

T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOMATESİN (*Lycopersicon esculentum* Mill.) BİYOLOJİK  
PREPARATLAR İLE UYARILARAK  
TOTAL PROTEİN VE PEROKSİDAZ SEVİYELERİNİN  
DEĞİŞEN ELİSİTASYON TEPKİSİNİN SAPTANMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nigâr ÇETİN

ÇANAKKALE – 2004

T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DOMATESİN (*Lycopersicon esculentum* Mill.) BİYOLOJİK  
PREPARATLAR İLE UYARILARAK  
TOTAL PROTEİN VE PEROKSİDAZ SEVİYELERİNİN  
DEĞİŞEN ELİSİTASYON TEPKİSİNİN SAPTANMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Hazırlayan: Nigâr ÇETİN**  
**Danışman: Yrd. Doç. Dr. Cüneyt AKI**

**ÇANAKKALE – 2004**

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir. (Proje No: 2003/10)

**Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü' ne,**

Bu araştırma, jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Başkan** : .....

**Üye** : .....

**Üye** : .....

**Üye** : .....

**Kod No :**

**Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.**

**Enstitü Müdürü**

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
<b>ÖZ</b> .....	I
<b>ABSTRACT</b> .....	II
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	III
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	V
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	VII
<b>EKLER</b> .....	VIII
<b>GİRİŞ</b> .....	1
<b>1.1. PESTİSİTLER</b> .....	3
1.1.1. Pestisitlerin Kalıcılığı.....	4
1.1.2. Türkiye’ de Pestisit Tüketimi.....	5
1.1.3. Çanakkale İlinde Ziraî Mücadele İlaçlarının Tüketimi.....	6
<b>1.2. BİTKİ-PATOJEN İLİŞKİLERİ</b> .....	6
1.2.1. Bitki-Patojen İlişkilerine Genel Bakış.....	7
1.2.2. Konukçu-Patojen İlişkilerinin Genetiği.....	10
<b>1.3. BİTKİLERİN PATOJENLERE KARŞI SAVUNMA YOLLARI</b> .....	12
1.3.1. Bitkilerde Dayanıklılık Sağlayan Faktörler.....	13
1.3.2. İndüklenmiş Yapısal ve Biyokimyasal Savunmalar.....	15
1.3.2.1. Konak Bitki Tarafından Patojenin Tanınması.....	15
1.3.2.2. Sinyal Transdüksiyonu.....	22
1.3.2.3. Elisitörler ve Bitki Yanıtları.....	22
1.3.2.4. İndüklenmiş Yapısal Savunmalar.....	24
1.3.2.5. Hipersensitif Yanıt (HR, Nekrotik Savunma Reaksiyonu).....	24
1.3.2.6. Saldırıya Uğramış Konak Hücrelerinde Antimikrobiyal Bileşiklerin Üretimi.....	25
1.3.2.6.1. PR Proteinleri (Pathogenesis-related Proteins/Patojeniteyle İlgili Proteinler).....	25
1.3.2.6.2. Fitoaleksinler.....	26
<b>1.4. BİTKİLERDE SİSTEMİK UYARILMIŞ DAYANIKLILIK</b> .....	28
1.4.1. ISR (İndüklenmiş Sistemik Rezistans)’ nin Karakterizasyonu.....	29
1.4.2. ISR (İndüklenmiş Sistemik Rezistans)’ nin Spesifitesi.....	30

1.4.3. Patojenlere Karşı Bitkinin İmmünizasyonu.....	30
1.4.4. Sistemik Uyarılmış/Kazanılmış Dayanıklılık (SAR).....	31
<b>1.5. EKSOJEN KİMYASAL UYGULAMALARI.....</b>	<b>33</b>
1.5.1. Bitki Aktivatörleri ve Stimulantlar.....	34
1.5.2. Salisilik Asitin Rezistans İndükleyici ve Sinyal Bileşiği Olarak Rolü.....	36
1.5.3. Entegre Savaşmada Bitki Aktivatörlerinin Rolü.....	38
1.5.4. Dünyadaki Ruhsatlı Preparatlar.....	39
1.5.5. Çalışmamızda Kullandığımız Preparatlar Hakkında Bilgiler.....	40
1.5.5.1. Messenger.....	40
1.5.5.1.1. Harpin Proteinin Keşfi.....	40
1.5.5.1.2. Harpin' in Fiziksel Özellikleri.....	41
1.5.5.1.3. Ticari Bir Ürün Olarak Harpinin Gelişimi.....	41
1.5.5.1.4. Messenger' in Etki Şekli.....	42
1.5.5.2. Cropmax.....	44
1.5.5.3. Maxicrop.....	46
1.5.5.4. Trichodex.....	48
1.5.5.5. Bion.....	49
<b>1.6. SAVUNMANIN ÖNCÜL ENZİMLERİNDEN PEROKSİDAZLAR.....</b>	<b>50</b>
<b>1.7. DOMATESİN ÖZELLİKLERİ.....</b>	<b>53</b>
1.7.1. Genel Bilgiler.....	53
1.7.2. Kimyasal İçeriği.....	54
1.7.3. Ekolojik İstekleri.....	55
1.7.4. Domates Eknomisi.....	55
1.7.5. Türkiye' de ve Çanakkale İlindeki Durum.....	56
1.7.6. Domateste Görülen Başlıca Hastalıklar.....	58
<b>2. MATERYAL VE METOD.....</b>	<b>60</b>
<b>2.1. MATERYAL.....</b>	<b>60</b>
2.1.1. Araştırmanın Yeri ve Özellikleri .....	60
2.1.2. Bitkinin Yetiştirilmesi.....	61
2.1.3. Araştırmada Kullanılan Preparatlar.....	61
2.1.4. İlaçlama Takvimi.....	61
2.1.5. Kombinasyonlar.....	62
<b>2.2. METOD.....</b>	<b>63</b>
2.2.1. Analiz Örneklerinin Alınması.....	63

<b>2.2.2. PROTEİN VE ENZİM ANALİZ YÖNTEMİ</b> .....	64
2.2.2.1. Protein Standardının Hazırlanması.....	65
2.2.2.2. Spektrofotometrede Bitki Örneklerinin Protein İçeriklerinin Ölçümü.....	66
2.2.2.3. Örneklerin Peroksidaz İçeriklerinin Hesaplanması.....	67
2.2.2.4. Spesifik Enzim Aktivitesinin Kolorimetrik Olarak Analiz Yöntemi.....	67
<b>2.2.3. TOPRAK ANALİZ YÖNTEMLERİ</b> .....	68
2.2.3.1. Bünye Tayini .....	68
2.2.3.2. Suda Çözünebilir Toplam Tuz Tayini .....	68
2.2.3.3. Organik Madde Tayini.....	68
2.2.3.4. PH Tayini.....	69
2.2.3.5. Kalsiyum Karbonat (CaCO <sub>3</sub> ) Tayini.....	69
2.2.3.6. Toprakta Toplam Azot Tayini.....	69
2.2.3.7. Toprakta Fosfor Analizi.....	69
2.2.3.8. Toprakta Potasyum Tayini.....	70
2.2.3.9. Toprakta Alınabilir Fe, Cu, Zn ve Mn Miktarları.....	70
2.2.3.10. Toprakta Değişebilir Ca ve Mg Tayini .....	70
<b>3. BULGULAR</b> .....	71
3.1. Total Protein Tayini ile İlgili Bulgular.....	71
3.2. Peroksidaz Enzim Aktivitesi ile İlgili Bulgular.....	76
3.3. Toprak Analizi ile İlgili Bulgular.....	81
3.3.1. Toprak Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları.....	81
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	82
4.1. Toprak Fiziksel Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	82
4.1.1. pH.....	82
4.1.2. Toplam Tuz.....	82
4.1.3. Kireç (CaCO <sub>3</sub> ) .....	82
4.1.4. Bünye.....	83
4.2. Toprak Kimyasal Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	83
4.2.1. Organik Madde.....	83
4.2.2. Toplam Azot (N) .....	83
4.2.3. Alınabilir Fosfor (P) .....	84
4.2.4. Alınabilir Potasyum (K) .....	84

4.2.5. Alınabilir Kalsiyum (Ca) .....	84
4.2.6. Alınabilir Magnezyum (Mg) .....	85
4.2.7. Alınabilir Demir (Fe) .....	85
4.2.8. Alınabilir Bakır (Cu) .....	85
4.2.9. Alınabilir Çinko (Zn) .....	86
4.2.10. Alınabilir Mangan (Mn) .....	86
<b>4.3. TOTAL PROTEİN VE PEROKSİDAZ ENZİM ANALİZ SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....</b>	<b>86</b>
4.3.1. Total Protein.....	92
4.3.2. Peroksidaz.....	92
<b>5. ÖZET.....</b>	<b>98</b>
<b>6.SUMMARY.....</b>	<b>100</b>
<b>7. EKLER.....</b>	<b>102</b>
<b>8. KAYNAKLAR.....</b>	<b>110</b>
<b>9. TEŞEKKÜR.....</b>	<b>127</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>128</b>

## ÖZ

Bu araştırmada bitkilerin bağışıklık sisteminde ve Sistemik Uyarılmış Dayanıklılıktta (SAR) önemli rol oynayan, mikroorganizmaların neden olduğu hastalıklar ile çevresel stres koşullarına karşı direnç yanıtları oluşturulmasını sağlayan peroksidaz enzim aktivitesi ve total protein miktarları incelenmiştir. Bazı biyolojik preparatların tek başına ya da kombine halde domates bitkisine spreyleme yolu ile uygulanması suretiyle uyarılan bitki savunma mekanizması enzimlerinden peroksidaz [EC 1.11.1.7] enzim aktivitesi ve total protein miktarları belirlenmiştir.

Araştırmada materyal olarak *Lycopersicon esculentum* Mill. (Standart T2 Improved, Salçalık Sanayi Domatesi) kullanılmıştır. *In vivo* denemeler tarla koşullarında, her sırada 25 bitki olmak üzere, 5 tekrarlı ve kontrol ile birlikte 10 farklı kombinasyon olarak gerçekleştirilmiştir. Bitki aktivatörleri tek başlarına ve biyokontrol ajanı olan Trichodex ile birlikte kombine edilerek hazırlanan ilaçlama programı uygulanmıştır.

İlk uygulamadan sonra iki haftada bir spreyleme şeklinde uygulama yapılmıştır. Tüm uygulamalar bitirildikten sonra bitkilerin yapraklarından alınarak, analizler için gerekli homojenatlar hazırlanmıştır. Örneklerin total protein miktarlarının belirlenmesinde Bradford (1976)' un total protein tayin yöntemi kullanılmış ve BSA kullanılarak protein standart grafiği hazırlanmıştır. Total protein miktarı spektrofotometrik olarak 595<sub>nm</sub> 'de belirlenmiş ve standart grafik kullanılarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

Peroksidaz enzim aktivitesinin spektrofotometrik ölçümlerinde ise Kanner ve Kinsella (1983)' nın metodu kullanılmıştır. Peroksidaz kinetik reaksiyonunun analizi için spektrofotometrik ölçümler 300<sub>nm</sub> 'de yapılmış ve veriler arasında elde edilen en büyük fark mg protein düzeyine çevrilerek mg/ ml/ dak enzim birimi olarak verilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Bitki Aktivatörü, SAR (Sistemik Uyarılmış Dayanıklılık), *Lycopersicon esculentum* Mill., Peroksidaz, Total Protein.



## ABSTRACT

In this study, the objective was to integrate plant activators as systemic acquired resistance (SAR) inducing compounds with available chemical control measures, consequently to get comparable efficacy with less chemical. Some of the biological elicitors applicated to tomato seedlings by spraying and variations in the activity of specific peroxidase [EC 1.11.1.7] enzymes and total protein amount that likely represent the enhancement of host resistance were analyzed from the leaves of tomato seedlings after individual and combined applications.

Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Standart T2 Improved, Comercial Tomato) seedlings were grown as every sequence 25 tomato plants with 5 replicates in open field (*in vivo*) conditions and 10 different combinations were realized. The effect of plant activator and combine effect with Trichodex which is a biocontrolling agent were applied.

After first treatment other treatments were applied one in a two weeks on tomato seedlings. After all these treatments tomato leaves were harvested and crude extracts were homogenized for laboratory analyses. After centrifugation, the supernatants were collected and their protein concentrations were determined by the method of Bradford (1976) using BSA as a standard. Amount of total protein was measured spectrophotometrically at 595<sub>nm</sub>.

Peroxidase enzyme activity was assayed spectrophotometrically in the crude leaf extracts. The activity was measured at 300<sub>nm</sub> according to Kanner and Kinsella (1983). Comperative absorbance datas were collected and results were given as mg/ ml/ min enzyme unit.

**Key Words** : Plant Activator, SAR (Systemic Acquired Resistance), *Lycopersicon esculentum* Mill., Peroxidase, Total Protein.

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b><u>Simge</u></b>	<b><u>Açıklama</u></b>
ABA	Absisik asit
ATP	Adenozin tri fosfat
Avr geni	Avirulence (Avirülens) geni
BSA	Bovine Serum Albumin (Sığır serum albümin)
BT	Bion-Trichodex kombinasyonu
CaCO <sub>3</sub>	Kalsiyum karbonat
cDNA	Reverse transkriptaz kullanılarak mRNA' dan sentezlenen kopya DNA
<i>Cf</i>	<i>Cladosporium fulvum</i>
CT	Cropmax-Trichodex kombinasyonu
da	Dekar
DNA	Deoksiribo nükleik asit
EC	Enzyme Commission (Enzim Komisyonu)
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
EPA	Environmental Protection Agency (Çevre Koruma Ajansı)
FAO	Food and Agriculture Organization of United Nations (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü)
ha	Hektar
HCl	Hidroklorik asit
HPZG	Hidroksi prolince zengin glikoproteinler
HR	Hypersensitive response (Hipersensitif yanıt)
<i>hrp</i> genleri	Hipersensitif yanıt ve patojenite genleri
<i>hrpN</i>	Harpin proteini kodlayan gen
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sülfürik asit
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	Borik Asit
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Fosforik asit
IPM	Integrated Pest Management (Entegre Zararlı Yönetimi)
ISR	Induced Systemic Resistance (İndüklenmiş Sistemik Rezistans )
I.U.	International Unit (Uluslararası Ünite)
kb	Kilobaz

KH	Karbonhidrat
$K_2Cr_2O_7$	Potasyum dikromat
$LaCl_3$	Lantan klorür
Max-T	Maxicrop-Trichodex kombinasyonu
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
MT	Messenger-Trichodex kombinasyonu
nm	Nanometre
NASA	National Aeronautics and Space Administration (Amerikan Ulusal Havacılık ve Uzay Dairesi)
NaOAc	Sodyum asetat
NaOH	Sodyum hidroksit
$NH_4^+$	Amonyum
$NH_4OAc$	Amonyum asetat
PR proteini	Pathogenesis-related protein (Patojeniteyle ilgili protein)
<i>R</i> geni	Resistance (Direnç) geni
SAR	Systemic Induced/Acquired Resistance (Sistemik Uyarılmış/Kazanılmış Dayanıklılık)
TMV	Tütün Mozaik Virüsü
TNV	Tütün Nekroz Virüsü
UV	Ultraviyole

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge No</u>	<u>Çizelge Adı</u>	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 1.1	Çeşitli Bitki Gruplarında Hastalık ve Zararlıların Neden Olduğu Yıllık Ürün Kayıpları.....	2
Çizelge 1.2.	Türkiye’de Pestisit Tüketimi.....	5
Çizelge 1.3.	Çanakkale İlinde Zirai Mücadele İlaçlarının Tüketimi.....	6
Çizelge 1.4.	Konukçu-Patojen İlişkilerinde Kullanılan Terminoloji.....	8
Çizelge 1.5.	Konukçu ve Patojenin Genetik ilişkileri ve Fenotipe Yansıması...	11
Çizelge 1.6.	Bitki Hücrelerini Etkileyen Uyarıcılardan Bazıları ve Bu Uyarıcıların Alınmasında Görev Alan Reseptörlerin Yerleri ile Bitkinin Bu Uyarıcılara Karşı Gösterdiği Tepki.....	15
Çizelge 1.7.	Cropmax’ ın Makro ve Mikro Besin Elementi İçeriği.....	44
Çizelge 1.8.	Cropmax Formülasyon İçeriği .....	45
Çizelge 1.9.	Domatesin Besin İçeriği .....	55
Çizelge 1.10.	Domatesin Vitamin İçeriği.....	55
Çizelge 1.11.	Dünya Domates Ekim Alanı, Üretimi ve Verimi.....	56
Çizelge 1.12.	Türkiye’de Domates Üretimi.....	56
Çizelge 1.13.	Çanakkale İlinin Toprak Varlığı ve Dağılımı .....	57
Çizelge 1.14.	Çanakkale İlinde İşlenebilir Arazinin Ürün ve Kullanım Durumuna Göre Dağılımı .....	57
Çizelge 1.15.	Çanakkale İlinde İşlenebilir Arazinin Ülke Tarım Alanı İçindeki Payı .....	58
Çizelge 1.16.	Çanakkale İlinde Bazı Tarım Ürünlerinin İşlenebilir Arazi İçindeki Payları .....	58
Çizelge 2.1.	Kombinasyon Grupları .....	62
Çizelge 2.2.	Protein Standart Verileri.....	66
Çizelge 2.3.	Protein Standart Grafiği ve Denklemi.....	66
Çizelge 3.1.	Total Protein Sonuçları (1. Analiz).....	71
Çizelge 3.2.	Total Protein Sonuçları (2. Analiz).....	71
Çizelge 3.3.	Total Protein Sonuçları (3. Analiz).....	73

Çizelge 3.4.	Total Protein Sonuçları (4. Analiz).....	74
Çizelge 3.5.	Uygulama Gruplarında Total Protein Miktarının Zamana Göre Değişim Grafiği (İlk 5 Grup).....	75
Çizelge 3.6.	Uygulama Gruplarında Total Protein Miktarının Zamana Göre Değişim Grafiği (Son 5 Grup).....	75
Çizelge 3.7.	Peroksidaz Enzim Aktivitesi ve Yüzde Etkinlik (1. Analiz).....	76
Çizelge 3.8.	Peroksidaz Enzim Aktivitesi ve Yüzde Etkinlik (2. Analiz).....	77
Çizelge 3.9.	Peroksidaz Enzim Aktivitesi ve Yüzde Etkinlik (3. Analiz).....	78
Çizelge 3.10.	Peroksidaz Enzim Aktivitesi ve Yüzde Etkinlik (4. Analiz).....	79
Çizelge 3.11.	Uygulama Gruplarında Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Zamana Göre Değişim Grafiği (İlk 5 Grup).....	80
Çizelge 3.12.	Uygulama Gruplarında Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Zamana Göre Değişim Grafiği (Son 5 Grup).....	80
Çizelge 3.13.	Toprak Fiziksel Analiz Sonuçları.....	81
Çizelge 3.14.	Toprak Kimyasal Analiz Sonuçları.....	81

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b><u>Sekil No</u></b>	<b><u>Sekil Adı</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
Şekil1.1.	Uyumlu ve Uyumsuz Bitki-Patojen İlişkileri.....	9
Şekil 1.2.	Patojen ile Konak Bitki Hücreleri Arasındaki İlişkilerin Şematik Gösterimi.....	16
Şekil 1.3.	Mikrobiyal Bir Patojen ile Konukçusu Arasında Görülen İlişki Düzeyleri.....	19
Şekil 1.4.	Bitki-Patojen İnteraksiyonlarında Sinyaller ve Yanıtlar.....	20
Şekil 1.5.	Tanıma Mekanizmasında Yüzey Komponentleri Arasındaki İlişki ve Bitki Hücresinde Meydana Gelen Metabolik Değişiklikler.....	21
Şekil 1.6.	Sistemik Uyarılmış/Kazanılmış Dayanıklılığın Prensibi.....	32
Şekil 1.7	Maxicrop' un Bitkinin Kök Sistemi Üzerine Etkisi.....	47
Şekil 2.1.	Analizlerde Kullanılan Bitkilerin Yetiştirildiği Lokalite.....	60

## GİRİŞ

İnsanlık tarihi boyunca, dünya üzerinde yaşayan bütün insanları ilgilendiren ortak sorunların en önemlilerinden biri beslenme sorunu olmuştur. İnsanlar bu sorunu çözebilmek için her zaman bitkisel ve hayvansal organizmaları besin maddesi olarak tüketmişler ve aynı zamanda üretimleriyle de ilgilenmişlerdir.

Günümüzde devletleri uğraştıran en önemli sorunlardan biri hızla artan dünya nüfusunu besleyebilmektir (Öztürk, 1997). Gelecekle ilgili kaygılar artık daha yoğun bir biçimde yaşanmaya başlamıştır. Dünya nüfusu hızla artmaktadır. Birleşmiş Milletler' in bir araştırmasına göre 2050 yılında dünya nüfusu 9,3 milyar olacak, Dünya Bankası'nın hesaplarına göreyse, gelecek yüzyılın sonunda dünyamızın nüfusu 10 milyara erişecek (Zülâl, 1999). Dünya nüfusu gittikçe artmakta fakat erozyon, yeni yerleşim yerlerinin açılması, yeni fabrikaların kurulması, artan araç sayısına paralel olarak mevcut yolların genişletilmesi, yeni yollar açılması gibi nedenlerle tarıma elverişli alanlar gittikçe azalmaktadır (Öztürk, 1997). Peki nüfustaki bunca artışa karşın gelecekte bu kadar insanı beslemeye yetecek kadar besin üretilebilecek mi? (Zülâl, 1999).

Bir üretim sistemi olarak geleneksel tarım, üretimi engelleyen doğal ekosistem özelliklerinin ortadan kaldırılmasına dayanıyor. Tarla tarımıyla uğraşan ilk çiftçiler, tarlaların verimliliği azaldığında, buraları kendini yenilemeye terk edip, yeni tarım alanları açıyorlardı. Doğal dengeye büyük zararlar veren uygulamalar ise endüstri devrimiyle başladı. Ekosistemlere verilen zararın büyük bir kısmının son 30 yıl içinde olduğunu söyleyebiliriz; bu da, tarımda "yeşil devrim" olarak adlandırılan, etkin sulama, yoğun gübreleme ve güçlendirilmiş bitki türlerinin kullanılmaya başlamasıyla aynı süreç içerisine denk gelir. Pek çok kişi geleneksel tarımda, sürdürülemeyecek bir gelişmenin eşiğine geldiğini düşünüyor. Tarımsal üretimin artık doğaya zarar vermeden artması gerekiyor. Bunu sağlayabilmek için erozyonu, toprağın tuzlaşmasını, su kaynaklarının kirlenmesini ve diğer zararları en aza indirgeyen tarım teknolojilerinin geliştirilmesi gerekiyor. FAO, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerin, besin üretimini arttırmanın yollarını ararken aynı zamanda tarımda kullanılan doğal kaynakları da güvence altına alacak yeni yöntemler geliştirme zorunluluğuyla karşı karşıya olduklarını söylüyor (Zülâl, 1999).

Günümüzde özellikle ekonomik değeri olan bitkilerin önemi iyice artmış olup, bu bitkilere ilişkin çalışmalar çok yönlü hız kazanmıştır. Bunların başında da dünya nüfusu artışına paralel olarak, tarım alanlarından maksimum düzeyde sağlıklı ürün

alınımının sağlanabilmesi yönündeki çalışmalar gelmektedir (Topal, 2003). Dünyada sanayileşme devriminden sonra daralan tarım alanları insanları yeni arayışlara itmiş, bunun neticesinde birim alandan daha fazla ürün eldesi için kimyasal desteğe başvurma gereksinimi duyulmuştur (Sevgican, 1999).

Bitkilerde stres yaratan koşullar biyotik ve abiyotik olmak üzere iki gruba ayrılır. Biyotik stres başlıca mantarlar, bakteriler, virüsler, böcekler ve diğer canlılar tarafından meydana getirilir. Bu hastalık ve zararlılar bitkilerde önemli ürün kayıplarına neden olur. Bu zarar yıllık ortalama olarak bitki grubuna göre % 13-30 arasında değişir. Bu orana yabancı otların neden olduğu kayıplar eklenmemiştir (Demir, 1998). Dığrak (1994)' a göre hastalık, zararlı ve yabancı otlar, kültür bitkilerinde % 25-30' a varan bir ürün kaybına neden olmaktadır. İngiltere' de yapılan bir araştırmada çeşitli bitki gruplarında hastalık ve zararlıların neden olduğu yıllık ürün kayıp oranları Çizelge 1.1' de özetlenmiştir.

**Çizelge 1.1.** Çeşitli Bitki Gruplarında Hastalık ve Zararlıların Neden Olduğu Yıllık Ürün Kayıpları (%) (Demir, 1998).

<b>Bitki Grubu</b>	<b>Hastalık</b>	<b>Zararlı</b>	<b>Toplam</b>
Serin iklim tahılları	8.5	4.9	13.4
Sıcak iklim tahılları	9.2	20.7	29.9
Şeker pancarı	10.4	8.3	18.7
Patates	21.8	6.5	28.3
Pamuk	12	16.7	28.7
Diğer bitkiler	11.6	13.8	25.4

Bu kaybı önlemek veya en aza indirmek amacı ile kültürel önlemler, fiziksel, kimyasal ve biyolojik savaş adı verilen değişik savaş teknikleri uygulanmaktadır. Ancak, bunlar içerisinde sonucun hemen alınabilmesi ve uygulamasının kolay olması nedeniyle kimyasal mücadele yani pestisitler diğerlerine göre daha yoğun olarak kullanılmaktadır (Dığrak, 1994). Ancak zararlı organizmalara karşı bitkilerde koruyucu özellikteki çeşitli pestisitlerin kullanımının artmasıyla beraber, gerek bu kimyasalların uygulanmasındaki yanlışlıklar, gerekse ileri aşamalarda zararlı oldukça büyük boyutlara ulaşmış durumdadır. Kullanılan bu kimyasal maddeler, bitkiler üzerinde fitotoksik etki yapabilmekte, bunların parçalanma ürünleri ise suda, toprakta ve bitkiler



üzerinde uzun süre kalarak hem çevre kirliliğine neden olmakta hem de besin zinciri yoluyla hayvanlarda ve insanlarda önemli sağlık sorunları yaratabilmektedirler (Tüzel, 1996). Hele ülkemizdeki gibi kimyasal tarım ilaçlarının bilinçsiz ve kontrolsüz kullanımı bu sorunları her geçen gün daha da ciddi boyutlara taşımaktadır (Delen ve Özbek, 1994).

Yapılan bir araştırmada, seralarımızın % 80'den fazla bir bölümünde tarımsal savaşım dendiğinde yalnızca kimyasal savaşımın anlaşıldığı belirlenmiştir. Kullanılan pestisitlerin doz ayarının da hassas bir şekilde yapıldığını söylemek yanlış olur. Yine yapılan bir çalışmada, üreticilerin pestisit dozlarının ayarlarını göz kararıyla ya da bardakla yaptıkları bildirilmektedir (Delen ve Özbek, 1992). Bu olumsuz sonuçların ortaya konması eşliğinde üreticilerin bilinçlendirilmesi oldukça önemlidir. Zira bu fazla doz ve yanlış uygulamaların çevreye ve insan sağlığına verdiği zararlar yanında, meyve kalitesini bozduğu, verimi arttırmak yerine azalttığı da bilinen bir gerçektir (Topal, 2003).

### **1.1. PESTİSİTLER**

Pestisit kelimesi Latince kökenli olup “pest” zararlı, “cide” öldürücü kelimelerinin birleştirilmesiyle oluşmuştur ve “zararlı öldürücü” anlamına gelmektedir. Genel anlamda; bitki hastalıkları, zararlı böcekler ve yabancı otlar gibi tarımsal ürünlerin azalmasına neden olabilecek çeşitli etmenlere karşı kullanılan kimyasal bileşiklerin hepsine birden verilen genel bir isimdir. Başka bir deyişle besin maddelerinin üretimi, tüketimi ve depolanmaları sırasında besin değerini bozan ve bitkilere zarar veren böcekleri, mikroorganizmaları ve diğer zararlıları yok etmek için kullanılan kimyasallardır (Ware, 1993; Öztürk, 2001).

Yapısındaki aktif madde gruplarına göre pestisitler, inorganik ve organik pestisitler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Organik pestisitler de yine kendi aralarında doğal ve sentetik organik pestisitler şeklinde ikiye ayrılırlar. Sentetik organik pestisitler zirai mücadelede en fazla kullanılan kimyasallardır ve bu nedenle çevre ve organizmalara karşı zararları açısından en önemli pestisit grubunu oluşturmaktadırlar. Çevre sağlığı açısından pestisitlerin yapısında bulunan aktif madde grupları son derece önemlidir, çünkü bunlar canlılar üzerinde akut ya da kronik etkiler oluşturup, onların ölümlerine neden olmaktadır (Ecobichon, 1996).

### 1.1.1. Pestisitlerin Kalıcılığı

Pestisitlerin bitki üzerinde kalıcılığı çevre koşuluna, bitki ve pestisit özelliklerine göre değişiklik gösterir. Çevre faktörlerinden güneş ışını, pestisitler için önemli bir degradasyon etmenidir. UV ışınları, açık alanda pestisitlerin daha çabuk parçalanmasını sağlarken, diğer bir etken olan sıcaklık ta pestisitlerin parçalanmasını hızlandırmaktadır. Yağmur, rüzgar, oransal nem gibi iklimsel faktörler, bitki yüzeyindeki pestisitlerin buharlaşmasını etkiler ve yıkanmasına neden olur (McBride ve ark., 1988). Oluşan nem, çiy ve gece-gündüz arasındaki ısı farkından kaynaklanan damlacıklar bu tür preparatların yapraktan yıkanıp toprağa karışmasına neden olur. Bitkiye bağlı faktörlerden yaprak yapısı da pestisit kalıcılığında etkilidir. Yukarıda sayılan faktörlerin yanında bir de pestisite bağlı faktörler vardır ki bunlar; yarılanma ömrü, konsantrasyon ve formülasyon şeklinde sıralanabilir. Kontak etkili pestisitlerin bitkilerde tutunmaları, sistemik ilaçlara oranla oldukça düşüktür (Tosun ve Delen, 1996).

Çoğunlukla bitkilere uygulanmasına rağmen pestisitlerin büyük bir kısmı toprağa düşmektedir (Karsavuran ve ark., 2001). İyi yapılmış bir ilaçlamada bile ilacın ancak yaklaşık % 60' ının hedefe ulaştığı kabul edilir. Geri kalan % 40 değişik nedenlerle ziyan olur (Tosun, 2001).

Bu nedenle pestisitlerin toprağa olan istenmeyen etkileri son derece önemli olup göz ardı edilmemelidir. Toprağa düşen pestisit damlacıklarının davranışları, esas olarak kalıcılıkları ve çözünürlüklerine bağlıdır. Toprağın fiziksel ve kimyasal yapısı üzerine özellikle inorganik pestisitlerin olumsuz etkileri dikkat çekicidir (Karsavuran ve ark., 2001). Pestisit uygulamalarının toprak verimliliğine, bitki verimine ve besin içeriklerine zararlı etkiler oluşturduğu çeşitli araştırmacılarca belirlenmiştir (Sinha ve ark., 1988).

Tarım ilaçlarının toprakta parçalanmasında güneş ışını, toprak mikroorganizmaları, pestisitlerin kendi özellikleri ve su faktörleri etkilidir (McBride ve ark., 1988). Güneş ışığı, organik molekülleri parçalar. Bitkiye ya da toprağa uygulanan organik pestisitler güneş ışığı etkisiyle parçalanmaya başlar ve etkililiğini yitirir, çevreye zarar verici etkisi kalmaz. Bazı pestisitler toprakta su ile tepkimeye girerek yeni bileşikler oluştururlar. Birçok pestisit için bu reaksiyon oranı toprak pH' ı ile değişim gösterir. Toprakta yaşayan mikroorganizmaların faaliyetlerince meydana gelen biyokimyasal olaylarla pestisitler, toprakta dekompoze olurlar (McBride ve ark., 1988).

Yarılanma ömrü, belirli koşullarda pestisitın % 50' sinin dekompoze olması için gerekli süre olarak ifade edilir (Munnecke, 1967). Bir kimyasalın yarılanma ömrü çok kısa, orta, uzun ve çok uzun olarak sınıflandırılır (Honeycutt ve Schabacker, 1994).

### 1.1.2. Türkiye' de Pestisit Tüketimi

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü verilerine göre, Türkiye'de toplam pestisit tüketiminin 1979 ve 2001 yılları arasında % 58 oranında arttığı görülmektedir (Delen, 2002).

**Çizelge 1.2.** Türkiye' de Pestisit Tüketimi (katılar kg, sıvılar l) (Delen, 2002).

Pestisit	Tüketim					
	1979	1987	1994	1996	2000	2001
İnsektisit	2,287,658	3,303,446	2,064,991	3,027,380	2,694,080	3,788,812
Akarisit	203,107	240,360	192,279	223,857	266,641	42,604
Fungusit	1,537,315	2,611,960	2,201,406	2,951,191	2,692,957	3,966,798
Herbisit	2,451,977	3,495,044	3,902,588	3,643,971	3,197,078	3,558,014
Fumigant Nematosit Rodentisit Mollusit	321,265	324,351	533,247	1,079,929	1,000,835	818,664
Parafin Yağları	1,594,526	2,147,106	1,977,281	2,871,160	2,606,924	1,124,802
<b>Toplam</b>	<b>8,395,848</b>	<b>12,112,267</b>	<b>10,871,792</b>	<b>13,797,488</b>	<b>12,458,515</b>	<b>13,299,694</b>

### 1.1.3. Çanakkale İlinde Zirai Mücadele İlaçlarının Tüketimi

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Çanakkale Valiliği, Tarım İl Müdürlüğü, Bitki Koruma Şube Müdürlüğü verilerine göre, son yıllarda Çanakkale ilinde tüketilen zirai mücadele ilaçlarının miktarı Çizelge 1.3' te verilmiştir

**Çizelge 1.3.** Çanakkale İlinde Zirai Mücadele İlaçlarının Tüketimi.

<b>TÜKETİLEN MİKTAR</b>			
	<b>2000</b>	<b>2001</b>	<b>2002</b>
<b>Fungusitler</b>	475.000 kg 3.100 l	512.000 kg 4.400 l	339.000 kg 3.300 l
<b>İnsektisitler</b>	16.000 kg 44.000 l	18.000 kg 67.000 l	57.000 kg 55.000 l
<b>Herbisitler</b>	6.700 kg 82.000 l	4.700 kg 122.000 l	4.500 kg 96.000 l
<b>Diğerleri</b>	370 kg 22.500 l	105 kg 20.000 l	800 kg 14.000 l
<b>TOPLAM</b>	<b>500.000 kg</b> <b>147.000 l</b>	<b>535.000 kg</b> <b>213.000 l</b>	<b>401.000 kg</b> <b>168.000 l</b>

### 1.2. BİTKİ-PATOJEN İLİŞKİLERİ

Bitkiler hayatlarını devam ettirebilmek için topraktan mineralleri bularak üst aksama taşıma, güneş enerjisinden faydalanarak fotosentezi gerçekleştirme, su alımını ve kullanımını düzenleme gibi faaliyetlerde bulunmak zorundadırlar. Bitkiler içinde buldukları çevreyi tanıma ve o ortama adapte olma işlevini çeşitli moleküler ve fizyolojik olaylar sayesinde gerçekleştirirler. Bütün bu işlemler, içerden ve dışardan gelen moleküler sinyalleri alan ve bunlara cevap veren, yüksek düzeyde gelişmiş özel dokular sayesinde gerçekleştirilir. Bitkiler aynı zamanda, içerisinde buldukları ortamı diğer canlılarla (patojen ve simbiyontlar gibi) paylaşmak ve hatta onlarla zaman zaman rekabet etmek zorundadırlar (Tör, 1998).

Fitopatolojideki araştırmalar çeşitli alanlara yönelerek, temel işlemlerin anlaşılmasına ve elde edilen bilgilerin tarımsal problemlerin çözümünde kullanılmasına

imkan tanımıştır. Bununla birlikte, bitkilerin savunma mekanizmalarından sorumlu moleküler ve hücreyel olayların anlaşılması daha başlangıç safhasındadır. İnfeksiyonun erken döneminde görülen ve bitkide “aktif” savunmanın başlangıcı kabul edilen olaylar, patojenin tanınması ve ortaya çıkan sinyalin tüm hücreye ve komşu dokulara iletimi göz önüne alındığında, elde edilen bilgiler daha çok yenidir ve son birkaç yılda gerçekleştirilen çalışmaların ürünüdür. Bu bilgiler günümüzde yapılan ve gelecekte yapılacak olan moleküler çalışmalara, bitkilerin patojenleri nasıl tanıdıklarını, buldukları ortamdaki canlıların zararlı mı yoksa zararsız mı olduğuna nasıl karar verdiklerini anlamada büyük faydalar sağlayacaktır (Tör, 1998).

### 1.2.1. Bitki-Patojen İlişkilerine Genel Bakış

Çok sık kullanılan iki terim olan parazit ve patojen, zaman zaman aynı anlamda kullanılmış ise de aralarında temel bir fark vardır. Bir organizmanın başarılı bir parazit olabilmesi için konukçuda yaşayabilmesi ve orada çoğalabilmesi gerekir. Bunun yanında hastalık meydana getirmesi gerekmez. Ne zaman bu parazit konukçuya zarar verir ve hastalık meydana getirirse o zaman patojen olarak adlandırılır. Bir başka deyişle patojenin mutlaka bir parazit olması gerekirken, bunun tam tersi parazitin patojen olması gerekmez (Crute, 1986).

Doğal koşullarda mantar, bakteri ve böcekler bitkiler üzerinde parazit olarak yaşar. Bu nedenle konukçu bitki ile etmen ortaklaşa evrim geçirir. Buna “koevulasyon” denir. Bu evrim ilerlemiş olabilir. Bu durumda konukçu ile patojen genleri arasında özelleşme olur. Patojen bitkiye büyük zarar verir. Bu şekilde zarar gören genotiplerin sayısı zaman içinde azalır. Ancak bitki topluluğu içinde bu patojene karşı dayanıklı geni taşıyanların sayısında bir artış olur. Bu genotip doğada hakim duruma geçer. Bu durumda patojen baskı altına girer, saldırgan gen taşımayan patojenin populasyon yoğunluğu azalır. Ancak patojen populasyonunda virüent gen taşıyan patotipler bitkileri hastalandırır. Doğada hastalığa yakalanan genotiplerin sayısı azalır. Eğer bitki populasyonunda bu yeni patotipe karşı dayanıklı bitkiler bulunursa bunların yoğunluğu artmaya başlar. Bu olay sürekli tekrarlanır. Sonuçta patojen ile bitki genleri arasında bir özelleşme gözlenir. Hem bitkide ve hem de patojende karşılıklı genler oluşur. Patojende oluşan genlere **virüent** veya **avirüent**, bitkide oluşan genlere de **dayanıklılık** veya **duyarlılık** genleri denir (Demir, 1998).

Patojen ve konukçu genleri arasında bir ilişki ortaya çıkar. Buna “**gene karşı gen hipotezi**” denir. Hastalığın ortaya çıkması bitkideki ve patojendeki ilgili genlerin kombinasyonuna bağlıdır. Patojende ve bitkideki genlerin durumuna göre hastalık ortaya çıkar veya çıkmaz. Bitkide dayanıklılık geni ve patojende avirüilent gen varsa bitki hastalığa karşı dayanıklıdır. Bunun dışındaki tüm kombinasyonlarda bitki hastalanır (Demir, 1998).

Bir patojenin normal yaşamını devam ettirdiği konukçu bitki **hassas**, patojen **virüilent** olarak tarif edilir ve konukçu ile patojen arasındaki ilişki **uyumlu** (compatible) olarak adlandırılır. Buna karşılık patojen , bitkide herhangi bir zararlanma meydana getirmiyor, normal yaşamını devam ettiriyor ve bitkiyi istila ederek çoğalmasını sürdürüyorsa, bu bitki o patojene toleranttır. Ancak, bitki bu patojenin gelişme ve çoğalmasını çeşitli nedenlerle tamamıyla durduruyor ise bu bitki genel anlamıyla **dayanıklı** olarak kabul edilmekte ve patojen de **avirüilent** olarak adlandırılmaktadır. Dayanıklı bitki ile patojen arasındaki ilişki de **uyumsuz** (incompatible) olarak kabul edilir (Ellingboe, 1984; Crute, 1986; Bennetzen ve Jones, 1992; Lindsay ve ark., 1993). Zaman zaman yanlış anlamalara da neden olan bu terminoloji Çizelge 1.4’ te verilmiştir.

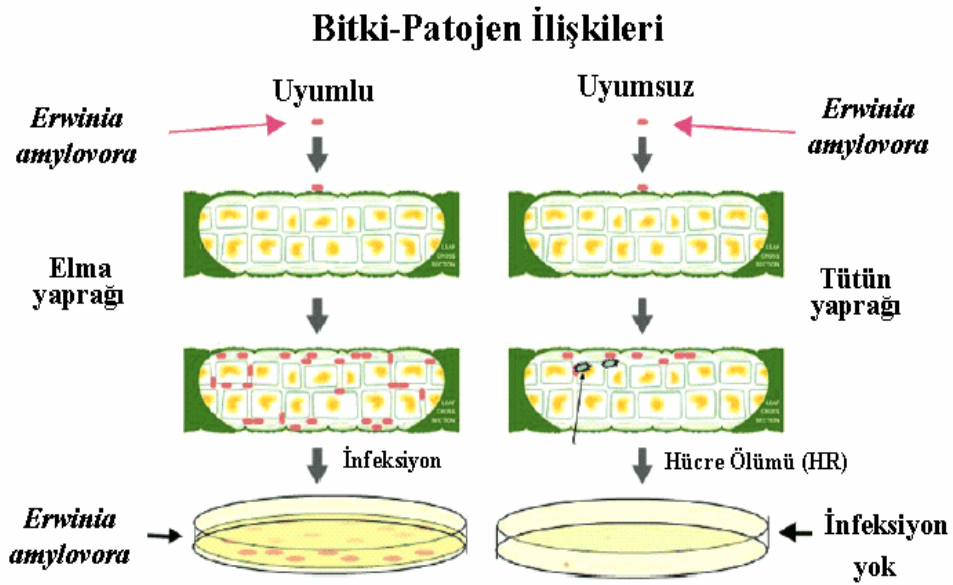
**Çizelge 1.4.** Konukçu-Patojen İlişkilerinde Kullanılan Terminoloji (Tör, 1998).

PATOJENİN İZOLATLARI	KONUKÇU BİTKİNİN GENOTİPİ		KONUKÇU OLMAYAN BÜTÜN BİTKİLERİN GENOTİPİ
	Dayanıklı	Hassas	Dayanıklı
<b>Avirüilent</b>	Uyumsuz (Hastalanmaz)	Uyumlu (Hastalanır)	Uyumsuz (Hastalanmaz)
<b>Virüilent</b>	Uyumlu (Hastalanır)	Uyumlu (Hastalanır)	Uyumsuz (Hastalanmaz)
<b>ARALARINDAKİ İLİŞKİ</b>			

Şekil 1.1’ de *Erwinia amylovora*’ nın konak bir bitki (elma) ve konak olmayan bir bitki (tütün) ile uyumlu (compatible) ve uyumsuz (incompatible) ilişkileri arasındaki farklar karşılaştırılmıştır.

