ağaçlarının 2/3'sinde ateş yanıklığı gözlemlenmiş ve 5.000.000 dolardan fazla kayıp olduğu bildirilmiştir. 1914'de Illinois'da elma ve armutlardaki şiddetli sürgün enfeksiyonu sonucu verim %14 oranında azalmış, bu da yaklaşık 23.000 ton olup, maliyeti 4.000.000 dolardan fazladır. 1975'de Hollanda'da 2.000.000'dan fazla Cotoneaster (dağ muşmulası), 13.000 ateş diken, 8700 Stranvaesia ve 4500 Sorbus (Üvez) tahrip olmuştur (Zwet ve Keil,1979). Özellikle yumuşak çekirdekli meyvelerde sorun olan bu hastalık üzerine dünyada çalışan araştırmacılar, konunun ve hastalığın önemli görülmesi üzerine, 50 yıl kadar önce bir araya gelerek bir çalışma grubu oluşturmuşlar ve yaptıkları araştırmaları değerlendirmek, ileriye dönük projeler hazırlamak üzere 3 yılda bir "workshop"lar düzenlemektedirler.

Erwinia amylovora'nın neden olduğu bu hastalık meyve ağaçlarının biyolojisini etkileyerek bitkide oksidatif strese neden olmaktadır.

Serbest radikaller, besinlerin oksijen kullanılarak enerjiye dönüşümü sırasında meydana gelen reaktif moleküllerdir. Oksijen molekülleri yaşam için vazgeçilmez olmakla birlikte, metabolizma sırasında serbest radikal kaynağı olarak bilinen ve son derece reaktif olan ara ürünler oluşur. Reaktif oksijen türleri olarak bilinen bu moleküller lipit, protein ve DNA gibi hücre bileşenlerine zarar verir. Aerobik organizmalarda serbest radikal oluşumunu kontrol altında tutmak ve bu moleküllerin zararlı etkilerine engel olmak üzere antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Ancak bazı durumlarda mevcut antioksidan savunma sistemi serbest radikallerin etkisini tamamen önleyemez ve oksidatif stres olarak tanımlanan durum ortaya çıkar (Güler, 2011)

Reaktif oksijen türleri aslında patojen ve herbivor saldırılarına karşı bitkinin savunma cevabında önemli bir yere sahip olan bileşiklerdir. Son yıllarda patojen-bitki interaksyonu üzerinde yapılan çalışmalarda reaktif oksijen türlerinin toksik etkilerini ortadan kaldıran askorbat peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz gibi enzimlerin etkili olduğu ortaya konmuştur. Bitki dokularının patojenle inokulasyonu veya hücre kültürlerine mikrobiyal uyarıcıların uygulanması reaktif oksijen türlerinden olan hidrojen peroksit (H_2O_2)'in hızlı bir şekilde oluşturulmasına neden olmaktadır. H_2O_2 hipersensitif hücre ölümü için bölgesel sinyal olarak görev yapmaktadır. Patojenle enfeksiyon sonucunda savunma mekanizmalarını harekete geçirecek olan sinyaller oluşmakta ve buna bağlı olarak da lokal ve sistemik antimikrobiyal savunma

oluşmaktadır. Bu şekilde patojenler ölü hücrelerde hapsolmakta ve enfeksiyon bölgesinden bitkinin diğer bölgelerine yayılmaları engellenmiş olmaktadır. Ayrıca lokal cevaplar sırasında hücrelerin hücre duvarlarının yapısında değişimler meydana gelmekte böylece patojenin hücre içine girişi de engellenmektedir (Low,1996; Lamb, 1997).

Bu çalışmada ülkemizde uygun şartlar altında büyük zararlara sebep olan *Erwinia amylovora*'nın bitkilerde oluşturduğu oksidatif stresin elma ve armut çeşitlerinde zamana bağlı olarak bitki savunma mekanizmasında bulunan antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen bulgular ışığında, reaktif oksijen türlerinin bitki savunma sistemi içerisinde etkinliklerinin önemi vurgulanırken çeşitler arasındaki dayanıklılık farklılıklarının temeli anlaşılmaya çalışılacaktır. Bu durum hastalıklarla mücadele olanaklarında yeni yaklaşımlara neden olabilecektir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Ülkemizde yumuşak çekirdekli meyve yetiştiriciliği önemli bir yere sahiptir. Türkiye’de 2006 yılında 34.899.549 adet meyve fidanı üretilmiştir. Üretimin yaklaşık % 42’sini ılıman iklim meyve fidanları oluşturmuştur. Ilıman iklim meyve fidanı üretiminde yumuşak çekirdekli meyve fidanlarının payı % 36.8’dir. Toplam meyve veren ağaç sayımız 583.525 bin’dir ve bunun büyük çoğunluğunu yumuşak çekirdekli kapsamaktadır (Anonim, 2010).

Yumuşak çekirdekli meyve üretimini olumsuz yönde etkileyerek üretim miktarının düşmesine neden olan pek çok hastalık ve zararlı bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri; elmada karaleke (*Venturia inaequalis* (Cooke) Wint) armutta kara leke (*Venturia pirina* Aderh), elmada küllemesi (*Podosphaera leucotricha* Salm.), bakteriyel dal yanıklığı (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* Van Hall) ve ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora*)’dır (Mirik, 2000).

Zwet ve Keil (1979) yaptıkları çalışmada, ateş yanıklığı hastalığını dünyada iki asırdan daha fazla geçmişi olan bir hastalık olarak belirlemişlerdir. 18. yüzyılda ateş yanıklığının nedeni olarak böcekler ve funguslar olmak üzere iki teori gelişmiş ancak 1882’de Burill tarafından patojenin ilk bakteriyel tanımlanması yapılarak *Micrococcus amylovorus* olarak isimlendirilmiştir. Etmene en son Winslow ve ark. (1920) tarafından *Erwinia* cinsi içinde *Erwinia amylovora* ismi verilmiştir.

Erwinia amylovora (Burr. Winslow ve ark.)’nın neden olduğu ateş yanıklığı hastalığı, armut, elma, ayva, yenedünya gibi yumuşak çekirdekli meyve türlerinin içinde bulunduğu Rosaceae familyasının 37 cinsine ait 129 türde belirti oluşturduğu rapor edilmiştir. Bu cinslerin içinde en şiddetli yanıklık belirtisi gösterenler ve ekonomik olarak, önemli ölçüde zarar görenler; başta *Pyrus* ve *Malus* olmak üzere *Cydonia*, *Cotoneaster*, *Crataegus*, *Pyracantha* ve *Sorbus* cinsleridir (Zwet ve Keil, 1979).

Pyrus cinsi Pomoidae alt familyası altında sınıflandırılmıştır ve tümü Avrupa, Asya ve Afrika orijinli yaklaşık 20 türü içerir. Cins üzerinde yapılan detaylı taksonomik çalışmalarda toplam 51 kimyasal ve botanik karaktere göre, türler, 4 ana gruba ayrılmıştır. 1- Doğu Asya pea armutları, 2- Daha büyük meyveli Doğu Asya armutları, 3- Kuzey Afrika armutları, 4- Avrupa ve Batı Asya armutları ateş yanıklığına dayanıklı, ekonomik anlamda en önemli 5 armut türü Zwet ve Keil, (1979) tarafından bahsedilmiştir. Bunlar;

Pyrus communis;

Pratik olarak yetiştiriciliği yapılan, armut çeşitlerinin tümü Avrupa'nın yerel armudu olan *Pyrus communis*' ten türemiştir. *P. communis* yaygın olarak da bilinen ve yöresel olarak kültürü yapılan armuttur. Bu türün çeşitleri kalite yönünden diğerlerinden çok daha üstündür. Bu türün çeşitlerinin ateş yanıklığına dayanma derecesi önemli derecede çeşitlilik göstermesine karşın, yüksek kalitedeki Avrupa armutlarının hiç birisi ateş yanıklığının ciddi olduğu bölgelerde dayanıklılık gösteremez (Zwet ve Keil, 1979).

Doğu Akdeniz Bölgesinde yapılan surveyler *P.communis* türüne ait Santa Maria ve Williams çeşitlerinin ateş yanıklığından şiddetli olarak etkilendikleri gözlemlenmiştir (Tokgönül, 1991).

Pyrus calleryana;

Özellikle Çin'in merkezi ve doğusunda doğal halde yaygındır. Bradford çeşidinin bütün seleksiyonları, böceklerle, *Fabraea* yaprak lekesi (*Fabraea maculata*) ve ateş yanıklığına oldukça yüksek dayanıklılık gösterir. Buna karşın *Pyrus calleryana*'nın diğer çeşitlerinin ateş yanıklığına hassas olduğu belirtilmektedir.

Pyrus ussuriensis;

Ateş yanıklığına Kuzey Çin ve Kuzey Sibirya arasında yayılım gösterir. Tüm armut türlerinin içinde ateş yanıklığına en dayanıklı olanıdır.

Pyrus pyrifolia;

Bu türün çeşitleri, Çin ve Japonya'da yetiştirilmektedir. Bu türün 49 çeşidi içinde %28'i ateş yanıklığına dayanıklı sınıftadır.

Pyrus betulafolia;

Merkez ve Kuzey Çin'de yayılım göstermiştir. Bu türün çöğürleri arasında 18 tanesinin yüksek derecede ateş yanıklığına dayanıklı olduğunu belirlenmiştir.

Ateş yanıklığına dayanım derecesine göre, dayanıklıdan hassasa doğru *Pyrus ussuriensis*, *P. calleryana*, *P. betulafolia*, *P. pyrifolia* ve *P. communis* olmak üzere bir sıralama yapılabilir (Zwet ve Keil,1979).

Cummins ve Aldwinckle (1974), elmalarda yürüttükleri çalışmalar sonucunda *Malus xatrosanguinea*, *Malus fusca*, *Malus prunifolia*, *Malus xanthocarpa* ve *Malus surgenti*'nin suni sürgün ucu inokulasyonlarına yüksek derecede dayanıklı olduklarını

bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar Golden, Gala, Breaburn ve M9 anacı'nın ateş yanıklığına hassas olduğundan bahsetmişlerdir.

Bahar başlarında ılık nemli havalar esnasında, hastalığın ilk belirtileri genellikle çiçeklerde görülür (Fahy ve Persley, 1983). Çiçekler önce sulanmış gibi görünür sonra hızla pörsür, kahverengine döner siyahlaşır ve düşebilir veya ağaçta asılı kalabilir. Bu belirtiler hemen aynı mahmuzdaki diğer yapraklara veya yakın dallardaki yapraklara sıçrar. Yapraklarda ana damar boyunca ve yaprak kenarlarında kahverengi - siyah lekeler başlar. Siyahlaşma ilerlerken, yapraklar kıvrılır ve pörsür, aşağı doğru asılı kalır ve genelde bükük yanık filizlere asılı kalırlar (Maden, 1989). Bu ateş yanıklığının en tipik belirtilerindendir. Genellikle elmalarda yapraklar kahverengileşir, armutlarda koyu kahveden siyaha döner (Fahy ve Persley, 1983).

Uç sürgünler ve dip sürgünler genelde direkt olarak enfeksiyon alır ve uçtan aşağı doğru solarlar. Bu sürgünlerin kabuğu kahverengimsi-siyaha döner ve önce yumuşaktır, fakat sonra çöker ve sertleşir (Maden, 1989). Yanık sürgünlerde tipik karakteristik semptom sürgün uçlarının çoban değneği ya da kanca gibi bir forma dönüşmesidir ve yapraklar siyahlaşarak sürgünlerde asılı kalırlar (Zwet ve Keil, 1979).

Semptomlar meyve mahmuzları ve uç dallardan aşağı doğru ilerler ve yan dallarda gelişir. Burada kanserler oluşur. Enfeksiyonlu ince dalın etrafındaki dal kabuğu önce sulu görünür, daha sonra koyulaşarak çöker ve kurur. Eğer kanser genişlerse ve dalı çevirirse, dalın enfeksiyon üstündeki kısmı ölür. Eğer enfeksiyon tam çevirmeden durursa, o zaman dormant veya inaktif bir kanser oluşur bu da çökük ve bazen çatlak kenarlıdır (Maden, 1989). Uç noktadan başlayan hastalık, şiddet derecesine göre sürgünü, kalın dallara kadar kurutabilir (Karaca, 1977).

Meyve enfeksiyonları genellikle sapından olur. Küçük olmayan meyveler sulu bir hal alır, sonra kahverengine döner, pörsür, mumyalaşır ve sonunda siyahlaşırlar. Ölü meyveler enfeksiyondan bir kaç ay sonrada ağaca asılı kalırlar (Maden, 1989; Fahy ve Persley, 1983). Ayrıca hasat sonrası paketlenen meyvelerde de etmen bulunabilmektedir (Zwet ve Keil, 1979).

Nemli koşullar altında, süt rengi yapışkan akıntı damlaları yeni enfeksiyonlu herhangi bir kısımda görülebilir. Akıntı genellikle hava ile temas eder etmez kahverengine döner. Damlalar birleşip daha büyük damlaları oluşturabilir, bu da akarak bitki yüzeyinde bir tabaka oluşturur (Maden, 1989). Sonunda köke kadar yayılan bakteriler tüm ağacın kurumasına yol açabilirler. Ateş yanıklığı kuruyan taze yapraklar,

küçük meyvelerle tıpkı sert çekirdekli meyvelerde görülen Monilya hastalığını andırır (Karaca, 1977). Hastalık yangından sonraki bir ağacın görünümüne çok benzer. Bu nedenden dolayı hastalığa ateş yanıklığı denilmiştir (Çınar, 1988). Hastalığın literatürde görülen öteki isimleri şunlardır: Çiçek yanıklığı, meyve yanıklığı, dal yanıklığı, elma yanıklığı ve armut yanıklığı (Karaca, 1977).

1951-1960 yılları arasındaki yıllık kayıp armutlarda 1.500.000 dolar, elmalarda 2.500.000 dolardır. 1958-1969 yıllarında İngiltere'deki toplam ağac kayıpları; 20.000 armut, 20.000 alıç, 15.000 Cotoneaster ve 2000 ateş dikenidir. 1963'de California'da armutlardaki ateş yanıklığı zararı %14 olurken, elmalardaki oranda %5'dir. 1975'de Hollanda'daki ağaçlardan 2.000.000'dan fazla Cotoneaster, 13.000 ateş dikenini, 8700 Stranvaesia ve 4500 Mountainash tahrip olmuştur. 1976 yılında California'da, sadece armutlarda, 47.000.000 dolarlık kayıp olduğu bildirilmektedir (Zwet ve Beer 1979).

Etmem bir önceki mevsim sırasında oluşan kanserlerin kenarlarında, diğer konukçulardaki kanserlerde ve muhtemelen tomurcuklarda ve belirgin şekilde sağlam görülen odun dokularında kışlamaktadır. Bakteri çoğunlukla büyük dallarda canlılığını sürdürür ve 1 cm çaptan daha küçük filizlerde nadiren kışlayabilir. İlkbaharda, bakteriler canlı kaldığı bu kanserlerde aktif hale gelir, çoğalırlar ve bitişik sağlam kabuğa yayılır. Nemli veya ıslak havalarda bu bakteriyel kümeler tarafından su alınır, öyle ki hacimce dokunun kapasitesinden daha fazla büyür, böylelikle onların bir kısmı lentiseller ve doku üzerindeki yarıklardan dışarı çıkar. Bakteriyel akıntı veya salgı olarak adlandırılan bu salgı hücre ve öz suyu, milyonlarca bakteri ve bakteriyel yan ürünlerden ibarettir. Akıntı ilk defa ekseri armutlar çiçek açarken görülür. Arı, sinek, karınca gibi değişik böcekler bu tatlı ve yapışkan akıntı tarafından çekilir ve onunla bulaşırlar. Onlar sonra çiçekleri ziyaret ettiği zaman bakteri içeren salgının birazını çiçeklerin nektarına bırakırlar. Bazı durumlarda bakteriler kanserlerdeki akıntıdan sıçratıcı yağmur damlaları ile de taşınabilir. Akıntılar kuruduğu zaman o ekseri havai iplikçiler oluşturur, bunlar da rüzgarla taşınarak bir inokulum görevi üstlenirler (Zwet ve Keil, 1979).

Erwinia amylovora bakterisi nektarda hızlı bir şekilde çoğalır, nektartodlara ulaşır ve çiçek dokuları içine penetrasyon yapar. Bakteri çiçeklerden aşağı doğru çiçek sapına oradan da meyve mahmuzunun kabuğu içine hareket eder. Mahmuzun enfeksiyonu onun üzerindeki tüm çiçeklerin, yaprakların ve meyvelerin ölümüne neden olur (Zwet ve Keil, 1979).

Yaprakların penetrasyonu için stoma ve hidatodlar bakteriye giriş kapısı olarak yardımcı olmalarına rağmen yaprak enfeksiyonlarının çoğu böcek, dolu gibi nedenlerle açılan yaralardan olmaktadır (Zwet ve Keil, 1979).

Hastalığın yayılmasında, genel olarak böcekler en önemli faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. 1891'de balarıları ve yabanarılarının bakteriyi çiçekten çiçeğe yaydığının gözlenmesinden beri tozlayıcı böceklerin patojenin yayılması konusunda üzerinde en çok düşünülen taşıyıcı olmuşlardır. Yapılan araştırmalar sonucunda 77 böcek cinsinin patojeni yayabildiği saptanmıştır (Zwet ve Keil, 1979).

Meterolojik olaylardan birisi olan yağmur, patojenin kanserlerden veya taze inokulumdan yayılmasında önemli bir faktördür. Ağacın üst kısımlarındaki bitkisel organlardan, bakteriler yağmur damlaları ile ağacın alt kısımlarına yayılmaktadır. Yağmurun dolaylı bir etkisi de çiçeklerdeki nektarla ilişkilidir. Kuru hava şartlarında çiçekler içindeki nektar, bakteri gelişimi için çok fazla konsantredir. Ancak yağmurun etkisiyle konsantre haldeki nektar seyreltik hale gelerek bakteri çoğalması ve enfeksiyon kolaylaşır (Zwet ve Keil, 1979).

Rüzgarlarla yayılmada bakteri genellikle sis tanecikleri veya yağmur damlalarıyla taşınır. *E. amylovora*'nın ürettiği bakteriyel iplikçikler rüzgar yardımıyla uzun mesafelere taşınabilmektedir. Bakteriyel iplikçiklerin rüzgarla bulutlara kadar taşınabildiği ve rüzgarın etkisiyle çok uzaklara kadar ulaşıp yağmur damlalarıyla konukçusuna bulaştığı saptanmıştır (Zwet ve Keil, 1979).

Ateş yanıklığı insanlar, bahçe aletleri, meyve ya da aşı gözüyle yayılabilir. Budama aletleri, hastalıklı dallardan sağlıklı dallara ateş yanıklığını yaymada en önemli rolü oynar. Budama makasları ve testereleler, kanserli dallar ve gövdenin budanmasından sonra dezenfekte edilmezlerse, bakterinin kolayca diğer dallara ve ağaçlara bulaşmasına neden olabilirler (Zwet ve Keil, 1979).

Eğer inokulumla temas ederlerse eller, elbiseler, ayakkabılar ve hatta bahçe aletlerinin tekerlekleri de yayılmada rol oynayabilirler (Zwet ve Keil, 1979).

Scroth ve Hilderbrand, (1980)'e göre ateş yanıklığı hastalığı etmeni *Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow ve ark. Enterobacteriaceae familyasında *Erwinia* cinsi içinde yer alan, gram negatif, fakültatif aneorob, kısa çubuk şekilli ve peritrik kamçılı bakterilerdir. *In vitro*'da optimum 21-28°C arasında gelişen bakterinin, termal ölüm noktası 45-50°C'dir. Optimum pH gelişimi 6,0 - 7,5'dir (Zwet ve Keil 1979).

Erwinia amylovora'nın tanımlanmasında 36⁰C'de gelişim, üreaz ölçümü testi (Dye,1968), indol üretimi testi (Dickey ve Kelman,1988) jelatinin hidrolizi testi (Klement ve ark.,1990), KOH testi (Fahy ve Hayward, 1983), %5 SNA'da gelişim, King B besiyerinde fluoresans pigment oluşumu, acetoin üretimi (Dye,1968), oksidatif-fermantatif reaksiyonu (Ayers ve ark.,1919), sakarozdan indirgenen bileşikler (Klement ve ark.,1990), aesculin hidrolizi (Sneath,1956; Schaad, 1988), sisteinden H₂S oluşumu (Klement ve ark.,1990), karbonhidratlardan asit üretimi, tütün yaprağında aşırı duyarlılık reaksiyonu (Klement ve ark.,1990; Lelliott ve Stead,1987; Mohan ve Schaad,1987) biyokimyasal testleri esas alınmaktadır.

Zwet ve Keil (1979), patojen konukcu bitkide sentezleyebildiği amylovorin'i yapay besiyerinde sentezleyemediğini bildirmektedir. Duyarlı konukçu bitkiler amylovorin'den olumsuz yönde etkilenirken dayanıklı konukcu bitkiler amylovorin'den etkilenmemektedir. *E. amylovora* yapay besiyerinde +4⁰C'de uzun süre canlılığını korurken doğal koşullarda 90 gün sonunda canlılığını yitirmektedir. *E. amylovora* sürgün, meyve, ağaç kabuğu gibi çeşitli bitki dokularında damlacıklar halinde 'ooze' adı verilen bakteriyel akıntılar ve 'strand'adı verilen bakteriyel iplikçikler oluşturmaktadır. Ooze içindeki bakteriler genellikle virulent olup 2 yıl veya daha uzun bir süre patojenitelerinin sürdürmektedir. Sert yapıda olan ve zamanla kırılabilen iplikçiğin %20'sini bakteriyel hücre oluşturmaktadır.

Bu hastalıkla ilgili en eski mücadele yöntemi olarak bitkilerin yanık sürgünlerinin budanması olarak bilinmektedir. Şiddetli enfeksiyon gösteren bitkilere eradikasyon işlemi ile hastalıkla ilgili ilk mücadeleler başlamıştır. 1950'lerde antibiyotiğin keşfi ile farklı antibiyotik türleri denenmiştir. En başarılı streptomisin sülfat bulunmuştur. Ancak antibiyotiğin insan ve çevre sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri yanı sıra patojenin dayanıklılık kazanımları sonucu fungusit grubu birçok kimyasal kullanılmıştır. Bunlar içerisinde ön plana çıkan kimyasallar Fosetil-Al, bakırlı bileşikler, maneb+bakır, mancozeb+bakır gibi kombinasyonlar olmuştur.

Biyolojik mücadele ajanı olarak *Pseudomonas fluorescens* ve *Pantoea agglomerans* gibi etmenler başarılı olarak görülmüşlerdir. Son yıllarda araştırma sonuçları konukcu-patojen interaksiyonuna dayalı olarak yapıldığı bitki savunma sistemini aktive edici (SAR, ISR vb.) kimyasalların kullanımına odaklanmış ya da bitkilerin genetik yapılarını anlamaya yönelik moleküler düzeydeki çalışmalar yönünde olmuştur.

Erkan (1992), tarafından bitkilerde hastalık etmenin oluşturduğu sinyalin algılanması bitkinin savunma mekanizmasını aktif hale getirdiği bildirilmiştir. Bitki savunmasında aktif oksijen olarak adlandırılan ürünler bitki hücresi tarafından üreilmeye başlandığı ve aktif oksijen türevleri bitkide en az dört değişik role sahip olduğu ifade edilmiştir. Bu durumda reaktif oksijen türleri ilk olarak hipersensitif hücre ölümüne neden olmaktadır. Hipersensitif, bitkinin sadece patojenin enfekte ettiği bölgedeki hücrelerini öldürmesi olayıdır. Hücre ölümü patojenin sadece enfeksiyonun olduğu bölgede lokalize olmasına neden olmakta ve bu şekilde hastalığın yayılması önlenmektedir (Heil, 2002).

Xing ve Higgins (1997)'e göre patojenle enfeksiyon sırasında elisitör ve reseptör arasındaki interaksiyon sonucunda hızlı iyon akışları ve oksidatif stres meydana gelmektedir.

Bitkiler farklı stres faktörlerine karşı aynı veya benzer savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bitkiler stresi ya tolere etmekte ya da ondan kaçınmaktadırlar. Stres faktörleri yapısal ve metabolik hasarlara neden olmaktadır. Bu yüzden bitkiler sekonder metabolitlerin yanısıra başka savunma yolları geliştirmişlerdir. Bunlar dehidrin veya patogeneze ilişkili proteinleri gibi spesifik proteinler, fenilpropanoid yolunun aktivasyonu, reaktif oksijen türlerin oluşumu, antioksidanların aktivasyonu, thionin, thaumatin, kitinaz, glukanaz gibi PR proteinleri, fitoaleksinler, düşük molekül ağırlıklı fenolikler, savunma enzimleri ve düşük sıcaklık, ağır metaller, ozmotik stres, ozon ve patojen gibi stres faktörlerine karşı sentezlenen diğer savunma faktörleri, programlanmış hücre ölümü olan hipersensitif reaksiyon, sistemik kazanılmış dayanıklılık, sistemik uyarılmış dayanıklılık vd.'dir (Plazek, 2003).

Birçok bitki türü bazı hastalıklara karşı doğal olarak dayanıklılık gösterirler. Genelde bir bitkide hastalık oluşturabilen bir etmen başka bir bitkide herhangi bir hastalık oluşturmayabilir. Bu durum genel dayanıklılık veya temel dayanıklılık olarak adlandırılmaktadır. Bu tip dayanıklılık uzun ömürlüdür (Erkan, 1992).

Özcan ve Babaoğlu (2001), dayanıklılık geninin ürünü olan proteinler hastalık etmeninin bitkiye girmesi sırasında salgıladığı sinyal moleküllerini tanıma yeteneğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bu tanıma işlemi bitkinin savunma sisteminin harekete geçirilmesi bakımından zorunludur. Sonuçta bitki savunma mekanizmasının uyarılması antimikrobiyal etkiye sahip birçok proteinin bitkide üretilmesine neden olmaktadır. Bitki patojen tarafından etkilense bile patojenin daha fazla yayılarak tüm bitkiyi

öldürme olasılığını en aza indirebilecek sistemlere sahip olmalıdır. Yaralanma, patojenik olmayan organizmaların yanısıra virüent olmayan ve virüent patojenlerle enfeksiyon sonrasında bitkilerde genel olarak bir savunma cevabı meydana gelmektedir. Virüent olmayan bir patojen ile enfeksiyon sonrasında virüent patojenler ve nonpatojenlerle interaksyonda meydana gelmeyen hipersensitif bir cevap hipersensitif reaksiyon oluştururlar. Bu yüzden farklı iki sinyal yolu meydana meydana gelmektedir. Bunlardan biri çeşitli uyarımlara karşı oluşan genel bir savunma cevabı ve diğeri avirüent patojenlere karşı oluşan hipersensitif reaksiyon cevabıdır.

Baron (1995)'e göre bitkilerde savunma cevaplarının bir bölümü çeşitli fonksiyonel gruplara ayrılmaktadır. İlk olarak fenilalanin amonyum liyaz (PAL), şalkon sentaz (CHS) ve şalkon izomeraz gibi fenilpropanoid metabolizmasıdır. Bu metabolizmanın birçok son ürünü gibi fitoaleksinler, hücre duvarı yapısına katılan lignin gibi doğrudan antimikrobiyal etki göstermektedir. Fenilpropanoid ürünleri farklı biyotik ve abiyotik uyarımlara karşı bitki savunmasında farklı rollere sahiptirler. İkinci savunma cevabı hidroksprolin-zengin glikoproteinler (HRGPs)'in sentezi ve peroksidazlardır. Bu savunma genlerinin ürünleri patojenin yayılmasını engeleyen yapısal bariyerlerin sentezlenmesinde görev yapmaktadırlar. Üçüncü savunma cevabını ise kitinaz, katalaz, pektinaz enzim sentezleri oluşturmaktadır. Bu enzimler savunma cevaplarının uyarılmasında görev yapan bitki hücre duvarından endogenik elisitörlerin (uyarıcı) serbest kalmasını ve fungusun hücre duvarının parçalanmasını sağlamaktadırlar. Son olarak çeşitli bitki patojen sistemlerinde lipoksigenaz (LOX) aktivitesinde meydana gelen artışıdır. LOX ürünleri jasmonik asit gibi patojen ve yaralanmalara karşı oluşan genel cevaplardandır.

Savunma tepkimelerinin ilk ve önemlisi, direnç genleri tarafından spesifik patojenlerce kodlanan avirulens (Avr) proteinlerin algılanmasıdır. Patojenle ilişkili proteinler ile oluşturulan savunma tepkisi (aynı zamanda gen için-gen direnci), saldırı bölgesinde bulunan hücrelerde hızlı nekrozların (hipersensitif tepki) ortaya çıkmasına neden olmakta ve patojenin o bölgede etkin bir şekilde sınırlandırılması ile sonuçlanmaktadır. Yani bitkilerde patojen interaksyonu süresince hipersensitif reaksiyonun dahil olduğu birçok savunma mekanizmaları aktif hale gelmektedir (Erkan, 1992).

Low (1996), oksidatif yanma, aktif programlanmış hücre ölümü ve patojenle ilişkili proteinler gibi antimikrobial savunma süresince meydana geldiğini

bildirmektedir. Son yıllarda patojen-bitki interaksyonu üzerinde yapılan çalışmalarda reaktif oksijen türlerinin toksik etkilerini ortadan kaldıran askorbat peroksidaz, katalaz gibi enzimlerin etkili olduğu ortaya konmuştur.

Bitkinin fizyolojik aktivitenin doğal ürünü olan serbest radikalleri, organizma bitkinin ilk oluşumunda kazandığı çok hassas bir donanımla oksidan-antioksidan denge olarak tanımlanabilecek bir çizgide tutmaya çalışır. Bu dengenin bozulması oksidatif strese yol açar. Oksidatif hasarın önündeki en önemli engel, atmosferdeki oksijen konsantrasyonu (150 mmHg) ile dokulardaki oksijen konsantrasyonu (30 mmHg) arasındaki büyük farktır. Bu avantaja ilave olarak endojen antioksidan sistemler ve ekzojen olarak alınan antioksidanlar da mevcuttur (Mavi, 2005).

Gutteridge (1995)'a göre ışıqla karşılaşan kimyasallar oksijenle reaksiyona girerler ve bunun sonucunda da eşleşmemiş elektron içermediği için serbest radikal olmayan, dönme yönlerinin farklılığından dolayı oksijenin yüksek reaktif form olan singlet oksijen açığa çıkar ve bitkide oksidatif stresi meydana getirir. Bitkilerde meydana gelen aktif oksijen üretimi aslında bitkilerin patojenlere karşı geliştirdikleri savunma sisteminin bir parçasıdır. Bitki savunmasının ilk aşamasında 'aktif oksijen' olarak adlandırılan ürünler bitki hücresi tarafından üretilmeye başlanır. Aktif oksijen ürünleri arasında hidrojen peroksit ve süper oksit anyonları sayılabilir. Ancak bu, bitkide doku hasarına sebep olmaktadır.

Aktif oksijen türevleri bitkide en az dört değişik role sahiptir (Stadtman, 2002);

a. Aktif oksijen ilk olarak hipersensitif hücre ölümüne neden olur. Hipersensitivite, bitkinin sadece patojenin enfekte ettiği bölgedeki hücrelerini öldürmesi olayıdır. Hücre ölümü, patojenin sadece enfeksiyonun olduğu bölgede lokalize olmasına neden olur ve bu şekilde hastalığın yayılması önlenir.

b. Aktif oksijen türevlerinin ikinci fonksiyonu hastalık etmenine karşı doğrudan öldürücü etkide bulunmasıdır. Bilindiği gibi hidrojen peroksit yaraların enfekte olmasını önlemek ve çevreyi mikroplardan arındırmak için yaygın biçimde kullanılır.

c. Aktif oksijenin bir başka fonksiyonu da lignifikasyonda rol oynamasıdır. Lignin oluşumu bitkilerde enfeksiyondan sonra hücre duvarının sağlamlaştırılması bakımından önemlidir. Bitkide lignin yapılması da hidrojen peroksit kullanımı gerektirir. Gereksinim duyulan hidrojen peroksit bitki hücresinde enfeksiyona tepki olarak üretilen hidrojen peroksit'dir.

d. Aktif oksijenin öteki bir fonksiyonu da bitkilerde sinyal molekülü olarak görev yapmasıdır. Hastalık etmeninin enfeksiyonu sonucunda bitki hücresinde üretilen hidrojen peroksit veya diğer aktif oksijen türleri bitkinin dayanıklılık mekanizmasını uyarıcı etkide bulunur. Bu oksijen türleri sadece enfekte olmuş bölgedeki genleri uyarmakla kalmaz, aynı zamanda sistemik doku olarak bilinen ve bitkinin hastalık tarafından henüz etkilenmediği bölgelerine giderek oradaki genlerinde aktif hale gelmesini sağlar. Daha sonraki enfeksiyonlara da dayanıklılık son derece artar.

Oksidatif stres sürecinde meydana gelen reaktif oksijen türleri ve serbest radikaller nükleik asitleri, proteinleri ve lipitleri oksitleyebilir (Akkuş, 1995; Halliwell ve Gutteridge 1989; Meram ve Aktaran 2002; Stadtman, 2002).

Bitkilere patojenlerin girişinden sonra patojenlerin sebep olduğu aşırı duyarlılığı ışık reaksiyonları çok çeşitli serbest radikal formlar tarafından gerçekleştirilir. Bu durum, patojene maruz kalan yapraklarda yapılan kimyasal çalışmalarda antioksidan enzimlerin özellikle de peroksidazların, katalazların, süperoksit dismutazların ve süperoksit radikallerinin arttığının gösterilmesiyle desteklenmiştir. Organizmada geçiş metallerini (Fe^{+2} ve Cu^{+} gibi metaller) içeren enzimler vasıtasıyla moleküler oksijene tek elektronların transferi suretiyle oksidasyon reaksiyonları meydana gelir. Moleküler oksijenler yüksek derecede reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturma eğilimindedirler. Reaktif oksijen türleri (ROS), normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda oluşan süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^{\cdot})'dir (Tietz, 1995; Akkuş, 1995).

Burtis ve Ashwood (1999)'e göre reaktif oksijen türleri, çeşitli serbest radikallerin oluştuğu serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilirler ve hücrede karbon merkezli organik radikaller (R^{\cdot}), süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^{\cdot}) gibi çeşitli radikallerin oluşumuna neden olurlar.

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. İndirgenmiş geçiş metalleri süperoksit radikali meydana getirebilir. Süperoksit radikali kendisi direkt olarak zarar vermez. Bu radikal anyonun asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde

daha reaktiftir, oksidan perhidroksi radikali ($\text{HO}_2\cdot$) oluşturmak üzere oluşur (Kurutaş ve İnanç, 2004).

Süperoksit radikali ile hidroksi radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu reaksiyonda moleküler oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir. Süperoksit radikali hem oksitleyici hem indirgeyici özelliğe sahiptir. Örneğin ferrisitokrom c ya da nitroblue tetrazolium ile reaksiyonunda indirgeyici olarak davranarak bir elektron kaybeder ve moleküler oksijene okside olur. Süperoksit radikali oksidan olarak davranarak bir elektron alır ve hidrojen peroksit (H_2O_2) indirgenir (Burtis CA, 1999).

Hidrojen peroksit, bitkinin kendini savunması sırasında Chen ve ark., (1994)'e göre hastalık etmenin oluşturduğu sinyalin algılanması bitkinin savunma mekanizmasını aktif hale getirir.

Murray ve ark. (1996), biyolojik sistemlerde H_2O_2 'nin asıl üretimi süperoksitin nonenzimatik veya süperoksit dismutaz katalizli dismutasyon reaksiyonu ile H_2O_2 'ye dönüşmesiyle olduğunu bildirmektedir. Ayrıca, aminoasit oksidaz, ksantin oksidaz (XO) gibi bazı oksidaz enzimlerinin faaliyeti sonucunda *in vivo* olarak H_2O_2 üretilir. Bu reaksiyon, radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir ve süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir. Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROS) kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar.

Burtis ve Ashwood (1999)'e göre hidroksil radikali ($\text{OH}\cdot$), fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Ayrıca suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur. Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldir, yarılanma ömrü çok kısadır. Hidroksil radikali reaktif oksijen türlerinin (ROS) en güçlüsüdür. Oluştığı yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri (RS \cdot), karbon merkezli organik radikaller (R \cdot), organik peroksitler (RCOO \cdot) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur.

Sugimoto-Shirasu ve Robers (2003), hücrede normal metabolik yollardaki enzimatik reaksiyonlarda enzimlerin aktif yerinde ara ürünler olarak devamlı şekilde serbest radikaller oluşturduğunu bildirmişlerdir. Organogenesis, organların gelişimi ve

organları şekillendiren safha içinde yer alır. Bu sınırlar içinde farklılaşan hücrelerin sıralanışını içeren yapılarının şekillenmesine neden olan hücre grupları bölünür ve büyüme oluşur. Son çalışmalarda ROS hücre büyümesini düzenleyen ve gelişmeyi kontrol edebildiğini ileri sürmüşlerdir.

Gelişmede rol aldığı gösterilen ROS bir elektron alarak NADPH'ı kullanır ve süperoksit radikalleri O_2^- oluşturan NADPH oksidaz tarafından üretilir ve solunum patlamasından sorumlu ilk tanımlanan enzimlere benzer. ROS ayrıca kök büyümesinde, yaprak uzamasında vb. yapıların oluşumunda da görevlidir (Segal ve Abo, 1993).

Hücrelerin büyüme oranı ROS'un bulunduğu miktara bağlı olabilme durumunu düşündürmektedir (Fry, 1998). Ayrıca Sagi ve ark. (2004)'e göre ROS sadece gelişimi değil enzimleride kontrol ettiği belirtilmiştir. Büyüyen dokularda ve hücre duvarının sertleşmesinde hücre duvarının genişlemesine katılarak büyümede duraksama ve hücre de farklılaşma meydana getirir.