*Erwinia amylovora* elmayı infekte ettiği zaman, uyumlu bir ilişki meydana gelir; elma ağacı, hastalık etmeni bakterinin yayılma ve çoğalmasına karşı bir savunma yanıtı oluşturmayı başaramaz. *Erwinia amylovora* tütününü infekte ettiği zaman ise uyumsuz bir ilişki olur; tütün bitkisi bakterinin varlığını tanır, infeksiyon bölgesi boyunca lokalize olmuş hücre ölümü bakterileri içine alır, HR uyarılır ve hastalık önlenir. Uyumlu ve uyumsuz ilişkiler arasındaki farklar, basit bir deneyle görsel olarak veya nicel olarak (miktar tayini) gösterilebilir. Bir bitki patojeninin, belli bitki türlerini infekte etme yeteneğini test etmek için, bitkiler bakteriyle infekte edilir. İnokulasyonu ve bir inkübasyon periyodunu takiben, bitki dokusu ayrılır ve bakteriler ekstrakte edilir. Bakteriler spesifik büyüme ortamı içeren petri kapları içine yayılır. Bir büyüme periyodunun ardından bakteri kolonileri sayılır.

Uyumlu bir bitki-patojen ilişkisi gösteren konaktan alınan bakterilerin bulunduğu petri kaplarında koloni sayısı yüksektir (solda). Böyle bir konakta, bitkiyi patojenin saldırısından koruyan savunma mekanizmalarının başlatılamamasından dolayı patojen, konak bitkiyi infekte etmeyi başarır. Uyumsuz bir bitki-patojen ilişkisi gösteren konaktan alınan bakterilerin bulunduğu petri kaplarında koloni sayısı azdır veya hiç bakteriyel büyüme yoktur (sağda). Konak olmayan bitkiler, daha ileri infeksiyonları durduran savunma mekanizmalarını aktive eden bir sinyal olarak bakterileri tanıyabilirler (Anonymus, 2000g).



**Şekil 1.1.** Uyumlu ve Uyumsuz Bitki-Patojen İlişkileri (Anonymus, 2000g).

Konukçu ile patojen arasındaki ortaklaşa evrim sırasında bitkiler kendilerini patojenlerden koruma yolları olarak çeşitli engeller de geliştirmişlerdir. Mumsu tabaka ve lignin birikmesi olan hücre duvarları, fiziksel engellere verilecek en güzel örneklerdir. Böyle bir savunma mekanizması, genelde bütün patojen türlerine karşı etkilidir (Tör, 1998).

Daha aktif ve daha etkili bir savunma sistemi ise, Aşırı Duyarlılık (Hipersensitif Reaksiyon, HR)'tır (Klement, 1982). Böyle bir dayanıklılık şekli, belirli bir patojenin bazı ırklarına karşı ortaya çıkabilirken (ırka-özü-dayanıklılık; vertikal dayanıklılık; race-spesifik-resistance), patojenin tüm ırklarına karşı (ırka-özü olmayan-dayanıklılık; horizontal veya genel dayanıklılık; race-non-spesifik-resistance) da olabilmektedir (Newton ve Crute, 1989; Mansfield, 1990). HR olayında patojen ile temasa geçen konukçu hücre ve bu hücreyi çevreleyen komşu hücreler hızlı bir şekilde ölmekte ve nekrotik lekeler halinde kurumaktadır (Mansfield, 1984). HR ile birlikte, hücre duvarlarında değişmeler, kalloz, fenolik polimerler, lignin, süberin, hidroksi proline zengin glikoproteinler ve en önemlisi antimikrobiyal bileşikler, fitoaleksinler (Mansfield, 1983) sentezlenmekte ve infeksiyon noktalarına lokalize olmaktadır. Bitki patojene karşı oluşturduğu böyle bir tepkiyle, patojenin besin alımını engelleyerek gelişmesini durdurduğu gibi bundan sonra olabilecek ikincil infeksiyonlardan da kendini korumaktadır (Crute ve ark., 1985; Dangl, 1992).

### **1.2.2. Konukçu-Patojen İlişkilerinin Genetiği**

Mendel' in kalıtım üzerine çalışmalarını yeniden değerlendiren bitki ıslahçıları, bu yüzyılın başlarında bitkilerde patojenlere karşı oluşan dayanıklılığın patojenin ırkına göre varyasyon gösterdiğini ve kalıtsal olduğunu bulmuşlardır. Bu ilk çalışmaları takip eden yıllar içerisinde, dayanıklılığın genelde tek bir gen (*R* geni) tarafından kontrol edildiği tespit edilmiş ve bu tip genlerden yüzlercesi tanımlanarak ıslah programlarında başarı ile kullanılmıştır. Daha sonraları, Flor' un keten ve keten pası üzerindeki öncül çalışmaları, bitkilerdeki dayanıklılığı sağlayan her bir gene karşı, patojende bu gene denk gelen ve virülensliği kontrol eden bir genin (gene-karşı-gen) bulunduğunu ortaya çıkarmıştır (Flor, 1971). Flor' un bu hipotezi o zamandan günümüze kadar funguslar, bakteriler, virüsler, nematodlar ve hatta böcekleri de içeren bir çok bitki-parazit ilişkisine uygulanmıştır (Crute ve ark., 1985). Flor' un öncül



çalışmalarından bu yana keten ve keten pası üzerindeki çalışmalar, genetiği en iyi irdelenmiş ve detaylı olarak çalışılmış konukçu-patojen ilişkileri olmaya devam etmektedir (Çizelge 1.5).

**Çizelge 1.5.** Konukçu ve Patojenin Genetik İlişkileri ve Fenotipe Yansıması.

H: Hassas, D: Dayanıklı. (Tör, 1998).

	<b>Konukçunun Genotipi</b>		
<b>Patojenin Genotipi</b>	RR	Rr	rr
AA	D	D	H
Aa	D	D	H
aa	H	H	H
	<b>İnteraksiyon Fenotipi</b>		

Konukçu-patojen arasındaki tanışmanın ve doğal populasyonlarda gene-karşı-gen ilişkilerinde görülen evrimin moleküler düzeyde anlaşılması uzun yıllar sır olarak kalmıştır. Fakat bu sır, Rekombinant DNA teknolojisindeki gelişmelerle yavaş yavaş ortadan kalkmış ve gerek *avr* ve gerekse *R* genlerinin yapısı aydınlatılmış, konukçu-patojen ilişkilerine bambaşka bir açıdan bakabilme fırsatı yakalanmıştır (Tör, 1998).

Moleküler klonlanması yapılan ilk genler, bakteriyel patojenlerden izole edilen *avr* genleridir. Bakteriyel *avr* genlerinde ilk çalışmaları başlatan Staskawicz ve arkadaşlarıdır. Bu araştırmacılar *Pseudomonas syringae* pv. *glycinia* ve soya fasulyesi üzerine yaptıkları çalışmalarda, bu bakterinin Psg1, Psg4 ve Psg5 izolatlarının soyanın bazı kültürlerinde hastalık oluşturdıklarını (virülent ırklar) fakat Psg6 izolatının aynı kültürlerde avirüent olduğunu göstermişlerdir. Daha sonra bu araştırmacılar, Psg6 izolatından avirüentliği kodlayan 1.4 kb uzunluğundaki bir DNA parçacığını izole ederek diğer virüent ırklara başarılı bir şekilde aktarmışlar ve bu ırkların da gen aktarımından sonra avirüent olduklarını tespit etmişlerdir (Staskawicz ve ark., 1984).

Bu çalışmayı takip eden yıllarda, farklı bakteri-konukçu ilişkilerinden yararlanılarak yeni *avr* genleri izole edilmiştir. Staskawicz'in çalışmalarına benzer araştırmalar diğer laboratuvarlarda da devam etmiş ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Kobayashi ve ark., 1990), *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (Jenner ve ark., 1991; Mansfield ve ark., 1994), *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (Fillingham ve

ark., 1992), *Xanthomonas campestris* pv. *raphani* (Parker ve ark., 1993) gibi diğer fitopatogenik bakterilerden de *avr* genleri izole edilmiştir.

Bakteriyel patojenleri takiben fungal patojenlerin *avr* genleri de bu konularda çalışmalar yapan araştırmacıların ilgi alanına girmiştir. Fungal patojenlerde *avr* genleri üzerine ilk detaylı çalışmalar Timmis ve arkadaşlarının *Melampsora lini*' nin avirüent irki ile ilgili yaptığı araştırmalardır (Timmis ve ark., 1990).

Klonlanan ilk fungal *avr* geni, domateste mavi küf hastalığından sorumlu olan *Cladosporium fulvum*' dan elde edilmiştir. Uzun yıllardır bu konuda çabalar gösteren, De Wit ve grubu, bu fungustan *avr* genlerini izole edebilmek için farklı bir yöntem izlemişlerdir. Genelde genden proteine gidilerek yapılan çalışmaların tersine, De Wit ve grubu proteinden gene doğru gitmişlerdir. Diğer çalışmalarda olduğu gibi, onlar da önce fungus ile konukçusu arasındaki ilişkileri detaylı olarak incelemişler (De Wit ve Oliver, 1989) ve fungus ile konukçusu arasında gene-karşı-gen ilişkilerinin olduğunu tespit etmişlerdir (Knogge ve ark., 1991). Daha sonra aynı araştırmacılar fungusla infekte olmuş hassas bir bitkiden izole ettikleri apoplastik sıvıyı (hücrelerarası boşluktaki sıvı) dayanıklı domates çeşitlerinin yapraklarına enjekte etmişlerdir. Dolayısıyla fungusun spor veya hifleri olmadan da dayanıklı bitkide tepki mekanizmasının aktive edilebileceğini göstermişlerdir. Aynı sıvı hassas çeşitlere enjekte edildiğinde ise herhangi bir tepki görülmemiştir (De Wit ve Spikeman, 1982). Apoplastik sıvıda bulunan ve dayanıklı bitkideki *R* genini (*Cf-9*) tanıyan protein, daha sonra saflaştırılarak amino asit sekansı elde edilmiş ve bu amino asit zincirini kodlayabilecek DNA parçacığından oligonükleotidler sentezlenmiştir. Bunlarla fungusunun cDNA kütüphanesi taranarak o proteini kodlayan cDNA klonu tanımlanmış, yapılan moleküler çalışmalarla bu klonun aynı *avr* genini (*avr9*) taşımayan diğer fungal izolatlarda bulunmadığı gösterilmiştir. Ayrıca bu klon *Cf-9*' da hastalık yapan virüent bir izolata aktarıldığında bu izolat avirüent hale gelmiş ve *Cf-9* geni tanınarak HR görülmüştür (Van den Ackerveken ve ark., 1991).

### **1.3. BİTKİLERİN PATOJENLERE KARŞI SAVUNMA YOLLARI**

Her bitki türü yaklaşık olarak 100 farklı fungus, bakteri ve virüs çeşidinden etkilenir (Agrios, 1997). Sadece mikrobiyal patojenler değil aynı zamanda nematodlar, böcekler, herbivorlar, belli kimyasallarla muamele ya da diğer stres tipleri de bitkiler üzerinde etkili olabilir (Sticher ve ark., 1997). Bitkiler patojen ve böcek saldırılarına

karşı hem lokalize hem de sistemik olan savunma mekanizmalarını harekete geçirmek suretiyle tepki gösterirler (Tiryaki ve Tunaz, 2004).

Bitkilerin bir kısmı bu saldırılardan az veya çok zarar görmekte, bir çoğu ise yaşamlarını devam ettirip kendilerinden beklenen verimi ortaya koyabilmektedir. Genelde bitkiler kendilerini patojenlere karşı 2 savunma silahının kombinasyonu ile savunurlar. Bunların ilki patojenin bitkiye girişi ve bitki boyunca yayılmasını inhibe eden fiziksel bariyerler olarak etki yapan yapısal karakteristiklerdir. Diğeri ise, ya patojene toksik etki eden ya da bitkide patojenin büyümesini inhibe eden koşullar yaratan maddeler oluşturan, bitkinin dokuları ve hücrelerinde yer alan biyokimyasal reaksiyonlar (Agrios, 1997).

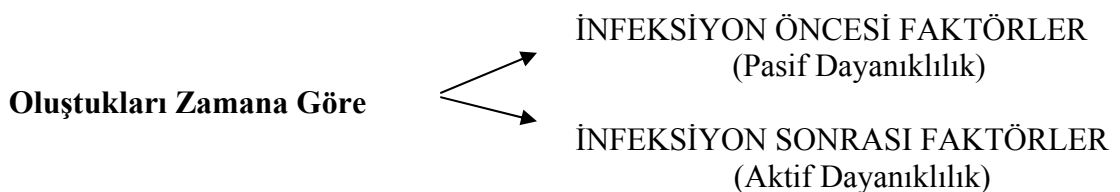
Bitkilerin savunma yanıtları başlıca 3 bölümde kategorize edilmiştir;

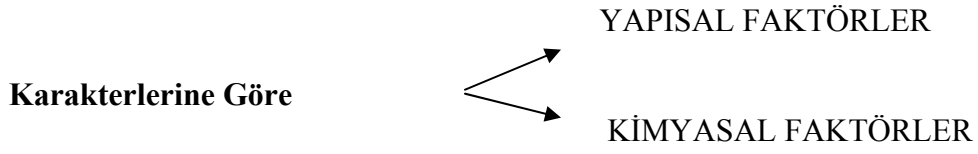
1. Gene-karşı-Gen rezistans yolu.
2. Virülent patojenin bitki boyunca yayılmasını sınırlayan yol.
3. SAR yolu. (Glazebrook ve ark., 1997).

Gene-karşı-gen rezistans yolunda patojen, konaktaki spesifik bir rezistans ( $R$ ) genine karşılık gelen belli bir avirülens genine sahipse konak rezistanttır. Spesifik bir  $R$  geni içeren bitkiler, patojenin yayılmasını sınırlayan ve Hipersensitif Yanıt (HR) olarak adlandırılan lokalize hücre ölümüne öncülük eden avirülens ( $avr$ ) geni taşıyan patojenleri tanıyabilirler (Glazebrook ve ark., 1997; Rairdan ve Delaney, 2002).

Gene-karşı-gen yolu bitkide sadece lokalize hipersensitif yanıtı uyarır aynı zamanda gelecek patojen saldırıları için SAR uyarır. SAR yolunda bir patojen tarafından konak hücresinde meydana getirilen infeksiyon, bitki boyunca yayılan bir sinyali tetikler, bu sinyal infekte olmamış dokularda savunma genlerinin aktivasyonunu tetikler ve bitkide bir dizi patojenin takip eden infeksiyonuna karşı artmış bir rezistans görülür (Glazebrook ve ark., 1997).

### 1.3.1. Bitkilerde Dayanıklılık Sağlayan Faktörler





Bitkilerde dayanıklılık sağlayan faktörleri şöyle sıralayabiliriz;

## **1. Yapısal Özellikler veya Engeller Yoluyla Dayanıklılık**

### **a. İnfeksiyon Öncesi Mevcut Olan Yapısal Özellikler**

- Mum tabakasının varlığı
- Kutikula kalınlığı
- Hücre çeperi kalınlığı
- Stoma ve lentisellerin özellikleri
- Tüylere

### **b. İnfeksiyon Sonrası Oluşan Yapısal Engeller**

- Mantar tabakasının oluşumu
- Ayırıcı tabakaların oluşumu
- Sakız maddelerinin birikimi
- Tiloz oluşumu
- Papilla oluşumu

## **2. Kimyasal Özellikler veya Engeller Yoluyla Dayanıklılık**

### **a.İnfeksiyon Öncesi Mevcut Olan Kimyasal Özellikler**

- Fenollü bileşikler
- Alkoloidler
- Saponinler
- Doymamış laktonlar
- Siyanogenik glikozidler
- Kükürtlü bileşikler
- Hardal yağları
- Besin maddelerinin elverişsizliği

### **b. İnfeksiyon Sonrası Oluşan Kimyasal Engeller**

- Fenollü bileşikler
- Fitoaleksinler (Aşırı Duyarlılık)

### 1.3.2. İndüklenmiş Yapısal ve Biyokimyasal Savunmalar

İndüklenmiş savunma reaksiyonlarının çeşitliliğine rağmen, bitki savunma mekanizmalarının 4 safhada düzenlenmiş olabilecek belli özellikleri olduğu önerilmiştir:

1. Non-self olarak bitki tarafından patojenin tanınması.
2. Patojen kaynaklı sinyallerin algılanması.
3. Savunma yanıtlarının başlamasına öncülük eden intraselüler sinyal transdüksiyonu.
4. Savunma yanıtlarının başlaması (Ebel ve Scheel, 1992).

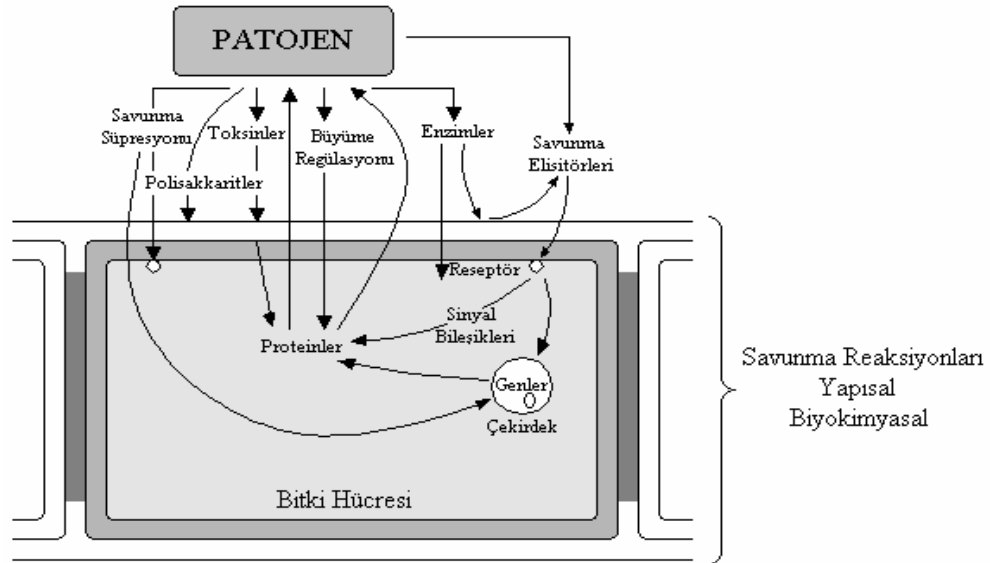
#### 1.3.2.1. Konak Bitki Tarafından Patojenin Tanınması

Bitkiler, içerisinde buldukları ortamda sürekli olarak gerek biyotik (mikroorganizmalar, simbiyontlar vb. canlı etmenler), gerekse abiyotik faktörler ( $O_2$ ,  $CO_2$ , UV, toz vb. cansız etmenler) tarafından etkilenirler. Bu uyarıcılar genelde hücre membranlarında yer alan çeşitli reseptörler tarafından alınarak hücre içerisindeki gerekli yerlere iletilirler (sinyal iletimi). Alınan bu sinyallere göre de bitkide bir tepki oluşur (Tör,1998). Sinyal iletimi ve bitkide oluşan tepki ile ilgili bazı örnekler Çizelge 1.6' da verilmiştir.

**Çizelge 1.6.** Bitki Hücrelerini Etkileyen Uyarıcılardan Bazıları ve Bu Uyarıcıların Alınmasında Görev Alan Reseptörlerin Yerleri ile Bitkinin Bu Uyarıcılara Karşı Gösterdiği Tepki (Gilroy ve Trewavas, 1990).

Uyarıcı	Reseptörün Yeri	Sinyal İletimi	Tepki
Kırmızı Işık	Hücre Membranı	$Ca^{2+}$	Fotomorfojenesis
Mavi Işık	“	$Ca^{2+}$	Fototropizm
Dokunma	“	$Ca^{2+}$	Tendrill kavrılması
Sıcaklık	“	$H^+/Ca^{2+}$	Çiçek açma
$H_2O$	“	Elektrik değişimi	ABA birikimi
$CO_2$	Suda çözünür	$H^+$	Stoma kapanması
$O_2$	“	$H^+$	Büyümenin teşviki
Nitrat ve fosfat	“	$H^+$	Köklerde dallanma

İşte, konukçu-patojen ilişkileri de bu açıdan incelenirse, bitkilerde patojene karşı bir tepki olarak ortaya çıkan dayanıklılık olgusu daha iyi anlaşılacaktır (Romantschuk, 1992). **Tanıma olayı**, konukçu hücresi ile patojen arasındaki moleküler temas sayesinde ortaya çıkan ve bitkide belirli bir kimyasal ve/veya morfolojik tepkiye yol açan bilgi iletişimi olarak tarif edilmektedir (Thordall-Christensen ve ark., 1987). Bitkinin patojenden korunmak için mevcut biyokimyasal ve yapısal savunmalarını harekete geçirmesi için, bitki tarafından patojenin ilk tanınması çok önemlidir (Agrios, 1997). Konukçu-patojen ilişkilerinde ilk basamak, patojen ile konukçu bitki arasında fiziksel bir temasın kurulmasıdır (Romantschuk, 1992). Moleküler temas mikroorganizmaların dış yüzeyinde bulunan ve çoğunlukla glikoprotein karakterinde olan sinyal vericiler (elisitörler) ile bitki hücresi dış yüzeyinde bulunan ve elisitörleri bağlama yeteneğinde olan proteinler (lektinler) arasında olmaktadır (Thordall-Christensen ve ark., 1987). Bu temas, bitkinin toprak üstü kısmında (fillosfer) olabileceği gibi, bitkinin toprak altında kalan kısımlarında (rizosfer) da olabilir (De Wit, 1986; Callow ve ark., 1988; Lamb ve ark., 1989; Dangl, 1995). Patojen bitkiyle fiziksel temas kurmaz kurmaz bitki, bir patojenin varlığını bildiren sinyal molekülleri almaya başlar (Şekil 1.2) (Agrios, 1997). Bu ilk temas kurulduktan sonra, patojen ile konukçu arasında bir tanışma olayı gerçekleşir (De Wit, 1986; Callow ve ark., 1988; Lamb ve ark., 1989; Dangl, 1995).



**Şekil 1.2.** Patojen ile Konak Bitki Hücreleri Arasındaki İlişkilerin Şematik Gösterimi (Agrios, 1997).

Bitki hücreleri genetik yapısıyla bağlantılı olarak, hücre duvarı savunma yapıları (mumlar, kütin, süberin, lignin, fenolik bileşikler, selüloz, kalloz, hücre duvarı proteinleri) veya biyokimyasal duvar, membran, sitoplazma ve nükleus savunma reaksiyonlarını kapsayan pek çok savunma yollarıyla reaksiyon gösterebilir. Son söylenen savunmaya, oksidatif patlama, elisitörlerin üretimi, hipersensitif hücre ölümü, etilen, fitoaleksinler, inhibitörler (tioninler, proteinaz inhibitörleri, taumatin benzeri proteinler), PR Proteinleri (hidrolitik enzimler,  $\beta$ -1,3 glukanaazlar, kitinaazlar) vs. dahil olabilir (Agrios, 1997).

Bitkinin patojeni tanınması için, iki farklı yolun izlendiği belirtilmiştir. Bunlardan birincisi, genel bir mekanizma sayılan ve patojenin hücre duvarından veya kütikula tabakasından açığa çıkan bileşiklerin bitki tarafından algılanmasıdır (Mansfield, 1983, 1986; Day, 1986; Ellis ve ark., 1988; Crute, 1992; De Wit, 1992). Çeşitli patojenler, özellikle fungus ve bakteriler, yakın çevrelerine glikoproteinler, karbonhidratlar, yağ asitleri ve peptitler gibi çeşitli maddeler salarlar. Çeşitli konak-patojen kombinasyonlarında belli maddeler bitki tarafından patojenin tanınmasında elisitörler olarak etki yapar. Pek çok durumda, konak enzimleri patojenin yüzeyini oluşturan polisakkaritlerin bir kısmını parçaladığında veya patojen enzimleri bitki yüzey polisakkaritlerinin bir kısmını parçaladığında salınan polisakkaritlerin monomerleri veya oligomerleri bitki için tanıma elisitörleri olarak etki eder. Patojen elisitörleri tanıyan konak reseptörlerinin lokasyonu genellikle bilinmemektedir fakat bazı çalışmalar hücre membranı üzerinde veya dış tarafta bulduklarını gösterirken, diğerlerinin intraselüler olarak buldukları açıktır. Belli bir bitki molekülü, bir patojenden türemiş bir molekülü (elisitör) tanır ve onunla reaksiyona girerse, bitkinin patojeni tanıdığı farzedilir (Agrios, 1997).

İkincisi yol ise, daha detaylı çalışılmış olan ırka özgü-dayanıklılık mekanizmasında görülmektedir. Burada, bitkide bulunan spesifik bir tanışma geninin (*R*-Recognition) patojenin avirulent (*avr*) geni tarafından üretilen bir antijeni tanınması olayı vardır (Mansfield, 1983, 1986; Day, 1986; Ellis ve ark., 1988; Crute, 1992; De Wit, 1992). Konukçu-patojen arasında görülen böyle bir uyumsuz ilişki, uyarıcı reseptör modeline uygulanırsa, *avr* gen ürünleri uyarıcı olurken hücre duvarında bulunan *R* geni ürünleri de reseptör görevi görmektedir. *R* geni ürünleri tarafından alınan sinyal herhangi bir yolla hücre içerisinde gerekli yerlere iletiildiğinde, bitkide aktif savunma

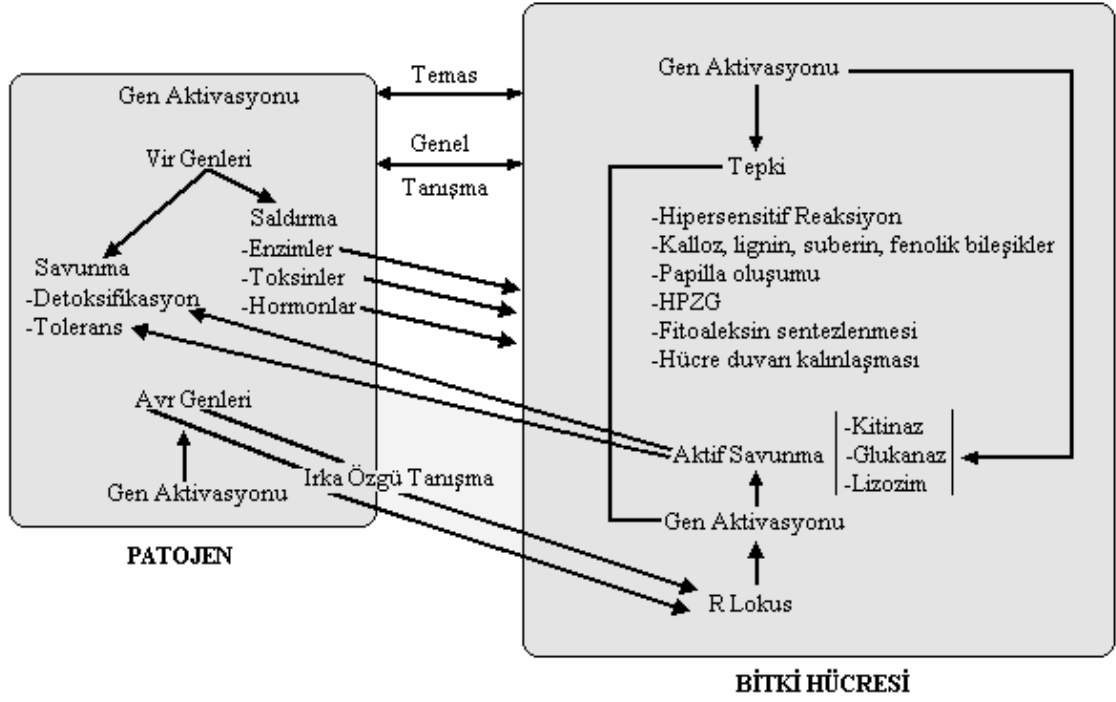
sistemi ve tepki mekanizmasını çalıştırmakta ve sonuçta da dayanıklılık olgusu ortaya çıkmaktadır (Dixon ve Lamb, 1990; Lamb, 1994).

Tanışma olayı ile patojen, karşılaştığı bitkinin kendi konukçusu olup olmadığına karar verirken, konukçu bitki de gelen uyarıcının bir patojenden olup olmadığını ve ona karşı nasıl bir reaksiyon verebileceğini tespit eder. Her ne kadar bu tanışma olayı daha yeni anlaşılmaya başlanmış ise de, patojenin bitkiyi tanınmasında düşük pH' nın veya bitkide bulunan özel metabolitlerin rol oynadığı ileri sürülmekteydi (Mansfield, 1983, 1986; Day, 1986; Ellis ve ark., 1988; Crute, 1992; De Wit, 1992).

Her iki tanışma yolu da aktif savunma mekanizmalarının tamamını aktive eder (Dixon ve Lamb, 1990; Lamb, 1994). Tanışmayı bir seri biyokimyasal reaksiyon ve yapısal değişiklikler takip eder. Bu değişiklikler, bitki hücresinde patojeni, onun enzimlerini, toksinlerini vs.'yi uzaklaştırmak için gerçekleşen olaylarla ayarlanır (Agrios, 1997).

Diğer taraftan patojenler hayatlarını devam ettirmek isteyecek ve bitkileri tamamiyle istila edebilmek için konukçunun potansiyel dayanıklılık mekanizmasını kırmaya çalışacaktır. Bunu yapabilmek için, ya yeni bir ırkını oluşturacak (mutasyon, rekombinasyon, heterosis veya paraseksüel döngü yollarıyla) ya da başka bir yol deneyecektir. Böyle durumlar, doğal koşullarda sürekli devam etmektedir. İslahçının piyasaya sürdüğü dayanıklı çeşitler birkaç yıl içerisinde patojenler tarafından aşılmaktadır. Başarılı şekilde hayatını devam ettiren bir patojene bakıldığında, özellikle mildiyö, külleme ve pas gibi biyotrofik funguslarda, konukçu ile patojen arasındaki tanışmanın olmadığı ve HR ile diğer aktif savunma mekanizmalarının çalışmadığı görülmektedir (Heath, 1986; Mansfield, 1986; Vanderplank, 1986; Mitchelmore ve ark., 1988). Burada tanışmanın ve tepkinin baskı altında tutulduğu ve antimikrobiyal bileşiklerin detoksifiye edildiği belirtilmektedir (Mansfield, 1990). Böyle bir mekanizma ile de konukçu-patojen ilişkileri uyumlu hale gelmektedir. Bütün bu işlemler şematize edilerek Şekil 1.3' te verilmiştir.





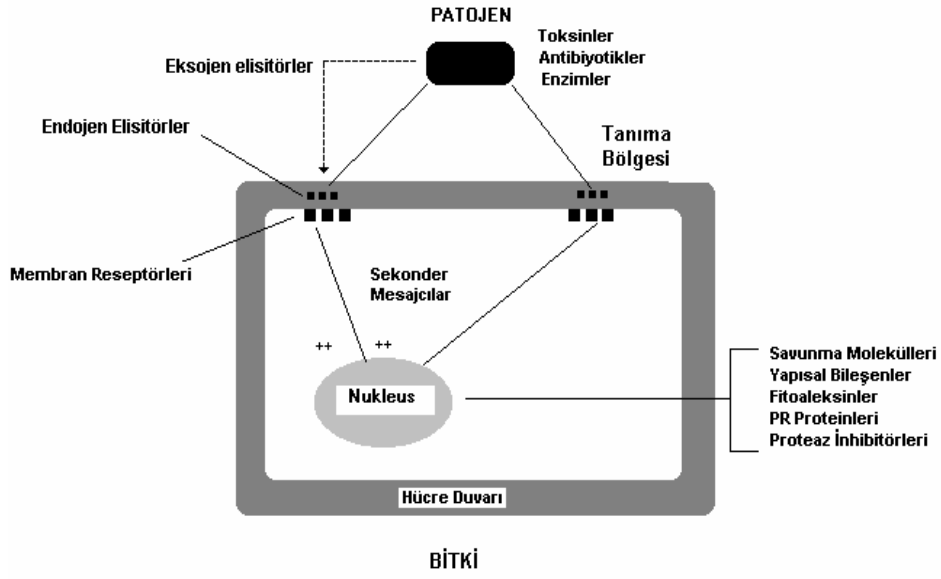
**Şekil 1.3.** Mikrobiyal Bir Patojen ile Konukçusu Arasında Görülen İlişki Düzeyleri (Tör, 1998).

**Vir:** virülent **Avr:** avirülent ve oklar moleküler akımların yönünü göstermektedir.

Konukçu açısından bakıldığında, olayların gelişme sırası şu şekilde olabilir:

1. Patojen ile temas (bitki yüzey yapısı, patojenin yüzeye tutunabilirliği vb. faktörler rol oynar).
2. İrka-özü tanışma (patojendeki *avr* genleri ile konukçudaki *R* genlerinin ürünleri ilişkiye geçer).
3. Gen Aktivasyonu (*avr* ürününü tanıyan *R* geni ürünü diğer genleri aktif hale getirir).
4. Genel Tanışma (erken dönemde görülür ve konukçu veya patojenden açığa çıkan kütikula ya da hücre duvarı parçacıkları, sinyal iletişimde görev alırlar).
5. Sinyal iletişimi sonucu gen aktivasyonu olur ve tepki mekanizması çalışır. Her ne kadar iki farklı tanışma sistemi varsa da tanışmadan sonra gelen sinyal iletişim sistemleri aynı olabilir (Tör, 1998).

Patojen ve bitki hücreleri arasındaki tanışma olayını Lamb (1994) ve Kobayashi (1995) de şematik olarak açıklamışlardır (Şekil 1.4).

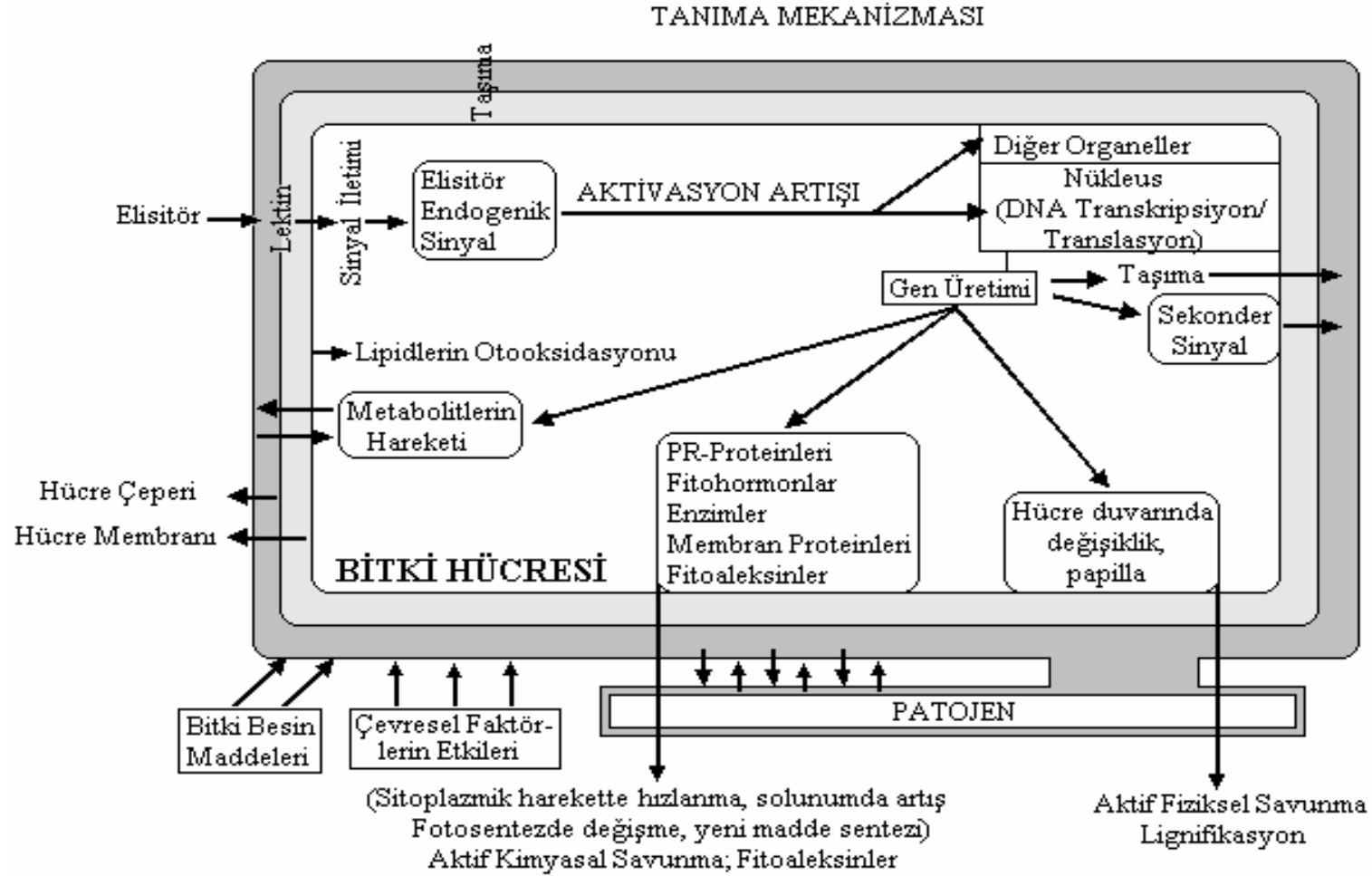


**Şekil 1.4.** Bitki-Patojen İnteraksiyonlarında Sinyaller ve Yanıtlar (Lamb, 1994; Kobayashi, 1995).

İki partnerin tanışmasında patojen, sinyal üreten pektik oligomerler (endojen elisitörler)'in salınmasına katkıda bulunan endopoligalakturonazları içeren bir dizi metabolit üretir. Bu elisitörlerin spesifik membran reseptörlerine bağlanması, nükleusa sinyal ileten sekonder mesajcılarının aktivasyonuna öncülük eden membran depolarizasyonuna neden olur (Lamb, 1994; Kobayashi, 1995).

Daha sonra yapısal bileşikleri, sekonder metabolizma enzimlerini, PR proteinlerini ve proteaz inhibitörlerini kodlayan savunma genleri tetiklenir. PR proteinleri arasında yer alan kitinaz ve  $\beta$ -1,3-glukanazlar, spesifik membran reseptörlerine bağlanan ve endojen elisitörler tarafından indüklenen olaylara benzer bir dizi olayı tetikleyen, kitin ve  $\beta$ -1,3-glukan oligomerlerinin (eksojen elisitörler) salınmasına öncülük eden fungal hücre duvarının hidrolizine neden olabilirler (Lamb, 1994; Kobayashi, 1995).

Dayanıklılığın uyarılmasından sonra bitki hücrelerindeki metabolik değişikliklerin sırası ve enfeksiyona engel olunması Şekil 1.5' te ayrıntılı olarak şematize edilmiştir.



**Şekil 1.5.** Tanima Mekanizmasında Yüzey Komponentleri Arasındaki İlişki ve Bitki Hücresinde Meydana Gelen Metabolik Değişiklikler [İnci (1996)' ye göre Schönbeck ve ark., (1993)].

### 1.3.2.2. Sinyal Transdüksiyonu

Patojen kaynaklı elisitörler, konak tarafından bir defa tanındığında, konak hücreye, nükleer genlerin ve proteinlerin aktive olmasına neden olan, patojene inhibitör etki eden maddelerin üretilmesi ve patojen tarafından saldırıya uğramış hücrelerin bulunduğu noktaya doğru hareket etmesine neden olan bir seri sinyal gönderilir. Bazı alarm bileşikleri ve sinyal transdüksiyonları sadece intraselülerdir. Fakat pek çok durumda sinyal aynı zamanda çeşitli komşu hücrelere de gönderilir. Açıkça sistemik olarak bitkinin her yerine ya da çoğu yerine iletilir (Agrios, 1997).

Gönderilen sinyal moleküllerinin kimyasal tabiatı pek çok konak-patojen kombinasyonunda kesin olarak bilinmemektedir. Moleküllerin çeşitli tipleri intraselüler sinyal transdüksiyonuna dahil edilmiştir. En yaygın sinyal transdüserleri çeşitli protein kinazlar, ATPazlar, hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), etilen ve diğerleridir. Sistemik kazanılmış dayanıklılığa öncülük eden sistemik sinyal transdüksiyonunun salisilik asit, bitki hücre duvarlarından salınan oligogalakturonidler, jasmonik asit, sistemin, yağ asitleri, etilen ve diğerleri tarafından gerçekleştirildiği düşünülmektedir. Salisilik asit ve sentetik dikloro izonikotinik asit gibi bazı yapay kimyasallar da, çeşitli patojenik virüs, bakteri ve funguslara karşı sistemik kazanılmış rezistansa öncülük eden sinyal yolunu aktive ederler (Agrios, 1997).

### 1.3.2.3. Elisitörler ve Bitki Yanıtları

Orijinal olarak bitkilerde fitoaleksinin sentezini uyaran bileşikler belirtmek için kullanılan elisitör terimi (Keen ve Bruegger, 1977; West, 1981; Darvill ve Albersheim, 1984) son zamanlarda hücre duvarıyla ilişkili fenil propanoid bileşiklerinin sentezi, kallozun (1,3-β-glukan) depozisyonu, hidroksipolince zengin glikoproteinlerin birikimi ve belli hidrolitik enzimlerin sentezi (kitanazlar ve β-glukanazlar gibi) gibi diğer tipik savunma mekanizmalarını indükleyen bileşikler için de kullanılmıştır (Ebel, 1986; Hahlbrock ve Scheel, 1987). En az birkaç elisitörün birden fazla savunma yanıtını uyardığı (Ebel, 1986) ve belli elisitörlerin sinerjistik etki yaptığı gösterilmiştir (Darvill ve Albersheim, 1984; Preisig ve Kuć, 1985; Davis ve ark., 1986; Davis ve Hahlbrock, 1987).

Gene karşı gen ilişkisi sergileyen interaksiyonlarda, konak kültürlerinin bazılarında belli patojen ırklarının spesifitesini yansıtan “spesifik elisitörleri” tanımlamak için çeşitli denemeler yapılmıştır (Flor, 1971). “Spesifik elisitör”

raporlarının çokluğuna rağmen (Keen ve ark., 1989) çok azı izole edilmiş ve karakterize edilmiştir. İnfekte yaprakların interselüler yıkama sıvısından *Cladosporium fulvum*' un 28 amino asitten ibaret bir peptiti izole edilmiştir ve Cf9 rezistans geni taşıyan domates kültürlerinde nekrozisin ırk/kültüvar-spesifik bir elisitörü olduğu gösterilmiştir (Schottens-Toma ve De Wit, 1988). Spesifik elisitörlerin diğer örnekleri Keen ve Dawson (1992) tarafından tartışılmıştır.

Bitki-patojen interaksiyonlarında hiçbiri ırk/kültüvar spesifitesi göstermeyen, diğer birçok elisitör tipi tanımlanmıştır. Bunlar genel rezistansa katılan “genel elisitörler” dir. Biyotik elisitörler, fungal hücre duvarı veya bitki hücre duvarındaki karbonhidratlar, lipidler, mikrobiyal enzimler, polipeptitler veya glikoproteinleri içerirler. Abiyotik elisitörler, bileşiklerin farklı bir grubunu teşkil eder (Grisebach ve Ebel, 1978).

Karbonhidrat temelli elisitörlerin 3 önemli tipi tanımlanmıştır. Fungal hücre duvarlarından,  $\beta$ -glukanlar ve kitin veya kitosan fragmentleri (oligo-1,4- $\beta$ -N-asetil glukozamin veya oligo-1,4- $\beta$ -glukozamin) ve bitki hücre duvarlarından, oligo-1,4- $\alpha$ -galakturonidler. Bazı araştırmacılar bitkilerin, savunma yanıtının ekspresyonunu düzenleyen, oligosakkarite-bağlı bir haberleşme sistemine sahip olduklarını ileri sürmüşlerdir (Darvill ve Albersheim, 1984; Ryan, 1988).

Kitosanın çeşitli bitkilerde savunma yanıtını uyardığı gösterilmiştir (Ebel ve Scheel, 1992; Akı ve Türkan, 2000). Yapılan bir araştırmada kitosan uygulamasının kabak (*Cucurbita pepo* L.) ve fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.)’de peroksidaz değişimleri üzerindeki etkileri incelenmiş ve kitosan uygulamasının peroksidaz aktivitesini arttırdığı ve bitkilerin savunma sistemlerini uyardığı saptanmıştır (Akı ve Türkan, 2000).