Reaktif oksijen türleri bitki gelişiminin önemli düzenleyicileri olarak bilinmektedir. ROS hücre büyümesinde rol aldığı ve ROS üretiminin düzenlenmesi bitki formunu kontrol eden önemli bir faktör olduğunu gösteren birçok delil bulunmaktadır. Sporofit vasküler bitki gövdesi; sürgün dokulardan elde edilir ve organların şekillendiği yer olan meristemde ve etrafında gelişme faaliyetinin çoğu oluşur (Martienssen ve Dolan, 1998).

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu patojenler, ozon (O_3), kuraklık, tuzluluk, azot dioksit (NO_2), kimyasal maddeler ve ilaçlar gibi bazı uyarıların etkisiyle artar. Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Süperoksit radikali (O_2^-) ve hidroksil radikali (OH) sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır. Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerdeki sistein sülfhidril grupları ve diğer amino grup asit kalıntıları okside olarak yıkılır, nükleer ve mitokondriyal DNA okside olur (Akkuş, 1995).

Percival (1998), hücre ve organ sistemlerini reaktif oksijen türlerine karşı koruyabilmek için organizma karmaşık bir sistem geliştirmiştir. Bu sistem endojen ve eksojen orjinli, etkileşimli ve birlikte çalışan çeşitli bileşenler içerir.

Serbest radikallere karşı hücresel savunma (antioksidan savunma sistemleri, antioksidanlar) reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu ve bunların meydana

getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler ve antioksidan sistem hasar öncesi radikal oluşumunu önler, oksidatif hasarı onarır, hasara uğramış molekülleri temizler (Akkuş, 1995).

Antioksidanlar, serbest radikallere karşı korunmada yararlıdır ve canlılarda pek çok hastalığın önlenmesinde önemli rol oynarlar. Oksidatif strese karşı bu etkilerini zincirleme şekilde ilerleyen lipid peroksidasyonu gibi serbest radikal üreten basamaklara etki ederek, direkt olarak reaktif oksijen türleri (ROS) konsantrasyonunu azaltarak, serbest radikal üretimini başlatan ilk radikali etkisiz hale getirerek ya da geçiş metalleri ile şelat oluşturarak gösterirler. Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Çaylak, 2011).

Çavdar ve Sifil (1997), canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddeler antioksidan olduğunu bildirmişlerdir.

Antioksidanlar, lipidlerin yanı sıra protein, DNA ve karbonhidrat gibi okside olabilen diğer tüm bileşikleri de içeren diğer bir tanım "okside olabilen substratlara kıyasla düşük konsantrasyonlarda bulunan ve substratların oksidasyonunu önleyen veya geciktiren maddeler" şeklindedir (Becker, 2004).

Rice-Evans, (1999)'a göre antioksidanların oksidatif reaksiyonlara etkisi farklı şekillerde olabilir:

a) ROS oluşmasını engelleyen sistemler: Demir ve bakır iyonlarını bağlayan metal şelatörleri, mitokondride doğal olarak oluşan ROS'ları indirgeyen mitokondriyal sitokrom oksidaz gibi.

b) ROS'ları yakalayıp nötralize eden antioksidanlar: Flavonoidler, α - tokoferol, askorbik asit, metiyonin, ürik asit, β -karoten, indirgenmiş glutatyon, mukus gibi. Bu tür antioksidanlar radikalik zincir reaksiyonunun başlamasını inhibe eder veya zincir reaksiyonunun ilerlemesine engel olarak radikalik reaksiyonu sona erdirirler.

c) Oluşan radikalleri detoksifiye eden sistemleri: ROS'ları daha az toksik ürünlere dönüştüren enzim sistemleridir. Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon-S-transferaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz bu enzimlerdendir.

Blokhina (2000), stres koşulları altında hücreleri korumak ve ROS düzeylerini kontrol altında tutabilmek için bitki dokuları ROS'ni ortadan kaldıran süperoksidad, katalaz, peroksidaz, askorbat peroksidaz vs. çeşitli enzimler ve düşük moleküler ağırlığa sahiptir.

Katalaz, H_2O_2 'i su ve moleküler oksijene dönüştürmektedir. Suyun yüksek enerjili iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalması sonucu da oluşur. Biyolojik sistemlerdeki en reaktif ve hasar verici radikal türüdür. Yarılanma ömrü çok kısa olmasına rağmen ortamda rastladığı her biyomolekülle tepkimeye girer ve oluştuğu yerde büyük hasara sebep olur. Her tür biyolojik molekülle reaksiyona girse de özellikle elektronca zengin bileşikler tercihli hedefleridir, nükleik asitler (pürin ve pirimidin bazları) ve proteinler (aromatik amino asitler) ile çeşitli radikal tepkimeler verir (Halliwell ve Gutteridge., 1989).

Arbona ve Jacas (2003), farklı NaCl konsantrasyonları uygulanan turuncgillerde antioksidan bir savunma oluştuğu SOD, GR, APX gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinde belirgin değişimler olduğu gözlemlenmiştir. Enzimatik antioksidan grubunda ise katalaz (H_2O_2 'nin moleküler oksijene dönüşümünü katalizler), askorbat peroksidaz (H_2O_2 'nin su ve monodehidroaskorbata dönüşümünü katalizler) antioksidan savunma mekanizmasında bulunmaktadır.

Harinasuf ve Poonsopa (2003), antioksidant bakımından zengin olan dut kültürlerinde tuzluluğun antioksidant enzimler üzerindeki etkileri incelemişler ve 50, 100 ve 150 mM tuz uygulanmış dut kültürlerinde 150 mM tuz konsantrasyonunda SOD, peroksidaz, glutatyon redüktaz enzimlerinin aktivitelerinde diğer konsantrasyonlara nazaran artış olduğu saptanmışlardır.

Jiang ve Zhang (2001), mısır fidelerine 10 ve 100 μ M ABA uygulandığında O_2 ve H_2O_2 ' in düzeylerinde artış olduğunu saptamış ve buna takiben SOD, CAT, APX ve GR enzimlerinin aktivitelerinde artış olduğunu tespit etmişlerdir. 100 μ M ABA uygulamasını takiben 24 saat içinde lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonunda bir artış olmadığı gözlenmiştir. 1000 μ M ABA uygulamasında ise aşırı miktarda O_2 ve H_2O_2 ' in oluşumunda çok önemli olan katalitik Fe içeriğinde artış olduğu görülmüştür. Düşük ABA konsantrasyonunun oksidatif hasara karşı antioksidant savunmayı meydana getirdiğini, ABA'nın yüksek konsantrasyonlarında aşırı miktarda ROS oluştuğunu ve

bununda bitki hücrelerinde oksidatif hasarın oluşmasına neden olduğunu göstermektedir.

Süperoksid grubuna göre daha az etkili olan katalaz ve peroksidaz gibi antioksidan enzimlerle H_2O_2 , su ve oksijen gibi ürünlere dönüştürülerek etkisizleştirirler. Oksidatif streslere tolerans sağlamada bitkilerin bu enzimlerin hücresel seviyelerini düzenlenmesi oldukça önemli olduğu bulunmuştur (Minibaeva ve Gordon, 2003).

Antioksidan enzimler hidrojenperoksitin detoksifikasyonunda katalaz, peroksidaz gibi enzimlerin aktivitesinde ve ROS 'ların detoksifiye edilmesinde görev yapmaktadırlar. H_2O_2 'i elemine ederler ve hücrelerde H_2O_2 konsantrasyonun düzenlenmesinde görev yaparlar (Koç, 2008).

Bakardjieva ve Christov, 1996'na göre çoklu moleküler formlara ve geniş bir hücre altı dağılımına sahip olan peroksidaz bitkilerde büyük oranda bulunur. Molekül ağırlıkları 35-100 kDa arasında değişmektedir. Bugüne kadar pek çok peroksidaz izole edilip karakterize edilmiş ve aminoasit dizilişleri belirlenmiştir.

Peroksidaz'lar ligninleşme, hücre duvarındaki polisakkaritlerin çapraz bağlanması ve proteinlerin toplanması gibi pek çok fizyolojik olayda rol oynamaktadır. Bunun yanı sıra düşük sıcaklık, SO_2 stresi, tuzluluk, su stresi, parazit enfeksiyonu, patojenler, sıcaklık stresi, UV ışık tesirleri gibi çeşitli stres faktörlerinin mevcudiyetinde artan peroksidaz aktivitesi, bu enzimin stres enzimi olarak anılmasına sebep olmuştur. Fiziksel, kimyasal ve biyolojik stresin değişikliğine tepki olarak bitkilerde POX aktivitesi artar (Kim ve ark., 2000).

Bitkisel peroksidaz yapraklarda, yaralanan gövdelerde, kotiledon yapraklarda, çiçek saplarında bulunmuş ve bu doku hücrelerinde nükleus, mitokondri, ribozom, hücre duvarı ve hücre membranlarında, ayrıca ekstraselüler bölgelerde de lokalize olmuştur. Peroksidaz enziminin çok sayıda fizyolojik olayda rol oynadığı ve birçok metabolik olayın gerçekleşmesine yardımcı olduğu bilindiğinden bu kadar çok fonksiyon ile bağdaştırılan bu enzimle ilgili araştırmalar yoğun bir şekilde sürdürülmektedir (Tasgın ve ark., 2006).

Sairam ve Srivastava, (2000); Minibaeva ve Gordon, (2003); Süperoksidaz; süperoksit radikalini, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çevirebildiği bildirmişlerdir. Bu durum;

$2 O_2^- + 2H^+ \text{ ----- } H_2O_2 + O_2$ şeklinde formülize edilir.

Bitkilerde metal kofaktörlerine bağlı olarak sınıflandırılan 3 farklı SOD izoenzimi vardır: Mn, Fe ve Cu/Zn (Alscher ve ark., 2002). Mn-SOD'lerin peroksizom ve mitokondride (Del Rio ve ark., 2003) ve bazı bitkilerin kloroplastlarında da bulunduğu bildirilmiştir (Hayakawa ve ark., 1984). Fe-SOD'nin bütün bitkilerde bulunmadığı (Ferreira ve ark., 2002) fakat kloroplastlarla ilgili olduğu gösterilmiştir (Alscher ve ark., 2002).

Sairam ve Srivastava (2000), oksidatif stres altındaki buğday genotiplerinde SOD aktivitesinde bir değişiklik gözlenmemiştir.

Kışlık çavdarla yapılan bir çalışmada 5 haftalık soğuğa uyum süresi sonunda yapraklardaki SOD aktivitesinin kontrollere göre %40.4 oranında arttığı bulunmuştur (Streb ve ark., 1996).

Kornyeyev ve ark. (2001), mutant pamuk bitkisiyle yapılan bir çalışmada SOD aktivitesinin, düşük sıcaklık uygulaması sonucu kontrole göre yaklaşık 3 kat arttığı belirlenmiştir.

Beak ve Skinner (2003), kışlık buğday yapraklarında 4 haftalık soğuğa uyum boyunca MnSOD genlerinin ifadesinin artış gösterdiği belirlenmiştir.

Katalaz; aerobik organizmaların tümünde, omurgalılarda, omurgasızlarda, bitkilerde ve mantarlarda bulunmaktadır (Bergmeyer ve Grabl, 1983). Katalaz yüksek konsantrasyondaki H_2O_2 'nin 2 elektronunu kullanarak su ve oksijene indirgenmesini katalizleyen demir içeren tetramerik ve yüksek molekül ağırlığına sahip bir enzimdir (McClung, 1997; Chaudiere ve Ferrari, 1999).

Katalaz çok az miktarda mitokondri matriksinde ve apoplast bölgede de bulunur. Katalaz'ın bitki dokusunda H_2O_2 'nin uzaklaştırılmasında önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Patykowski ve Urbanek, 2003).

Katalaz'ın koruyucu fonksiyonu; askorbik asit, glutatyon, E ve K vitaminleri tarafından güçlendirilir; çünkü bu bileşikler kolayca elektron alabilir ve serbest radikalın ortadan kaldırılmasında yakalayıcı fonksiyon üstlenebilir (Keha ve Küfrevioğlu, 2000).

Raskin (1995), salisilik asidin birkaç bitki türünde katalaz aktivitesinin temel bir bölgesini bloklamak suretiyle H_2O_2 'nin birikimine neden olduğu ve bu nedenle enzimi inhibe ettiği kabul edilmektedir.

Vanacker ve ark., (1998), bitkilerde katalaz aktivitesine etki eden faktörler ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Üç farklı yulaf çeşidine bir fungus ile muamele edildikten 24 saat sonra, birinde CAT aktivitesi yükselirken, 2. örnekte aktivitenin azaldığı belirlenmiştir.

Düşük sıcaklık stresine karşı domates genotipleri arasında ortaya çıkan farklı toleransta, antioksidatif enzimlerin ve antioksidant metabolitlerin belirleyici rolü bulunmaktadır. Örneğin, yüksek rakımlı bölgelere adapte olan yabani domates türünün (*Lycopersicon peruvianum*) kültür altındaki modern domatese (*L. esculentum*) göre düşük sıcaklık stresine karşı daha yüksek tolerans göstermesinin nedeni, yabani türün toksik O₂ radikallerinin oluşumunu daha etkin bir şekilde engellemesiyle ilişkili bulunmuştur (Bruggemann ve ark., 1999).

Hidrojen peroksidin detoksifikasyonunda önemli bir rol oynayan katalaz (CAT) enziminden yoksun transgenik domates bitkilerinin düşük sıcaklık stresine karşı dayanıklılıklarını tamamen kaybettiği bulunmuş ve katalazın düşük sıcaklık toleransında anahtar rolü oynadığı ileri sürülmüştür (Kerdnaimongkol ve Woodson, 1999).

Askorbat peroksidaz; bitki hücrelerinde H₂O₂'in detoksifikasyonunda en önemli indirgen substrat askorbattır. APX askorbatı H₂O₂ ve suya parçalamaktadır. Kloroplast gibi organellerde yüksek konsantrasyonlarda bulunan askorbat hızlı bir şekilde O₂'e indirgenmektedir. Askorbik asit, süperoksit anyonu, singlet oksijen ve H₂O₂ gibi ROS'ların geniş bir bölümünü elemine etmekte ve zincir kırıcı olark görev yapmaktadırlar (Beyer ve Biomembr, 1994).

APX enzimi yüksek bitkilerde keşfedilmiştir. Vakuol, hücre duvarı, sitozol de bulunan Guaiacol peroksidaz gibi birçok enzimden farklı olarak organellerde lokalize olmuştur. APX izoenzimleri dört farklı hücresel bölge lokalize olmuştur. Bitkilerde askorbat peroksidaz hem fotosentetik hemde fotosentetik olmayan dokularda milimolar konsantrasyonlarda birikebilir. Yapraklar klorofilden daha fazla askorbat içermektedir. Askorbat en önemli antioksidanlardan biridir ve doğrudan hidroksil radikalleri, süperoksit ve singlet oksijen ile reaksiyona girmektedir (Shigeoka ve Ishikawa, 2002).

Jean-Stephane (2003)'e göre doku kültürü ile çoğaltılmış armut bitkileri *E. amylovora* izolatlarının inokülasyonu sonucu oksidatif stresin oluşumu APOX, CAT, GST, GR'ın aktivasyonu analiz edilmiştir. Sonuç olarak *E. amylovora*'nın çeşitli

oksidatif enzimleri aktive ettiği bulunmuştur. Aktivasyon genelde 12 saat sonra başlamış ve 24 saat sonra maximum seviyeye ulaştığı kaydedilmiştir. Tüm bitkide nekrozlar görüldükten sonra azalma gözlenmiştir.

Venissea ve Barny (2003), *E. amylovora*'nın sebep olduğu stres sonucu enzimlerin aktivasyonunda genellikle 12-16. saatlerde yüksek olduğu belirlenmiştir.

Gaudriault (1999), elmada ise Hrp'nin N çeşidi olan HrpN apoplast içerisinde salgılanarak stres anında enzim salgılanmasında görevli olduğu belirlemiştir.

Keck ve Riedle-Bauer (1997), *E. amylovora* inokulasyonundan sonra gözlemlenen simptomların ve oksidatif stres şiddeti arasındaki ilişki optimal seviyeden fazla üretilen ROS'dan kaynaklıdır. *E. amylovora* katalaz, peroksidaz gibi direk olarak H₂O₂'yi parçalayabilen enzimlere sahiptirler.

Teranishi ve ark., (1974) ve Mukherjee ve Chaudhuri (1983)'e göre hidrojen peroksit analizi 1 g titanyum dioksit, 10 g potasyum sülfat ve 150 ml konsantre sülfürik asit 2 saat ısıtıldıktan sonra 1,5 lt tamamlanıp soğutulmuştur. 0.5 g yaş bitki örneği 10ml soğuk aseton ile homojenize edilip homojenat filtre kağıdından süzülerek 10 000 g de 5 dk santrifüj yapılır ve 415 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülerek belirlenmektedir.

Prolin tayini, hasattan önce uygulamaları temsil edecek şekilde bitkilerden alınan yaş yaprak örneği (1 g), 10 mL % 3'lük sülfo salisilik asit ile homojenizasyonu ve filtre kâğıdından süzülerek, spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile belirlenmektedir (Bates ve ark., 1973).

Katalaz enzim aktivitesi 240 nm'de H₂O₂'in kaybolmasının izlenmesi ile belirlenmektedir. Değerlendirme 1 g yaş ağırlık için 1 dakika içinde absorbansdaki değişim ile hesaplanmaktadır (Jebara ve ark., 2005).

Sairam ve Saxena, (2000)'e göre askorbat peroksidaz enzim aktivitesi, 290 nm'de askorbik asite bağlı H₂O₂'in indirgenmesiyle ölçülmektedir. Değerlendirme, 1 g yaş ağırlık için 1 dakika içinde absorbansdaki değişim olarak hesaplanmaktadır.

Süperoksit dismutaz (SOD) analizi, Nitroblue tetrazolium (NBT)'un 560 nm'de indirgenmesinin engellenmesi ile belirlenmektedir. SOD aktivitesi birim olarak NBT'nin % 50'sini indirgeyen aktivite olarak tebit edilmektedir (Rahnama ve Ebrahimzadeh, 2005).

Klorofil tayininde bitki örneklerinin 10 ml t soğuk % 80'lik aseton ile homojenizasyonundan sonra spektrofotometrede 645 nm ve 663 nm ölçülmektedir (Luna, 2000).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Denemede Santa Maria ve Ankara armut çeşitleri Breaburn, Golden, Gala, Scarlet elma çeşitlerinin 3 yaşlı fidanları materyal olarak kullanılmıştır. Fidanlardan elma çeşitleri M-9 anacına, armut çeşitleri ise M-106 anacına aşılı olup armut fidanları Çakal Fidancılık Kestel/Bursa, elma fidanları Eğirdir Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Eğirdir/Isparta'dan temin edilmiştir.

3.1.1. Yetiştirme koşulları

Fidanlar 16 kg toprak içeren (1:1:1, toprak-yanmış hayvan gübresi-kum) tenekelere dikilmiştir. Daha sonra bitkilere kalsiyumnitrat (Toros Gübre), humik asit (Agro Lig) ve amonyum sülfat % 21 (kristal AS) uygulanmıştır. Fidanlar gündüz sıcaklık 23-25°C gece 15-18 °C, % 65-70 neme ve 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ışık sistemine sahip sera koşullarında yetiştirilmiştir.



Şekil 1. Sera koşullarında yetiştirilen bitkilerin genel görünümü

3.1.2. Denemede kullanılan kimyasallar, aletler ve cihazlar

Denemelerde kimyasal olarak; KH_2PO_4 , H_2O_2 % 30, Titriplex III, Riboflavin, NBT Nitrobluetetrazolium, Amonyak % 25, Aseton, Ninhydrin, H_3PO_4 % 85, Glasiyel asedik asit, Titanyumdioksit, K_2SO_4 , H_2SO_4 , Sıvı azot; bakteriler için besiyeri olarak nutrient agar (NA) ve sakkaroz nutrient agar (NSA) kullanılmıştır.

Masa santrifijü (IEC Clinical Santrifüje USA), spektrofotometre (Pharmacia LKB-Biocrom, ULTRASPECT-III +40°C derece 18000 rpm), blendir (T18 temel Ultra-Turrax), pH metre (Schot C6 840 pH meter), derin dondurucu (-80

Arçelik), buz makinası (Arçelik), hassas terazi (Precisa Marka Xb 220 Ascs Model Analitik), terazi kapasite (220 gr hassasiyet 0,1 mg otomatik kalibrasyonlu), mikropipet (Fischer Comp.), karıştırıcı (vortex-genie model K-55 USA), saf su cihazı (Nts Reverse Osmosis NTS-6), buzdolabı (ariston ve arçelik), çalkalayıcı (GFL Comp.), su banyosu (memmert water baths); balon Joje cam 250 - 500 ve 1000 ml, spatül, alüminyum folyo, piset, filtre kağıdı Whatman 42, kaba filtre kağıdı, örnek saklama kabı, düz musluklu yedek hazneli 5 ml büret ve kıskaç, düz musluklu yedek hazneli 5 ml büret 0,1-1/10 ve kıskaç, plastik damlalık, kapaklı 1000 ml plastik şişe, cam planşet 6 cm yükseklik 3 cm çap, 60'lık plastik tüplük, eldiven tek kullanımlık, 20 cm cam tüp, 250 ml cam balon joje kapaklı, 50 ml konik kapaklı falcon tüp, piset, kapaklı plastik tüp, kapaklı balon joje, mikropipet 10-100 ve 1000 ml ve pipet ucu, mikropipet 500 ve 5000 ml ve pipet ucu, balık orta boy, kuvars küvet 3,5 ml, plastik kilitli orta boy torba ve bistrü denemelerde kullanılan alet ve ekipmanlardır.

3.1.3. Denemelerde kullanılan *Erwinia amylovora* izolatu

Norelli ve ark. (1988)'e göre yapılan virülenslik testi sonucunda % 83 virulent bulunan *Erwinia amylovora* 43b-3 izolatu (Selçuk Üniversitesi, Z.F.B.K. Bakteriyoloji Kültür Koleksiyonu) denemede kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitkilerin *Erwinia amylovora* ile inokulasyonu

E. amylovora izolatu (43b-3), % 5 NSA içeren besiyerinde 48 saat 25⁰C'de geliştirilmiştir ve spektrofotometrede OD 0,15 ve 650 nm dalga boyunda 1*10⁸ hücre/ml yoğunlukta süspansiyon hazırlanmıştır. İnokulasyon 10⁸ hücre/ml yoğunlukta bakteriyel süspansiyona batırılan steril bir makasla, sürgün ucundaki en genç iki yaprağın kesilmesiyle yapılmıştır (Şekil 2). İnokule edilen bitkiler etiketlenerek 24 saat süre için polietilen poşetle kapatılmıştır.



Şekil 2. Test bitkilerinin *E. Amylovora* ile inokulasyonu ve enfeksiyonu

- 10^8 hücre/ml yoğunluktaki *E. amylovora* süspansiyonunun steril makasa bulaştırılması
- Bitkilere *E. amylovora* inokulasyonu
- E. amylovora* inokule edilmiş bitkiler
- Etmenin yaprak damarlarında oluşturduğu yanıklık simptomsu

3.2.2. *Erwinia amylovora*'nın re-izolasyonu

Bitki örnekleri öncelikli olarak üzerindeki tozlardan arındırılmak için akan musluk suyunda iyice yıkanmıştır. Daha sonra % 1'lik sodyum hipokloritte 1 dakika tutulmuştur ve 3 seri steril saf sudan geçirildikten sonra laminar kabinde steril bistüri yardımıyla birkaç mm boyunda parçalara ayrılmıştır. Bu küçük parçalar içerisinde 10 ml steril saf su veya steril % 6'lık peptonlu su içerisinde atılarak 30 dakika bekletilmiştir.

Örnekler 10^{-3} – 10^{-6} oranlarında seyreltilerek steril öze yarıyla Nutrient Agar (NA), Sakkaroz Nutrient Agar (NSA-Nutrient broth 0,8 g, agar 1,5 g, sakkaroz 5 g/100 ml, pH:7.0) ve King B (Proteoz pepton 20.0 g, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 1,5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1,5 g, agar 15 g, Glycerol 10 g, /L saf su pH:7.2 (King ve ark., 1954) ekim yapılmıştır. Bakteriyel ekim yapılan besiyerleri 23-25°C' de 48 saat süreyle inkübe edilmişlerdir.

NSA besiyerinde tipik levan şeklinde oluşan kolonilerden saflaştırma yapılmıştır (Saygılı, 1995).

3.2.3. Biyokimyasal testler

Erwinia amylovora'nın tanısında kullanılan biyokimyasal testleri Fahy ve Parsly (1983), Lelliot ve Stead (1987)'e göre tespit edilmiş olan testlere göre yapılmış olup bu testler; 36⁰C da gelişim, indol üretimi testi, jelatin hirolizi testi, % 5 NSA 'da gelişim, King B besiyerinde fluoresan pigment oluşumu, oksidatif-fermantatif testi, esculin hidrolizi, karbonhidratlardan asit üretimi, tütün yaprağında aşırı duyarlılık'dır. Aynı koşullarda her bir test 3 kez tekrarlanmıştır. Bu testlere *Erwinia amylovora*'nın göstermiş olduğu reaksiyonlar Çizelge.1'de verilmiştir.

3.2.4. Moleküler tanılama

Elde edilen ve *Erwinia amylovora* olduğu biyokimyasal testlerle belirlenen izolatların PCR metodu ile

A: 5'-CGGTTTTTAAACGCTGGG-3'

B:5'-GGGCAAATACTCGGATT-3' primerleri kullanarak tanısı yapılmıştır.

3.2.5. Enzim analizi için bitki örneklerinin alınması

Bakteri inokulasyonundan sonraki 24. ve 72. saatlerde 1'er gram alınan yapraklar, kontrol bitkilerden alınan yapraklarda dahil olmak üzere alınmış alüminyum folyoya sarılarak sıvı azota batırılmıştır. Bu örnekler analizler uygulanıncaya kadar – 80⁰C'deki derin dondurucuda muhafaza edilmişlerdir (Teranishi ve ark. 1974).

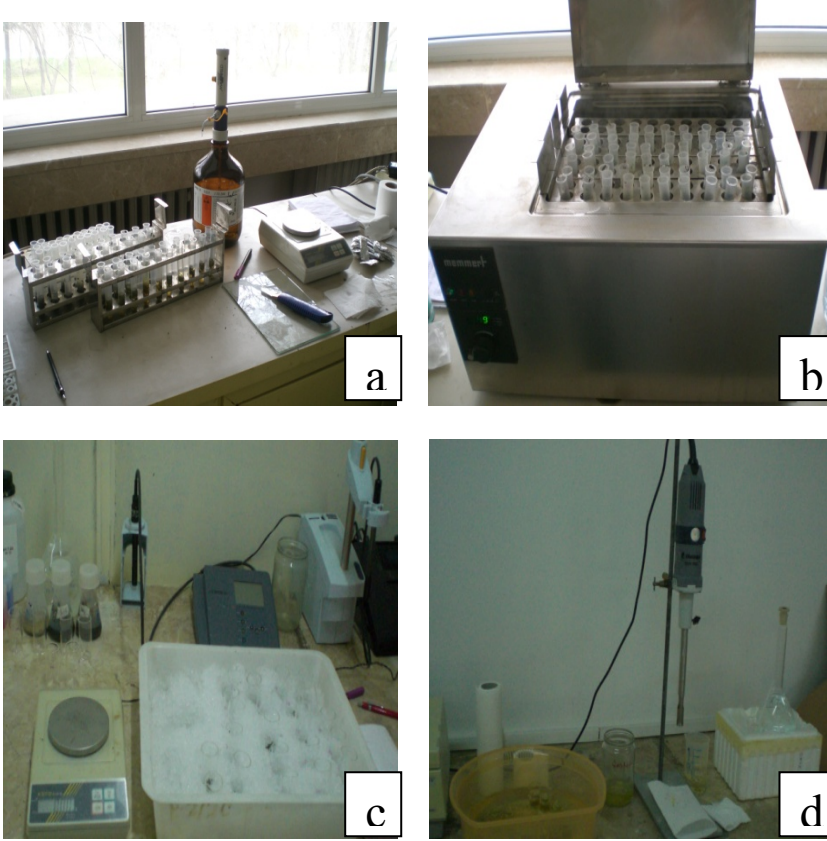
3.2.6. Antioksidan enzim analizleri için ekstrakt çıkarılması işlemleri

Sıvı azot içinde dondurulmuş yaprak örneği 5 mL soğuk ekstraksiyon çözeltisi [0.1 M Na-fosfat (pH 7.5), 0.5 mM Na-EDTA ve 1 mM askorbik asit] ile homojenize edildikten sonra, homojenat 4⁰C'de 30 dakika 18000 g'de santirüj edilmiştir. Homojenatın bir kısmında hemen CAT belirlenmiştir ve daha sonra SOD ve APX belirlenmesi için ekstrakt -20⁰C'de bekletilmiştir (Jebara ve ark., 2005).

3.2.7. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) konsantrasyonu belirlenmesi

1 g titanyum dioksit, 10 g potasyum sülfat ve 150 ml konsantre sülfürik asidin ısıtıcı tabla üzerinde 2 saat kaynatılmasıyla hazırlanan karışım soğutulularak 1.5 L'ye tamamlanmış ve bu karışım titanyum çözeltisi olarak kullanılmıştır. 0.5 g yaş bitki örneği 10 ml soğuk aseton ile homojenize edilip homojenat Whatman No:10 filtre

kağıdından süzölmüştür. Ekstrakt üzerine 4 ml titanyum çözeltisi ve 5 ml konsantre amonyak çözeltisi ilave edilip hidrojen peroksit-titanyum kompleksi oluşturulmuş ve 10000 g'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra, berrak kısım dökölmüş ve çökelti 10 ml 1 M H₂SO₄ ile çözülmüştür. Tekrar 10 000 g'de 5 dakika santrifüj yapılarak çözünmemiş metaryal uzaklaştırılıp 415 nm dalga boyuna ayarlı spektrofotometrede absorbans belirlenmiştir. H₂O₂ ile hazırlanan standart kurve ile değerlendirme yapılmıştır (Teranishi ve ark. 1974; Mukherjee ve Choudhuri, 1983).



Şekil 3. Enzim analizinin yapılışı

- a) H₂O₂ analizinde örneklerin tüpe alınışı
- b) Su banyosunda örneklerin kaynatılması
- c-d) Örneklerin buzdaki görüntüsü ve homojenizasyon aşaması

3.2.8. Prolin içeriğinin belirlenmesi

Yaprak örnekleri (0.5 g), 10 mL % 3'lük sülfosalisilik asit ile homojenize edilmiş ve Whatman No: 2 filtre kağıdından süzölmüştür. Süzökte prolin spektrofotometrik olarak Bates ve ark. (1973)'e göre belirlenmiştir.

3.2.9. Katalaz (CAT) aktivitesi belirlemesi

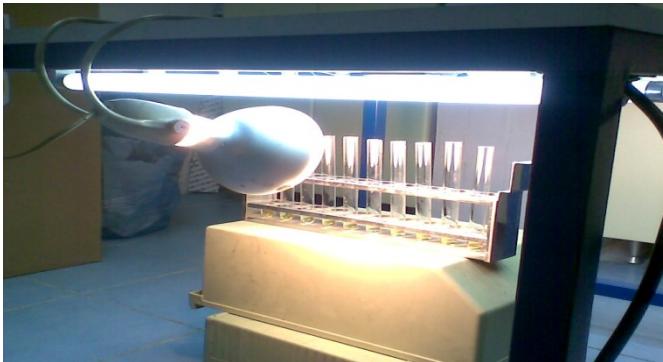
Katalaz enzim aktivitesi, 240 nm'de H_2O_2 'in kaybolmasının izlenmesi ile belirlenmiştir. Reaksiyon çözeltisi: 2.5 ml 0.05 M fosfat tampon (pH 7.0), 1.5 mM H_2O_2 ve 0.2 ml enzim ekstraktıdır. Değerlendirme 1 g yaş ağırlık için 1 dakika içinde absorbansdaki değişim ile hesaplanmıştır (Jebara ve ark., 2005).

3.2.10. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi belirlemesi

Askorbat peroksidaz enzim aktivitesi 290 nm'de askorbik asite bağlı H_2O_2 'in indirgenmesiyle ölçülmüştür. Reaksiyon çözeltisi: 3 mL 50 mM K-fosfat tampon çözeltisi (pH 7.0), 0.5 mM askorbik asit, 0.1 mM EDTA, 1.5 mM H_2O_2 ve 0.1 ml enzim ekstraktıdır. Reaksiyon 0.1 ml enzim ekstraktının ilavesi ile başlamıştır. Değerlendirme, 1 g yaş ağırlık için 1 dakika içinde absorbansdaki değişim olarak hesaplanmıştır (Sairam ve Saxena, 2000).

3.2.11. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi belirlemesi

Nitroblue tetrazolium (NBT)'un 560 nm'de indirgenmesinin engellenmesi ile belirlenmiştir. Reaksiyon çözeltisi (50 mM Na-fosfat tampon çözeltisi (pH 7.0), 0.1 mM Na-EDTA, 33 mM NBT, 5 mM Riboflavin, 13 mM methionin) 2.5 ml ve 0.2 ml enzim ekstraktı çalkalanmış ve 560 nm de absorpsiyon belirlenmiştir. Reaksiyon 25°C'de (40 W) 75 μ mol'de 10 dakika bekletilerek sağlanmıştır. Kontrol çözeltisi (enzimsiz olarak) aynı süre karanlıkta bekletilmiştir. SOD aktivitesi birim olarak NBT'nin % 50'sini indirgeyen aktivite olarak belirlenmiştir (Rahnama ve Ebrahimzadeh, 2005).



Şekil 4. SOD analizinde aktivite için örneklerin ışık altında belirlenmesi

3.2.12. Toplam klorofil analizi

Yaprak örnekleri parçalara ayrıldıktan sonra 10 ml soğuk % 80'lik aseton ile homojenizasyon yapılmıştır. Bu çözelti kaba filtre kağıdından süzümüştür. Falkon tüplere süzülen örneklerin üzeri asetonla 25 ml tamamlandıktan sonra spektrofotometrede 645 nm ve 654 nm de okuması yapılmıştır (Luna ve ark., 2000).



Şekil 5. Örneklerin filtre kağıdında ve aseton ilave aşaması süzülmesi

3.2.13. İstatistiksel analizler

Bütün sonuçlar Minitab paket programında (Lisans 10) yapılmıştır. ANOVA programında VARYANS analizi ve DUNCAN testi kullanılarak analiz edilmiştir. Bir grupta farklı harflere sahip değerler ($P < 0.01$ ve $P < 0.05$) seviyesinde istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Yürütülen çalışmada, yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında önemli ekonomik kayıplara neden olan ateş yanıklığı hastalığı etmeni *Erwinia amylovora* enfeksiyonundan sonra, farklı elma ve armut çeşitlerinde oluşan bazı enzim aktivitelerindeki zamana bağlı değişimler belirlenmiştir.

4.1. *Erwinia amylovora*'nın Re-İzolasyonu ve Tanılanması

Erwinia amylovora inokulasyonundan sonra Koch postulatları gereği re-izolasyon yapılmış ve elde edilen bakterinin tanısı yapılmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Enfeksiyon Sonrasında Re-izolasyonu yapılan *Erwinia amylovora*'nın Tanılanması

TEST	Referans kültür (43b-3)	İzole edilen bakteri
36°C da gelişim	-	-
İndol üretimi testi	-	-
Jelatin hirolizi testi	+	+
KOH testi	+	+
%5 SNA 'da gelişim	+	+
King B besiyerinde fluoresan	-	-
Pigment oluşumu	-	-
Oksidatif-fermantatif reaksiyonu	+	+
Aesculin hidrolizi	+	+
Karbonhidratlardan asit üretimi		
*Maltose	-	-
*Glycerol	-	-
*Mannitol	-	-
*Sorbitol	+	+
Tütün yaprağında aşırı duyarlılık reaksiyonu	+	+
PCR	+	+

+,Pozitif sonuç , -;Negatif sonuç

4.2. Elma Çeşitlerinde *Erwinia amylovora* Enfeksiyonu Sonrası Oluşan Biyotik Stresin Bazı Antioksidan Enzimler Üzerine Etkileri

4.2.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enziminin aktivitesi

Erwinia amylovora enfeksiyonunun Breaburn, Golden, Gala ve Skarlet elma çeşitlerinde süperoksit dismutaz aktivitesine olan etkileri Çizelge 2’de verilmiştir.

Enfeksiyondan sonraki 24. ve 72. saatlerdeki SOD aktiviteleri; tüm elma çeşitlerinde sayısal olarak düşüşler göstermiş çeşitler arasında ve örnekleme zamanları arasında istatistiki olarak farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,01$, Ek Çizelge 1).

Ayrıca elma çeşidi ve zaman interaksiyonları da önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Elde edilen verilere göre; enfeksiyondan sonraki 24. saatte SOD aktivitesi; Breaburn çeşidinde kontrolün (1,094 EU/g yaprak)’lık değerine göre oranla 1,041 EU/g yaprak’lık en düşük sayısal değeri ile 72. saatte Gala çeşidinde kontrole (1,094 EU/g yaprak) oranla (0,994 EU/g yaprak)’lık en düşük sayısal değeri ile elde edilmiştir.