Kavunda kısmi asit hidroliziyle kitinden salınan kitin fragmentleri tarafından kitinaz aktivitesindeki artışlar uyarılır (Roby ve ark., 1987). Soya ve maydanozda fungal orijinli fitoaleksinin elisitörleri ve oligogalaktronidler arasında sinerjistik etkiler gözlenmiştir (Darvill ve Albersheim, 1984; Davis ve ark., 1986; Davis ve Hahlbrock, 1987).

Aynı zamanda protein elisitörler de tanımlanmıştır. İlk olarak Cruickshank ve Perin (1968) tarafından *Monilia fructicola*' dan Monilicolin A adı verilen elisitör izole edilmiştir. Bu elisitörün, bu fungus için bir konak bitki olmayan fasülyede phaseollin' in birikimini uyardığı bulunmuştur. *P. parasitica* var. *nicotianae*' den ekstraselüler bir

glikoprotein, tütün kallusunda seskiterpenoid fitoaleksini capsidiol' ün birikmesine neden olduğu bulunmuştur (Farmer ve Helgeson, 1987).

#### **1.3.2.4. İndüklenmiş Yapısal Savunmalar**

Konak bitkinin yüzeysel ve internal savunma yapılarının oluşmasına rağmen, çoğu patojen konağına penetre olmaya ve çeşitli derecelerde infeksiyon oluşturmaya uğraşır. Patojen penetre olduktan sonra bile savunma yapıları oluşur. Bununla beraber bitkiler genellikle daha ileri patojen istilasından korunmada az yada çok başarılı, bir veya birden fazla yapı oluşturarak yanıt verir. Bazı savunma yapıları sitoplazmayı kapsayarak oluşur ve “Sitoplazmik Savunma Reaksiyonu” olarak adlandırılır. Diğerleri istila edilen hücrelerin duvarlarını kapsar ve “Hücre Duvarı Savunma Yapıları” olarak adlandırılır. Bazıları da patojenin önündeki dokuları kapsar ve “Histolojik Savunma Yapıları” olarak adlandırılır. Son olarak, istila edilmiş hücrenin ölümü bitkiyi daha ileri patojen istilasından koruyabilir ve bu savunma, hipersensitif veya nekrotik savunma reaksiyonu olarak adlandırılır (Agrios, 1997).

#### **1.3.2.5. Hipersensitif Yanıt (HR, Nekrotik Savunma Reaksiyonu)**

Bitkiler, savunma yanıtlarının indüklenmesi suretiyle bir kısım patojen saldırılarına başarılı bir şekilde direnirler. Patojenlerle savaşmak için bitki tarafından kullanılan savunma yanıtlarından biri hipersensitif yanıt'tır. Hipersensitif yanıt infeksiyon bölgesi etrafında bitki hücrelerinin nekrozuna neden olarak infeksiyonun bitki boyunca yayılmasının sınırlanmasını sağlar. Hipersensitif yanıt, infeksiyonun lokalizasyonu yanında sistemik kazanılmış dayanıklılık (SAR) olarak bilinen bir olayı da tetikler (Tiryaki ve Tunaz, 2004).

Hipersensitif yanıt, bir yapısal savunma mekanizmasından ziyade, biyokimyasal savunma mekanizması olarak düşünülmektedir. Pek çok konak-patojen kombinasyonunda, patojen hücreyle temas kurar kurmaz nükleus patojene doğru hareket eder ve hemen onu parçalar. Aynı zamanda kahverengi, reçineye benzer granüller ilk önce patojenin penetre olduğu noktanın etrafında ve daha sonra sitoplazmanın her yerinde oluşur. Bitki hücrelerinin sitoplazmasındaki kahverengileşme devam eder ve ölüm başlar, saldıran hücreler dejenere olmaya başlar. Pek çok durumda hif böyle hücrelerin dışında büyüyemez ve daha ileri istila durdurulur. Yapraklarda bakteriyel infeksiyonlarda, hipersensitif yanıt bakteriyel kontage geçmiş hücrelerin membranlarının

yıkılmasıyla sonuçlanır. Yani bakteri saldırısına uğrayan yaprak dokularında nekroz ve kuruma meydana gelir (Agrios, 1997).

Nekrotik veya hipersensitif savunma tipi oldukça yaygındır, özellikle obligat fungal parazitler, virüsler, bakteriler ve nematodlar tarafından oluşturulan hastalıklarda görülür. Açıkçası nekrotik doku, patojeni sadece beslenmesi için bağımlı olduğu canlı maddeden ayırmaz, onların açıklıktan ölmesine neden olur. Ancak daha önemli olarak patojeni etkisiz hale getirmek için antimikrobiyal bileşikler ve çeşitli biyokimyasal hücre yanıtları artar. İnvazyondan sonra konak hücreleri daha hızlı ölür, bitkinin bu şekilde enfeksiyona daha dirençli olduğu görülmektedir (Agrios, 1997).

### **1.3.2.6. Saldırıya Uğramış Konak Hücrelerinde Antimikrobiyal Bileşiklerin Üretimi**

#### **1.3.2.6.1. PR Proteinleri (Pathogenesis-related Proteins/ Patojeniteyle İlgili Proteinler)**

Patojeniteyle ilgili proteinler, PR Proteinleri olarak adlandırılırlar ve bitkiyi istila eden fungal patojenlere toksik etkili, bitki proteinlerinin yapısal olarak farklı bir grubudur. PR proteinleri, sağlıklı bitkilerde yaygın olarak eser miktarlarda bulunurlar fakat yaralanma, stres, elisitörlerle muamele veya patojen saldırısının ardından çok yüksek konsantrasyonlarda üretilirler. Bu etmenler PR proteinlerini kodlayan bir dizi genin transkripsiyonunu indükler (Agrios, 1997). PR Proteinleri bitkilerde virüsler, viroidler, funguslar veya bakteriler ile enfeksiyon ile birikirler (De Wit ve Bakker, 1980; Gianinazzi ve ark., 1980; Ahl ve ark., 1981; Camacho Henriquez ve Sanger, 1982). Böyle proteinler ilk kez Tütün Mozaik Virüsüne (TMV) hipersensitif yanıt gösteren tütün yapraklarında keşfedilmiştir (Van Loon ve Van Kammen, 1970) ve sonra çeşitli koşullar altındaki birçok bitki türlerinde bulunmuştur (Van Loon, 1985).

Bu PR proteinleri ortak ayırt edici özelliklere sahiptir. Örneğın, düsük pH'ta seçici olarak ekstrakte edilebilirler (Van Loon, 1976), proteolitik enzimlere yüksek oranda rezistanttır (Pierpoint ve ark., 1981) ve doğal poliakrilamid jelde elektroforez ile cozulebilirler. Onlar baskın olarak interselüler alanlarda keşfedilmiştir (Parent ve Asselin, 1984; Carr ve ark., 1987).

PR proteinlerinin değişik tipleri, çeşitli bitkilerden izole edilmiştir (Agrios, 1997). *Nicotiana tabacum*' da 10 önemli asidik PR proteini saflaştırılmış ve karakterize edilmiştir (Van Loon, 1982; Jamet ve Fritig, 1986; Pierpoint, 1986) ve PR-1a, -1b, -1c, -

2, -N, -O, -P, -Q, -R ve -S olarak adlandırılmıştır. PR-1a, -1b ve -1c proteinlerinin sentezinin mRNA seviyesinde düzenlendiği gösterilmiştir (Hooft van Huijsduijnen ve ark., 1986). Farklı bitki organları, örneğin yapraklar, tohumlar ve kökler farklı PR proteini setlerini üretebilir (Agrios, 1997).

Çeşitli PR proteini grupları fonksiyonlarına, serolojik ilişkilerine, amino asit sekansına, molekül ağırlığına ve diğer belli özelliklerine göre sınıflandırılmıştır. PR proteinleri ya fazlasıyla asidik veya fazlasıyla baziktir ve bundan dolayı yüksek derecede çözülebilir ve reaktiftir. İyi bilinen PR proteinleri; PR1 proteinleri,  $\beta$ -1,3-glukanazlar, kitinazlar, lizozimler, PR4 proteinleri, taumatın benzeri proteinler, ozmotin benzeri proteinler, sistince zengin proteinler, glisince zengin proteinler, proteinaz inhibitörleri, proteinazlar, kitosanazlar ve peroksidazlar'dır. Çeşitli konak bitkilerde genelde her PR proteininin çeşitli izoformları vardır (Agrios, 1997).

PR proteinlerinin önemi, güçlü antifungal ve diğer antimikrobiyal aktivitelerinden dolayıdır. Onların bazıları spor oluşumu ve germinasyonu inhibe ederken, diğerleri konak hücre duvarının kuvvetlendirilmesi ile ilişkilidir. Bazı PR proteinleri, örneğin  $\beta$ -1,3-glukanaz ve kitinaz, çeşitli bitki patojeni fungusların hücre duvarlarının kitin destekli yapılarına doğru yayılır ve etki eder, oysa lizozimler bakteriyel hücre duvarlarının glukozamin ve muramik asit bileşiklerini parçalarlar (Agrios, 1997).

#### **1.3.2.6.2. Fitoaleksinler**

Fitoaleksinler, bitkilerde fitopatojenik mikroorganizmaların çeşitli tipleri tarafından stimülasyondan sonra veya kimyasal ve mekanik hasarlanmadan sonra önemli miktarlarda sentezlenen ve biriken, düşük moleküler ağırlıklı, toksik antimikrobiyal bileşikler olarak tanımlanırlar (Paxton, 1981; Agrios, 1997). Fitoaleksinler, yüksek bitkilerin yapısal olarak kompleks doğal bileşikleridir ve fenilpropanoidler, isoprenoidler ve asetilenler baskındır (Bailey ve Mansfield, 1982). Fitoaleksinler, doğal ürünlerin çeşitli sınıflarına ait bileşiklerin kimyasal olarak heterojen bir grubunu teşkil eder. İzoflavanoidler, seskiterpenler, diterpenler, poliasetilenler, dihidrofenantrenler, stilbenler ve diğer bileşik sınıflarını içeren ve iyi bilinen çok sayıda fitoaleksin vardır (Oba ve ark., 1976).

Genelde belirli bir bitki familyası, doğal bileşiklerin 2 veya 3 sınıfından fazlasına ait olmayan fitoaleksinler üretir. Bir familya ve aynı zamanda bir tür içinde



kimyasal farklılığa örnekler; baklada (*Vicia faba*, *Fabaceae*) bir furanoasetilen olan wayerone acid ve bir izoflavonoid olan medicarpin oluşumu (Hargreaves ve ark., 1977). Domateste (*Lycopersicon esculentum*, *Solanaceae*) bir poliasetilen olan falcarinol ve falcarindiol ve bir seskiterpen olan rishitin oluşumu (De Wit ve Kodde, 1981).

Fitoaleksinlerin biyolojik aktivitesi, biyoanalizlerin farklı tipleri kullanılarak *in vitro* da ayrıntılı olarak çalışılmıştır (Smith, 1982). Genelde fitoaleksiner, funguslara, bakterilere, yüksek bitkilerin hücrelerine ve aynı zamanda hayvan hücrelerine de toksiktir. Biostatik özellikler olduğu gibi biosidal özellikler de incelenmiştir. Fungus ve bakterilerin büyümesinin inhibisyonu için etkili dozlar  $10^{-4}$ - $10^{-5}$  M büyüklük sırası içinde daha yüksek veya daha düşüktür. Böyle konsantrasyonlar, infekte bitki dokularında kendiliğinden birikebilir. Bireysel patojenler belli bir fitoaleksine farklı duyarlılık gösterebilirler. Fitoaleksinlerin büyük yapı çeşitliliğine bakılırsa, tek bir etki mekanizması olması mümkün değildir. Fitoaleksinlerin, membran bütünlüğünü bozarak membranla ilişkili çeşitli proseslerin fonksiyon kaybına neden olan toksikantlar olduğu ileri sürülmüştür (Smith, 1982). Bu görüş soya fitoaleksini glycinol'un etki şekli üzerinde yapılan çalışmalarla desteklenmiştir (Weinstein ve ark., 1981; Weinstein ve Albersheim, 1983).

Fitoaleksiner, uyumlu (compatible) biyotrofik infeksiyon sırasında üretilmezler. Fitoaleksiner, hem dayanıklı hem de hassas nekrotik dokular etrafında birikirler. Direnç, bir veya daha fazla fitoaleksiner patojen gelişimini sınırlamaya yetecek konsantrasyona ulaştığı zaman meydana gelir. En çok bilinen fitoaleksiner, bitkilere patojen olan fungusların büyümesini inhibe ederken, bazıları aynı zamanda bakteri, nematod ve diğer organizmalara toksiktir. 30' dan fazla familyaya mensup bitkilerden, fitoaleksiner benzeri özellikler gösteren 300' den fazla kimyasal izole edilmiştir. Bir familyanın bitkileri tarafından üretilen fitoaleksinerin kimyasal özellikleri genellikle oldukça benzerdir. Örneğin; çoğu *Fabaceae* üyesinde fitoaleksiner izoflavonoidlerken, *Solanaceae*' de terpenoidler vardır. Çoğu fitoaleksiner, funguslar tarafından oluşturulan infeksiyona yanıtta üretilir fakat birkaç bakteri, virüs ve nematodun da fitoaleksiner üretimini indüklediği gösterilmiştir (Agrios, 1997).

Daha iyi çalışılan fitoaleksinerin bazıları, fasülyede phaseolin, bezelyede pisatin, soya fasülyesi, alfalfa ve yoncada glyceolin, patates, pamuk ve gossypol' de rishitin ve biberde capsidiol' dür. Fitoaleksiner üretimi ve birikimi yaralanmış veya infekte olmuş hücrelerin etrafındaki sağlıklı bitki hücrelerinde meydana gelir. Hasar

görmüş hücreler tarafından salınan ve üretilen alarm bileşikleri tarafından uyarılırlar ve komşu sağlıklı hücrelerin içine yayılırlar. Çoğu fitoaleksinin elisitörleri, genellikle yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerdir ve glukanolar, kitosan, glikoproteinler ve polisakkaritler gibi fungal hücre duvarı ögeleridir. Elisitör moleküller konak bitki enzimleri tarafından fungal hücre duvarından salınırlar. Böyle pek çok elisitör nonspesifiktir yani patojenin hem uyumlu hem de uyumsuz ırklarının her ikisinde de bulunurlar ve bitki kültürünü hesaba katılmadan fitoaleksinin birikimini indüklerler. Her ne kadar çoğu fitoaleksinin elisitörlerinin patojen orjinli olduğu düşünülse de, bazı elisitörler örneğin galakturonik asit oligomerleri infeksiyona yanıtta bitki hücreleri tarafından üretilir veya patojenin hücre duvarı parçalayıcı enzimleri tarafından kısmen yıkılmasından sonra bitki hücre duvarlarından salınırlar. Bir patojen tarafından infeksiyonun ardından, hassas bir konakta fitoaleksinin oluşumunun, bazen patojen tarafından üretilen supresör moleküller tarafından önlenildiği görülür. Supresörlerin glukanolar, glikoproteinler veya patojen tarafından üretilen toksinlerin biri olabileceği düşünülmektedir (Agrios, 1997).

#### **1.4. BİTKİLERDE SİSTEMİK UYARILMIŞ DAYANIKLILIK**

19. yüzyılın başlarında bilim dünyasına yeni bir görüş sunulmuş ve kabul edilmiş normları alt üst etmiştir. Her ne kadar geçerli bilimsel verilere dayansa da ilk etapta önemsenmemiş veya yanlış olduğu düşünülmüştür. İlk defa Chester tarafından rapor edilen bu görüş, bitkilerin doğal savunma mekanizmasının bir dürtü yardımıyla uyarıldığında patojenlere karşı bir direnç uyarıldığını ve böylece bitkilerin kendilerini patojen saldırılarından koruduğunu söylüyordu (Kuč, 2000).

Teşvik edilmiş dayanıklılıkla ilgili gözlemler ilk olarak 1933 yılında Chester tarafından yayınlanmıştır ve 1959 yılında Kuç ve arkadaşları tarafından yapılan araştırmalar sonucu bu konu hakkında daha çok bilgi edinilmiştir. Loebenstein (1963) ve Ross (1966) yaptıkları çalışmalarla katkıda bulunmuşlardır.

1950-1960'lı yıllarda üniversitelerde yürütülen çalışmalar merakla izlenmiş ve hep bir şeylerin yanlış olduğu düşünülmüştür. Bu sebepten teorikte elde edilen bulgular yeteri kadar pratiğe aktarılamamıştır. Fakat sonraları SAR' ın önemi hastalık kontrolündeki potansiyeli sayesinde daha iyi kavranmıştır ve kullanımı günden güne artmaktadır (Tosun ve Ergün, 2002)

#### 1.4.1. ISR (İndüklenmiş Sistemik Rezistans)' nin Karakterizasyonu

Pek çok birbirine benzemeyen ajan tarafından ISR uyarılabilir. Örneğin mikroorganizmalar, lokal bir infeksiyon, mikrobiyal bileşiklerle muamele, bazı herbisitleri de içeren yapısal olarak birbirine benzemeyen inorganik ve organik bileşikler gibi (Strobel ve Kuć, 1995; Fought ve Kuć, 1996). ISR' yi uyaran ajanın ne olduğu değil ne yaptığıyla ilgili olarak aktivite gösterdiği açıktır.

İndükleyici ajanların aktivitesi antimikrobiyal aktiviteye sahip oluşundan veya kendiliğinden antimikrobiyal ajanlara değişme yeteneğinden dolayı değildir. Bununla beraber antimikrobiyal ajanlar da rezistans indükleyebilir. Dayanıklı olan bitkilerde bu süreç aktiftir. Rezistansa yardım eden bileşikler sentezlenir ve birikir, böylece bitki infeksiyondan sonra hızlıca daha ileri yanıtlar oluşturur (Kuć, 1993, 1995a,b, 1997, 1999; Kessmann ve ark.,1994; Sticher ve ark., 1997; Hutcheson, 1998; Van Loon ve ark., 1998). Bileşiklerin bazıları direkt olarak antimikrobiyal etkiliyken bazıları da patojenin gelişimini sınırlar. ISR' yi başlatan bir bileşik (ya da bileşikler), sentez veya salınım için uygun bir sinyal alınana kadar bitki tarafından sentezlenemez veya salınamaz.

Rezistansın açıkça tarif edilmiş en az 6 tipi vardır:

1. Parazit-spesifik
2. Kültüvar-spesifik
3. Organ-spesifik
4. Non host (temel)
5. Yaş ile ilgili
6. İndüklenmiş (lokalize ve sistemik) (Heath, 1996).

Kültüvar-spesifik rezistansın, bir patojen ürünü veya patojen tarafından indüklenmiş ürün ile bir bitki reseptörü arasındaki interaksyon tarafından başlatıldığı ileri sürülmüştür. Bu interaksyon, bir ana metabolik anahtarı düzenler ve bu anahtarın açılması, varsayılan savunma bileşiklerinin sentez / birikimini sağlar (Kuć, 2000).

Hassas bir bitki-patojen interaksyonunda bitki yanıtları, yanıtın ortaya çıkma zamanı hariç tutulursa, genellikle nitelik olarak benzer şekilde ortaya çıkar. Hassas interaksyonlarda savunma bileşikleri genelde kantitatif olarak dirençli interaksyonlardakinden daha yüksektir (Kuć, 2000).

Bir oksidatif patlama, muhtemelen ISR' nin indüksiyonu için önemlidir fakat bu aynı zamanda bitkinin yaygın olarak hasara neden olan oksidatif ajanlar ile başa

çıkmasına yardımcı olur. ISR muhtemelen, patojenler tarafından neden olunan hasara karşı (oksidatif, hidrolitik) patojenin gelişimini inhibe ederek koruma sağlar. Ayrıca oksidantlar, bazı herbisitler ve ağır metaller tarafından neden olunan hasara karşı da koruma sağlar. Bir oksidatif patlama sonucu oluşan ürünler aynı zamanda antifungal olabilirler (Peng ve Kuć, 1992). ISR’ de reaktif oksijen türleri ve bir oksidatif patlamanın önemi ve ilişkileri günümüzde yeniden incelenmiştir (Lamb ve Dixon, 1997; Kiraly, 1998).

#### **1.4.2. ISR (İndüklenmiş Sistemik Rezistans)’ nin Spesifitesi**

Her ne kadar ISR etkililik için düşük spesifiteye sahipse de bazı spesifiteleri açıktır. ISR funguslara karşı en fazla, bakterilere karşı daha az ve sistemik virüslere karşı en az etkilidir. ISR indükleyen bazı kimyasal ajanlar bazı hastalıklara karşı diğerlerinden daha etkilidir. Bu onların, multi-komponent rezistans yanıtının farklı bileşikleri üzerine farklı etkileri ile açıklanabilir. Bütün savunma bileşikleri, patojenlere karşı eşit derecede etkili değildir. Hücre duvarlarında kitin içermeyen *Oomycetes* üyelerine karşı, bir savunma bileşiği olarak kitinaza bir rol yüklemek, her ne kadar böyle bir fungus kitinaz aktivitesini uyarsa da zordur. Benzer şekilde, bazı virüsler klasik savunma bileşiklerinin (fitoaleksinler, kitinaz, 1,3-glukanaz) birikimini uyarırlar. ISR’ nin non-spesifitesi için daha ileri kanıtlar Strobel ve Kuć (1995) tarafından sağlanmıştır.

#### **1.4.3. Patojenlere Karşı Bitkinin İmmünizasyonu**

İnsan ve hayvanlarda patojenlere karşı savunmalar, doğal veya yapay immünizasyon tarafından aktive edilir. Yani patojenle subminimal doğal bir infeksiyon sağlanır veya patojen proteinleri yada diğer antijenik bileşiklerin yapay olarak enjeksiyonu yapılır. Her iki olay da patojene karşı antikorların (antibody) üretimiyle sonuçlanır, böylece insan veya hayvanın, patojenin sonraki herhangi bir saldırısından korunması sağlanmış olur (immünite). Bitkiler elbette insanlar ve hayvanlarınkine benzer bir immün sisteme sahip değildirler yani antikor üretemezler. İlk olarak 1990’larda bitkilerin genomuna yabancı genler eklenerek transgenik bitkiler üretilmiştir. Örneğin belli bitki patojenlerine karşı antikor üretebilen fare genleri gibi. Böyle antikorlar hayvan genleri tarafından kodlanır fakat bitki tarafından üretilir ve plantibody’ ler olarak adlandırılır. Belli bitki patojenlerine karşı plantibodyler olarak

adlandırılan antikorlar üretmek için bitkiler böyle işlemlere tabi tutulmalarına rağmen henüz bu plantibodylerin patojen tarafından hastalandırılmaktan bitkiyi etkili olarak koruyup korumadığı bilinmiyor. Daha önce de söylendiği gibi bitkiler patojenlere karşı doğal olarak antikor üretemez. Ve onların biyokimyasal savunmalarının çoğu saldıran bir patojenden gönderilen bazı sinyaller tarafından harekete geçirilene kadar inaktiftir. Birçok yıldır bilinmektedir ki bitkiler bir patojen tarafından enfeksiyona yanıtta veya belli doğal veya sentetik kimyasal bileşiklerle muamelede bir genelleşmiş direnç geliştirirler (Agrios, 1997).

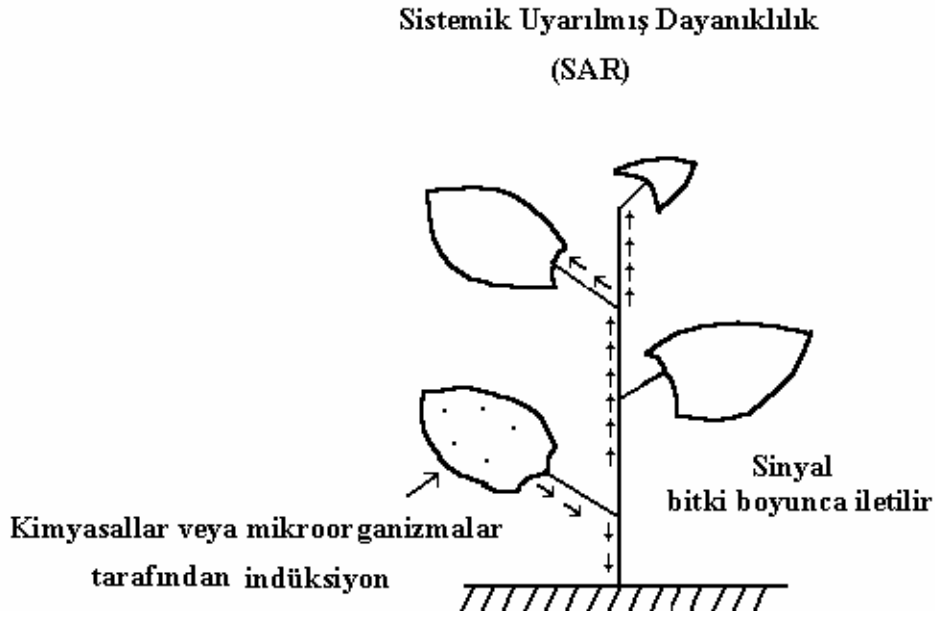
İndüklenmiş rezistans önce patojen veya kimyasalın neden olduğu nekrozis noktasının etrafında lokalize olur ve bu “Lokal Kazanılmış Direnç” olarak adlandırılır. Sonra direnç sistemik olarak yayılır, bitkinin muamele görmemiş kısımlarına doğru gelişir ve bu “Sistemik Kazanılmış Direnç” olarak adlandırılır. Çeşitli kimyasal bileşikler örneğin, salisilik asit, arakidonik asit, 2,6-dikloroizotonik asit vb. bitkilerde doku nekrozisi meydana gelmeyecek seviyelerde lokal ve sistemik rezistans indükleyebilirler. Böyle kimyasallar bitkilerde, kökler boyunca uygulandığında, yapraklara spreylendiğinde veya gövdeye enjekte edildiğinde rezistans indüklemeye etkili olabilirler (Agrios, 1997).

#### **1.4.4. Sistemik Uyarılmış/Kazanılmış Dayanıklılık (SAR)**

Sistemik uyarılmış/kazanılmış dayanıklılık bitkilerde hipersensitif yanıtın ekspresyonunu takiben meydana gelir. Genç bitkilerin lokalize enfeksiyonları (örneğin, bir fungus *Colltotrichum lagenarium*, bir bakteri *Pseudomonas lachrymans* veya bir virüs Tütün Nekroz Virüsü ile kabağın enfeksiyonu) birkaç günlük zaman içinde en az 13 hastalığa geniş-spektrumlu SAR indüksiyonuna yol açar. Bir enfeksiyonun indüklenmesi, salatalığı test edilmiş bütün patojenlerden 4-6 hafta korur, ilk enfeksiyondan 2-3 hafta sonra ikinci bir inokulasyon yapıldığında, bitki test edilmiş bütün patojenlere karşı mevsim boyunca direnç kazanır. Bir doyma noktasına ulaşıncaya kadar, indüklenmiş yaprak üzerinde lezyonların meydana gelme sayısı ile, sistemik kazanılmış dayanıklılık derecesi arasında korelasyon var gibi görünmektedir (Agrios, 1997).

Bitkide bir bütün olarak geliştirilen sistemik kazanılmış direnç, enfekte olmayan dokularda patojenlerle ilgili birçok genin uyarılmasına öncülük eden farklı sinyal akış ağlarını harekete geçirmek suretiyle bir koruma sağlar (Şekil 1.6). SAR'ın

moleküler mekanizmasını oluşturan patojeniteyle ilgili proteinler ile bunların ekspresyonları ve bu mekanizmada görev alan salisilik asit ve jasmonat gibi sinyal moleküllerinin detayları tam anlamıyla bilinmemektedir. Ancak tepkiye bağlı sinyal akış ağlarında görev alan mutant bitkilerin karakterizasyonu, kompleks bir yapıya sahip olan SAR' ın moleküler mekanizmasını küçük bileşenlerine ayırarak daha kolay anlaşılabilmesine yardımcı olmaktadır (Tiryaki ve Tunaz, 2004)



**Şekil 1.6.** Sistemik Uyarılmış/Kazanılmış Dayanıklılığın Prensipleri (Agrios, 1997).

Bir yaprak belli kimyasallarla veya nekrotik lezyonlara neden olan patojenlerle muamele edildiğinde, bitki boyunca sistemik olarak taşınan, savunma mekanizmalarını aktive eden ve tüm bitkiyi takibeden infeksiyonlara dirençli kılan bir sinyal bileşiği/bileşikler üretir (Agrios, 1997).

Sistemik uyarılmış/kazanılmış dayanıklılık, çeşitli monokotil ve dikotil bitkilerde gözlenmiştir ancak en çok *Cucurbitaceae*, *Solanaceae*, *Fabaceae* ve *Poaceae* üyelerinde çalışılmıştır. Bir patojen ile infekte olmuş bitkilerin, takip eden başka patojen infeksiyonlarına karşı daha dirençli olduğu ile ilgili ve aynı zamanda bitkilerin erken büyüme aşamasında iken bir patojen ile inokule edilmesi durumunda o patojene direnç geliştirdikleriyle ilgili pek çok örnek vardır. Örneğin virüs ile inokule edilmiş fasulye ve şeker pancarı, belli obligat fungal patojenlerin infeksiyonlarına karşı, virüs inokule edilmemiş olanlardan daha büyük bir rezistans sergiler. Tütünde TMV (Tütün Mozaik

Virüsü) sadece kendisine karşı değil aynı zamanda benzer olmayan virüslere, *Phytophthora nicotianae* gibi funguslara ve *Pseudomonas tabaci* gibi bakterilere karşı da bir sistemik rezistans indükler (Agrios, 1997).

Konak bitkilerin, patojende doğal olarak bulunan bileşikler ile muamelesi patojenlere rezistans indükler. Bunlara örnek olarak TMV' nün protein kılıfı, bir bakteriden (*Pseudomonas solanacearum*) alınan bir glikoprotein fraksiyon, bir fungustan (*Phytophthora infestans*) alınan bir lipid komponent, bir fungustan alınan kitosan gibi bir polisakkarit gösterilebilir (Agrios, 1997).

Sistemik kazanılmış dayanıklılık, SAR genleri olarak bilinen en az 9 gen ailesinin, inokule edilmiş bitkilerin infekte olmamış yapraklarında eşit derecede indüksiyonuyla karakterize edilir. Çeşitli SAR geni ürünleri, örneğin  $\beta$ -1,3-glukanazlar, kitinazlar, thaumatinle ilgili sisteince zengin proteinler ve PR-1 proteinleri ya direkt olarak antimikrobiyal aktiviteye sahiptir veya antimikrobiyal protein sınıflarıyla yakın olarak ilişkilidir. SAR geni setleri, bitki türüne göre değişken olarak indüklenirler. Bazı konak-patojen sistemlerinde SAR, güçlü antimikrobiyal aktivite gösteren yağ asidi türevlerinin üretimine öncülük eden peroksidaz ve lipoksigenaz aktivitelerinin uyarılmasıyla karakterize edilir (Agrios, 1997).

### **1.5. EKSOJEN KİMYASAL UYGULAMALARI**

Salatalıkta direnç uyarılması için eksojen kimyasal kullanımının uzun bir geçmişi vardır. 1963' te Hijwegen , vanAndel (1958)' in önceki çalışmasını teyit etmiştir. Hassas salatalık fidelerinin fenilserin ile muamelesi, fidelerin *C. cucumerinum*' a karşı korunmasında sonuç vermiştir. Mills ve Wood (1984) salatalık bitkilerinin salisilik, asetilsalisilik ve poliakrilik asitlerle ön muamelesinin, *C. lagenarium* ile takibeden infeksiyona lokal ve daha az kapsamlı olarak ta sistemik direnç indüklediğini bulmuşlardır. Eksojen salisilik asit uygulaması aynı zamanda mildiyö etmeni *Pseudoperonospora cubensis*' e karşı direnç indüklemeye de etkilidir (Okuno ve ark., 1991). Büyüme düzenleyiciler de kazanılmış dayanıklılıkta rol oynayabilir. Mills ve arkadaşları (1986), sentetik sitokin ve 6-benzilaminopürin uygulamasının, *C. lagenarium*' a rezistans indüklediğini bulmuşlardır. Ayrıca direnç indükleyen sentetik kimyasallar da rapor edilmiştir. Nikotinik asit türevi 2,6-dikloroizotonik asit (INA) uygulamasının *C. lagenarium* ve *P.s. lachrymans* infeksiyonlarına karşı direnç indüklediği rapor edilmiştir (Métraux ve ark., 1991).

Dean ve Kuć (1986) inokulasyondan sonra hergün *C. lagenarium* ile infekte olmuş yapraklardan almışlardır. Bu prosedür ile, sinyal translokasyonunun, inokulasyondan sonraki 72. saat civarında meydana geldiğini bulmuşlardır. Bu araştırmacılar aşılama deneylerini kullanarak, sinyal iletimi için fonksiyonel bir floeme ihtiyacı olduğuna delil sağlamışlardır.

Smith ve arkadaşları (1991) *C. lagenarium*' a sistemik direnç ve apoplastik asidik peroksidazlardaki sistemik artışların, *P.s. syringae* tarafından seçilen HR tarafından hızlı bir şekilde indüklenebildiğini göstermişlerdir. Bu çalışmada, direnç ve peroksidazlar yaprağın inokulasyonunun 24. saati içinde sistemik olarak indüklenmiştir. Dean ve Kuć (1986) tarafından kullanılan yaprak koparma stratejisini kullanarak Smith ve arkadaşları (1991) göstermişlerdir ki sistemik ekspresyon için, ilk gerçek yaprağın sadece 6 saat süresince bitki üstünde kalmasına gerek vardır. Bu, hipersensitif yanıtın görülebilir bir şekilde ortaya çıkması için ilk şarttır fakat açıkça hipersensitif ölüme öncülük eden olaylara kadar devam eder. Böylece Dean ve Kuć (1986) ve Smith ve arkadaşları (1991)' nin çalışmalarıyla açıkça görülmektedir ki, inokule yaprak sinyalin kaynağıdır ve sinyal oluşumu hücre ölümünün başlama safhalarıyla korelasyon halindedir.

### **1.5.1. Bitki Aktivatörleri ve Stimulantlar**

Yıllardır insanlar tarımsal zararlılar ve bitki hastalıklarıyla mücadele edebilmek için çeşitli tarımsal savaşım yöntemlerine başvurmuşlardır. Bu yöntemler arasında kültürel önlemler, mekaniksel savaş, fiziksel savaş, karantina önlemleri, biyoteknik yöntemler, biyolojik savaş ve kimyasal savaş yer almaktadır. Günümüzde ise, bitkide mevcut olan doğal savunma sisteminin harekete geçirilmesiyle gerçekleşen sistemik kazanılmış dayanıklılığın (SAR) devreye girmesi, bitki koruma için yeni bir teknoloji oluşturmaktadır. Bitki koruma için yeni bir kategori olan SAR reaksiyonu bitki aktivatörleri sayesinde harekete geçirilerek, hastalıklara karşı daha uzun süre dayanıklılık sağlanmaktadır (Tosun ve Ergün, 2002).

26 Haziran 2002 tarihli Resmi Gazete'de bitki aktivatörlerinin ruhsatlandırılmasında istenen bilgi ve belgeler açıklanmıştır. Buna göre bitki aktivatörleri "Bitkilerin doğal savunma sistemlerini aktive eden, besin maddelerinden daha iyi yararlanmalarını sağlayan, stres koşulları ve benzeri dış etmen ve etkenlerden korunması için yardımcı olan ve/veya verimini ve ürün kalitesini olumlu yönde



etkileyen doğal ve/veya kimyasal güçlendirici, direnç arttırıcı, toprak yapısını düzenleyici özellikleri olan ve bu özelliklerden birini veya birkaçının bir arada taşıyan maddelerdir” diye tanımlanmıştır (Anonymous, 2002).

Bitki aktivatörleri tarımsal savaşta bugüne kadar tercih edilen klasik mücadele yöntemleri dışında yer almakta, patojenlerin dayanıklılık geliştirme riski oldukça düşük olduğu için klasik kimyasal kontrol metotlarına nazaran daha çok tercih edilmekte ve uzun süreli bir koruma sağlamaktadır. Fungal, bakteriyel ve viral kaynaklı enfeksiyonlara karşı sadece serada değil, tarla koşullarında da uzun süreli koruma sağlayan bitki aktivatörlerinin düzenli olarak kullanılması ürün artışına sebep olmaktadır. Bitki aktivatörleri, bitkiye uygulandıktan sonra yeni gelişen tüm bitki kısımlarını hastalıktan korumakta ve bu sayede bitkiler hastalıklara karşı daha dirençli olmaktadır (Tosun ve Ergün, 2002). Bitki aktivatörleri ve stimulantları, aynı zamanda en yaygın kullanılan kimyasal yöntemlerin neden olduğu çeşitli olumsuzlukları da azaltarak, uygulamaları daha da cazip hale getirmektedir (Topal, 2003).

SAR, hastalık kontrolünde bir teşvik edici vasıtasıyla kullanılır. Bitki bir anlamda silahlandırılır ve bekler. SAR mekanizması üç kısma ayrılarak incelenebilir. İlk olarak bir teşvik edici uygulanır. Bu bir patojen, sentetik kimyasal ve protein gibi metabolik bir ürün olabilir. İkinci olarak, teşvik edici harekete geçer. Son unsur ise SAR genlerinin aktivasyonundan sonra meydana gelen biyolojik ve sitolojik hücre değişiklikleridir (Anonymous, 2000b). Belirli bir ajan tarafından teşvik edilen sistemin sonucunda meydana gelen reaksiyon funguslar, bakteriler, virüsler gibi geniş organizma çeşitlerine karşı dayanıklılık sağlayabilmektedir. SAR reaksiyonu harekete geçtikten sonra birkaç hafta devam etmekte ve bu sayede bitki olabilecek saldırılara karşı uzun süre dayanıklı kalmaktadır (Anonymous, 1999a).

Bitki aktivatörlerinin amaçlarını şöyle sıralayabiliriz:

1. Savaşımı çok güç olan patojenlere karşı bitkilerin savunma sistemini uyarmak (Aşılama).
2. Fungusit etkililiğini arttırmak.
3. Bitkilerde diğer mekanizmaların uyarılması ile daha kaliteli ve daha fazla ürün elde etmek.
4. Ardışıklı kullanım ile daha az pestisit ile daha fazla hastalık kontrolü sağlamak. (Tosun ve Ergün, 2002).

Bitki aktivatörlerini karakterize eden özellikler ise şöyle özetlenebilir:

1. Bileşikler, SAR' ın doğal aktivasyonundan sonraki ile aynı biyokimyasal işlemleri sistemik bitki dokularında teşvik eder.
2. Bileşikler, fonksiyonel olmayan SAR sinyal yollarına sahip bitki mutantlarında aktif değildir.
3. Bileşik ve metabolitleri doğrudan antimikrobiyal aktivite göstermezler.
4. SAR' ın aktivasyonu bir çok patojene karşı geniş spektrumlu bir koruma sağlar.
5. Bitki aktivatörü uygulanan bitkiler, doğal olarak aktive edilmişler ile aynı spektrumdaki hastalıklara karşı korunur.
6. Dayanıklılığın tam olarak aktif hale gelebilmesi için belli bir süreye ihtiyaç vardır. Bu süre 5-7 gün arasındadır. Dayanıklılık, aktivasyondan sonra birkaç hafta sürebilmektedir. Bazı kayıtlarda SAR' ın aktivasyondan sonra uzun bir süre koruma sağladığı bildirilmektedir.
7. Yapılan çalışmalar birçok proteinin SAR aktivasyonundan sonra biriktiğini göstermiştir. Asidik proteinler, temel proteinler burada örnek olarak verilebilir.
8. Uygulama ve koruma arasında bir lag (gecikme) süresi vardır.
9. Dayanıklılık açısından değerlendirildiğinde ise SAR, milyonlarca yıldır hastalıklara karşı bitkinin yaşamını sürdürmesi için başarılı bir araç olan çok yönlü bir mekanizma üzerine dayanmaktadır. Bu nedenle de SAR' a duyarsız patojen ırklarının gelişimi zayıf bir olasılıktır (Anonymous, 2000c).

### **1.5.2. Salisilik Asitin Rezistans İndükleyici ve Sinyal Bileşiği Olarak Rolü**

SAR için en iyi bilinen teşvik edici salisilik asittir. Salisilik asit bitkiler tarafından sentezlenen, aspirinin ana maddesi olan bir bileşiktir ve genellikle eczacılıkta, kozmetik endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Tosun ve Ergün, 2002). Salisilik asit, SAR için önemli rol oynayan bir işaret molekülüdür. Salisilik asit ile muamele edilen bitkilerde PR proteinleri hücreler arasına yığılarak etkili hastalık kontrolü sağlamaktadır. Böylece bitkinin doğal savunma mekanizması harekete geçerek hastalık gelişimini azaltmaktadır. Bu mekanizma vazo içindeki çiçeklere atılan erimiş bir aspirin tableti sayesinde bitkinin kendisini bakteriyel infeksiyonlara karşı nasıl daha uzun süre koruduğunu açıklamaktadır (Anonymous, 1997).

Yaralanmış gövde ve petioller floem sıvısını kolayca dışarı verir. Métraux ve arkadaşları (1990) salatalıkta indüklenmiş rezistans için varsayılan, transloke olan bir

sinyal üzerine ilk raporu vermişlerdir. Bu araştırıcılar uyarılmış yaprağın üstündeki gövde internodunda bulunan floem sıvısında mevcut salisilik asit miktarında artış olduğunu ve salisilik asitteki artışın indüklenmiş rezistansın ortaya çıkmasından hemen önce meydana geldiğini bulmuşlardır. Salisilik asitin tütün (White, 1979) ve salatalıkta (Mills ve ark.,1986) rezistans indükleyici etkisi çoktan beri bilinmekle birlikte, Métraux ve arkadaşları (1990)'nın elde ettiği sonuçlar salatalıkta salisilik asitin bir sinyal molekülü olarak rolü olduğunu desteklemiştir.

Salisilik asitin salatalık yaprak ve petiollerine enjeksiyonunun peroksidaz aktivitesini ve asidik peroksidaz gen ekspresyonunu (Rasmussen ve ark., 1991 ) indüklediği gibi kitinaz gen ekspresyonunu da (Métraux ve ark., 1989) indüklediği bulunmuştur.

Salisilik asitin bir sinyal molekülü olma rolü Rasmussen ve arkadaşları (1991) tarafından da sorgulanmıştır. Bu raporda, ilk gerçek yaprak *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ile inokule edilmiştir. Bu bakteri sistemik rezistansı hızlıca indükler (Smith ve ark., 1991). Ayrıca bakteriyle inokulasyondan sonra, düşük seviyede bir sistemik rezistans meydana gelmesi için, inokule yaprağın sadece 6 saat gibi kısa bir süre bitki üzerinde kalması gerekir.

Sistemik kazanılmış dayanıklılık tetiklemede sinyal transdüksiyonunun mekanizması hala çalışılmaktadır. Salisilik asit, hem hipersensitif yanıt hem de sistemik kazanılmış dayanıklılığa katılıyor gibi görünmektedir fakat sistemik kazanılmış dayanıklılığı uyaran bir sinyal olmayabilir. Salisilik asit primer inokulasyondan sonra bitkinin floeminde mevcuttur fakat kazanılmış dayanıklılığın başlamasından önce onun konsantrasyonu PR proteinlerinin indüksiyonuyla uyumlu seviyededir ve dıştan salisilik asit uygulaması, patojen tarafından SAR indüksiyonundan sonra eksprese edilenlerle aynı SAR geni setlerini aktive eder. Bununla beraber, SAR'ın sistemik ekspresyonu için salisilik asitten başka bir sinyalin sorumlu olduğu ileri sürülmüştür fakat kazanılmış rezistans ve gen ekspresyonuna gerçek bir sinyalin iletilmesi için salisilik asit mevcut bulunmalıdır (Agrios, 1997).

Dıştan salisilik asit uygulamasıyla SAR indüksiyonu, salisilik asit ve diğer kimyasal bileşiklerin bitkilerde çeşitli patojenlere karşı yapay olarak SAR indüklemede kullanılıp kullanılmayacağı konusunda önemli bir soru akla getirmiştir. Ne yazıkki dışsal olarak uygulanmış salisilik asit bitkide yeterli derecede transloke edilmez ve ayrıca ilave olarak salisilik asit, gerekli olan miktarın çok az üstündeki seviyelerde bile

uygulansa şiddetli olarak fitotoksik etki gösterir. Bu yüzden salisilik asit hastalık kontrolünde kullanılmak üzere kullanışlı bir solüsyon olarak düşünülmemektedir (Agrios, 1997).

### 1.5.3. Entegre Savaşmada Bitki Aktivatörlerinin Rolü

Bitkilerde çeşitli funguslara (*Peronospora tabacina* gibi), bakterilere (*Pseudomonas syringae* gibi) ve virüslere (TMV gibi) karşı direnç, sentetik bileşiklerin çeşitli tiplerinin bitki içerisine injeksiyonu, yapraklar üzerine spreylenece ve kökler veya petiol boyunca absorpsiyonu yoluyla indüklenebilir (Agrios, 1997).

Tahıllarda küllemeye (*Erysiphe graminis*) karşı bitki aktivatörlerinin rolü incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda bitki aktivatörü uygulanmış ve uygulanmamış buğday yaprakları karşılaştırılmış ve kontrol yapraklarında % 100' e yakın hastalık gelişimi meydana gelirken, bu oranın aktivatöre maruz kalmış örneklerde oldukça az olduğu görülmüştür. Sadece bitki aktivatörü uygulaması sonucu tahıllarda, uygulamadan sonra birkaç hafta koruma sağlandığı belirtilmiştir. Bitki aktivatörü koruma sağlar fakat uygulama sırasında var olan infeksiyonları kontrol edemez bu yüzden hastalık başlamadan önce uygulama tercih edilmelidir. Ayrıca pirinçte *Pyricularia oryzae*' ye karşı uygulanan bitki aktivatörünün, tahıllardakine benzer olarak uzun süreli bir koruma sağladığı belirtilmiştir (Anonymous, 1997).

Tütünde önemli bir sorun olan *Peronospora tabacina*' ya karşı Amerika ve Avrupa'da farklı tütün çeşitlerinde yapılan çalışmalar sonucu bitki aktivatörünün tek başına kullanımı durumunda önemli bir koruma sağladığı saptanmıştır. Ayrıca Avrupa'da yapılan çalışmalarda bitki aktivatörünün metalaxyl-M ile olan karışımının uygulanması durumunda hastalığın büyük ölçüde önlendiği belirtilmiştir. Biber antraknozuna (*Colletotrichum sp.*) karşı yapılan çalışmalar sonucunda bitki aktivatörünün biberde tek başına kullanımı durumunda önemli derecede koruma sağladığı ancak mancozeb ile olan karışımının uygulanması sonucu başarının daha da iyi olduğu görülmüştür (Anonymous, 1997).

Bitki aktivatörü fungal hastalıklar yanında bakteriyel hastalıklara karşı da koruma sağlamaktadır. Domateste bakteriyel leke (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*), bakteriyel benek (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) ve mildiyöye (*Phytophthora infestans*) karşı bitki aktivatörünün rolü araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda domateste bakteriyel leke hastalığına karşı bitki aktivatörünün tek başına

uygulanması oldukça iyi sonuç vermiştir. Bakteriyel benek ve mildiyö hastalıklarında ise bitki aktivatörü+Cu-hydroxide karışımından oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Anonymous, 1997).

Seralarda domates ve biber küllemesi, bakteriyel benek hastalığı gibi çeşitli sebze hastalıkları ürünlerde büyük kayıplara sebep olmaktadır. Bu hastalıklara karşı çeşitli fungusit uygulamaları gerçekleşse de bitki aktivatörlerinin kullanılması patojenlere karşı dayanıklılığı artırmaktadır. Bu konuda sera sebzeciliği araştırma komitesinin domates, biber ve salatalık bitkilerinde yaptığı çalışmalarda hem fitotoksite gözlemlenmemiş hem de hastalık gelişimlerinin azaldığı tespit edilmiştir (Anonymous, 1998).

Bitki aktivatörlerinin ürün verimine etkilerinden söz edecek olursak; bitki aktivatörlerinin tek başına veya fungusitlerle karışım halinde uygulanması ürün gelişimini sağlamaktadır. Ayrıca bitki aktivatörlerinin düzenli olarak uygulanması ürün artışına neden olmaktadır. Ülkemizde kırmızı biberde yapılan bir çalışmada, hastaliksız pazarlanabilen ürün olarak dekara verim açısından çiftçi koşulunda 1200 kg meyve alınabilirken CropSet uygulanan parsellerden dekara 2088 kg ürün elde edilmiştir. ISR 2000 uygulanan parsellerden ise 2448 kg kırmızı biber hasat edilmiştir (Karavaş, 2002).

Yapılan çalışmalar bitki aktivatörlerinin fungusit kombinasyonları sayesinde daha etkili olduklarını göstermiştir. Fungusitler erken hastalık kontrolü sağlarken bitki aktivatörü sonradan devam edecek infeksiyonlara karşı uzun süreli koruma sağlar. Bitki aktivatörlerini uygulama penceresinin dışında kullanmak zayıf bir koruma sağlanmasına neden olmaktadır. Ayrıca, uygulama sırasında bitkide artan bir hastalık düzeyinin olması da daha düşük bir korumanın gerçekleşmesine neden olmaktadır (Anonymous, 1997).

#### **1.5.4. Dünyadaki Ruhsatlı Preparatlar**

İlaç şirketleri SAR mekanizmasını teşvik eden preparatları piyasaya sürerek bitkinin doğal savunma mekanizmasının pratikte de kullanımını sağlamışlardır. Bu ürünlerden Actigard TM (Novartis), Messenger (Eden Bioscience) ve Apogee (BASF) pestisit olarak EPA' da kayıtlıdır. Acibenzolar-S-Metil ülkemizde metalaxyl ile karışım olarak tütün mildiyösü'ne karşı ruhsatlıdır. Ayrıca Humiforte (Inagrosa), Crop-Set (Improcrop), ISR 2000 (Improcrop), Param-A (Inpla), Apogee (BASF) ve birçok biokontrol ajanları tohum ve kök uygulamaları olmak üzere SAR aktivatörü olarak

geliştirilmiştir. Bitki aktivatörleri çoğunlukla suda çözünen granül (WG) olarak formüle edilmiştir (Anonymous, 2000e).

### **1.5.5. Çalışmamızda Kullandığımız Preparatlar Hakkında Bilgiler**

#### **1.5.5.1. Messenger**

##### **1.5.5.1.1. Harpin Proteinin Keşfi**

30 yıldan beri bilim adamları bitkilerin patojenleri nasıl tanıdığı ve özellikle bitki savunma sistemleri üzerinde çalışmalar yapmaktadır (Agrios, 1997). Böyle bir araştırma 1990' larda Cornell Üniversitesinde yürütülmüştür. Cornell Üniversitesi'ndeki araştırmanın temel amacı, hastalık gelişimi için gerekli olan konak bitkiler ile konak olmayan bitkilerde, HR elisitasyonundan sorumlu olan spesifik bir bakteriyel proteini tanımlamaktı. Hedef proteinin “hypersensitive yanıt ve patojenite (*hrp*)” gen kümesi olarak adlandırılan bir grup gen tarafından kodlandığı biliniyordu. Bu araştırma Dr. Steven Beer' in laboratuvarında, Dr. Zhong-min Wei tarafından tamamlanmıştır. Bilim adamları Ateş Yanıklığı etmeni *Erwinia amylovora*' nın geniş spektrumunda HR uyaran bir protein saldığını keşfetmişlerdir (Wei ve ark., 1992). HR' nin moleküler temelleri bilinmemektedir fakat bakterilerle fizyolojik ve genetik gözlemler sonucu önerilmiştir ki, konak olmayanlarda HR uyaran faktör aynı zamanda konaklarda patojenite için gereklidir (Klement, 1982; Willis ve ark., 1991). Bu faktörün üretimi *hrp* genleri tarafından kontrol edilir, bu genler bitki patojeni bakterilerin pek çok türü arasında yüksek oranda korunmuştur (Willis ve ark., 1991). *Hrp* genlerinin fonksiyonel grupları *Erwinia amylovora* ve *Pseudomonas syringae*' den klonlanmıştır ve non-patojenik bakterilerin, tütün ve diğer bitki yapraklarının interselüler alanlarına bakteri süspansiyonunun infiltrasyonundan sonra HR ortaya çıkarma yeteneği olduğu gösterilmiştir (Beer, 1989, 1991). *Erwinia amylovora*' dan izole edilen HR-elisitörü protein için *hrpN* genindeki harflere tekabül eden “Harpin” ismi ve *hrpN* geninin de bu elisitörü kodlayan gen olduğu önerilmiştir (Wei ve ark., 1992). Harpin, bitki patojeni olan bazı bakteri türlerinde doğal olarak mevcut olan bakteriyel bir proteindir ve pek çok bakteri türünden elde edilmiş böyle gen ve proteinlerin ilk örneğidir (Anonymous, 2000a). Bu çalışma 1992 yılında Science dergisinde bir makalede “Bitki Patojeni *Erwinia amylovora* tarafından üretilen HR elisitörü Harpin” adıyla yayınlanmıştır. O zamandan beri tarım alanında çalışan bilim adamları harpin proteinlerin, hastalıklara

karşı savunmada bitki savunma genlerinin ekspresyonunu aktive ettiğini ve aynı zamanda bu proteinlerin bitki büyüme sistemlerini aktive etmede rol oynadıklarını rapor etmişlerdir (Kropp ve ark., 2001).

#### **1.5.5.1.2. Harpin' in Fiziksel Özellikleri**

Harpin<sub>Ea</sub> olarak adlandırılan bu elisitör, asidik, ısıya dayanıklı, glisince zengin, suda çözünebilen, hücre zarıyla ilişkili (ekstraselüler) bir protein olarak karakterize edilmiştir. Yaklaşık olarak 44 kilodalton molekül ağırlığına sahip olup 403 amino asitten oluşmuş ve sistin içermemektedir (Wei ve ark., 1992; Kropp ve ark., 2001). *Erwinia amylovora* harpin proteininin özellikleri, 1963'te bakterilerin HR uyarabildiğinin keşfinden sonra yapılan çeşitli fizyolojik gözlemlerle tutarlılık göstermektedir (Klement, 1963; Farkas ve Lovrekovich, 1964).

#### **1.5.5.1.3. Ticari Bir Ürün Olarak Harpinin Gelişimi**

İlk olarak tanımlanmasından sonra harpin hakkındaki ilk önemli bulgu, saflaştırılmış harpin proteininin bitki içerisine enjeksiyonunun, sonraki bir patojen saldırısına karşı bitkiye direnç kazandırmasıydı. Özellikle, bitkinin birkaç yaprağına harpin enjeksiyonu, enjekte edilmemiş yapraklarda da patojen saldırısına dirençte sonuç vermiştir. Bu sonuç göstermiştir ki harpin, SAR' ı aktive edebilir. Potansiyel olarak büyük tarımsal değeri olabilecek harpinin yeteneklerine rağmen, bitki savunma yanıtlarının aktivasyonunu enjeksiyon yoluyla sağlamasının, önceleri harpinin pratik tarımsal uygulamasının gelişimine açıkça bir sınırlama getireceği düşünülmüştür. Ancak harpinin spreyleme yoluyla uygulanmasının da bitki direnç yanıtlarının aktive olmasına neden olması ve etki etmesi için sadece küçük miktarlara ihtiyaç göstermesi tatbik edilebilir bir tarımsal ürün olarak harpinin gelişmesini sağlamıştır. Diğer dikkate değer keşif ise harpinle muamele edilmiş bitkilerin, muamele edilmemiş olanlardan gözle görülür şekilde daha fazla büyüme göstermesiydi. Harpinin uygulamasının basit olmasıyla birlikte büyüme ve hastalık direnci üzerine etkileri, harpinin “ Messenger<sup>®</sup> ” içinde ticari bir ürün olarak gelişmesine temel sağlamıştır (Anonymous, 2000a).

Tarım alanında yenilik getiren ürünlerin geliştirilmesi, imalatı ve pazarlanması üzerine odaklanmış bir bitki teknolojisi şirketi olan EDEN<sup>®</sup> Bioscience Corporation, harpin proteininin keşfinin önemini ve bitki koruma ve üretimindeki kullanım potansiyelini anlamıştır. 1995' te EDEN ve Cornell Üniversitesi harpin ve harpinle

ilgili keşiflerin özel hakları için bir lisans anlaşmasına varmışlardır. Dr. Zhongmin Wei' nin teknik yönetiminde EDEN, harpin proteinlerin yeni sınıfları, harpin protein fragmentleri, bitki reseptör sistemleri, biyokimyasal yollar, formülasyonlar, harpin alternatifleri, kimyasallarla ön karışımlar ve ürün-spesifik araştırmalar üzerindeki teknolojik uzmanlığını geliştirmiştir. EDEN tarafından ticari ürün haline getirilen ilk harpin protein MESSENGER® dir (Kropp ve ark., 2001).

Tarım için yeni bir teknoloji ile geliştirilen bir ürün olan Messenger, % 3 harpin<sub>Ea</sub> içeren ıslatılabilir kuru granül olarak formüle edilmiştir. EDEN Bioscience standart farmasötik teknolojiler kullanarak Messenger'i önemli miktarlarda üretmektedir. Tarla denemelerinde bir çok ürüne uygulandığında Messenger' in ürüne ve hastalık yönetimine önemli yarar sağladığı görülmüştür. Nisan 2000' de EPA Messenger' i bir biyokimyasal pestisit olarak kaydetmiştir (Kropp ve ark., 2001).

*Erwinia amylovora*' dan izole edilen harpin protein, farklı bitki patojeni bakterilerde bulunan birbiriyle ilişkili bir protein ailesinin bir üyesidir. Bu diğer harpin proteinleri, Messenger teknolojisinin daha ileri gelişimi için potansiyel bir kaynaktır. Farklı harpin proteinleri bitki patojenlerinin farklı spektrumlarına hastalık direnci aktive edebilir ve etki seviyeleri farklı olabilir (Anonymous, 2000a).

*E. amylovora*' dan izole edilen kozmit pCPP430' da içerilen *hrp* gen grubu, özellikle *E.coli* 'de iyi eksprese edilmiştir (Beer, 1991). *E. amylovora*' dan izole edilen harpin proteinin şifrelenmiş DNA kısımları *Escherichia coli*' ye transfer edilerek üretilmektedir. Harpin üretimi *E. coli* soyunu zayıflatmakta ve böylece *E. coli* çevrede canlılığını sürdürmemektedir. *E. coli* K-12 hücreleri fermentasyon sonunda öldürülmekte ve yok edilmektedir. Harpin protein ve diğer hücre öğeleri formülasyon için çıkarılmaktadır (Anonymous, 2000b).

#### **1.5.5.1.4. Messenger' in Etki Şekli**

Messenger hedef bitki üzerine spreylendikten sonra harpin<sub>Ea</sub> bitki reseptörlerine bağlanır, klasik SAR ve jasmonik asit/etilen sinyal yollarını aktive eden bir seri kompleks sinyal yollarını başlatır. Messenger uygulamasını takiben bitki reseptörlerine bağlanan harpinin 10-15 dakika içinde aktive olduğu ve takip eden 3-5 gün içinde tüm sistemik yanıtın ortaya çıktığı görülür. EDEN, Messenger uygulamasını takiben 300' ün üzerinde genin etkilendiğini rapor etmiştir. Messenger tarafından



etkilenen bitki genleri geniş ölçüde bitki savunması ve büyümenin teşviki ile ilgili olarak kategorize edilebilir (Kropp ve ark., 2001).

Messenger' in yapraklara uygulanmasından sonra hiçbir nekrotik semptom veya fitotoksisite meydana gelmezken, geniş ölçüde PR proteini sentezlenir. Örneğin PR-1, PR-2 ( $\beta$ -1,3-glukanaz), PR-5 ve diğerleri. SAR' ın jasmonik asit/etilen sinyal yolu salisilik asitten bağımsızdır ve defensin, proteaz inhibitörleri ile bazı patojen türlerine rezistans sağlayan diğer savunma proteinleri ve enzimlerin üretilmesiyle karakterize edilmiştir (Kropp ve ark., 2001).

Messenger uygulamasını takiben aynı zamanda bitki büyüme sistemleri de aktive olur. Tarla denemelerinde, Messenger uygulaması ile kök gelişiminde, yaprak biomasında, çiçeklenmede, meyve tutumunda, ürün kalitesinde artış ve erkencilik gibi büyümeyi teşvik edici yararlar sağlandığı görülmüştür. Bu yararlarla ilave olarak hasat edilen ürünün raf ömrünün uzadığı görülmüştür. Harpin<sub>Ea</sub> ile rezistans elisitasyonu pek çok bitki türünde gösterilmiştir. NASA tarafından yapılan son çalışmalar Messenger ile muameleyi takiben fotosentez ve besin maddesi depolama düzeyindeki artışın büyümeyi teşvik edici etkilerini doğrulamıştır (Kropp ve ark., 2001).

EDEN Bioscience' de devam eden araştırmalar, harpinin hastalık direnci sağlamak için bitkiyle interaksiyonları ve büyümeyi artırması ile ilgili ayrıntılı bilgilere ilaveler yapmıştır. Bu bilgiler kısaca şöyle sıralanmıştır:

- Harpin, savunma genlerinin aktivasyonuna rehberlik eden çoklu savunma sinyal transdüksiyon yollarının aktivasyonu yoluyla hastalık direncini ortaya çıkarmaktadır.

- Harpin, fotosentetik aktivite ve besin maddesi artışını içeren büyüme için önemli temel fizyolojik prosesleri etkiler.

- *HrBP1* olarak adlandırılan, spesifik olarak harpine bağlanan bir bitki proteini tanımlanmıştır. Bu proteinin, bitkilerin harpini tanıması ve bitki yanıtlarının başlatılmasını mümkün kılan "Harpin reseptörü" olmaya güçlü bir aday olduğu düşünülmektedir.

- *HrBp1* ile yakın olarak ilgili proteinler bütün ürün türlerinde incelenmiştir. Bütün ürünlerin harpine yanıt verme potansiyeline sahip olabileceği ileri sürülmüştür (Anonymous, 2000a).

### 1.5.5.2. Cropmax

Araştırmamızda kullandığımız Cropmax isimli preparat, son yıllarda ülkemizde de kullanılmaya başlanan bitki aktivatörleri ve stimulantların başında gelmektedir. Cropmax üretimde verimin istikrarlı yükselişini gösteren, farklı ürünler için kalite ve kârlılığı geliştiren yeni kuşak bir üründür. Cropmax EDTA ile şelatlanmış iz elementler, (L-tipi) amino asitler, vitaminler, enzimler, polisakkaritler ve büyüme stimulantları içeren bitki materyallerinden ve onların fermentasyonlarından, fermente olmuş şeker pekmezi ve EDTA şelatlama materyalinden meydana gelmiş bir bitki stimulantıdır. Cropmax'ın aktivitesi aktif madde içeriğinin kompleks kombinasyonlarına dayanmakta, tüm bunlar sinerjik olarak hareket etmektedir. İçeriğinde bakır, demir, mangan, çinko, bor, molibden, kobalt, nikel gibi iz elementler, azot, fosfor, potasyum, magnezyum, kalsiyum ve kükürt gibi makro elementler içermesinin yanında adenin, triptofan ve methionin aminoasitlerini, polisakkaritleri, enzimleri ve askorbat,  $\alpha$ -tokoferol ve  $\beta$ -karoten vitaminlerini içerir. Cropmax'ın makro ve mikro besin elementi ile aminoasit içeriği Çizelge 1.7' de verilmiştir.

**Çizelge 1.7.** Cropmax'ın Makro ve Mikro Besin Elementi İçeriği (Anonymous, 1999b).

İçerik	Miktar (%)	İçerik	Miktar (%)
Total aminoasit içeriği	2,00	Çinko	0,049
Total vitamin içeriği	0,02	Demir	0,2
Azot	1,2	Bakır	0,03
Fosfor	0,4	Mangan	0,054
Potasyum	0,02	Bor	0,07
Magnezyum	0,55	Molibden	0,8
Kalsiyum	0,01	Kobalt	0,7
Kükürt	0,3	Nikel	0,5

Cropmax' ın formülasyon içeriği ise Çizelge 1.8' de verilmiştir.

**Çizelge 1.8.** Cropmax formülasyon içeriği (Anonymous, 1999b).

<b>Bileşenler</b>	<b>Miktar</b>
Demineralize su	67,5
Şeker kamışı melası	20,0
Aminoasit	10,0
Sodyum sülfat	2,5

Cropmax içeriğindeki etkili maddeler bitki gelişim fizyolojisi ve biyokimyası için son derece önemlidir.

Magnezyum; solunumda, fotosentezde ve azot kullanımındaki enzimleri aktive eder. Özellikle Krebs çemberi reaksiyonlarında en belirgin rolü oynayan mineral element magnezyumdur ve malik dehidrogenaz enziminin aktivatörü işlevini görür. Nitrat redüksiyonunda iş gören nitrit redüktaz ve hidroksilamin redüktaz enzimlerinin aktivatörüdür. Fotosentezde Hill reaksiyonunun oluşumu magnezyum varlığını gerektirmektedir.

Bakır; azot metabolizması için gereklidir. Bakır'ın en önemli rolü, fenolaz, askorbik asit oksidaz ve tirozinaz gibi redoks enzimlerinin bileşimlerine kofaktör olarak katılmasıdır. Metabolizma için iz halinde varlığı gerekmektedir. Dane, tohum, meyve ve yumru oluşumunda etkilidir.

Demir; ferro ( $Fe^{+2}$ ) formunda klorofilin sentezinde önemli rol oynar. Eksikliğinde kloroz görülür. Solunumda yer alan sitokrom oksidaz, katalaz ve peroksidaz gibi çeşitli enzimlerin ve sitokrom sistemi gibi elektron taşıyıcılarının da bileşimine girdiğinden, hücre metabolizması için ayrıca bir önem taşımaktadır. Genç bitkilerde enzimatik fonksiyonu vardır.

Çinko; karbonhidrat metabolizması, protein sentezi ve gövde gelişimi için gereklidir. Cropmax içeriğindeki bitki ekstraktı bağlayıcı ve sarıcı, azot bağlama kapasitesi ve köpük oluşumunu engelleyici maddedir (Güven, 1997; Anonymous, 2000d).

Genellikle moleküler ağırlığı 400 gr/mol olan L-tipi aminoasitler bitkiye yapraktan uygulandıklarında direkt olarak bitki bünyesine alınır. Bu sadece protein

sentezi için daha az enerji harcanmasını sağlamakla kalmaz aynı zamanda protein formülasyonlarının etkinliğini de artırır. Hücre zarından geçme kabiliyeti olan ve kendilerini protein sentezinin metabolik prosesine dahil eden bu aminoasitler birkaç saat içerisinde tüm bitki dokularına ulaşırlar. Protein sentezi çok enerjiye ihtiyaç duyar. Aminoasitlerin bitki hücrelerine direk yapraktan uygulanmasıyla bitki yaşamında kötü beslenme (azot, fosfor ve potasyum eksikliği) veya mineral eksikliği, kuraklık veya don, zararlı saldırılar gibi farklı kritik durumları hafifletir. Ayrıca bitki yaşamının çeşitli aşamalarında, farklı fenolojik devrelerde sistem diğerlerinden daha da fazla aminoasite gereksinim duyar. Bu koşullarda ekstra aminoasit uygulaması zor koşulların üstesinden gelmesini sağlar ve büyümeyi (kök, çiçek, meyve oluşumu) teşvik eder (Anonymous, 1999b).

Biyostimulantlar, varolan besin maddelerinden daha iyi yararlanılmasını sağlamak için bitkiyi stimule ederek hastalıklara ve çevresel strese karşı bitki toleransını oluştururlar. Toprağın mikrobiyal aktivitesinin artması, toprak yapısının geliştirilmesi, vitamin ve mikro besin alınımının artması, gübre performansının artması ile ürünün verimi ve kalitesinin iyileşmesi stimulant uygulanmasıyla kazanılan bir durumdur (Anonymous, 2000d).

### **1.5.5.3. Maxicrop**

Maxicrop, bir deniz yosunu özüdür. Deniz yosunu, uzun zamandır bilinen ve çiftçiler tarafından kullanılan bir organik bitki stimulantı olup, zengin besleyici madde ve biostimulant içeriğiyle bitkileri besler. Çevre için kirletici olmayan yenilenebilir bir kaynaktır. Pek çok yapay gübre kısa dönemde etkileyici sonuçlar verir ama uzun dönemde toprak sağlığı ihmal edilmektedir. Deniz yosunu aynı zamanda toprağı da besler (Anonymous, 2004a).

Maxicrop, bitkilerde eksikliklerin azaltılması veya etkisiz hale getirilmesine yardım eden, şelatlanmış minör elementlerin geniş bir karışımını içerir. Ayrıca kök gelişimi, tohum germinasyonu ve genel büyüme üzerine büyük etkilere sahip önemli biyolojik büyüme stimulantları içerir. Maxicrop' un organik şekerleri, deniz yosununun bütün güçlü özelliklerinin bitkilerde kullanılabilir olmasını sağlar (Anonymous, 2004a).

Maxicrop, bitkilerin klorofil üretim seviyelerini artırmak suretiyle onların doğal büyüme ve gelişmesini uyarır. Güneş enerjisinin bitkiler tarafından daha etkili kullanımına izin veren bir katalist olarak fonksiyon yapar ve bu suretle daha güçlü ve

sağlıklı büyüme sağlar. Maxicrop, bitkilerin stres koşullarına doğal direnç geliştirmesine öncülük eden yararlı toprak mikroorganizmalarının aktivitesini uyarır. Bitki ve patojenler arasında biyolojik bir bariyer oluşturur (Anonymous, 2004a).

Çoğu suni gübre, geniş oranda azot (N), fosfor (P) ve potasyum (K) içeren güçlü ve etkili destekleyicilerdir. Fakat onların N-P-K içerikleri, etkililikleri için bir kıstas değildir. Maxicrop, toprak koşullarının düzeltilmesine yardım etmek için bir gübre ilavesi olarak çok efektif olabilir (Anonymous, 2004a).



**Şekil 1.7.** Maxicrop' un Bitkinin Kök Sistemi Üzerine Etkisi (Anonymous, 2004a).

Maxicrop' un bitkiler üzerine olumlu etkilerini şöyle sıralayabiliriz:

1. Bitkilere makro ve mikro besin elementleri verir. Ayrıca toprakta bitki tarafından alınamayan bu elementleri şelat forma sokarak bitkinin en yüksek oranda almasını sağlar ve bunları bitkide dengeli hale getirir.
2. Kuvvetli kök gelişmesi sağlayarak, bitkilerin topraktan daha fazla besin maddesi ve su almalarını sağlar.
3. Bitkilerde klorofil oluşumunu hızlandırarak yeşil aksamın artmasını, dolayısıyla daha çok karbonhidrat, protein, şeker, yağ v.b. maddelerin yapılmasını sağlar.
4. Bitkileri hastalık ve zararlılara karşı daha dirençli kılar.

5. Bitkilerde % 30' a kadar verim artışı sağlar.
6. Ürünlerin depolama dayanıklılığını artırır.
7. Virüslerin çoğalmasını frenler. Nematodların zararını azaltır.
8. Tarım ilaçlarının zararlı etkilerini % 25 azaltır.
9. Bitkileri don, kuraklık, yetersiz güneş, su göllenmeleri, aşırı sıcak ve soğuk gibi zor şartlara dayanıklı kılar.
10. Maxicrop makro ve mikro besin elementlerinin topraktan dengeli olarak ve uzun süreli alınmasını sağlayarak verimi yükseltir, kaliteyi düzeltir, pazar ve ihracat değerini artırır (Anonymous, 2000f).

#### 1.5.5.4. Trichodex

Makhteshim Chemical Works Ltd. ISRAEL tarafından üretilen bir *Trichoderma* ürünü olan Trichodex, bir biyokontrol ajanı (biyolojik fungusit)' dir.

Aktif içeriği *Trichoderma harzianum*' dur. *T. harzianum* fungusunu da içeren çeşitli *Trichoderma* spp. türleri bitkilerdeki çeşitli fitopatojenik fungusların kontrolünde kullanım amacıyla ayrıntılı olarak incelenmiştir. Ticari ürün haline getirilen, kayıtlı olan ve çeşitli ürünlerde hastalık kontrolü için kullanılan ilk biyokontrol ajanı *Trichoderma harzianum*' un T39 izolatu Trichodex 20P' dir (Elad, 2000).

Ticari olarak mevcut biyokontrol ürünlerinin sayısı, son yıllarda artmaktadır. 35 ticari biyokontrol ürününden 10 tanesi *Trichoderma* spp. izolatları temeline dayanmaktadır. Ticari koşullarda *Trichoderma harzianum* ile biyokontrol sağlanması ile ilgili yoğun araştırmalar yapılmıştır ve bağlarda ve sera ürünlerinde önemli başarılar elde edilmiştir. Bu ürün başlıca üzüm, domates ve çeşitli sebzelerde kullanılır (Lübeck ve Jensen, 2002).

Doğal olarak meydana gelen mikroorganizma (fungus), *Fusarium*, *Botrytis*, *Rhizoctonia* ve *Sclerotium* gibi fungal patojenler ile diğer *Basidiomycetes* ve *Chondrostereum purpureum*' un kontrolünde kullanılmıştır. Bitkilerin, yaralanmaların bozulmalarından korunmasına yardımcı olur ve oksin salınımı yoluyla bitki dokularının gelişimini artırır. Aynı zamanda ürünlerde hastalık baskılanması ve meyve ve sebzelerin hasat sonrası hastalıklarının süpresyonu için kullanılır (Anonymous, 2004b).

*Trichoderma* spp. genusu, fitopatojenik fungusların kontrolü için kullanılabilen pek çok tür içermektedir. *Trichoderma* spp. üyeleri genellikle toprakta yaşayan saprofitlerdir. Hızlı bir büyüme oranına sahip olup, diğer toprak

mikroorganizmaları ile iyi yarışır. Kimyasal pestisitlere direnç gösterirler ve çeşitli antibiyotikler (gliotoxin ve viridin gibi) üretirler. *T. album*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. lignorum*, *T. polysporum*, *T. pseudokoningii* ve *T. viride* türleri ağaç çürümesinin, yara infeksiyonunun ve fide, olgun bitki ve mantarların toprak-kaynaklı fungal patojenlerinin kontrolü için incelenmiştir (Anonymous, 2004b).

*Trichoderma* spp. temeline dayanan ticari pestisit formülasyonları Amerika, İngiltere, Fransa ve diğer Avrupa ülkelerinde mevcuttur. Bu formülasyonlar, *Chondrostereum purpureum*, *Armillaria mellea*, *Ceratocystis ulmi*, *Heterobasidion annosum* ve çeşitli diğer fitopatojenlere karşı etkilidir. *Botrytis cinerea*, çeşitli bitki türlerinde hastalık oluşumuna neden olan bir fungus türüdür. *Botrytis cinerea*'nın kontrolü için *Trichoderma* fungusunun çeşitli türleri ticari olarak mevcuttur (Anonymous, 2004b).

Bulgaristan ve Eski Sovyet Hükümeti meyve ve sebzelerdeki *Botrytis*, *Pythium*, *Verticillium* ve *Sclerotinia* genuslarına ait fungusların kontrolü için seri *Trichoderma* spp. üretimi yapmışlardır. Trichodex, günümüzde birçok ülke ve pazarda artan oranlarda satılmaktadır. Çünkü iyi performans sağlamayan kimyasallarla ilgili problemlere sahip olan insanlar, bu ürünü nasıl kullanacaklarını öğrenimekteler. Günümüzde *Trichoderma* spp. üzerine araştırmalar, fitopatojenlerin daha geniş oranını kontrol etmek için kullanılacak hibrit strainlerin üretimi üzerine odaklanmıştır (Anonymous, 2004b).

#### **1.5.5.5. Bion**

Bion, suda dağılabilen granül olarak formüle edilmiş Fungusit + Bitki Aktivatörü karışımıdır. İçeriğinde %4 Acibenzolar-S-methyl + %40 Metalaxyl-M bulunur.

Bion, tütünde mildiyö (mavi küf) hastalığı, *Peronospora tabacina* mücadelesinde kullanılan, sistemik özelliklere sahip fungusit ile birlikte bitki aktivatörü ihtiva eden, çift etki maddeli yeni geliştirilmiş bir fungusittir. Fungusitlerin aksine “acibenzolar S-methyl” bir bitki aktivatörüdür ve doğrudan bir fungusit etkisi yoktur. Tütünde yeşil aksama uygulandığında, bitkideki savunma sistemlerini harekete geçirerek tütünün mavi küfe karşı direncini artırır. Bu nedenle, tütünde hastalık görülmeden kullanılmalıdır (Anonymous, 2003).

Etkili madde yapraklardan süratle alınır, bitkide aşağıdan yukarıya, yukarıdan aşağıya ve yaprakların bir yüzünden diğer yüzüne taşınır. Diğer etkili madde “metalaxyl-M”, sistemik bir fungusit olup 30 dakika gibi kısa bir sürede yeşil aksam tarafından alınır ve bitki özsuyunun nakliyle yukarı taşınarak yapraklara dağılır. Böylece fungal gelişim ve çoğalmayı önleyerek bitkiyi ilaç tatbikatından sonra meydana gelen yeni aksam da dahil olmak üzere funguslara karşı korur. Böylece bu iki sistemik ve farklı etkili maddeyi ihtiva eden Bion, tütünde mavi küfe karşı mükemmel bir kontrol sağlar. Bion, tavsiyelere uygun olarak kullanıldığında, fitotoksisite riski olmaksızın uygulanabilir (Anonymous, 2003).

NOVARTIS şirketinin, bitki aktivatörü Bion’ un çeşitli fitopatojenlere karşı ilk pozitif sonuçlarından sonra, sistemik uyarılmış dayanıklılık etkisine sahip olduğu gösterilmiştir (Anonymous, 2004c).

Bir çalışmada Bion’ un ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora*)’ na karşı streptomisine muhtemel bir alternatif olarak etkileri test edilmiştir. İlk *in vitro* çalışmalarda (agar difüzyon testi) patojene karşı hiç inhibitör etki etmediği bulunmuştur. Sera koşulları altındaki daha ileri denemelerde SAR etkisi gözlenmiştir. Hastalık oranındaki azalmanın (% 70), bakteriyel büyümenin redüksiyonu (% 60) ile korelasyon halinde olduğu bulunmuştur. Yüksek oranda hassas elma varyeteleriyle çiçeklenme döneminde yapay infeksiyon yoluyla tarla koşullarında gerçekleştirilen daha ileri denemelerde, Bion’ un % 68’e varan bir kontrol edici etkisi tesbit edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda Bion’ un ateş yanıklığına karşı rezistans indüksiyonunda göze çarpan bir etki yaptığı görülmüştür (Anonymous, 2004c).

## **1.6. SAVUNMANIN ÖNCÜL ENZİMLERİNDEN PEROKSİDAZLAR**

Peroksidazlar [EC 1.11.1.7] bitkilerde en yaygın görülen enzimlerdendir. Peroksidazlar bitki metabolizmasında hidrojen akseptörü olarak biyolojik oksidasyonlarda kritik rol oynarlar (Hu ve Van Huystee, 1989; Rodriguez Maranon ve ark., 1994). Peroksidazların, bir yara, hasar bölgesinde patojenlerin girişiyle uyarılan savunma ve iyileştirme mekanizmalarını artırdığı düşünülmektedir (Gaspar ve ark., 1986; Kerby ve Somerville, 1992). Bununla beraber bitki peroksidazlarının spesifik fonksiyonları hakkındaki bilgilerimiz hala açık değildir.

Peroksidazlar pek çok bitki dokusunda çeşitli formlarda bulunmuştur. İzoperoksidazların farklı tipleri, aynı dokunun çözülebilir ve bağlı fraksiyonları ile



bağlantılıdır (McLellan ve Robinson, 1987). Fizyolojik proseslerde peroksidazların rollerini inceleyen önceki çalışmalarda, peroksidaz genlerinin bitki alemi içerisinde çok fazla yayılmış olmasından dolayı güçlük çekilmiştir. *Arabidopsis*' in genomunun bile potansiyel olarak 40 tan fazla farklı peroksidaz kodlayabildiği gösterilmiştir (İpekçi ve ark., 1999). Bu peroksidazlar benzer immünolojik özelliklerle sübstratların geniş bir skalasını kullanırlar (Christensen ve ark., 1998). Ayrıca peroksidazların pek çok bitkide bulunan, ısıya en dayanıklı enzim gruplarından biri olduğu rapor edilmiştir (McLellan ve Robinson, 1981). Peroksidazların stabilitesi ve çeşitli reaksiyonları katalizleme yeteneğinden dolayı onların bitki ürünlerinin kalitesinde dejenerasyonu önlemeye yardım ettiği düşünülmüştür (Weng ve ark., 1991).

Bitkilerde strese tepki olarak serbest elektron ve buna bağlı olarak ta serbest radikal düzeylerinde belirgin artış meydana gelmektedir.

Bitkilerde peroksidazların çalışılmasına ilgi, potansiyel olarak önemli uygulamaları olması nedeniyle artmaktadır. Bununla beraber sadece yaban turpu peroksidazları tamamen karakterize edilmiştir. Bitki peroksidazları üzerine yeni bilgiler, onların detaylı araştırılması ve daha ileri uygulaması için bir temel oluşturur (Hamed ve ark., 1998).

Peroksidaz aktivitesi ve hastalık direnci arasında bir ilişki olduğu pek çok araştırmacı tarafından bulunmuştur (Fehrmann ve Diamond, 1967; Maxwell ve Bateman, 1967; Maraite, 1973; Uritani, 1976; Hammerschmidt ve ark., 1982). Patojenin infeksiyonundan sonra peroksidaz aktivitesinde artış olduğu farklı konak-patojen kombinasyonlarında gösterilmiştir (Heitefuss ve ark., 1960; Mata ve Diamond, 1963; Loverkovich ve ark., 1968; Seevers ve ark., 1971; Westeijn, 1976; Reuveni ve Perl, 1979).

Reuveni ve Ferreira (1985) *Lycopersicon esculentum*' un *Verticillium dahliae*' ye rezistansı ve peroksidaz aktivitesi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Bu çalışmanın hedefi, infekte ve non-infekte domates bitkileri ve onların *Verticillium dahliae* Kleb.' e direnci ile peroksidaz aktivitesi arasındaki ilişkiyi tesbit etmektir. Peroksidaz aktivitesinin, *Verticillium dahliae*' ye dayanıklı olan non-infekte domates bitkilerinin köklerinde, hassas olanların köklerinden oldukça yüksek olduğu bulunmuştur. Benzer farklar yapraklarda da bulunmuş fakat köklerdeki gibi önemli değildir. Peroksidaz aktivitesi *V. dahliae* ile infeksiyondan sonra hassas ve dirençli bitkilerin her ikisinde kök, gövde ve yapraklarda artmıştır. Hassas bitkilerin yaprak ve köklerinde

artış oranı, dirençli bitkilerden daha büyüktür. Bu deneyde, peroksidaz aktivitesi oranının infekte bitkilerde, non-infekte bitkilere göre, hassas bitkilerin köklerinde rezistant bitkilerden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Buradan şu sonuç çıkarılabilir; non-infekte domateslerde peroksidaz aktivitesinin yüksek seviyeleri, pek çok durumda *V.dahliae*' ye dirençle korelasyon halindedir.

Domates ile yapılan bir araştırmada hassas ve dirençli domates kültürlerinin yaprak, kök ve gövdelerinde peroksidaz aktiviteleri ölçülmüştür. İnfekte olmamış dirençli bitkilerin köklerinde enzim aktivitesi, infekte olmamış hassas bitkilerin köklerinden önemli ölçüde yüksek olarak bulunmuştur. Dirençli bitkilerin non-infekte yapraklarında peroksidaz aktivitesi, bütün durumlarda non-infekte hassas bitkilerin yapraklarından daha yüksektir. *V. dahliae* ile inokulasyondan sonra hem hassas hem de dirençli bitkilerin yaprak, kök ve gövdelerinde peroksidaz aktivitesi artmıştır. İnfekte bitkilerde aktivitenin non-infekte bitkilere göre oranı, hassas bitkilerin kök ve yapraklarında, rezistant bitkilerden daha yüksektir (Reuveni ve Ferreira, 1985).

Peroksidaz aktivitesinde benzer bir artış, Maraite (1973) tarafından *Fusarium oxysporum* f.sp.melonis tarafından infekte edilmesinden sonra kavunların yaprak, gövde, petiol ve hipokotil ekstraktlarında da bulunmuştur.

Doğal bileşiklerin bitkilere püskürtülmesi suretiyle bitkilerin savunma sistemlerinin uyarılması ve böylece hastalıklara direncinin artırılması ile ilgili bir araştırma Akı ve Türkan (2000) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada uyarıcı doğal bileşik olarak kitosan polisakkariti, bitkisel materyal olarak ise *Cucurbita pepo* L. (kabak) ve *Phaseolus vulgaris* L. (fasulye) kullanılmış ve savunma sisteminin öncül enzimlerinden peroksidaz [EC 1.11.1.7] enziminin aktivitesindeki değişimler belirlenmiştir. Yapraklarına kitosan uygulaması yapılan *Phaseolus vulgaris* L. bitkisinde, kitosan uygulanmasından 24 saat sonra peroksidaz aktivitesinin kontrol bitkilerine oranla % 0,1' lik uygulamada % 21, % 0,5'lik uygulamada % 23 oranında artış gösterdiği, 48 saat sonra ise % 0,1'lik uygulamada % 35, % 0,5'lik uygulamada % 26 oranında artış gösterdiği saptanmıştır.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar topluca değerlendirilirse, kitosan polisakkariti *Cucurbita pepo* L. ve *Phaseolus vulgaris* L. bitkilerinin yapraklarına farklı dozlarda (% 0,1, % 0,5) spreylendiğinde uygulamadan 24 ve 48 saat sonra peroksidaz aktivitesinin farklı düzeylerde arttığı ve bu sayede de bitkilerin savunma sistemlerinin uyarıldığı saptanmıştır (Akı ve Türkan, 2000).

## 1.7. DOMATESİN ÖZELLİKLERİ

Domates bitkisi *Solanaceae* familyasına dahildir. Aşağıda domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 'in sistematığı verilmiştir.

**Alem:** *Plantae*

**Alt alem:** *Tracheobionta*

**Üst bölüm:** *Spermatophyta*

**Bölüm:** *Magnoliophyta*

**Sınıf:** *Magnoliopsida*

**Alt sınıf:** *Asteridae*

**Takım:** *Solanales*

**Aile:** *Solanaceae*

**Cins:** *Lycopersicon*

**Tür:** *Lycopersicon esculentum* Mill.

Philip Miller (1691-1771) - Acronym Mill. (Anonymous, 2004d).

### 1.7.1. Genel Bilgiler

Araştırmamızda materyal olarak seçtiğimiz domates, besin olarak yararlanılan bitkiler arasında çok önemli bir yere sahip olup dünyada en çok üretilen ve tüketilen sebzeler arasında yer almaktadır. Hem güney hem de kuzey yarım kürede çok geniş ekim alanlarında tarımı yapılmaktadır. Anavatanı Orta ve Güney Amerika veya Peru olarak bilinen domates, önce Avrupa kıtasına getirilmiştir. İlk kez İtalya' ya getirilen domates meyveleri, buradan Kuzey Avrupa' ya ve Kuzey Avrupa'dan da tüm dünyaya yayılmıştır (Kütevin ve Türkeş, 1987; Küçüker, 1994).