Çizelge 2. SOD aktivitesinden bakımından inokule edilmiş elma çeşitleri ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	ZAMAN			
	24.saat		72.saat	
	Kontrol	Ea.İnokule edilmiş bitki	Kontrol	Ea.İnokule edilmiş bitki
Breaburn	1,094±0,128efg	1,041±0,103fg	1,084±0,094fg	1,040±0,044fg
Golden	1,715±0,237a	1,211±0,081cdef	1,279±0,103cde	1,165±0,102defg
Gala	1,279±0,044cde	1,100±0,098efg	1,094±0,067efg	0,994±0,055g
Skarlet	1,501±0,046g	1,213±0,150cdef	1,356±0,078bc	1,308±0,178cd

*Ea: *Erwinia amylovora*

Çizelge 2’deki veriler incelendiğinde Breaburn çeşidinde 24. ve 72. saatlerde SOD enzim aktivitesi istatistiksel olarak farklılık göstermezken diğer çeşitlerde zamana bağlı sayısal farklılık belirlenmiştir.

SOD aktivitesi bakımından çeşitlerdeki reaksiyon farklılıkları istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$), bu verilere göre Golden ve Skarlet en yüksek aktiviteye sahip çeşitler olarak belirlenmişlerdir (Çizelge 3, Ek Çizelge 1).

Çizelge 3. SOD aktivitesinden bakımından inokule edilmiş elma çeşitleri arasındaki değerlendirme

Çeşit	Breaburn	Golden	Gala	Skarlet
Ortalama	1,065±0,087a	1,343±0,259b	1,117±0,122a	1,344±0,152b

Aynı zamanda örnekleme zamanları arasında $p<0,01$ seviyesinde istatistiki farklılıklar belirlenmiş kontrollere oranla 24. ve 72. saatte alınan örneklerin SOD aktivitelerinde de düşüşler belirlenmiştir (Çizelge 4, Ek Çizelge 1).

Çizelge 4. SOD aktivitesinden bakımından inokule edilmiş uygulama zamanı arasındaki değerlendirme

Zaman	Kontro l (24. saat)	24. saat örnek	Kontrol (72. saat)	72. saat örnek
Ortalama	1,397±0,270a	1,141±0,122b	1,203±0,143a	1,127±0,157b

4.2.2. Katalaz (CAT) enziminin aktivitesi

Erwinia amylovora enfeksiyonunun Breaburn, Golden, Gala ve Skarlet elma çeşitlerinde katalaz aktivitesine olan etkileri Çizelge 5’de verilmiştir.

Enfeksiyondan sonraki 24. ve 72. saatlerdeki CAT aktiviteleri; tüm elma çeşitlerinde sayısal olarak artışlar göstermiş çeşitler arasında ve örnekleme zamanları arasında istatistiki olarak farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,01$, Ek Çizelge 2).

Ayrıca elma çeşidi ve zaman interaksiyonları da önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Elde edilen verilere göre; enfeksiyondan sonraki 24. saatte CAT aktivitesi; Golden çeşidinde kontrole ($0,002 \text{ mmol g}^{-1} \text{ YA dak}^{-1}$) oranla $0,021 \text{ mmol g}^{-1} \text{ YA dak}^{-1}$ yaprak’lık en yüksek sayısal değer ile yine 72. saatte Gala çeşidinde kontrole ($0,016 \text{ mmol g}^{-1} \text{ YA dak}^{-1}$) oranla $0,026 \text{ mmol g}^{-1} \text{ YA dak}^{-1}$ ’lık en yüksek sayısal değeri elde edilmiştir.

Çizelge 5. CAT aktivitesinden bakımından inokule edilmiş elma çeşitleri ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	ZAMAN			
	24.saat		72.saat	
	Kontrol	Ea.İnokule edilmiş bitki	Kontrol	Ea.İnokule edilmiş bitki
Breaburn	0,005±0,002c	0,012±0,001b	0,001±0,0005c	0,021±0,003a
Golden	0,002±0,001c	0,021±0,003a	0,004±0,001c	0,019±0,008b
Gala	0,007±0,002c	0,010±0,003b	0,016±0,005b	0,026±0,004a
Skarlet	0,012±0,002b	0,017±0,002b	0,012±0,002a	0,022±0,002b

*Ea: *Erwinia amylovora*

Çizelge 5'deki veriler incelendiğinde Golden çeşidinde 24. ve 72. saatlerde CAT enzim aktivitesi istatistiksel olarak farklılık göstermiş ve diğer çeşitlerde de zamana bağlı sayısal farklılıklar belirlenmiştir.

CAT aktivitesi bakımından çeşitlerdeki reaksiyon farklılıkları istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$), bu verilere göre Gala ve Skarlet en yüksek CAT enzimi aktivitesine sahip çeşitler olarak belirlenmişlerdir (Çizelge 6, Ek Çizelge 2).

Çizelge 6. CAT aktivitesinden bakımından inokule edilmiş elma çeşitleri arasındaki değerlendirme

Çeşit	Breaburn	Golden	Gala	Skarlet
Ortalama	0,0100±0,008a	0,011±0,010a	0,015±0,008a	0,016±0,004a

Aynı zamanda örnekleme zamanları arasında $p<0,01$ seviyesinde istatistiki farklılıklar belirlenmiş kontrollere oranla 24. ve 72. saatte alınan örneklerin CAT aktivitelerinde de artışlar belirlenmiştir (Çizelge 7, Ek Çizelge 2).

Çizelge 7. CAT aktivitesinden bakımından inokule edilmiş uygulama zamanı arasındaki değerlendirme

Zaman	Kontrol (24. saat)	24. saat örnek	Kontrol (72. saat)	72. saat örnek
Ortalama	0,006±0,004c	0,015±0,004b	0,008±0,006c	0,022±0,005a

4.2.3. Askorbat peroksidaz (APOX) enziminin aktivitesi

Erwinia amylovora enfeksiyonunun Breaburn, Golden, Gala ve Skarlet elma çeşitlerinde askorbat peroksidaz aktivitesine olan etkileri Çizelge 8'de verilmiştir.

Enfeksiyondan sonraki 24. ve 72. saatlerdeki APOX aktiviteleri; tüm elma çeşitlerinde sayısal olarak artışlar göstermiş çeşitler arasında ve örnekleme zaman interaksyonunda istatistiki olarak farklılıklar belirlenmemiştir ($p<0,01$ - $p<0,05$), zaman ise istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$, Ek Çizelge 3).

Çizelge 8. APOX aktivitesi bakımından inokule edilmiş elma çeşitleri ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	ZAMAN			
	24.saat		72.saat	
	Kontrol	Ea.İnokule edilmiş bitki	Kontrol	Ea.İnokule edilmiş bitki
Breaburn	0,661±0,071	1,601±0,2862	0,566±0,324	1,351±0,144
Golden	0,183±0,227	1,208±0,270	0,637±0,331	1,304±0,584
Gala	1,242±0,968	1,351±0,735	0,649±0,540	1,780±0,580
Skarlet	1,077±0,545	1,542±0,208	0,712±0,110	1,280±0,148

*Ea: *Erwinia amylovora*

Çizelge 9'deki veriler incelendiğinde çeşitler arasındaki 24. ve 72. saatlerde APOX enzimi aktivitesi istatistiksel olarak farklılık göstermemiş ve çeşitlerde de zamana bağlı sayısal farklılıklar belirlenmemiştir.

Çizelge 9. APOX aktivitesi bakımından inokule edilmiş elma çeşitleri arasındaki değerlendirme

Zaman	Kontrol (24. saat)	24. saat örnek	Kontrol (72. saat)	72. saat örnek
Ortalama	0,791±0,646b	1,426±0,401a	0,641±0,312b	1,429±0,420a

Aynı zamanda örnekleme zamanları arasında $p<0,01$ seviyesinde istatistiksel farklılıklar belirlenmiş kontrollere oranla 24. ve 72. saatte alınan örneklerin APOX aktivitelerinde de artışlar belirlenmiştir (Çizelge 10, Ek Çizelge 3).

Çizelge 10. APOX aktivitesi bakımından inokule edilmiş uygulama zamanı arasındaki değerlendirme

Çeşit	Breaburn	Golden	Gala	Skarlet
Ortalama	1,045±0,501	0,833±0,5738	1,255±0,749	1,153±0,410

4.2.4. Hidrojen peroksit (H_2O_2) enziminin aktivitesi

Erwinia amylovora enfeksiyonunun Breaburn, Golden, Gala ve Skarlet elma çeşitlerinde hidrojen peroksit konsantrasyonunun etkileri Çizelge 11'de verilmiştir.

Enfeksiyondan sonraki 24. ve 72. saatlerdeki H_2O_2 aktiviteleri; tüm elma çeşitlerinde sayısal olarak artışlar göstermiş çeşitler arasında ve örnekleme zamanları arasında istatistiksel olarak farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,0$, Ek Çizelge 4).

Ayrıca elma çeşidi ve zaman etkileşimlerinde de önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Elde edilen verilere göre; enfeksiyondan sonraki 24. saatte H_2O_2 aktivitesi; Skarlet çeşidinde kontrolün ($53,69 \text{ mmol kg}^{-1}$)'lık değerine göre oranla $95,92 \text{ mmol kg}^{-1}$ 'lik en yüksek sayısal değeri ile 72. saatte Gala çeşidinde kontrole ($77,75 \text{ mmol kg}^{-1}$) oranla ($96,82 \text{ mmol kg}^{-1}$)'lık en yüksek sayısal değeri ile elde edilmiştir.

Çizelge 11. H₂O₂ konsantrasyonu bakımından inokule edilmiş elma çeşitleri ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	ZAMAN			
	24.saat		72.saat	
	Kontrol	Ea.İnokule edilmiş bitki	Kontrol	Ea.İnokule edilmiş bitki
Breaburn	41,71±1,75f	72,96±9,64cde	61,57±22,47de	95,62±16,93ab
Golden	53,69±10,47ef	95,92±19,31ab	54,39±12,06ef	66,67±8,53cde
Gala	76,85±15,00bcd	93,03±5,90ab	77,75±5,78abcd	96,82±4,81a
Skarlet	69,36±17,54cde	85,54±3,00abc	68,06±2,78cde	83,54±7,10abc

Çizelge 10'deki veriler incelendiğinde Skarlet çeşidinde 24. ve 72. saatlerde H₂O₂ konsantrasyonu istatistiksel olarak farklılık göstermezken diğer çeşitlerde zamana bağlı sayısal farklılık belirlenmiştir.

H₂O₂ konsantrasyonu bakımından çeşitlerdeki reaksiyon farklılıkları istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$), bu verilere göre Gala ve Skarlet en yüksek aktiviteye sahip çeşitler olarak belirlenmişlerdir.(Çizelge 12, Ek Çizelge 4).

Çizelge 12. H₂O₂ konsantrasyonu bakımından inokule edilmiş elma çeşitleri arasındaki değerlendirme

Çeşit	Breaburn	Golden	Gala	Skarlet
Ortalama	67,96±24,00b	67,66±21,14b	86,11±12,01a	76,63±11,71ab

Aynı zamanda örnekleme zamanları arasında $p<0,01$ seviyesinde istatistiki farklılıklar belirlenmiş kontrollere oranla 24. ve 72. saatte alınan örneklerin H₂O₂ aktivitelerinde de artışlar belirlenmiştir (Çizelge 13, Ek Çizelge 4).

Çizelge 13. H₂O₂ konsantrasyonu bakımından inokule edilmiş uygulama zamanı arasındaki değerlendirme

Zaman	Kontrol (24. saat)	24. saat örnek	Kontrol (72. saat)	72. saat örnek
Ortalama	60,40±17,91a	86,86±13,36b	65,44±14,36a	85,66±15,47b

4.2.5. Toplam klorofil miktarı

Erwinia amylovora enfeksiyonunun Breaburn, Golden, Gala ve Skarlet elma çeşitlerinde toplam klorofil miktarına olan etkileri Çizelge 14'de verilmiştir.

Enfeksiyondan sonraki 24. ve 72. saatlerdeki toplam klorofil miktarına; tüm elma çeşitlerinde sayısal olarak artışlar göstermiş çeşitler arasında ve örnekleme zamanları arasında istatistiki olarak farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,01$) (Ek Çizelge 5).

Ayrıca elma çeşidi ve zaman etkileşimlerinde önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Elde edilen verilere göre; enfeksiyondan sonraki 24. saatte toplam klorofil miktarına;

Breaburn çeşidinde kontrolün 0,416'lık değerine göre oranla 0,429'luk en yüksek sayısal değeri ile 72. saatte Gala çeşidinde kontrole 0,282 oranla 0,451'lık en yüksek sayısal değeri ile elde edilmiştir.

Çizelge 14. Toplam klorofil miktarı bakımından inokule edilmiş elma çeşitleri ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	ZAMAN			
	24.saat		72. saat	
	Kontrol	Ea. İnokule edilmiş bitki	Kontrol	Ea. İnokule edilmiş bitki
Breaburn	0,416±0,073ab	0,429±0,058ab	0,168±0,003f	0,435±0,017a
Golden	0,162±0,019f	0,285±0,032cde	0,269±0,078def	0,381±0,056abc
Gala	0,210±0,025ef	0,255±0,053def	0,282±0,040cde	0,451±0,110a
Skarlet	0,166±0,029f	0,276±0,018cdef	0,312±0,060bcde	0,357±0,050abcd

Çizelge 14'deki veriler incelendiğinde Breaburn çeşidinde 24. ve 72. saatlerde toplam klorofil miktarına istatistiksel olarak farklılık gösterirken diğer çeşitlerde zamana bağlı sayısal farklılık belirlenmiştir.

Toplam klorofil miktarına bakımından çeşitlerdeki reaksiyon farklılıkları istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$), bu verilere göre Breaburn ve Gala en yüksek miktara sahip çeşitler olarak belirlenmişlerdir.(Çizelge 15, Ek Çizelge 5).

Çizelge 15. Toplam klorofil miktarı bakımından inokule edilmiş elma çeşitleri arasındaki değerlendirme

Çeşit	Breaburn	Golden	Gala	Skarlet
Ortalama	0,362±0,124a	0,274±0,092b	0,299±0,110b	0,278±0,082b

Aynı zamanda örnekleme zamanları arasında $p<0,01$ seviyesinde istatistiki farklılıklar belirlenmiş kontrollere oranla 24. ve 72. saatte alınan örneklerin toplam klorofil miktarında artışlar belirlenmiştir (Çizelge 16, Ek Çizelge 5).

Çizelge 16. Toplam klorofil miktarı bakımından inokule edilmiş uygulama zamanı arasındaki değerlendirme

Zaman	Kontrol (24. saat)	24. saat örnek	Kontrol (72. saat)	72. saat örnek
Ortalama	0,238±0,114c	0,311±0,080b	0,258±0,072c	0,406±0,070a

4.2.6. Prolin içeriğinin belirlenmesi

Erwinia amylovora enfeksiyonunun Breaburn, Golden, Gala ve Skarlet elma çeşitlerinde prolin içeriğine olan etkileri Çizelge 17’de verilmiştir.

Enfeksiyondan sonraki 24. ve 72. saatlerdeki prolin içeriği; tüm elma çeşitlerinde sayısal olarak artışlar göstermiş çeşitler arasında ve örnekleme zamanları arasında istatistiki olarak farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,01$) (Ek Çizelge 6).

Ayrıca elma çeşidi ve zaman interaksiyonları da önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Elde edilen verilere göre; enfeksiyondan sonraki 24. saatte prolin içeriği; Skarlet çeşidinde kontrolün ($0,920 \text{ mmol kg}^{-1}$)’lık değerine göre oranla $1,315 \text{ mmol kg}^{-1}$ ’lık en yüksek sayısal değeri ile 72. saatte Breaburn çeşidinde kontrole ($0,677 \text{ mmol kg}^{-1}$) oranla $1,630 \text{ mmol kg}^{-1}$ ’lık en yüksek sayısal değeri ile elde edilmiştir.

Çizelge 17. Prolin içeriği bakımından inokule edilmiş elma çeşitleri ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	ZAMAN			
	24. saat		72. saat	
	Kontrol	Ea. İnokule edilmiş bitki	Kontrol	Ea. İnokule edilmiş bitki
Breaburn	0,380±0,030fg	0,625±0,176de	0,677±0,083d	1,630±0,142a
Golden	0,426±0,068efg	0,388±0,021fg	0,534±0,076defg	0,567±0,090def
Gala	0,356±0,033g	0,500±0,072defg	0,482±0,073defg	0,617±0,057de
Skarlet	0,920±0,126c	1,315±0,413b	0,458±0,049 efg	1,179±0,498b

Çizelge 17’deki veriler incelendiğinde Skarlet çeşidinde 24. ve 72. saatlerde prolin içeriği istatistiksel olarak farklılık göstermezken diğer çeşitlerde zamana bağlı sayısal farklılık belirlenmiştir.

Prolin içeriği bakımından çeşitlerdeki reaksiyon farklılıkları istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$), bu verilere göre Breaburn ve Skarlet en yüksek aktiviteye sahip çeşitler olarak belirlenmişlerdir. (Çizelge 18, Ek Çizelge 6).

Çizelge 18. Prolin içeriği bakımından inokule edilmiş elma çeşitleri arasındaki değerlendirme

Çeşit	Breaburn	Golden	Gala	Skarlet
Ortalama	0,828±0,508a	0,479±0,097b	0,489±0,109b	0,968±0,443a

Aynı zamanda örnekleme zamanları arasında $p<0,01$ seviyesinde istatistiki farklılıklar belirlenmiş kontrollere oranla 24. ve 72. saatte alınan örneklerin prolin içeriğinde artışlar belirlenmiştir (Çizelge 19, Ek Çizelge 6).

Çizelge 19. Prolin içeriği bakımından inokule edilmiş uygulama zamanı arasındaki değerlendirme

Zaman	Kontrol (24. saat)	24. saat örnek	Kontrol (72. saat)	72. saat örnek
Ortalama	0,520±0,250b	0,707±0,424b	0,538±0,107b	0,998±0,509a

4.3. Armut Çeşitlerinde *Erwinia amylovora* Enfeksiyonu Sonrası Oluşan Biyotik Stresin Bazı Antioksidan Enzimler Üzerine Etkileri

4.3.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enziminin aktivitesi

Erwinia amylovora enfeksiyonunun Ankara ve Santa Maria armut çeşitlerinde süperoksit dismutaz aktivitesine olan etkileri Çizelge 20’de verilmiştir.

Enfeksiyondan sonraki 24. ve 72. saatlerdeki SOD aktiviteleri; tüm armut çeşitlerinde sayısal olarak düşüşler göstermiş çeşitler arasında ve örnekleme zamanları arasında istatistiki olarak farklılıklar belirlenmemiştir ($p<0,01$ - $p<0,05$) (Ek Çizelge 7).

Ayrıca elma çeşidi ve zaman interaksiyonları da önemli bulunmamıştır ($p<0,01$ - $p<0,05$).

Çizelge 20. SOD aktivitesinden bakımından inokule edilmiş armut çeşitleri ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	ZAMAN			
	24. saat		72. saat	
	Kontrol	Ea.İnokule edilmiş bitki	Kontrol	Ea.İnokule edilmiş bitki
Ankara	1,580±0,578	1,272±0,045	1,258±0,037	1,336±0,114
Santa Maria	1,272±0,021	1,454±0,035	1,471±0,121	1,392±0,218

SOD aktivitesi bakımından çeşitlerdeki reaksiyon farklılıkları istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($p<0,01$ - $p<0,05$) (Çizelge 21, Ek Çizelge 7).