Peru' da Maya uygarlığı zamanında adı "xtomatl" veya "tomatl" olarak geçmekteydi. İspanyollar tarafından Avrupa' ya getirilmiş ve "tomatl" diye tanıtılmıştır (Küçüker, 1994). Amerika' da ilk kez 1817 yılında domates tohumunun kataloglarda yer aldığı görülmektedir (Kütevin ve Türkeş, 1987). Avrupa' da uzun süre zehirlidir diye çekinilen domates (Ekinci, 1972) daha sonra kültür bitkisi olarak kabul görmüştür. Birinci Dünya Savaşı sıralarında tanıdığımız domates, bugün ülkemizde geniş oranda

kültürü yapılan ve çok tüketilen bir bitkidir (Kütevin ve Türkeş, 1987; Seçmen ve ark., 1998).

Domates, Doğu Anadolu' nun iklimsel olarak uygun olmayan kısımları hariç, Türkiye' nin hemen hemen her yerinde, sera ve açık tarla koşullarında yetiştirilmektedir. Meyvesi taze olarak veya salça, ketçap, domates suyu, turşu, reçel gibi hazırlanmış ürünler olarak tüketilir. Meyve şekli (yuvarlak, basık, konik, armut şeklinde vs.) ve bitki görünüşü (cüce veya uzun) bakımından farklılık gösteren çeşitli varyetelerinin kültürü yapılmaktadır (Davis, 1978).

Domates bitkisi glandular tüylü, tekyıllık, dik gövdeli, dallanmış ve 40-150 cm' dir. Yapraklar imparipinnat, ovat-lanseolat. Kaliks 5 (-8) loblu. Korolla sarı, 5 (-8) loblu. Stamenler 5 (-8) adet. Meyvelerinin şekli küremsi, basık-küremsi, oval veya armut şeklindedir. Meyve rengi kırmızı, pembe veya sarı ve çapı 10 cm' ye kadar olabilir (Davis, 1978; Seçmen ve ark., 1998). Domates' in bakka tipi meyvelerinin dışında kırmızı-turuncu renkte eksokarp, kalın ve çok sayıda tohum içeren bir mezorarp kısmı bulunur. Başlangıçta sert olan mezokarp, meyve olgunlaşmasına koşut olarak ortama salınan "selülaz" gibi enzimlerle jelatinsi-yumuşak bir durum alır (Küçükler, 1994).

### **1.7.2. Kimyasal İçeriği**

Domates taze olarak yenildiği gibi salça, domates suyu, konserve, turşu, reçel, ketçap şeklinde de değerlendirilmektedir. İçeriğinde A, B1, B2, C, K vitaminleri, niasin, protein, yağ, karbonhidrat, organik asitler, potasyum, demir ve pek çok etkin madde bulunmaktadır (Anonymous, 2004e). Meyveler likopen, karoten gibi renk maddelerinin yanı sıra büyük miktarda vitamin C içerir. Ayrıca son yıllarda "tomatin" denilen antibakteriyel nitelikli bir madde, domates meyvelerinden elde edilmiştir (Küçükler, 1994). Safra kesesine, bağırsaklara, mide suyuna olumlu etkileri olan domates, kan basıncını da azaltır (Kütevin ve Türkeş, 1987).

Bitki, meyvelerinin dışında gövde ve yapraklarında zehirli bir alkaloid olan "solanin" içerir. Bu nedenle meyvelerinin geniş tüketime sunulması ancak 18. yüzyılın sonlarına rastlamaktadır (Küçükler, 1994). Solanin, zehir etkisiyle baş ağrısı yapar, sersemlik oluşturur (Kütevin ve Türkeş, 1987).

Çizelge 1.9' da domatesin besin içeriği, Çizelge 1.10' da ise vitamin içeriği gösterilmiştir (Kütevin ve Türkeş, 1987).

**Çizelge 1.9.** Domatesin Besin İçeriği (100 g yenilebilen kısımda).

<b>Kalori</b>	<b>Protein (gr)</b>	<b>Yağ (gr)</b>	<b>KH (gr)</b>	<b>Kalsiyum (mg)</b>	<b>Fosfor (mg)</b>	<b>Demir (mg)</b>
20	1,0	0,3	4,0	11	27	0,6

**Çizelge 1.10.** Domatesin Vitamin İçeriği (100 g yenilebilen kısımda).

<b>A</b>	<b>B<sub>1</sub></b>	<b>B<sub>2</sub></b>	<b>Niasin</b>	<b>C</b>
I.U.	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
1100	0,06	0,04	0,5	23

### 1.7.3. Ekolojik İstekleri

Domates toprak seçiciliği çok fazla olmayan bir bitki olmakla beraber, ekonomik yetiştiricilik için ideal toprak bünyesi tındır. pH' sı 6 civarında olan ve drenajı iyi topraklar domates tarımı için en uygun topraklardır. Bir ılıman iklim bitkisi olan domatesin farklı gelişme dönemleri için en uygun sıcaklıklar şöyledir:

Tohum çimlenme dönemi 25 °C, fide dönemi gündüz 18-22 °C gece 17-20 °C. İyi bir kök gelişimi için ise toprak sıcaklığının 12 °C' den yüksek olması gereklidir. Domates bitkisi 35 °C 'ye kadar sıcaklıklara dayanabilmektedir. Daha yüksek sıcaklıklarda meyve oluşumunda sorunlar görülmekte ve ayrıca yapraklarda yanmalar olmaktadır. En uygun oransal nem % 70 civarındadır. Nemin % 50'den az veya %80'den fazla olması durumunda çeşitli sorunlar ortaya çıkmaktadır. Düşük nem bitkinin su dengesinin bozulmasına, yüksek nem ise çeşitli bakteriyel hastalıklar ve mantar hastalıklarının artmasına neden olmaktadır (Anonymous, 2004f).

### 1.7.4. Domates Ekonomisi

Domates dünyada en fazla üretilen sebzelerin başında gelmektedir. Gerek ekim alanı ve gerekse üretim miktarı düzenli olarak artmaya devam etmektedir. Dekardan alınan ürün miktarı uygulanan tarım tekniklerine bağlı olarak ülkeden ülkeye önemli farklılık göstermekle birlikte, dünya ortalaması 2700 kg civarında bulunmaktadır (Çizelge 1.11.). En büyük domates üreticisi ülkeler arasında Amerika Birleşik Devletleri, Çin, İtalya, Hindistan ve İspanya gibi ülkeler yer almaktadır.

Türkiye 8 milyon ton civarındaki üretimi ile önemli üretici ülkeler arasında ilk sıralarda bulunmaktadır (Anonymous, 2004f).

**Çizelge 1.11.** Dünya Domates Ekim Alanı, Üretimi ve Verimi (Anonymous, 2004f).

<b>Yıllar</b>	<b>Ekiliş Alanı (1000 ha)</b>	<b>Üretim (1000 ton)</b>	<b>Verim (kg/da)</b>
1995	3.202	86.743	2.709
1996	3.322	92.157	2.774
1997	3.296	87.604	2.658
1998	3.486	92.116	2.643
1999	3.606	99.217	2.751

Dünya domates üretiminin bir bölümü işleme sanayiinde (başta salça olmak üzere) çeşitli domates ürünlerine dönüştürülürken, büyük bir bölümü üretici ülkelerde taze olarak tüketilmektedir.

#### **1.7.5. Türkiye’ de ve Çanakkale İlindeki Durum**

Türkiye’de domates üretimi özellikle 1980’li yıllardan itibaren üretim tekniğinde sağlanan gelişmelere bağlı olarak hızlı bir şekilde artmıştır (Çizelge 1.12).

**Çizelge 1.12.** Türkiye’de Domates Üretimi (Anonymous, 2004f).

<b>Yıllar</b>	<b>Üretim (1000 ton)</b>
1994	3.550
1995	6.000
1996	7.800
1997	6.600
1998	8.290

Türkiye’de domates üretiminin % 1,5-2,0’ si yurt dışına ihraç edilmekte, geri kalan bölüm ise yurt içinde kullanılmaktadır. Yurtiçi kullanımında taze tüketim oranı % 70-75 civarında bulunmaktadır. Üretimin yaklaşık 1/4’ lük bölümü ise işleme sanayinde salça, konserve, doğranmış domates gibi çeşitli ürünlere işlenmektedir (Anonymous, 2004f).

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Çanakkale Valiliği, Tarım İl Müdürlüğü, Bitki Koruma Şube Müdürlüğü’ nden aldığımız bilgilere göre Çanakkale ilinin toprak varlığı ve dağılımı, işlenebilir arazinin dağılımı, işlenebilir arazinin ülke içindeki payı ve işlenebilir arazinin kullanım durumu aşağıdaki çizelgelerde verilmiştir.

**Çizelge 1.13.** Çanakkale İlinin Toprak Varlığı ve Dağılımı.

<b>Toprak Varlığı ve Dağılımı</b>	<b>Alanı (ha)</b>	<b>Payı (%)</b>
İşlenebilir Arazi	333.573	34.26
Çayır-Mera Arazisi	49.291	5.06
Orman ve Fundalık Arazi	525.580	53.98
Yerleşim Alanları Ve Tarıma Elverişsiz Arazi	65.256	6.70
<b>TOPLAM</b>	<b>973.700</b>	<b>100</b>

**Çizelge 1.14.** Çanakkale İlinde İşlenebilir Arazinin Ürün ve Kullanım Durumuna Göre Dağılımı.

<b>İşlenebilir Arazi Dağılımı</b>	<b>Alanı (ha)</b>	<b>Payı (%)</b>
Tarla Arazisi (Nadas Dahil)	275.007	82.44
Sebze Arazisi	18.949	5.68
Meyve Arazisi	6.718	2.01
Bağ arazisi	6.383	1.91
Zeytin arazisi	26.516	7.96
<b>TOPLAM</b>	<b>333.573</b>	<b>100</b>

**Çizelge 1.15.** Çanakkale İlinde İşlenebilir Arazinin Ülke Tarım Alanı İçindeki Payı.

<b>İşlenebilir Arazi Dağılımı</b>	<b>Türkiye (ha)</b>	<b>Çanakkale (ha)</b>	<b>Payı (%)</b>
Tarla Alanı (Nadas Dahil)	23.341.000	275.007	1.18
Sebze Alanı	790.000	18.949	2.39
Meyve Alanı	1.404.000	6.718	0.47
Bağ Alanı	530.000	6.383	1.20
Zeytin Alanı	600.000	26.516	4.41
<b>TOPLAM</b>	<b>26.665.000</b>	<b>333.573</b>	<b>1.25</b>

**Çizelge 1.16.** Çanakkale İlinde Bazı Tarım Ürünlerinin İşlenebilir Arazi İçindeki Payları.

<b>Ürünün Adı</b>	<b>Ekiliş (ha)</b>	<b>Payı (%)</b>
Buğday	107.160	32
Arpa	25.362	7
Zeytin	26.516	8
Ayçiçeği	25.065	7
Yulaf	9.178	3
<b>Domates</b>	<b>10.103</b>	<b>3</b>
Bağ	6.383	2
Bakla	3.154	1
Pamuk	3.660	1
Elma	3.199	1
Nohut	3.565	1
Biber	2.371	1
Şeftali	2.238	1
Diğer	105.619	32

#### **1.7.6. Domatestte Görülen Başlıca Hastalıklar**

Ülkemiz ve Çanakkale bölgesi için ekonomik öneme sahip olan sanayi, tarla ve sera domatesi yetiştiriciliğinde domates hastalıkları önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır. Domateslerde görülen hastalıkları genel başlıkları ile sıralayacak olursak;

1. Besin maddesi noksanlıkları
2. Virüs ve benzeri etmenlerin oluşturdukları hastalıklar
3. Bakteriyel hastalıklar
4. Fungal hastalıklar olarak sınıflandırılabilir.



### 1. Domateslerde Besin Maddesi Noksanlıkları

Azot, fosfor, potasyum, kalsiyum, magnezyum, demir, manganez noksanlıklarıdır.

### 2. Domateslerde Virüs ve Benzeri Etmenlerin Oluşturdukları Hastalıklar

- Domates mozayiği
- Domateste iplik yapraklılık
- Domateste bronz lekeliik
- Domates sarı yaprak kıvrıcılık hastalığı
- Domates çift virüslü çizgi hastalığı
- Stolbur

### 3. Domateslerde Bakteriyel Hastalıklar

- Domates bakteriyel solgunluğu
- Domates bakteriyel benek hastalığı  
(Etmeni: *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*)
- Domates bakteriyel leke hastalığı  
(Etmeni: *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*)

### 4. Domateslerde Fungal Hastalıklar

#### a. Fide ve kök çürüklüğü hastalıkları

- Çökerten Hastalığı
- Kök boğazı yaraları

#### b. Kök ve kökboğazı hastalıkları

- Kahverengi kök çürüklüğü
- Sap çürüklüğü
- Sap dibi çürüklüğü

#### c. Solgunluk hastalıkları

- Fusarium solgunluğu
- Verticillum solgunluğu

#### d. Yaprak ve meyve hastalıkları

- Külleme
- Erken yanıklık hastalığı
- Kurşuni Küf Hastalığı  
(Etmeni: *Botrytis cinerea*)
- Domates Geç Yanıklık hastalığı (Mildiyö)  
(Etmeni: *Phytophthora infestans*) (Çolakoğlu ve ark., 1989).

## 2. MATERYAL VE METOD

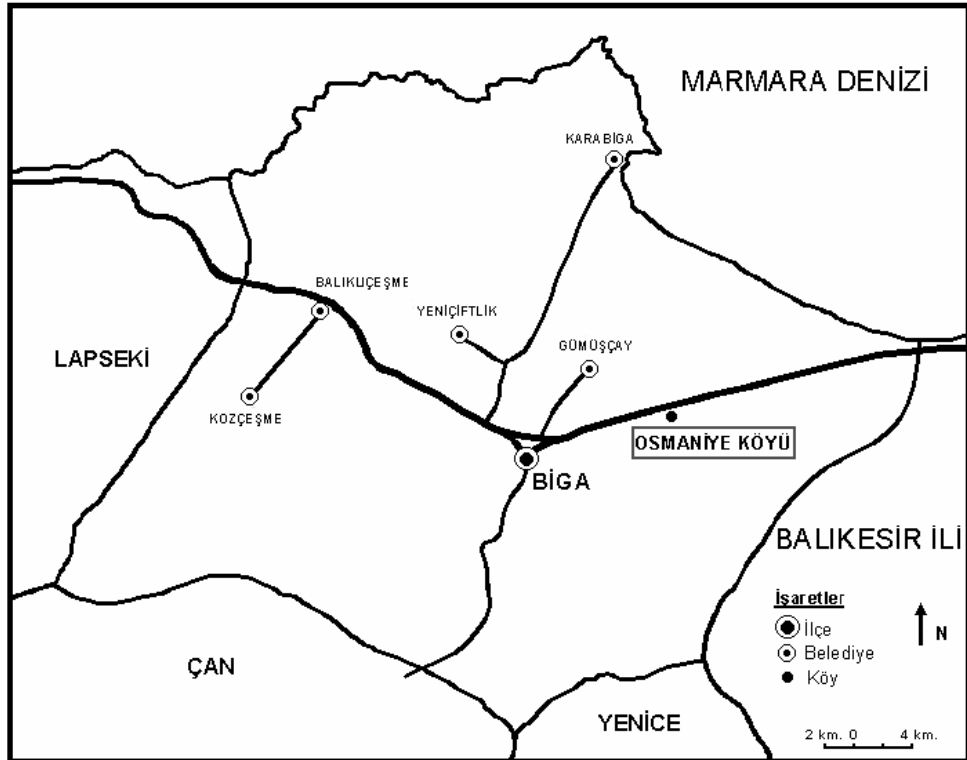
### 2.1. MATERYAL

Araştırmada materyal olarak özel bir firmadan, tohum halindeyken alınan, ticari ismi Standart T2 Improved olan, hastalıklara karşı dayanıklı bir domates türü (*Lycopersicon esculentum* Mill.) kullanılmıştır. Bu domates çeşidi Çanakkale bölgesinde yaygın olarak üretimi yapılan sanayi tipi, salçalığa uygun , armut şeklinde ve orta erkenci bir çeşittir.

Çanakkale ve Biga bölgesinde birçok domates çeşidi yetiştirilmektedir. Bunlar arasında en çok kullanılan sanayi tipi hibrit çeşitler ; NDM Japon çeşitleri, Nun 6200, Nun 6108 ve CXD serileridir. Ayrıca standart çeşitler olarak Riogrande, T2 Improved, Şasta, Star ve sofralık-yuvarlak market tipi olarak SC 2121 ve H2274 domates çeşitleri ekilmektedir.

#### 2.1.1. Araştırmanın Yeri ve Özellikleri

Analizlerde kullanılan domates bitkilerinin yetiştirilme ve hasat işlemleri Çanakkale ili, Biga İlçesine bağlı Osmaniye Köyü' nde gerçekleştirilmiştir. Örneklerin yetiştirildiği lokalite Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Analizlerde Kullanılan Bitkilerin Yetiştirildiği Lokalite.

Denemenin gerçekleştirildiği tarlanın ekime hazırlanması sırasında her sıranın genişliği 1 metre olarak ayarlanmıştır. *In vivo* tarla denemeleri tesadüf parselleri deseni uyarınca gerçekleştirilmiştir. Domates sıraları her sırada 25 bitki bulunacak şekilde ve her kombinasyon için 5 tekrarlı olarak hazırlanmıştır.

### **2.1.2. Bitkinin Yetiştirilmesi**

Firmadan alınan tohumlardan öncelikle sera koşullarında kontrollü olarak domates fideleri yetiştirilmiştir. Uygun büyüklüğe erişen fidelerin tarlaya şaşırtılması 8. hafta içerisinde gerçekleştirilmiştir. Bitkilere deneme ürünlerimiz dışında hiçbir kimyasal uygulaması yapılmamış ve domateslerin sulanması sırasında salma sulama tekniği kullanılmıştır.

### **2.1.3. Araştırmada Kullanılan Preparatlar**

Bu araştırmada son dönemlerde bitki koruma ve yetiştirmede yeni bir yaklaşım olan ve üreticilere çevre dostu yeni ürünler olarak sunulan Messenger, Bion, Cropmax, Maxicrop ve Trichodex' e yer verilmiştir.

İlk preparat uygulaması bitkilerin tarlaya şaşırtılmasından 5 hafta sonra (13 haftalık bitkiler) bitkilerin ilk çiçeklenme döneminde yapılmıştır. İlk dozun püskürtülmesini takip eden sonraki 3 doz 15' er gün ara ile püskürtülmüştür. Seçilen preparat ve uygulama zamanına bağlı kalınarak 4 kez ilaçlama yapılmıştır.

Söz konusu ürünler önerilen doza uygun olarak sulu karışımlar halinde hazırlanmıştır. İlaçlamalar her parseli ayrı olmak üzere bitkilerin tüm toprak üstü kısımlarının yeterince ilaçlanmasına özen gösterilerek el pulverizatörü ile yapılmıştır. Önceden yapılan kalibrasyonlara göre her bitkiye eşit miktarda ilaçlı su isabet etmesine ve parseller arası bulaşmanın olmamasına dikkat edilmiştir.

### **2.1.4. İlaçlama Takvimi**

1. UYGULAMA : 6 Temmuz 2003
2. UYGULAMA : 20 Temmuz 2003
3. UYGULAMA : 3 Ağustos 2003
4. UYGULAMA : 17 Ağustos 2003

### 2.1.5. Kombinasyonlar

Her birinde 5 farklı kombinasyon bulunan iki ayrı kombinasyon grubu oluşturulmuştur. İlk grupta bitki aktivatörleri tek başlarına, ikinci grupta ise biyokontrol ajanı (biyolojik fungusit) olan Trichodex ile birlikte hazırlanan ilaçlama programı domates bitkilerine uygulanmıştır.

**Çizelge 2.1.** Kombinasyon Grupları.

#### Kombinasyon Grubu I

1 – Kontrol
2 – Messenger
3 – Bion
4 – Cropmax
5 – Maxicrop

#### Kombinasyon Grubu II

1 – Trichodex
2 - Messenger + Trichodex
3 - Bion + Trichodex
4 - CropMax + Trichodex
5 - Maxicrop + Trichodex

Araştırmada, domateste hastalık oluşumuna neden olan herhangi bir patojen mikroorganizma kullanılmamıştır. Çünkü bu çalışmada bitki aktivatörleri ve biostimulantların domates bitkisinin peroksidaz enzim aktivitesi ve total protein miktarı üzerine etkisi tarla koşullarında araştırılmak istenmiştir.

Deneme tarla koşullarında gerçekleştirildiği için, ortamın nem ve sıcaklığının istenen değerlerde kontrol altında tutulması mümkün değildir. Dolayısıyla patojenin kontrollü olarak üretilmesi de mümkün olamayacaktır. Bu nedenlerden dolayı çalışmada patojen uygulaması yapılmamış, tarla koşullarında kendiliğinden gelişecek hastalıkların tesbit edilmesi hedeflenmiştir.

Domates bitkisinde yaygın olarak hastalık oluşumuna neden olan *Botrytis cinerea*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, *Phytophthora infestans*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ve *Alternaria solani* gibi bitki patojenleri ancak yüksek nem ve düşük sıcaklık koşullarında, özellikle serin ve yağmurlu havalarda gelişebilmekte ve böylece hastalık oluşumuna neden olabilmektedir.

Örneklerin yetiştirildiği lokalitede, Temmuz ve Ağustos aylarında günün 4 farklı saatinde sıcaklık değerleri ölçülmüş ve ortalama sıcaklık değerleri belirlenmiştir. Bu ölçümler sonucunda Temmuz ayı boyunca ortalama sıcaklık değerleri sabah saatlerinde 22 °C , öğle saatlerinde 33 °C , akşam saatlerinde 21 °C ve gece 18 °C olarak belirlenmiştir. Ağustos ayı boyunca ortalama sıcaklık değerleri ise sabah

saatlerinde 21 °C , öğle saatlerinde 30 °C , akşam saatlerinde 21 °C ve gece 18 °C olarak belirlenmiştir. Nem yüzdesi Temmuz ayında ortalama % 55 ve Ağustos ayında ise % 50 olarak tespit edilmiştir.

## **2.2. METOD**

### **2.2.1. Analiz Örneklerinin Alınması**

İlk analiz örnekleri 1. preparat uygulamasından 7 gün sonra hasat edilerek laboratuvara getirilmiştir. Takibeden örnekleme 15' er gün ara ile yani her ilaçlamadan 7 gün sonra yapılarak aynı işlemler uygulanmıştır.

1. Örnekleme: 14 Temmuz 2003
2. Örnekleme: 28 Temmuz 2003
3. Örnekleme: 11 Ağustos 2003
4. Örnekleme: 25 Ağustos 2003

Analiz için laboratuvara getirilen bitkiler deneme tarlasından kökleriyle birlikte alınarak nemli polietilen torbalar içerisine konmuş ve en kısa süre içerisinde laboratuvara ulaşması sağlanmış ve vakit kaybetmeden analizleri gerçekleştirilmiştir.

### **Analizler İçin Gerekli Solüsyonlar:**

#### **~ Sodyum Asetat Tamponunun Hazırlanışı;**

1. Bir erlen içerisine 1.7 g NaOAc konarak üzerine 250 ml saf su eklenir.
2. Manyetik karıştırıcıda çözülünceye kadar karıştırılır.
2. Daha sonra pH 6.2 - 6.5 arasında ayarlanır. ( pH, 0.1 M HCl ve 0.5 M NaOH kullanılarak ayarlanabilir)
3. Sodyum asetat tamponu 1 haftayı geçmemek şartı ile kullanılacağı zamana kadar buzdolabında saklanabilir.

#### **~ Protein Reagent Brilliant Blue G-250'nin Hazırlanışı;**

1. 50 mg G-250 tartılır ve üzerine 25 ml 95%'lik etanol manyetik karıştırıcıda çok yavaş bir şekilde eklenir daha sonra ise üzerine 50 ml orto-fosforik asit eklenir.
2. Final hacim saf su ile 500 ml' ye tamamlanır.
3. Çalışılacak kadar miktar filtre kağıdından süzülür ve kullanılır.
4. Kalan miktar koyu renkli bir şişe içerisinde buzdolabında muhafaza edilir.

### ~ 0.1 M Pyrogallol Hazırlanışı;

Pyrogallol MW 126.1

1.26 g Pyrogallol 100 ml saf su içerisinde çözdürülür.

### ~ 90 mM Hidrojen Peroksit Hazırlanışı;

1 l 11.63 M

9 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 91 ml su içerisine karıştırılır.

### Yaprak Ekstraktlarının Hazırlanışı;

1. Her bitkiden özellikle genç ve sağlıklı yapraklar seçilerek alınır. Hassas terazide steril kuru kaplarda 2 gr yaprak tartılır.
2. İçerisinde buz bulunan bir kabın içerisine porselen havan konularak soğuması sağlanır (+4 C<sup>0</sup>) . Tartılan yapraklar içerisinde 20 ml soğuk 0.05 M (pH 6.5) sodyum asetat tamponu bulunan porselen havan içerisinde iki dakika süre ile ezilir.
3. Tülbent bezinden süzülerek büyük partiküllerin uzaklaştırılması sağlanır ve buzlu su içerisinde bulunan beherlere aktarılır.
4. Homojenat daha sonra mikropipet yardımı ile alınarak, her kombinasyon için 4 tüp olmak üzere önceden etiketlenmiş ependorf tüplerine aktarılır.
5. Ependorf tüpleri soğutmalı santrifüje yerleştirilerek +4 C<sup>0</sup>'de 13000 rpm (20000 g)'de 15 dk santrifüj edilir.
6. Tüpler santrifüjden çıkarıldıktan sonra mikropipet yardımı ile yaprak ekstraktlarının supernatant kısmı alınarak temiz ependorflara aktarılır.
7. -20 C<sup>0</sup>'deki deep freeze' e kaldırılır. (Tüpler uygun koşullar sağlandığı sürece birkaç ay boyunca bozulmadan saklanabilir.)

### 2.2.2. PROTEİN VE ENZİM ANALİZ YÖNTEMİ

Çalışmamızda, sözkonusu preparatların uygulanması suretiyle uyarılan bitki savunma mekanizması enzimlerinden peroksidaz [EC 1.11.1.7] enzim aktivitesi ve total protein miktarları belirlenmiştir. Her örneğin total protein miktarının belirlenmesinde Bradford (1976)' un total protein tayin yöntemi kullanılmıştır. Peroksidaz enzim aktivitesinin spektrofotometrik ölçümlerinde ise Kanner ve Kinsella (1983)' nın metodu kullanılmıştır. Ölçümler fakültemizde bulunan Shimadzu UV-1208 spektrofotometre cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

### 2.2.2.1. Protein Standardının Hazırlanması

#### Gerekli Kimyasal Maddeler

- 1- Bovine Serum Albumin (BSA ) Stok Solüsyon
- 2- Sodyum Asetat Tamponu
- 3- Protein Reagent Brilliant Blue G-250

Bu yöntemde kullanılan protein standartları Bovine Serum Albumin (BSA) stok solüsyonundan hazırlanır. Bu amaçla 2 mg/ml' lik stok ampul BSA' den 0,02 mg/ml; 0,04 mg/ml; 0,08 mg/ml; 0,12 mg/ml; 0,16 mg/ml ve 0,20 mg/ml konsantrasyonlar alınarak deney tüplerine aktarılır ve final hacim 1000 µl' ye tamamlanır.

1 ml (1000µl) 'de 2 mg protein (BSA) var ise ;

- |     |   |   |                     |
|-----|---|---|---------------------|
| 1-) | 0 µl BSA + 1000 µl sodyum asetat tamponu  | → | KÖR                 |
| 2-) | 10 µl BSA + 990 µl sodyum asetat tamponu  | → | 0,02 mg BSA         |
| 3-) | 20 µl BSA + 980 µl sodyum asetat tamponu  | → | 0,04 mg BSA         |
| 4-) | 40 µl BSA + 960 µl sodyum asetat tamponu  | → | 0,08 mg BSA         |
| 5-) | 60 µl BSA + 940 µl sodyum asetat tamponu  | → | 0,12 mg BSA         |
| 6-) | 80 µl BSA + 920 µl sodyum asetat tamponu  | → | 0,16 mg BSA         |
| 7-) | 100 µl BSA + 900 µl sodyum asetat tamponu | → | 0,20 mg BSA vardır. |

Bu 1000 µl' lik stoklardan 100 µl alınarak yeni tüplere aktarılır ve her deney tüpüne Protein Reagent Brilliant Blue G-250' den 5'er ml eklenir. 10 dakika sonra spektrofotometrede 595<sub>nm</sub>'de ölçümlere başlanır.

Öncelikle kör konularak spektrofotometrede auto zero işlemi gerçekleştirilir ve daha sonra standartların ölçümüne geçilir. Kademeli bir artışın ve doğrusal artış grafiğinin olduğu görülmelidir.

### 2.2.2.2. Spektrofotometrede Bitki Örneklerinin Protein İçeriklerinin Ölçümü

Bitki örnekleri ependorflardan 100'er µl olarak deney tüplerine alınır ve her deney tüpüne Protein Reagent Brilliant Blue G-250'den 5' er ml eklenir. 10 dakika sonra spektrofotometrede 595<sub>nm</sub>'de ölçümlere başlanır. Bulunan absorbans değerleri standart grafikte yerlerine konularak bitki ekstraktı içerisindeki protein miktarı hesaplanır.

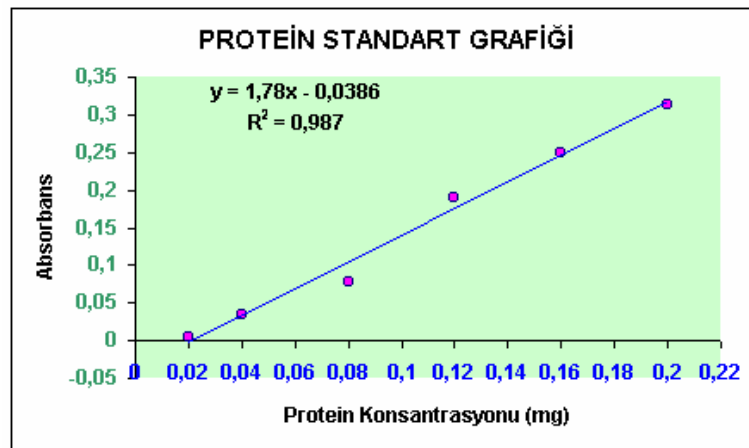
Alınan miktarlar 100'er µl olduğundan ml' deki protein miktarını bulmak için bulunan protein değeri 10 ile çarpılır (1000 µl = 1 ml ).

Protein standart verileri ve protein standart grafiği ile denklemi aşağıdaki çizelgelerde gösterilmiştir.

**Çizelge 2.2.** Protein Standart Verileri.

Protein Konsantrasyonu	Absorbans
0,02 mg protein	0,005
0,04 mg protein	0,034
0,08 mg protein	0,078
0,12 mg protein	0,191
0,16 mg protein	0,250
0,20 mg protein	0,314

**Çizelge 2.3.** Protein Standart Grafiği ve Denklemi.





### 2.2.2.3. Örneklerin Peroksidaz İçeriklerinin Hesaplanması

Her örneğin protein konsantrasyonları Bradford (1976)'un yöntemine uygun olarak belirlendikten sonra aynı homojenatlardan peroksidaz enzim aktivitesinin tayini için de faydalanılmıştır.

#### Gerekli Kimyasal Maddeler:

- 1- Pyrogallol
- 2- Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )
- 3- Sodyum Asetat Tamponu
- 4- Saf Su

### 2.2.2.4. Spesifik Enzim Aktivitesinin Kolorimetrik Olarak Analiz Yöntemi

Spektrofotometre küvetlerine konulan reaksiyon karışımında  $H_2O_2$  ve Pyrogallol miktarları sabittir. Bitki örneğinden alınan miktarlar ise değişken değerlerde olabilir. Analiz için belirlenen oranda bitki örneği reaksiyon karışımına alındıktan sonra final hacim sodyum asetat tamponu ile 1 ml' ye tamamlanır.

#### KÖR:

200 µl Pyrogallol	(SABİT)
100 µl $H_2O_2$	(SABİT)
700 µl Tampon	

#### ÖRNEK:

200 µl Pyrogallol	(SABİT)
100 µl $H_2O_2$	(SABİT)
690 µl Tampon	(DEĞİŞKEN)
10 µl Örnek	(DEĞİŞKEN)

Öncelikle kör hazırlanır ve spektrofotometrede auto zero işlemi gerçekleştirilir, daha sonra ölçümlere geçilir. Ölçüm yapılacak olan küvete sodyum asetat tamponu, pyrogallol ve bitki örneği konularak küvet spektrofotometredeki kuyucuğa yerleştirilir. Hidrojen peroksit ise küvet kuyucuğa yerleştirildikten sonra reaksiyon karışımına ilave edilir. Ölçüm hemen gerçekleştirilmelidir çünkü hidrojen peroksit küvete konduğu anda reaksiyon başlar.

Peroksidaz kinetik reaksiyonunun analizi için spektrofotometrede 300<sub>nm</sub>' de 120 saniye süre ile ölçüm yapılır. 120 saniye içerisinde her 5 saniyede bir alınan absorbans değerleri ve bu değerlere bağlı olarak bilgisayar tarafından oluşturulan grafik kaydedilir. Elde edilen absorbans değerleri arasında en büyük farkı gösteren aralık belirlenir. Belirlenen bu en büyük fark mg protein düzeyine çevrilerek mg/ ml/ dak enzim birimi olarak verilir.

### **2.2.3. TOPRAK ANALİZ YÖNTEMLERİ**

Toprak örnekleri deneme tarlasından 0-30 cm derinlikten usulüne uygun şekilde ve miktarda alınmıştır. Alınan toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal bünye analizleri Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bölümü Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

#### **2.2.3.1. Bünye Tayini**

Toprakların % kum, % kil ve % mil içeriklerini hesaplamayı amaçlayan bu analiz, Bouyoucos (1955)'un "Hidrometre Yöntemi" ne göre yapılmıştır. Bulunan kum, kil ve mil değerleri ise uluslararası dane büyüklüğüne göre hazırlanmış "Bünye Analiz Üçgeni" ne (Black, 1957) uygulanarak, toprak örneklerinin bünye sınıfları saptanmıştır.

#### **2.2.3.2. Suda Çözünebilir Toplam Tuz Tayini**

Saf su ile doyurularak macun haline getirilmiş toprak örneklerinin "Conductivity Bridge RC-126 B2" cihazı ve toprak rezistans kabı kullanılarak elektrik dirençleri bulunmuştur. Elde edilen bu değerler ise toprak macununun sıcaklığı (°F), toprak macununun elektrik direnci (ohm) ve toprak bünyesi kombinasyonu ile hazırlanmış "Redüksiyon Nomogramı" na uygulanarak, toprak örneklerinin % total tuz içerikleri bulunmuştur (Anonymous, 1954).

#### **2.2.3.3. Organik Madde Tayini**

5 gr toprak örneği, 250 ml' lik balon jöjeye konup, üzerine eklenen 40 ml derişik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 25 ml 2N K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> ile birlikte etüvde 120 °C ta 1.5 saat yakıldı. Daha sonra soğutulup saf su ile hacmi 250 ml'ye tamamlanıp, süzülerek süzüntü bir gece bekletildi. Ertesi gün bu süzüntüden 10 ml alınıp, 100 ml' lik bir erlene kondu, üzerine 2 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> karışımı, 8 damla difenil amin asit ilave edildi. 25 ml 0.2 N

morsches tuzundan da konarak 0.1 N K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> ile renk yeşilden menekşeye dönüşüncüye kadar titre edildi. Sarfiyattan hesapla organik karbon, onun da sabit bir sayı ile çarpımından (1.724) ise Springer ve Klee' ye göre % organik madde bulunmuştur (Steubing, 1965).

#### **2.2.3.4. PH Tayini**

Bu tayin için cam ve kalomel elektrotlu "Beckman pH metresi" kullanılmış ve tayinler saf su ile doyurulmuş olan toprak örneklerinde yapılmıştır (Jackson, 1958).

#### **2.2.3.5.Kalsiyum Karbonat (CaCO<sub>3</sub>) Tayini**

Toprak örneklerinde kireç tayini "Scheibler Kalsimetresi" ile yapılmış ve sonuçlar % CaCO<sub>3</sub> olarak hesaplanmıştır (Nehring, 1960).

#### **2.2.3.6. Toprakta Toplam Azot Tayini**

Toprak örneklerinde toplam azot miktarı Bremner ve Shaw'un modifiye makrokjeldahl yöntemiyle bulunmuştur (Bremner, 1965). Sonuçlar yüzde olarak verilmiş ve Kovancı (1969)' ya göre sınıflandırılmıştır.

Bu işlem için izlenen yol aşağıda verilmiştir. 5 gr toprak 750 ml' lik Kjeldhal balonunda tartılır. Bunun üzerine 10 gr kadar karışım tuzu 2 Cu parçası ilave edilir. 30-40ml' lik salisilik asit + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> karışımı da eklenir ve yakılır.Yanma süresince her yarım saatte bir çalkalanıp soğumaya bırakılır. Daha sonra 250 ml saf su ilave edilir. Tekrar soğuduktan sonra 120-130 ml %40'lık NaOH eklenir (Renk bulanıklaşana kadar). Destilasyon için, onluk olarak 50 ml H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> kullanılır. Destilasyon sırasında H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 'ün rengi pembeden yeşile döner. Bu işleme 150 ml. destilat birikinceye kadar devam edilir. Titrasyona 0.05 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile renk pembeleşinceye kadar devam edilir, sarfiyat not edilir. Daha sonra aşağıda verilen formülden yararlanılarak % toplam N bulunur.

$$\% \text{ Toplam N} = \frac{(\text{Sarfiyat Kör}) 0.05 \times 0.014 \times 100}{\text{Örnek Miktarı}}$$

#### **2.2.3.7. Toprakta Fosfor Analizi**

Toprak örneklerinin alınabilir fosfor miktarları Bingham yöntemine göre belirlenmiştir. Bu yönteme göre toprak örneği 2 ml saf su ile 5 dakika yatay

çalkalayıcıda çalkalanmış ve elde edilen süzüklerdeki fosfor miktarları belirlenmiştir. Sonuçlar ppm olarak verilmiştir (Bingham, 1949).

#### **2.2.3.8. Toprakta Potasyum Tayini**

Toprak örneklerinde faydalı potasyum miktarları 1 N Amonyum asetat ( $\text{NH}_4\text{OAc}$ ) yöntemi ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Eppendorf flame fotometresinde saptanmıştır. Bu yönteme göre;

2.5 kg toprak örneği tartılıp 100 ml'lik plastiklere konularak üzerine 25 ml 1 N  $\text{NH}_4\text{OAc}$  ilave edilir. 30 dakika kadar çalkalanır ve süzülür. Bu süzükler direk flame fotometrede okunur. Standart seri 1 N  $\text{NH}_4$  ile hazırlanır. Sulandırma faktörü 10' dur (Pratt, 1965).

#### **2.2.3.9. Toprakta Alınabilir Fe, Cu, Zn ve Mn Miktarları**

Toprak örneklerinin mikroelement kapsamalarının belirlenmesi DTPA yöntemiyle yapılmıştır. DTPA yöntemiyle elde edilen süzükteki Fe, Cu, Zn ve Mn miktarları Varian Techtron Model 1200 Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresinde ölçülmüştür (Lindsay ve Norvell, 1978).

#### **2.2.3.10. Toprakta Değişebilir Ca ve Mg Tayini**

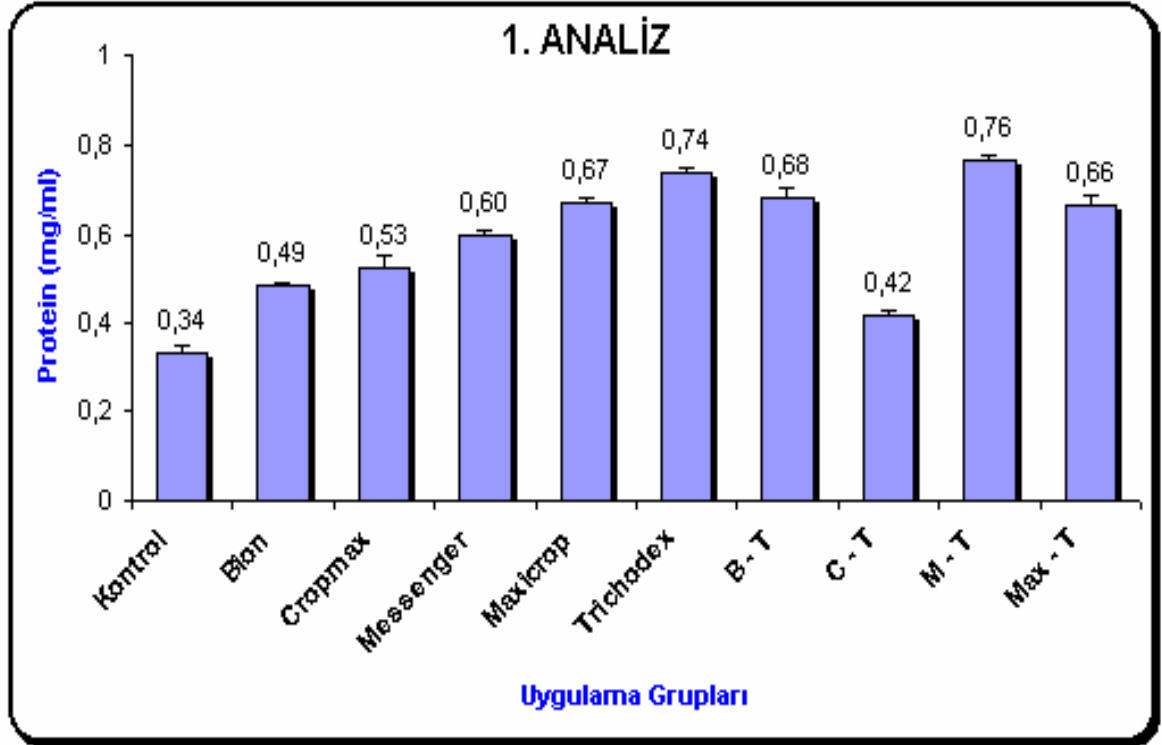
Jackson (1967) tarafından bildirilen yönteme göre, toprak örnekleri 1N  $\text{NH}_4\text{OAc}$  (pH=7) ile ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon çözeltileri % 1' lik  $\text{LaCl}_3$  (Lantanklorür) çözeltisi ile 1:10 düzeyinde seyreltilmiş ve bu çözeltilerde değişebilir Ca ve Mg iyon düzeylerinde Perkin Elmer 3110 atomik absorbsiyon spektrofotometresiyle (A.A.S.) belirlenmiştir.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Total Protein Tayini ile İlgili Bulgular

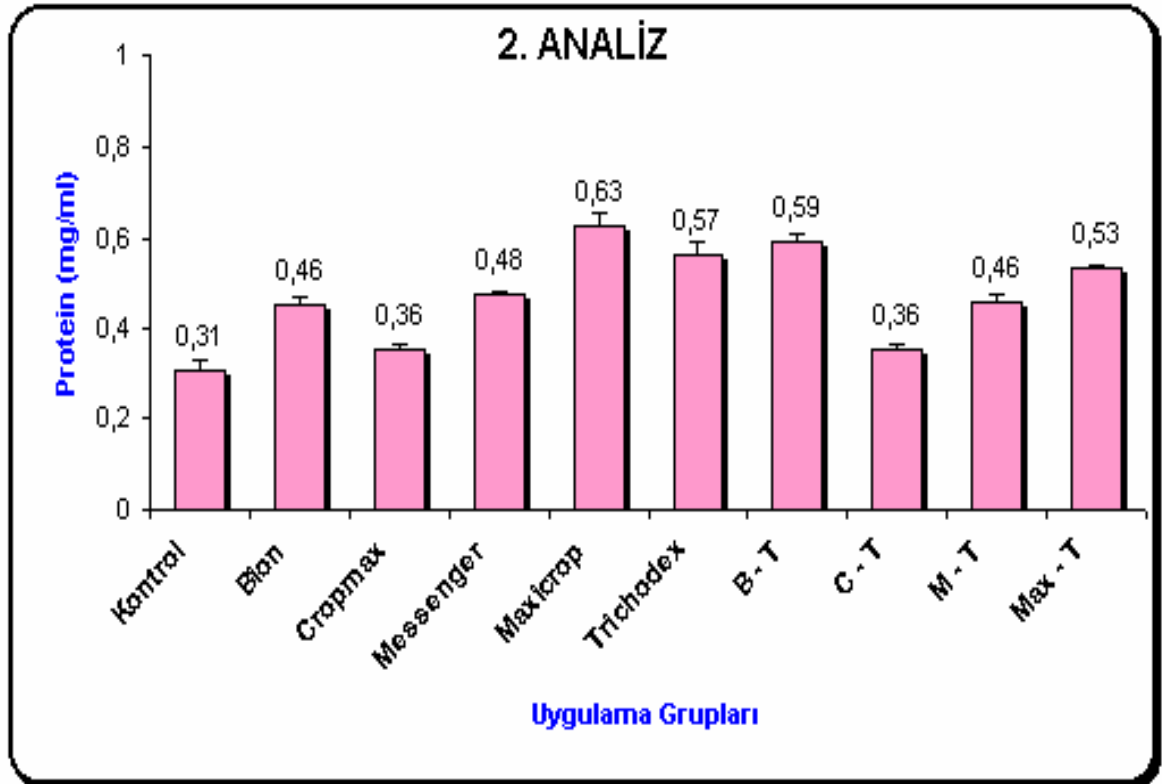
Çizelge 3.1. Total Protein Sonuçları (1. Analiz).

1. ANALİZ SONUÇLARI			
	Uygulama Grupları	n	Ort.±SS (mg/ml protein)
1	Kontrol	5	0,34 ± 0,016
2	Bion	5	0,49 ± 0,009
3	Cropmax	5	0,53 ± 0,025
4	Messenger	5	0,60 ± 0,012
5	Maxicrop	5	0,67 ± 0,006
6	Trichodex	5	0,74 ± 0,014
7	B - T	5	0,68 ± 0,023
8	C - T	5	0,42 ± 0,011
9	M - T	5	0,76 ± 0,012
10	Max -T	5	0,66 ± 0,025



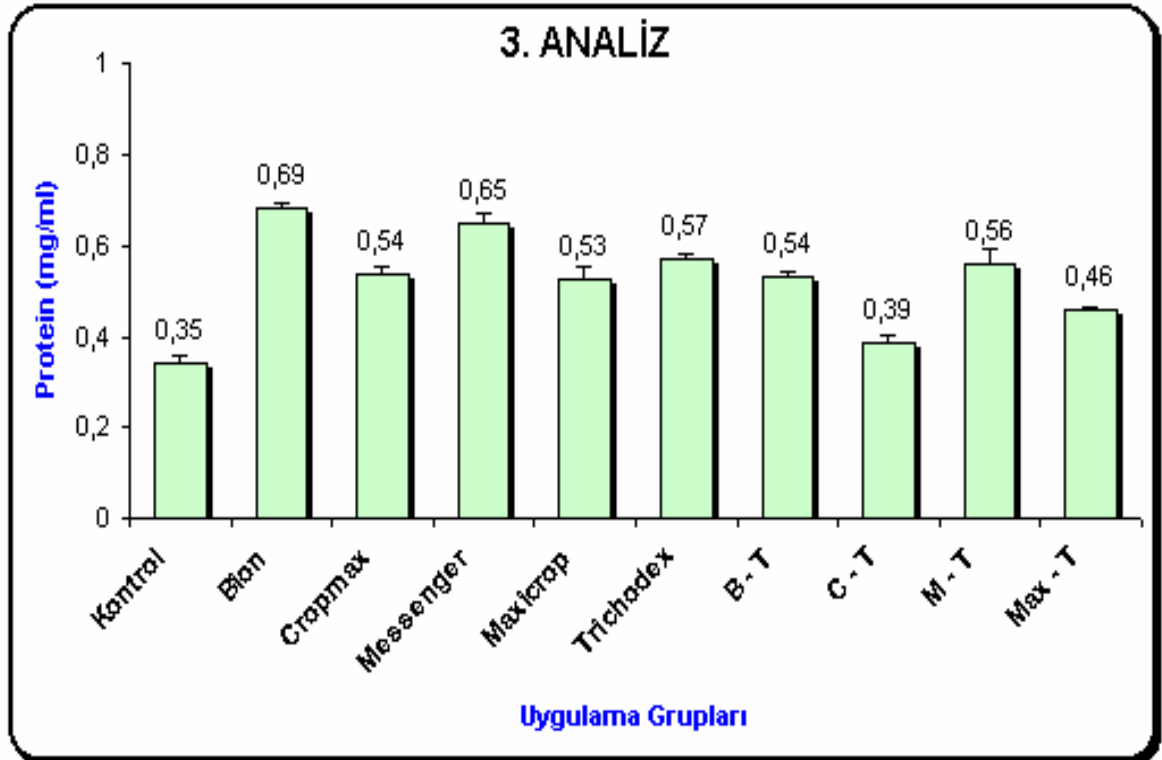
Çizelge 3.2. Total Protein Sonuçları (2. Analiz).

2. ANALİZ SONUÇLARI			
	Uygulama Grupları	n	Ort.±SS (mg/ml protein)
1	Kontrol	5	0,31 ± 0,026
2	Bion	5	0,46 ± 0,017
3	Cropmax	5	0,36 ± 0,012
4	Messenger	5	0,48 ± 0,008
5	Maxicrop	5	0,63 ± 0,031
6	Trichodex	5	0,57 ± 0,024
7	B - T	5	0,59 ± 0,014
8	C - T	5	0,36 ± 0,010
9	M - T	5	0,46 ± 0,016
10	Max -T	5	0,53 ± 0,007



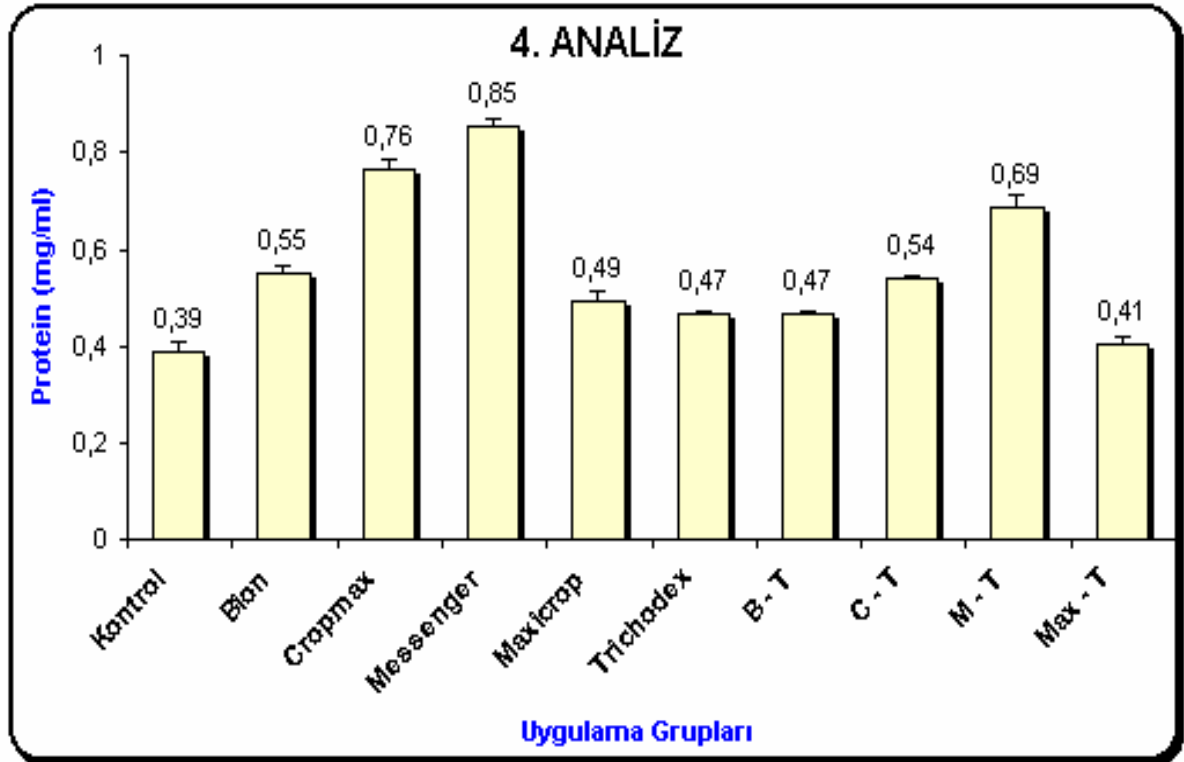
Çizelge 3.3. Total Protein Sonuçları (3. Analiz).

3. ANALİZ SONUÇLARI			
	Uygulama Grupları	n	Ort.±SS (mg/ml protein)
1	Kontrol	5	0,35 ± 0,014
2	Bion	5	0,69 ± 0,012
3	Cropmax	5	0,54 ± 0,016
4	Messenger	5	0,65 ± 0,020
5	Maxicrop	5	0,53 ± 0,024
6	Trichodex	5	0,57 ± 0,013
7	B - T	5	0,54 ± 0,009
8	C - T	5	0,39 ± 0,018
9	M - T	5	0,56 ± 0,034
10	Max -T	5	0,46 ± 0,004



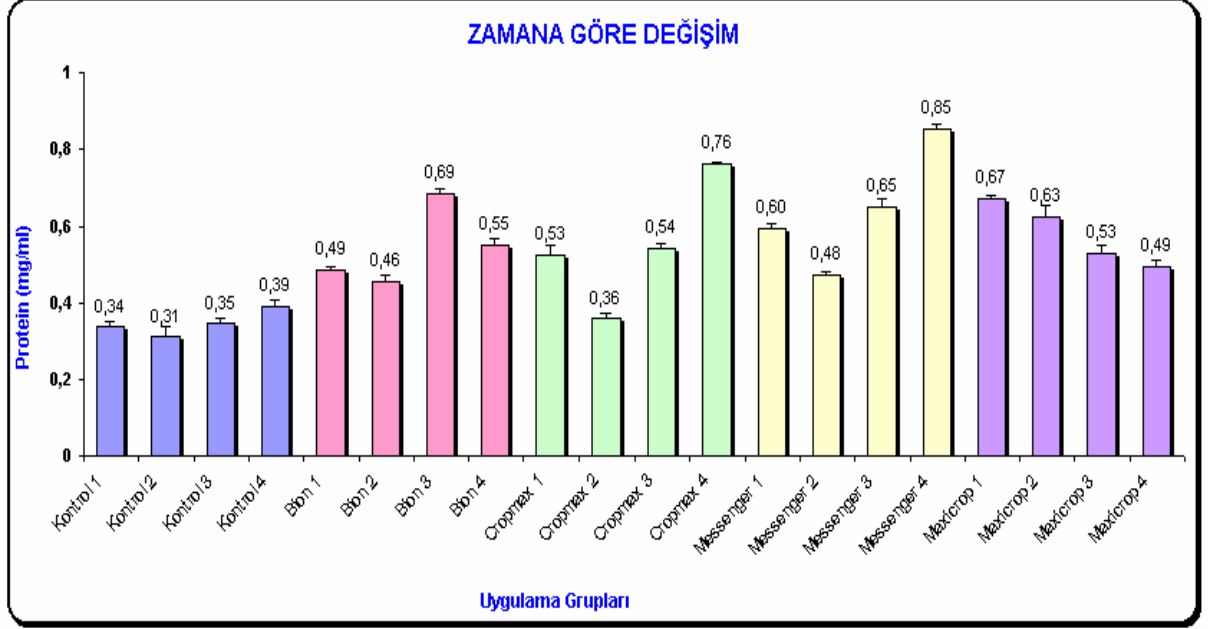
Çizelge 3.4. Total Protein Sonuçları (4. Analiz).

4. ANALİZ SONUÇLARI			
	Uygulama Grupları	n	Ort.±SS (mg/ml protein)
1	Kontrol	5	0,39 ± 0,018
2	Bion	5	0,55 ± 0,014
3	Cropmax	5	0,76 ± 0,024
4	Messenger	5	0,85 ± 0,016
5	Maxicrop	5	0,49 ± 0,021
6	Trichodex	5	0,47 ± 0,006
7	B - T	5	0,52 ± 0,016
8	C - T	5	0,54 ± 0,006
9	M - T	5	0,69 ± 0,027
10	Max -T	5	0,41 ± 0,019

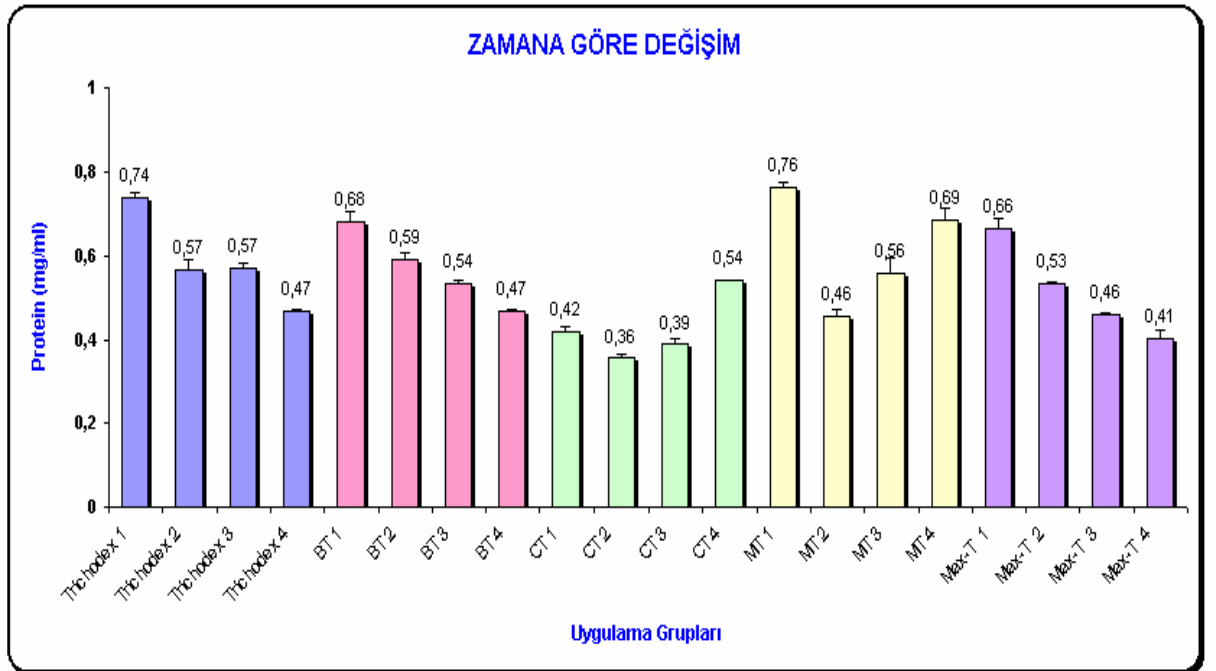




**Çizelge 3.5.** Uygulama Gruplarında Total Protein Miktarının Zamana Göre Değişim Grafiği (İlk 5 Grup).



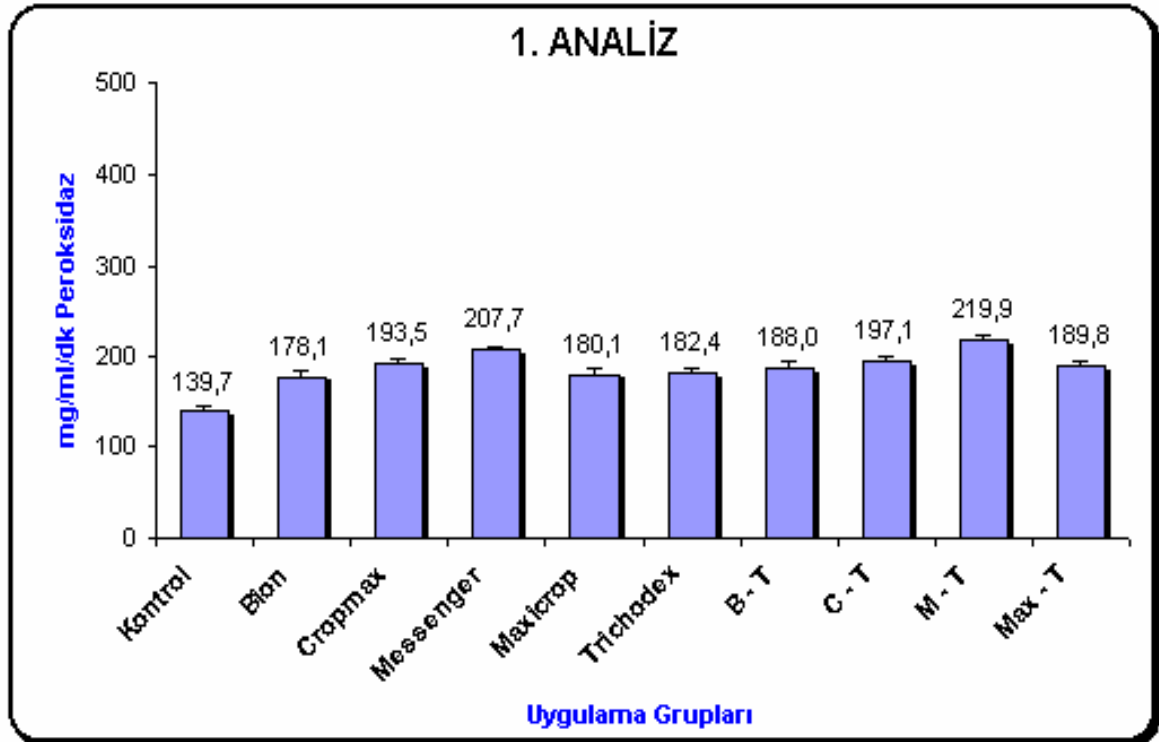
**Çizelge 3.6.** Uygulama Gruplarında Total Protein Miktarının Zamana Göre Değişim Grafiği (Son 5 Grup).



### 3.2. Peroksidaz Enzim Aktivitesi ile İlgili Bulgular

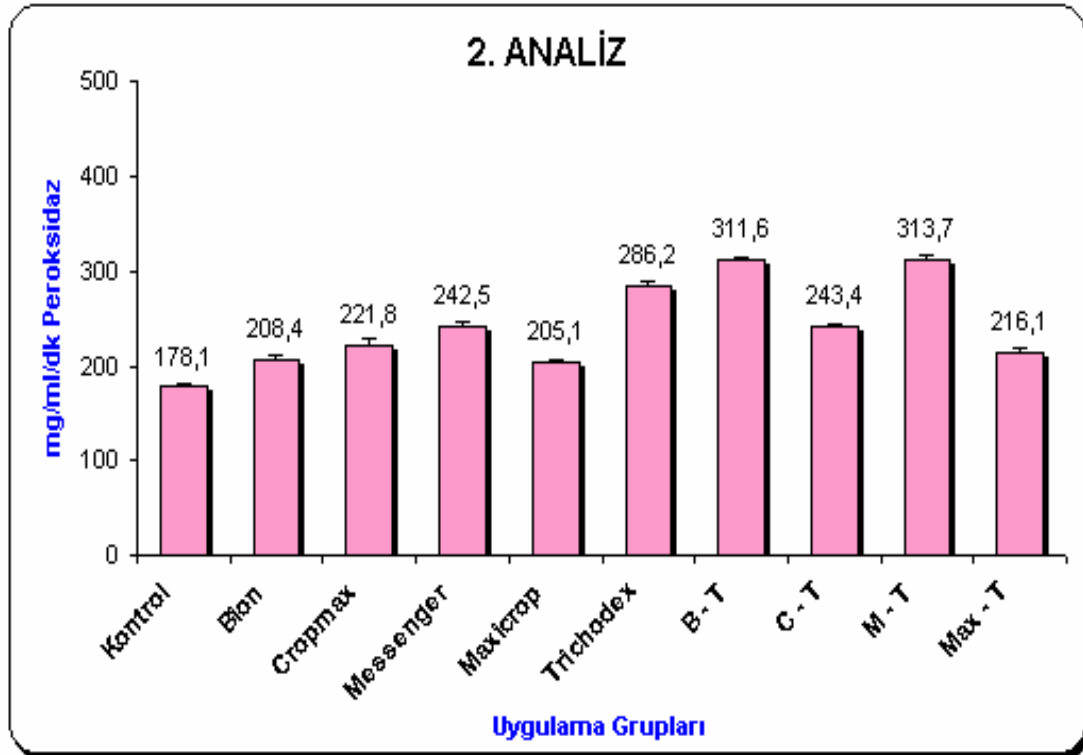
Çizelge 3.7. Peroksidaz Enzim Aktivitesi ve Yüzde Etkinlik (1. Analiz).

1. ANALİZ SONUÇLARI				
	Uygulama Grupları	n	Ort.±SS (mg/ml/dk Peroksidaz)	% Etki
1	Kontrol	5	139,7 ± 3,4	-
2	Bion	5	178,1 ± 8,7	27,5
3	Cropmax	5	193,5 ± 5,1	38,5
4	Messenger	5	207,7 ± 3,5	48,7
5	Maxicrop	5	180,1 ± 7,1	28,9
6	Trichodex	5	182,4 ± 4,8	30,6
7	B - T	5	188,0 ± 8,4	34,6
8	C - T	5	197,1 ± 3,5	41,1
9	M - T	5	219,9 ± 3,2	57,4
10	Max -T	5	189,8 ± 7,3	35,9



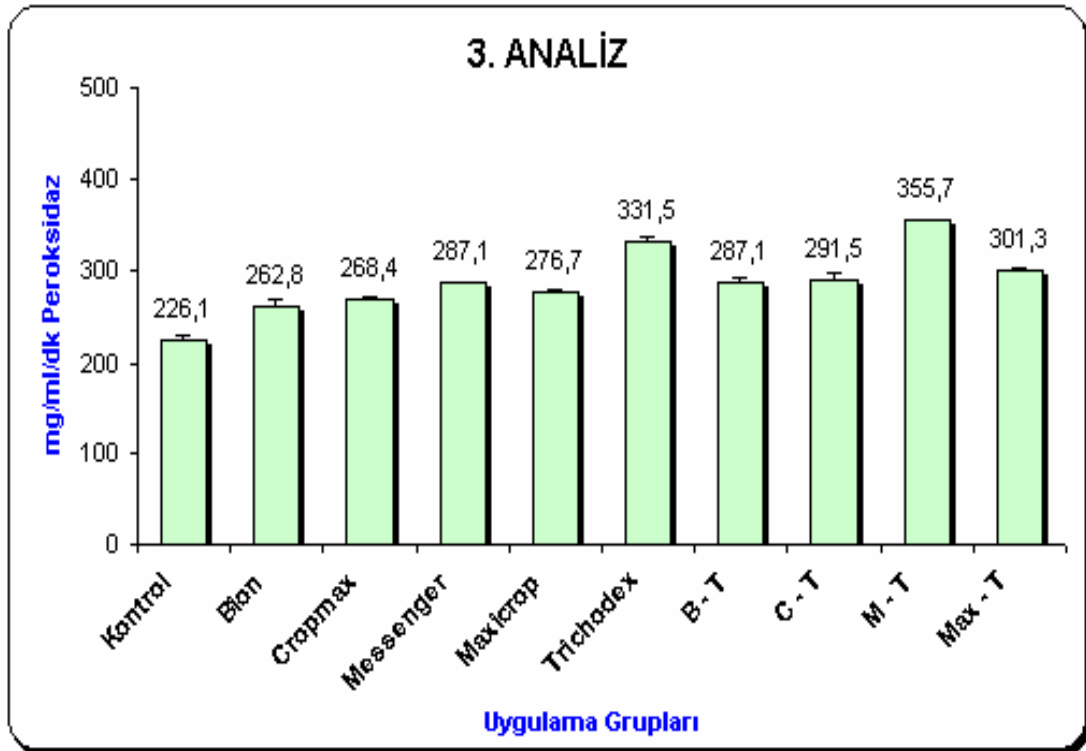
**Çizelge 3.8.** Peroksidaz Enzim Aktivitesi ve Yüzde Etkinlik (2. Analiz).

2. ANALİZ SONUÇLARI				
	Uygulama Grupları	n	Ort.±SS (mg/ml/dk Peroksidaz)	% Etki
1	Kontrol	5	178,1 ± 1,9	-
2	Bion	5	208,4 ± 2,9	17,0
3	Cropmax	5	221,8 ± 8,6	24,5
4	Messenger	5	242,5 ± 5,2	36,2
5	Maxicrop	5	205,1 ± 2,3	15,2
6	Trichodex	5	286,2 ± 3,2	60,7
7	B - T	5	311,6 ± 4,5	74,9
8	C - T	5	243,4 ± 2,5	36,7
9	M - T	5	313,7 ± 4,8	76,1
10	Max -T	5	216,1 ± 3,0	21,3



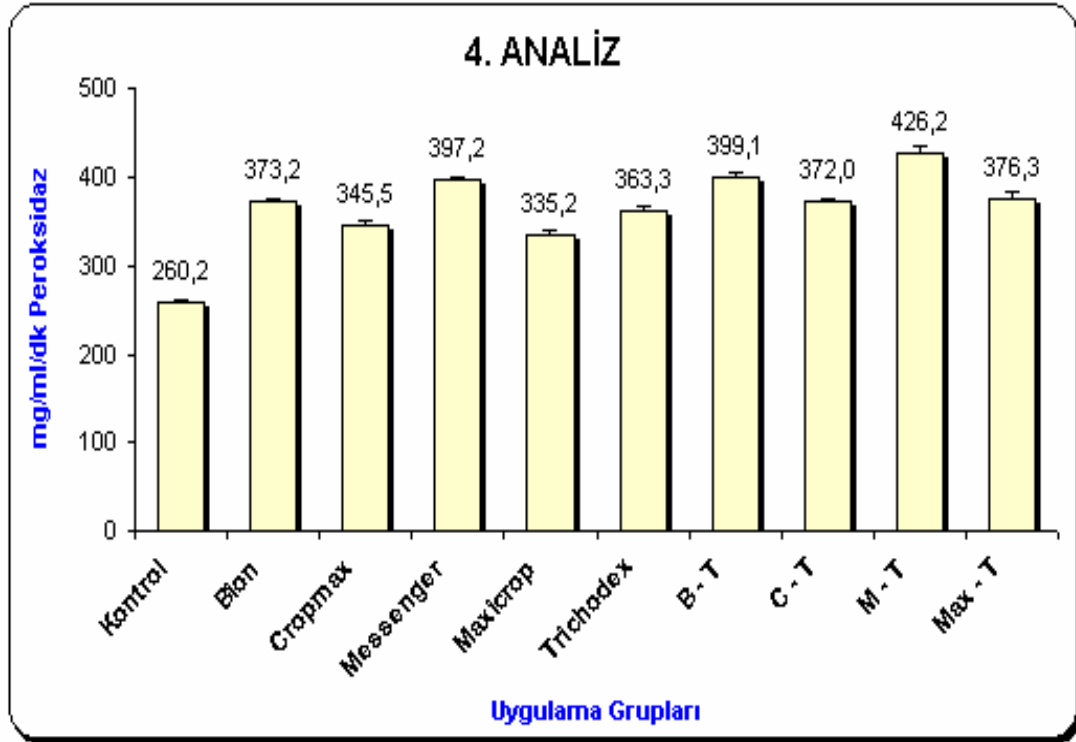
**Çizelge 3.9.** Peroksidaz Enzim Aktivitesi ve Yüzde Etkinlik (3. Analiz).

3. ANALİZ SONUÇLARI				
	Uygulama Grupları	n	Ort.±SS (mg/ml/dk Peroksidaz)	% Etki
1	Kontrol	5	226,1 ± 3,4	-
2	Bion	5	262,8 ± 8,1	16,2
3	Cropmax	5	268,4 ± 2,6	18,7
4	Messenger	5	287,1 ± 1,8	26,9
5	Maxicrop	5	276,7 ± 3,9	22,4
6	Trichodex	5	331,5 ± 5,4	46,6
7	B - T	5	287,1 ± 7,2	26,9
8	C - T	5	291,5 ± 6,3	28,9
9	M - T	5	355,7 ± 1,5	57,3
10	Max -T	5	301,3 ± 2,2	33,3

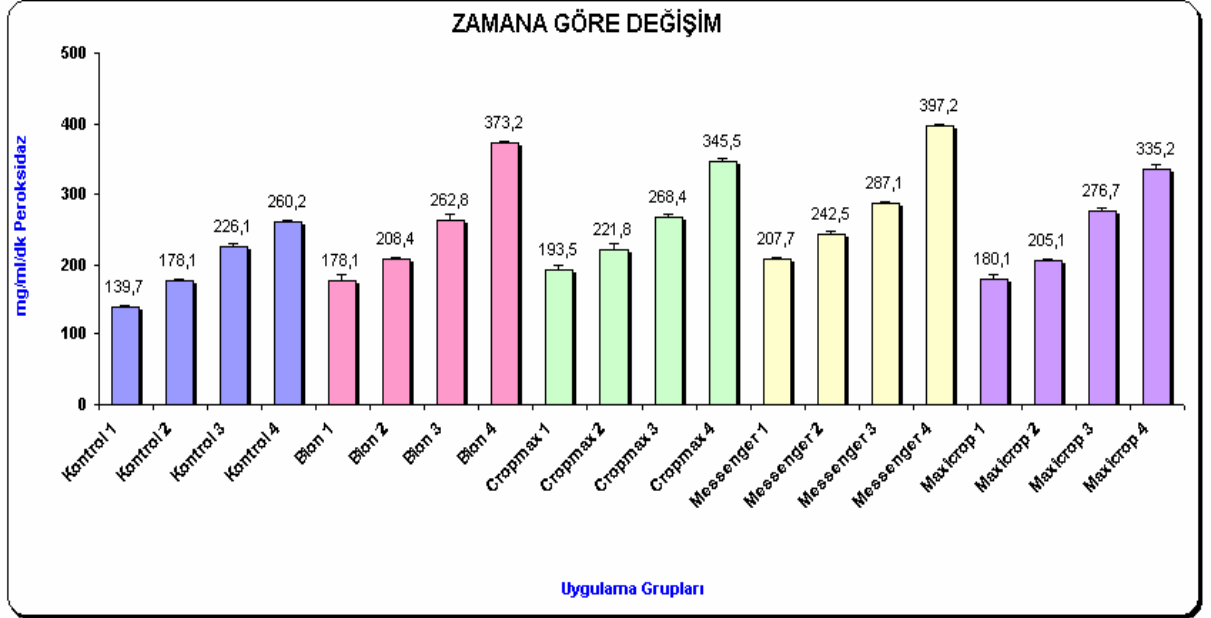


Çizelge 3.10. Peroksidaz Enzim Aktivitesi ve Yüzde Etkinlik (4. Analiz).

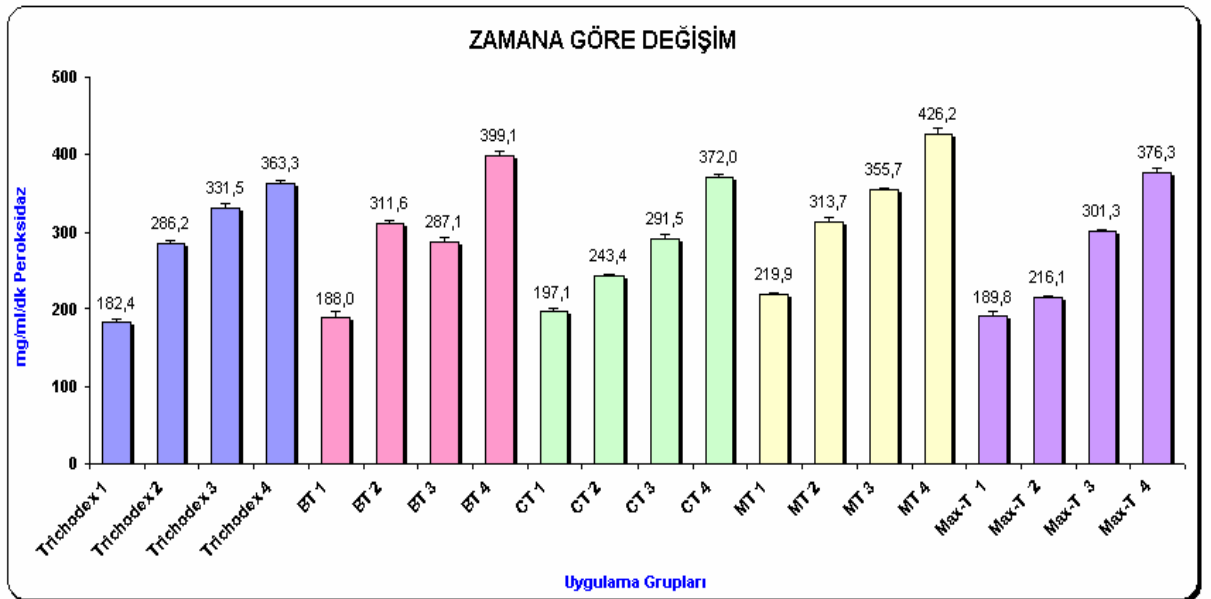
4. ANALİZ SONUÇLARI				
	Uygulama Grupları	n	Ort.±SS (mg/ml/dk Peroksidaz)	% Etki
1	Kontrol	5	260,2 ± 3,1	-
2	Bion	5	373,2 ± 2,0	43,4
3	Cropmax	5	345,5 ± 5,7	32,8
4	Messenger	5	397,2 ± 2,6	52,7
5	Maxicrop	5	335,2 ± 6,4	28,8
6	Trichodex	5	363,3 ± 4,4	39,6
7	B - T	5	399,1 ± 5,3	53,4
8	C - T	5	372,0 ± 2,5	42,9
9	M - T	5	426,2 ± 8,4	63,8
10	Max -T	5	376,3 ± 6,7	44,6



**Çizelge 3.11.** Uygulama Gruplarında Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Zamana Göre Değişim Grafiği (İlk 5 Grup).



**Çizelge 3.12.** Uygulama Gruplarında Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Zamana Göre Değişim Grafiği (Son 5 Grup).



### 3.3. Toprak Analizi ile İlgili Bulgular

#### 3.3.1. Toprak Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları

Toprak örneklerinde yapılan fiziksel analiz sonuçları Çizelge 3.13’ te, kimyasal analiz sonuçları Çizelge 3.14’ te verilmiştir.

**Çizelge 3.13.** Toprak Fiziksel Analiz Sonuçları.

<b>pH</b>	<b>Toplam Tuz (%)</b>	<b>Kireç (%)</b>	<b>Kum (%)</b>	<b>Mil (%)</b>	<b>Kil (%)</b>	<b>Bünye Sınıfı</b>
7.06	0.18	2.57	51.48	26.00	22.52	Tın

**Çizelge 3.14.** Toprak Kimyasal Analiz Sonuçları.

Organik Madde (%)	5.573	Alınabilir Na (ppm)	60
Toplam N (%)	0.25	Alınabilir Fe (ppm)	11.52
Alınabilir P (ppm)	31.10	Alınabilir Cu (ppm)	2.67
Alınabilir K (ppm)	790	Alınabilir Zn (ppm)	1.02
Alınabilir Ca (ppm)	4500	Alınabilir Mn (ppm)	24.51
Alınabilir Mg (ppm)	634		

## 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

### 4.1. Toprak Fiziksel Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

#### 4.1.1. pH

Toprak örneklerinin pH' ı Öztürk (1975) tarafından aşağıda verilen sınıflandırmaya göre değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeye göre çalışmamızdaki toprak örneği “Nötr” tepkimelidir.

<u>pH</u>	<u>Değerlendirme</u>
5.6 – 6.0	Orta asit
6.1 – 6.5	Zayıf asit
6.6 – 7.3	Nötr
7.4 – 7.8	Hafif alkali
7.9 – 8.4	Orta alkali

#### 4.1.2. Toplam Tuz

Toprakta bulunan çözünebilir toplam tuz miktarının belirlenmesi Tüzüner ve ark. (1990)' a göre yapılmıştır. Bu değerlendirmeye göre çalışmamızdaki toprak örneği “Hafif Tuzlu” dur.

<u>Toplam Tuz (%)</u>	<u>Değerlendirme</u>
0.0 – 0.15	Tuzsuz
0.15 – 0.35	Hafif tuzlu
0.35 – 0.65	Orta tuzlu
> 0.65	Çok tuzlu

#### 4.1.3. Kireç (CaCO<sub>3</sub>)

Güneş ve ark. (2000)' a göre topraklar içerdikleri kireç oranına göre aşağıdaki gibi değerlendirilir. Bu değerlendirmeye göre çalışmamızdaki toprak örneği “Kireçli” dir.

<u>CaCO<sub>3</sub></u>	<u>Değerlendirme</u>
0 -1	Az kireçli
1 – 5	Kireçli
5 -15	Orta kireçli



15 – 25	Fazla kireçli
> 25	Çok fazla kireçli

#### 4.1.4. Bünye

Toprak örneğimizin bünye incelemesinde “Tın” bünyeye sahip olduğu belirlenmiştir.

## 4.2. Toprak Kimyasal Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

### 4.2.1. Organik Madde

Toprak örneğinin organik madde miktarının değerlendirilmesi Güneş ve ark. (2000)’ a göre yapılmıştır. Bu değerlendirmeye göre çalışmamızdaki toprak örneği “Yüksek” derecede organik madde içermektedir.

<b><u>Organik Madde (%)</u></b>	<b><u>Değerlendirme</u></b>
0 -1	Çok az
1 – 2	Az
2 – 3	Orta
3 – 4	İyi
> 4	Yüksek

### 4.2.2. Toplam Azot (N)

Toprak örneğinin azot içeriğinin değerlendirilmesi Kovancı (1969)’ ya göre yapılmıştır. Bu değerlendirmeye göre çalışmamızdaki toprak örneği azot bakımından “Zengin” dir.

<b><u>Total N (%)</u></b>	<b><u>Değerlendirme</u></b>
< 0.05	Fakir
0.05 – 0.10	Orta
0.10 – 0.15	İyi
> 0.15	Zengin

#### 4.2.3. Alınabilir Fosfor (P)

Alınabilir fosfor içeriklerine göre toprakların sınıflandırılması Bingham (1949)' a göre yapılmıştır.

<u>Alınabilir P (ppm)</u>	<u>Değerlendirme</u>
< 1.30	Fakir
1.30 – 3.26	Orta
> 3.26	İyi

Bu değerlendirmeye göre çalışmamızdaki toprak örneği alınabilir fosfor bakımından “Çok iyi” dir.

#### 4.2.4. Alınabilir Potasyum (K)

Alınabilir potasyum içeriklerine göre toprakların sınıflandırılması İrget (1995)' e göre yapılmıştır. Bu değerlendirmeye göre çalışmamızdaki toprak örneğinin alınabilir potasyum içeriği “Çok yüksek” tir.

<u>Alınabilir K (ppm)</u>	<u>Değerlendirme</u>
< 150	Noksan
150 – 200	Düşük
200 – 300	Yeterli
300 – 400	Yüksek
> 400	Çok yüksek

#### 4.2.5. Alınabilir Kalsiyum (Ca)

İrget (1995)' e göre topraklarda alınabilir kalsiyum miktarlarına bakılarak yapılan sınıflandırma şöyledir:

<u>Alınabilir Ca (ppm)</u>	<u>Değerlendirme</u>
< 714	Çok fakir
715 – 1430	Fakir
1431 – 2860	Orta
> 2860	İyi

Bu değerlendirmeye göre çalışmamızdaki toprak örneğinin alınabilir kalsiyum içeriği “Çok yüksek” tir.

#### 4.2.6. Alınabilir Magnezyum (Mg)

İrget (1995)' e göre topraklarda alınabilir magnezyum miktarlarına bakılarak yapılan sınıflandırma şöyledir:

<u>Alınabilir Mg (ppm)</u>	<u>Değerlendirme</u>
< 54	Fakir
54 – 114	Orta
> 114	İyi

Analiz sonuçlarına göre çalışmamızdaki toprak örneği alınabilir magnezyum bakımından “Çok iyi” dir.

#### 4.2.7. Alınabilir Demir (Fe)

İrget (1995) alınabilir demir oranlarına bakarak toprakları 3 ana grupta toplamaktadır:

<u>Alınabilir Fe (ppm)</u>	<u>Değerlendirme</u>
0 – 2.5	Yetersiz
2.5 – 4.5	Orta
> 4.5	İyi

Bu değerlendirmeye göre çalışmamızdaki toprak örneği alınabilir demir bakımından “Çok iyi” dir.

#### 4.2.8. Alınabilir Bakır (Cu)

Topraktaki alınabilir bakır miktarına bağlı olarak Lindsay ve Norvell (1978) tarafından topraklar 2 grupta değerlendirilmektedir:

<u>Alınabilir Cu (ppm)</u>	<u>Değerlendirme</u>
< 0.2	Yetersiz
> 0.2	Yeterli

Bu değerlendirmeye göre çalışmamızdaki toprak örneği alınabilir bakır bakımından “Yeterli” dir.

#### 4.2.9. Alınabilir Çinko (Zn)

İrget (1995)' e göre topraklarda alınabilir çinko miktarlarına bakılarak yapılan sınıflandırma şöyledir:

<u>Alınabilir Zn (ppm)</u>	<u>Değerlendirme</u>
< 0.5	Noksan
0.5 – 1	Kritik
> 1	İyi

Bu değerlendirmeye göre çalışmamızdaki toprak örneği alınabilir çinko bakımından “İyi” dir.

#### 4.2.10. Alınabilir Mangan (Mn)

İrget (1995)' e göre topraklarda alınabilir mangan miktarlarına bakılarak yapılan sınıflandırma şöyledir:

<u>Alınabilir Mn (ppm)</u>	<u>Değerlendirme</u>
< 1	Noksan
1 – 3	Kritik
> 3	Yeterli

Bu değerlendirmeye göre çalışmamızdaki toprak örneği alınabilir mangan bakımından “Yeterli” dir.

Toprak örneğinde yapılan tüm analiz sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, bitkilerin yetiştirildiği lokalitede, arazinin domates yetiştirmeye uygun olduğu tespit edilmiştir.

### 4.3. TOTAL PROTEİN VE PEROKSİDAZ ENZİM ANALİZ SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Günümüze dek tarımsal üretimde bitki hastalıklarına karşı 6 ana korunma yöntemi kullanılmaktaydı. Bunlar, dayanıklı çeşit, doğru gübreleme ve uygun yetiştirme tekniklerinin seçimi gibi kültürel ve biyolojik yöntemler ve fungusitlerin kullanılmasıyla hastalıkların önlenmesiydi. Bitki korumada yeni bir yaklaşım ise bitki aktivatörleri ile ekimden hasata kadar bitki sağlığının aktif hale getirilmesidir (Imoto ve Yagishata, 1971; Karman, 1971; Agrios, 1997). Patojenler bitkiye saldırdığı zaman, bitki, hücre duvarı ve mum tabakasının varlığı gibi ya önceden oluşmuş engeller yoluyla, ya infeksiyon bölgesinde hızlı hücre ölümleri ile sınırlanmış savunma bölgesi

oluşturarak ya da “Sistemik Uyarılmış Dayanıklılık” (SAR) savunma mekanizması ile karşı koymak durumundadır (Tosun ve ark., 2001).

Doğada oluşan bu sistemi iyileştirmek ve pratiğe aktarmak için geliştirilen bitki aktivatörleri, bitkideki doğal savunma mekanizması SAR’ ı aktive ederek bitkiye korunması için yardımcı olmaktadır. Bitki korumada devrim niteliğindeki bitki aktivatörleri sadece yeni bir etki mekanizması ile yeni bir kimyasal değil aynı zamanda yeni bir teknolojidir ve tarımsal savaşımında halen kullanılmakta olan yöntemlere tamamlayıcı olarak rol oynamaktadır. Bitki aktivatörlerinin eşsiz özelliklerinden birisi ise herhangi bir koruyucu kimyasal ile kontrol edilemeyen ve birbiriyle ilişkisi olmayan patosistemlerde çalışmasıdır (Tosun ve ark., 2001).

Son yıllarda bitkilerin yapraklarına doğal bileşikler püskürtülerek veya enjeksiyon yolu ile bitkilerin bünyesine verilerek bitki hastalıklarıyla integre savaşım anlayışı içerisinde bitki aktivatörlerinin kullanılması, tüm dünyada araştırmalarda önemli bir yer tutmakta ve bu yöntemler sonucunda başarılı sonuçlar alınmaktadır (Benhamou, 1996).

Sistemik olarak aktive edilmiş dayanıklılığın ortaya çıkmasında bazı hastalık oluşumu ile ilgili proteinlerin (PR) birikimi, domates, salatalık, tütün gibi dikotil bitkilerde çeşitli biyokimyasal çalışmalarla saptanmıştır. Bu PR proteinleri hücreler arasında, örneğin patojenin hücreye saldırmadan önce gelişme eğilimi olan alanlarda hakim olarak birikirler. Bazı PR proteinleri fungal veya bakteriyel hücre duvarını bozabilen enzimler olan  $\beta$ -1,3 glukanazlar ve kitinazlar olarak karakterize edilmişlerdir (Aiba, 1992; Hirano ve Nagano, 1998).

Etkili olmakla birlikte doğal olarak uyarılmış SAR, tarla koşullarında bazı önemli olumsuzluklara sahiptir. Bunlardan ilki, SAR’ dan önce gelişen hastalık devam eder ve ilk zarar oluşur. İkinci dezavantaj ise, doğal SAR tarlada uniform olarak değil çok az oluşur. Bitki aktivatörleri ise doğru uygulama zamanları ile beklenen hastalık gelişiminden önce bitki savunmasını aktive etmekte, sadece tek bitkiyi değil tüm tarlayı aktive etmekte, değişik ürünlerde birçok patojene karşı uzun süreli koruma sağlamaktadır (Tosun ve ark., 2001).

Bitki aktivatörü bitki savunma mekanizmasını aktif hale getirdiğinde, bitki patojen saldırılarına karşı başarılı bir biçimde korunmaya başlar. Ancak fungus ve bakterilere karşı doğrudan etkisi yoktur. Uygulama zamanı çok önem taşımaktadır. Bitki aktivatörleri kullanıldıktan yaklaşık 7 gün sonra tüm savunma mekanizması tam

olarak aktive olmaktadır. Bitki aktivatörleri sadece korunma sağladığı ve varolan infeksiyonları kontrol edemediği için, mutlaka hastalık oluşmadan önce uygulanması gerekmektedir. Bitki aktivatörlerini uygulama penceresinin dışında kullanmak da zayıf bir koruma sağlayacaktır (Anonymous, 1997).

Messenger fungal, bakteriyel ve viral hastalıklara karşı geniş spektrumlu koruma sağlamaktadır. Domateste bakteriyel leke, bakteriyel benek, *Fusarium* solgunluğu, *Phytophthora* kök çürüklüğü, elmada karaleke (*Venturia inaequalis*), ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora*), tütün mozaik virüsü, kök ur nematodu (*Meloidogyne spp.*) bu hastalıklara örnek olarak verilebilir (Anonymous, 2000b). Messenger sebzeler, meyveler, ağaçlar gibi geniş ürün gruplarında kullanılmaktadır.

Messenger' in çeşitli ürünler üzerindeki tarla denemeleri, zararlı yönetimi ve bitki büyümesinin teşvikinde çeşitli yararlar göstermiştir. Örneğin 1999 ve 2000' de küçük arsa denemeleri, tekrarlı denemeler ve geniş blok demonstrasyonlarında, sırik domateslerine Messenger' in erken mevsim uygulamaları, Domates bakteriyel benek hastalığı (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) ve Domates bakteriyel leke hastalığı (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) gibi hastalıkların kontrolünü iyileştirmiştir. Messenger' in erken uygulamaları, standart hastalık mücadele yöntemleriyle karşılaştırıldığında 3 haftadan 4 haftaya kadar olabilen süreyle domates bakteriyel leke hastalığının başlamasını geciktirmiştir. Domateslerde Messenger uygulaması, ürün veriminde artış sağlamıştır (Kropp ve ark., 2001).

1999'da Florida' da portakal, greylort ve mandalina bahçelerinde yürütölen tarla denemelerinin geniş bir serisinde Messenger uygulamaları hastalık yönetimini etkilemiştir. Messengerle muamele görmüş *Citrus* (Turunçgil) ağaçlarında, *Alternaria citri*, *Elsinoe fawcetti* ve *Alternaria* kahverengi benek infeksiyonları azalmıştır. Turunçgillerde Messenger uygulamasını takiben büyüme artırıcı etkiler gözlenmiştir: erken ve daha taze yapraklar, daha uniform meyve seti, erken olgunlaşma, ürün miktarında artış, daha geniş meyve çapı, daha yüksek meyve ağırlığı gibi (Kropp ve ark., 2001).

1997-1999 yıllarında Kuzey Florida Araştırma ve Eğitim Merkezinde küçük arsa denemeleri ve geniş blok demonstrasyonları yürütölmüştür. Wright ve araştırma arkadaşları, pamuğa Messenger uygulamasının ürün artışı sağladığını söylemiştir. Bu denemelerden elde edilen bulgular Beltwide Pamuk Konferansında rapor edilmiştir (Kropp ve ark., 2001).

EDEN Bioscience 1997' den günümüze kadar çilekler üzerinde 36 tarla denemesi gerçekleştirmiştir. Tarla çalışmalarının bu serileri, tarla koşullarında hastalık redüksiyonu ve ürün artışı için Messenger' in etkililiğini istatistiksel olarak değerlendirmek ve optimum uygulama zamanı ve miktarını belirlemek için Amerika Birleşik Devletleri' nde gerçekleştirilmiştir. İlk deneyler California' da ticari çilekler üzerinde ciddi bir patojen olan *Botrytis cinerea*' nın kontrolünde Messenger' in etkililiğini göstermek için yapılmıştır. Çalışmalar göstermiştir ki; tarla koşullarında Messenger uygulaması, bir standart yetiştirici programında kullanılan güncel kimyasal ilaçlar kadar ya da daha iyi bir şekilde hastalık redüksiyonu sağlamaktadır. Messenger, küçük aralarda kullanıldığında standart fungusit uygulamalarından ortalama % 52 daha iyi bir hastalık redüksiyonu sağlarken , muamele edilmemiş kontrol grubundan ortalama % 67 daha iyi bir hastalık redüksiyonu sağlamıştır. Messenger, total ürün üzerine pozitif bir etkiye sahiptir ve standart yetiştirici uygulamalarından daha kaliteli pazarlanabilir ürünler üretilmesini sağlar.

Messenger, IPM programının bir parçası olarak kullanıldığında, yetiştiricilerin kimyasal girdilerinin miktarını % 90' a kadar azaltır (Kropp ve ark., 2001). Messenger, IPM programlarında domateste kullanılmış ve sonuç olarak klasik fungusitlerin ve insektisitlerin kullanımı % 70 oranında azalmıştır. (Anonymous, 2000a).

Yapılan çalışmalar Messenger' in çevre için kalıntı sorununa yol açmadığını göstermiştir. Uygulamadan sonra Messenger toprak ve bitki mikroorganizmaları ve güneş ışığı sayesinde hızla bozulmakta, ayrıca düşük uygulama dozu nedeniyle kalıntı riski taşımamaktadır. Düşük toksisite ve kalıntı azlığı nedeniyle harpin proteinleri, yıllardır kullanılan fungusitlere karşı alternatif olarak tercih edilmektedir. Yıllardır harpin'in üretimi ve uygulaması ile uğraşan araştırmacılar ve işçilerde bu proteinden kaynaklanan zehirlenme veya allerjik belirti meydana gelmemiştir (Anonymous, 2000a). Messenger'in hiçbir kanserojenik etkisi yoktur, tahriş edici değildir ve doğaya karışan toksik kimyasalların miktarını azaltır. Çevresel olarak güvenli Messenger gibi ürünlerin kullanımı konusunda yetiştiricilerde olumlu bir anlayış oluşturulabilir (Kropp ve ark., 2001).

Ülkemizde de bitki aktivatörleri ile ilgi araştırmalar yapılmaktadır. Patates tarımında bitki aktivatörlerinin etkisini araştırmak amacıyla 2 bitki aktivatörünün (Crop-Set ve ISR-2000) 2 farklı dozu tarla koşullarında denenmiştir. Bitkilerin çiçeklenme döneminde bir gruba normal doz (60 ml/da Crop-Set ve 30 ml/da ISR-2000) diğer gruba

ise yüksek doz (120 ml/da Crop-Set ve 60 ml/da ISR-2000) uygulaması yapılmıştır. Çalışmada parsel verimi, bitki boyu, yaprak sayısı, yaprak eni, yaprak boyu ve yumru boyutları ölçülmüştür. Bu özellikler için en yüksek ortalamaları normal doz vermiştir. Normal dozda parsel verimi % 26, yüksek dozda % 8 artış göstermiştir. Normal dozda bitki boyu % 16, yaprak sayısı % 33 artmıştır (Koca, 2003).

Karavaş (2002) tarafından fungusit, bitki aktivatörü ve bitki stimulantının biberin anatomik ve morfolojik özellikleri üzerine etkileri ile ilgili bir araştırma yapılmıştır. Bu çalışmada fungusit olarak Quadris, bitki stimulantı olarak Crop-Set ve bitki aktivatörü olarak ISR-2000 önerilen dozlarda uygulanmıştır. Anatomik ve morfolojik yapıya olan etkiler incelendiğinde gruplar arası en belirgin farklılık yapraklarda gözlenmiştir. Klorofil a, klorofil b, karotenoid ve stoma indeksleri yönünden kontrol grubuna göre uygulama gruplarının hepsinde belirgin bir artış olmakla beraber en fazla artış ISR-2000' de saptanmıştır. Her iki hasat sonunda hastaliksız meyve sayısı ve ağırlığı açısından tüm uygulama gruplarında kontrole göre az ya da çok artış olduğu belirlenmiştir. Hastaliksız meyve sayısı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Quadris grubunda % 13, ISR-2000' de % 89,4 ve Crop-Set' te % 75,8' lik bir artış elde edilmiş, hastaliksız meyve ağırlığı açısından Quadris' te % 12,6 , ISR-2000' de % 104 ve Crop-Set' te % 74' lük bir artış saptanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda bitki stimulant ve aktivatörlerinin biber yetiştiriciliğinde gerek pazarlanabilen miktar ve kalitesi, gerekse sağlıklı bitki açısından önemli yarar sağlayacağı kanısına varılmıştır (Karavaş, 2002).

Yine ülkemizde yapılan bir çalışmada, seralarda biber yetiştiriciliğinde verimi doğrudan etkileyen bitki hastalıklarına karşı yoğun olarak kullanılan bir fungusit (Mancozeb) in tek başına ve bitki aktivatörü ve stimulantı ile birlikte kullanılmasının toprak özellikleri ve meyve kalitesi gibi kriterler üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada Mancozeb tek başına ve Humiforte N-6 +Mancozeb ile Cropmax + Mancozeb kombinasyonları halinde denenmiştir. Hasat sonunda alınan toprak ve biber meyvesi örneklerinde fiziksel ve kimyasal analizlerin yanı sıra meyve kalitesi ölçümleri de yapılmıştır. Ayrıca toprak örneklerinde kalıntı analizi ile toprakta fungusit kalıntısı araştırılmıştır. Sonuçta, gerek fungusitlerin bitkiye daha iyi penetrasyonu ile topraktaki kalıntı miktarının azaltılması, gerekse verim ve kalitenin iyileştirilmesi için bitki aktivatörleri ile fungusitlerin birlikte kullanılmasının ümit verici olduğu sonucuna varılmıştır (Topal, 2003).



Bitki aktivatörlerinin kullanıldığı bağ, patates, mısır gibi diğer ürünler ile ilgili araştırmalar halen Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünde devam etmektedir. Bununla beraber, bölümümüzde bitki aktivatörlerinin domates bitkisinin total protein ve enzim aktiviteleri üzerine etkileri ile ilgili açık arazi çalışmaları sonuçlanmış olup çeşitli bitki aktivatörlerinin ekonomik öneme sahip diğer bitkiler üzerindeki etkileri de laboratuvar ve açık arazi koşullarında incelenecektir.

Çalışmamızda, bazı bitki aktivatörleri ile biyokontrol ajanı (biyolojik fungusit) olan Trichodex' in farklı kombinasyonları denenmiştir. Böylece, pestisitlerin düşük dozlarının bitki aktivatörleri ile birlikte kullanılmasıyla, bitki hastalıklarının kontrolünde etkinliğin artırılması sağlanmaya çalışılmıştır. Bu uygulamalar sonucunda bitki savunma sisteminde oluşabilecek enzimatik stimülasyonların saptanması yoluna gidilmiştir. Böylece, elde edilen veriler yardımıyla tarla koşullarında hastalıklara karşı en etkili korumayı sağlayacak uygulama ve kombinasyonlar belirlenmeye çalışılmıştır. Denemede elde edilen bilgiler aracılığıyla, bitkinin bağışıklık sisteminin uyarılmasında daha etkili olan bitki aktivatörü ve kombinasyonlarının tespit edilmesi, bu kombinasyonların çiftçi koşullarında da kullanılmasına ışık tutacaktır.

Bu çalışmada seçilen preparat kombinasyonu ve uygulama zamanına bağlı kalınarak 4 kez ilaçlama yapılmıştır. İlk doz bitkilerin yapraklarına püskürtüldükten sonra takip eden 3 doz 15'er gün ara ile püskürtülmüştür.

İlk analiz örnekleri 1. preparat uygulamasından 7 gün sonra alınmıştır. Takibeden örneklemeler 15' er gün ara ile yani ilaçlamalardan 7' şer gün sonra yapılmıştır. Örneklerin alındığı tarihler aşağıda verilmiştir

1. Örneklem	(1. ANALİZ)	14 Temmuz 2003
2. Örneklem	(2. ANALİZ)	28 Temmuz 2003
3. Örneklem	(3. ANALİZ)	11 Ağustos 2003
4. Örneklem	(4. ANALİZ)	25 Ağustos 2003

Elde edilen bulgular tartışılırken öncelikle 4 farklı tarihte gerçekleştirilen 4 farklı analiz için değerlendirme yapılacaktır. Daha sonra ise zamana göre meydana gelen değişimler ayrıca incelenecektir.

### 4.3.1. TOTAL PROTEİN

#### 1. Analiz

Kontrol grubuna göre total protein miktarındaki % değişimler sırasıyla şöyledir: Cropmax-Trichodex (% 23,5), Bion (% 44,1), Cropmax (% 55,8), Messenger (% 76,4), Maxicrop-Trichodex (% 94,1), Maxicrop (% 97), Bion-Trichodex (% 100), Trichodex (% 117,6), Messenger-Trichodex (% 123,5).

#### 2. Analiz

Kontrol grubuna göre total protein miktarındaki % değişimler sırasıyla şöyledir: Cropmax (% 16,1), Cropmax-Trichodex (% 16,1), Bion (% 48,3), Messenger-Trichodex (% 48,3), Messenger (% 54,8), Maxicrop-Trichodex (% 70,9), Trichodex (% 83,8), Bion-Trichodex (% 90,3), Maxicrop (% 103,2).

#### 3. Analiz

Kontrol grubuna göre total protein miktarındaki % değişimler sırasıyla şöyledir: Cropmax-Trichodex (% 11,4), Maxicrop-Trichodex (% 31,4 ), Maxicrop (% 51,4), Bion-Trichodex (% 54,2 ), Cropmax (% 54,2), Messenger-Trichodex (% 60), Trichodex (% 62,8), Messenger (% 85,7 ), Bion (% 97,1 ).

#### 4. Analiz

Kontrol grubuna göre total protein miktarındaki % değişimler sırasıyla şöyledir: Maxicrop-Trichodex (% 5,1), Trichodex (% 20,5), Maxicrop (% 25,6), Bion-Trichodex (% 33,3), Cropmax-Trichodex (% 38,4), Bion (% 41), Messenger-Trichodex (% 76,9), Cropmax (% 94,8), Messenger (% 117,9).

### 4.3.2. PEROKSİDAZ

*Lycopersicon esculentum* Mill.' e uyguladığımız preparatların savunma tepkisinin bir göstergesi olarak peroksidaz enziminin aktivitesi üzerindeki etkileri 4 farklı analiz döneminde kontrol grubuna oranla değerlendirilmiştir. Tüm gruptaki analiz sonuçları ve değişimler Bulgular bölümündeki grafiklerden izlenebilir.

### **1. Analiz**

Kontrol grubuna göre peroksidaz enzim aktivitesindeki % değişimler sırasıyla şöyledir: Bion (%27,5), Maxicrop (%28,9), Trichodex (%30,6), Bion-Trichodex (%34,6), Maxicrop-Trichodex (% 35,9), Cropmax (%38,5), Cropmax-Trichodex (%41,1), Messenger ( % 48,7), Messenger-Trichodex (%57,4).

1. analizde preparat uygulaması yapılan bitkilerde kontrol bitkilerine oranla peroksidaz aktivitesindeki en büyük artış % 57,4 ile Messenger-Trichodex kombinasyonunda görülürken, en küçük artış ise % 27,5 ile Bion' da tesbit edilmiştir.

### **2. Analiz**

Kontrol grubuna göre peroksidaz enzim aktivitesindeki % değişimler sırasıyla şöyledir: Maxicrop (%15,2), Bion (%17,0), Maxicrop-Trichodex (% 21,3), Cropmax (%24,5), Messenger ( % 36,2), Cropmax-Trichodex (%36,7), Trichodex (%60,7), Bion-Trichodex (%74,9), Messenger-Trichodex (%76,1).

2. analizde uygulama yapılan bitkilerde kontrol bitkilerine oranla peroksidaz aktivitesindeki en büyük artış % 76,1 ile Messenger-Trichodex kombinasyonunda görülürken, en küçük artış ise % 15,2 ile Maxicrop' ta tesbit edilmiştir. Ayrıca Messenger ( % 36,2) ve Cropmax-Trichodex kombinasyonundaki (%36,7) değişim birbirine çok yakın bulunmuştur.

### **3. Analiz**

Kontrol grubuna göre peroksidaz enzim aktivitesindeki % değişimler sırasıyla şöyledir: Bion (%16,2), Cropmax (%18,7), Maxicrop (%22,4), Messenger ( % 26,9), Bion-Trichodex (%26,9), Cropmax-Trichodex (%28,9), Maxicrop-Trichodex (% 33,3), Trichodex (%46,6), Messenger-Trichodex (%57,3).

3. analizde kontrol bitkilerine oranla peroksidaz aktivitesindeki en büyük artış % 57,1 ile Messenger-Trichodex kombinasyonunda görülürken, en küçük artış ise % 16,2 ile Bion' da tesbit edilmiştir. Messenger ( % 26,9)'da ve Bion-Trichodex kombinasyonundaki (%26,9) değişimlerin ise aynı olduğu belirlenmiştir.

### **4. Analiz**

Kontrol grubuna göre peroksidaz enzim aktivitesindeki % değişimler sırasıyla şöyledir: Maxicrop (%28,8), Cropmax (%32,8), Trichodex (%39,6), Cropmax-

Trichodex (%42,9), Bion (%43,4), Maxicrop-Trichodex (% 44,6), Messenger ( % 52,7), Bion-Trichodex (%53,4), Messenger-Trichodex (%63,8).

4. analizde kontrol bitkilerine oranla peroksidaz aktivitesindeki en büyük artış % 63,8 ile yine Messenger-Trichodex kombinasyonunda görülürken, en küçük artış ise % 28,8 ile Maxicrop' ta tesbit edilmiştir.

Bu bilgiler ışığında, 4 farklı analiz döneminde preparat uygulaması yapılan tüm bitkilerde kontrol grubuna oranla artış olduğu belirlenmiştir.

Yukarıdaki verilerden de açıkça görüldüğü gibi bitkilere, bitki aktivatörü ve biyolojik fungusit birlikte kombinasyon halinde uygulandığında, bitkinin bağışıklık sistemindeki öncül savunma enzimlerinden biri olan peroksidaz enzim aktivitesinde önemli artışlar meydana gelmektedir. 4 farklı zamanda yapılan analizlerin tümünde en büyük artışı sağlayan kombinasyonun **Messenger-Trichodex** kombinasyonu olduğu bulunmuştur.

Ayrıca tüm gruplarda, grupların kendi içerisinde zamana bağlı olarak nasıl değişimler meydana geldiği de incelenmiş ve bulgular grafiksel olarak ifade edilmiştir. Bion-Trichodex kombinasyonu hariç tüm uygulama gruplarında zamana bağlı olarak doğrusal bir artış grafiği elde edilmiştir. Bion-Trichodex kombinasyonunda ise öncelikle 2. analizde 1. analize göre % 65,74' lük bir artış olduğu görülmüş, 3. analizde ise 2. analize oranla % 7,8' lik bir azalma gözlenmiştir. Daha sonra 4. analizde 3. analize oranla yine % 39' luk bir artış olduğu belirlenmiştir.

1. ve 4 . analizler arasındaki değişim yüzdeleri sırasıyla; Kontrol grubunda % 86,25, Bion'da % 109,54, Cropmax' ta % 78,55, Messenger' da % 91,23, Maxicrop' ta % 86,11, Trichodex' te % 99,17, Bion-Trichodex' te % 112,28, Cropmax-Trichodex' te % 88,73, Messenger-Trichodex' te % 93,81 ve Maxicrop-Trichodex' te % 98,26 olarak hesaplanmıştır.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar topluca değerlendirildiğinde, bitki aktivatörlerinin, bitkinin savunma sistemini uyardığını ve aktivatörlerin fungusitler ile karışım halinde veya dönüşümlü olarak uygulanmaları durumunda etki yüzdelerinin arttığını ve muhtemelen etki sürelerinin de uzayabileceğini söyleyebiliriz.

Elde edilen sonuçlar literatür bilgisi ile uyum içerisindedir. Peroksidaz aktivitesi ve hastalık direnci arasında bir ilişki olduğu pek çok araştırmacı tarafından bulunmuştur (Fehrmann ve Diamond, 1967; Maxwell ve Bateman, 1967; Maraite, 1973; Uritani, 1976; Hammerschmidt ve ark., 1982).

Reuveni ve Ferreira (1985) *Lycopersicon esculentum*' un *Verticillium dahliae*' ye rezistansı ve peroksidaz aktivitesi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Peroksidaz enzim aktivitesi *V. dahliae* ile infeksiyondan sonra hassas ve dirençli bitkilerin her ikisinde de kök, gövde ve yapraklarda artmıştır.

Ülkemizde sonuçlanan bir araştırmada, domatesin önemli fungal ve bakteriyel hastalıklarının kontrolünde antimikrobiyal bileşikler, bitki aktivatörleri ve biostimulantların etkileri incelenmiş ve hastalık kontrolünde ümitvar sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada biyokontrol ajanı olan Trichodex, bir bitki situmulanı olan Crop-Set ve bir fungusit olan Switch ile iyi bir sinerjistik etki göstermiştir. Uygulama grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında peroksidaz enzim aktivitesinde artış meydana gelirken, ortalama leke sayısında ise düşüş olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, uygun fungusitler ile SAR uyarıcılarının kombine uygulamaları sonucunda karşılaştırılabilir etkililiğin pratikte kabul edilebilirliğini ve uygulanabilirliğini göstermektedir (Tosun ve ark., 2001).

Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular, Topal (2003)' ın çalışmasında, bitki aktivatörlerinin fungusitlerin bitkiye daha fazla penetrasyonunu sağlayarak topraktaki kalıntı miktarını azalttığı ve ürün verim ve kalitesini iyileştirmedeki sinerjistik etkileri nedeniyle bitki aktivatörleri ile fungusitlerin birlikte kullanılmalarının ümit verici olduğu yönündeki tespitleri ile uyum göstermektedir.

Akı ve Türkan tarafından yapılan çalışmada, kabak (*Cucurbita pepo* L.) ve fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.)'de kitosan uygulamasının peroksidaz enzim aktivitesini arttırdığı tesbit edilmiştir (Akı ve Türkan, 2000).

Bitki aktivatörleri kesinlikle bir fungusit değildir, bitki gelişim düzenleyicisi de değildir. Bitki hastalıklarının kimyasal savaşımında bitki aktivatörlerinin patojenlere direkt olarak etkisi yoktur, fungusitlere tamamlayıcı bir rol oynarlar. Bitki aktivatörleri tarafından uyarılan bitki dayanıklılığı düşük hastalık şiddetlerinde pestisit kullanımından kaçınmak için yeterli olabilir, ancak hastalık şiddeti yüksek ise, pestisitlerin yerini tutamaz. Bu nedenle, en iyi sonuç hastalık yok iken ya da henüz başlangıç evresinde iken erken dönemde bitki aktivatörleri uygulaması ve bunu ardışıklı olarak uygun bir fungusit uygulamasının izlemesi ile elde edilmektedir. Bu şekilde, bitki aktivatörleri ile başlanan ilaçlamada tarladaki tüm bitkiler kökten yeni gelişecek organlar dahil olmak üzere uyarılır, fungusit uygulaması ile de direkt olarak tamamlayıcı bir savaşım yapılmış olur.

Günümüzde konukçu-patojen arasındaki ilişkilerin ilk basamağı olan tanışma olgusu açıklığa kavuşmaktadır. Bu bilgilerin elde edilmesiyle birlikte bu alanlarda faaliyet gösteren büyük firmalarda, özellikle dayanıklılık ıslahı yapan tohum şirketlerinde, pestisid üretiminde bulunan dev dünya şirketlerinde de bu konularda kıpırdanma görülmektedir. Zira bulunan dayanıklılık genlerinin patentleri bu firmalar tarafından elde edilmekte ve kendi programlarına kazandırılmaktadır. Suni olarak üretilen bir *avr* gen ürünü, bu molekülü tanıyan bitkiler üzerine püskürtüldüğünde buradaki savunma sistemini aktif hale getirerek bitkiyi önceden dayanıklı kılabilir. Bu şekilde çevre kirlenmesini azaltacak, klasik pestisidlere alternatif teşkil edebilecek, bitkilerde genetik manipulasyona da gerek duymadan bir mücadele yöntemi ortaya çıkmaktadır ki bu da biyoteknik savaş içerisinde yerini alacaktır (Tör, 1998).

Klasik kimyasal pestisitlere olan bağılılığı azaltmak ve yüksek patojen baskısı altında hastalık kontrolünde yetersiz bir rezistansa sahip ve yüksek ürün verimi olan bitkilerin kullanımını arttırmak için ISR ajanlarının kullanımı üzerine daha ileri araştırmalara gerek vardır. ISR gittikçe IPM içine dahil edilmelidir. Bitki hastalıklarının kontrolü için gen ekspresyonu, sinyal transdüksiyonu, reseptörler ve sinyaller hakkındaki bilgilerin daha hızlı olarak ortaya konulmasına ve bu bilgilerden daha iyi yararlanılması için, bu alana ayrılan fonların artırılmasına gerek vardır.

21. yüzyıla girmiş olduğumuz şu yıllarda aşırı nüfus artışı ve çeşitli nedenlerle meydana gelen toprak kayıplarından dolayı tüketimi fazla olan besin gruplarının sağlıklı ve çok miktarda üretimi kaçınılmaz bir hedef haline gelmiştir. Bu amaç için son yıllarda genetik olarak değiştirilmiş (GMO) ürünlerin yetiştirilmesi ve tüketimi gündeme gelmiştir ancak birçok ülke ve tüketiciler bu ürünlere pek sıcak bakmamaktadırlar. Artık günümüzde ekolojik tarım ya da organik tarım adı verilen trendler çok önem kazanmıştır. Organik tarım teknikleri ile hem daha fazla miktarda hem de sağlıklı ürün yetiştirilmesi mümkündür. Bu teknikler arasında bitkileri hastalıklara karşı dirençli hale getiren ve savunma mekanizmalarını uyaran doğal ajanların kullanımı çok önemli bir yere sahiptir.

Sonuç olarak, bitki aktivatörlerinin sahip oldukları pek çok önemli avantaj sayesinde üreticiler arasında geleneksel kimyasal kontrol metodlarına alternatif olarak daha çok tercih edileceği görülmektedir. Birim alandan daha fazla ve kaliteli ürün elde

edilmesini sağlayan bitki aktivatörlerinin, yakın gelecekte gelişmiş ülkelerde olduğu gibi ülkemiz tarımında da pratikte kullanıma girmesi yararlı olacaktır.

Çalışmamızın hem literatür hem de yöntem açısından Çanakkale bölgesinde bir ilk olması nedeniyle, diğer ekonomik önemi olan bitkiler ile yapılacak olan laboratuvar denemeleri ve açık arazi çalışmalarına ışık tutacak nitelikte özgün bir çalışma olduğu inancındayız.

## 5.ÖZET

### **Domatesin (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Biyolojik Preparatlar ile Uyarılarak Total Protein ve Peroksidaz Seviyelerinin Değişen Elisitasyon Tepkisinin Saptanması**

Bu araştırmada bitkilerin bağışıklık sisteminde ve Sistemik Uyarılmış Dayanıklılıkta (SAR) önemli rol oynayan, mikroorganizmaların neden olduğu hastalıklar ile çevresel stres koşullarına karşı direnç yanıtları oluşturulmasını sağlayan peroksidaz [EC 1.11.1.7] enzim aktivitesi ve total protein miktarları incelenmiştir. Bu çalışmada, bazı bitki aktivatörleri ile biyokontrol ajanı (biyolojik fungusit) olan Trichodex' in farklı kombinasyonları denenmiştir. Böylece, pestisitlerin düşük dozlarının bitki aktivatörleri ile birlikte kullanılmasıyla, bitki hastalıklarının kontrolünde etkinliğin artırılması sağlanmaya çalışılmıştır. Bu uygulamalar sonucunda bitki savunma sisteminde oluşabilecek enzimatik stimülasyonların saptanması yoluna gidilmiştir. *Lycopersicon esculentum* Mill.'e uyguladığımız preparatların savunma tepkisinin bir göstergesi olarak peroksidaz enziminin aktivitesi üzerindeki etkileri 4 farklı analiz döneminde kontrol grubuna oranla değerlendirilmiştir.

Preparat uygulaması yapılan bitkilerde kontrol bitkilerine oranla total protein seviyelerindeki en büyük artış 4 analiz boyunca sırası ile; % 123,5 ile Messenger-Trichodex, % 103,2 ile Maxicrop, % 97,1 ile Bion ve % 117,9 ile Messenger'da görülürken, total protein seviyelerindeki en küçük artış 4 analiz boyunca sırası ile; % 23,5, % 16,1, % 11,4 ile Cropmax-Trichodex kombinasyonunda ve % 5,1 ile Maxicrop-Trichodex kombinasyonunda tespit edilmiştir. 4 farklı zamanda yapılan analizlerin tümünde en büyük artışı sağlayan kombinasyonun Messenger-Trichodex kombinasyonu olduğu bulunmuştur.

Preparat uygulaması yapılan bitkilerde kontrol bitkilerine oranla peroksidaz aktivitesindeki en büyük artış 4 analiz boyunca sırası ile; % 57,4, % 76,1, % 57,3 ve % 63,8 ile Messenger-Trichodex kombinasyonunda görülürken, peroksidaz aktivitesindeki en küçük artış 4 analiz boyunca sırası ile; % 27,5 ile Bion' da, % 15,2 ile Maxicrop' ta, % 16,2 ile Bion' da ve % 28,8 ile Maxicrop' ta tesbit edilmiştir. 4 farklı zamanda yapılan analizlerin tümünde en büyük artışı sağlayan kombinasyonun Messenger-Trichodex kombinasyonu olduğu bulunmuştur.



Ayrıca tüm gruplarda, grupların kendi içerisinde peroksidaz aktivitesinin zamana bağlı olarak nasıl değiştiği incelenmiş ve Bion-Trichodex kombinasyonu hariç tüm uygulama gruplarında zamana bağlı olarak doğrusal bir artış grafiği elde edilmiştir.

Bu çalışmamızdan elde edilen sonuçlar topluca değerlendirildiğinde, bitki aktivatörlerinin fungusitler ile karışım halinde veya dönüşümlü uygulandıklarında etki yüzdelerinin arttığını ve muhtemelen etki süresinin de uzayabileceğini söyleyebiliriz.

## 6. SUMMARY

### **Determination of Different Elicitation Effects of Total Protein and Peroxidase Levels in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) which Stimulated with Biological Compounds**

In this study, the objective was to integrate plant activators as systemic acquired resistance (SAR) inducing compounds with available chemical control measures, consequently to get comparable efficacy with less chemical. Some of the biological elicitors applied to tomato seedlings by spraying and variations in the activity of specific peroxidase [EC 1.11.1.7] enzymes and total protein amount that likely represent the enhancement of host resistance were analyzed from the leaves of tomato seedlings after individual and combined applications.

The highest differentiation in total protein amounts were found in four analysis % 123,5 Messenger-Trichodex, % 103,2 Maxicrop, % 97,1 Bion and % 117,9 Messenger respectively, compare to untreated control plants.

The lowest differentiation in total protein amounts were found in four analysis % 23,5, % 16,1, % 11,4 in Cropmax-Trichodex combination and % 5,1 Maxicrop-Trichodex combination respectively, compare to untreated control plants. The highest elicitation in total protein amounts were found in Messenger-Trichodex combination in different analysis which realized four different period of time.

The highest elicitation in peroxidase enzyme activity were found in four analysis % 57,4, % 76,1, % 57,3 and % 63,8 in Messenger-Trichodex combination respectively, compare to untreated control plants. The lowest elicitation in peroxidase enzyme activity were found in four analysis % 27,5 Bion, % 15,2 Maxicrop, % 16,2 Bion and % 28,8 Maxicrop respectively, compare to untreated control plants. The highest elicitation in peroxidase enzyme activity were found in Messenger-Trichodex combination in different analysis which realized four different period of time.

Comparative studies between all of the groups for peroxidase enzyme activity were investigated depend on the time interval and except Bion-Trichodex combination all of the other groups were shown parallel increasing according to time.

The results of our research supported that combination of plant activator and fungicides were increased efficiency defence response and systemic acquired resistance (SAR) in tomato.

## 7. EKLER



A



B

Ek 1. Tarlanın Ekime Hazırlanmasından Sonra Genel Görünümü (A ve B) (Özgün)





A



B

Ek 2. Fidelerin 5. Hafta Sonunda Seradaki Görünümü (A ve B) (Özgün)



A



B

Ek 3. Fidelerin 6. Hafta Sonunda Seradaki Görünümü (A ve B) (Özgün)





Ek 4. Fidelerin 8. Hafta Sonunda Tarlaya Ekimi (Özgün)



Ek 5 . İlk Preparat Uygulaması Sırasında Deneme Tarlasının Genel Görünümü (Özgün)



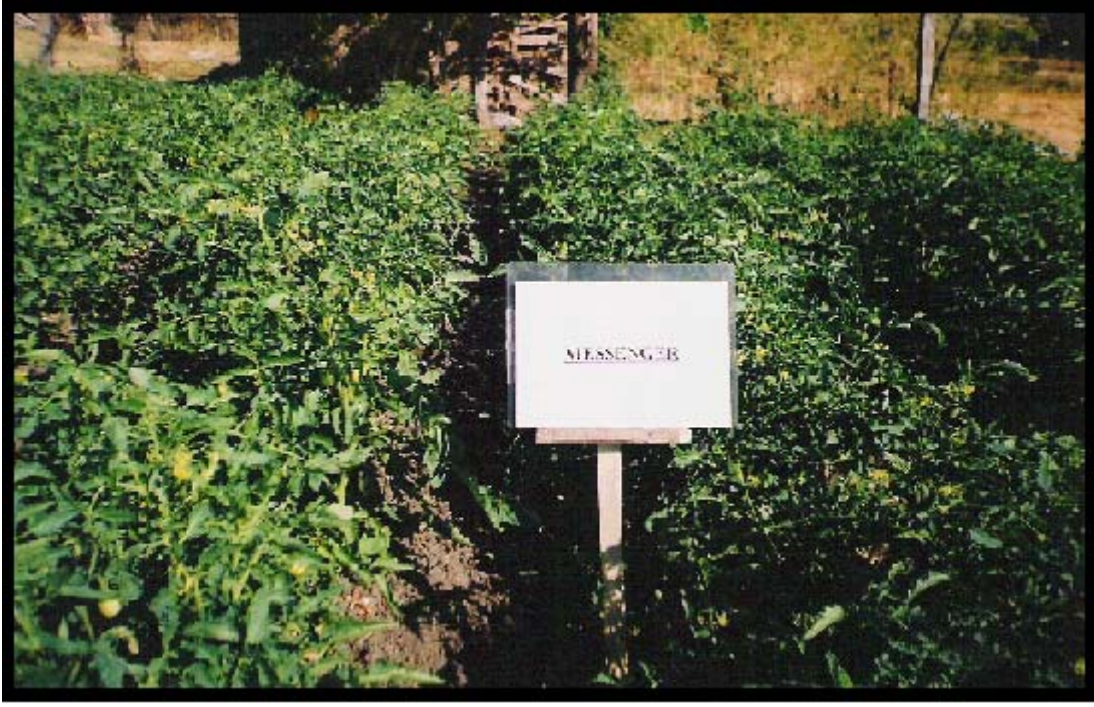


Ek 6. İlk Preparat Uygulaması Sırasında Domates Sıralarından Bir Görünüm (Özgün)



Ek 7 . İlk Uygulamadan Bir Hafta Sonra Kontrol Grubunun Görünümü (Özgün)





Ek 8 . İlk Uygulamadan Bir Hafta Sonra Messenger Spreylenen Grubun Görünümü  
(Özgün)



Ek 9 . Analizler İçin Laboratuara Getirilen Bitkiler (Özgün)





Ek 10. İkinci Uygulamadan Bir Hafta Sonra Messenger-Trichodex Kombinasyonu Uygulanan Grubun Görünümü (Özgün)

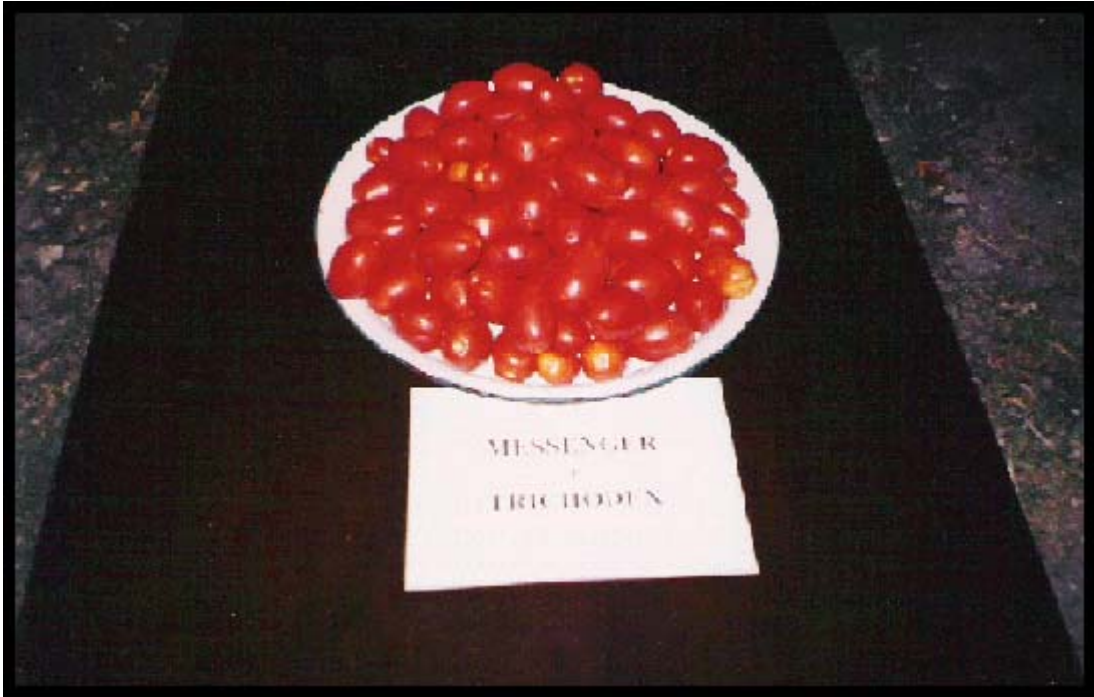


Ek 11. İkinci Uygulamadan Bir Hafta Sonra Bion-Trichodex Kombinasyonu Uygulanan Grubun Görünümü (Özgün)





Ek 12. Üçüncü Uygulamadan Bir Hafta Sonra Bitkilerin Genel Görünümü (Özgün)



Ek 13. Messenger-Trichodex Kombinasyonu Uygulanan Gruptan Elde Edilen Domateslerin Genel Görünümü (Özgün)

## 8. KAYNAKLAR

- Anonymous, 1954.** Soil Survey Staff, Diagnosis Improvement of saline and alkali soils. Agric. Handbook, Num:60, US Gout. Print office, Washington DC. USA.
- Anonymous, 1997.** The Plant Activator. Nature Created the Concept. Novartis
- Anonymous, 1998.** <http://res2.agr.ca/haraow/gh/annrep98/111-path.htm>
- Anonymous, 1999a.** <http://www.ava.gov.sg./aphid/plt.htm>
- Anonymous, 1999b.** Cropmax and Aminoasit. Holland Farming Product Development Dept. & Analysis certificate and secret recipe of Cropmax Holland. p 3-7.
- Anonymous, 2000a.** <http://www.edenbio.com>
- Anonymous, 2000b.** <http://www.peaches/hochmuth/vegetarian.htm>
- Anonymous, 2000c.** <http://ppathw3.cals.cornell.edu/virology/pp652>
- Anonymous, 2000d.** [http://www.improcrop.com/Improc\(Pty\) Ltd. \(Improcrop Dossier 2000 Contents8. Vegetables\).](http://www.improcrop.com/Improc(Pty) Ltd. (Improcrop Dossier 2000 Contents8. Vegetables).)
- Anonymous, 2000e.** <http://wsare.usu.edu/sare2000/075.htm>
- Anonymous, 2000f.** Maxicrop Denizyosunu Özü. Koyuncular Tarım Tic. ve San. A.Ş.
- Anonymous, 2002.** Tarım ve Köyişleri Bakanlığı “Zirai Mücadelede Kullanılan Pestisit ve Benzeri Maddelerin Ruhsatlandırılması Hakkındaki Yönetmelikte Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik”, Resmi Gazete, Sayı 24797.
- Anonymous, 2003.** <http://www.syngenta.com>
- Anonymous, 2004a.** <http://www.maxicrop.com>
- Anonymous, 2004b.** <http://www.agrobiologicals.com>
- Anonymous, 2004c.** <http://www.actahort.org>
- Anonymous, 2004d.** <http://plants.usda.gov>
- Anonymous, 2004e.** <http://www.veganaturel.com>
- Anonymous, 2004f.** [www.ciftcinet.com](http://www.ciftcinet.com)
- Agrios, G.N., 1997.** Plant Pathology. Fourth Edition. Academic Press., San Diego, CA USA. 93-112, 192-193.
- Ahl, P., Benjama, A., Samson, R., Gianinazzi, S., 1981.** Phytopath. Z. 102: 201-212.
- Aiba, S., 1992.** A convenient assay for chitinase that uses partially N-acetylated chitosans as substrates. Carbonhydrate Research, 230: 373-376.