Çizelge 21. SOD aktivitesinden bakımından inokule edilmiş armut çeşitleri arasındaki değerlendirme

Çeşit	Ankara	Santa Maria
Ortalama	1,362±0,286	1,397±0,135

Aynı zamanda örnekleme zamanları arasında da $p<0,01$ - $p<0,05$ seviyesinde istatistiki farklılıklar belirlenmemiştir.(Çizelge 22, Ek Çizelge 7).

Çizelge 22. SOD aktivitesi bakımından inokule edilmiş uygulama zamanı arasındaki değerlendirme

Zaman	Kontrol (24. saat)	24. saat örnek	Kontrol (72. saat)	72. saat örnek
Ortalama	1,426±0,403	1,363±0,106	1,365±0,141	1,364±0,159

4.3.2. Katalaz (CAT) enziminin aktivitesi

Erwinia amylovora enfeksiyonunun Ankara ve Santa Maria armut çeşitlerinde katalaz enzimi aktivitesine olan etkileri Çizelge 23’de verilmiştir.

Enfeksiyondan sonraki 24. ve 72. saatlerdeki CAT aktiviteleri; tüm armut çeşitlerinde sayısal olarak düşüşler göstermiş çeşitler arasında ve örnekleme zamanları arasında istatistiki olarak farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,01$, Ek Çizelge 8).

Ayrıca elma çeşidi ve zaman interaksyonları da önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Elde edilen verilere göre; enfeksiyondan sonraki 24. saatte CAT aktivitesi; Santa Maria çeşidinde kontrolün ($0,023 \text{ mmol g}^{-1} \text{ YA dak}^{-1}$)’lık değerine göre oranla $0,052 \text{ mmol g}^{-1} \text{ YA dak}^{-1}$ ’lik en yüksek sayısal değeri ile 72. saatte Ankara çeşidinde kontrole ($0,014 \text{ mmol g}^{-1} \text{ YA dak}^{-1}$) oranla ($0,039 \text{ mmol g}^{-1} \text{ YA dak}^{-1}$)’lık en yüksek sayısal değeri ile elde edilmiştir.

Çizelge 23. CAT aktivitesi bakımından inokule edilmiş armut çeşitleri ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	ZAMAN			
	24. saat		72. saat	
	Kontrol	Ea. İnokule edilmiş bitki	Kontrol	Ea. İnokule edilmiş bitki
Ankara	0,046±0,001ab	0,031±0,017bc	0,014±0,001de	0,039±0,001bc
Santa Maria	0,023±0,003cd	0,052±0,004a	0,011±0,003de	0,008±0,002e

Çizelge 23’deki veriler incelendiğinde Ankara çeşidinde 24. ve 72. saatlerde CAT enzim aktivitesi istatistiki olarak farklılık göstermezken diğer çeşitlerde zamana bağlı sayısal farklılık belirlenmiştir.

CAT aktivitesi bakımından çeşitlerdeki reaksiyon farklılıkları istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$), bu verilere göre Ankara en yüksek aktiviteye sahip çeşit olarak belirlenmişlerdir.(Çizelge 24, Ek Çizelge 8).

Çizelge 24. CAT aktivitesi bakımından inokule edilmiş armut çeşitleri arasındaki değerlendirme

Çeşit	Ankara	Santa Maria
Ortalama	0,032±0,014a	0,023±0,018b

Aynı zamanda örnekleme zamanları arasında $p<0,01$ seviyesinde istatistiki farklılıklar belirlenmiş kontrollere oranla 24. ve 72. saatte alınan örneklerin CAT aktivitelerinde de yükselişler belirlenmiştir (Çizelge 25, Ek Çizelge 8).

Çizelge 25. CAT aktivitesi bakımından inokule edilmiş uygulama zamanı arasındaki değerlendirme

Zaman	Kontrol (24. saat)	24. saat örnek	Kontrol (72. saat)	72. saat örnek
Ortalama	0,034±0,013ab	0,042±0,016a	0,012±0,002c	0,024±0,017bc

4.3.3. Askorbat peroksidaz (APOX) enziminin aktivitesi

Erwinia amylovora enfeksiyonunun Ankara ve Santa Maria armut çeşitlerinde askorbat peroksidaz enzimi aktivitesine olan etkileri Çizelge 26’de verilmiştir.

Enfeksiyondan sonraki 24. ve 72. saatlerdeki APOX enzimi aktiviteleri; tüm armut çeşitlerinde sayısal olarak yükselişler göstermiş çeşitler arasında ve örnekleme zamanları arasında istatistiki olarak farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,01$, Ek Çizelge 9).

Ayrıca armut çeşidi ve zaman interaksiyonlarında önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Elde edilen verilere göre; enfeksiyondan sonraki 24. saatte APOX enzimi aktivitesi; Santa Maria çeşidinde kontrolün ($1,077 \text{ mmol g}^{-1}\text{dak}^{-1}$)’lık değerine göre oranla 2,292 $\text{mmol g}^{-1}\text{dak}^{-1}$ yaprak’lık en yüksek sayısal değeri ile 72. saatte Ankara çeşidinde kontrole ($2,339 \text{ mmol g}^{-1}\text{dak}^{-1}$) oranla ($3,613 \text{ mmol g}^{-1}\text{dak}^{-1}$)’lık en yüksek sayısal değeri ile elde edilmiştir.

Çizelge 26. APOX aktivitesi bakımından inokule edilmiş armut çeşitleri ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	ZAMAN			
	24. saat		72. saat	
	Kontrol	Ea.İnokule edilmiş bitki	Kontrol	Ea.İnokule edilmiş bitki
Ankara	0,488±0,311c	1,411±0,155bc	2,339±0,533b	3,613±0,337a
Santa Maria	1,077±0,303c	2,292±0,593b	0,875±0,468c	0,875±0,468c

Çizelge 26'deki veriler incelendiğinde Breaburn çeşidinde 24. ve 72. saatlerde APOX enzim aktivitesi istatistiksel olarak farklılık göstermezken diğer çeşitlerde zamana bağlı sayısal farklılık belirlenmiştir.

APOX aktivitesi bakımından çeşitlerdeki reaksiyon farklılıkları istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$), bu verilere göre Ankara çeşidi en yüksek aktiviteye sahip çeşitler olarak belirlenmişlerdir.(Çizelge 27, Ek Çizelge 9).

Çizelge 27. APOX aktivitesi bakımından inokule edilmiş armut çeşitleri arasındaki değerlendirme

Çeşit	Ankara	Santa Maria
Ortalama	1,963±1,245a	1,280±0,735b

Aynı zamanda örnekleme zamanları arasında $p<0,01$ seviyesinde istatistiki farklılıklar belirlenmiş kontrollere oranla 24. ve 72. saatte alınan örneklerin APOX enziminin aktivitelerinde de yükselişler belirlenmiştir (Çizelge 28, Ek Çizelge 9).

Çizelge 28. APOX aktivitesi bakımından inokule edilmiş uygulama zamanı arasındaki değerlendirme

Zaman	Kontrol (24. saat)	24. saat örnek	Kontrol (72. saat)	72. saat örnek
Ortalama	0,783±0,424b	1,851±0,619a	1,607±0,919a	2,244±1,543a

4.3.4. Hidrojen peroksit (H₂O₂) konsantrasyonu aktivitesi

Erwinia amylovora enfeksiyonunun Ankara ve Santa Maria armut çeşitlerinde hidrojen peroksit konsantrasyonuna olan etkileri Çizelge 29'de verilmiştir.

Enfeksiyondan sonraki 24. ve 72. saatlerdeki H₂O₂ konsantrasyonları; tüm armut çeşitlerinde sayısal olarak yükselişler göstermiş çeşitler arasında ve örnekleme zamanları arasında istatistiki olarak farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,01$, Ek Çizelge 10).

Ayrıca elma çeşidi ve zaman interaksiyonları da önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Elde edilen verilere göre; enfeksiyondan sonraki 24. saatte H₂O₂ konsantrasyonları; Ankara çeşidinde kontrolün (64,37 mmol kg⁻¹)'lık değerine göre oranla 116,29 mmol kg⁻¹ en yüksek sayısal değeri ile 72. saatte Ankara çeşidinde kontrole (39,81 mmol kg⁻¹) oranla (67,37 mmol kg⁻¹)'lık sayısal değeri elde edilmiştir.

Çizelge 29. H₂O₂ konsantrasyonu bakımından inokule edilmiş armut çeşitleri ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	ZAMAN			
	24. saat		72. saat	
	Kontrol	Ea.İnokule edilmiş bitki	Kontrol	Ea.İnokule edilmiş bitki
Ankara	64,37±16,03cd	116,29±20,42a	39,81±1,05d	67,37±4,80cd
Santa Maria	72,16±11,08bcd	103,41±14,97ab	102,51±10,95ab	82,44±18,12bc

Çizelge 29'deki veriler incelendiğinde çeşitlerde 24. ve 72. saatlerde H₂O₂ konsantrasyonu istatistiksel olarak farklılık gösterirken diğer çeşitlerde de zamana bağlı sayısal farklılık belirlenmiştir.

H₂O₂ konsantrasyonu bakımından çeşitlerdeki reaksiyon farklılıkları istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,01$), bu verilere göre Santa Maria en yüksek konsantrasyona sahip çeşit olarak belirlenmişlerdir (Çizelge 30, Ek Çizelge 10).

Çizelge 30. H₂O₂ konsantrasyonu bakımından inokule edilmiş armut çeşitleri arasındaki değerlendirme

Çeşit	Ankara	Santa Maria
Ortalama	71,96±31,08b	90,13±18,40a

Aynı zamanda örnekleme zamanları arasında $p < 0,01$ seviyesinde istatistiki farklılıklar belirlenmiş kontrollere oranla 24. ve 72. Saatte alınan örneklerin H₂O₂ konsantrasyonunda da yükselişler belirlenmiştir (Çizelge 31, Ek Çizelge 10).

Çizelge 31. H₂O₂ konsantrasyonu bakımından inokule edilmiş uygulama zamanı arasındaki değerlendirme

Zaman	Kontrol (24. saat)	24. saat örnek	Kontrol (72. saat)	72. saat örnek
Ortalama	68,26±13,04b	109,85±17,49a	71,16±35,04b	74,90±14,45b

4.3.5. Toplam klorofil miktarı

Erwinia amylovora enfeksiyonunun Ankara ve Santa Maria çeşitlerinde toplam klorofil miktarına olan etkileri Çizelge 32'de verilmiştir. Enfeksiyondan sonraki 24. ve 72. saatlerdeki toplam klorofil miktarı; tüm armut çeşitleri arasında ve örnekleme zamanları arasında istatistiki olarak farklılıklar belirlenmemiştir ($p < 0,01$ - $p < 0,05$, Ek Çizelge 11).

Çizelge 32. Toplam klorofil miktarı bakımından inokule edilmiş armut çeşitleri ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	ZAMAN			
	24. saat		72. saat	
	Kontrol	Ea. İnokule edilmiş bitki	Kontrol	Ea. İnokule edilmiş bitki
Ankara	0,521±0,039	0,509±0,066	0,543±0,015	1,233±0,740
Santa Maria	0,831±0,033	0,804±0,032	0,636±0,140	0,907±0,082

Çizelge 32'deki veriler incelendiğinde çeşitler arasında 24. ve 72. saatlerde toplam klorofil miktarı istatistiksel olarak farklılık göstermezken diğer çeşitlerde zamana bağlı sayısal farklılık belirlenmemiştir.

Toplam klorofil miktarı bakımından çeşitlerdeki reaksiyon farklılıkları istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($p < 0,01$ - $p < 0,05$) (Çizelge 33, Ek Çizelge 11).

Çizelge 33. Toplam klorofil miktarı bakımından inokule edilmiş armut çeşitleri arasındaki değerlendirme

Çesit	Ankara	Santa Maria
Ortalama	0,702±0,451	0,794±0,126

Aynı zamanda örnekleme zamanları arasında $p < 0,01$ - $p < 0,05$ seviyesinde istatistiki farklılıklar belirlenmemiştir (Çizelge 34, Ek Çizelge 11).

Çizelge 34. Toplam klorofil miktarı bakımından inokule edilmiş uygulama zamanı arasındaki değerlendirme

Zaman	Kontrol (24. saat)	24. saat örnek	Kontrol (72. saat)	72. saat örnek
Ortalama	0,676±0,173b	0,657±0,168b	0,590±0,103b	1,070±0,504a

4.3.6. Prolin içeriği

Erwinia amylovora enfeksiyonunun Ankara ve Santa Maria armut çeşitlerinde prolin içeriğine olan etkileri Çizelge 35'de verilmiştir. Enfeksiyondan sonraki 24. ve 72. saatlerdeki prolin içeriği; tüm armut çeşitlerinde sayısal olarak yükselişler göstermiş ve örnekleme zamanları arasında istatistiki olarak farklılıklar belirlenmiştir ($p < 0,01$) (Ek Çizelge 12).

Ayrıca elma çeşidi ve zaman etkileşimlerinde de önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Elde edilen verilere göre; enfeksiyondan sonraki 24. saatte prolin içeriği; Santa Maria çeşidinde kontrolün ($0,394 \text{ mmol kg}^{-1}$)'lık değerine göre oranla $0,767 \text{ mmol kg}^{-1}$ 'lik

en yüksek sayısal değeri ile 72. saatte Santa Maria çeşidinde kontrole (0,368 mmol kg-1) oranla (0,466 mmol kg-1)'lık en yüksek sayısal değeri ile elde edilmiştir.

Çizelge 35. Prolin içeriği bakımından inokule edilmiş armut çeşitleri ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	ZAMAN			
	24. saat		72. saat	
	Kontrol	Ea.İnokule edilmiş bitki	Kontrol	Ea.İnokule edilmiş bitki
Ankara	0,480±0,102bc	0,579±0,049b	0,406±0,095c	0,406±0,095c
Santa Maria	0,394±0,042c	0,767±0,081a	0,368±0,042c	0,466±0,033bc

Çizelge 35'deki veriler incelendiğinde çeşitlerde 24. ve 72. saatlerde prolin içeriği istatistiksel olarak farklılık göstermemiştir. Prolin içeriği bakımından çeşitlerdeki reaksiyon farklılıkları istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($p<0,01$ - $p<0,05$) (Çizelge 36, Ek Çizelge 12).

Çizelge 36. Prolin içeriği bakımından inokule edilmiş armut çeşitleri arasındaki değerlendirme

Çeşit	Ankara	Santa Maria
Ortalama	0,468±0,105	0,499±0,172

Aynı zamanda örnekleme zamanları arasında $p<0,01$ seviyesinde istatistiki farklılıklar belirlenmiş kontrollere oranla 24. ve 72. saatte alınan örneklerin prolin içeriğinde de artışlar belirlenmiştir (Çizelge 37, Ek Çizelge 12).

Çizelge 37. Prolin içeriği bakımından inokule edilmiş uygulama zamanı arasındaki değerlendirme

Zaman	Kontrol (24. saat)	24. saat örnek	Kontrol (72. saat)	72. saat örnek
Ortalama	0,437±0,084b	0,673±0,119a	0,387±0,069b	0,436±0,072b

Erwinia amylovora'dan kaynaklı oksidatif stresle ilgili ülkemizde yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu yönü ile orijinal bir çalışma niteliğinde olan araştırmaya dünyada şu ana kadar çalışma yapılan elma konukçusu dışında armutlarlada kıyaslama yapılarak yürütülen ilk çalışmadır.

In vitro'da *Erwinia amylovora*, *P.syringae pv.tabaci*'den kaynaklanan artan oksidatif stres altında H_2O_2 'nin 10 kat arttığını ve bu oksidatif stres anında bakterilerinde bunu tolere edebildiklerini göstermişlerdir (Venisse, J.S., Gullner, G. ve Brisset, M.N., 2002).

Biyolojik strese neden olan ve bitkinin savunma mekanizmasını hareketlendirerek antioksidan enzimleri aktive eden ve stres anında bu enzimlerin artışını sağlayan *E. amylovora* katalaz, peroksidaz, süperoksitdismutaz gibi direk olarak H_2O_2 'yi parçalayabilen enzimlere sahiptir (Keck, M., Riedle-Bauer, M. and Richter, S., 1997).

E. amylovora inokülasyonundan sonra doku kültürüyle çoğaltılmış armut bitkilerinde oksidatif yanıklık, hastalığın ve semptomların şiddeti arasında bağlantı olduğu reaktif oksijen türlerinin optimal üretimi ve savunma mekanizmasında etkili olan enzimlerin aktive edilmesi için ilk adım olarak akla gelmiştir (Jean-Stephane Venisse, Marie-Anne Barny, 2003).

Oksidatif stres asma bitkisinde (Walker 1994, Sivritepe ve Eris 1999, Troncoso ve ark. 1999, Fisarakis ve ark. 2001, Charbaji ve Ayyoubi 2004, Paranychianakis ve ark. 2004, Hepaksoy ve ark. 2006, Hamrouni ve ark. 2008), marulda (Tarakcioglu ve Inal 2002), domates bitkisinde (Estan ve ark. 2004), adi fasulyede (Jebara ve ark. 2005), sinirotu bitkisinde (Sekmen ve ark. 2007); bor toksisitesinin mısır bitkisinde (Günes vd. 2000), domateste (Soy ve Günes 2003), tek ve çift çenkli bitkiler ile buğdayda (Reid ve ark. 2004), asmada (Gunes ve ark. 2006) ve tuzla birlikte bor stresinin domates ve salatalık bitkisinde (Alpaslan ve Gunes 2001), havuçta (Eraslan ve ark. 2007) ve malta eriginde (Lopez-Gomez ve ark. 2007) ve *Erwinia amylovora* kaynaklı stresin armut bitkilerinde Bauerve ve Beer (1991), Venisse, Gullner ve Brisset (2001), Jean-Stephane 2003 bitki gelişimini olumsuz etkilediği bildirilmiştir ve antioksidan enzimlerin (SOD, CAT, APOX) ve fizyolojik parametrelerin (prolin, H_2O_2 , nisbi klorofil miktarı) genel olarak stres anında arttığı görülmüştür.

Oksidatif stres etkisiyle bitkilerin mekanizmasındaki enzimlerin prolin, nisbi klorofil miktarı arttığını bildiren birçok araştırma da bulunmaktadır (Sairam ve ark. 1998, Sairam ve Saxena 2000, Prochazkova ve ark. 2001, Sairam ve Srivastava, 2002). Oksidatif stres anında soğan bitkisinde (Inal ve Tarakcioglu 2001), domates ve salatalıkta (Alpaslan ve Gunes, 2001), sorgum ve mısırdaki (Ismail., 2003) ve arpada (Karabal ve ark., 2003) membran zararlanmalarına yol açtığı daha önceki çalışmalarda da belirtilmiştir.

Antioksidan enzimlerle (SOD, CAT, APOX) fizyolojik parametreler (H_2O_2 , prolin, nisbi klorofil miktarı) arasında doğrusal bir ilişkinin olduğunu ve stres koşullarında bitki membranlarında zararlanmalardan dolayı bitkideki miktarlarının da

arttığını bildiren araştırmalar (Prochazkova ve ark. 2001, Sairam ve Srivastava; 2002, Sairam ve ark., 2002) bu çalışmadan elde edilen sonuçları destekler niteliktedir.