- Akı, C., Türkan İ.,** 2000. Kitosan Uygulamasının Kabak (*Cucurbita Pepo* L.) ve Fasulye'de (*Phaseolus vulgaris* L.) Peroksidaz Değişimleri Üzerinde Etkileri. XV. Ulusal Biyoloji Kongresi, A.Ü. Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 5-9 Eylül. Ankara.
- Bailey, J.A., Mansfield, J.W.,** 1982. Phytoalexins. Glasgow: Blackie.
- Beer, S.V., Zumoff, C.H., Bauer, D.W., Sneath, B.J., Laby, R.J.,** 1989. In Plant Pathogenic Bacteria, Z. Klement, Ed. (Akademiai Kiado, Budapest), part B, pp. 675-678.
- Beer, S.V.,** 1991. In Advances in Molecular Genetics of Plant-Microbe Interactions, H. Hennecke and D.P.S. Verma, Eds. (Kluwer Academic, Dordrecht), pp.53-60.
- Benhamou, N.,** 1996. Elicitor-induced plant defence pathways. Elsevier Science Ltd. Vol.1, No.7, July. 233-240.
- Bennetzen, J.L., Jones, J.D.G.,** 1992. Approaches and progress in the molecular cloning of plant disease resistance genes. New York, Plenum Press.
- Bingham, F.T.,** 1949. Soil Tests for phosphate, California agr. 3(8): 11-14 California, USA.
- Black, C.A.,** 1957. Soil Plant Relationships, John Wiley Sons Inc. Newyork.
- Bouyoucos, G.J.,** 1955. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soil. Agr. J. Vol. 54:3.
- Bradford, M.M.,** 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry . 72: 248-254.
- Bremner, J.M.,** 1965. Total Nitrogen Ed. (In Ed. Black, C.A.). Methods of soil Analysis Part 2, American Society of Agronomy Inc. Publisher Madison, 1149-1178p. Winconsin USA.
- Callow, J.A., Ray, T., Estrade-Garcia, T.M., R, G.J.,** 1988. Molecular signals in plant cell recognition. In S. Scannerini, D.Smith, P. Bonfante-Fasolo, V. Gianinnazi-Pearson (Eds.), Cell to cell signals in plant, animal and microbial symbiosis (pp. 167). Berlin, Springer-Verlag.
- Camacho Henriquez, A., Sanger, H.L.,** 1982. Arch. Virol., 74: 181-196.
- Carr, J.P., Dixon, D.C., Nikolau, B.J., Voelkerding, K.V., Klessig, D.F.,** 1987. Mol. Cell. Biol., 7: 1580-1583.

- Chester, K.**, 1933. The problem of acquired physiological immunity in plants. Quarterly Rev. Biol. 8, 129-154, 275-324.
- Christensen, J.H., Bauw, G., Welinder, K.G, van Montagu, M., Boerjan, W.**, 1998. Purification and Characterization of peroxidases correlated with lignification in poplar xylem. Plant Physiol. 118: 125-135.
- Cruickshank, I.A.M., Perin, D.R.**, 1968. The isolation and partial Characterization of monilicolin A, a polypeptide with phaseollin-inducing Activity from *Monilinia fructicola*. Life Sci 7: 449-458.
- Crute, I.R., de Wit, P.J.G.M., Wade, M.**, 1985. Mechanisms by which genetically control resistance and virulence influence host colonization by fungal and bacterial parasites. In R.S.S. fraser (Eds.), Mechanisms of Resistance of Plant Diseases (pp. 197-309). Boston, Nijhoff/Junk.
- Crute, I. R.**, 1986. Investigaions of gene-for-gene relationships: the need for genetic analyses of both host and parasite. Plant Pathology, 35: 15-17.
- Crute, I.R.**, 1992. From breeding to cloning (and back again?): a case study with lettuce downy mildew. Annual Review of Phytopathology, 30: 485-506.
- Çolakoğlu, H., Yorgancı, Ü., Saygılı, H., Yıldız, M., Öncüer, C., Karsavuran, Y., Nemli, Y., Tepe, I.**, 1989. Domateslerde Hastalıklar, Zararlılar ve Yabancıotlar. E.Ü. Ziraat Fakültesi. Bornova-İzmir.
- Dangl, J.L.**, 1992. The major histocompatibility complex a la carte: are there analogies to plant disease resistance genes on the menu? Plant Journal, 2: 3-11.
- Dangl, J.L.**, 1995. Piece de resistance: novel classes of plant disease resistance genes. Cell, 80: 363-366.
- Darvill, A.G., Albersheim, P.**, 1984. Phytoalexins and their elicitors-a defense against microbial infection in plants. Annu Rev Plant Physiol 35: 243-275.
- Davis, P.H.**, 1978. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol:6 p:444 Edinburgh Univ. Press. Edinburgh.
- Davis, K.R., Darvill, A.G., Albersheim, P.**, (1986) Host-pathogen interactions XXXI. Several biotic and abiyotic elicitors act synergistically in the induction of phytoalexin accumulation in soybean. Plant Mol Biol 6: 23-32.
- Davis, K.R., Hahlbrock, K.**, 1987. Induction of defense responses in cultured parsley cells by plant cell wall fragments. Plant Physiol 85: 1286-129.

- Day, P.R.**, 1986. Plant-parasite interactions: a genetical perspective. *Plant Pathology*, 35: 263-269.
- Dean, R.A., Kuć, J.**, 1986b. Induced systemic protection in cucumber: The source of the signal. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 28, 227-233.
- Delen, N., Özbek, T.**, 1992. Tarım İlaçları ve Çevre. *Tarım ve Mühendislik*. Sayı 42: 12-15.
- Delen, N., Özbek, T.**, 1994. Some major fungal ve bacterial diseases of solanaceous vegetables in greenhouses and Characterization of their control methods in Türkiye. *Acta Hort.* 366: 307-315.
- Delen, N.**, 2002. Türkiye’ de Tarım İlaçları Kullanımı ve Sorunları. TAYEK/TYUAP 2002 Yılı Tarla Bitkileri Grubu Bilgi Alışveriş Toplantısı Bildirileri. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Yayın No: 109. 233-247.
- Demir, İ.**, 1998. Bitkilerde Stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri. E. Ü. Ziraat Fakültesi, EBİLTEM 33-53.
- De Wit, P.J.G.M., Bakker, J.**, 1980. *Physiol. Plant Pathol.* 17: 121-130.
- De Wit, P.J.G.M., Kodde, E.**, 1981. Induction of polyacetylenic phytoalexins in *Lycopersicum esculentum* after inoculation with *Cladosporium fulvum*. *Physiol. Plant Pathol.* 18: 143-48.
- De Wit, P.J.G.M., Spikeman, G.**, 1982. Evidence for the occurrence of race and cultivar-specific elicitors of necrosis in intercellular fluids of compatible interactions of *Cladosporium fulvum* and tomato. *Physiological Plant Pathology*, 21: 1-11.
- De Wit, P.J.G.M.**, 1986. Elicitation of active resistance mechanisms. In J. A. Bailey (Ed.), *Biology and molecular Biology of plant pathogen interactions* (pp. 149). Berlin, Springer-Verlag.
- De Wit, P.J.G.M., Oliver, R.P.** 1989. The interaction between *Cladosporium fulvum* (syn. *Fulvia fulvum*) and tomato: a model system in molecular plant pathology. In H. Nevalianen ve M. Pentila (Eds.), *Molecular Biology of Filamentous Fungi* (pp. 227). 1989 Found. Biotech. Industr. Ferment. Res.
- De Wit, P.J.G.M.**, 1992. Molecular characterization of gene-for-gene systems in plant-fungus interactions and the application of avirulence genes in control of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 30: 391-418.

- Dığrak, M.**, 1994. Elazığ Yöresinde Yaygın Olarak Kullanılan Pestisitlerin *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, Karışık Kültür ve Toprak Mikroorganizmaları ile Parçalanma Durumlarının İncelenmesi. Doktora Tezi. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 145 sayfa. Elazığ.
- Dixon, R.A., Lamb, C.J.**, 1990. Molecular communications in interactions between plants and microbial pathogens. *Ann.Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol*, 41: 339-367.
- Ebel, J.**, 1986. Phytoalexin synthesis: the biochemical analysis of the induction process. *Annu Rev Phytopathol* 24: 235-264.
- Ebel, J., Scheel, D.**, 1992. Elicitor Recognition and Signal Transduction. In: Boller, T., Meins, F. (eds) *Genes involved in plant defense*. Springer-Verlag Wien New York, pp 183-205 [ Dennis, E.S. et al (eds) *Plant Gene Research. Basic knowledge and application*].
- Ecobichon, D.J.** 1996. Toxic Effects of Pesticides. In Casarett and Doull's *Toxicology The Basic Science of Poisons. International Edition McGraw-Hill Health Professions Divisions. New York*.
- Ekinci, S.**, 1972. Özel Sebzeçilik. Ahmet Sait Matbaası, İstanbul.
- Elad, Y.**, 2000. *Trichoderma harzianum* T39 Preparation for Biocontrol of Plant Diseases-Control of *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Cladosporium fulvum*. *Biocontrol Science and Technology* 10, 499-507.
- Ellingboe, A. H.**, 1984. Genetics of host-parasite relations: an essay. *Advances in Plant Pathology*, 2: 131-152.
- Ellis, J.G., Lawrence, G.J., Peacock, W.J., Pryor, A.J.**, 1988. Approaches to cloning plant genes conferring resistance to fungal pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 26: 245-263.
- Farkas, G.L., Lovrekovich, L.**, 1964. *Phytopathology*. 54, 474.
- Farmer, E.E., Helgeson, J.P.**, 1987. An extracellular protein from *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* is associated with stress metabolite accumulation in tobacco callus. *Plant Physiol* 85: 733-740.
- Fehrmann, H., Diamond, A.E.**, 1967. Peroxidase Activity and *Phytophthora* resistance in different organs of the potato plant. *Phytopathology*. 57: 69-72.
- Fillingham, A.J., Wood, J., Bevan, J.R., Crute, I.R., Mansfield, J.W., Taylor, J.D.**, 1992. Vivian, A., Avirulence genes from *Pseudomonas syringae* pathovars



- phasolicola and pisi confer specificity towards both host and non-host species. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 40: 1-15.
- Flor, H.H.**, 1971. Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review of Phytopathology*, 9: 275-296.
- Fought, L., Kuć, J.**, 1996. Lack of specificity in plant extracts and chemicals as inducers of systemic resistance in cucumber plants to anthracnose. *J. Phytopathol.* 144, 1-6.
- Gaspar, T.H., Penel, C., Greppin, H.**, 1986. Peroxidases: structures and catalytic reactions, biosynthesis, transport and location, physiological roles, *Bull. Groupe Polyphenols*. 13: 159-176.
- Gianinazzi, S., Ahl, P., Cornu, A., Scalla, R., Cassini, R.**, 1980. *Physiol. Plant Pathol.* 16: 337-342.
- Gilroy, S., Trewavas, A.**, 1990. Signal sensing and signal transduction across the plasma membrane. In C. Larsson ve I.M.Moller (Eds.), *The Plant Plasma Membrane: Structure, Function and Molecular Biology*. (pp. 203-232). Berlin.
- Glazebrook, J., Rogers, E.E., Ausubel, F.M.**, 1997. Use of *Arabidopsis* for genetic dissection of plant defence responses. *Annu. Rev. Genet.* 31: 547-569.
- Grisebach, H., Ebel, J.**, 1978. Phytoalexins, chemical defense substances of higher plants. *Angew Chem Int Ed Engl* 17: 635-647.
- Güneş, A., Alpaslan, M., İnal, A.**, 2000. Bitki Beslenme ve Gübreleme, Ankara Ün. Ziraat Fak. Yayın No: 1514 Ders Kitabı: 467 s.199.
- Güven, A.**, 1997. Bitki Fizyolojisi Ders Kitabı.
- Hahlbrock, K., Scheel, D.**, 1987. Biochemical responses of plants to pathogens. In: Chet I (ed) *Innovative approaches to plant disease control*. Wiley, New York, pp 229-254.
- Hamed, P.R., Maharem, T.M., Fatah, M.M.A., Ataya, F.S.**, 1998. Purification of peroxidase isoenzymes from turnip roots, *Phytochemistry* 48: 1291-1294.
- Hammerschmidt, R., Nuckles, E.M., Kuć, J.**, 1982. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance to *Colletotrichum lagenarium*. *Physiol. Plant Pathol.* 20: 73-82.
- Hargreaves, J.A., Mansfield, J.W., Rossal, S.**, 1977. Changes in phytoalexin concentrations in tissues of the broad bean plant (*Vicia faba* L.), following inoculation with species of *Botrytis*. *Physiol. Plant Pathol.* 11: 227-42.

- Heath, M. C.**, 1986. Fundamental questions related to plant-fungus interactions: recombinant DNA technology provide the answers? In J.A. Bailey (Ed.), Biology and molecular biology of plant-pathogen interaction (pp. 15). Berlin.
- Heath, M.**, 1996. Plant resistance to fungi. Can. J. Plant Pathol. 18, 469-475.
- Heitefuss, R., Stahmann, M.A., Walker, J.C.**, 1960. Oxidative enzymes in cabbage infected by *Fusarium oxysporum* f. *conglutinans*. Phytopathology.50: 370-375.
- Hirano, S., Nagano, N.**, 1998. Effect of chitosan, pectic acid, lysozyme and chitinase on the growth of several phytopathogens. Agric. Biol. Chem. 53: 3065-3066.
- Honeycutt, R.C., Schabacker, D.J.**, 1994. Mechanisimis of Pesticides Movement into Ground Water. Library of Congress Cataloging in Public Data p.27
- Hooft van Huijsduijnen, R.A.M., Alblas, S.W., De Rijk, R.H., Bol, J.F.**, 1986. J. Gen. Virol., 67: 2135-2143.
- Hu, C., Van Huystee, R.B.**, 1989. Immunochemical relatedness of two peroxidase isoenzymes from peanut cell culture, Biochem. Cell Biol. 67: 371-376.
- Hutcheson, S.**, 1998. Current concepts of active defense in plants. Ann. Rev. Phytopathol. 36, 59-90.
- Imoto, T., Yagishata, K.**, 1971. A simple activity measurement of lysozyme. Agricultural Biological Chemistry, Vol. 35/7: 1154-1156.
- İnci, S.**, 1996. Fitopatolojide ‘Tanıma’ ve Uyarılmış Dayanıklılık. Yüksek Lisans Semineri. E.Ü. Zir. Fak. Bit. Kor. Böl. s:9 Bornova-İzmir.
- İpekçi, Z., Oğras, T., Altınkut, A., Bajrovic, K., Kazan, K., Gözükırmızı, N., Boydak, M., Tank, T., Akalp, T., Özden, Ö., Çalıköğlü, M., Tunçtaner, K., Tulukçu, M., Balkan, H., Tanrıyar, H.**, 1999. Reduced Leaf Peroxidase Activity is Associated with Reduced Lignin Content in Transgenic Poplar. Plant Biotechnology, 16 (5), 381-387.
- İrget, M.E.**, 1995. İzmir İlinde Yetiştirilen Karabağlar Tütün Grubunun Beslenme Durumu ile Kimi Kalite Özellikleri Arasındaki İlişkiler. E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Anabilim Dalı (Doktora Tezi) Bornova/ İzmir.
- Jackson, M.L.**, 1958. Soil Chemical Analysis, Prentice Hall. Inc. Englewood, Calif., N.T., USA.
- Jackson, M.L.**, 1967. Soil Chemical Analysis, Prentice Hall. Inc. Englewood, Cliffs., N.T., USA.

- Jamet, E., Fritig, B.**, 1986 Plant Mol. Biol., 6: 69-80.
- Jenner, C., Hitchin, E., Mansfield, J.W., Walters, K., Betteridge, P., Taylor, J.**, 1991. Gene-for-gene interactions between *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola and Phaseolus. Molecular Plant-Microbe Interactions, 4: 553-562.
- Karavaş, B.**, 2002. Fungusit, Bitki Aktivatörü ve Bitki Stimulantlarının Biber Bitkisinin (*Capsicum annuum* L.) Anatomik ve Morfolojik Yapısı Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova, İzmir. 106 s.
- Karman, M.**, 1971. Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler, Denemelerin Kuruluşu ve Değerlendirme Esasları. Zir. Müc. ve Zir. Kar. Gnl. Müd. Yayınları.
- Karsavuran, Y., Erkan, S., Tosun, N.**, 2001. Pestisit Uygulamalarının Toprak Üzerindeki Olumsuz Etkileri. IV. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi Bildirileri, Bodrum. 377-382.
- Keen, N.T., Bruegger, B.**, 1977. Phytoalexins and chemicals that elicit their production in plants. In: Hedin PA (ed) Host plant resistance to pests. American Chemical Society, Washington, DC, pp 1-26.
- Keen, N.T., Tamaki, S., Kobayashi, D., Stayton, M., Gerhold, D., Shen, H., Gold, S., Lorang, J., Thordal-Christensen, H.**, 1989. Characterization and function of avirulence genes from *Pseudomonas syringae* pv. tomato. In: Lugtenberg BJJ (ed) Signal molecules in plants and plant-microbe interactions. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, pp 183-188.
- Keen, N.T., Dawson, W.O.**, 1992. Pathogen avirulence genes and elicitors of plant defense. In: Boller, T., Meins, F. (eds) Genes involved in plant defense. Springer-Verlag Wien New York, pp 85-114 [ Dennis, E.S. et al (eds) Plant Gene Research. Basic knowledge and application].
- Kerby, K., Somerville, C.**, 1992. Purification of an infection-related, extracellular peroxidase from barley, Plant Physiol. 397-402.
- Kessmann, H., Staub, T., Hofmann, C., Maetzke, T., Herzog, J., Ward, E., Uknes, S., Ryals, J.**, 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. Annu. Rev. Phytopathol. 32, 439-459.
- Kiraly, Z.**, 1998. Plant infection-biotic stres. Ann. New York Acad. Sci. 851, 233-240.
- Klement, Z.**, 1963. Nature. 199, 299.

- Klement, Z.**, 1982. In *Phytopathogenic Prokaryotes*, M.S. Mount and G.H. Lacy, Eds. (Academic Press, New York), Vol:2, pp. 149-177.
- Knogge, W., Hahng, M., Lehnackers, H., R pping, E., Wevelseip, L.**, 1991. Fungal signals involved in the specificity of the interaction between barley and *Rhynchosporium secalis*. In H. Hennecke ve D.P.S. Verma (Eds.), *Advances in Molecular Genetics of Plant-Microbe Interactions*. (pp. 250). Dordrecht, Kluwer Academic.
- Kobayashi, D.Y., Tamaki, S.J., Keen, N.T.**, 1990. Molecular characterization of avirulence gene D from *Pseudomonas syringae* pv. tomato. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 3, 94-102.
- Kobayashi, I.**, 1995. Cell Biology of early events in the plant resistance response to infection by pathogenic fungi. *Can. J. Bot.* 73: 418-425.
- Koca, Y.O.**, 2003. İki Bitki Aktivatörünün Patateste Bazı Tarımsal  zellikler  zerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. E. . Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı. 36 sayfa. Bilim Dalı Kodu: 501.12.01 Bornova-İzmir.
- Kovancı, İ.**, 1969. İzmir Bölgesi Tarla Topraklarında Nitrifikasyon Durumu ve Bunun Bazı Toprak  rnekleri ile Olan İlişkisi  zerinde Araştırmalar, E. . Ziraat Fakültesi Doçentlik Tezi, Bornova/ İzmir.
- Kropp, M.J., Schading, R.L., Ocafrain, M.H., Wei, Z.**, 2001. Use of Messenger Increases Yield in Fresh Market Strawberries. EDEN Bioscience Corporation.
- Ku, J., Barnes, E., Daftsios, A., Williams, E.**, 1959. The effect of amino acids on susceptibility of apple varieties to scab. *Phytopathology* 49, 313-315.
- Ku, J.**, 1993. Non pesticide control of plant disease by immunization. In: Lyr, H., Potter, C. (Eds.), *Proceedings of the 10th International Symposium on Systemic Fungicides and Antifungal Compounds*. Ulmer Publication, Stuttgart, pp. 225-237.
- Ku, J.**, 1995a. Phytoalexins, stres metabolism and disease resistance in plants. *Annu. Rev. Phytopathol.* 33, 275-297.
- Ku, J.**, 1995b. Induced systemic resistance-an overview. In: Hammerschmidt, R., Ku, J. (Eds.), *Induced Systemic Resistance to Disease in Plants*. Kluwer, Dordrecht, pp. 169-175.
- Ku, J.**, 1997. Molecular aspects of plant responses to pathogens. *Acta Physiologiae Plantarum*. 19, 551-559.

- Kuč, J.**, 1999. Specificity and lack of specificity as they relate to plant defense compounds and disease control. In: Russell, P., Dehne, H. (Eds.), *Modern Fungicides and Antifungal Compounds*, 12th International Symposium Rheinhardsbrunn. Intercept Ltd, Uk, pp. 31-37.
- Kuč, J.**, 2000. Development and future direction of induced systemic resistance in plants. *Crop Protection* 19 (2000) 859-861.
- Küçüker, O.**, 1994. *Tıbbi Biyologlar İçin Botanik Ders Kitabı*. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları İstanbul. 183-184.
- Kütevin, Z., Türkeş, T.**, 1987. *Sebzecilik, Genel Sebze Tarımı Prensipleri ve Pratik Sebzecilik Yöntemleri*. İnkılâp Kitabevi, İstanbul Sayfa 201,294,295.
- Lagrimni, L.M., Vaughn, J., Erb, W.A. and Miller, S.A.** 1993. Peroxidase over production in tomato: wound induced polyphenol deposition and disease resistance. *Hort.Sci.* 28:218-221.
- Lamb, C.J., Lawton, M.A., Dron, M., Dixon, R.A.**, 1989. Signals and transduction mechanisms for activation of plant defenses against microbial attack. *Cell*: 56, 215-224.
- Lamb, C.J.**, 1994. Plant disease resistance genes in signal perception and transduction. *Cell*, 76: 419-422.
- Lamb, C., Dixon, R.**, 1997. The oxidative burst in plant disease resistance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48, 251-275.
- Lindsay, W.L., Norvell, W.A.**, 1978. Development of a DTPA Soil Test for Zinc, Iron, Manganese and Copper, *Soil Sci. Soc. of Am. J.*, 42: 421-428s.
- Lindsay, J.P., Lamb, C.J., Dixon, R.A.**, 1993. Microbial recognition and activation of plant defense systems. *Trends in Microbiology*, 4: 181-187.
- Loebenstein, G.**, 1963. Further evidence on systemic resistance induced by localized necrotic virus infections in plants. *Phytopathology* 53, 306-308.
- Loverkovich, L., Loverkovich, H., Stahmann, M.A.**, 1968. The importance of peroxidase in the wild fire disease. *Phytopathology*. 58: 193-198.
- Lübeck, M., Jensen, D.F.**, 2002. Monitoring of Biocontrol Agents Based on *Trichoderma* Strains Following Their Application to Glasshouse Crops by Combining Dilution Plating with UP-PCR Fingerprinting. *Biocontrol Science and Technology*. 12, 371-380.

- Mansfield, J.W.**, 1983. Antimicrobial compounds. In J.A. Callow (Ed.), *Biochemical Plant Pathology* (pp. 237). Cichester, Wiley and Sons.
- Mansfield, J.W.**, 1984. Plant cell death during infection by fungi. In I.D.A.D.O.Sigee (Ed.), *Cell ageing and death* (pp.323). Cambridge University Press.
- Mansfield, J.W.**, 1986. Recognition, elicitors and the hypersensitive reaction. In B. Lutenberg (Ed.), *Recognition in microbe-plant symbiotic and pathogenic interactions* (pp. 434). Berlin, Springer-Verlag.
- Mansfield, J.W.**, 1990. Recognition and response in plant/fungus interactions. In R.S.S. Fraser (Ed.), *Recognition and Response in Plant-Virus Interactions* (pp.31-52). Berlin, Springer Verlag.
- Mansfield, J.W., Jenner, C., Hockenhull, R., Bennet, M.A., Stuwart, R.**, 1994. Characterization of *avrPp*, a gene for cultivar-specific avirulence from *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* which is physically linked to *hrpY*, a new *hrp* gene identified in the halo-blight bacterium. *MPMI*, 7: 726-739.
- Maraite, H.**, 1973. Changes in polyphenoloxidases and peroxidase in muskmelon (*Cucumis melo* L.) infected by *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Physiol. Plant Path.* 3: 29-49.
- Mata, A., Diamond, P.E.**, 1963. Symptoms of *Fusarium* wilt in relation to quantity of fungus and enzyme Activity in tomato stem. *Phytopathology*. 53: 574-578.
- Maxwell, D.P., Bateman, D.F.**, 1967. Changes in the activities of some oxidases in extracts of *Rhizoctonia*-infected bean hypocotyls in relation to lesion maturation. *Phytopathology*. 57: 132-136.
- McBride, D.K., Peterson, D.E., Lamey, H.A.**, 1988. Persistence and mobility of pesticides in soil and water. NDSU extension service. Extension Bulletin 49.
- McLellan, K.M., Robinson, D.S.**, 1981. The effect of heat on cabbage and Brussels sprout peroxidase enzymes. *Food Chem.* 7: 257-266.
- McLellan, K.M., Robinson, D.S.**, 1987. The heat stability of purified spring cabbage peroxidase isoenzymes, *Food Chem.* 26: 97-107.
- Métraux, J.P., Burkhart, W., Moyer, M., Dincher, S., Middlesteadt, W., Williams, S., Payne, G., Carnes, M., Ryals, J.** 1989. Isolation of a complementary DNA encoding a chitinase with structural homology to a bifunctional lysozyme/chitinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 86: 896-900.

- Métraux, J.P., Singer, H., Ryals, J., Ward, E., Wyss-Benz, M., Gaudin, J., Raschdorf, K., Schmid, E., Blum, W.,** 1990. Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science* 250, 1004-1006.
- Mills, P.R., Wood, R.K.S.,** 1984. The effect of polyacrylic acid, acetylsalicylic acid and salicylic acid on resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. *Phytopathologische Zeitschrift* 111, 209-216.
- Mills, P.R., Gussin, E.J., Wood, R.K.S.** 1986. Induction of resistance in cucumber to *Colletotrichum lagenarium* by 6-benzylaminopurine. *Journal of Phytopathology* 116, 11-17.
- Mitchelmore, R.W., Iltott, T.W., Hulbert, S.H., Farrara, B.F.,** 1988. The downy mildews. In G.S.Sidhu, P.H. Williams, ve D.S.Ingram (Eds.), *Advances in Plant pathology* (pp. 53). London, Academic Press.
- Munnecke, D.E.,** 1967. Fungicide in the Soil Environment. P.509-559 In: *Fungicide an Advaced Treatise*. (Ed) C.C.Torgeson.
- Nehring, K.,** 1960. *Agriculturchemische unerschungsmethoden für dünge-und futtermittel*, Boden und Milch. Hamburg-Berlin.
- Newton, A.C. ve Crute, I.R.,** 1989. A considiration of the genetic control of species specificity in fungal plant pathogens and its revelence to a comprehension of the underlying mechanisms. *Biological Review*, 64: 35-50
- Oba, K., Tatematsu, H., Yamashita, K., Uritani, I.,** 1976. Induction of furano-terpene production and formation of the enzyme system from mevalonate to isopentenyl pyrophosphate in sweet potato root tissue injured by *Ceratocystis fimbriata* and by toxic chemicals. *Plant Physiol.* 58: 51-56.
- Okuno, T., Nakayama, M., Okajima, N., Furusawa, I.,** 1991. Systemic resistance to downy mildew and appearance of acid soluble proteins in cucumber leaves treated with abiotic and biotic elicitors. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 57, 203-211.
- Öztürk, S.,** 1997. *Tarım İlaçları*, İstanbul, 551 s.
- Öztürk, M.,** 1975. Batı Anadoluda Yayılış Gösteren *Inula graveolens* Hakkında Araştırma. E.Ü. Fen Fak. Doçentlik Tezi.
- Öztürk, M.,** 2001. Celal Bayar Üniversitesi. *Pollusyon Ders Notları, Pestisitler ve Çevre Kirliliği*.
- Parent, J.G., Asselin, A.,** 1984. *Can. J. Bot.*, 62: 564-569.

- Parker, J.E., Barber, C.E., Mi-jiao, F., Daniels, M.J.,** 1993. Interaction of *Xanthomonas campestris* with *Arabidopsis thaliana*: characterization of a gene from *X. c. pv. raphani* that confers avirulence to most *A. thaliana* accessions. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 6: 216-224.
- Paxton, J.D.,** 1981. Phytoalexins-a working redefinition. *Phytopathol. Z.* 101: 106-9.
- Peng, M., Kuć, J.,** 1992. Peroxidase-generated hydrogen peroxide as a source of antifungal Activity in vitro and on leaf discs. *Phytopathology* 82, 696-699.
- Pierpoint, W.S., Robinson, N.P., Leason, M.B.,** 1981. *Physiol. Plant Pathol.* 19: 85-97.
- Pierpoint, W.S.,** 1986. *Phytochemistry.* 25: 1595-1601.
- Pratt, P.F.,** 1965. Methods of soil analysis, Part 2, Chemical and microbiological properties. In Ed. C.A. Black, American Society of Agronomy, Inc. Pub. Agron. Series, No. 9., Madison, Wisconsin, U.S.A.
- Preisig, C.L., Kuć, J.A.,** 1985. Arachidonic acid-related elicitors of the hypersensitive response in potato and enhancement of their activities by glucans from *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Arch Biochem Biophys* 236: 379-389.
- Rairdan, G.J., Delaney, T.P.,** 2002. Role of salicylic acid and NIM1/NPR1 in race-specific resistance in *Arabidopsis*. *Genetics.* 161: 803-811.
- Rasmussen, J.B., Hammerschmidt, R., Zook, M.N.,** 1991. Systemic induction of salicylic acid accumulation in cucumber after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Physiology.* 97: 1342-1347.
- Reuveni, R., Perl, M.,** 1979. Peroxidase isozymes specificity in abscission zone fragments of pepper leaves affected by powdery mildew or stress condition. *Phytopath. Z.* 96: 208-214.
- Reuveni, R., Ferreira, J.F.,** 1985. The Relationship Between Peroxidase Activity and the Resistance of Tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) to *Verticillium dahliae*. *Phytopath. Z.*, 112: 193-197.
- Roby, D., Gadelle, A., Toppan, A.,** 1987. Chitin oligosaccharides as elicitors of chitinase Activity in melon plants. *Biochem Biophys Res Commun* 143: 885-892.
- Rodriguez Maranon, M.J., Mercier, D., Van Huystee, R.B., Stillman, M.J.,** 1994. Analysis of the optical absorption and magnetic-circular-dichroism spectra of



- peanut peroxidase: electronic structure of a peroxidase with biochemical properties similar to those of horseradish peroxidase. *Biochem. J.* 301: 335-341.
- Romantschuk, M.**, 1992. Attachment of plant pathogenic bacteria to plant surfaces. *Annual Review of Phytopathology*,30: 225-243.
- Ross, A.**, 1966. Systemic effects of local lesion formation. In: Beemster, A., Dykstra, S. (Eds.), *Viruses in Plants*. North-Holland, Amsterdam, pp. 127-150.
- Ryan, C.A.**, 1988. Oligosaccharides as recognition signals for the expression of defensive genes in plants. *Biochemistry* 27: 8879-8883.
- Schottens-Toma, I.M.J., De Wit, P.J.G.M.**, 1988. Purification and primary structure of a necrosis-inducing peptide from apoplastic fluids of tomato infected with *Cladosporium fulvum* (syn. *Fulvia fulva*). *Physiol Mol Plant Pathol* 33: 59-67.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekât, L., Leblebici, E.**, 1998. Tohumlu Bitkiler Sistematigi, Ege Üniversitesi Basımevi, 5. baskı s:269 Bornova-İZMİR.
- Seevers, P.M., Daly, J.M., Catedral, F.F.**, 1971. The role of peroxidase isoenzymes in resistance to wheat stem rust disease. *Plant Physiol.* 48: 353-360.
- Sevgican, A.**, 1999. Örtüaltı Sebzeçiliği. Cilt I. E.Ü. ziraat Fakültesi Yayınları No: 528. ISBN 975-483-384-2, İzmir.
- Sinha, A.P., Singh, K., Mukhopadhyay, A.N.**, 1988. *Soil Fungicides*, Vol:2. CRS Press, Boca Raton, Florida. p165
- Smith, D.A.**, 1982. Toxicity of phytoalexins. pp. 218-52.
- Smith, J.A., Fulbright, D.W., Hammerschmidt, R.**, 1991. Rapid induction of systemic resistance in cucumber by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 38, 223-235.
- Staskawicz, B.J., Dahlbeck, D., Keen, N.T.**, 1984. Cloned avirulence gene of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* determines race-specific incompatibility on *Glycine max* (L.) Merr. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, 81: 6024-6028.
- Steubing, B.L.**, 1965. *Pflanzenökologisches practicum* Paul Parey, Berlin.
- Sticher, L., Mauch-Mani, B., Metraux, J.**, 1997. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 35, 235-270.

- Strobel, N., Kuć, J.,** 1995. Chemical and biological inducers of systemic resistance to pathogens protect cucumber and tobacco plants from damage caused by paraquat and cupric chloride. *Phytopathology* 85, 1306-1310.
- Thordall-Christensen, H., P.L. Gregersen, J. B. Andersen, V. Smedegard-Petersen,** 1987. Induction of defence reactions in plants. *Journal of agricultural science in Finland*, 59(3): 231-249.
- Timmis, J.N., Whisson, D.L., Binns, A.M., Mayo, M.J., G.M.E.,** 1990. Deletion mutation as a means of isolating avirulence genes in flux rust. *Theor. Appl. Genet.*, 79: 411-416.
- Tiryaki, İ., Tunaz, H.,** 2004. Systemic acquired resistance: Characterization of genes associated with plant defence response. *Journal of Cell and Molecular Biology* 3: 9-14, Haliç University, Printed in Turkey.
- Topal, C.,** 2003. Biber (*Capsicum annuum* L.) Serasında Bazı Fungusitlerin ve Bitki Aktivatörünün Toprağın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Anabilim Dalı. 93 sayfa. Bilim Dalı Kodu: 501.13.01 Bornova-İzmir.
- Tosun, N., Delen, N.,** 1996. Pestisitlerin suda ve toprakta hareketlilikleri ve kalıcılıkları. II. Ulusal Zirai Mücadele İlaçları Sempozyumu. 232-238 Ankara.
- Tosun, N.,** 2001. Tarımsal savaşımında göz önüne alınacak noktalar. Çivril Sempozyumu Bildiriler.
- Tosun, N., Türküsay, H., Akı, C., Karabay, N.Ü., Türkan, İ.,** 2001. Domatesin Önemli Fungal ve Bakteriyel Hastalıklarının Kontrolünde Antimikrobiyal Bileşikler, Bitki Aktivatörleri ve Biostimulantların Etkileri. Proje No: 2000 ZRF 002. Ege Üniversitesi Araştırma Fonu Projesi. Bornova - İzmir.
- Tosun, N., Ergün, A.,** 2002. Bitkisel Üretimde ve Tarımsal Savaşımında Yeni Bir Yaklaşım Olarak Bitki Aktivatörlerinin Rolü. TAYEK/TYUAP 2002 Yılı Tarla Bitkileri Grubu Bilgi Alışveriş Toplantısı Bildirileri. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Yayın No: 109. 248-263.
- Tör, M.,** 1998. Bitkilerde Moleküler Konukçu-Patojen İlişkilerindeki Son Gelişmeler. *Tr. J. of Biology, TÜBİTAK*, 22: 271-285
- Tüzel, Y.,** 1996. Ekolojik Tarım. Ekolojik Tarım Organizasyonu Derneği (ETO) Bornova – İzmir.

- Tüzüner, A., Kurucu, A., Gedikoğlu, S., Eyüpoğlu, M., Börekçi, Ü., Sönmez, E., Açar, A.,** 1990. Toprak ve Su Analiz Laboratuvarı El Kitabı, Tarım Orman ve Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Uritani, I.,** 1976. Oxidative enzymes. In: Physiological Plant Pathology, Heitefuss, R., and Williams, P.H., (Eds.), pp. 509-521. Springer-Verlag, New York.
- Vanderplank, J.E.,** 1986. Specific susceptibility and specific in gene-for-gene systems. *Advances in Plant Pathology*, 5:199-233.
- Van den Ackerveken, A.F.J.M., Van kan, J.A.L., de Wit, P.J.G.M.,** 1991. Molecular evidence supporting the gene-for-gene hypothesis in the *Cladosporium fulvum*-tomato interaction. *Plant Journal*, 2: 359-366.
- Van Loon, L.C., Van Kammen, A.,** 1970. *Virology*, 40: 199-211.
- Van Loon, L.C.,** 1976. *J. Gen. Virol.*, 30: 375-379.
- Van Loon, L.C.,** 1982. In Wood, R.K.S. (ed), *Active Defense Mechanisms in Plants*. Plenum, New York, pp. 247-273.
- Van Loon, L.C.,** 1985. *Plant Mol. Biol.*, 4: 111-116.
- Van Loon, P., Bakker, H., Pieterse, C.,** 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36, 453-483.
- Ware, W.G.** 1993. *The Pesticide Book*. 4th Edition. Thomson Publications p.384.
- Wei, Z.M., Laby, R.J., Zumoff, C.H., Bauer, D.W., He, S.Y., Collmer, A., Beer, S.V.,** 1992. Harpin, Elicitor of the Hypersensitive Response Produced by the Plant Pathogen *Erwinia amylovora*. *Science* Vol 257: 3 July.85-88.
- Weinstein, L.I., Hahn, M.G., Albersheim, P.,** 1981. Host-pathogen interactions XVIII. Isolation and biological activity of glycinol, a pterocarpan phytoalexin synthesized by soybeans. *Plant Physiol.* 68: 358-63.
- Weinstein, L.I., Albersheim, P.,** 1983. Host-pathogen interactions XXIII. The mechanisms of the antibacterial action of glycinol, a pterocarpan phytoalexin synthesized by soybeans. *Plant Physiol.* 72: 557-63.
- Weng, Z., Hendrick, M., Maesmans, G., Gebruers, K., Tobback, P.,** 1991. Thermostability of soluble and immobilized horseradish peroxidase. *J. Food Sci.* 56: 574-578.
- West, C.A.,** 1981. Fungal elicitors of the phytoalexin response in higher plants. *Naturwissenschaften* 68: 447-457.

- Westeijn, E.A.**, 1976. Peroxidase activity in leaves of *Nicotiana tabacum* var. Xanthi nc. Before and after infection with tobacco mosaic virus, with respect to the hypersensitive reaction. *Physiol. Plant Path.* 8: 63-71.
- White, R.F.**, 1979. Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco. *Virology.* 99: 410-412.
- Willis, D.K., Rich, J.J., Hrabak, E.M.**, 1991. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 4, 132.
- Zülâl, A.**, 1999. "Sürdürülebilir Tarım", *Tübitak Bilim ve Teknik Dergisi*, Mayıs Sayısı.

## 9. TEŞEKKÜR

Araştırma konumun belirlenmesinden, yüksek lisans tezimin hazırlanmasına kadar her aşamada bana yol gösteren, ilgi ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Cüneyt AKI' ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Literatür araştırmalarım sırasında bilgi ve tecrübeleriyle bana yardımcı olan Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Necip TOSUN' a ve asistan arkadaşım Araştırma Görevlisi Ersin KARABACAK' a, laboratuvar analizlerim boyunca bana her türlü laboratuvar imkanı sağlayan Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji ve Kimya Bölüm Başkanlığı'na, ayrıca analiz aşamasında yardımlarını gördüğüm arkadaşlarım Esra GÜNEYSU, Ayşe YAZICI ve Esin SÜREN' e, harita ve fotoğrafların hazırlanması sırasındaki yardımlarından dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ERDUĞAN ve Araştırma Görevlisi arkadaşım Canan Zehra EKREM' e, domates yetiştiriciliği konusundaki bilgilerini benimle paylaşan Ziraat Mühendisi Ömer, Ahmet, Serdar ve Tümer Beylere teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde büyük emekleri olan, eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli aileme ve özellikle bitkilerin yetiştirilmesi sırasında çok büyük emek harcayan ve bana destek olan anneme ve babama teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca bu araştırmayı 2003/10 Nolu proje ile destekleyen Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna da çok teşekkür ederim.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı-Soyadı** : Nigâr ÇETİN  
**Doğum Yeri** : Biga/ÇANAKKALE  
**Doğum Tarihi** : 27.08.1979  
**e-mail** : [nigarc@comu.edu.tr](mailto:nigarc@comu.edu.tr), [nigarc2000@yahoo.com](mailto:nigarc2000@yahoo.com)

**Lisans Eğitimi (1995-1999)** : Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, BURSA

**Yüksek Lisans (2001-2004)** : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, ÇANAKKALE

### Staj

1998-1999 : Bursa Anadolu Lisesi, Biyoloji Öğretmenliği Stajı  
Temmuz-Ağustos 1999 : Biga Devlet Hastanesi Laboratuvarı (İsteğe Bağlı Staj)

### Katıldığı Bilimsel Toplantılar

25-29 Ağustos 2003 : XIII. Biyoteknoloji Kongresi, ÇANAKKALE (Dinleyici)  
21-24 Haziran 2004 : XVII. Ulusal Biyoloji Kongresi, ADANA (Poster Bildiri)

### Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

**Çetin, N.**, Akı, C., 2004. Domatesin Biyolojik Preparatlar ile Uyarılmasıyla Toplam Protein Miktarı ve peroksidaz Enzim Aktivitesinde Meydana Gelen Değişikliklerin Saptanması. *XVII. Ulusal Biyoloji Kongresi*, 21-24 Haziran, ADANA

### Mesleki Deneyim

1999-2000 : Demirci Konservenlik (Dem-ko) A.Ş. , Kalite Kontrol Uzmanı  
2002- : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Araştırma Görevlisi

### Yabancı Dil

İngilizce (ÜDS: 63.750)

## **EKLER**

	<b>Sayfa</b>
Ek 1. Tarlanın Ekime Hazırlanmasından Sonra Genel Görünümü (A ve B).....	102
Ek 2. Fidelerin 5. Hafta Sonunda Seradaki Görünümü (A ve B).....	103
Ek 3. Fidelerin 6. Hafta Sonunda Seradaki Görünümü (A ve B).....	104
Ek 4. Fidelerin 8. Hafta Sonunda Tarlaya Ekimi.....	105
Ek 5. İlk Preparat Uygulaması Sırasında Deneme Tarlasının Genel Görünümü.....	105
Ek 6. İlk Preparat Uygulaması Sırasında Domates Sıralarından Bir Görünüm.....	106
Ek 7. İlk Uygulamadan Bir Hafta Sonra Kontrol Grubunun Görünümü.....	106
Ek 8. İlk Uygulamadan Bir Hafta Sonra Messenger Spreylenen Grubun Görünümü....	107
Ek 9. Analizler İçin Laboratuara Getirilen Bitkiler.....	107
Ek 10. İkinci Uygulamadan Bir Hafta Sonra Messenger-Trichodex Kombinasyonu Uygulanan Grubun Görünümü.....	108
Ek 11. İkinci Uygulamadan Bir Hafta Sonra Bion-Trichodex Kombinasyonu Uygulanan Grubun Görünümü.....	108
Ek 12. Üçüncü Uygulamadan Bir Hafta Sonra Bitkilerin Genel Görünümü.....	109
Ek 13. Messenger-Trichodex Kombinasyonu Uygulanan Gruptan Elde Edilen Domateslerin Genel Görünümü.....	109