Artan hidrojen peroksit konsantrasyonu ile birlikte artan prolin içeriği bitkilerin bor stresine (Karabal ve ark. 2003) ve tuzla birlikte bor stresine (Alpaslan ve Gunes 2001) karşılık genel olarak verdiği bir tepkidir.

Çalışmamızda biyolojik bir stres olan *E.amylovora* kaynaklı bir oksidatif stres elma fidanlarında hem prolin miktarı, CAT, APOX, nisbi klorofil miktarı artırmıştır; armut fidanlarında CAT, APOX, prolin ve H₂O₂ konsantrasyonu artırmıştır. Ayrıca *E.amylovora*'ya toleransı yüksek olan çeşitlerde hidrojen peroksit içeriğinin de yüksek olduğu belirlenmiştir. Benzer sonuçlar oksidatif stres şartlarında Sairam ve Srivastava (2001), Sairam ve Srivastava (2002), Sairam ve ark. (2002), Eraslan ve ark. (2007) tarafından da bildirilmiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Biyotik stres faktörleri, bitkilerde morfolojik, anatomik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeyde pek çok değişikliklere neden olmaktadır. Özellikle *E. amylovora* kaynaklı oksidatif stres, bitkinin büyüme ve gelişiminin yanı sıra bitki üretkenliği ve verimliliğini önemli derecede etkilemektedir. Büyük oranda ürün kaybına neden olması dolayısıyla bu stres, her yıl çok büyük ekonomik zarara da neden olmaktadır. Bu biyolojik stres, bitkilerin makro, hüresel ve moleküler düzeyinde bir dizi değişimlere sebep olmaktadır. Bitki hücrelerinin su ve iyon içeriklerini etkilemekte, kloroplast yapısını bozmakta, fotosentetik pigment, protein ile karbonhidrat içeriğini değiştirmekte, fotosentez ve diğer biyosentez reaksiyonları ile antioksidan enzimler ve ozmolitlerin sentezini etkilemektedir. *E. amylovora* kaynaklı stresin bitkideki etkileri ve bu etkilere karşı bitkilerin verdikleri karmaşık cevaplar üzerine araştırmalar yoğun şekilde devam etmektedir. Bizim yaptığımız bu çalışmada hidrojen peroksit konsantrasyonu diğer stres çalışmalarına oranla elma çeşitlerimizde ters bir tutum göstermiş ve azalmıştır. Bitkiler gerek *E. amylovora* gerekse beraberinde ortaya çıkan oksidatif ve su stresi gibi diğer stres faktörlerine karşı çoklu tolerans stratejileri geliştirmektedirler. Bitkilerin farklı gelişim dönemlerinde toleransı sağlayan farklı mekanizmaların bilinmesi önem arz etmektedir. Ayrıca farklı bitkilerde geliştirilen tolerans stratejilerinin karşılaştırılması, *E. amylovora*'ya toleransta etkin mekanizmaların belirlenmesini sağlamaktadır.

Çalışmamızda elma (Breaburn, Golden, Gala, Skarlet) ve armut (Ankara, Santa Maria) çeşitlerine *E. amylovora* kaynaklı oksidatif strese maruz bırakılarak bazı enzim aktivitelerinin zamana bağlı değişimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Deneme sonucunda *Erwina amylovora*'dan kaynaklı oksidatif stres koşullarında elma çeşitlerinde (Breaburn, Gala, Golden, Skarlet) kontrolle kıyaslandığında zamana bağlı olarak SOD aktivitesi azalmıştır, hidrojen peroksit, katalaz aktivitesi, askorbat peroksidaz aktivitesi, prolin ve nisbi klorofil miktarda artmıştır.

Armut çeşitlerinden Ankara çeşidinde SOD aktivitesi kontrole göre zaman ilerledikçe azalma görülmüştür. Katalaz aktivitesi 24.saatte Ankara çeşidinde azalma olurken, Santa Maria çeşidinde artma görülmüştür. Askorbat peroksidaz enzim aktivitesinde, hidrojen peroksit konsantrasyonu ve ve prolin içeriğinde her iki armut çeşidinde de artış görülmüştür. Toplam klorofil miktarda Ankra ve Santa Maria

çeşidinde 24. saatte azalmış; Ankara çeşidinde 72. saatte azalma göstermiş ve Santa Maria çeşidi ise artış göstermiştir.

Bütün parametreler birlikte değerlendirildiğinde; elma ve armut çeşitlerinin *E. amylovora* kaynaklı oksidatif stres sonucunda bu faktöre karşı toleransları farklı olmuştur. Genel olarak çeşitlerde nisbi nem içeriğinde azalmalar görülmüştür. *E. amylovora* ile strese giren çeşitlerde savunma mekanizması olarak bazı yapıları stresden zarar gördüğü için bünyelerinde prolin akümüle olmuş, hidrojen peroksit konsantrasyonunu arttırmıştır. Bu çeşitlerin strese karşı savunma mekanizması geliştirerek *E. amylovora*'ya dayanıklılık gösterdiği söylenebilir. Bunun için antioksidan enzimler bitkilerin oksidatif strese karşı dayanımlarında önemli savunma mekanizması oluşturmaktadırlar.

Yürütülen araştırma sonucunda, elma ve armut çeşitleri arasındaki antioksidan enzim aktivitelerinin belli süreler sonucundaki değişimlerini ve bunların dayanıklılıkdaki etkileri incelenen farklı parametrelerle ilişkilendirilmiştir. Daha sonraki çalışmalarda, farklı çeşitlerde de dayanıklılıkla ilgili enzim aktivitelerinin belirlenmesi, hastalığa karşı direnç mekanizmasının daha iyi anlaşılmasına neden olacaktır. Dayanıklılık mekanizmalarının, bitki savunma sistemleri içerisinde ele alınarak yeni mücadele olanaklarının araştırılması ve bunların sonucunda muhtemel yeni kimyasalların üretimi, ateş yanıklığı hastalığı mücadelesinde farklı yaklaşımlara neden olabilecektir.

KAYNAKLAR

- Ağaoğlu, Y., Çelik, H., Çelik, M., Fidan, Y., Gülşen, Y., Günay ve ark., 1997, *General Horticulture*. AU. ZF. No:4, p 394.
- Akkuş, İ., 1995, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, *Mimoza Yayınları*, Konya, syf 68.
- Alpaslan, M. and Gunes, A., 2001, Interactive effects of boron and salinity stress on the growth, membrane permeability and mineral composition of tomato and cucumber plants. *J. Plant and Soil*. 236, 123-128.
- Alscher, R. G., Erturk, N., Heath, L. S., 2002, Role of superoxide dismutases in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, (53), 1331-1341.
- Anonim, 2009, <https://www.tuik.gov.tr>. 06.03.2012
- Anonim, 2010, <https://www.tuik.gov.tr>. 06.03.2012
- Arbona, V., Jacas., Garcia-Agustín P., 2003, Gomez-Cadenas, A., *Bitki Hücre Physiol* 44 (4) :388-94.
- Ayers, S. H., Rupp, P., ve Johnson, W., 1919, Studies on fire blight on pome fruit trees in Konya Province in Turkey. *Eight international workshop on fire blight ISHS Acta Horticulture*, 489.
- Bakardjieva, N., and Christov, K., 1996, Effect of calcium and zinc ions on the sensitivity of peroxidase from mosses (*Mnium* sp.) and ferns (*Polydium vulgare*) to high temperature. *Can. J. Bot.*, (74), 1665-1670.
- Baron, M., Arellano, J.B., Gerge, L., 1995, Copper and photosystem II: a controversial relationship, *Plant Physiol* , 94, 174-180.
- Bates, LS., Waldren, RP., Teare, ID., 1973, Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-207.
- Bauer, D.W. and Beer, S.V., 1991 *Mol. Plant-Microbe Interact.* 4, 493-499.
- Beak and Skinner., 2003, Baek K-H, Skinner DZ .,2003, Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenic wheat lines. *Plant Sci* 165: 1221-1227.
- Becker, A., 2004, Controlling als Praxis: Eine strukturtheoretische Perspektive auf Controlling. In E. Scherm & G. Pietsch (Hrsg.), *Controlling: Theorien und Konzeptionen* pp. 753-777.
- Bergmeyer, J. and Grabl, M., 1983, *Methods of Enzymatic Analysis* (Third Edition), pp.190-302, Germany.
- Beyer ve Biomembr .,1994, Beyer RE .Biyoloji Bölümü, University of Michigan, Ann Arbor 48.109. *J. Bioenerg Biomembr* Ağustos 1994; 26 (4) :349-58.
- Blockhina, Academic Dissertation., 2000, ISSN1239-9469, ISBN 951-45-9631-5, ISBN 951-45-9632-3, ISBN 951-45-9633.

- Bruggemann, W., Beyel, V., Brodka, M., Poth, H., Weil, M. ve Stockhaus, J., 1999, Antioxidants and antioxidative enzymes in wild-type and transgenic *Lycopersicon* genotypes of different chilling tolerance. *Plant Science* 140: 145-154.
- Burtis, C.A. and Ashwood, E.R., 1999, Tietz textbook of clinical chemistry. 3rd ed. *W.B. Saunders Company, Philadelphia*.p.1838.
- Charbaji, T. and Ayyoubi, Z., 2004, Differential growth of some grapevine varieties in Syria in response to salt in vitro. *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant.* 40, 221-224.
- Chaudiere, J. and Ferrari- Iliou R., 1999, Intracellular antioxidants from chemical to biochemical mechanism. *Food Chem. Toxicol.*, (37), 949-962.
- Chen, X., Sullivan, D.S. ve Huffaker, T., 1994, TCP-1 benzerliği olan iki maya genler mikrotübül ve aktin işlevi için gerekli olan in vivo . *Proc Natl Acad Sci USA*, 91, 9111-9115.
- Cummins, J. N. and H. S. Aldwinckle.,1974, Apple Rootstocks for Colder Climates. *Fruit Varieties Journal* 28(1): 9-11.
- Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T., 1997, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*,3-4, 92.
- Çaylak, E., 2011, Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Biyokimya AD, Çankırı Karatekin Üniversitesi 18200 Tıp Araştırmaları Dergisi*: 2011 : 9 (1) : 73-83.
- Çınar, A. and H. Pala., 1988, Establishing the Pathogens of Strawberry Root Rot Disease in Çukurova Region of Turkey. *J. Turk. Phytopath.* 17 (3), 110.
- Del Rio, LA., Sandalio, LM., Altomare, DA., Zilinskas, BA., 2003, Mitochondrial and peroxisomal manganese superoxide dismutase: differential expression during leaf senescence. *Journal of Experimental Botany*, (54), 923-933.
- Dickey, R.S.ve Kelman, A.,1988, *Erwinia the 'caratovora' Group In Laboratory Guide For The Identification Of Plant Pathogenic Bacteria*.II.Edition N.W.Shaad, *Aps Pres*,St.Paul,44-49 pp.Minnesota.
- Dye, D. W., 1968, Taxonomic Study of the genus *Erwinia*.the 'amylovora' Group. *New Zealand Journal of Scienc* 3 11:590-607.
- Eraslan, F., A., Inal, O. Savasturk, A, Gunes A., 2007a,Changes in antioxidative system and membrane damage of lettuce in response to salinity and boron toxicity. *Scientia Horticulturae*. 114, 5-10.
- Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A, and Alpaslan, M, 2007b, Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. *Scientia Horticulturae*. 113, 120-128.

- Erkan, S.,1992, Moleküler Biyoloji. Bornova/ İzmir, 140 syf 85-92.
- Estan, M. T., Martinez-Rodriguez M. M., Perez-Alfocea F., Flowers T. J. and Bolarin M. C., 2004, Grafting raises the salt tolerance of tomato through limiting the transport of sodium and chloride to the shoot. *Journal of Experimental Botany*. 56(412), 703-712.
- Fahy, P. C. and Hayward, AA., 1983, Media and Methods For Isolation and Diagnostic test plant disease Academic pres.337-378,Sydney.
- Ferreira, RR., Fornazier, RF., Vitoria, AP., Lea, PJ., Azevedo, RA., 2002, Changes in antioxidant enzyme activities in soybean under cadmium stress. *Journal of Plant Nutrition*, (25), 327-342.
- Fisarakis, I., Chartzoulakis, K. and Stavrakas, D., 2001, Response of Sultana vines (*Vvinifera* L.) on six rootstocks to NaCl salinity exposure and recovery. *Agric. Water Management*. 51 (1), 13-27.
- Fry, SC.,1998, Oxidative scission of plant cell wall polysaccharides by ascorbate-induced hydroxyl radicals. *Biochem J* 332: 507-515.
- Gaudriault, S., Malandrin, L., Paulin, J.P. and Barny, M.A., 1997, *Mol. Microbiol.* 26, 1057-1069.
- Gutteridge. JMC., 1995, Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem.*, 41: 1819-28.
- Güler, E., Dedeakayoğulları, H., Kılınç, A., Yalçın, A. S., 2011, Oksidatif stresin belirlenmesinde yeni bir yaklaşım *23.ulusal biyokimya kongresi*.
- Günes, A., Alpaslan, M., Özcan, H. ve Çıkılı, Y. 2000. Türkiye'de Yaygın Olarak Yetistirilen Mısır (*Zea mays* L.) Çesitlerinin Bor Toksisitesine Duyarlılıkları. *Turk. J. Agric For.* 24, 277-282.
- Günes, A., Soylemezoglu, G., Inal, A., Bagci, E. G., Coban, S. and Sahin, O., 2006, Antioxidant and stomatal responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to boron toxicity. *Scientia Horticulturae*.110, 279-284.
- Halliwell ve Gutteridge, J. M. C., 1989, Iron and oxygen: A biologically damaging mixture. *Acta Paediatrica Scandinavica Suppl*, 361, 78-85.
- Hamrouni, L., Abdallah, F. B., Abdelly, C. and Ghorbel, A., 2008, In vitro culture: a simple and efficient way for salt tolerant grapevine genotype selection. *Plant biology and pathology. Comptes Rendus Biologies*. 331(2), 152-163.
- Harinasuf, D. Poonsopa, K. Roengmogkol, R. Charoensataporn., 2003, *Science Asia*, 9-109.
- Hayakawa, T., Kanematsu, S., Asada, K., 1984, Occurrence of Cu-Zn-superoxide dismutase in the intrathylakoid space of spinach-chloroplasts. *Plant & Cell Physiology*, (25), 883-889.

- Heil, M., 2002, Ecological costs of induced resistance. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5: 345-350.
- Hepaksoy, S., Ben-Asher, J., Molach, Y., David, I., Sagih, M. and Bravdo, B., 2006, Grapevine irrigation with saline water: Effect of Rootstocks on Quality and Yield of Cabernet Sauvignon. *Journal of Plant Nutrition.* 29, 783-795.
- Inal, A. and Tarakcioglu, C., 2001, Effects of nitrogen forms on growth, nitrate accumulation, membrane permeability and nitrogen use efficiency of hydroponically grown bunch onion under boron deficiency and toxicity. *J. Plant Nutr.* 24, 1521-1534.
- Ismail, A. M., 2003, Response of maize and sorghum to excess boron and salinity. *Biol.Plant.* 42, 313-316.
- Jean-Stephane Venissea, Marie-Anne Barny, Jean-Pierre Paulin., 2003, enzymes Marie-Norelle Brissetc; - *FEBS Letters* 537 198-202.
- Jebara, S., Jebara, M., Liman, F. and Aouani, E., 2005, Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress. *Journal of Plant Physiology.* 162, 929-936.
- Jiang M., Zhang J., 2001, Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Journal of Plant Cell Physiology*, 42: 1265-1273.
- Karabal, E., Yücel, M. and Öktem, H. A., 2003, Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity. *Plant Sci.* 164, 925-933.
- Keck M., Chartier R., Lecomte P., Reich H. & Paulin J.P., 1997, First characterization of *Envinia amylovora* isolates from Austria and fire blight susceptibility of some apple genotypes from Central Europe. - *J. Plant Diseases and Protection* 104(1): 17-22.
- Keha, E. E., ve Küfreviöglu, Ö., 2000, Biyokimya. *Safak Yayınları*, Erzurum, s.107-115.
- Kerdnaimongkol, K. Woodson, W. R., 1999, Inhibition of Catalase by Antisense RNA Increases Susceptibility to Oxidative Stress and Chilling Injury In Transgenic Tomato Plants. *J. Amer.Soc. Hort.Sci.* 124: 330-336.
- Kim, K.Y., Kwon, S.Y., Lee, H.S., Hur, Y., Bang, C.W., Choi, K.S., Kwak, S.S., 2000, Differential expression of four sweet potato peroxidase genes in response to abscisic acid and ethaphon. *Phytochemistry*, (54), 19-22.
- King, E.O., Ward, M. K. Ve Raney, D. E., 1954, Two Simple Media For The Demonstration Of Pyocyanin And Fluorescens. *Journal Of Laboratory And Clinical Medicine*, 44, 301-307.
- Klement, Z., Rudolph, K., Sands, D.C., 1990, Methods in phytobacteriology, *Akademia Kiado, Budapest, Xiv* 568s.

- Koç, E. Üstün, A. S., 2008, Patojenlere Karşı Bitkilerde Savunma Ve Antioksidanlar. Ankara Üni. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 24 (1-2) 82 – 100.
- Kornyeyev, D., B.A. Logan, P. Payton, R.D. Allen, and A.S. Holaday., 2001, Enhanced photochemical light utilization and decreased chilling-induced photoinhibition in cotton overexpressing genes encoding chloroplast-targeted antioxidant enzymes. *Physiol. Plant* 113: 323-331.
- Kurutaş, E., İnanç Güler F., Kılınç., 2004, M. Serbest Radikaller. Arşiv, 13:120-13.
- Lamb, C., Dixon R., 1997, The Oxidative Burst In Plant Disease Resistance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* Vol.48:251-275.
- Lelliot, R. A. Ve Stead, D. E., 1987, Methods For The Diagnosis Of Bacterial Diseases Plants. *Blackwell Scientific Publications*, Oxford, UK.
- Lopez-Gomez, E., San Juan, M. A., Diaz-Vivancos, P., Mataix Beneyto, J., Garcia-Legaz, M. F. and Hernandez, J. A., 2007, Effect of rootstocks grafting and boron on the antioxidant systems and salinity tolerance of loquat plants (*Eriobotrya japonica* Lindl.) *Environmental and Experimental Botany*. 60, 151-158.
- Low, J. R. Merida, *Physiol. Plant.*, 1996, 96-533; C. Lamb, R. A. Dixon, *Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 48 (1997) 251; G. P. Bolwell, *Plant Biol.*, 2 (1999) 287.
- Luna, C., Seffino, L. G., Arias, C., ve Taleisnik, E., 2000, Oxidative Stress Indicators as Selection Tools for Salt Tolerance in *Chloris gayana*. *Plant Breeding*. 119: 341-345.
- Maden, S., 1989, Bitki Bakteri Hastalıkları. *Ankara Üniv. Zir. Fak. Yayınları*: 1161, Ders Kitabı: 328, Ankara.
- Martienssen R, Dolan L., 1998, Patterns in vegetative development. In M Anderson, J Roberts, eds, *Arabidopsis*. *Sheffield Academic Press*, Sheffield, UK, pp 262-297.
- Mavi, A., 2005, İnsan eritrosit ve lökositlerinden süperoksit dismutaz enziminin saflaştırılması ve bazı ilaçların enzim üzerine etkilerinin incelenmesi. *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Doktora Tezi, s.52-53.
- McClung CR., 1997, Regulation of catalases in *Arabidopsis*. *Free Radicals in Biology and Medicine* 23,489-496.
- Meram I, Aktaran S., 2002, Effects of free radicals on biomolecules. *Archive*. 11: p. 299.
- Minibaeva, F.V., Gordon L.Kh., 2003, Fiziologiya rastenii. T. 50. 3. S. 459-464.

- Mirik., 2000, Amasya ve Tokat illerinde yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında ateş yanıklığı (Erwinia amylovora) hastalığının yaygınlık oranı,duyarlı ve dayanıklı çeşitlerin belirlenmesi. *Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ.
- Mohan, S.K., Schaad, N. W., 1987, An Improved Agar Planting Assay For Detection Pseudomonas syringae pv. syringae and Pseudomonas syringae pv. phaseolicola In Contaminated Bean Seed. *Phytopathology* 77: 1390-1395.
- Momol, M. T. ve Yeğen, O., 1993, Fire Blight in Turkey., 1985-1992, *Acta Horticulturae* , No: 338, 37-39. Athens, Greece.
- Mukherjee, R. N. Ve Chaudhuri, A. K.,1983, Problems Control Inform. *Theory* 12, 167-78.
- Murray, Granner Robert K., Mayes Darly K., Radwell Peter A., Victor.W., 1996, Harper'in Biyokimyası. (ev: Dikmen, Nurten, zgnen, Tuncay) 24. Baskı. İstanbul: *Barış Kitabevi*.
- Norelli, J.L., H.S. Aldwinckle, and S.V. Beer., 1988, Virulence of Erwinia amylovora strains to Malus sp. Novole plants grown in vitro and in the greenhouse. *Phytopathol.* 78:1292-1297.
- Öktem, Y. ve Benlioğlu, K., 1988, Studies on Fire Blight (Erwinia amylovora (Burr.) Winslow et al.) of Pome Fruits. Journal of Turkish Phytopathology Vol. 17 No.3,5 th. *Turkish Phytopathological Congress*. Antalya, Turkey.
- zcan, S., Babaoğlu, M., Yorgancılar, M., Akbudak, M.A., 2001, Doku Kültürü: Temel Laboratuar Teknikleri. Bitki Biyoteknolojisi Cilt I Doku Kültürü ve Uygulamaları (M. Babaoğlu, E. Grel, S. zcan Editrler) s. 1-35, *S.. Vakfi Yayınları*, Konya.
- Paranychianakis, N. V., Aggelides, S., Angelakis, A. N., 2004, Influnce of rootstock, irrigation level and recycled water on growth and yield of soultanina grapevines. *Agricultural Water Management*. 69, 13-27.
- Patykowski, J., and Urbanek, H., 2003, Activity of enzymes related to H2O2 generation and metabolism in leaf apoplastical fraction of tomato leaves infected with Botrtis cinerea. *J. Phytopatol.*, (151), 153-161.
- Percival M.,1998, Anti-oxidants. *Clin. Nutr. Insight*. 31: 1-4.
- Plazek A., 2003, *Acta Physiologicae Plantarum, J.Plant Physiol* ,25(3).
- Prochazkova, D., Sairam R. K., Srivastava, G. C. and Singh D. V., 2001, Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in maize leaves. *Plant Science*. 161, 765-771.
- Rahnama H., Ebrahimzadeh H.,2005, The effect of NaCl on antioxidant enzyme activities in potato seedlings. *Biol. Plant.*, 49: 93-97.

- Raskin, I., 1995, Salicylic acid. In: Davies PJ (ed) Plant hormones. Physiology, biochemistry and molecular biology. *Kluwer Academic Publishers*, Dordrecht, 188-205.
- Reid, R. J., Hayes, J. E., Post, A., Stangoulis, J. C. R. and Graham, R. D., 2004, A critical analysis of the causes of boron toxicity in plants. *Plant, Cell and Environment*. 25, 1405-1414.
- Rice-Evans, C., Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radic. Biol. Med.*, 26, 1231-1237.
- Sagi, M. ve ark., 2004, Plant respiratory burst oxidase homologs impinge on wound responsiveness and development in *Lycopersicon esculentum*. *Plant Cell* 16, 616-628.
- Sairam, R.K., Deshmukhi, P.S. and Saxena, D.C., 1998, Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. *Biologia Plantarum*. 41(3), 387-394.
- Sairam, R. K. and Saxena D. C., 2000, Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: Possible mechanism of water stress tolerance. *J. Agronomy and Crop Science*. 184, 55-61.
- Sairam, R. K., G.C. Srivastava., 2000a, Induction of oxidative stress and antioxidant activity by hydrogen peroxide treatment in tolerant and susceptible wheat genotypes, *Biol. Plant.*, 43, 381-386.
- Sairam, R. K. and Srivastava, G. C., 2001, Water stress tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.). Variations in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotypes. *J. Agronomy and Crop Science*. 186, 63-70.
- Sairam, R. K. and Srivastava, G. C., 2002b, Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Science*. 162, 897-904.
- Sairam, R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. C., 2002, Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*. 163, 1037-1046.
- Saygılı, H., 1995, Fitobakteriyoloji *Doğruluk Matbaası Çankaya İzmir* S: 201.
- Schaad, N. W., 1988. Laboratory Guide To Identification Of Plant Pathogenic Bacteria. *Aps*(2nd.Ed.1988). St. Paul, Minnesota.
- Segal ve Abo., 1993, The biochemical basis of the NADPH oxidase of phagocytes. *Trends Biochem Sci* 18: 43-47.
- Sekmen, A. H., Turkan, I. and Takio S., 2007, Differential responses of antioxidative enzymes and lipid peroxidation to salt stress in salt - tolerant *Plantago maritima* and salt-sensitive *Plantago media*. *Physiologia Plantarum*. 131(3), 399-411.

- Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, V., Takeda, T., Yabuta, Y., Yoshimura, Y., 2002, *Journal of Experimental Botany*, 53(372) 1305.
- Sivritepe, N. and Eris, A., 1999, Determination of salt tolerance in some grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) under in vitro conditions. *Tr. J. of Biology*. 23, 473-485.
- Sneath, P. H. A., 1956, Cultural And Biochemical Characteristics Of The Genus *Chromobacterium*. *J. Gen. Microbiol.* 15: 70-98.
- Soy, M. ve Günes, A., 2003, Fosforun domates (*Lycopersicon esculentum* L.) bitkisinde bor toksisitesini önlemede etkisi. A. Ü. Ziraat Fakültesi, *Tarım Bilimleri Dergisi*. 9 (3), 279-277.
- Stadtman, E.R., 2002, Importance of individuality in oxidative stress and aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 33, 597-604.
- Streb, P., ve Feirabend, J., 1996, Oxidative Stress Responses Accompanying Photoinactivation of Catalase in NaCl-Treated Rye Leaves. *Bot. Acta*. 109: 125-132.
- Sugimoto-Shirasu K, Roberts K .,2003, "Big it up": endoreduplication and cell-size control in plants. *Curr Opin Plant Biol* 6: 544-553.
- Tarakcioglu, C. and Inal, A., 2002, Changes induced by salinity, demarcating specific ion ratio (Na/Cl) and osmolality on ion and proline accumulation, nitrate reductase activity, and growth performance of lettuce. *J. Plant Nutr.* 25, 27-41.
- Tasgin, E., Atıcı, Ö., Nalbantoglu, B., Popova, P.L., 2006, Effects of salicylic acid and cold treatments on protein levels and on the activities of antioxidant enzymes in the apoplast of winter wheat leaves. *Phytochemistry*, (67), 710-715.
- Teranishi, Y., Tanaka, A., Osumi, M. and Fukui, S., 1974, Catalase activity of hydrocarbon utilizing candida yeast. *Agr. Biol. Chem.* 38, 1213-1216.
- Tietz, N.W., 1995, *Clinical Guide to Laboratory Tests*. 3rd Edn., W.B. Saunders, Philadelphia. Winslow et al.) Üzerinde Araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, Cilt 31, No: 1-4, 31-38, Mart-Aralık 1991 (Basım 1994), Ankara.
- Tokgönül, S.,1991, doğu Akdeniz Bölgesinde Elma, Ayva ve Yenidünya Ateş Yanıklığı Hastalığı(*Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow ve ark.) Üzerinde Araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, Cilt 31, No: 1-4,31-38, Mart-Aralık 1991(Basım 1994), Ankara.
- Troncoso, A., Matte, C., Cantos, M. and Lavee S.,1999, Evaluation of salt tolerance of in vitro-grown grapevine rootstock varieties. *Vitis*. 38(2), 55-60.
- Vanacker, H., Carver, T.L.W., and Foyer, C.H., 1998, Pathogen-induced changes in the antioxidant status of the apoplast in barley leaves. *Plant Physiology*, (117),1103-1114.
- Venisse, J.S., Gullner, G. and Brisset, M.N., 2001, *Plant Physiol.*125, 2164-2172.

- Walker, R.R., 1994, Grapevine responses to salinity. *Bulletin de l'OIV*. 67(761/762),634-661.
- Xing T., Higgins VJ., Blumwald E., 1997, Race-specific elicitors of *Cladosporium fulvum* promote translocation of cytosolic components of NADPH oxidase to the plasma membrane of tomato cells. *The Plant Cell* 9, 249-59.
- Zwet, T. ve Keil, H.L., 1979, Fire Blight. A Bacterial Disease of Rosaceous Plants. *Agriculturae Handbook*. Number: 510. U.S.

EKLER

EK-1 Elma çeşitlerine uygulanan süperoksit dismutaz enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit-elma	3	0,78286	0,26095	20,39	0,000
Süre	3	0,55905	0,18635	14,56	0,000
Elma*süre	9	0,27899	0,03100	2,42	0,032
Error	32	0,40961	0,01280		
Total	47	2,03051			

S = 0,113138 R-Sq = 79,83% R-Sq(adj) = 70,37%

EK-2 Elma çeşitlerine uygulanan katalaz enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit-elma	3	0,00029990	0,00009997	8,17	0,000
Süre	3	0,00191656	0,00063885	52,24	0,000
Elma*süre	9	0,00059569	0,00006619	5,41	0,000
Error	32	0,00039133	0,00001223		
Total	47	0,00320348			

S = 0,00349702 R-Sq = 87,78% R-Sq(adj) = 82,06%

EK-3 Elma çeşitlerine uygulanan askorbat peroksidaz enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit-elma	3	1,1755	0,3918	1,92	0,147
Süre	3	6,2061	2,0687	10,11	0,000
Elma*süre	9	1,6631	0,1848	0,90	0,534
Error	32	6,5468	0,2046		
Total	47	15,5915			

S = 0,452312 R-Sq = 58,01% R-Sq(adj) = 38,33%

EK-4 Elma çeşitlerine uygulanan hidrojen peroksit enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit-elma	3	2744,8	914,9	6,42	0,002
Süre	3	6697,4	2232,5	15,67	0,000
Elma*süre	9	3090,8	343,4	2,41	0,032
Error	32	4559,2	142,5		
Total	47	17092,2			

S = 11,9363 R-Sq = 73,33% R-Sq(adj) = 60,82%

EK-5 Elma çeşitlerine uygulanan klorofil tayini enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit-elma	3	0,059626	0,019875	7,11	0,001
Süre	3	0,203280	0,067760	24,24	0,000
Elma*süre	9	0,180762	0,020085	7,19	0,000
Error	32	0,089444	0,002795		
Total	47	0,533111			

S = 0,0528688 R-Sq = 83,22% R-Sq(adj) = 75,36%

Ek-6 Elma çeşitlerine uygulanan prolin enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit-elma	3	2,17703	0,72568	21,82	0,000
Süre	3	1,76572	0,58857	17,69	0,000
Elma*süre	9	2,41086	0,26787	8,05	0,000
Error	32	1,06444	0,03326		
Total	47	7,41805			

S = 0,182384 R-Sq = 85,65% R-Sq(adj) = 78,92%

EK-7 Armut çeşitlerine uygulanan süperoksit dismutaz enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit-armut	1	0,00762	0,00762	0,15	0,707
Süre	3	0,01734	0,00578	0,11	0,952
Armut*süre	3	0,25711	0,08570	1,65	0,218
Error	16	0,83178	0,05199		
Total	23	1,11384			

S = 0,228004 R-Sq = 25,32% R-Sq(adj) = 0,00%

EK-8 Armut çeşitlerine uygulanan katalaz enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit-armut	1	0,00050417	0,00050417	11,09	0,004
Süre	3	0,00299100	0,00099700	21,93	0,000
Armut*süre	3	0,00250483	0,00083494	18,37	0,000
Error	16	0,00072733	0,00004546		
Total	23	0,00672733			

S = 0,00674228 R-Sq = 89,19% R-Sq(adj) = 84,46%

EK-9 Armut çeşitlerine uygulanan askorbat peroksidaz enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit-armut	1	2,7983	2,7983	15,95	0,001
Süre	3	6,8646	2,2882	13,04	0,000
Armut*süre	3	13,3469	4,4490	25,36	0,000
Error	16	2,8069	0,1754		
Total	23	25,8166			

S = 0,418844 R-Sq = 89,13% R-Sq(adj) = 84,37%

EK-10 Armut çeşitlerine uygulanan hidrojen peroksit enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit-armut	1	1981,2	1981,2	10,62	0,005
Süre	3	6770,7	2256,9	12,09	0,000
Armut*süre	3	4596,8	1532,3	8,21	0,002
Error	16	2985,8	186,6		
Total	23	16334,4			

S = 13,6605 R-Sq = 81,72% R-Sq(adj) = 73,72%

Ek-11 Armut çeşitlerine uygulanan klorofil enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit-armut	1	0,05168	0,05168	0,71	0,412
Süre	3	0,85354	0,28451	3,90	0,029
Armut*süre	3	0,39635	0,13212	1,81	0,186
Error	16	1,16753	0,07297		
Total	23	2,46910			

S = 0,270131 R-Sq = 52,71% R-Sq(adj) = 32,03%

Ek-12 Armut çeşitlerine uygulanan prolin enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit-armut	1	0,005766	0,005766	1,08	0,314
Süre	3	0,298130	0,099377	18,63	0,000
Armut*süre	3	0,066411	0,022137	4,15	0,024
Error	16	0,085343	0,005334		
Total	23	0,455650			

S = 0,0730340 R-Sq = 81,27% R-Sq(adj) = 73,08%

EK-13 Armut-elma çeşitlerine uygulanan süperoksit dismutaz enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit	5	1,21227	0,24245	9,37	0,000
Süre	3	0,46831	0,15610	6,04	0,001
Çeşit*süre	15	0,64418	0,04295	1,66	0,093
Error	48	1,24139	0,02586		
Total	71	3,56615			

S = 0,160817 R-Sq = 65,19% R-Sq(adj) = 48,51%

EK-14 Armut-elma çeşitlerine uygulanan katalaz enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit	5	0,00443412	0,00088682	38,05	0,000
Süre	3	0,00244593	0,00081531	34,98	0,000
Elma-*süre	15	0,00556215	0,00037081	15,91	0,000
Error	48	0,00111867	0,00002331		
Total	71	0,01356087			

S = 0,00482758 R-Sq = 91,75% R-Sq(adj) = 87,80%

EK-15 Armut-elma çeşitlerine uygulanan askorbat peroksidaz enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit	5	9,3553	1,8711	10,04	0,000
Süre	3	13,2384	4,4128	23,67	0,000
Çeşit*süre	15	14,3660	0,9577	5,14	0,000
Error	48	8,9477	0,1864		
Total	71	45,9073			

S = 0,431753 R-Sq = 80,51% R-Sq(adj) = 71,17%

EK-16 Armut-elma çeşitlerine uygulanan hidrojen peroksit enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit	5	5392,1	1078,4	6,86	0,000
Süre	3	11179,3	3726,4	23,71	0,000
Çeşit-*süre	15	9976,3	665,1	4,23	0,000
Error	48	7545,0	157,2		
Total	71	34092,7			

S = 12,5374 R-Sq = 77,87% R-Sq(adj) = 67,26%

EK-17 Armut-elma çeşitlerine uygulanan klorofil tayini enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit	5	3,27576	0,65515	25,02	0,000
Süre	3	0,77456	0,25819	9,86	0,000
Çeşit- *süre	15	0,85937	0,05729	2,19	0,021
Error	48	1,25697	0,02619		
Total	71	6,16667			

S = 0,161824 R-Sq = 79,62% R-Sq(adj) = 69,85%

EK-18 Armut-elma çeşitlerine uygulanan prolin enzimi için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit	5	2,87267	0,57453	23,98	0,000
Süre	3	1,36625	0,45542	19,01	0,000
Çeşit-*süre	15	3,17487	0,21166	8,84	0,000
Error	48	1,14979	0,02395		
Total	71	8,56357			

S = 0,154770 R-Sq = 86,57% R-Sq(adj) = 80,14%

EK-19 Armut-elma çeşitlerinin zaman ve enzim interaksiyonu için için yapılan varyans analizi

Source	DF	SS	MS	F	P
Çeşit	5	928,4	185,7	7,07	0,000
Süre	3	1993,8	664,6	25,32	0,000
Enzim	5	346687,6	69337,5	2642,02	0,000
Çeşit-*süre	15	1603,2	106,9	4,07	0,000
Çeşit*enzim	25	4480,7	179,2	6,83	0,000
Süre*enzim	15	9201,6	613,4	23,37	0,000
Çeşit*süre*enzim	75	8392,4	111,9	4,26	0,000
Error	288	7558,3	26,2		
Total	431	380845,9			

S = 5,12290 R-Sq = 98,02% R-Sq(adj) = 97,03%

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Esra KARACİF
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Sungurlu/ÇORUM 09.12.1985
Telefon : 0 506 274 25 26
e-mail : esrakaracif_19hotmail.com

EĞİTİM

Derece

Lise	:	Sungurlu Süper Lisesi Sungurlu	Çorum	2004
Üniversite	:	Yüzüncü Yıl Üniversitesi	Van	2009
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi	Konya	2012

İŞ DENEYİMLERİ

YIL	KURUM	GÖREVİ
2008	Ankara Ziraî Mücadele Merkez Araş. Enst.	Stajer
2009	Ankara Ziraî Mücadele Merkez Araş. Enst.	Geçici İşçi
2010	Denizli Tarım Kredi Kooperatifi	Mühendis
2011	Ankara Üniversitesi (Tübitak Projesi)	Bursiyer Öğrenci
2011-2012	Selçuk Üniversitesi (Proje)	Gönüllü Mühendis

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER

İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR