T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FASULYEDE *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*' YE KARŞI DAYANIKLILIK MEKANİZMALARININ BELİRLENMESİ

Badel UYSAL ŞAHİN

DOKTORA TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Eylül-2019
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Badel UYSAL tarafından hazırlanan "Fasulyede *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*'' ye Karşı Dayanıklılık Mekanizmalarının Belirlenmesi" adlı tez çalışması 04/09/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	**İmza**
Başkan Prof. Dr. Cumhur ÇÖKMÜŞ	.....
Danışman Doç. Dr. Kubilay Kurtuluş BAŞTAŞ	.....
Üye Prof. Dr. Nuh BOYRAZ	.....
Üye Prof. Dr. Mustafa Mirik	.....
Üye Dr. Öğr. Üyesi Serkan YEŞİL	.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ
FBE Müdürü

Bu tez çalışması BAP tarafından 17201008 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

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

DECLARATION PAGE

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

Badel UYSAL ŞAHİN
Tarih: 04.09.2019

ÖZET

DOKTORA TEZİ

Fasulyede *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*' ye Karşı Dayanıklılık Mekanizmalarının Belirlenmesi

Badel UYSAL ŞAHİN

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Kubilay Kurtuluş BAŞTAŞ

2019, 150 Sayfa
Jüri
Doç. Dr. Kubilay Kurtuluş BAŞTAŞ
Prof. Dr. Cumhur ÇÖKMÜŞ
Prof. Dr. Nuh BOYRAZ
Prof. Dr. Mustafa MİRİK
Dr. Öğr. Üyesi Serkan YEŞİL

Bu çalışma, *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* patojenlerine karşı hassas (Aras-98) ve dayanıklı (36-K) fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) çeşitlerinde dayanıklılık reaksiyonlarının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. İklim odası koşullarında yetiştirilen fasulye fideleri 4 haftalık döneme geldiğinde stok kültürden Nutrient Agar (NA) besi yerinde 48 saat geliştirilen *P. s.* pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) ve *X. a.* pv. *phaseoli* izolatları (120-x ve 145-x) 10^8 hücre ml^{-1} yoğunlukta süspansiyon halinde hazırlanarak Polifenoloksidaz (PPO), Peroksidaz (POX), Katalaz (CAT), Süperoksit dismutaz (SOD), Askorbat peroksidaz (APX), Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL) enzim aktiviteleri, Çözünebilir Toplam Protein Miktarı ve Prolin içeriğini belirlemek üzere bitkilere inokule edilmiştir. Bakteriyel inokulasyon sonrası 0., 12., 24., 36. ve 72. saatlerde kontrol bitkiler de dahil olmak üzere 1'er gram yaprak örneği alınmıştır. Ayrıca bakteriyel inokulasyon sonrası 24. saatte bitkilerden alınan yaprak numuneleri bakterilerin yaprak yüzeyinde oluşturdukları kolonizasyon ve biyofilm oluşumunun tespiti amacıyla Scanning Elektron Mikroskopta (SEM) incelenerek görüntüler elde edilmiştir. İki farklı fasulye çeşidinde de yapılan analizler sonrası tüm enzim aktiviteleri, çözünebilir toplam protein ve prolin miktarında çeşit, bakteri ve zamana göre önemli farklılıklar belirlenmiştir ($P < 0.01$). Kontrole göre *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* için en yüksek PPO enzim aktivitesi sırasıyla 329.67± 6.88 ve 617.00 ± 16.62 ünite olarak 24. saatte; POX enzim aktivitesi ise kontrole kıyasla % 198,40'lık bir artış ile *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 36. saatte 36-K genotipinde saptanmıştır. En yüksek SOD enzim aktivitesi 13,51 $Ügr^{-1}$/YA artış miktarı ile *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 36. saatte Aras-98 çeşidinde saptanmıştır. CAT için en yüksek artış miktarı *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 72. saatte 0,4087 $mmol/g^{-1}YA/da^{-1}$enzim miktarı ile APX için en yüksek enzim aktivitesi ise *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 36. saatte 7.93 ± 0.83 $mmol/g^{-1}YA/da^{-1}$enzim miktarı ile 36-K genotipinde saptanmıştır. PAL enzim aktivitesi için en yüksek değer 34.91 ± 0.41 μmol gr^{-1} sinnamik asit $saat^{-1}$ enzim miktarı ile *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 36. saatte 36-K fasulye genotipinde saptanmıştır. SEM görüntüleri incelendiğinde *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonundan 24 saat sonra Aras-98 çeşidi yaprak yüzeyinde bakterinin belirgin bir şekilde çoğaldığı ve biyofilm oluşumunun gözlemlendiği, ancak 36-K fasulye genotipi yaprak yüzeyinde bakteri yoğunluğunun hassas çeşide oranla daha az ve biyofilm oluşumunun henüz başladığı belirlenmiştir. Sonuç olarak fasulyede bakteriyel hastalıklarla mücadelede en etkili yöntemin genetik dayanıklılık olduğu ve dayanıklılık mekanizmasının daha iyi anlaşılması ile çevre dostu ve daha başarılı sonuç alınabileceği öngörülmüştür.

Anahtar Kelimeler: fasulye, enzim, *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, dayanıklılık

ABSTRACT

Ph.D THESIS

Determination of Resistance Reactions Against *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* and *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* in Bean

Badel UYSAL ŞAHİN

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

Advisor: Doç. Dr. Kubilay Kurtuluş BAŞTAŞ
2019, 150 Pages

Jury
Assoc.Prof.Dr. Kubilay Kurtuluş BAŞTAŞ
Prof. Dr. Cumhur ÇÖKMÜŞ
Prof. Dr. Nuh BOYRAZ
Prof. Dr. Mustafa MİRİK
Asst.Prof.Dr. Serkan YEŞİL

The present study was carried out to determine activities of the main antioxidant enzymes Polyphenoloxidase (PPO), Peroxidase (POX), Catalase (CAT), Superoxide dismutase (SOD), Ascorbate peroxidase (APX), Phenylalanine Ammonium Lyase (PAL), Total Soluble Protein and Proline content against to *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (510-p and 522-p) and *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* on susceptible and resistant bean varieties. Four-weeks-old bean seedlings were treated by inoculating with *P. s.* pv. *phaseolicola* and *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x and 145-x) cell suspension, (10^8 cfu ml^{-1}), obtained from growing the bacterial strains on nutrient agar at 48 hours. One g sample for each sample was collected from pathogen-inoculated and uninoculated bean plants immediately at 0, 12^{th}, 24^{th}, 48^{th}, 72^{nd} hours. In addition, leaf samples were collected from plants at 24 hours after bacterial inoculation was examined by Scanning Electron Microscope in order to determine bacterial colonization and biofilm formation on the bean leaf surface. The Results of all enzyme activities, total soluble proteins and proline values were significantly different ($P<0.01$) in infected plants. The highest PPO enzyme activity for *P. s.* pv. *phaseolicola* and *X. a.* pv. *phaseoli* was observed as 329.67 ± 6.88 and 617,00 ± 16.62 units, respectively, in 36-K genotype in the post-inoculation at 24th hour. POX enzyme activity increased by 198.40 % in 36-K genotype after the post-inoculation with *P. s.* pv. *phaseolicola* at the 36th hour. The highest SOD enzyme activity was recorded with 13.51 Ugr^{-1}/FW in Aras-98 in the post inoculation with *X. a.* pv. *phaseoli* at 36th hours. CAT and APX enzyme activities were found as the highest 0.4087 mmol/g^{-1} FW /da^{-1} and 7.93 ± 0.83 mmol/g^{-1} FW/da^{-1} 36-K genotype the post-inoculation with *P. s.* pv. *phaseolicola* at 72nd and at 36th hours, respectively. The highest PAL enzyme activity value was 34.91 ± 0.41 µmol g^{-1} cinnamik acid h^{-1} in 36-K genotype at 36th hour after *P. s.* pv. *phaseolicola* inoculation. The SEM screening of bacterial proliferation and biofilm production were higher in Aras-98 than 36-K genotype on leaf surface at 24th hour. As a result it is foresee that the most effective control method is genetic resistance against plant bacterial disesases and better understanding of genetic resistance to achieve an environmentally friendly and more successful results.

Keywords: bean, enzyme, *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, resistance

ÖNSÖZ

Tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici olan, destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen öğrencisi olmaktan büyük onur duyduğum değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Kubilay Kurtuluş BAŞTAŞ'a en derin minnet ve şükranlarımı sunuyorum.

Doktora Tez İzleme Komitesi üyelerinden değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Mustafa MİRİK ve Sayın Prof. Dr. Nuh BOYRAZ'a yapıcı ve yönlendirici fikirleriyle çalışmamın her aşamasında bana yol gösterdikleri için sonsuz şükranlarımı sunuyorum.

Maddi destek veren Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışma materyalim olan bakteriyel patojenlerin temininde yardımlarından dolayı Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen DÖNMEZ'e,

Çalışmalarım sırasında bana gösterdiği sabır ve destek için Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bölüm Başkanı Sayın Doç. Dr. Celalettin GÖZÜAÇIK'a,

Çalışmalarım esnasında her türlü desteği ile yardımıma koşan Iğdır Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ayşe TÜRKAN'a,

Tezimin istatistiksel analizlerinde yardımını esirgemeyen Iğdır Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi İşletme Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Ecevit EYDURAN'a,

Manevi desteğini esirgemeyen fikirleriyle beni aydınlatan Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Öğr. Üyesi Sayın Doç. Dr. Sadiye Peral EYDURAN ve Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü Öğr. Üyesi Sayın Doç. Dr. Yakup Erdal ERTÜRK'e,

Iğdır Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (ALUM) cihaz, alet ve ekipmanların kullanımında yardımını esirgemeyen ALUM müdürü ve Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Uğur ŞİMŞEK'e,

Çalışmam sırasında değerli yardımlarını esirgemeyen Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Mücahit PEHLUVAN'a,

Çalışmam sırasında desteğiyle hep yanımda olan sevgili arkadaşım Arş. Gör. Berna DOĞRU ÇOKRAN'a,

Çalışmalarım esnasında desteklerini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Ziraat Yüksek Müh. Özgür AZAPOĞLU, Ziraat Yüksek Müh. Kezban BÜYÜKDEVECİ, Ziraat Yüksek Müh. Duygu KÖMÜRCÜ, Ziraat Müh. Fatmanur KURU, Arş. Gör. Ayşegül GEDÜK, Ziraat Müh. Tibebu BELETE, Ziraat Müh. Belgacem HATTAB'a, Ziraat Yük. Müh, Harris BUTT'a çok teşekkür ediyorum.

Çalışmalarım esnasında desteğini tüm kalbimle hissettiğim sevgili arkadaşım Arş. Gör. Ayşe KARADAĞ GÜRSOY'a,

Tüm üniversite hayatım boyunca olduğu gibi doktora çalışmalarım sırasında da manevi desteğiğini hiç esirgemeyen sevgili arkadaşım Biyolog Beyza KARAHAN'a,

Ve başarıya ulaştığımda O'nda yaratacağı mutluluk ve heyecan hissini düşünerek zorluklarla mücadele ettiğim, hedeflerime varmak için yürüdüğüm yollar, çektiğim sıkıntılar, yaşadığım mutluluklar ve daha birçok şeyde ardımda bir dağ misali var olan, her daim bana güvenen canım babam Nazım UYSAL başta olmak üzere sevgili anneme sevgili kardeşime ve sevgili eşime minnet ve şükranlarımı sunarım.

Badel UYSAL ŞAHİN
KONYA-2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

ÇİZELGELER LİSTESİ ..... **xi**

ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **xii**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **xv**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **6**

2.1. Fasulye Yetiştiriciliği 6

2.2. Fasulyede *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*'nin Genel Özellikleri 8

2.3. Fasulyede Çeşit Reaksiyonları 11

2.4. Fasulyede Stres Dayanıklılığı İle İlgili Enzim Çalışmaları 14

2.4.1. Fasulyede *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* Karşı Enzim Çalışmaları 16

2.4.2. Fasulyede Diğer Biyotik ve Abiyotik Enzim Çalışmaları 18

2.5. Farklı Bitki ve Patojen İnteraksiyonlarında Enzimatik Reaksiyon Çalışmaları .. 21

2.6. Protein Çalışmaları 27

2.7. Prolin Çalışmaları 29

2.8. Biyofilm Oluşum Çalışmaları 33

3. MATERYAL VE YÖNTEM **37**

3.1. Materyal 37

3.1.1. Bitkisel Materyal 37

3.1.2 Denemelerde Kullanılan Fitopatojen Bakteriler 39

3.1.3. Kullanılan Malzeme, Cihaz ve Kimyasallar 39

3.2.1. Yöntem 40

3.2.2. Bakteriyel İzolatları Tanılama Test Çalışmaları 40

3.2.2.1. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensetive Response=HR) Testi 40

3.2.2.2. Biyokimyasal Testler 41

3.2.2.2.1. Gram Reaksiyon Testi 41

3.2.2.2.2. YDC Besi Yerinde Gelişim 41
3.2.2.2.3. Katalaz Testi 41
3.2.2.2.4. Oxidaz Testi 41
3.2.2.2.5. Nişasta Hidrolizi 42
3.2.2.2.6. Levan Testi 42
3.2.2.2.7. Fluorescent Pigment Üretim Testi 42
3.2.2.3. Patojenisite Testi 43
3.2.2.4. Bakterilerin Yağ Asit Profillerine Göre Tanılanması 43
3.2.3. Enzim Analizleri 45
3.2.3.1. Bitki materyali büyüme koşulları 45
3.2.3.2. Bakteriyel inokulasyon 46
3.2.3.3. Enzim analizleri için bitki örneklerinin alınması 46
3.2.3.4. Polifenoloksidaz (PPO; EC :1.14.18.1) enzim analizi 47
3.2.3.4.1. Polifenoloksidaz (PPO) enzim analizi için ekstrakt çıkarılması işlemi .. 47
3.2.3.4.2. Polifenoloksidaz (PPO) aktivitesinin belirlenmesi 47
3.2.3.5. Katalaz (CAT; EC: 1 .11. 1.6) enzim analizi 48
3.2.3.5.1. Katalaz (CAT) enzim analizi için ekstrakt çıkarılması işlemi 48
3.2.3.5.2. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin belirlenmesi 49
3.2.3.6. Askorbat Peroksidaz (APX; EC: 1.11.1.1) enzim analizi 49
3.2.3.6.1. Askorbat Peroksidaz (APX) enzim analizi için ekstrakt çıkarılması 49
işlemi 49
3.2.3.6.2. Askorbat Peroksidaz (APX) enzim aktivitesinin belirlenmesi 49
3.2.3.7. Süperoksit Dismutaz (SOD; EC: 1.15.1.1) enzim analizi 49
3.2.3.7.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) enzim analizi için ekstrakt çıkarılması
işlemi 49
3.2.3.7.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi 50
3.2.3.8. Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) enzim analizi 51
3.2.3.8.1. Peroksidaz (POX) enzim analizi için ekstrakt çıkarılması işlemi 51
3.2.3.8.2. Peroksidaz (POX) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi 51
3.2.3.9. Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL; EC 4.3.1.5) enzim analizi 52
3.2.3.9.1. Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL) enzim analizi için ekstrakt
çıkarılması işlemi 52
3.2.3.9.2. Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi 52
3.2.4. Prolin Analizi 53

3.2.5. Çözünebilir Toplam Proteinin Belirlenmesi 54
3.2.6. Enfeksiyon sonrası fasulye çeşitlerinde bakteriyel kolonizasyonun tespiti .. 55
3.2.6.1. Bitki materyalinin büyüme koşulları ve inokulasyon 55
3.2.6.2. Bakteriyel İnokulasyon Hazırlama 55
3.2.6.3. Scanning Elektron Mikroskopta (SEM) İncelenmek Üzere Bitki Örneklerinin Alınması 56
3.2.8. İstatistiksel Analizler 57

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 58

4.1. Bakteri Tanılama Test Sonuçları 58
4.1.2. Biyokimyasal Test Sonuçları 58
4.1.2.1. Gram Reaksiyon Testi 58
4.1.2.2. YDC Besi Yerinde Gelişim 58
4.1.2.3. Katalaz Testi 58
4.1.2.4. Oksidaz Testi 59
4.1.2.5. Nişasta Hidrolizi 59
4.1.2.6. Levan Testi 59
4.1.1. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensetive Response=HR) Testi 59
4.1.3. Patojenisite Testi Sonuçları 60
4.1.4.Bakterilerin Yağ Asit Profillerine Göre Tanılanması 63
4.2. Enzim Analizleri Sonuçları 64
4.2.1. Polifenoloksidaz (PPO) enzim analizi sonuçları 64
4.2.2. Katalaz (CAT) Enzim Analizi Sonuçları 70
4.2.3. Askorbat Peroksidaz (APX, EC 1.11.1.11) Enzim Analizi Sonuçları 75
4.2.4. Süperoksit Dismutaz (SOD) enzim analizi sonuçları 80
4.2.5. Peroksidaz (POX) enzim analizi sonuçları 85
4.2.6. Fenil Alanin Amonyum Liyaz (PAL) Enzim Analizi Sonuçları 91
4.3. Çözünebilir Toplam Protein Tayini Sonuçları 97
4.4. Prolin Tayini Sonuçları 101
4.5. Enfeksiyon Sonrası Fasulye Çeşitlerinde Bakteriyel Kolonizasyon Tespiti Sonuçları 106

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 108

5.1. Sonuçlar 108

5.2. Öneriler 111

KAYNAKLAR 114

EKLER 141

ÖZGEÇMİŞ 149

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 1.1. Türkiyede 2017 yılı yemeklik tane baklagil ekim alanı, üretim ve verim değerleri…….1

Çizelge 2.1. 2016 yılı verilerine göre Dünya'da fasulye (taze ve kuru) üretiminde önde gelen ülkelerin üretim miktarları, ekim alanı ve değerleri……..6

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan fasulye çeşit/genotiplere ait tohumların bazı özellikleri……..37

Çizelge 4.1. *P. s.* pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) ve *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) izolatlarınıntanılama testleri sonuçları ……63

Çizelge 4.2. PPO enzim aktivitesi bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokule edilmiş fasulye çeşit/genotip ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme ……68

Çizelge 4.3. CAT aktivitesi bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokule edilmiş fasulye çeşit/genotip ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme ……73

Çizelge 4.4. APX aktivitesi bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokule edilmiş fasulye çeşit/genotip ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme……78

Çizelge 4.5. SOD aktivitesi bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* ile inokule edilmiş fasulye çeşit/genotip ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme…….83

Çizelge 4.6. POX aktivitesi bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* ile inokule edilmiş fasulye çeşit/genotip ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme…….89

Çizelge 4.7. PAL Aktivitesi bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* İnokule edilmiş fasulye çeşit/genotip ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme……95

Çizelge 4.8. Protein aktivitesi bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokule edilmiş fasulye çeşit/genotip ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme……99

Çizelge 4.9. Prolin aktivitesi bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokule edilmiş fasulye çeşit/genotip ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme ……104

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1. Aras-98 çeşidi, A; Aras-98 çeşidine ait tohum, B; Aras-98 çeşidine ait fideler. 38

Şekil 3.2. 36-K genotipi, A; 36-K genotipine ait tohum, B; 36-K genotipine ait fideler 38

Şekil 3.3. *P savastanoi* pv. *phaseolicola* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*'nin Nutrient Agar (NA) besi yerindeki gelişimi, A; *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (510-p), B; *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*'nin (145-x) Nutrient Agar (NA) besi yerindeki gelişimi..... …….....39

Şekil 3.4. MIS (Mikrobiyal Tanılama Sistemi) sistemi, A; bakteri strainlerinin yağ asitlerini elde etmek için kullanılan çözeltiler, B; bakteri izolatlarının MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirilmesi 45

Şekil 3.5. İklim odası koşullarında yetiştirilen test bitkileri 45

Şekil 3.6. Bakteriyel solüsyonların bitki yapraklarına infiltrasyonu.....46

Şekil 3.7. Polifenoloksidaz enzim analizinin yapılışı: A; yaprak örneklerinin homojenize edilmesi, B; elde edilen homojenasyonun süzülmesi, C; elde edilen homojenat …… ..... ……..47

Şekil 3.8**.** Peroksidaz enzim aktivitesi spektrofotometrik okuma: A; spektrofotometre, B; enzim reaksiyonu sonrası ortaya çıkan renk değişimi 48

Şekil 3.9. CAT içinYaprak Örneklerinin Homojenize Edilmesi (A), Santrifüj (B) ve Elde Edilen Süpernatant (C)…….....48

Şekil 3.10. Süperoksit dismutaz enzim analizinin yapılışı: A; reaktif karışımını oluşturan kimyasallar, B; reaksiyon karışımı 51

Şekil 3.11. Peroksidaz enzim analizinin yapılışı, A; pipetleme işlemi, B; spektrofotometrik ölçüm, C; enzimatik reaksiyon sonrası meydana gelen renk değişimi 52

Şekil 3.12. Fenilalanin amonyum liyaz enzim analizinin yapılışı: A ve B; enzim reaksiyon çözeltisinin 37 ^{o}C'de inkübasyonu, C; inkübasyon sonrası reaksiyon karışımının son hali 53

Şekil 3.13. Prolin analizinin yapılışı, A; homojenasyonun filtre edilmesi, B; filtrasyon sonrası elde edilen çözeltinin buz banyosunda bekletilmesi, C; çözeltinin son hali 54

Şekil 3.14. Çözünebilir Toplam Protein tayininin yapılışı, A; protein ekstraktlarının santrifüjü sonrası elde edilen süpernatant, B; Bradford çözeltisi, C; Spektrofotometrik okuma..... 55

Şekil 4.1. *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (510-p) ve *Xanthomonas axonopodis* pv.*phaseoli* 145-x izolatlarının tütünde oluşturduğu aşırı duyarlılık simptomu……. 60

Şekil 4.2. Enfeksiyon sonrası A-98 fasulye çeşidi ve 36-K fasulye genotipinde oluşan tipik simptomlar, A; Aras 98 fasulye çeşidi *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 7. gün, B; Aras 98 fasulye çeşidi *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 28. gün, C; Aras 98 fasulye çeşidi *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 7. gün, D ve E; Aras 98 fasulye çeşidi *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 28. gün, E; 36-K fasulye genotipinde *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 28. gün meydana gelen tipik simptom 61

Şekil 4.3. Biyokimyasal testler, A; *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x) gram reaksiyon testi (pozitif), B; *P. s.* pv. *phaseolicola* (510-p) gram reaksiyon testi (pozitif), C; *P. s.* pv. *phaseolicola*'nın (510-p,522-p) YDC besi yerinde gelişimi D; *X. a.* pv. *phaseoli*'nin (120-x,145-x) YDC besi yerinde gelişimi, E; *X. a.* pv. *phaseoli*'nin (145-x) katalaz testi sonucu oluşturduğu gaz kabarcıkları, F; *P. s.* pv. *phaseolicola*'nın (522-p) katalaz testi sonucu oluşturduğu gaz kabarcıkları, G; *P. s.* pv. *phaseolicola*'nın Oksidaz testi (Negatif), H; *X. a.* pv. *phaseoli*'nin Oksidaz testi (Negatif), I; , *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) nişasta hidrolizi testi sonucu (pozitif), J; *P. s.* pv. *phaseolicola*'nın (510-p ve 522-p) nişasta hidrolizi testi sonucu (negatif), K; *P. s.* pv. *phaseolicola*'nın NA besi yerindeki gelişimi, L; *P. s.* pv. *phaseolicola*'nın KB besi yerinde fluoresan pigment üretimi 62

Şekil 4.4. Polifenoloksidaz (PPO) enzim analizi, A; *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, B; *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipi, C; *X. a* .pv. *phaseoli* (120-x,145-x) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, D; *X. a* .pv. *phaseoli* (120-x,145-x) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipinde zamana bağlı enzimatik reaksiyonların değişimi 69

Şekil 4.5. Katalaz (CAT) enzim aktivitesi, A; *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, B; P. s. pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipi, C; *X. a* .pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, D; *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipinde zamana bağlı enzimatik reaksiyonların değişimi 74

Şekil 4.6. Askorbat peroksidaz (APX) enzim aktivitesi, A; *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, B; *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipi, C; *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, D; *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipinde zamana bağlı enzimatik reaksiyonların değişimi 79

Şekil 4.7. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi, A; *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, B; *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası 36 K fasulye genotipi, C; *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, D; *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipinde zamana bağlı enzimatik reaksiyonların değişimi…. 84

Şekil 4.8. Peroksidaz (POX) enzim aktivitesi, A; *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, B; *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipi, C; *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, D; *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipinde zamana bağlı enzimatik reaksiyonların değişimi 90

Şekil 4.9. Trans-Sinnamik Asit Standart Eğrisi 94

Şekil 4.10. Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL) enzim aktivitesi, A; P. s. pv. phaseolicola (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, B; P. s. pv. phaseolicola (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipi, C; *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, D; *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipinde zamana bağlı enzimatik reaksiyonların değişimi 96

Şekil 4.11. Bovin Serum Albumin (BSA) Standart Eğri Grafiği 99

Şekil 4.12. Çözünebili Toplam Protein miktarı, A; *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidinde, B; *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipinde, C; *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidinde, D; *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipinde zamana bağlı enzimatik çözünebilir toplam protein miktarının değişimi 100

Şekil 4.13. Prolin Standart Eğri Grafiği 103

Şekil 4.14. Prolin aktivitesi, A; *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidinde, B; *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipinde, C; *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidinde, D; *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipinde bağlı enzimatik çözünebilir prolin miktarının değişimi 105

Şekil 4.15. Aras-98 fasulye çeşidi ve 36-K fasulye genotipi yapraklarında *P. s.* pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) ve *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası SEM görüntüleri, A; Aras-98 fasulye çeşidinde *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 24. saat görüntüleri, B; Aras-98 fasulye çeşidinde *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 24. saat görüntüleri, C; 36-K fasulye genotipinde *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 24. saat görüntüleri, D; 36-K fasulye genotipinde *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 24. saat görüntüsü ……..... 107

SİMGELER VE KISALTMALAR

APX: Askorbat peroksidaz

BSA: Bovin Serum Albumin (Sığır Serum Albumini)

CAT: Katalaz

DMF: Dimetilformamid

EC: Enzim Kod Numarası

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid

FW: Fresh Weight

g: Gram

H_2O_2: Hidrojen Peroksidaz

HR: Hypersensitive reaction (Aşırı duyarlılık reaksiyonu)

KB: King's medium B

KOH: Potasyum Hidroksit

MBTH: 3-metil-2-benzotiyoazolinon

mM: Milimolar

nm: Nanometre

mmol: Milimol

µmol: Mikromol

NaCl: Soydum Klolür

OH^-: Hidroksil Radikali

O_2^-: Oksijen Radikali

PAL: Fenilalanin amonyum liyaz

PPO: Polifenoloksidaz

POX: Peroksidaz

pv: pathovar

QS: Quorum Sensing

OD: Okunan Değer

SOD: Süperoksit Dismutaz

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

Ü: Ünite

YA: Yaş Ağırlık

YDC: Yeast extract kalcium karbonat agar

1. GİRİŞ

İnsan beslenmesinde bitkisel proteinlerden %22, karbonhidratlardan %7; hayvan beslenmesinde proteinlerin %38 ve karbonhidratların %5'i yemeklik tane baklagillerden elde edilmektedir. Bileşiminde %18–31,6 oranında protein içeren yemeklik tane baklagiller, gelişmekte olan ülkelerin beslenme sorununun çözümünde ve beslenmedeki protein açığının giderilmesinde daha etkin ve ekonomik bir bitki grubunu oluşturmaktadır (Singh ve Schwartz, 2010). Baklagiller ucuz ve yüksek kaliteli bitkisel protein kaynağı olmalarının yanında, tahıl tanelerinden yaklaşık iki kat fazla olmak üzere, tohumlarında ortalama olarak % 20-25 oranında protein içerirler (Arnold ve ark., 2011).

Besin değerleri bakımından zengin oldukları gibi yetiştirildikleri toprağa da olumlu etkilerde bulunmaktadırlar. Havanın serbest azotunu toprağa bağlama özellikleri, çevrecilik ve sürdürülebilir tarım açısından faydaları bu bitkilerin önemini daha da artırmaktadır. Baklagiller ile ortak yaşayan *Rhizobium* türü bakteriler, havada serbest halde bulunan, ancak canlılar tarafından direkt olarak yararlanılamayan azotu yaşadıkları ortama bağlayarak köklerinin yayıldığı toprak katlarını organik azotça zenginleştirirler ve gereksinimlerini bu azottan sağlarlar. Yemeklik baklagillerin toprağa bağladıkları azot miktarı çeşide ve çevre koşullarına göre değişmekle beraber, yılda genel olarak 5-20 kg/da dolaylarındadır (Şehirali, 1988).

Baklagiller, dünyanın birincil ürün üretimine % 27 katkıda bulunduğundan aynı zamanda küresel etki kazanmaktadır (Hagedorn ve Inglis, 1986). Dünya verilerine göre en fazla ekim alanına sahip baklagil cinsi 38 225 000 ha (börülce ile beraber) ile fasulyedir (Geçit ve ark., 2009). Türkiye' de 2017 yılı yemeklik tane baklagil ekim alanı, üretim ve verim değerleri Çizelge 1.1' de verilmektedir.

Çizelge 1.1. Türkiyede 2017 yılı yemeklik tane baklagil ekim alanı, üretim ve verim değerleri (TÜİK, 2017)

	Ekim alanı (da)	**Üretim (Ton)**	**Verim (Kg/da)**
Nohut	3 953 099	470 000	120
Mercimek, (Kırmızı)	2 693 181	400 000	149
Fasulye, Kuru	897 221	239000	267
Mercimek, (Yeşil)	232 201	30 000	129
Börülce	14 129	1511	107
Bezelye	9 415	2673	107
Bakla	2 912	6847	235

Baklagiller familyasından besin değeri çok yüksek bir baklagil olan fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) ülkemizde ise hem ekiliş alanı hem de üretim miktarı açısından nohut ve mercimekten sonra 3. sırada yer almaktadır.

Gerek kuru fasulye ve gerekse taze fasulye olarak üretilip tüketilmekte olan fasulye bitkisinde bakteriyel, fungal ve viral patojenlerin neden olduğu bazı hastalıklardan dolayı verim ve kalite önemli ölçüde düşmektedir (Açıkgöz, 1984).

Bitkiler hayat döngüleri boyunca biyotik ve abiyotik strese maruz kalırlar (Gimenez-Ibanez ve Solano, 2013; Hakim ve ark., 2018). Fakat uygulanan birçok mücadele yöntemine rağmen bitkisel üretimde çeşitli etmenlerden dolayı oluşan stres faktörleri hastalıklarla sonuçlanmakta ve ürün kayıpları kaçınılmaz olmaktadır. Dünyada tüm etmenlere dayalı verim kayıpları 500 milyar dolar (USD) olarak tahmin edilmektedir (Oerke, 1994). Hastalıklardan dolayı ortaya çıkan ürün kayıplarının dünyadaki toplam ürünün yaklaşık % 14.1'i olduğu bilinmektedir (Agrios, 2005).

Fasulye üretiminde verim ve kalite kayıplarına neden olan bakteriyel hastalıklar ılık ve nemli koşullarda şiddetli epidemilere (Hall, 1994), fasulye çeşidinin dayanıklılık durumuna ve çevre şartlarına bağlı olarak da % 45'lere kadar verim kayıplarına neden olmaktadırlar (Singh ve Schwartz, 2010).

Fasulyede *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* patojenlerinin neden olduğu bakteriyel hale yanıklığı ve bakteriyel leke hastalığının ülkemizde farklı bölgelerde ciddi kayıplara neden olduğu rapor edilmektedir (Kahveci ve Maden, 1994).

Bakteriyel patojenlerden kaynaklanan kayıpları önlemek için kimyasalların kullanımı, hem ürün maliyetini arttırması hem de çevreye ve diğer canlılara verebileceği olası zararlar yüzünden her geçen gün kısıtlanmaktadır. Bu ürün kayıplarını azaltmak için hastalıklarla mücadelede kimyasal mücadeleye alternatif olarak hastalıklara dayanıklı bitki kullanımına yer verilmelidir. Hastalıklara dayanıklı bitki kullanımı uzun vadede en etkili, en ekonomik ve sağlıklı mücadele stratejisidir. Dolayısıyla bakteriyel hastalıklara dayanıklı ve aynı zamanda agronomik özellikleri yüksek bitki çeşitleri geliştirmek muhtemeldir. Bu yüzden hastalıklara karşı dayanıklı bir bitki ıslah etmek için bitki dayanıklılık mekanizmasının yani dayanıklılık mekanizmalarından sorumlu moleküler ve hücresel olayların ve bu dayanıklılıkta rol oynayan reaksiyonların iyi anlaşılması gerekmektedir.

Bitkilerin kendilerini patojenlerden nasıl koruduklarını anlamak, mevcut gıda tedariğimizi korumak ve hastalıklara dayanıklı bitki türlerinin geliştirilmesi açısından

çok önemlidir (Freeman ve Beattie, 2008). Hastalıklara karşı bitkilerdeki dayanıklılık stratejileri, çevreye kimyasal girdiyi azalttıkları için sürdürülebilir tarıma yönelik çok güçlü yaklaşımlar olması nedeniyle oldukça önemlidir (Waller ve ark., 2005).

Bitkiler patojen saldırısı gibi stres faktörleriyle karşılaştıklarında reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin arttırılması teşvik edilmektedir (Magbanua ve ark., 2007). ROS, normal oksijen metabolizması sırasında belirli bir miktarda oluşan süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalleridir (OH^-) (Mittler, 2017; Mhamdi ve Van Breusegem, 2018; Waszczak ve ark., 2018). Bir tür ROS olan hidrojen peroksit (H_2O_2) ise doğrudan hem patojenlerin hem de konukçu hücrelerin hücre duvarlarındaki proteinler arasındaki oksidatif çapraz bağların ölümüne neden olarak bitkiyi litik enzimlere ve patojen tarafından salgılanan toksinlere karşı daha dirençli hale getirmektedir ancak fazla seviyelerde oluşması toksik etki yaratarak hücreye zarar vermektedir (Mehdy ve ark., 1996). Biyotik ve abiyotik stres koşullarında meydana gelen ROS başlangıçta aerobik metabolizma ürünleri tarafından toksik olarak kabul edilmekle birlikte antioksidanlar ve antioksidan enzimler vasıtasıyla parçalanarak uzaklaştırılmakta veya hücre için zararsız olan molekül ve bileşiklere dönüştürülmektedir (Bailey-Serres ve Mittler, 2006). Enzimler canlı organizmada meydana gelen tüm biyokimyasal reaksiyonları katalize etmekten sorumlu olan ve özel bir protein sınıfında yer alan biyomoleküllerdir. Bitkilerde savunma mekanizması açısından enzimleri değerlendirdiğimizde stres anında bitkiyi korumakta, bitkilerde strese tepki olarak serbest elektron ve buna bağlı olarak da serbest radikal düzeylerinde belirgin bir artış meydana gelmekte farklı mekanizmalarla patojenlerin bitkide hastalık meydana getirmelerini engellemektedir (Çakmak ve ark., 1993; Malolepsza ve Urbanek, 1994; Acar ve ark., 2001; Bor ve ark., 2003; Demiral ve Türkan, 2004; Asada, 2006; Ramzani ve ark., 2017).

Antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD) süperoksiti, hidrojen peroksit ve oksijene parçalayarak bunların bitkiye vereceği zararı önlemekte, katalaz (CAT) yüksek seviyelerde toksik etki gösteren H_2O_2'i su ve oksijene, askorbat peroksidaz (APX) H_2O_2'i su ve monodehidroaskorbata dönüştürerek bitki savunma sistemi içerisinde yer almaktadırlar (Zhu ve ark., 2004). Böylece hücre içerisinde reaktif oksijen türlerinin birikmesi ve toksisiteye neden olması engellenmektedir. Bitkiler sahip oldukları bu savunma sistemleri sayesinde spesifik bir patojenin oluşturduğu yapıları tanılayarak, hastalığa karşı dayanıklılığı sağlayan genleri harekete geçirirler (Dangl ve Jones, 2001; Koç ve Üstün, 2008). Bitki dayanıklılık sistemi harekete geçtiği anda

bitkide bir takım biyokimyasal değişimler meydana gelir. İşte bunlardan bir kısmı da protein yapısındaki enzimlerdir.

Son çalışmalar, bitki dokularında hücresel topluluk oluşturan bakteriyel popülasyonların kantitatif olarak önemli özellikleri olduğuna ve çeşitli bitki türlerinin yüzeylerinde bakteri hücrelerinin topluluk oluşturduğu ve bir yaprak üzerinde bulunan bakterilerin çoğunun, çeşitli şekillerde bir arada toplanma eğiliminde olduğuna dair kanıtlar bulma yönündedir. (Fett, 2000; Monier ve Lindow, 2003). Bitki patojeni bakterilerin, yapraklar üzerinde, kök yüzeylerinde ve bitki dokularının hücreler arası boşlukları içerisinde topluluk şeklinde mikrokoloni, biyofilm oluşturduğu sıkça gözlemlenmiştir (Morris ve ark., 1997). Bitki-bakteri interaksiyonunu anlamak açısından bu tepkiler oldukça önemlidir.

Dayanıklılık çalışmaları, bitki genotiplerinde var olan ve bir veya birden fazla gen tarafından kontrol edilen dayanıklılığın tespit edilmesi, bu dayanıklılığı sağlayan genlerin klonlanması ve agronomik özellikleri çok iyi olan bitkilere klonlanan genlerin transferini içermektedir (Agrios, 2005). Teknolojik gelişmeler ışığında; özellikle dayanıklı bitki türlerindeki enzim reaksiyonları, prolin, total protein miktarları, Quorum Sensing (QS) tepkileri gibi savunma mekanizmalarının anlaşılması ve bunlardan elde edilebilecek bilginin mücadele programları içine entegre edilmesiyle ürün kayıplarının en aza indirilmesi oldukça önemli bir adım olacaktır.

Hastalıklara dayanıklı bitki kullanımı uzun vadede en etkili, en ekonomik ve sağlıklı mücadele stratejisidir. Özellikle dayanıklı bitki türlerindeki savunma mekanizmalarının anlaşılması ve bunlardan elde edilebilecek bilginin mücadele programları içine entegre edilmesiyle ürün kayıplarının en aza indirilmesinde oldukça önemli bir adım olacaktır.

P. savastanoi pv. *phaseolicola ve X. axonopodis* pv. *phaseoli* patojenlerinin neden olduğu bakteriyel hale yanıklığı ve leke hastalığının ülkemizde bakteriyel hastalık etmenine karşı mutlak etkili bir kimyasalın bulunmadığı göz önüne alındığında dayanıklı çeşit kullanımının en uygun mücadele şekli olduğu görülmektedir.

Çeşit dayanıklılığını ve hassasiyetini temel düzeyde anlamayı hedefleyen çalışmamızda, iki önemli bakteriyel patojene karşı bitkide dayanıklılıkta rol oynayan katalaz, peroksidaz, askorbat peroksidaz, süperoksit dismutaz, polifenoloksidaz, fenilalanin amonyum liyaz enzimlerinin, total protein ve prolin miktarı ve bakteriyel patojenlerin bitki dokularındaki kolonizasyonunun belirlenmesinin yanı sıra mevcut moleküler markörler kullanılarak dayanıklılık gen araştırmaları sonucu elde edilen

bulgular ile *P. savastanoi* pv. *phaseolicola ve X. axonopodis* pv. *phaseoli* etmenlerine karşı dayanıklılık / hassasiyet reaksiyonlarının anlaşılması amaçlanmıştır. Bunun için *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* ve *X. axonopodis* pv. *phaseoli*'ye karşı dayanıklı ve düşük seviyede tolerant veya hassas olduğu bilinen sırasıyla 36-K ve Aras-98 fasulye çeşitlerine inokulasyon sonrası farklı saatlerde alınan yaprak örneklerinden enfeksiyon sonucunda olusan oksidatif yanma sonucu meydana gelen enzim, total protein ve prolin miktarlarındaki değişimler, çeşitler ile inokule edilen bakterilerin zaman bakımından arasındaki farklılıklar, inokulasyon sonrası bakteriyel patojenlerin yaprak yüzeyinde gösterdiği kantitatif davranışlar incelenmiştir.

Bakteriyel hastalıklara karşı dayanıklılıkta bitkide meydana gelen moleküler değişimler üzerinde odaklandığımız bu çalışma, dayanıklılık mekanizmasını anlamaya yönelik elde edeceğimiz bulguların biyoteknoloji ve moleküler biyoloji teknikleriyle birlikte kullanımıyla patojenlerin neden olduğu bitki hastalıklarının kontrolünü sağlamayı bununla birlikte çiftçi açısından üretimde kimyasalların girdisi için yapılan harcamaları ve kimyasalların çevreye verdiği zararları en aza indirmek açısından büyük önem taşımaktadır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Fasulye Yetiştiriciliği

Baklagiller olarak adlandırılan Leguminosae (Fabaceae) familyası dünya üzerindeki en geniş familyalardan biridir. Varlığı kabul edilen 250.000 çiçekli bitki türünün 12.000'i baklagil olup yaklaşık 600 cins içerisinde dağılmışlardır. Baklagiller eski çağlardan beri insanoğlunun önemli besin maddelerinin başında gelmektedir. Mısır piramitleri ve ülkemizde yapılan mezar kazılarında baklagil tohumlarının bulunması bunun açık bir göstergesidir. Günümüzde de baklagillerden nohut, mercimek, fasulye, bakla, soya ve börülce insanların önemli gıda maddeleri olarak sofralarda yer almaktadır (Tan ve Serin, 2008).

Anavatanı Güney Amerika olmakla birlikte Leguminosae familyasına ait olan fasulye tüm dünyada yetiştirilen besin kaynağı ve ekonomik olarak en önemli baklagillerden biridir. Taze sebze yanında kuru dane, konserve ve dondurulmuş olarak da yaygın bir şekilde tüketilen fasulye özellikle düşük gelirli ülkelerde önemli bir protein, vitamin, mineral (K, Ca, Mg, P ve Fe), diyetsel lif ve kompleks karbonhidrat kaynağıdır (Taylor, 1970; Hale ve Taylor, 1973; Taylor ve ark., 1996; Duncan ve ark., 2014; Marques ve Samson, 2016). Fasulye, kimyasal bileşimleri nedeniyle fonksiyonel özelliklere sahiptir ve kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, obezite ve kanser gibi hastalıklar üzerinde fayda sağladığı bildirilmektedir (Aydemir, 2008).

FAO'nun 2016 yılı verilerine göre dünyada toplam fasulye ekiliş alanı 30.950. 050 hektar olup, toplam üretim 50.429.108 ton olmak üzere üretimde ilk sıralarda yer alan ülkeler Çin, Myanmar, Hindistan, Brezilya, ABD, Endonezya, Meksika, Tanzanya, Uganda ve 10. sırada bulunan Türkiye'dir (Anonim, 2016).

Dünya'da fasulye (taze ve kuru) üretiminde önde gelen ülkelerin üretim miktarları, ekim alanı ve verim değerleri Çizelge 2.1'de verilmektedir.

Çizelge 2.1. 2016 yılı verilerine göre Dünya'da fasulye (taze ve kuru) üretiminde önde gelen ülkelerin üretim miktarları, ekim alanı ve verim değerleri (FAO, 2016)

Sıra	Ülkeler	Üretim (ton)	Ekim alanı (ha)	Verim (hg/ha)
1	**Çin**	18 704 927	668 913	298 443
2	**Myanmar**	5 189 977	3 080 789	16 846
3	**Hindistan**	4 559 396	9 702 260	32 227
4	**Brezilya**	2 615 832	2 584 170	10 123
5	**ABD**	1 311 556	642 073	56 886
6	**Endonezya**	1 208 183	364 222	85 712
7	**Meksika**	1 176 847	1 585 697	97 641

Çizelge 2.1'in Devamı. 2016 yılı verilerine göre Dünya'da fasulye (taze ve kuru) üretiminde önde gelen ülkelerin üretim miktarları, ekim alanı ve verim değerleri (FAO, 2016)

Sıra	Ülkeler	Üretim (ton)	Ekim alanı (ha)	Verim (hg/ha)
8	**Tanzanya**	1 163 281	1 119 433	61 392
9	**Uganda**	1 008 410	670 737	15 034
10	**Türkiye**	886 094	138 249	157 541
11	**Kenya**	763 819	1 175 000	114 614
12	**Etiyopya**	491 110	291 951	57 758

Phaseolus cinsine ait 50 adet tür bulunmaktadır ve bunlardan *Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus lunatus*, *Phaseolus coccineus*, *Phaseolus acutifolius*, ve *Phaseolus poliantus* dünyada insan beslenmesi için yetiştirilmektedir (Broughton ve ark., 2003; Singh, 2013). Dünyada en iyi bilinen ve en yaygın olarak yetiştirilen fasulye türü *Phaseolus vulgaris* L.'dir (Purseglove, 1972; Shukla ve Misra, 1979). *Phaseolus vulgaris* L. ilk olarak yaklaşık 7000 yıl önce Orta Amerika'nın dağlık bölgelerinde kültüre alınmıştır (Kaplan, 1965; Kaplan ve Kaplan, 1988; Gepts ve Debouck, 1991). Orta Amerika kökenli olan *Phaseolus vulgaris* L. 16. yy'da İspanyollar ve Portekizliler tarafından Avrupa'ya götürülmüş ve 1594'te İngiltere'ye ulaşmıştır. Günümüzde tropik, subtropik ve ılıman iklimin görüldüğü tüm bölgelerde yaygın şekilde yetiştirilmektedir (Nassar ve ark., 2010).

Güney Amerika ile Orta Amerika fasulye gen merkezidir (Şehirali, 1988; Beebe ve ark., 2000; Singh, 2001; Rodino ve ark., 2003; Chacon ve ark., 2005; Benchimol ve ark., 2007; Chiorato ve ark., 2007; Marotti ve ark., 2007; Kwak ve Gepts, 2009). Gen merkezi olmamasına karşın Güney-Doğu Anadolu ve Samsun-Tokat-Amasya mikro gen merkezleri fasulye için genetik çeşitlilik merkezleridir (Şehirali ve ark., 2005). Menşei olmadığı halde ülkemizde pek çok önemli bitki türleri bulunmaktadır. Verimli topraklara sahip olan Türkiye, pek çok medeniyete ev sahipliği yapmış olması ve mevcut ekolojik çeşitliliği sayesinde diğer bitki türlerinde olduğu gibi fasulyenin de zaman içerisinde varyasyon uğramasını sağlamış, farklı kaynaklardan ülkemize getirilen materyallerin de bulundukları yörelerde yıllarca yetiştirilmesiyle farklı özellikte yöresel fasulye çeşitleri meydana gelmiştir (Karataş ve ark., 2017). Türkiye'de yerli fasulye çeşitlerimiz arasında bulunan Akdağ, Akın, Akman 98, Arslan, Batallı, Berrak, Bulduk, Cihan, Doruk, Elkoca-05, Eskişehir 855, Göksun, Göynük 98, Güngör, Kantar-05, Karacaşehir 90, Mecidiye, Noyanbey 98, Önceler 98, Özdemir, Özmen, Şahin 90, Şehirali 90, Terzibaba, Yakutiye 98, Yunus 90, Zülbiye ve bu tezde kullanılmış olan Aras-98 gibi çeşitler tescilli çeşitlerimizden bazılarıdır.

2.2. Fasulyede *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*'nin Genel Özellikleri

Fasulye bitkisinde hale yanıklığına neden olan *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* (Burk.) tohum kökenli bakteriyel bir patojendir. Hastalığın yayılması bulaşık tohumlarla ve ya enfekteli bitki artıklarıyla olmaktadır. Hastalığın tipik simptomu phaseolotoksin salınımı ile üretilen sarı hale ile çevrili ıslak görünümlü lezyonlardır. Bu lezyonlar yaprak, bakla ve gövde de zamanla 3-6 mm çapında küçük nekrotik lekelere dönüşmekte zamanla bu nekrotik alanların çevresinde oluşan sarı halelerin çapı ise 2.5 cm kadar olabilmektedir (Bender ve ark., 1999; Arnold ve ark., 2011).

Pseudomonas savastanoi pv. *phaseolicola* (bakteriyel patojeninin neden olduğu fasulye hale yanıklığı hastalığı belirtileri yaprak altından görülen küçük su emmiş lekeler şeklinde başlayıp sonrasında bu ıslaklıklar kuruyarak küçük nekrotik lekelere dönüşür. Bu lekelerin etrafı bakteri tarafından salınan toksin nedeniyle yeşilimsi sarı bir hale ile kuşatılmış nekrotik lekelere neden olur (Lelliot ve Stead, 1987). Hastalık belirtilen enfeksiyonun ilerleyen döneminde artarak yaprağın tamamen sararması ve sararan yaprakların dökülmesi ile sonuçlanır. Meyve üzerindeki küçük toplu iğne başı büyüklüğünde ıslaklıklar şeklinde görünmekte olup enfeksiyonun ileri aşamasında bu ıslaklıkların ortasından sarı-krem renginde bakteriyel akıntı oluşumuna rastlanılır ve geç dönemlerde bu alanlar kahverengileşerek içe doğru çökük nekrotik bir hal alır. Lekelerin etrafında çoğu kez ince kırmızımsı kremit renginde bir sınır oluşur. Gövdelerde kırılmalar oluşabilir (Schwartz ve Corrales, 1989).

Yaprak ve bakla lezyonları zamanla birleşir, sararma ve dökülmelere neden olur. Bakla üzerinde çapı 9 mm'ye kadar olabilen ıslak görünümlü lezyonlarda ileri durumlarda bakteriyel akıntılar görülür ve bu lezyonlar zamanla kahverengi kırmızımsı renkte ve çökük bir görüntü halini alır. Enfekteli bitkilerden elde edilen tohumlar normalden daha küçük ve buruşmuş bir tohum kabuğuna sahiptir. Serin ve yağışlı iklimin görüldüğü bölgelerde yaygın olarak ortaya çıkmaktadır (Hagedorn ve Inglis, 1986).

Proteobacteria Şubesi GammaProteobacteria sınıfı, Pseudomonadaceae familyası, Pseudomonas cinsi içerisinde yer alan patojenin sinonimi *P. syringae* pv. *phaseolicola*'dır. Gram negatif, aerobik, hareketli, çubuk şeklinde, 1,5 mm uzunluğunda, 0,7–1,2 mm çapında, en az bir polar flagelluma sahip, büyüme için optimal 25–30 °C' ye ihtiyaç duyan, oksidaz negatif, arginin dihidrolaz negatif, levan

pozitif ve tütünde aşırı duyarlılık (HR) tepkisi gösteren bir bakteridir (Arnold ve ark., 2011).

Hastalığın konukçuları *Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus acutifolius*, *Phaseolus coccineus*, *Phaseolus lunatus*, *Cajanus cajan*, *Centrosema* sp., *Desmodium* sp., *Glycine max*, *Lablab purpureus*, *Lens culinaris*, *Macroptilium atropurpureum*, *Neonotonia wightii*, *Pachyrhizus erosus*, *Pisum sativum*, *Pueraria lobata*, *Pueraria thunbergiana*, *Vigna angularis*, *Vigna radiata*, *Vigna unguiculata*'dır (Taylor ve ark., 1996; Hunter ve Taylor, 2006).

P. savastanoi pv. *phaseolicola* ilk kez Amerika'da Walter H. Burkholder tarafından 1926'da rapor edilmiş olup patojenin ortaya çıkışından bu yana 9 ırkı tespit edilmiştir. Irk 1, 2, 6 ve 7 için global bir dağılım olmakla birlikte, ırk 3, 4, 5 ve 8 çoğunlukla Doğu ve Orta Afrika'da bulunmakta, ırk 9'un ise 2 izolatı Afrika (Malawi) ve Güney Amerika'da (Kolombiya) tanılanmıştır (Taylor, 1970; Hale ve Taylor, 1973; Taylor ve ark., 1996; Marques ve Samson, 2016).

Fasulyede hale yanıklığı hastalığının dünya çapında bir dağılımı vardır. Ancak Türkiye de dahil olmak üzere Doğu ve Orta Batı Amerika Birleşik Devletleri (Colorado, Michigan, Minnesota, Nebraska, Kuzey Dakota, New York, Wisconsin ve Wyoming), Guatemala ve Meksika'nın yüksek yayla üretim alanları, Arjantin, Orta ve Güney Brezilya, Türkiye, İspanya ve Malawi, Ruanda, Tanzanya ve Afrika'daki çeşitli ülkeler hastalığın daha sık görüldüğü bölgelerdir (Duncan ve ark., 2014).

Ülkemizde Marmara ve Karadeniz Bölgesi başta olmak üzere diğer üretim bölgelerimizde hastalık görülmektedir (Aydemir, 2008). Hastalık etmeninin varlığı yapılan çeşitli çalışmalarla rapor edilmiştir (Benlioglu ve ark., 1994; Demir ve Gündogdu, 1994; Kahveci ve Maden, 1994; Bozkurt ve Soylu, 2001; Dönmez, 2004; Güven ve ark., 2004; Bastas ve Sahin, 2017).

Fasülye bitkisinde adi yaprak yanıklığına neden olan *X. axonopodis* pv. *phaseoli* ılıman ve tropikal iklim koşullarında sıklıkla ortaya çıkan ve fasulye ekim alanlarında ciddi verim kayıplarına neden olan bir hastalık etmenidir (Seattler, 1989; Gilbertson ve Maxwell, 1992). Hastalık etmeni kışı tohumda ve ya enfekteli bitki materyalleri üzerinde geçirir. Serin ve yağışlı iklim koşulları hastalığın yayılması ve enfeksiyon şiddetinin artması için oldukça uygundur (Anonim, 2008).

Patojen tüm toprak üstü bitki aksamlarında enfeksiyona neden olur, fakat yaprak ve bakladaki belirtiler daha şiddetlidir. Yaprak üzerindeki düzensiz nekrotik lezyonlar ve bu lezyonları çevreleyen açık limon sarı renkteki hale tipik simptomudur. Tohum

kaynaklı bir patojendir ve tohumlar primer inokulum kaynağıdır. İleri derecede enfeksiyonlar özellikle yüksek nem, sıcaklıklık, bol yağış ve ardından havanın kuruması ile % 40'ların üzerinde verim kayıplarına yol açabilir (Seattler, 1989).

Xanthomonas axonopodis pv. *phaseoli*'nin neden olduğu fasulye adi yaprak yanıklığı enfeksiyonu patojenin yaralar, stomalar veya enfekte kotiledonlardan giriş yapmasıyla başlamaktadır (Zaumeyer ve Thomas 1957). İlk bakteri girişini bakteri hücre çoğalması ve hücreler arası boşluklarda hücre dışı polisakarit birikimi izler (Rudolph, 1993). Yaprak belirtileri, inokulasyondan 4 ila 10 gün sonra ıslaklık şeklinde başlayan lezyonlar halinde belirir. Bakteri hücrelerinin çoğalmaya başlamasıyla birlikte bu lezyonlar genişleyerek yüzeyi kaplar ve ıslaklık gözlenen alanlar nekrotik bir hal alırken etrafında dar, ince limon sarısı bir klorotik bölge gelişmektedir (Rudolph, 1993; Vidaver, 2012). Hastalığın ilerlemesi ile bakteriyel hücreler, vasküler dokuya girebilir ve bitki boyunca yayılabilir. Kök belirtileri daha az görülmekle birlikte, yaprak belirtilerine benzer bir görünüme sahiptirler (Vidaver, 2012). Bununla birlikte, bakla simptomları, suya batırılmış lezyonlar olarak başlar ve zamanla hafif çökük ve kahverengi veya kırmızı kahverengi olmaktadır. Yoğun enfeksiyonlarda ve nemli koşullarda bu alanlardan bakteriyel eksudat çıkışları gözlenmektedir (Darrasse ve ark., 2007). Tohum belirtileri sadece açık renkli tohumlarda sarı ila kahverengi düzensiz lekeler halinde görünür.

X. axonopodis pv. *phaseoli'*nin ana konukçusu *Phaseolus vulgaris* ve diğer baklagillerden *Phaseolus coccineus*, *Phaseolus acutifolius*, *Vigna mungo*, *Vigna radiata*, *Vigna aconitifolia*, *Vigna angularis*, *Glycine max*, *Mucuna deeringiana*, *Lupinus polyphyllus*, *Vigna unguiculata*'dır (Bradbury, 1986; Hayward, 1993).

Fasülye adi yaprak yanıklığına neden olan *X. a.* pv. *phaseoli* ilk kez 1893 yılında ortaya çıkmış olup, Smith tarafından 1897 yılında izole edilmiş ve tanılanmıştır (Zaumeyer, 1930).

Fasulye adi yaprak yanıklığı hastalığı coğrafi olarak Asya (Bangladeş, Çin, Hindistan, İran, Japonya, Malezya, Myanmar, Nepal, Kore, Tayvan, Yemen ve Türkiye), Afrika (Mısır, Etiyopya, Kenya, Madagaskar, Malawi, Tunus, Uganda, Sudan, Ruanda), Kuzey Amerika (Bermuda, Kanada, Manitoba, Meksika, USA, Kolorado, Florida, Mississipi, New York, kuzey Carolina, Teksas, Wisconsin), Orta Amerika ve Karayipler (Barbados, Costa Rica, Küba, Dominik Cumhuriyeti, Jamaika, Panama), Güney America (Arjantin, Brezilya, Kolombiya, Venezüela, Paraguay, Uruguay, Rio de Janeiro), Avrupa (Avusturya, Belçika, Fransa, Almanya, İtalya, Norveç, Polonya,

Romanya, Slovakya, Slovenya, İspanya, İsviçre) gibi dünyanın pek çok ülkesinde yaygın bir dağılım göstermektedir. Hastalık etmeninin varlığı dünyada ticari olarak fasulye üretimi yapılan pek çok ülkede çeşitli çalışamalarla rapor edilmiştir (Coyne ve Schuster, 1974; Malin ve ark., 1983; Bradbury, 1984; Naumann ve Karl, 1985; Bradbury, 1986; Arnaudsantana ve ark., 1991; Torres ve ark., 2009; Popović ve ark., 2010; Osdaghi, 2014).

Ülkemizde fasulye adi yaprak yanıklığı hastalığının varlığı çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (Demir ve Gündogdu, 1994; Kahveci ve Maden, 1994; Bastas ve Sahin, 2017).

Proteobacteria Şubesi, GammaProteobacteria sınıfı, Xanthomonadaceae familyası, Xanthomonas cinsi içerisinde yer alan patojen gram negatif, aerobik, çubuk şeklinde, tek polar kamçıya sahip, katalaz pozitif, oksidaz negatif, levan pozitif, HR pozitif, 40 ^{o}C'de gelişim gösteren, mukoid, konveks YDC agar üzerinde sarı koloniler oluşturan bir bakteridir (Rudolph, 1993; Vauterin ve ark., 1993). Hastalık gelişimi için optimal sıcaklık 28-32 ^{o}C'dir (Saettler, 1989; Opio ve ark., 1992).

X. a. pv. *phaseoli*'ye karşı tatmin edici bir kimyasal bulunmadığı için mücadelede hastalıktan ari tohum kullanımı, ürün rotasyonu, dayanıklı çeşit kullanımı gibi kültürel uygulamalar kullanılmaktadır (Weller ve Saettler, 1980; Mohan, 1981; Kobayasti ve ark., 1999; Zapata, 2014). Bu mücadele yöntemleri içerisinde en iyi çözüm dayanıklı çeşit kullanımıdır (Mohamed ve Coyne, 1995; Yu ve ark., 1998; Souza ve ark., 2000; Ferreira ve ark., 2003).

2.3. Fasulyede Çeşit Reaksiyonları

Phaseolus türlerinde bakteriyel patojenlere karşı tolerans kaynaklarının farklılık sergilediği gözlemlenmiştir. İlk olarak 1942'de hale yanıklığına dayanıklı fasulye genotipi olarak Red Mexican tanımlanmış, 1955'de ise Ferguson ve arkadaşları bitkide bu dayanıklılığın kırıldığını tespit etmişlerdir. 1964'de *P. s.* pv. *phaseolicola*'nın yeni bir ırkı tanılanmış ve Red Mexican UI3'ün ırk 1'e dayanıklı, ırk 2'ye hassas olduğu belirlenmiştir. *P. s.* pv. *phaseolicola* strainlerinin Red Mexican fasulye genotipi üzerinde küçük halesiz lekelere, Red Kidney fasulyesi üzerinde ise tipik haleli lezyonlara neden olduğu saptanmıştır (Schuster ve Coyne, 1981).

Schuster ve ark. (1983) tarafından sera koşullarında yapılan çalışmada dayanıklı 8 fasulye çeşidi (Nebr. # 1 sel. 27, Pinto Nebr. EP-1, BAT 93, BBSR-130), hassas bir

çeşit olan barbunya fasulye çeşidi ve Tepary fasulyesinin (*Phaseolus acutifolius* L.) Dominik Cumhuriyeti ve Nebraska'dan izole edilen *X. a.* pv. *phaseoli*'ye karşı yaprak ve bakla reaksiyonları araştırılmıştır. Sonuç olarak *P. acutifolius'*un en yüksek yaprak ve bakla dayanıklılığına sahip olduğunu, *P. acutifolius*'dan sonra en yüksek yaprak ve bakla dayanıklılığının Nebr. # 1 sel. 27 ve Pinto Nebr. EP-1 fasulye çeşitlerinde gözlendiğini, dayanıklı olduğu bilinen BAT 93 çeşidinin yaprakta dayanıklı ancak baklalarda hassas olduğunu, BBSR-130 çeşidinin ise yapraklarının hassas, baklalarda ise dayanıklı olduğunu bildirmişlerdir.

Benlioğlu (1994) tarafından yapılan çalışmada fasulye çeşitlerinin *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli*'ye karşı dayanıklılıkları incelenmiştir. Dayanıklılık testleri sonucunda, F-2629, F-2342 ve F-2657 fasulye hatlarının *P. s.* pv. *phaseolicola*'nın ırk I'e, F-2666, F-2829 ve F-2835 fasulye hatlarının ise ırk II'ye karşı oldukça dayanıklı oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca F-2328 fasulye hattının *X. a.* pv. *phaseoli*'ye karşı dayanıklılık reaksiyonu verdiği tespit edilmiştir.

Maringoni ve Lauretti (1999) sera koşullarında yürüttükleri çalışmada PI150414, PI163117, PI175829, PI175858, PI197687, A417, A420, A429, Xan160, Xan161, WISHBR40 ve IAC Carioca fasulye genotiplerini *X. a.* pv. *phaseoli* ile inokule etmişler ve dayanıklılıklarını incelemişlerdir. Sonuç olarak Xan161'in dışında, tüm genotiplerin *X. a.* pv. *phaseoli*'nin Feij-4 strainine hassas, Xan161'in dayanıklı olduğunu bildirmişlerdir.

Bozkurt ve Soylu (2001) farklı fasulye çeşitlerinin, fasulye hale yanıklığı etmeni *P. s.* pv. *phaseolicola*'nın 9 farklı ırkına karşı göstermiş olduğu reaksiyonları meyve ve kotiledon inokulasyon tekniği uygulayarak belirlemişlerdir. Çeşitler arasında Roma II' nin ırk 1 dışındaki tüm bakteri ırklarına karşı hassas olduğunu tespit etmişlerdir. Şehirali-90, Yunus-90 ve Karacaşehir-90 çeşidinin ırk 3, Göynük-98 çeşidinin ırk 5'e karşı yüksek derecede dayanıklı, Roma II çeşidinin ırk 1, Şehirali-90 çeşidinin ırk 2, Karacaşehir-90 çeşidinin ırk 3'e karşı orta derecede duyarlı olduklarını tespit etmişlerdir. Bakteriyel ırklar arasında 6, 8 ve 9 ırklarının test edilen tüm fasulye çeşitleri üzerinde virülent olduğunu saptamışlardır. Roma II çeşiti hariç tüm fasulye çeşitlerinin ise bakterinin 3, 4 ve 5 ırklarına karşı dayanıklı olduğunu gözlemlemişlerdir.

Ferreira ve ark. (2004) yapmış oldukları çalışmada HAB-52 (hassas) ve BAC-6 (dayanıklı) fasulye çeşitlerini çaprazlayarak elde ettikleri F6 ve F7 generasyonlarının *X. a.* pv. *phaseoli*'ye olan dayanıklılıklarını değerlendirmeyi amaçladıkları çalışmada bu generasyonlarda *X. a.* pv. *phaseoli*'nin simptom oluşturma sıklığı ve varyasyon indexi

sonuçlarının sırasıyla % 8, 1.17, ve % 88.3, 1.64 olduğunu ve bu sonuçlara göre F6 ve F7 generasyonlarının dayanıklı çeşit seçiminde potansiyel olduklarını bildirmişlerdir.

Sağlam ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada laboratuvar koşullarında çimlendirilmiş olan Aras ve Eskişehir-855 fasulye çeşitleri gövdelerine *Agrobacterium tumefaciens*'in A281, GV2260, EHA105 izolatları inokule edilmiştir. İnokulasyon sonucunda A281 ile muamele edilmiş Aras ve Eskişehir-855 çeşitlerinde tümörler gözlemlemişler ve kökler üzerinde herhangi bir olumsuz etkiye rastlamamışlardır. Aynı şekilde her iki çeşidin *A. tumefaciens*'in GV2260 ve EHA105 izolatları ile inoklasyonu sonucunda bitkilerin yapraklarında mozaiklik ve sararma gözlemlemekle birlikte GUS testinde pozitif sonuçlar elde etmemişlerdir. Bitkilere dört yapraklı aşamada iken *A. rhizogenes*'in 15834 izolatı inokule edilerek bitkilerin gövdelerinde kökler gözlemlemişlerdir. Bakteri inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkilerinde ise köklenme gözlemlememişlerdir. Sonuç olarak *A. tumefaciens*'in A281 izolatı ile fasulye bitkisinde tümör ve kök oluşumuyla kontrollü koşullarda dayanıklılık genlerinin aktarılabileceğini saptamışlardır.

Donmez ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada Türkiye'nin Doğu Anadolu bölgesindeki Erzurum ve Erzincan illerinde yetişen fasulye bitkilerinden ekonomik açıdan önemli hastalıklara neden olan *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* bakteriyel patojenleri izole edilmiş ve tanımlanmıştır. 2001–2002 döneminde, hem sera hem de tarla koşullarında, bölgede yetişen toplam 36 fasulye genotipi (36K, 105, 114, 124, 127, 132, 171, 195, 218, 251, 288, 339, 412, 420, 435, 458, 460, 462, 471, 473, 480, 483, 484, 510, 517, 518, 520, 527, 555, 563, 565, 568, 569, 579, 598 ve 4F-2928) ve bölgede yaygın olarak yetiştirilen iki ticari çeşit (Aras 98 ve Yakutiye 98), bu patojenlere karşı dayanıklılık açısından taranmıştır. Sonuç olarak test edilen otuz sekiz fasulye çeşidi arasında sadece 36K'nın her iki patojene de dayanıklılık gösterdiğini tespit etmişlerdir.

O'Boyle ve ark. (2007) yapmış oldukları sera çalışmasında fasulyede *X. a.* pv. *phaseoli'*ye karşı dayanıklılıkta SU91 ve BC420 genlerine sahip olan bitkilerde bu genlerin hastalık gelişimine etkilerini incelemişlerdir. Sonuç olarak SU91ve BC420 markörlerinden sadece birine sahip olan bitkilere göre SU91 ve BC420 markörlerine aynı anda sahip olan bitkilerin hastalık şiddetinin daha düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Duncan ve ark. (2010) 28 fasulye genotipi üzerinde yapmış oldukları çalışmada 28 fasulye çeşidinin 26'sında SAP6 genini belirlediklerini ve sadece SAP6 markörü çalışan bazı genotiplerin bazı patojenlere hassas olabileceğini, bu durumun SAP6 ile

ilişkili dayanıklılığın etkili *X. a.* pv. *phaseoli* yönetimi için yeterli olmadığını veya dayanıklılığın markör ile yeterince bağlantılı olmadığını gösterdiğini bildirmişlerdir.

Boersma ve ark. (2015) 14 fasulye çeşidi üzerinde SAP6 ve BC420 genlerini araştırmışlar, sadece HR67 çeşidinde BC420 markörünün çalıştığını HR67, HR135 ve HR144 fasulye çeşitlerinde SAP6 markörünün çalıştığını, bu markörlerin diğer 10 çeşit üzerinde çalışmadığını bildirmişlerdir.

Poyraz ve ark. (2017), yapmış oldukları çalışmada SCAR markörler kullanarak 12 yerel fasulye çeşidinde (Aslan, Elinda, İstanbul, Bursa, Flash, Belluga, White cordinal, Beryl, Yunus-90, Göynük-98, Önceler-98, Eskişehir-855), fasulyede görülen iki bakteriyel hastalığa karşı bazı dayanıklılık genlerini belirlemek amacıyla yapmış oldukları çalışmada *P. s.* pv. *phaseolicola* çeşidi için dört dayanıklık geni (SR13, ST8, SH11 ve SB10), *X. a.* pv. *phaseoli* çeşidi için 6 dayanıklılık genini (SAP6, BAC6, SU91, BC420, R7313 ve R4864) taramışlardır. Çalışmalarının sınucunda tüm varyetelerin SH11 ve SB10 genlerini taşıdığını, Aslan ve Beryl varyetelerinin *P. s.* pv. *phaseolicola*'ya karşı daha dayanıklı olduğunu, Yunus-90 çeşidinin 4 dayanıklılık geni taşıdığını, Eskişehir-855 çeşidinin hassas olduğunu saptamışlardır.

Yeken ve ark. (2018) yapmış oldukları çalışmada 43 tescilli fasulye çeşidinde (Zülbiye, Batallı, Cihan, Remi, Göksun, Bulduk, Özdemir, Mecidiye, Günlük, Kantar-4F-89 Fransız, Bourgondia, Sazova 1949, Bona, Karabacak, Gina, Romano, Akın, Karacaşehir 90, Klas, Akman, Alman Ayşe-4, Göynük, Terzibaba, Zirve, Güngör Önceler 98 Işıklı, Elkoca-05, Berrak, Askız, Sembol, Yakutiye 98, Mina, Aras 98, Akdağ, Sarıkız, Nina, Arslan, Helda, Sururbey, Albeni, Sülün) fasulye adi mozaik virüsü (BCMV) ve fasulye mozaik nekroz (BCMNV) virüsüne karşı muhtemel dayanıklılığı 3 farklı gen (bc-1^2, I, bc-3) ile ilişkili 4 farklı markör (SBD-5, SW-13, ROC11/420-350, eIFE4) kullanarak incelemişlerdir. Elde edilen verilere göre BCMV ve BCMNV etmenlerine karşı Akman 98 ve Arslan çeşidi hariç tüm çeşitler bc-1^2 genine, Özdemir, Kantar-05, Karacaşehir 90, Helda, Göksun, Mecidiye, Güngör, Elkoca-05, 40 Günlük, Karabacak hariç diğer çeşitlerin I genine, 4F-89 Fransız ve Arslan çeşitleri hariç diğer çeşitlerin bc-3 genine sahip olduğunu belirlemişlerdir.

2.4. Fasulyede Stres Dayanıklılığı İle İlgili Enzim Çalışmaları

Bitkiler kendilerini istila eden organizmaları önemli hasarlar oluşmadan önce tespit etmek ve kendilerini çevresel tehlikelere ve patojen saldırılarına karşı korumak

için tasarlanmış bir dizi yapısal, kimyasal ve protein tabanlı savunma sistemlerine sahiptirler (Waller ve ark., 2005; Kazan ve Lyons, 2014; Aslam ve ark., 2015; Misra ve ark., 2016; Hakim ve ark., 2018). Savunma sisteminin uyarılması ile bitkiler kendilerini bakteri, fungus, virüs gibi pek çok patojene karşı koruyabilmektedir (Hammerschmidt, 1999; Walters ve ark., 2005; Ravi ve ark., 2012).

Patojen ve konukçu bitki arasındaki etkileşimle birlikte hücre metabolizmasında, özellikle enzim faaliyetlerinde bazı değişiklikler meydana gelmektedir (Hammerschmidt ve ark., 1982; Mauch ve ark., 1988; Ohta ve ark., 1991; Fukasawa-Akada ve ark., 1996; Thipyapong ve Steffens, 1997; Wotaszek, 1997). Dolayısıyla patojen saldırısına karşı bitkileri korumada birçok enzim toplu şekilde görev almaktadır. POX, PPO, CAT gibi oksidatif enzimler bitki savunma bariyerlerinin yapısında bulunan lignin ve diğer oksidatif fenollerin oluşumunu katalize ederek hücre yapısını güçlendirmekte ve hücre için toksik etkileri bulunan hidrojen peroksiti (H_2O_2) oksijen ve suya dönüştürerek, zararlı etkilerinin ortadan kaldırılmasını sağlamaktadır (Asada, 1992a; Avdiushko ve ark., 1993). Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi oksijen radikallerinin moleküler oksijen ve H_2O_2'ye dismutasyonunda görev almaktadır (Giannopolitis ve Ries, 1977). Polifenoloksidaz (PPO), bitkinin patojenlere, kötü iklim koşullarına karşı dayanıklılığı açısından önemli bir role sahiptir. PPO'nun faaliyeti sonucu suda çözünmeyen polimerler meydana gelir ve bu da hasar görmüş olan dokularda oluşabilecek enfeksiyonların yayılmasına engel olmaktadır (Turan, 2005; Thipyapong ve ark., 2007; Constabel ve Barbehenn, 2008). Peroksidaz (POX) oksidatif yanma sırasında oluşan yeni H_2O_2'yi kullanarak hücre duvarı lignifikasyon işleminde rol alır (Chittoor ve ark., 1999; Kawano, 2003; Nassar ve ark., 2010). POX ve CAT, süperoksit dismutaz (SOD) tarafından üretilen reaktif oksijen türlerinin (ROS), özellikle H_2O_2'in doğrudan inhibitörleri olarak görev yapar (Bernal-Vicente ve ark., 2015). Fenilalanin amonyum liyaz (PAL) gibi enzimler ise fitoaleksin ve fenolik bileşen biyosentezinde rol oynamaktadır (Thulke ve Conrath, 1998). PAL, fenilpropanoid yolundaki birincil enzimdir ve bu durum amonyağın ortadan kaldırılmasıyla L-fenilalaninin trans-sinnamik aside dönüştürülmesini sağlar. PAL enziminin birçok gelişmiş bitkinin metabolik aktivitesinde rol aldığı kanıtlanmıştır. Bunun yanında fenoller ve ligninler gibi savunma ile ilişkili sekonder bileşiklerin sentezinde de anahtar enzimdir (Hemm ve ark., 2004).

2.4.1. Fasulyede *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* Karşı Enzim Çalışmaları

Rudolph ve Stahmann (1964) hem dayanıklı hemde hassas fasulye bitkilerini *P. s.* pv. *phaseolicola* ile inokule etmişler ve dayanıklı varyetede peroksidaz aktivitesinin daha erken arttığını gözlemlemişlerdir.

Ádám ve ark. (1995), tarafından yapılan çalışmada *P. s.* pv. *phaseolicola* ırk 3 ve ırk 6 bakteriyel patojenine karşı fasulyede (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Tendergreen) meydana gelen Süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POX) ve katalaz (CAT) aktiviteleri incelenmiştir. Tendergreen fasulye çeşidinde ırk 3'e dayanıklılığının, R3 geni tarafından belirlendiğini ve bu durumun inokulasyondan 8 ila 12 saat sonra lipid peroksidasyonunda gerçekleşen hızlı bir artışla ilgili olarak aşırı duyarlılık reaksiyonu (HR) ile ifade edildiğini, poli akrilamid jel elektroforez (PAGE) ile 5 SOD izomorfu belirlenmekle birlikte bitki ırk 3 ile inokule edildikten 6 saat sonra Cu, Zn-SOD3 ve Cu, ZnSOD5 izoformlarında majör değişikliklerin olduğunu, ırk 6 ile inokulasyon sonrasında çok az bir değişiklik olmakla birlikte, 16. saate kadar durumun değişmediğini, bakteri infiltrasyonu yapılan bölgede Mn-SOD2'nin aktivitesinde bir azalma olduğunu ancak bazı diğer izoformlarda hafif artışlar olduğunu tespit etmişlerdir. POX izomorfu için ise 4 grup belirlemişlerdir. İnokulasyondan 2 saat sonra, POX3a, b ve c izoformlarını hücreler arası sıvılar içinde (apoplazmada başka izoform bulunamadı) tespit etmişlerdir. CAT aktivitesinde ise inokulasyondan 2 saat sonra düşüş 8 saat sonra bir miktar artış, bakteri infiltrasyonu yapılan bölgede ise kademeli bir düşüş tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Gailīte ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada fasulyede *P. s.* pv. *phaseolicola*'ya karşı biyokontrol ajanı olan *Trichoderma harzianum* uygulanmasının POX ve PPO enzimleri üzerine etkisi incelenmiştir. Fasulye bitkileri sökülerek ve ayrı ayrı uygun *T. harzianum* inokulumu içeren cam şişelerde 4 saat boyunca inkübe edilmiştir. *T. harzianum* uygulamasından 20 saat sonra bitkilere *P. s.* pv. *phaseolicola* inokule edilmiştir. Sonuç olarak aktif veya inaktive edilmiş *T. harzianum* formülasyonları ile bitkilerin muamelesinden sonra her iki POX ve polifenoloksidaz (PPO) enzim aktivitesinin arttığı POX'un aktif *T. harzianum* formülasyonundan 24 ve 48 saat sonra inaktif formulasyona göre daha yüksek olduğunu, buna karşılık, PPO'da aktif formulasyonda 48. saatte düşüş, diğer saatler için her iki formulasyonda da artış olduğunu, aktif ve inaktive edilmiş formülasyonlar arasında ise anlamlı bir farklılığın olmadığını bildirmişlerdir.

Bozkurt (2009) tarafından yapılan çalışmada *X. a.* pv. *phaseoli'*ye karşı fasulye bitkisinden izole edilen 5 antogonist bakteri fasulye tohumlarına uygulanmış saksılara ekilen tohumlardan gelişen fidelere patojen uygulaması yapılarak PAL aktivitesi araştırılmıştır. Sonuç olarak antogonist bakteri izolatı uygulanan bitkilerde kontrol uygulamalarına göre PAL seviyesinde önemli düzeyde olduğu ve PAL seviyesindeki artışla hastalık şiddeti arasında ters orantı olduğu saptanmıştır.

Toillier ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmada fasulyede *X. a.* pv. *phaseoli*'ye karşı saprofit bir mantar olan beyaz küf (*Pycnoporus sanguineus*) ekstraktlarının POX, Katekol oksidaz (COMT), β-1,3 glukanaz (GU) ve PAL enzim aktiviteleri üzerine etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak *P. sanguineus* ekstraktlarının *X. a.* pv. *phaseoli* hastalık şiddetini azaltarak, POX, COMT, GU ve PAL enzim aktivitelerini arttırdığını bildirmişlerdir.

Nowogo´rska ve Patykowski (2015) yapmış oldukları çalışmada fasulye bitkisine bakteriyel patojen olan *P. s.* pv. *phaseolicola*, fungal patojen olarak *Botrytis cinerea*'yı ayrı ayrı ve aynı anda inokule ederek inokulasyondan sonraki 6, 12, 24 ve 48. saatlerdeki antioksidan enzim aktivitelerini incelemişlerdir. Bakteriyel muameleden sonra, apoplastik SOD aktivitesindeki önemli değişiklikler sadece inokülasyondan 6, 12 ve 24 saat sonra, 60, 72 ve 96 saat sonra ise SOD sitosolik havuzunda gözlendiğini, SOD ve GPOD aktivitesinin muameleden sonraki 48. saatte maksimum miktara ulaştığını ve CAT aktivitesinin *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonundan sonraki 6 ve 24. saatte bir miktar azaldığını saptamışlardır.

Farahani ve Taghavi (2016), tarafından yapılan çalışmada maş fasulyesinin konukçusu olan *X. a.* pv. *phaseoli* ve konukçusu olmayan *Xanthomonas hortorum* pv. *pelargonii* patojenlerinin bitkiye inokulasyonunun Superoksit dismutaz (SOD) ve Askorbat peroksidaz (APX) ekspresyonu ve Katalaz (CAT) ve Peroksidaz (POX) enzim aktiviteleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak maş fasulyesi konukçusu olmayan *X. h.* pv. *pelargonii* inokulasyonu sonrası Cu / Zn-SOD ile APX ekspresyonun ve CAT, POX enzim aktivitesinin, konukçu patojeni *X. a.* pv. *phaseoli* ile inokule edilmiş olan uygulamadan daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Farahani ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada fasulyede adi yaprak lekesi hastalığına neden olan *X. a.* pv. *phaseoli*'ye karşı eksojen olarak uygulanan Salisilik asidin (SA)'in *X. a.* pv. *phaseoli* enfeksiyonu sürecinde hastalık insidansı ve gelişimi üzerindeki etkisi ile SA'nın SOD, malat dehidrojenaz (MDH) ve PAL ekspresyonu

üzerine etkisi incelenmiştir. Sonuç olarak SA uygulaması yapılan bitkilerde enfeksiyon sonrası MDH, SOD ve PAL ekspresyonunun daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Veeralakshmi ve ark. (2017), tarafından yapılan çalışmada maş fasulyesine (*Vigna radiata* L.) *Pseudomonas syringae* pv *syringae* inokulasyonu sonrası POX, PPO, CAT ve SOD enzim aktivitesi incelenmiştir. Sonuç olarak POX, PPO, CAT ve SOD enzim aktivitelerinin patojen inokulasyonu sonrası artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

2.4.2. Fasulyede Diğer Biyotik ve Abiyotik Enzim Çalışmaları

Türkan ve ark. (2005) yapmış oldukları çalışmada su stresine hassas ve tolerant fasulye çeşitlerinde (*P. vulgaris* L. FM 53 ve *P. acutifolius* L.) stres sonrası SOD, CAT, APX, POX, Glutatyon redüktaz (GR) enzim aktivitelerini ve prolin birikimini incelemişlerdir. Sonuç olarak *P. acutifolius* için SOD, CAT, APX ve POX enzim aktivitesi ve prolin birkiminin *P. vulgaris* L.'den daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Zlatev ve ark. (2006) yapmış oldukları çalışmada çimlenme sonrası 14 gün kuraklık altında bırakılan 3 farklı fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotipinin (Plovdiv 10, Dobrudjanski ran, Prelom) APX, CAT ve SOD enzim aktivitesini incelemişlerdir. Sonuç olarak su stresinin her üç genotipte de APX, CAT ve SOD enzim aktivitesini arttırdığını bildirmişlerdir.

Özpay (2008) tarafından yapılan çalışmada *P. vulgaris* L. türüne ait olan Gevaş Bodur64 (GB64), Samsun100 (S100), Samsun95 (S95), 4F-89 Fransız (4F-89), Gevaş Sırık57 (GS57), Gevaş Sırık26 (GS26), Samsun96 (S96), Sırık Barbunya (SB), Kırkgünlük (Açıkgöz), Oturak Barbunya (OB) gibi fasulye genotiplerinde 7 gün uygulanan kuraklık stresi sonrası SOD, CAT, APX enzim aktiviteleri incelenmiştir. Sonuç olarak CAT enzim aktivitesi kontrol bitkilerine göre bütün genotiplerde artmakla birlikte en yüksek değerin sırasıyla 14.49, 19.53, 16.70 mmol/dak/mgYA enzim miktarı ile GS57, OB ve S100 genotiplerinde, en düşük değerin ise sırasıyla 7.84, 8.07, 12.57 mmol/dak/mg YA enzim miktarı ile GB64, KG ve 4F-89F genotiplerinde bulunduğu, SOD enzim aktivitesi incelendiğinde, kontrol gurubu bitkilerine göre bazı genotiplerde artış bazılarında azalma olmakla birlikte en yüksek değerlerin sırasıyla 215.33, 186.66, 157.33 mmol/dak/mgYA, OB, GS57 ve KG genotiplerinde, en düşük değerlerin 86.33, 104.33, 117.33 mmol/dak/mgYA enzim miktarıyla, SB, S95 ve GB64 genotiplerinde bulunduğunu, APX enzim aktivitesinde ise kontrol bitkilerine göre tüm genotiplerde artmakla birlikte en yüksek değerin sırasıyla 84.33, 50.51, 49.67 mmol/dak/mgYA

enzim miktarıyla OB, GS57 ve S100 genotiplerinde, en düşük değerin 4.52, 18.63, 16.35 mmol/dak/mgYA enzim miktarıyla SB, S96 ve 4F-89F genotiplerinde bulunduğunu saptamıştır.

Demirtaş (2011) yapmış olduğu çalışmada bor (B) stresine karşı dayanıklılık düzeyinin tespiti amacıyla; ticari magnum fasulye çeşidine 0, 7.5, 15, 30, 60, 120, 250, 500, 1000 ppm bor uygulamasının oluşturduğu toksisite stresinin SOD, APX, CAT enzim aktiviteleri üzerine etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak magnum fasulye çeşidinde B toksisitesinin SOD ve APX enzim aktivitelerinde önce artış daha sonra azalış, CAT enzim aktivitesinde ise azalma ile sonuçlandığını bildirmiştir.

de Freitas ve Stadnik (2012) yapmış oldukları çalışmada dayanıklı ve hassas fasulye çeşitlerine fasulyede antraknoza neden olan *Colletotrichum lindemuthianum*'un inokulasyonunun aynı zamanda çözünür bir alg polisakarit olan Ulva ile birlikte uygulanması sonrası POX ve glukanaz (GU) enzim aktivitesini incelemişlerdir. Sonuç olarak uygulamaların dayanıklı fasulye çeşidinde POX aktivitesini arttırdığını, GU aktivitesinin ise hem dayanıklı hem de hassas çeşitte artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

Ravi ark. (2012) yapmış oldukları çalışmada maş fasulyesinde (*Vigna radiata* L.) patojen (*Fusarium oxysporu*m, *Macrophomina phaseolina, Alternaria brassicicola, Trichoderma viridae* ve *Aspergillus niger*) inokulasyonu sonrası sistemik kazanılmış dayanıklılığın (SAR) uyarılması amacıyla azole grubundan iki farklı aktivatörün (triazolothiadiazoller ve tiyazolidin tioüreleri) uygulaması sonrası PAL, POX aktivitesi ve Protein miktarını incelemişlerdir. Sonuç olarak patojen inokulasyonu sonrası bitki aktivatörlerinin PAL, POX ve protein miktarını arttırdığını bildirmişlerdir.

Akoğlu (2013) tarafından yapılan çalışmada bazı taze fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotiplerinin Bor toksisitesine karşı enzim aktiviteleri incelenmiştir. Sonuç olarak artan Bor konsantrasyonuna paralel olarak APX ve GR aktivitelerinde artış, CAT aktivitesinde ise azalma saptanmıştır.

Doğan (2013) tarafından yapılan çalışmada farklı bor bileşiklerinin belirli dozlarının uygulandığı soya fideleri zamana bağlı olarak farklı kuraklık (kontrol, 3, 6, 9, 12, 15 ve 18 gün) uygulamalarına maruz bırakılmıştır. Sonuç olarak Stres+potasyum tetraborat tetrahidrat uygulamasında CAT miktarında artma, GR, APX ve SOD miktarında ise azalma olduğu bildirilmiştir.

Leite ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı farklı dayanıklılık düzeyine sahip 28 günlük fasulye çeşitlerinde (CNFC9506, Talismã, CNFRJ10564, CNFP10773) patojen sonrası 12, 24, 48, 72, 96 ve 120 saatlerde

alınan yaprak örnekleri üzerinde POX, PPO, CAT, SOD ve APX enzim aktiviteleri incelenmiştir. Sonuç olarak SOD aktivitesinde en yüksek aktivitenin 12. ve 120. saatlerde meydana geldiğini ve tüm çeşitler için kontrol bitkilerine kıyasla daha yüksek SOD aktivitesi gözlemlediklerini, APX enzim aktivitesinin inokulasyon sonrası CNFRJ10564 ve CNFC9506 çeşitlerinde değerlendirilen zamanların çoğunda inokulasyon sonrası enzim aktivitesinin arttığını, diğerlerinde hem artış hem düşüş gözlemlendiğini, PPO enzim aktivitesinin tüm çeşitlerde kontrol bitkilerine kıyasla genel olarak benzerlik gösterdiğini, CAT enzim aktivitesinin her çeşit için tüm zamanlarda kontrole kıyasla artış ve ya azalış gösterdiğini, POX aktivitesinde ise genel olarak artış gözlemlendiğini en yüksek artışın 120. saatte olduğunu bildirmişlerdir.

Kaya (2015) tarafından yapılan çalışmada bor noksanlığı olan bir toprakta sera koşullarında yetiştirilen fasulye bitkisine yapraktan uygulanan bor ve indol asetik asitin, bitki gelişimi ve fizyolojik özelliklerine etkileri araştırılmıştır. Uygulamalardan iki hafta sonra alınan yaprak örneklerinde MDA, H_2O_2, prolin ve askorbik asit miktarları ile PPO, CAT, SOD ve APX enzim aktiviteleri ve membran geçirgenliği incelenmiştir. Sonuç olarak yapraktan bor uygulamasıyla bitkinin, H_2O_2, prolin ve askorbik asit miktarları ile APX ve SOD enzim aktivitelerinin kontrole göre arttığını, PPO ve CAT enzim aktivitelerinin azaldığını bildirmişlerdir.

Yılmaz (2015) tarafından yapılan çalışmada tuzluluk ve kuraklık stres koşullarına maruz bırakılan fasulye bitkisinde giberellik asit (GA) uygulamasının SOD, APX, CAT ve GR aktiviteleri üzerine etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak SOD ve APX aktivitelerinde belirgin değişiklik olmadığını, CAT ve GR aktivitelerinin ise kontrol grubuna göre azaldığı tespit edilmiştir.

Keshavarz-Tohid ve ark. (2016) yapmış oldukları çalışmada antioksidan enzim aktivitelerini incelemek üzere kontrollü koşullarda yetiştirdikleri fasulye bitkisine SNAP (S-nitroso-N-asetil D-penisillamin), CHA0 (*Pseudomonas fluorescent*) ve/veya cPTIO uyguladıktan 24 saat sonra patojen olarak *Rhizoctonia solani*'yi inokule etmişlerdir. Sonuç olarak SNAP, CHA0 ve *R. solani* inokulasyonundan sonraki 6, 12 ve 24. saatlerde POX, CAT ve APX aktivitesinde artış gözlemlenmiştir. Buna karşılık aynı anda cPTIO ve *R. solani* uygulaması sonrası 6. saatte POX ve APX'in aktivitesinde azalma, aynı uygulama için 12. ve 24. saatte ise POX, APX ve CAT enzim aktivitelerinde artış gözlemlemişlerdir.

Dildey ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada fasulye ve *Trichoderma* spp. arasındaki etkileşim sonrası fasulyede savunma enzim aktiviteleri incelenmiştir. Sonuç

olarak *Trichoderma* spp. inokulasyonundan 30 gün sonra alınan yaprak ve kök örneklerinden elde edilen POX, PPO ve PAL enzim aktivitesi sonuçlarının anlamlı olmadığını bildirmişlerdir.

Kabay ve Şensoy (2016) yapmış oldukları çalışmada kuraklık stresine tolerant (Yakutiye ve V-a1) ve duyarlı (Zulbiye ve T7) fasulye genotiplerinde kuraklık stresinin beş farklı döneminde enzim değişimlerini incelemişlerdir. Sonuç olarak CAT, SOD ve APX'ın tolerant genotiplerdeki miktarlarının, duyarlı genotiplere göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Ramzani ve ark. (2017) tarafından yapılan sera çalışmasında maş fasulyesindeki Kadmiyum (Cd) toksisitesini azaltmak amacıyla biochar (BC), kitosan (CH) ve yeşil atık uygulamalarının reaktif oksijen türleri, antioksidan enzim aktiviteleri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak, reaktif oksijen türlerinin önemli şekilde etkilendiğini, kontrole kıyasla en düşük artış gösteren hidrojen peroksit değerinin (% 4) Cd + % 1 CH uygulamasında, süperoksit (O_2^-) değeri için minimum artışın Cd + % 1 BC uygulanan topraklarda meydana geldiğini, protein, askorbat (AsA) içeriği ve CAT aktivitesinin kontrole kıyasla en fazla artışın (Sırasıyla 3, 2, ve % 15) Cd + % 1 BC uygulamasında, dehidroascorbat redüktaz (DHAR) ve SOD aktivitesi için en yüksek aktivitenin (sırasıyla % 9 ve 234) Cd + % 1 CH uygulanan topraklarda meydana geldiğini, GR, APX ve glutatyon peroksidaz (GPX) enzim aktivitelerinde ise Cd + % 1.0 BC uygulamasında en fazla azalışın gözlemlendiği, DHAR ve glutation S-transferaz (GST) enzim aktivitesi için ise Cd + % 1 CH uygulanan topraklarda en fazla azalışın meydana geldiğini saptamışlardır.

Tiryaki ve ark. (2018) yapmış oldukları çalışmada soğuğa adapte olmuş yabani otlardan izole ettikleri 5 bakteri türünü (*Pseudomonas fragi*, *P. chloropaphis*, *P. fluorescens*, *P. proteolytica* ve *Brevibacterium frigoritolerans*) 10 günlük fasulye fidelerine inokule etmişler ve sonuç olarak bakteriyel inokulasyonun O_2^- ve H_2O_2 gibi reaktif oksijen türlerinin seviyesinin ve buz çekirdeklenme aktivitesi ve lipit peroksidasyon içeriğini kontrole kıyasla azalttığını, bununla birlikte Süperoksit SOD, CAT, POX ve Glutatyon redüktaz (GR) dahil olmak üzere apoplastik antioksidan enzimlerin aktivitesini uyardığını bildirmişlerdir.

2.5. Farklı Bitki ve Patojen İnteraksiyonlarında Enzimatik Reaksiyon Çalışmaları

Arora ve Bajaj (1985) tarafından yapılan çalışmada *Rhizoctonia solani* fungal patojeni inokule edilmiş maş fasulyesine aynı zamanda bir hormon olan ethefon (2 -

kloroetil fosfonik asit) uygulaması sonrası POX ve PPO enzim aktiviteleri incelenmiştir. Sonuç olarak bakteriyel inokulasyondan 24 saat sonra POX enzim aktivitesinde artış gözlemlendiğini, sonraki saatlerde azalma meydana geldiğini, PPO enzim aktivitesinin ise tüm saatlerde artış olduğunu bildirmişlerdir.

Bashan ve ark. (1987) tarafından yapılan çalışmada *Pseudomonas syringae* pv. *tomota*'ya karşı dayanıklı ve hassas domates çeşitlerinde POX, PPO ve fenollerin bitki dayanıklılık mekanizmasıyla olan ilişkisi incelenmiştir. Sonuç olarak POX enzim aktivitesinin hem dayanıklı hem hassas çeşitte artış gösterdiğini ve dolayısıyla peroksidaz enzim aktivitesinin domates bitki dayanıklılık mekanizmasıyla doğrudan bir ilişkisinin olmadığını, Polifenoloksidaz enzimi aktivitesi ve fenol miktarının ise hastalıkla inokule edilmiş dayanıklı çeşitlerde hassas çeşide oranla daha yüksek olduğunu ve oksidatif fenol sisteminin *Pseudomonas syringae* pv. *tomota'*ye karşı domates bitkisinde dayanıklılıkta rol oynayabileceğini bildirmişlerdir.

Baysal ve ark. (2003) yapmış oldukları çalışmada domateste bakteriyel kanser hastalığına neden olan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e karşı dayanıklılığı uyarmak için bitki savunma aktivatörü olan asibenzolar-S-metil (ASM)'i kullanmışlardır. ASM ile muamele edilen bitki dokularında hastalık şiddetinde % 75 azalma görülmekle birlikte peroksidaz aktivitesinde önemli bir artış olduğunu bildirmişlerdir.

Karabay ve ark. (2003) tarafından yapılan çalışmada P *syringae* pv. *tomato* ve X *campestris* pv. *vesicatoria* inokule edilen domates bitkilerine inokulasyon sonrası Cupracol, Crop-Set, Bion uygulamalarının peroksidaz enzim aktivitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak kontrol grubuna oranla Cupracol uygulamasında sırasıyla % 140 ve % 122, Crop-Set uygulamasında % 107, Bion uygulamasında % 66 ve % 97 POX aktivite artışının olduğunu tespit etmişlerdir.

Soylu ve ark. 2003, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* bakteriyel patojenini inokule ettikleri domates fidelerine aynı zamanda ASM uygulaması yapmışlar savunma tepkilerini incelemek amacıyla Süperoksit dismutaz ve glutatyon S-transferaz enzim aktivitelerini incelemişlerdir. Sonuç olarak ASM uygulanan domates yapraklarında Süperoksit dismutaz ve glutatyon S-transferaz enzim aktivitelerinde artış görüldüğünü bildirmişlerdir.

Silva ve ark. (2004) sera koşullarında yapmış oldukları çalışmada sistemik dayanıklılığın uyarılması amacıyla B101R, B212R, ve A068R nolu rizobakterileri uyguladıkları tohumlardan gelişen domates (*Solanum lycopersicum* L.) fidelerine

Pseudomonas syringae pv. *tomato* patojenini inokule ettikten sonra Lipoksijenaz (LOX), Peroksidaz (POX) ve Fenil Alanin Amonyum Liyaz (PAL) enzim aktivitelerini incelemişlerdir. B101R nolu rizobakteri izolatının uygulandığı tohumlardan gelişen domates yapraklarından spektrofotometrik olarak elde ettikleri sonuçlara göre POX ve LOX enzimlerinin yüksek artış gösterdiği fakat PAL enzim aktivitesinde bir artış gözlemlenmediği sonucuna varmışlardır.

Türküsay ve Tosun (2005) yaptıkları çalışmada domates fidelerine bitki aktivatörü HuwaSan TR 50 ve bakterisit etkili ChampFormula ilaçlarını da tek başlarına ve kombine olarak uygulamalarından 72 saat sonra bitkilere *Clavibacter michiganensis* sps. *michiganensis* (Cmm) inokule etmişler ve 25 gün sonra alınan yaprak örnekleri üzerinde POX enzim aktivitesi ve total proteinde meydana gelen değişiklikleri araştırmışlardır. Sonuç olarak domates bitkilerindeki total protein ve peroksidaz enzim aktiviteleri değerlendirildiğinde POX enzimi için en iyi aktivite 772.5 mg/ml/dk'lık enzim aktivitesi ile, total protein bakımından tüm gruplar kontrol grubu ile ve kendi aralarında karşılaştırıldığında en yüksek total protein 0.623±0.043 mg/mL protein miktarı ile HuwaSan TR 50 + ChampFormula kombinasyonu uygulanan gruplarda tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Cavalcanti ve ark. (2006) sera koşullarında yaptıkları çalışmada bakteriyel leke hastalığına neden olan *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*'yı inokule ettikleri domates bitkilerine bitki aktivatörü olan ASM uygulamışlar ve antioksidan enzimlerden olan SOD, CAT ve POX enzim aktivitelerini incelemişlerdir. Kontrol gruplarına göre enzimatik tepki olarak SOD ve CAT enzim aktivite artışının uyarıldığı, POX'da ise daha yüksek bir enzim aktivitesi görüldüğünü saptamışlardır.

Umesha (2006) yapmış olduğu çalışmada domateste bakteriyel kansere neden olan *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* patojenine dayanıklı ve hassas domates çeşitlerine patojen inokulasyonu sonrası meydana gelen Fenil Alanin Amonyum Liyaz (PAL) enzim aktivitesindeki değişiklikleri incelemişlerdir. Sonuç olarak dayanıklı çeşitlerdeki PAL aktivitesi inokulasyondan 21 saat sonra artış gösterirken hassas çeşitlerde azalmanın olduğunu çeşitler arasında en yüksek PAL aktivitesinin 9517 µmol trans-cinnamic acid $mg^{-1}ph^{-1}$ enzim miktarıyla yüksek dayanıklılık gösteren Jyothi çeşidinde, en düşük enzim aktivitesinin ise 2835 µmol trans-cinnamic acid mg-1ph-1 enzim miktarıyla çok fazla hassas bir çeşit olan Ruchi çeşidinde tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Hariprasad ve Umesha (2007) yapmış oldukları çalışmada domateste bakteriyel leke hastalığına neden olan *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'ya karşı mücadelede PGPR uygulamalarının fenilalanin amonyum liyaz (PAL) ve peroksidaz (POX) enzim aktivitesini artırarak hastalık şiddetini önemli ölçüde baskıladığını bildirmişlerdir.

Kavitha ve Umesha (2008) yapmış oldukları çalışmada *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* inokule ettikleri dayanıklı ve hassas domates çeşitlerinde patojen uygulaması sonrası POX ve PPO enzim aktivitesini incelemişlerdir. Sonuç olarak dayanıklı çeşitlerde hassas çeşitlere ve hiç uygulama yapılmamış kontrol bitkilerine kıyasla daha yüksek POX ve PPO enzim aktivitesi gözlemlemişlerdir.

Vanitha ve Umesha (2008) sera koşullarında yaptıkları bir çalışmada *Ralstonia solanacearum*'*a* neden olan bakteriyel solgunluğa karşı hassas ve dayanıklı domates çeşitleri kullanarak POX enzim aktivitesini incelemişlerdir. Sonuç olarak dayanıklı çeşitlerde patojen inokulasyonundan sonraki 9. saat için POX aktivitesinin en yüksek olduğunu, hassas ve daha hassas çeşitlerde ise 15 ve 24. saatlerden sonra artış görüldüğünü saptamışlardır. Ayrıca dayanıklı çeşitlerin hastalık inokulasyonun yapılmadığı kontrol grubu ve duyarlı çeşitlere oranla daha yüksek enzim aktivitesi gösterdiğini bildirmişlerdir.

Vanitha ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada *Ralstonia solanacearum*'un neden olduğu bakteriyel solgunluğa karşı hassas ve dayanıklı domates çeşitleri kullanarak Fenilalanine amonyum liyaz (PAL) ve Polifenoloksidaz (PPO) enzim aktivitelerini incelemişlerdir. Sonuç olarak dayanıklı çeşitlerde PAL ve PPO enzim aktivitesinde inokulasyondan 12 saat ve 15 saat sonra maksimum artış görüldüğünü hassas çeşitler için önemli bir artışın olmadığını bildirmişlerdir.

Mandal ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada *Ralstonia solanacearum*'a karşı hassas ve dayanıklı domates çeşitlerinde patojen inokulasyonu sonrası H_2O_2 ve enzim aktivitelerini incelemişlerdir. Sonuç olarak inokulasyondan sonra dayanıklı çeşitte 12. saatte H_2O_2 artışının başladığını ve 36. saatte en yüksek seviyeye çıktığını ve bu durumla bağlantılı olarak dayanıklı çeşitte hassas çeşide kıyasla SOD, CAT, APX, Guaiacol peroksidaz (GP) enzim aktivitelerinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Karacif (2012) tarafından yapılan çalışmada M9 anaçlı elma (Golden, Gala, Skarlet, Breaburn) ve armut (Santa Maria, Ankara) fidanlarında *Erwinia amylovora* inokulasyonu sonrası bazı antioksidatif enzimlerde meydana gelen değişiklikler incelenmiştir. Sonuç olarak elma çeşitlerinde (Breaburn, Gala, Golden, Skarlet) kontrole

kıyaslala zamana bağlı olarak SOD aktivitesinde azalma, hidrojen peroksit, katalaz, askorbat peroksidaz aktivitesi, prolin ve nisbi klorofil miktarıda artış, armut çeşitlerinde ise Ankara çeşidinde SOD aktivitesinde kontrole göre azalma, katalaz aktivitesinde 24. saatte Ankara çeşidinde azalma olurken, Santa Maria çeşidinde artma, Askorbat peroksidaz enzim aktivitesinde ise her iki armut çeşidinde de artış görüldüğünü bildirmiştir.

Nisha ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada *Xanthomonas oryzae* bakteriyel yanıklığına karşı çeltik bitkisinde dayanıklılığın uyarılması amacıyla 4 farklı bitki (*Azardirachta indica*, *Ages mermelos*, *Cassia auriculata* ve *Vitex negundo*) ekstratı kullanılmış ve bitki ekstratları ile muamele edilen bitkilerdeki Polifenoloksidaz (PPO) ve Peroksidaz (POX) enzim aktivitesini incelenmiştir. Sonuç olarak *Vitex negundo* bakteriyel yanıklığa karşı yaklaşık % 76 kontrol sağlanmış ve PPO ve POX enzim aktivitesinin uyarıldığını bildirmişlerdir.

Özel (2010) tarafından yapılan çalışmada kök bakterileri tarafından uyarılmış konukçu bitkide enfeksiyona karşı savunma ile ilişkili anahtar enzim olan PAL aktivasyonundaki değişim kökbakterileri ile tohum bakterizasyonundan sonra, *P. syringae* pv. *tomato* ile inokule edilen domates bitkilerinde bakteriyel benek hastalığında azalma ve buna paralel olarak PAL enzim düzeyindeki artış olduğunu bildirmiştir.

Chandrashekar ve Umesha (2014) yapmış oldukları çalışmada bakteriyel benek hastalığına neden olan *Xanthomonas perforans'*ı hassas ve dayanıklı domates çeşitlerine inokule etmişler daha sonra sistemik dayanıklılığın uyarılması için dikloroizonikotinik asit (INA) uygulamışlar ve CAT enzim aktivitesini incelemişlerdir. Sonuç olarak INA uygulanan dayanıklı bitkilerde hassas çeşitlere oranla daha fazla CAT enzim aktivitesi olduğunu gözlemlemişlerdir.

Kurabachew ve Wydra (2014) tarafından yapılan çalışmada domateste bakteriyel solgunluğa neden olan *Ralstonia solanacearum*'a karşı bitki dayanıklılığını uyarmak amacıyla silisyum ve rizobakter (*B. pumilis*) uygulamış oldukları hassas ve dayanıklı bitkilerde PAL, POX ve LOX enzim aktivitelerini incelemişlerdir. Sonuç olarak patojenle inokule edilmiş ve silisyum uygulanmış olan bitkilerde LOX aktivesi azalırken, rizobakter ile muamele edilmiş örneklerde LOX aktivitesinde bir değişiklik olmadığını, silisyum ve rizobakterinin aynı anda uygulanmasıyla POX, PAL ve LOX aktivitesinin azaldığını, sadece hastalık inokule edilmiş olan bitkilerde ise bu üç enzimin dayanıklı bitkilerde hassas olanlara göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

Seleim ve ark. (2014) sera ve tarla koşullarında yürüttükleri çalışmada domates bakteriyel solgunluğuna (*Ralstonia solanacearum*) karşı PGPR bakteriler olan *Pseudomonas putida* ve *Pseudomonas fluorescens* bakterilerinin uygulanması sonrası POX ve PPO aktivitesini incelemişlerdir. PGPR ve patojen bakterilerle muamele edilmiş olan örneklerde POX ve PPO enzim miktarında artış gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Sumayo ve ark. (2014) yapmış oldukları çalışmada *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*'un neden olduğu yumuşak çürüklük hastalığına karşı tütün bitkisinde uyarılmış sistemik dayanıklılık (ISR) aktivitesini araştırdıkları çalışmada 6 farklı dozda linoleik asit (LA) kullanmışlardır. En yüksek ISR aktivitesi ve buna paralel olarak en yüksek Fenilalanin amonyum liyaz (PAL), Peroksidaz (POX) ve Polifenoloksidaz (PPO) enzim aktivitesinin 0.1 mM LA uygulanan muamelelerde tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Konappa ve ark. (1994) yapmış oldukları çalışmada domateste bakteriyel solgunluğa neden olan *Ralstonia solanacearum*'a karşı biyokontrol ajanı olan laktik asit bakterilerini uygulamışlar ve uygulama sonrası 0-72 saat arasında belli aralıklarla alınan yaprak örneklerinde POX, PPO, PAL, β-1,3 glukanaz enzim aktivitelerini incelemişlerdir. Sonuç olarak laktik asit bakterileriyle muamele edilen domates fidelerinde patojen uygulaması sonrası PAL, POX, PPO ve β-1,3 glukanaz enzim aktivitelerinin sırasıyla 24, 24, 32 ve 24 saat sonra maksimum seviyeye ulaştığını bildirmişlerdir.

Nuñez ve ark. (2018) sera koşullarında yürütmüş oldukları çalışmada lahana bitkilerine biofertilizer uygulamalar yaptıktan 120 saat sonra siyah damar çürüklüğüne neden olan *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* patojenini inokule etmişler ve POX, CAT, PAL enzim aktivitelerini incelemişlerdir. Sonuç olarak PAL aktivitesinin biofertilizer uygulanan bitkilerde patojen inokulasyonu sonrası 24 ve 144. saatte artış gösterdiğini, CAT enzim aktivitelerinin biofertilizer uygulanan bitkilerde diğer uygulamalara kıyasla bakteriyel inokulasyondan sonra daha yüksek enzimatik aktivitesi gösterdiğini, POX aktivitesinin ise biofertilizer uygulanan bitkilerde 120 ve 144. saatlerde daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Faillace ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada *Pectobacterium atrosepticum*'a çok hassas olan *Solanum tuberosum* cv. Agata patates çeşidinde farklı zamanlarda (0.5., 1., 2., 3., 6. saatler) aldıkları bitki dokularında SOD, CAT, APX enzim aktivilerini incelemişlerdir. Bitki savunma mekanizmasını uyarmak üzere patojen

uygulaması öncesi *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (XTH) ekstraktı kullanmışlardır. Sonuç olarak SOD aktivitesi kontrole kıyasla sadece bakteriyel patojen ve bakteriyel patojen + XTH uygulamasında 0.5., 1. ve 6. saatte azalma, 3. saatte sadece inokule edilen bitkiler için artış, CAT enzim aktivitesi için her iki uygulama içinde 1. saatte azalma diğer zamanlarda artış, APX enzim aktivitesi için ise 3. saatte her iki uygulama için artış, 6. saatte sadece Pba+ XTH uygulamasında artış görüldüğünü bildirmişlerdir.

2.6. Protein Çalışmaları

Bitkilerde patojen enfeksiyonu sonucu veya buna benzer stres koşullarında PR (patogenesis related) proteinleri sentezlenmekte ve sistemik direnç oluşturmaktadırlar. PR proteinleri patojenin saldırısını, yayılmasını, çok yönlülüğünü sınırlandırmakta ve yaralanma, incinme, yüksek osmotik basınç gibi diğer stres koşullarında da oluşmaktadırlar. İyi bilinen PR proteinleri; β -1,3- glukanazlar, kitinazlar, PR4 proteinleri, proteinazlar, kitosanazlar ve peroksidazlardır (Agrios, 2005).

Dayanıklılık (Resistance=R) proteinleri ve patojen efektörlerinin fiziksel interaksiyonları gen-için-gen modelinin ilk basamağını oluşturmaktadır ve bu reaksiyonun sonucu olarak dayanıklılık meydana gelmektedir (Keen, 1990). R-Avr proteinlerinin direk interaksiyona girmedigi bir dayanıklılık reaksiyonu, alternatif bir tanıma mekanizması olduğunu düşündürmüştür.

Dangl ve Jones (2001)'a göre bir efektör proteinin konukçuda birden fazla R proteini ile interaksiyona girebildigi hipotezini öne sürmüşlerdir. *Arabidopsis thaliana*'da bulunan RIN4 proteini konukçuda tip III bakteriyel efektörlere karşı gelen bir örnektir ve bu efektörler en az *NBS-LRR* genin alt grubu olan 2 TIR proteini tarafından tanınırlar. RIN4, 211 aminoasitten oluşan bir protein olup, plazma membranında bulunmaktadır. AvRpm1, AvrB ve AvrRpt2 efektörleri tarafından hedef alınmaktadır. AvRpm1 ve AvrB efektörde RIN4'ün fosforilasyonu tetiklemektedir.

Dölek (2001) yapmış olduğu çalışmada farklı fasulye çeşitlerine (Akman 98, Göynük 98, Karacaşehir 90, Şehirali 90 ve Yunus 90) uygulanan farklı tuz konsantrasyonlarının (% 0.0, 0.6, 1.0 w/v NaCl) toplam protein miktarına etkisini incelemiştir. Spektrofotometrik okumalar sonucunda artan tuz konstantrosyonuyla birlikte toplam protein miktarının azaldığını bildirmiştir.

Demir ve Kocaçalışkan (2002) yapmış oldukları çalışmada *in vitro* koşullarda fasulye tohumlarına NaCl ve prolinin ve bunların kombinasyon uygulamalarının klorofil

ve çözünebilir toplam protein miktarı üzerine etkilerini araştırmışlar sonuç olarak klorofil miktarının azaldığı ve çözünebilir toplam protein miktarının arttığı bildirmişlerdir.

Çanakçı ve Munzuroğlu (2004) yapmış oldukları çalışmada sera koşullarında yetiştirilen bir haftalık fasulye (*Paseolus vulgaris* L.) fidelerinden alınan çeliklere 50 ppm asetilsalisilik asit (ASA) ile % 1 NaCl ve 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulamalarının protein miktarı üzerine etkilerini incelemişlerdir. Sonuç olarak % 1 NaCl ve 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulanan çeliklerde sırasıyla % 30.78 ve % 22.92 oranlarında protein miktarının düştüğünü, sadece % 1 NaCl uygulanan çeliklerde ise 50 ppm ASA + % 1 NaCl uygulanan çeliklere göre protein miktarının % 10.19 oranında düşüş gösterdiğini bildirmişlerdir.

Venisse ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada, iki elma çeşidinde *E. amylovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *taba*ci ve *E. amylovora hrp* mutantı patojenlerin inokulasyonundan sonraki 6. ve 72. saat arasında protein miktarlarındaki değişimleri Bradford (1976) metodunu kullanarak gözlemlemişlerdir. PR protein familyasından kitinaz, β -1,3-glukanaz ve peroksidaz aktivitelerinin 48. saatte maksimum seviyeye ulaştığı ve daha sonrasında yavaş yavaş azaldığı saptanmıştır.

Eroğlu (2007) tarafından yapılan çalışmada üç farklı fasulye çeşidinde (Simav, Erzincan Çalı, Manyas Horoz), tohum çimlenme aşamasında ve gelişme dönemindeki bitkilere farklı konsantrasyonlarda uygulanan tuzun (0, 50, 100 ve 150 mM NaCl), çözünebilir toplam protein miktarı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak uygulanan tuz konsantrasyonu artışına paralel olarak, incelenen tüm fasulye çeşitlerinde protein miktarının azaldığını bildirmiştir.

Koç ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada biber (*Capsicum annuum* L.) fidelerine farklı konsantrasyonlarda (1, 10, 50 μM $ZnCl_2$) uygulanan çinkonun ($ZnCl_2$) çözünebilir toplam protein üzerine etkisi incelenmiştir. Sonuç olarak en yüksek çözünebilir toplam protein miktarının 50 μM $ZnCl_2$ uygulamasında olduğunu bildirmişlerdir.

Çetin ve Baştaş (2014) *Erwinia amylovora* enfeksiyonu sonucu farklı elma, armut ve ayva çeşitlerindeki konukçu protein miktarlarını belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada elma çeşitlerinde *E. amylovora* enfeksiyonu sonrası kontrole kıyasla 24. saatte toplam protein miktarının arttığını, 36. ve 72. saatte miktarın azaldığını, Braeburn çeşidinin en yüksek protein miktarına sahip olduğunu, armut çeşitlerinde, 24. ve 36. saatlerde toplam protein miktarı artarken, 72. saatte protein miktarının azaldığını ve

Santa Maria çeşidinin en yüksek protein miktarına sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Ayva çeşitlerinde, toplam protein miktarının 72. saatte arttığını ve Eşme çeşidinin en yüksek protein miktarına sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Çördük ve ark. (2016) yapmış oldukları çalışmada 4 haftalık *Vicia faba* L. bitkisine uygulanan farklı dozlarda dodin fungisiti uygulamışlar (0.04 mL/L, 0.08 mL/L ve 0.16 mL/L) ve uygulama sonrası 24, 48 ve 72 saat ara ile almış oldukları yaprak örneklerinde çözünebilir toplam protein miktarı ve peroksidaz (POX) aktivitesini değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak artan dodine konsantrasyonuyla birlikte tüm zamanlarda kademeli olarak çözünebilir toplam protein miktarı kontrole göre önemli ölçüde düştüğünü, peroksidaz aktivitesinin ise yükseldiğini bildirmişlerdir.

Farhangi-Abriz ve Torabian (2017) tarafından yapılan çalışmada iki farklı dozda tuz konsantrosyonu (kontrol, 6 ve 12 dSm^{-1} NaCl ve biochar (kontrol, %10 ve %20) uygulamalarının fasulye bitkileri kök ve yapraklarında çözünebilir toplam protein, prolin ve CAT, APX, POX, PPO SOD enzim aktiviteleri, MDA, oksijen radikalleri ve H_2O_2 aktivitelerine olan etkilerini incelemişlerdir. Sonuç olarak 12 dSm^{-1} NaCl uygulamasının 6 dSm^{-1} NaCl tuz konsantrasyonuna göre çözünebilir toplam protein, prolin ve CAT, APX, POX, PPO SOD, MDA, H_2O_2 aktivitelerini daha fazla arttırdığını, buna karşılık biochar uygulamalarının tüm parametreleri azalttığını bildirmişlerdir.

2.7. Prolin Çalışmaları

Prolin, bitkilere abiyotik strese karşı tolerans sağlayan ve patojenlere karşı bitki savunmasıyla ilişkilendirilen çok fonksiyonlu bir aminoasittir (Fabro ve ark., 2004; Senthıl Kumar ve Mysore, 2012; Szepesi ve Szőllősi, 2018). Tıpkı enzimlerde olduğu gibi stres sonrası prolinin savunmada görev aldığı düşünülmektedir. Bir aminoasit olan prolinin abiyotik, (Shevyakova, 1984; Lalk ve Dörffling, 1985; Paquin, 1985; Macháčcková ve ark., 1989; Delauney ve Verma, 1993; Saradhi ve ark., 1995; Srinivas ve Balasubramanian, 1995; Hare ve Cress, 1997; Zaifnejad ve ark., 1997; Mani ve ark., 2002; Siripornadulsil ve ark., 2002; Ashraf ve Foolad, 2007; Szabados ve Savoure, 2010) ve biyotik (Fabro ve ark., 2004; Lehmann ve ark., 2010; Cecchini ve ark., 2011; Senthil-Kumar ve Mysore, 2013) strese toleransta önemli rolü olduğu yapılan çalışmalarla bildirilmektedir. Prolin ile ilgili çalışmalar genellikle kuraklık tuzluluk, soğuk, besin eksikliği, ağır metaller gibi abiyotik stres üzerine yoğunlaşmıştır (Yoshiba ve ark., 1995; Hare ve Cress, 1997; Schat ve ark., 1997; Choudhary ve ark., 2005).

Ancak, çok az sayıda yayın biyotik strese cevaben prolin birikimi ile ilgilidir (Fabro ve ark., 2004; Haudecoeur ve ark., 2009; Sreedevi ve ark., 2013; Rehman ve ark., 2014). Bununla birlikte, konukçu patojen interaksiyonunda prolin birikiminin fonksiyonu hala tam olarak açıklanamamıştır (Haudecoeur ve ark., 2009).

Prolin amino asiti stres koşullarında toleransı arttırmak amacı ile hücrelerde birikmektedir. Prolin stres metabolitleri içinde en yaygın olanıdır. Bitkilerin su stresi, tuzluluk, soğuk, sıcaklık ve ağır metallere maruz kaldıklarında prolin içeriginin arttığı görülmüştür. Prolin birikimi çevresel stres indikatörü olarak da değerlendirilmektedir (Sharma ve ark., 1998; Chen ve ark., 2003).

Al-Karaki ve ark. (1996) tarafından yapılan çalışmada sorgum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) ve fasulye (*Phaseolus vulgaris* L. ve *P. acutifolius* A. Gray) çeşitlerini su stresi altında bırakma ve farklı dozlarda P (fosfor) uygulamalarının prolin birikimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak sorgum çeşitlerinde P artışına paralel olarak su stresi uygulanmış bitkilerde hiç uygulama yapılmayan kontrol gruplarına kıyasla daha yüksek prolin birkimi olduğunu, fasulye çeşitlerinde ise su stresi altında yetiştirilen bitkilerde hiç uygulama yapılmayan kontrol grubuna göre daha yüksek prolin birikimininin olduğunu fakat fosfor uygulamasının prolin birikimini olumsuz etkilediğini gözlemlemişlerdir.

Yüksek azot (N) uygulamarının fasulyede (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike) prolin miktarına etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak N dozu arttıkça prolin birikiminde artış olduğunu saptanmıştır (Sánchez ve ark., 2001).

Demir ve Kocaçalışkan (2002) tarafından yapılan çalışmada NaCl (150 mM), prolin (10 mM) ve bunların kombinasyonunun fasulye (*Phaseolus vulgaris* cv. Kızılhaç) fidelerinde prolin, klorofil, protein ve bitki gelişimi üzerine etkileri in vitro koşullarda incelemişlerdir. Sonuç olarak uygulanan NaCl'nin fide büyümesini azalttığını, kontrol fidelerine uygulanan prolinin fide bitki gelişimini değiştirmediğini ancak klorofil ve protein içeriğini arttırdığını bununla birlikte NaCl ile muamele edilmiş fideler prolin ile muamele edildiğinde elde edilen sonuçlar NaCl uygulamaları ile karşılaştırıldığında büyümeyi arttırdığı ve prolinin fasulye fidelerinde tuzluluk stresini hafiflettiğini bildirmişlerdir.

Fabro ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada *Arabidopsis thaliana* bitkisine *Pseudomonas syringae* pv. *tomato'*ya ait avirulent (avrRpt2 ve avrRpm1) ve virulent izolatlar ile inokulasyonu sonrası prolin birikimini incelemişlerdir. Sonuç olarak izolatların inokulasyonu sonrası prolinin yapraklarda biriktiğini ancak virulent izolat

inokulasyonu sonrası birikim olmadığını, avirulent izolatın inokulasyonu ile ortaya çıkan etkileşimin prolin biyosentezinden sorumlu pirolin-5-karboksilat sentaz (P5CS) enzimini kodlayan AtP5CS2 genini aktive ettiğini, prolin birikiminin avrRpt2 izolatına göre avrRpm1 izolatında daha hızlı birikim gösterdiğini bildirmişlerdir.

Erkılıç (2005), tarafından yapılan çalışmada, biber (*Capsicum annuum* L.) bitkisinde tuz (NaCl) ve tuzla birlikte uygulanmış çeşitli konsantrasyonlarda salisilik asitin (SA) prolin birikimi ile bazı fizyolojik parametreler üzerine etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak tuza-dayanıklı olduğu tespit edilen Demre-8 çeşidine ait fidelerde, tuz ve 0.5 ve 1.0 mM uygulamasının kontrole kıyasla alt ve üst yapraklarda prolin birikiminde artış, tuza-duyarlı olduğu tespit edilen Kahramanmaraş-Acı çeşidine ait fidelerde, ve 0.1, 0.5 ve 1.0 mM SA uygulamasının alt ve üst yapraklarında prolin birikiminde bir miktar azalma ile sonuçlandığı bildirilmiştir.

Zengin ve Munzuroglu (2005) tarafından yapılan çalışmada farklı kontrasyonlarda kurşun (Pb), bakır (Cu), kadmiyum (Cd) ve civa (Hg) uygulamalarının fasulye bitkisinde prolin, klorofil, retinol, α-tokoferol ve askorbik asit üzerine etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak artan ağır metal konsantrosyonlarına paralel olarak prolin, retinol, α-tokoferol ve askorbik asit miktarları artmış, klorofil miktarının azalmış olduğunu, prolin, toplam klorofil, retinol, α-tokoferol ve askorbik asit üzerinde en güçlü etkinin Hg uygulamalarında gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Misra ve Gupta (2005) tarafından yapılan çalışmada Mungo fasulyesi (*Phaseolus aureus*) çeşitlerine (tuza tolerant T-44, tuz stresine hassas SML-32) farklı konsantrasyonlarda (50 ve 100 mM NaCl) tuz stresi uygulamaları sonrası prolin birikimini incelemişlerdir. Sonuç olarak tuz uygulaması yapılmayan kontrol bitkileri ve farklı tuz konsantrasyonlarına (50 ve 100 mM NaCl) maruz kalan her iki Mungo fasulyesi çeşidinde prolin birikimi görülmesine rağmen, tolerant bir çeşit olan T-44 çeşidinde prolin birikimi daha yüksek bulunmuştur.

Jiménez-Bremont ve ark. (2006) yapmış oldukları çalışmada kuraklığa karşı hassas ve dayanıklı fasulye çeşitlerinde (Canario 60 ve Pinto Villa) farklı dozlarda NaCl (0, 25, 150, 400 mM) uygulaması sonrası kök gövde ve yapraklardaki prolin birikimini incelemişlerdir. Sonuç olarak hassas Canario 60 çeşidinin 400 mM NaCl uygulaması sonrası kuruduğunu, en yüksek prolin birkiminin 150 mM NaCl uygulamasıyla gövdede, kuraklığa dayanıklı Pinto Villa çeşidinde ise Canario 60 çeşidine göre daha yüksek prolin birikimi görüldüğünü ve kök, gövde ve yapraklarda en yüksek prolin birikiminin 400 mM NaCl uygulaması sonrası meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Eroğlu (2007) tarafından yapılan çalışmada üç farklı fasulye çeşidinde (Simav, Erzincan Çalı, Manyas Horoz), tohum çimlenme aşamasında ve gelişme dönemindeki bitkilere farklı konsantrasyonlardaki tuzun (0, 50, 100 ve 150 mM NaCl) prolin üzerindeki etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak uygulanan tuz konsantrasyonu artışına paralel olarak, incelenen tüm fasulye çeşitlerinde prolin içeriğinin arttığı saptanmıştır.

Tohma (2007) yapmış oldukları çalışmada farklı dozlarda tuz stresi uyguladıkları Camarosa çilek çeşidine SA uygulaması sonrası meydana gelen fizyolojik değişimleri incelemiştir. Sonuç olarak tuzlu şartlarda SA uygulamasının protein ve prolin miktarını artırdığını bildirmişlerdir.

Gür ve ark. (2010) yapmış oldukları çalışmada, pamuk bitkisinde yüksek sıcaklıkların antioksidant enzim aktivitesi, prolin birikimi ve bazı fizyolojik özellikler üzerine etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak yüksek sıcaklığa bağlı olarak prolin içeriğinde düşüş olduğunu bildirmişlerdir.

Aggarwal ve ark. (2011) yapmış oldukları çalışmada farklı seviyelerde selenyuma (1, 2, 4 ve 6 ppm) tabi tuttukları fasulye fidelerinde prolin içeriğini incelemişler 1 ve 2 ppm selenyum uygulamasında prolin miktarının arttığını 4 ve 6 ppm'de azaldığını belirlemişlerdir. Daha sonra aynı fidelere ekzojen olarak prolin 50 (µM) uygulamasının yapıldığını ve bu uygulamanın fasulyede endojen prolin miktarını arttırarak selenyumun toksik etkilerini azalttığını ve bitki gelişimine katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir.

Ghanbari ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada farklı sulama seviyelerinde (A sınıfı karterden 55-60 ve 100-110 mm buharlaşma sonrası sulama) beyaz fasulye (WA4502-1 ve WA4531-17), kırmızı fasulye (Akhtar, D81083 and AND1007) ve Chitti fasulyesi (KS21486, MCD4011 ve COS16) olmak üzere 8 adet fasulye genoitipinin iki farklı büyüme evresindeki prolin ve azot içeriği araştırılmıştır. Sonuç olarak kuraklık koşulları altında, AND1007 ve COS16 genotiplerinde her iki gelişim aşamasında yapraklardaki prolin birikiminin belirgin şekilde daha yüksek seviyelerdeyken WA4502-1 ve WA4531-17 genotiplerinde en düşük seviyede olduğunu bildirmişlerdir.

Sreedevi ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada tarçın (*Zingiber officinale*) ve domates (*Lycopersicon esculentum*) bitkilerine bakteriyel solgunluğa neden olan *Ralstonia solanacearum* inokulasyonu sonrası meydana gelen biyotik stres nedeniyle biyokimyasal değişiklikleri ve oksidatif stres enzimlerinin (OSE) ekspresyon profillerini incelemişlerdir. Sonuç olarak hastalıkla birlikte ortaya çıkan biyotik stresin her iki bitkide de daha yüksek (3 - 6 kat) prolin içeriğiyle sonuçlandığını bildirmişlerdir.

Ayoubi ve Soleimani (2015) tarafından yapılan çalışmada SA uygulaması ve patojen olarak *Rhizoctonia solani* inokülasyonunun, yeşil fasulye yapraklarında ve köklerinde prolin birikimi ve enzim aktivitelerine etkisi araştırılmıştır. Yapraklarda en yüksek prolin birikimi seviyesinin Rhizoctonia + 400 µM SA uygulaması ve Rhizoctonia + 200 µM SA uygulamasında gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Migdadi ve ark. (2016) yapmış oldukları çalışmada iyi sulanmış, hafif ve şiddetli kuraklık altında yetişen dokuz adet bakla genotipinin (Gazira 2, Tribal White, Kamline, Giza 2, Giza 843, Hassawi 2, ILB 1814, Giza Blanka, Gazira 1) yapraklarındaki serbest prolin içeriğini incelemişlerdir. Sonuç olarak yüksek kuraklık stresi altında en yüksek prolin içerik değerleri (264.0, 228.1 ve 212.9 µg) sırasıyla Gazira 1, Giza Blanka ve Hassawi 2'de, iyi sulanmış bitkilerde ise en düşük prolin içeriğinin (sırasıyla 46.3 ve 49.7 µg) Gazira 2 ve Tribal White genotiplerinde bulunduğunu saptamışlardır.

2.8. Biyofilm Oluşum Çalışmaları

Bakteriler hayatta kalabilmek için önemli olan genlerin ekspresyonunu değiştirerek sıcaklık, pH, ozmoz ve besin kullanılabilirliği gibi değişen çevresel koşullara adapte olabilirler. Bakteriler tek bir hücre yerine topluluklar oluşturarak bu olumsuzlukların üstesinden gelmektedir. Bu nedenle çoğu bakteri, hem biyotik hem de abiyotik strese karşı çevreyi algılama sistemi olarak adlandırılan bir işlemle gen ekspresyonunu değiştirerek olumsuz koşullara yanıt vermektedir (Whitehead ve ark., 2001; Sibanda ve ark., 2018)

Bitki patojeni bakterilerin lokal populasyon yoğunluklarını belirlemek için Quorum Sensing olarak adlandırılan küçük sinyal moleküllerine sahiptirler. Bitki patojeni bakterilerden, *Ralstonia solanacearum*'daki hareketlilik, *Erwinia carotovora*'daki antibiyozis *ve Xanthomonas campestris*'deki UV ışınlarına dayanıklılık gibi genleri düzenlemek için QS sinyallerini kullanılır. QS sinyalleri ayrıca, bitki patojeni bakteriler tarafından, *Pseudomonas stewartii*, *X. campestris* ve *R. solanacearum*'daki psopolisakaritler dahil olmak üzere ana patojenisite faktörlerini başlatmak için kullanılmaktadır (von Bodman ve ark., 2003; Baştaş ve Kannan, 2015).

Bir yüzeye bağlı bakteri popülasyonlarına biyofilm denir ve önemli bir virülans faktörü olarak da işlev görebilir. Patojenik bakteri türleri tarafından enfeksiyonun başlamasından önce, bakteriler tarafından stabil biyofilm-popülasyon büyüklüğü oluşturulmalıdır.

Bakteriler çevreleriyle ve birbirleriyle sözcükler yerine kimyasal sinyal molekülleri kullanarak etkileşim yeteneğine sahip sosyal organizmalardır (Miller ve Bassler, 2001; Waters ve Bassler, 2005; Rasmussen ve Givskov, 2006). Bakteriler sinyal moleküllerini içinde bulundukları ortama salgılayabildikleri gibi bu moleküllerin ortamdaki yoğunluğunu ölçebilen ve QS adı verilen bir mekanizmaya sahiptirler (Parsek ve Greenberg, 2005; Diggle ve ark., 2007; Ng ve ark., 2011; Baştaş ve Kannan, 2015). Bakteriler ortamdaki sinyal moleküllerinin yoğunluğunu ölçerek aslında çevrelerindeki hücre yoğunluğu hakkında bilgi edinmiş olurlar. Yani ortamdaki sinyal molekülü yoğunluğu onu salgılayan hücrelerin miktarıyla doğru orantılıdır (Bassler ve Losick, 2006).

QS sisteminde kullanılan sinyal molekülleri türden türe değişmekle birlikte üç ana gruba ayrılmıştır. Bunlar Açil-Homoserin Lakton (AHL veya HSL) türevleri, küçük peptitler, Furanosil Borat Diester' dir. AHL sinyal molekülleri gram negatif bakteriler tarafından kullanılır. Küçük peptit sinyal molekülleri ise gram pozitif bakteriler tarafından kullanılır. Furanosil borat diester ise bazı gram negatif veya gram pozitif bakteriler tarafından kullanılmaktadır (Deep ve ark., 2011, March ve Bentley 2004).

Mew (1984) tarafından yapılan çalışmada çeltik bakteriyel yanıklığına neden olan *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*'ya hassas ve dayanıklı olan iki çeltik (*Oryza sativa*) çeşidine (TN1 ve CAS 209) *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*'nın üç farklı izolatının (PX061 her iki çeşit için virülant, PX086 izolatı TN1 çeşidi için virülant, PX0101 izolatı ise her iki çeşit için virülant değil) inokulasyonu sonrası 1, 24, 48 ve 72 saat sonra alınan yaprak örnekleri taramalı elektron mikroskopta incelenmiştir. Sonuç olarak tüm kombinasyonlarda inokulasyondan 1 saat sonra yaprak yüzeyinde bakteri hücre sayısında belirgin bir fark görülmediğini, inokulasyondan 24 saat sonra, TN1 ve CAS 209 çeşidi için PX061 izolatının su gözenekleri dışında çoğaldığını ve bu gözeneklerden giriş yaptığını, PX0101 bakteri hücrelerinin, yaprak yüzeyinde belirgin bir şekilde çoğalmadığını ve su gözenekleri tarafından salgılanan ince bir eksudat tabakasına gömüldüğünü, TN1'e virülent ancak CAS 209'a avirulent olan bakteri hücrelerinin TNl'in su gözeneklerinde çoğaldığını, ancak aşılamadan 48 saat sonra CAS 209 çeşidinin eksudatlar içinde tutulduğunu ve her üç izolatında her iki çeşidin stomalarında çoğalmadığını bildirmişlerdir.

Morris ve ark. (1997) yapmış oldukları çalışmada ıspanak, marul, çin lahanası, kereviz, pırasa, fesleğen, maydanoz ve geniş yapraklı hindiba bitkilerinin yaprak yüzeylerinde bulunan mikroorganizmaların biyofilm oluşumunu epifloresan

mikroskobu, taramalı elektron mikroskobu ve konfokal lazer tarama mikroskobu kullanarak incelemişlerdir. Sonuç olarak incelenen tüm bitkilerin yaprak yüzeylerinde her üç yöntemle de biyofilm oluşumunun gözlemlenebildiğini bildirmişlerdir.

Jacques ve ark. (2005) yapmış oldukları çalışmada adi yaprak yanıklığı hastalığına neden olan *X. a.* pv. *phaseoli* bakteriyel patojenine oldukça hassas iki fasulye çeşidinde (Michelet ve Contender) hastalıklı yaprak yüzeylerinin simptomatik bölgelerinden alınan yaprak örneklerinde biyofilm oluşumunu taramalı elektron mikroskobunda ve bitkilere uygulanan hidrik stresin biyofilm üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak *X. a.* pv. *phaseoli* biyofilm populasyonlarının Michelet fasulye çeşidinin ekiminden sonraki 41, 56 ve 69. günlerde ve Contender fasulye çeşidinin ekiminden sonraki 27, 33, 48, 61 ve 82. günlerde önemli bir farklılık olmadığını, stres uygulanması sonucunda, yaprak yüzeyindeki populasyonların azaldığını, biyofilm fraksiyonunun sabit kaldığını bildirmişlerdir.

Gürel ve Şerbetçi (2009) tarafından yapılan çalışmada zeytin ağaçlarında dal kanseri hastalığına neden olan *P. syringae* pv. *savastanoi* izolatlarında quorum-sensing'den sorumlu Açil-homoserin lakton (AHL) molekülü incelenmiştir. Sonuç olarak bakterinin sentezlediği bu molekülün bir N-(3-okzo-hekzanoil)-L-homoserin lakton (OHHL) olduğunu saptanmıştır.

Carvalho ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada fasulye ve börülce bitkilerine *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 6, 12, 24 ve 48 saat sonra alınan yaprak örnekleri ve *X. a.* pv. *phaseoli* ile fasulye ve börülce arasındaki etkileşimler taramalı elektron mikroskopta incelenmiştir. Sonuç olarak taramalı elektron mikroskobu görüntüleri, her iki türün yaprak yüzeylerinde 6-48 saat boyunca morfolojik değişiklikler olduğunu börülce bitkisi yaprağında 48. saatte, *X. a.* pv. *phaseoli*'nin stomaya yakın dağılımını, stomada, koruyucu ve yardımcı hücrelerin 12 ila 48 s arasındaki hafif farklarla küçüldüğünü, fasulye bitkilerinin stomalarının da börülce bitkisindeki morfolojik değişimlerle benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Çepni (2014), yaptığı çalışmada Rize ve İstanbul'da yetişen 26 bitki türünün anti-QS aktivitelerini *Chromobacterium violaceum* 12472, *C. violaceum* 026, *Micrococcus luteus* RSKK 1123, *Lactococcus lactis* ATTC 11454 bakterileri üzerinde bitki ekstreleri bakteri kültürüne eklenerek bir aminoasit olan nisin üretiminin baskılanmasını indikatör bir ırk aracılığıyla test edilmiş ve sonuçlar ters-transkriptaz (RT)-PCR analizi ile desteklenmiştir. Sonuç olarak, 22 bitkide anti-QS aktivite gözlemlenmemiştir. *Quercus robur* L., *Quercus frainetto* Ten., *Epilobium angustifolium*

L. ve *Tanacetum balsamita* L. subsp. *balsamitoides*'in ekstrelerinde %31-62 arasında anti-QS aktivite bulunmuştur. Yüksek aktivite gösteren *Quercus robur* L.'nin etil asetat fraksiyonunda, viyolasin üretimi % 92 oranında baskılanmıştır.

Mori ve ark., (2018) tarafından yapılan çalışmada domates bitkisine *Ralstonia solanacearum* inokulasyonu sonrası domates yapraklarının alt epidermis katmanlarında patojen virülansı için gerekli olan biyofilmleri görüntülemek amacıyla inokulasyondan 18 ve 24 saat sonra aldıkları yaprak örneklerini taramalı elektron mikroskopta incelemişlerdir. Sonuç olarak inokulasyondan 18 saat sonra hücreler arası alanlar ve domates hücrelerinin yüzeylerinde mikro koloniler, 24 saat sonra hücre dışı bir matris ile çevrili biyofilm benzeri yapılar görüntülediklerini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırma, 2014-2019 yıllarında Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Moleküler Bitki Bakteriyolojisi Laboratuarı, Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (İLTEK), Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Laboratuarı ve Iğdır Üniversitesi Araştırma Laboratuarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (ALUM) yürütülmüştür.

3.1. Materyal

3.1.1. Bitkisel Materyal

Araştırmada bitkisel materyal olarak Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Tohum Koleksiyonu ve Doğu Anadolu Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü'nden temin edilen 36-K ve Aras-98 çeşitlerine ait tohumlar kullanılmıştır. 36-K ve Aras-98 çeşitlerine ait bazı tohum özellikleri Çizelge 3.1'de verilmektedir.

Çizelge 3. 1. Araştırmada kullanılan fasulye çeşit/genotiplere ait tohumların bazı özellikleri

S. No.	Geno./Çeşit	BDA* (g)	Tohum Şekli**	Tohum Rengi	Bitki habitüsü
1	36-K	245.2	Ellipticus	Koyu Kırmızı	Yarı sarılıcı
2	Aras 98	454.0	Oblongus	Beyaz	Bodur

*BDA: Bin Dane Ağırlığı
**Tohum Şekilleri
Ellipticus: Tohumlar elips şeklindedir.
Oblongus: Tohumlar uzun silindirik ve böbrek şeklindedir.

Aras-98 çeşidi Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından Doğu Anadolu Bölgesi için tescil edilmiştir. Bodur tipli, bakla boyu 13-14 cm ve bakla eni 7-8 mm, toplam dane ağırlığı ortalama 3.3 g, uzun yassı bakla şekilli olan, bitki başına ortalama 17 adet bakla bağlayan, baklada ortalama 5 adet beyaz renkli yuvarlak, uzun tane içeren bir çeşittir. Doğu Anadolu Bölgesi şartları için erkenci ve dik bitki formuna sahiptir. Yüksek verime sahip kuru fasulye çeşitleri arasında bulunan Aras-98 çeşidi Doğu Anadolu Bölgesi dışında İç Anadolu ve Marmara bölgesinde de yetiştirilebilmesi, kuru fasulyede teknolojik özellikler ve besinsel bileşimler açısından önerilen kaliteli, erken hasada gelebilen ve dik bitki formuna sahip tavsiye edilen bir çeşittir (Babagil ve ark., 2011). Ayrıca yapılan çalışmalarla *X. a.* pv. *phaseoli* ve *P. s.* pv. *phaseolicola* bakteriyel hastalıklarına tarla koşullarında yıldan yıla değişiklik göstermekle birlikte hassas veya tolerant olduğu yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (Dönmez, 2004; Elkoca ve Çinar, 2015). Agronomik özellikleri ve çevreye adaptasyon

kabiliyeti oldukça yüksek ve kaliteli bir çeşit olduğundan çalışmada bu çeşit kullanılmıştır. Aras-98 çeşidine ait tohum ve fide görüntüleri Şekil 3.1'de verilmektedir.



Şekil 3.1. Aras-98 çeşidi, **A;** Aras-98 çeşidine ait tohum, **B;** Aras-98 çeşidine ait bitkiler

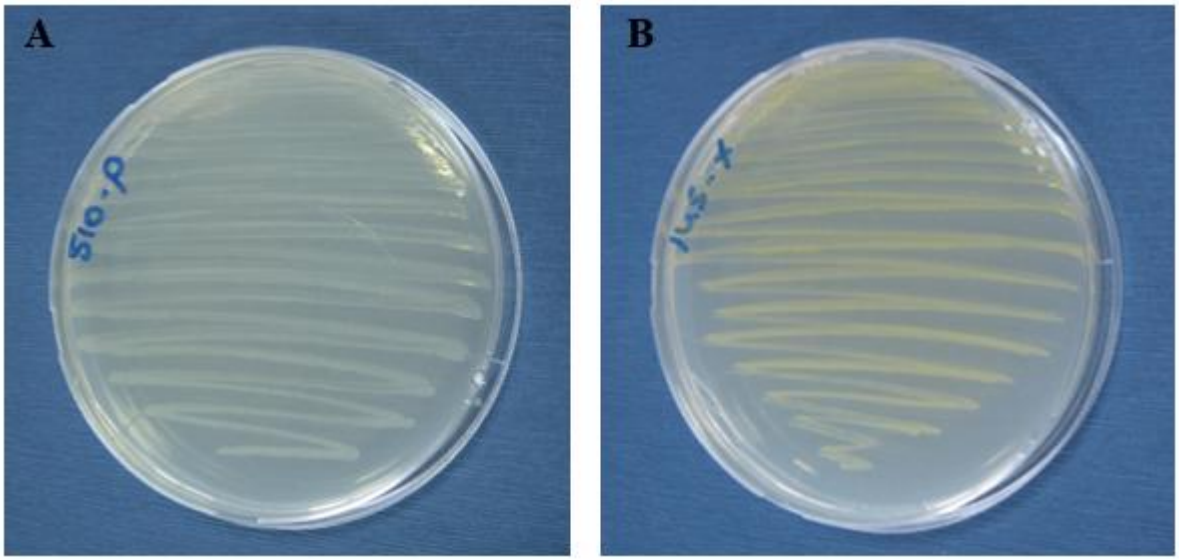
36-K genotipi Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü tarafından geliştirilmiş bir genotiptir. Çalışmamızda kullanmış olduğumuz *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* bakteriyel patojenlerine karşı dayanıklı genotip olarak bildirilmiştir (Donmez ve ark., 2013). 36-K genotipine ait tohum ve fide görüntüsü Şekil 3.2'de verilmektedir.



Şekil 3.2. 36-K genotipi, **A;** 36-K genotipine ait tohum, **B;** 36-K genotipine ait fideler

3.1.2 Denemelerde Kullanılan Fitopatojen Bakteriler

Araştırmada kullanılan fitopatojen bakteriler *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x)'ye ait ikişer izolat, Iğdır Üniversitesi Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen DÖNMEZ'in bakteri kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (510-p) ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*'nin (145-x) Nutrient Agar (NA) besi yerindeki gelişimi Şekil 3.3'de verilmektedir.



Şekil 3.3. *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*'nin Nutrient Agar (NA) besi yerindeki gelişimi, A; *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (510-p), B; *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*'nin (145-x) Nutrient Agar (NA) besi yerindeki gelişimi

3.1.3. Kullanılan Malzeme, Cihaz ve Kimyasallar

Malzeme ve Cihazlar; Spektrofotometre (Thermo), Soğutmalı santrifüj (Hettich), Vortex (Wisemis), Hassas terazi (Shimatzu), Ph Metre (Bluelab) Çalkalayıcı (Wisestir), Spektrofotometre Küveti (Isolab, Quarz), Spektrofotometre Küveti (Lp Italiana Spa, Tek kullanımlık**),** Filtre kağıdı (Whatman No:42), Huni (Isolab), Falcon tüpü (Isolab, 15ml), Otomatik pipetler (Eppendorf), Pipet ucu (Isolab), Vorteks (WiseMix), Isı Bloğu (Techne), Çalkalayıcı (Heidolph), Santrifüj (WiseSpin), otoklav (HIRAYAMA), inkübatör (MEMMERT), Steril Kabin (ESCO) Eppendorf Tüpler (Isolab, 2 ml, 0.2 ml), Mikrobiyal Tanı Sistem (AGILENT), su banyosu (MEMMERT), magnetik karıştırıcı (WISESTIR), Derin Dondurucu -80 (ESCO), Buzdolabı (BEKO), Mini Karıştırıcı (WISEMIX), Saf Su Cihazı (MILLIPORE), kar buz makinesi (Innova-Inof 20) kullanılmıştır.

Kimyasallar; 50 mM Na-Asetat, Polietien glikol 6000, 4-Metil Katekol, MTBH, DMF, Asetik asit, Etanol, 50 mM K-fosfat, 50 mM K-fosfat, BSA (Bovine serum albümin), Coomassie brilliant blue G-250, H_2O_2 (%30), Na-EDTA, Etil alkol (%95), H_2O_2 (%30), Askorbik asit, Fosforik asit (%85), 0,06 mM EDTA çözeltisi, 150 µg/L NBT, 400 mM Na_2CO_3, 0,166 U/mL ksantin oksidaz, 0,8 mM $CuCl_2.2H_2O$, 20 mmol/L guiacol, Sulfosalisik asit, Ninhidrin, Glasiyel asetik asit, Toulen, L-Prolin, Phenlymethylsulfonyl (PMSF), Cinnamic asit, L-phenylalanine, Maya özeti, Nutrient Broth Besi Yeri, Nutrient agar Besi Yeri, King B Besi Yeri, Glikoz, Agar, Tripton, NaCl, % 3'lük KOH, % 1 tetra methyl-p-phenylendiamine dihydrochloride disk, Nişasta, Sukroz kullanılmıştır.

3.2.1. Yöntem

3.2.2. Bakteriyel İzolatları Tanılama Test Çalışmaları

Stok kültürden elde edilen *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) izolatlarında kontaminasyon sorununun olmaması ve teşhis doğrulaması amacıyla patojenler için bazı biyokimyasal, morfolojik, fizyolojik ve moleküler tanılama testleri yapılmıştır.

3.2.2.1. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensetive Response=HR) Testi

NA besiyerine ekimi yapılan bakteriyel strainler, 24-48 sa 26 ^{0}C'de inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. Gelişen bakteriyel kültürlerden saf su kullanılarak spektrofotometrede konsantrasyon ayarlaması yapılmıştır (OD_{660}: 0.15). 10^8 hücre/ml yoğunlukta olan solüsyonlar 1cc'lik plastik enjektörlerle tütün (*Nicotiana tobaccum* cv. *benthamiana*) yapraklarının alt kısmından damar aralarına enjekte edilmiştir. İnokule edilen bitkiler en az 72 sa, ışıklı bir ortamda muhafaza edilerek inokulasyonun yapıldığı kısımda nekroz oluşup oluşmadığı tespit edilmiştir. Ölü doku oluşumu HR pozitif, oluşmaması ise HR negatif olarak değerlendirilmiştir (Klement ve Goodman, 1967; Lelliott ve Stead, 1987).

3.2.2.2. Biyokimyasal Testler

3.2.2.2.1. Gram Reaksiyon Testi

Bakteri strainlerinin hücre duvarlarındaki farklılığı belirleyebilmek için bir lam üzerine, % 3'lük KOH çözeltisinden bir iki damla damlatılmıştır. Ardından NA üzerinde geliştirilen 24-48 sa'lik bakteri kültüründen öze ile alınarak KOH çözeltisi ile 5-10 s karıştırıldıktan sonra öze yukarıya doğru kaldırılmıştır. Gram negatif özellikte olan mikroorganizmalarda hücre duvarındaki peptidoglycan tabakası tek katlı olup, takoik asit içermediğinden KOH ile kolayca parçalanarak, sitoplazma sıvısı serbest hale geçmiş bunun sonucunda da viskoz bir uzama gözlemlenmiştir. Hücre duvarı özelliği gram pozitif olan bakterilerde ise KOH - bakteri karışımı sulu bir sıvı halinde kalarak öze yukarı doğru kaldırıldığında uzama gözlemlenmemiştir (Saygılı, 1995).

3.2.2.2.2. YDC Besi Yerinde Gelişim

YDC besi yerine bakteri kültürlerinin 48-60 saat 25^{o}C'de inkübasyondan sonra besi yerinde gelişen kolonilerin rengi tespit edilmiştir (Saygılı, 1995).

3.2.2.2.3. Katalaz Testi

Katalaz, elektron transfer zincirinin sonunda açığa çıkan H_2O_2'in parçalanarak O_2 ve H_2O'ya dönüşümünü sağlayan bir enzimdir. Katalaz enzimin varlık veya yokluğunu belirlemek için bakteri izolatları NA ortamında geliştirilmiştir. 24-48 sa'lik bakteri kültüründen bir öze alınarak üzerine 1 damla H_2O_2 ilave edilmiştir. Kabarcık oluşumu katalaz pozitif, oluşmaması ise katalaz negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987).

3.2.2.2.4. Oxidaz Testi

Elektron transferinde bakterilerin cytochrome c proteinine sahip olup olmadıkları bu testle saptanmıştır. Solunum prosesinde cytochrome c proteini (oxidaz c) görev almakta ve elektron transfer sisteminde maddeleri birinden diğerine indirgeyerek hücresel enerji oluşumuna neden olmaktadır. Test için % 1 tetra methyl-p-phenylendiamine dihydrochloride içeren diskler kullanılmıştır. Bu diskler 1 damla distile su ile doyurulduktan sonra üzerleri 24-48 sa'lik bakteri ile kaplanmıştır.

Gözlemlenen mavimsi-mor renk, diskte kodlu olan kimyasal ile enzimin reaksiyona girdiğini ve bakteride citocrome c proteininin olduğunu ifade etmektedir. Bu renk değişiminin oluşması pozitif, oluşmaması ise negatif sonuç olarak kabul edilmiştir (Kovaks, 1956; Klement ve ark., 1990; Saygılı, 1995).

3.2.2.2.5. Nişasta Hidrolizi

Nişasta molekülünü parçalayarak biyolojik enerjiye dönüştürmede görev yapan amilaz enziminin var olup olmadığı bu testle belirlenmiştir. NAS besiyerine bakteriler nokta veya çizgi ekimle kontamine edilmiştir. 2-7 günlük bir inkübasyon sonrasında bakteri kolonisinin etrafında görülen renk açıklığı veya hale amilaz pozitif olarak değerlendirilmiştir. Sonuç çıplak gözle fark edilemediğinde lugol solüsyonundan 5 ml petrilere döküldü ve mavi renk verenler negatif, mavi renk vermeyip ekim çizgileri etrafında açık renk hale verenler pozitif olarak tespit edilmiştir (Klement ve ark., 1990; Saygılı, 1995).

3.2.2.2.6. Levan Testi

Bu teste nutrient sukroz agar besi yeri kullanıldı. Kültürler çizgi ekim şeklinde ekilerek 27 °C'de 5 gün inkübe edilmiştir. Levan sucrase enziminin sukrozu kullanması sonucu oluşan konveks, mukoid koloniler levan pozitif, konveks ve mukoid yapıda olmayan koloniler ise levan negatif olarak belirlenmiştir (Lelliot ve Stead, 1987; Klement ve ark., 1990).

3.2.2.2.7. Fluorescent Pigment Üretim Testi

Fluorescent pigment üreten strainlerin belirlenmesi amacıyla King B besiyeri hazırlanmıştır. Her bir strain katılaşan besiyerine çizgi ekimle kontamine edildikten sonra, 25 ^{o}C'ye ayarlı inkübatörde 2 gün süreyle inkübe edilmiştir. Gelişen kültürler UV (Ultraviyole lamba) altında, karanlık odada gözlemlenmiş olup, yeşil fluorescens pigment üretenler pozitif, diğerleri negatif olarak değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987).

3.2.2.3. Patojenisite Testi

36-K fasulye genotipi ve Aras-98 fasulye çeşidine ait 3'er adet tohum 23,7 x 19,2 cm'lik 3'er saksıdaki toprağa (1:1:1, toprak:yanmış hayvan gübresi:kum) ekilerek inokulasyon için 6-7 yapraklı fide dönemine kadar gelişmeleri beklenmiştir. Test edilecek olan *P. s.* pv. *phaseolicola* (120-x ve 145-x) ve *X. a.* pv. *phaseoli* izolatları (510-p ve 522-p) NA besiyerine ekilerek 25 ^{o}C'de 24 sa inkübe edilmiştir. Konsantrasyonu 10^{8} hücre/ml olacak şekilde, gelişen bakteri kültürlerinden solüsyonlar hazırlanarak bitkilerin yapraklarına püskürtülmüştür. Negatif kontrol olarak ise steril distile su kullanılmıştır. İnokulasyon sonrası 24 saat süreyle bitkiler üzerine polietilen torbalar geçirilerek % 80-90 nemli ortamda kalması sağlanmıştır. İnokulasyon sonrası 7-28 gün boyunca hastalık simptomlarının oluşumu gözlemlenmiştir. Simptom gelişimi gözlenen yapraklardan tekrar bakteri izolasyonu ve tanısı yapılmıştır. Yapılan test 3 tekerrürlü olarak aynı şartlarda 3 kez tekrarlanmıştır (Taylor, 1970).

3.2.2.4. Bakterilerin Yağ Asit Profillerine Göre Tanılanması

P. s. pv. *phaseolicola* (120-x ve 145-x) ve *X. a.* pv. *phaseoli* (510-p ve 522-p) bakteri strainlerinden yağ asit metil ester ekstraksiyonu (FAME), izolasyonu, saflaştırılması ve tanısı Bilgisayar kontrollü gaz kromatografi sisteminin standart protokolü kullanılarak yapılmıştır (MIDI, Inc., Newark, DE). Referans kültür olarak MFD 149 *P. s.* pv. *phaseolicola* (MIS tanılama yüzdesi 91) kullanılmıştır. Test edilen bakteriyel patojenler steril bir öze ile stok kültürden alınmış, Trypticase Soy Broth Agar (TSBA) besiyerine 4'lü fazda çizgi ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler, 24-48 sa süreyle 25^{o}C'de inkübasyona bırakılmıştır. Bakteri strainlerinin yağ asitlerini saf olarak izole etmek için MIS siteminin prosedürü kullanılmıştır. Bu prosedüre göre 4 farklı çözelti kullanılmıştır. Çözelti 1 için 45 g Sodyum hidroksit, 150 ml Metil alkol ve 150 ml saf su, Çözelti 2 için 325 ml Hidroklorik asit, 275 ml Metil alkol (metilleştirme), Çözelti 3 için 200 ml hekzan 200 ml Metil-tert-bütil eter (saflaştırma), Çözelti 4 için 10.8 gr Sodyum hidroksit 900 ml saf su kullanılmıştır (bazik yıkama). Yağ asit metil esterlerinin saflaştırılmasında kullanılan metod aşağıda verilmektedir.

1. TSBA'da geliştirilen bakterilerin bulunduğu petrilerin 3 ve 4 numaralı fazlarından canlı bakteri hücreleri steril bir özeyle toplanarak (~35mg) steril

teflon kapaklı cam test tüplerine (5 ml) aktarılmış ve tüpler etiketlenerek ağızları kapatılmıştır.

2. Her bir test tüpüne 1 ml Çözelti 1'den ilave edilmiş ve 5-10 sn çalkalandıktan sonra test tüpleri 100^{o}C'de 5 dk inkübasyona bırakılmıştır. Ardından tekrar 5-10 sn çalkalanan test tüpleri 100^{o}C' de 25 dk süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bu muamele ile canlı hücreler parçalanarak, yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmıştır.
3. Test tüplerine 2 ml Çözelti 2'den eklendikten sonra 5-10 sn' lik çalkalanarak 80^{o}C' de 10 dk inkübasyona bırakılmış ve hemen takiben 2 dk süreyle buzda soğutulmuştur. Bu uygulama ile 30 serbest yağ asitlerine ester bağları ile metil eklenmiş ve yağ asitlerinden yağ asit metil esterleri elde edilmiştir. Böylece yağ asitlerine yüksek sıcaklıklarda uçuculuk özelliği kazandırılmıştır.
4. Soğutulmuş tüplere 1.25 ml Çözelti 3'den eklenerek 10 dk süreyle hematoloji çalkalayıcısında çalkalandıktan sonra alt faz uzaklaştırılmış üst faz muhafaza edilmiştir. Elde edilen çözeltiye 3 ml Çözelti 4 ilave edilerek 5 dk süreyle karıştırıldıktan sonra 10 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu aşamada da tüp içerisinde tekrar iki ayrı faz oluştuğu gözlenmiştir. Üst fazda toplanan ve yağ asit metil esterleri içeren fazdan 2 ml alınarak gaz kromatografisi tüplerine transfer edildikten sonra ağızları sıkıca kapatılmıştır.

MIS (Mikrobiyal Tanılama Sistemi) siteminin metoduna göre elde edilen yağ asitleri ağızları sıkıca kapatılan gaz kromotografi tüplerine eklenerek MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirilmiştir. Cihaz çalıştırılarak sistem kılavuzunda belirtildiği üzere örnekler analiz edilmiş ve tanı sonuçları alınmıştır. Bakteri strainlerinin yağ asitlerini elde etmede kullanılan çözeltiler ve strainlerinin MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirilmesi Şekil 3.4.'de verilmektedir.



Şekil 3.4. MIS (Mikrobiyal Tanılama Sistemi) sistemi, A; bakteri strainlerinin yağ asitlerini elde etmek için kullanılan çözeltiler, B; bakteri izolatlarının MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirilmesi

3.2.3. Enzim Analizleri

3.2.3.1. Bitki materyali büyüme koşulları

36-K fasulye genotipi ve Aras-98 fasulye çeşidine ait fasulye tohumları % 2'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 2 dakika bekletilerek yüzeysel sterilizasyon yapılmıştır ve steril saf su ile yıkanmıştır. Tohumlar içerisinde steril torf, toprak ve kum (1:1:1) karışımı olan 23.7 x 19.2 cm çaplı saksılara ekilmiştir. Bitkiler gündüz sıcaklık 23-25^{o}C gece 15-18 ^{o}C, % 65-70 neme ve 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ışık sistemine sahip iklim odası koşullarında yetiştirilmiştir. İklim odası koşullarında yetiştirilen test bitkilerinin görüntüsü Şekil 3.5'de verilmektedir.



Şekil 3.5. İklim odası koşullarında yetiştirilen test bitkileri

3.2.3.2. Bakteriyel inokulasyon

P. s. pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) ve *X. a.* pv. *phaseoli* izolatlarının (120-x ve 145-x) stok kültürden Nutrient Agar (NA) besi yerine ekimleri yapılmıştır. 24-48 saatlik taze kültürlerden 10^8 hücre/ml yoğunlukta (OD_{660}: 0.15) süspansiyonlar hazırlanarak basınçlı bir el pülverizatörü ile 28 günlük fasulye bitkilerinin yaprak dokusuna püskürtülerek inokulasyon sağlanmıştır. İnokulasyon sonrası yaprak örneklerinin alındığı süre boyunca *P. s.* pv. *phaseolicola* inokule edilen bitkiler 23 ^{o}C'de, *X. a.* pv. *phaseoli* inokule edilen bitkiler 27-28 ^{o}C'de iklim odası koşullarında tutulmuştur. Kontrol bitkilere steril saf su püskürtülmüştür. Bakteriyel solüsyonların bitki yapraklarına infiltrasyonu Şekil 3.6'da verilmektedir.



Şekil 3.6. Bakteriyel solüsyonların bitki yapraklarına infiltrasyonu

3.2.3.3. Enzim analizleri için bitki örneklerinin alınması

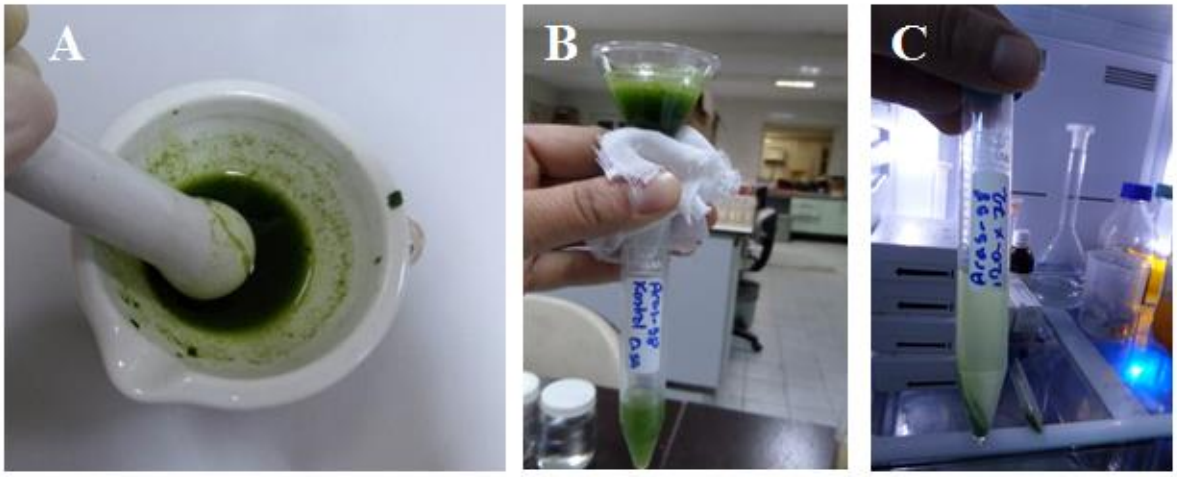
Bakteri inokulasyonundan sonraki 0., 12., 24., 36. ve 72. saatlerde tüm bakteriyel inokulasyon yapılan bitkiler ve kontrol bitkilerden 1'er gram olacak şekilde alınarak bu örnekler analizler uygulanıncaya kadar –80 ^{o}C'de muhafaza edilmiştir (Terenashi ve ark., 1974).

3.2.3.4. Polifenoloksidaz (PPO; EC :1.14.18.1) enzim analizi

3.2.3.4.1. Polifenoloksidaz (PPO) enzim analizi için ekstrakt çıkarılması işlemi

Fasulye bitkilerinden alınan 1 g yaprak örneği sıvı azot yardımıyla toz haline getirilmiştir. 6 mL soğuk ekstraksiyon çözeltisi [50 M Na-Asetat buffer (pH 5)], ile homojenize edildikten sonra, homojenat 4°C'de 20 dakika 10 000 devirde santrifüj edilmiştir (Jebara ve ark., 2005). Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant temiz tüplere aktarılarak analizler yapılıncaya kadar -80^{o}C'de muhafaza edilmiştir.

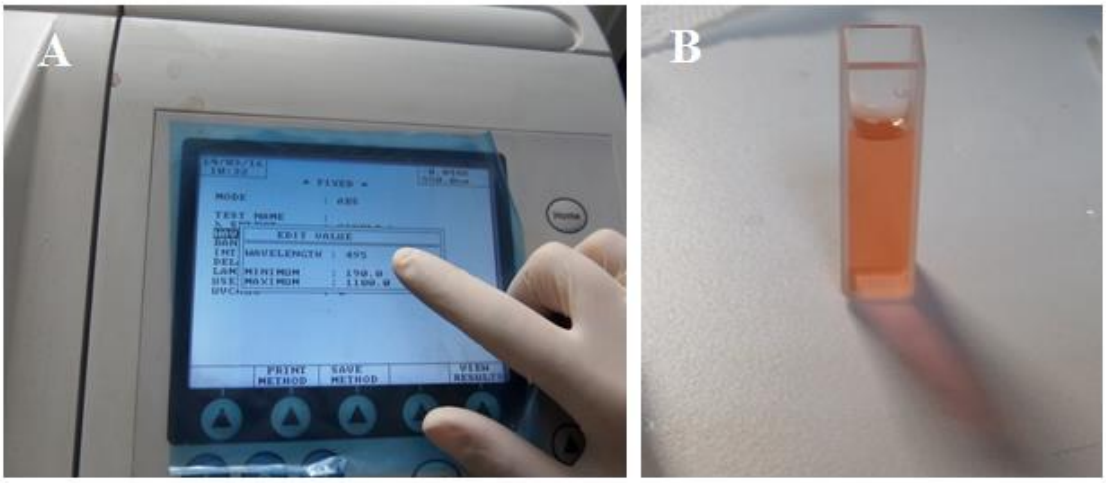
PPO enzim analizi için yaprak örneklerinin homojenize edilmesi, süzülmesi ve elde edilen homojenat Şekil 3.7'de verilmektedir.



Şekil 3.7. Polifenoloksidaz enzim analizinin yapılışı: A; yaprak örneklerinin homojenize edilmesi, B; elde edilen homojenasyonun süzülmesi, C; elde edilen homojenat

3.2.3.4.2. Polifenoloksidaz (PPO) aktivitesinin belirlenmesi

Polifenoloksidaz enzim aktivitesi için reaksiyon çözeltisini 2 ml 50 mM sodyum asetat tamponu (pH 5) ve 100 µl enzim ekstraktı oluşturmuştur. Reaksiyon 100 µl 100 mM 4-metil katekol eklenerek başlatılmıştır. 596 nm'de absorbansdaki artış 1 dakika boyunca spektrofotometrede kaydedilmiştir (Espín ve ark., 1995). PPO enzim aktivitesi bir ünite olarak; 1 mL reaksiyon karışımında bir dakikadaki 0.001 absorbans artışına neden olan enzim miktarı olarak tanımlanmıştır (Galeazzi ve ark., 1981). PPO enzim aktivitesi ölçümü yapılan spektrofotometre cihazı ve enzim reaksiyonu sonrası ortaya çıkan renk değişimi Şekil 3.8'de verilmektedir.



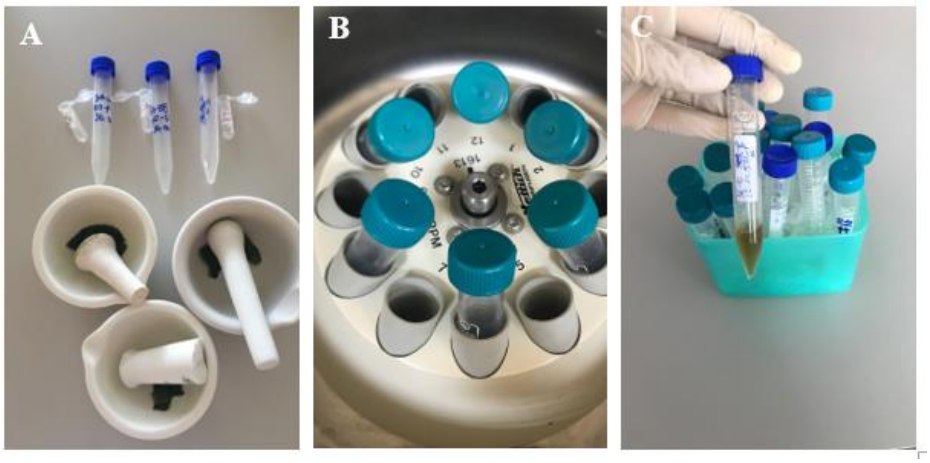
Şekil 3.8. Peroksidaz enzim aktivitesi spektrofotometrik okuma: A; spektrofotometre, B; enzim reaksiyonu sonrası ortaya çıkan renk değişimi

3.2.3.5. Katalaz (CAT; EC: 1 .11. 1.6) enzim analizi

3.2.3.5.1. Katalaz (CAT) enzim analizi için ekstrakt çıkarılması işlemi

Fasulye bitkilerinden alınan 1 g yaprak örnekleri örnekleri sıvı azot yardımıyla toz haline getirilmiştir. 5 mL soğuk ekstraksiyon çözeltisi [50 mM potasyum fosfat buffer (pH 7)], ile homojenize edildikten sonra, homojenat 4°C'de 30 dakika 10000 devirde santirüj edilmiştir (Jebara ve ark., 2005). Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant temiz tüplere aktarılarak analizler yapılıncaya kadar -80^{o}C'de muhafaza edilmiştir.

CAT enzim aktivitesi için yaprak örneklerinin homojenize edilmesi, santrifüj ve elde edilen süpernatant Şekil 3.9'de verilmektedir.



Şekil 3.9. Katalaz enzim analizi yapılışı: A; yaprak örneklerinin homojenize edilmesi, B; santrifüj işlemi C; elde edilen süpernatant

3.2.3.5.2. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin belirlenmesi

CAT enzim aktivitesi, Aebi (1984) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek ölçülmüştür. Reaksiyon çözeltisini 50 mM K-fosfat tampon çözeltisi (pH 7.0), ve 30 mM % 30'luk H_2O_2 oluşturmuştur. CAT enziminin spektrofotometrik ölçümü; 1 ml'lik son hacme sahip kuartz küvetler kullanılarak 240 nm'de (E=39.4 mM cm^{-1}) 1 dk içindeki absorbans değişimi kaydedilerek yapılmıştır. Elde edilen absorbans değerleri ile enzim atkivitesi (mmol/g^{-1}YA/da^{-1}) hesaplanmıştır.

3.2.3.6. Askorbat Peroksidaz (APX; EC: 1.11.1.1) enzim analizi

3.2.3.6.1. Askorbat Peroksidaz (APX) enzim analizi için ekstrakt çıkarılması işlemi

Fasulye bitkilerinden alınan 1g yaprak örnekleri alınarak sıvı azot yardımıyla toz haline getirilmiştir. 5 ml soğuk ekstraksiyon çözeltisi [50 mM potasyum fosfat buffer (pH 7)], ile homojenize edildikten sonra, homojenat 4 °C'de 30 dakika 10000 devirde santrifüj edilmiştir (Jebara ve ark., 2005). Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant temiz tüplere aktarılarak analizler yapılıncaya kadar -80^{o}C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3.6.2. Askorbat Peroksidaz (APX) enzim aktivitesinin belirlenmesi

Askorbat peroksidaz enzim aktivitesi Nakano ve Asada, (1981) tarafından geliştirilen metot baz alınarak ölçülmüştür. Askorbat peroksidaz enzim aktivitesi 290 nm'de (E=2.8 mM cm-1) askorbik asite bağlı H_2O_2'in indirgenmesiyle ölçülmüştür. Reaksiyon çözeltisini 1 ml 50 mM K-fosfat tampon çözeltisi (pH 7.0), 0.5 mM askorbik asit, 1 mM EDTA, 0,1 mM H_2O_2 ve 100 µl enzim ekstraktı oluşturmuştur. Reaksiyon 100 µl enzim ekstraktının ilavesi ile başlatılmıştır. Değerlendirme, 1 g yaş ağırlık için 2 dakika içinde absorbans değişimi (mmol/g^{-1}YA/da) kaydedilerek hesaplanmıştır.

3.2.3.7. Süperoksit Dismutaz (SOD; EC: 1.15.1.1) enzim analizi

3.2.3.7.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) enzim analizi için ekstrakt çıkarılması işlemi

Fasulye bitkilerinden alınan 1 g yaprak örneği sıvı azot yardımıyla toz haline getirilmiştir. 5 ml soğuk ekstraksiyon çözeltisi [50 mM potasyum fosfat buffer (pH 7)], ile homojenize edildikten sonra, homojenat 4 °C'de 30 dakika 10000 devirde santirüj

edilmiştir (Jebara ve ark., 2005). Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant temiz tüplere aktarılarak analizler yapılıncaya kadar -80 ^{o}C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3.7.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Süperoksit Dismutaz (SOD) enzim aktivitesi Sun ve ark. (1988) tarafından geliştirilen metot kullanılarak ölçülmüştür. Reaksiyon çözeltisini 0.3 mM Ksantin, 0.06 mM EDTA, 150 µg/l NBT, 400 mM Na_2CO_3, 1 g/l Sığır serum albümin, 0.166 U/mL Xanthine oxidase (Stoktan seyreltme yapılacaksa 2 M amonyum sülfat kullanılır.), 0.8 mM $CuCl_2$ $2H_2O$ ve 50 µl enzim ekstraktı oluşturmuştur.

Reaktif karışımı; 50 tüplük olacak şekilde, 50 ml ksantin, 25 mL EDTA, 25 mL Nitroblue tetrazolium (NBT), 16 ml Na_2CO_3, ve 7.5 mL Albümin çözeltisi karıştırılarak hazırlanmıştır. Daha sonra bir tüpe 2850 µl reaktif karışımı, 50 µl enzim ekstraktı, 50 µl saf su ve 50 µl ksantin oksidaz enzimi eklenerek 25 dakika 25^{o}C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 50 µl $CuCl_2$ $2H_2O$ eklenerek reaksiyon durdurulmuş hem kör tüpü hem de numune tüpü saf suya karşılık 560 nm de absorbansı okunmuştur. İnkübasyon esnasına NBT'nin redüksiyon hızındaki % 50'lik inhibisyon 1 SOD ünitesi olarak ifade edilmiştir. Hesaplamalar için aşağıdaki formüller kullanılmıştır.

$$\text{İnhibisyon (\%)} = \frac{\text{(Kör ABS - Numune ABS)}}{\text{Kör ABS}} \text{ X 100}$$

$$\text{SOD Aktivite (U/ml)} = \frac{\text{\% İnhibisyon}}{\text{50 X 0,05}}$$

SOD enzim aktivitesi için reaktif karışımını oluşturan kimyasallar ve inkübasyon sonrası reaksiyon oluşumu Şekil 3.10'de verilmektedir.



Şekil 3.10. Süperoksit dismutaz enzim analizinin yapılışı: A; reaktif karışımını oluşturan kimyasallar, B; reaksiyon karışımı

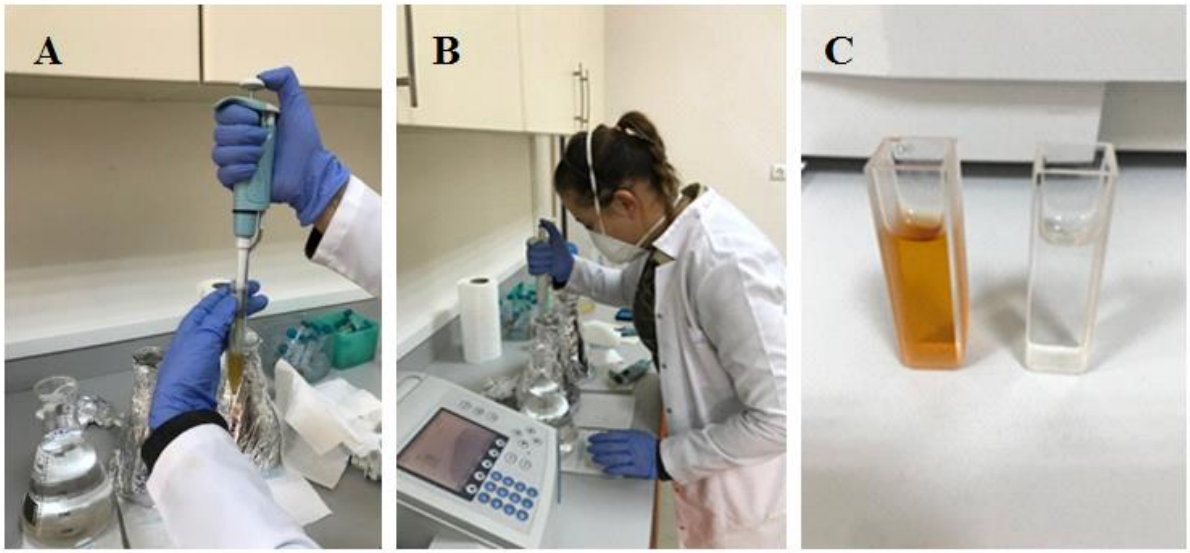
3.2.3.8. Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) enzim analizi

3.2.3.8.1. Peroksidaz (POX) enzim analizi için ekstrakt çıkarılması işlemi

Fasulye bitkilerinden alınan 1 g yaprak örneği sıvı azot yardımıyla toz haline getirilmiştir. 5 mL soğuk ekstraksiyon çözeltisi [50 mM potasyum fosfat buffer (pH 7)], ile homojenize edildikten sonra, homojenat 4 °C'de 30 dakika 10 000 devirde santirüj edilmiştir (Jebara ve ark., 2005). Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant temiz tüplere aktarılarak analizler yapılıncaya kadar -80^{o}C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3.8.2. Peroksidaz (POX) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Peroksidaz (POX) Enzim Aktivitesi Lin ve Kao, (1999) tarafından geliştirilen metot kullanılarak ölçülmüştür. Reaksiyon çözeltisini 20 mmol/l Guiacol, 10 mmol/l KH_2PO_4, 40 mmol/l H_2O_2 ve 100 µl enzim ekstraktı oluşturmuştur. Reaksiyon H_2O_2'in eklenmesiyle başlatılmıştır. 470 nm'de absorbansdaki artış 1 dakika boyunca spektrofotometrede kaydedilmiştir. 1 ünite POX aktivitesi 1 dakikada 1 mg protein başına 420 nm'de 0,001 birim absorbans artışı olarak tanımlanmıştır. POX enzim aktivitesi için pipetleme, spektrofotometrik okuma, reaksiyon sonrası renk değişimi Şekil 3.11'da verilmektedir.



Şekil 3.11. Peroksidaz enzim analizinin yapılışı: A; pipetleme işlemi, B; spektrofotometrik ölçüm, C; enzimatik reaksiyon sonrası meydana gelen renk değişimi

3.2.3.9. Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL; EC 4.3.1.5) enzim analizi

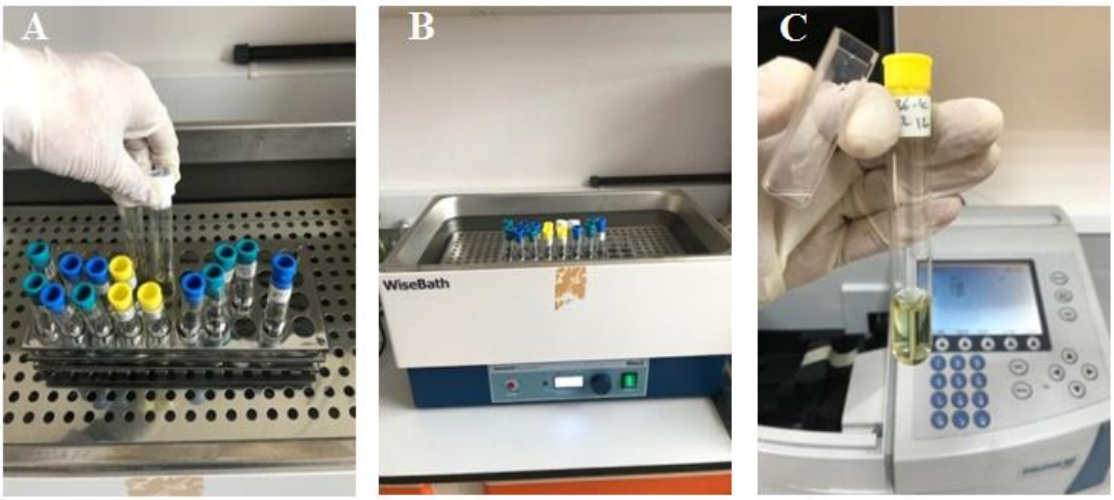
3.2.3.9.1. Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL) enzim analizi için ekstrakt çıkarılması işlemi

Fasulye bitkilerinden alınan 1 g yaprak örnekleri sıvı azot yardımıyla toz haline getirilmiştir. 2 mM EDTA, 5 mM M-merkaptoetanol ve % 4 polivinilpirrolidon (PVP) içeren 5 ml 100 mM borat tampon çözeltisi (pH 8.8) ile homojenize edildikten sonra, homojenat 4 °C'de 20 dakika 10000 devirde santrifüj edilmiştir (McCallum ve Walker, 1990). Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant temiz tüplere aktarılarak analizler yapılıncaya kadar -80 ^{o}C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3.9.2. Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Reaksiyon çözeltisini 3 ml 50 mM borat tampon çözeltisi (pH 8.8) ve 0.5 ml 20 mM L-fenilalanin ve 500 µl enzim ekstraktı oluşturmuştur. 3 ml 50 mM borat tampon çözeltisi (pH 8.8) ve 0.5 ml 20 mM L-fenilalanin karıştırılarak 37 ^{o}C'de 5 dakika inkübe edildikten sonra 500 µl enzim ekstraktı eklenerek tekrar 37 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Reaksiyon 1 saat sonunda 5 N 50 µl HCl ile durdurulmuştur. PAL enzim aktivitesi 37 ^{o}C inkübasyon sonunda spektrofotometrede 290 nm dalga boyunda enzimin fenilalanini parçalayarak oluşturduğu trans sinnamik asit ölçülerek belirlenmiştir. 0-100 µmol/ml arasında değişen trans-sinnamik asit standart eğrisi

kullanılarak PAL aktivitesi 290 nm'de µmol g^{-1} sinnamik asit $saat^{-1}$ olarak kaydedilmiştir (McCallum ve Walker, 1990). PAL enzim aktivitesi için 37 ^{o}C'de inkübasyon ve inkübasyon sonrası reaksiyon karışımı Şekil 3.12'de verilmektedir.



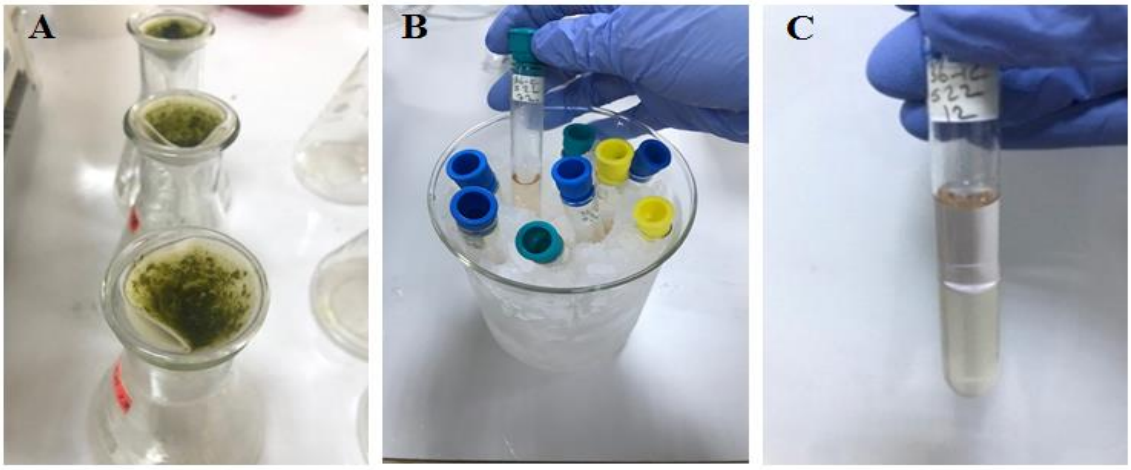
Şekil 3.12. Fenilalanin amonyum liyaz enzim analizinin yapılışı: A ve B; enzim reaksiyon çözeltisinin 37 ^{o}C'de inkübasyonu, C; inkübasyon sonrası reaksiyon karışımının son hali

3.2.4. Prolin Analizi

Prolin tayini spektrofotometrik olarak asit-ninhidrin tayiniyle belirlenmiştir. Asit-ninhidrin çözeltisini elde etmek için 1.25 gr ninhidrin 20 ml 6 M fosforik asit ve 30 ml glasiyal asetik asit içerisinde çözdürülmüştür. 4 haftalık fasulye fidelerine ait her gruptan 0,5 gr yaprak örneği alınarak % 3'lük sülfosalisik asitle homojenize edilip whatman no:42 kağıdıyla filtre edilmiştir. Elde edilen filtrasyondan 2 ml alınarak üzerine 2 ml asit ninhidrin çözeltisi ve 2 ml glasiyal asetik asit eklenerek elde edilen çözelti 100 ^{o}C'de 1 saat su banyosunda inkübe edilmiş daha sonrasında buz banyosuna aktarılarak reaksiyon durdurulmuştur. 10 dk buz banyosunda bekletilen karışıma 4 ml toluen eklenerek sıvı fazda aspire edilen toluen fraksiyonunun 520 nm'deki absorbası kaydedilmiştir. Prolin konsantrasyonu kalibrasyon eğrisi yardımıyla hesaplanmış ve µmol/mL Prolin g^{-1} Y.A. olarak belirlenmiştir. Prolin değerleri kullanılan standart grafikte elde edilen sonuçlar ile kıyaslanmış ve sonuçlar µmol g^{-1} taze ağırlık olarak ifade edilmiştir (Bates ve ark., 1973). Bu amaçla aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\text{µmol prolin } g^{-1}\text{taze ağırlık} = \frac{[(\text{µg prolin ml}^{-1}\text{x toluene hacmi (ml) (115.5 µg µmol}^{-1})]}{(\text{g örnek}/5)}$$

Prolin tayini için homojenasyonun filtre edilmesi, filtrasyon sonrası elde edilen çözeltinin buz banyosunda bekletilmesi ve çözeltinin son hali Şekil 3.13'de verilmektedir.

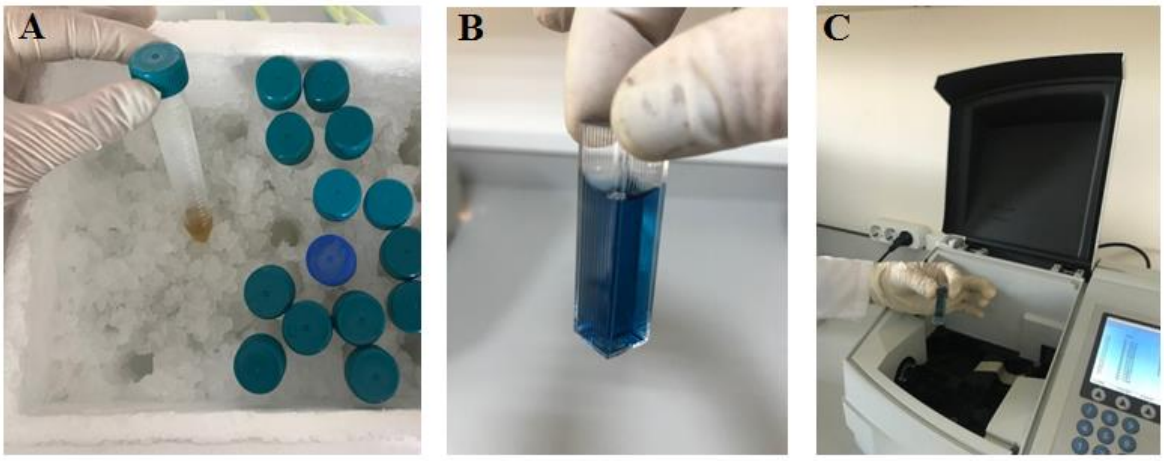


Şekil 3.13. Prolin analizinin yapılışı: **A**; homojenasyonun filtre edilmesi, **B**; filtrasyon sonrası elde edilen çözeltinin buz banyosunda bekletilmesi, **C**; çözeltinin son hali

3.2.5. Çözünebilir Toplam Proteinin Belirlenmesi

Bitki örnekleri her bitki çeşidi ve zamana göre 3'er adet olmak üzere 1'er gr tartılarak, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH = 7,2) ve % 1 PVP ile homojenize edilmiştir. Daha sonra 4 °C'de 10 000 devirde 30 dk. santrifüj edilerek süpernatantlar yeni eppendorf tüplere alınmıştır (Ben Khaled ve ark., 2002). Elde edilen fasulye bitki ekstraktlarının çözünebilir toplam protein içeriği Bradford, (1976) göre belirlenmiştir. Bu yöntemde bir organik boyar madde olan Commassie brillant blue G-250'nin proteindeki renklendirme özelliğinden yararlanılmıştır. Commassie brillant blue G-250, negatif yüklü olan ve proteindeki (+) yüklü gruplara bağlanan bir boya olması dolayısıyla boya, kırmızı (Amax=465 nm) ve mavi (Amax=595 nm) formlarda bulunur. Kırmızı form çözeltideki haldir. Boya proteine bağlanınca mavi renk oluşmaktadır. Protein ekstarktlarının konsantrasyonunu belirlemek için Coomasie Brillant Blue reaktifi ve protein standartlarının hazırlanması için Bovin Serum Albumin (BSA) kullanılmıştır. Elde edilen süpernatanttan 0.1 ml alınarak 5 ml Bradford çözeltisi eklenmiştir. 10 dakika karanlıkta inkübasyon sonrası 595 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. Örneklerin toplam protein miktarları oluşturulan protein standart eğri grafiği kullanılarak belirlenmiştir.

Çözünebilir Toplam Protein tayini için elde edilen süpernatant, Bradford çözeltisi, spektrofotometrik okuma Şekil 3.14'de verilmektedir.



Şekil 3.14. Çözünebilir Toplam Protein tayininin yapılışı, **A**; Protein ekstraktlarının santrifüjü sonrası elde edilen süpernatant, **B**; Bradford çözeltisi, **C**; Spektrofotometrik okuma

3.2.6. Enfeksiyon sonrası fasulye çeşitlerinde bakteriyel kolonizasyonun tespiti

3.2.6.1. Bitki materyalinin büyüme koşulları ve inokulasyon

36-K fasulye genotipi ve Aras-98 fasulye çeşidine ait fasulye tohumları % 2'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 2 dakika bekletilerek yüzeysel sterilizasyon yapılmıştır ve steril saf su ile yıkanarak içerisinde torf, toprak ve kum (1:1:1) karışımı olan 15 cm çaplı saksılara ekilmiştir. Sera koşullarında 3-5 yapraklı döneme gelen fasulye bitkilerine hazırlanan bakteriyel süspansiyonlar basınçlı bir spreyle yaprak dokusuna püskürtülerek inokulasyon sağlanmıştır (Jacques ve ark. 2005).

3.2.6.2. Bakteriyel İnokulasyon Hazırlama

P. s. pv. *phaseolicola* (120-x ve 145-x) ve *X. a.* pv. *phaseoli* izolatlarının (510-p ve 522-p) stok kültürden Nutrient Agar (NA) besi yerine ekimleri yapılmıştır ve 48 saatlik kültürler her bir bakteriye ait 2'şer izolat karıştırılmak suretiyle 10^8 hücre ml^{-1} yoğunlukta (OD_{660}: 0.15) süspansiyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonlar scanning elektron mikroskopta (SEM) bakteriyel patojenlerin kolonizasyon ve biyofilm oluşumunun tespiti amacıyla bitkilere inokule edilmiştir.

3.2.6.3. Scanning Elektron Mikroskopta (SEM) İncelenmek Üzere Bitki Örneklerinin Alınması

Bakteri inokulasyonundan 24 sonra bitkilerden alınan yaprak numuneleri bekletilmeden ve buz içerisinde olmak üzere Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'ne (İLTEK) SEM'de incelenmek üzere teslim edilmiştir. *P. s.* pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) ve *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) patojenlerinin yaprak yüzeyinde oluşturdukları kolonizasyon ve biyofilm oluşumunun tespiti amacıyla numuneler SEM protokolüne uygun olarak incelenmiş ve görüntüler elde edilmiştir (Jacques ve ark. 2004).

3.2.8. İstatistiksel Analizler

Üzerinde durulan kantitatif özelliklere ait tanıtıcı istatistikler ortalama ve standart hata olarak ifade edilmiştir. Elde edilen verilerin analizinde üç yönlü (faktöriyel) varyans analizi tekniğinden yararlanılmıştır (Sokal ve Rohlf, 1981). Bu varyans analizi tekniğine göre, ana etkilere (çeşit, patojen, zaman), birinci derece (çeşit x patojen, çeşit x zaman, patojen x zaman) ve ikinci derece interaksiyon (çeşit x patojen x zaman) etkilerine ait hipotezler % 5 önem düzeyinde test edilmiştir. Önemli farklılıkların belirlenmesinde LSD ve Duncan çoklu karşılaştırma testleri kullanılmıştır (Düzgüneş ve ark., 1987). İkinci derece interaksiyonun önemsiz olduğu durumlarda birinci derece interaksiyonlar dikkate alınmıştır. Tüm istatistiksel analizler, IBM SPSS 23 kullanılarak yapılmıştır (Released, 2015).

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Bakteri Tanılama Test Sonuçları

Pseudomonas savastanoi pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) izolatlarnın kültür koleksiyonundan alındıktan sonra herhangi bir kontaminasyonun olup olmadığını doğrulamak amacıyla Gram reaksiyon testi, YDC besi yerinde gelişim, katalaz testi, oxidaz testi, nişasta hidrolizi, levan oluşumu, fluorescent pigment üretim testi, tütünde aşırı duyarlılık testi ve patojenisite testi yapılmıştır. Yapılan test sonuçları Çizelge 4.1'de, görüntüleri Şekil 4.3'de verilmiştir.

4.1.2. Biyokimyasal Test Sonuçları

4.1.2.1. Gram Reaksiyon Testi

X. axonopodis pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) ve *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) bakteriyel izolatların test sonucunda özeye yapışarak sümüksü bir yapı oluşturduğundan gram negatif olarak kabul edilmiştir (Şekil 4.3).

4.1.2.2. YDC Besi Yerinde Gelişim

X. axonopodis pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) ve *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) bakteriyel izolatların YDC besi yerinde üzerindeki koloni rengi belirlenmiş, *X. a.* pv. *phaseoli*'ye ait izolatların sarı renkli-mukoid, *P. s.* pv. *phaseolicola*'ye ait izolatların beyaz renkte kolonilere sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.3).

4.1.2.3. Katalaz Testi

X. a. pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) ve *P. s.* pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) bakteriyel izolatları besi yerine ekim yapıldıktan 24 saat sonra % 3'lük H_2O_2 damlatıldığında birkaç saniye içerisinde gaz kabarcıkları gösterdiğinden bakteri kültürleri pozitif olarak kabul edilmiştir (Şekil 4.3).

4.1.2.4. Oksidaz Testi

Test için % 1 tetra methyl-p-phenylendiamine dihydrochloride içeren diskler üzerinin bakteri ile kaplanması sonucu renk değişimi gözlenlenmeyen bakteriyel izolatlar negatif olarak, mavimsi-mor renk görülenler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.3).

4.1.2.5. Nişasta Hidrolizi

Nişasta besi yerine çizilen *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) ve *P. s.* pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) bakteriyel izolatlar 7 günlük inkübasyon sonunda üzerine lugol eriği döküldüğünde *X. a.* pv. *phaseoli*'de (120-x ve 145-x) koloni çevresinde referans kültürde belirgin parlak bir alan gözlenmiş olup pozitif, *P. s.* pv. *phaseolicola*'da (510-p ve 522-p) bu alan oluşmamış ve negative olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.3).

4.1.2.6. Levan Testi

SNA besi yerine çizimi yapılan *P. s.* pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) ve *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) bakterilerine ait tüm izolatlar levan oluşumu göstermiştir (Şekil 4.3).

4.1.2.7. Fluorescent Pigment Üretim Testi

King B (KB) besiyerinde gelişen *P. s.* pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) ve *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) izolatları Ultraviyole lamba (UV) altında karanlık odada gözlemlenmiş, yeşil fluorescens pigment üreten *P. s.* pv. *phaseolicola* pozitif, fluorescens pigment oluşturmayan *X. a.* pv. *phaseoli* negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.3).

4.1.1. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensetive Response=HR) Testi

İnokulasyondan 72 saat sonra *P. s.* pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) ve *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) izolatlarnın tümü tütün yapraklarında tipik aşırı duyarlılık reaksiyonuna neden olmuştur (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* (510-p) ve *X. axonopodis* pv. *phaseoli* 145-x izolatlarının tütünde oluşturduğu aşırı duyarlılık simptomu

4.1.3. Patojenisite Testi Sonuçları

Çalışmamızın patojenisite testi sonuçlarına göre *P. s.* pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) inokule edilen Aras-98 fasulye çeşidinde yapraktaki simptomlar küçük, köşeli, yeşilimsi gri yağ lekeleri şeklinde başlayıp zamanla bu lekelerin merkezi kahverengileşen çevresi yeşilimsi sarı bir hale ile çevrili belirtiler göstermiştir.

36-K genotipi ve negatif kontrol olarak distile su uygulanan kontrol bitkilerinde 7 gün sonunda herhangi bir simptom gözlemlenmemiştir.

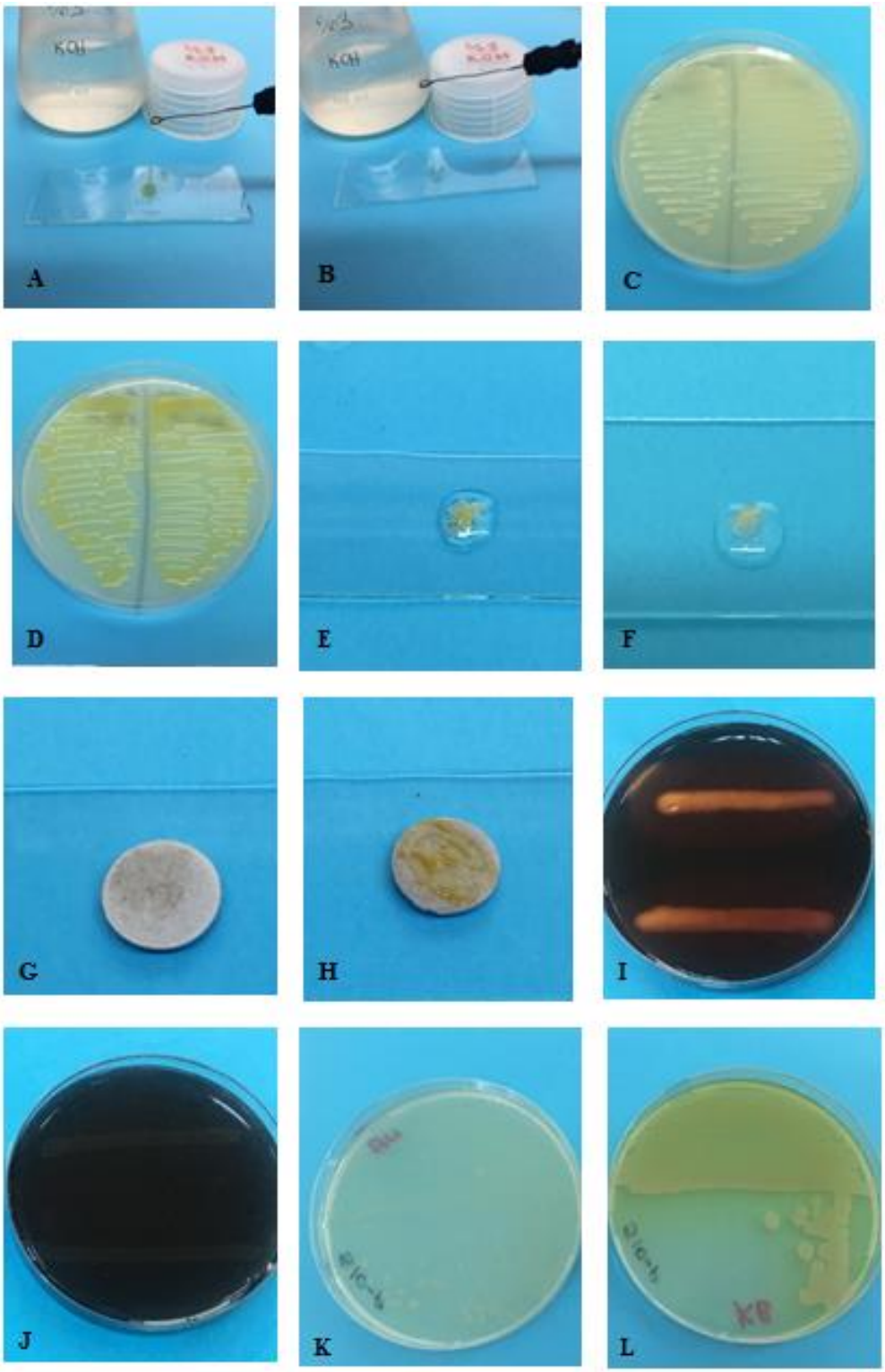
X. a. pv. *phaseoli* izolatları (120-x ve 145-x), inokule edilen Aras-98 fasulye çeşidinde 7 gün sonra yapraklardaki simptomlar düzensiz klorotik lekeler şeklinde başlayıp ilerleyen dönemlerde bu lekeler nekrotikleşerek etrafı ince dar limon sarısı bir hale ile çevrilmiş ve zamanla bu lekeler birleşerek yanmış bir görünüm halini almıştır.

36-K fasulye genotipi ve negatif kontrol olarak distile su uygulanan kontrol bitkilerinde 7 gün sonunda herhangi bir simptom gözlemlenmemiştir. Ancak 36-K fasulye genotipi için 28 gün sonra *X. a.* pv. *phaseoli* simptmomları görünmeye başlamıştır.

Aras 98 fasulye çeşidi *X. a.* pv. *phaseoli ve P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 7. ve 28. günlerde meydana gelen tipik simptomlar *ve* 36-K fasulye genotipi *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 28. günde meydana gelen *X. a.* pv. *phaseoli* tipik simptomları Şekil 4.2'de verilmektedir.



Şekil 4.2. Enfeksiyon sonrası Aras 98 fasulye çeşidi ve 36-K fasulye genotipinde oluşan tipik simptomlar, **A;** Aras 98 fasulye çeşidi *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 7. gün, **B**; Aras 98 fasulye çeşidi *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 28. gün, **C;** Aras 98 fasulye çeşidi *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 7. gün, **D** ve **E;** Aras 98 fasulye çeşidi *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 28. gün, **E;** 36-K fasulye genotipinde *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 28. gün meydana gelen tipik simptom



Şekil 4.3. Biyokimyasal testler, **A;** *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x) gram reaksiyon testi (pozitif)**, B;** *P. s.* pv. *phaseolicola* (510-p) gram reaksiyon testi (pozitif), **C**; *P. s.* pv. *phaseolicola*'nın (510-p,522-p) YDC besi yerinde gelişimi **D;** *X. a.* pv. *phaseoli*'nin (120-x,145-x) YDC besi yerinde gelişimi, **E;** *X. a.* pv. *phaseoli*'nin (145-x) katalaz testi sonucu oluşturduğu gaz kabarcıkları, **F**; *P. s.* pv. *phaseolicola*'nın (522-p) katalaz testi sonucu oluşturduğu gaz kabarcıkları, **G**; *P. s.* pv. *phaseolicola*'nın Oksidaz testi (Negatif), **H;** *X. a.* pv. *phaseoli*'nin Oksidaz testi (Negatif), **I;** , *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) nişasta hidrolizi testi sonucu (pozitif), **J;** *P. s.* pv. *phaseolicola*'nın (510-p ve 522-p) nişasta hidrolizi testi sonucu (negatif), K; *P. s.* pv. *phaseolicola*'nın NA besi yerindeki gelişimi, L; *P. s.* pv. *phaseolicola*'nın KB besi yerinde fluoresan pigment üretimi

4.1.4.Bakterilerin Yağ Asit Profillerine Göre Tanılanması

Bakteri izolatlarına ait yağ asit metil ester analizleri sonucunda yağ asit profillerine bağlı tanılama yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda *X. a.* pv. *phaseoli* için her iki 120-x ve 145-x izolatlarında 10:0, 11:0 ISO, 11:0 ISO 3OH, 12:0 3OH, 14:0 ISO, 14:0, 13:0 ISO 3OH, 15:0 ISO, 15:0 ANTEISO, 15:1 w6c, 15:0, 16:0 ISO, 16:1 w9c, 16:0, ISO 17:1 w9c, 17:0 ISO, 17:1 w8c yağ asitleri, 120-x izolatında 145-x izolatından farklı olarak 17:1 w6c, 12:0 ISO 3OH yağ asitleri, *P. s.* pv. *phaseolicola* için her iki 510-p ve 522-p izolatlarında 10:0 3OH, 12:0, 11:0 ISO 3OH, 12:0 2OH, 12:0 3OH, 16:0, 17:0 ISO, 17:0 CYCLO, 18:1 w7c yağ asitleri, 510-p izolatında 522-p izolatından farklı olarak 16:0 3OH, 18:0 yağ asitleri tespit edilmiştir.

Elde edilen MIS tanı sonuçları ve indeksleri (%) Çizelge 4.1'de verilmektedir.

Çizelge 4.1. *P. s.* pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) ve *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) izolatlarının tanılama testleri sonuçları

Bakteriyel izolatlar No / **Biyokimyasal Testler**	**510-p**	**522-p**	**120-x**	**145-x**
KOH	–	–	–	–
Oksidaz Testi	–	–	–	–
Nişasta Hidrolizi Testi	–	–	+	+
Levan Testi	+	+	+	+
Katalaz Testi	+	+	+	+
Fluorescent Pigment Testi	+	+	–	–
Patojenisite Testi	+	+	+	+
YDC besiyerinde gelişim	Beyaz	Beyaz	Sarı	Sarı
HR Testi	+	+	+	+
MIS (%)	88	89	86	89

4.2. Enzim Analizleri Sonuçları

4.2.1. Polifenoloksidaz (PPO) enzim analizi sonuçları

P. s. pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli*'ye ait 2'şer izolat (522-p,510-p ve 120-x,145-x) ile enfekte edilmiş 4 haftalık dönemde bulunan 36-K fasulye genotipi ve Aras-98 fasulye çeşidi üzerinde zamana bağlı olarak meydana gelen Polifenoloksidaz (PPO) enzim aktivitesindeki değişimler gözlemlenmiştir. Üç tekerrürlü olarak yapılan analiz sonuçlarına göre elde edilen veriler karşılaştırıldığında Çeşit x Bakteri x Zaman bakımından istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

Aras-98 fasulye çeşidi için, kontrol bitkilerin yapraklarında PPO enzim aktivitesi 0, 12, 24, 36 ve 72. saatlerde sırasıyla 105.00 ± 0.57, 137.00 ± 20.03 123.67 ± 29.80, 126.00 ± 33.08, 179.33 ± 4.33 Abs min^{-1} g^{-1} enzim olarak saptanmıştır. *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510- p) ile inokule edilen fasulye fideleri yapraklarında inokulasyon sonrası meydana gelen PPO enzim aktivitesi 510-p izolatı için kademeli olarak 36. ve 72. saatte bir miktar artmakla birlikte 522-p izolatı için kontrol bitkilerine kıyasla artış gözlemlenmemiştir. *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) ile inokule edilen fasulye fideleri yapraklarında ise yalnızca 145-x izolatı inokulasyonu sonrası 36. saatte 180, 33 Abs $min^{-1}g^{-1}$ 'lık artış gözlemlenmektedir (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.4).

36-K fasulye genotipi fidelerinin kontrol, *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* ile inokule edilmiş olan yapraklarında yapılan analizler sonucunda belirlenen Polifenoloksidaz (PPO) aktivitesi ölçüm sonuçları değerlendirildiğinde kontrol bitkilerin yapraklarında Polifenoloksidaz (PPO) aktivitesi 0, 12, 24, 36 ve 72. saatlerde sırasıyla 104.00 ± 5.56, 126.66 ± 6.83, 114.00 ± 0.57, 118.33 ± 7.35, 89.66 ± 5.17 Abs min^{-1} g^{-1} enzim olarak saptanmıştır *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokule edilen 36-K genotipi fasulye fideleri yapraklarında 522-p inokulasyon sonrası 24. saatte 215, 66 Abs $min^{-1}g^{-1}$ enzim artışı gözlemlenmiş olup 36. saatte azalma 72. saatte ise bir miktar daha artış olduğu saptanmıştır. 510-p izolatı inokulasyonu sonrası ise 24 ve 72. saatlerde artış gözlemlenmiştir. *X. a.* pv. *phaseoli* ile inokule edilen 36-K fasulye genotipi fideleri yapraklarında ise her iki izolatın inokulasyonu sonrası 24. saatte enzim artışı olmuştur. 120-x izolatı inokulasyonu sonrası 24. saatte 36-K fasulye genotipinde kontrole kıyasla meydana gelen artış 503 Abs min^{-1} g^{-1}'lık enzim miktarıyla tüm parametreler içerisinde en yüksek enzim artış miktarı olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.4).

Yapılan çalısmalar, bitkilerde hastalıklara karşı dayanıklılıkta polifenol oksidazın etkin bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (Arora ve Bajaj, 1985; Demir ve Kocaçalişkan, 2001; Öztürk ve Demir, 2003; Thipyapong ve ark., 2004). PPO'lar, hidroksi fenollerin antimikrobiyal aktiviteye sahip kinon türevlerine oksidasyonunu katalize eden bakır içeren bir enzim grubudur (Chunhua ve ark., 2001; Dicko ve ark., 2006; Ayaz ve ark., 2008). PPO hastalıklı bitki dokusunun oksidasyonunda görev alarak hastalıklara karşı dayanıklılıkta rol oynamaktadır. Enfeksiyon sonrası PPO'da hızlı bir artış olmakta ve bu da patojenleri önlemek için antimikrobiyallerin anında sentezlendiğini göstermektedir.

Yapılan çalışmalar, polifenol oksidaz aracılı fenolik oksidasyonun bitkide meydana gelen enfeksiyonun ilerlemesini kısıtlanmasındaki önemini vurgulamıştır. Örneğin polifenol oksidazı yüksek miktarda eksprese eden domates bitkilerinin, *P. syringae*'ye karşı dayanıklılıkta yüksek bir artış sergilediği bildirilmiştir (Li ve Steffens, 2002).

Bitkilerde enzim savunma mekanizmasında majör rol oynayan PPO'nun katalizlediği reaksiyonlar sonucu oluşan kinon bileşiklerinin bitkilerde patojenlere karşı bir savunma sistemi oluşturduğu bildirilmektedir (Constabel ve Barbehenn, 2008).

PPO ürünü kinonlar, çeşitli hücresel nükleofilleri kovalent olarak modifiye edebilen ve çapraz bağlayabilen ve çok miktarda hücresel nükleofilleri kovalent olarak değiştirebilen ve melanin benzeri siyah veya kahverengi polimerlerin oluşumuna yol açan son derece reaktif moleküllerdir (Li ve Steffens, 2002).

Patojen bakterilerin istilası sonrasında bitki dokularında bulunan PPO'nun daha fazla miktarda ekspire olduğu yapılan çalışmalarla bildirilmektedir. PPO aktivitesinin birincil reaksiyon ürünleri olan, yüksek oranda reaktif olan ve kahverengi melanin pigmentleri oluşturmak için proteinleri kovalent olarak değiştiren ve çapraz bağlayan o-kinonlardır (Sommer ve ark., 1994; Kroll ve ark., 2000; Kroll ve Rawel, 2001). PPO'nun faaliyeti sonucu olusan kinonların ikinci bir polimerizasyon reaksiyonuyla koyu renkli, suda çözünmeyen polimerler oluşturduğu, bu polimerlerin zarar görmüş dokularda birikerek bir bariyer görevi üstlendiği ve enfeksiyonun yayılmasını engellediği bildirilmiştir (Turan, 2005). Lipid içeriğindeki azalma da membran geçirgenliğini arttırdığından substratlara enzimin ulaşmasını kolaylaştırdığı ve böylelikle bariyerlerin oluşumunun da hızlandırıldığı düşünülmektedir. Diğer bir teoriye göre de polifenollerin oksidatif polimerizasyonu sırasında oluşan ara ürünler enzimi

inaktif hale getirmekte ve aynı zamanda bu ürünler kararsız enzimlere de bağlanabilmektedirler

Bitkilerde veya patojenlere karşı yüksek dayanıklılık gösteren genotiplerde yüksek PPO düzeylerinin korelasyonlarını gösteren çalışmalar, PPO'nun patojen savunmadaki rolünü vurgulamaktadır (Bashan ve ark., 1987; Constabel ve ark.,1995; Thipyapong ve ark., 1995; Stout ve ark., 1999).

Arora ve Bajaj (1985) tarafından yapılan çalışmada *Rhizoctonia solani* fungal patojeni inokule edilmiş maş fasulyesine PPO enzim aktivitesinin tüm saatlerde artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

Benzer bir çalışma olan Kavitha ve Umesha (2008) *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* inokule ettikleri dayanıklı ve hassas domates çeşitlerinde patojen uygulaması sonrası PPO enzim aktivitesinin dayanıklı çeşitlerde hassas çeşitlere ve hiç uygulama yapılmamış kontrol bitkilerine kıyasla inokulasyon sonrası 30. saatte artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Vanitha ve ark., (2009) tarafından *Ralstonia solanacearuma* karşı domateste incelenen PPO enzim aktivitesinin dayanıklı çeşitte bakteri inokulasyonundan 15 saat sonra artış gösterdiğini, yine benzer bir çalışma olan Veeralakshmi ve ark. (2017), tarafından yapılan çalışmanın sonuçları maş fasulyesinde (*Vigna radiata* L.) *Pseudomonas syringae* pv *syringae* inokulasyonu sonrası PPO enzim enzim aktivitesinin inokulasyondan sonraki 20. ve 30. günlerde dahi artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda en erken cevap 36-K genotipinde *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 24. saatte olmakla birlikte bu saatte elde edilen enzim miktarı en yüksek PPO enzim miktarı olarak kaydedilmiştir.

PPO enzim aktivitesi Aras-98 çeşidinde *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 522-p izolatında 36. ve 72. saatlerde artış göstermiş fakat bu artışın 36-K fasulye genotipi daha az miktarda olduğu dikkati çekmiştir. Aras-98 fasulye çeşidinde 510-p izolatı inokulasyonu sonrası ise enzim artışı olmamıştır.

Aras-98 fasulye çeşidi ve 36-K fasulye genotipi bakteriyel inokulasyon sonucu elde edilen PPO enzim aktivitesi sonuçları en yüksek miktarda enzim aktivitesinin tespit edildiği 36-K fasulye genotipinde PPO'nun bakteriyel leke ve adi yaprak yaprak yanıklığı hastalığına karşı dayanıklılık mekanizmasında yer aldığını, Aras-98 fasulye çeşidinde ise PPO'nun yeterli seviyede sentezlenmediğini ortaya koymaktadır. Patojen inokulasyonu olan ve olmayan bitki gruplarında tespit edilen PPO aktivitesinin zamana bağlı sonuçlarında inoküle edilmiş fidelerde, kontrol ile karşılaştırıldığında dayanıklı

çeşitte 36. saatte aktivitenin maksimum olması PPO'nun konukçu dayanıklılığını arttırmada spesifik bir rol oynayabileceğini göstermiştir.

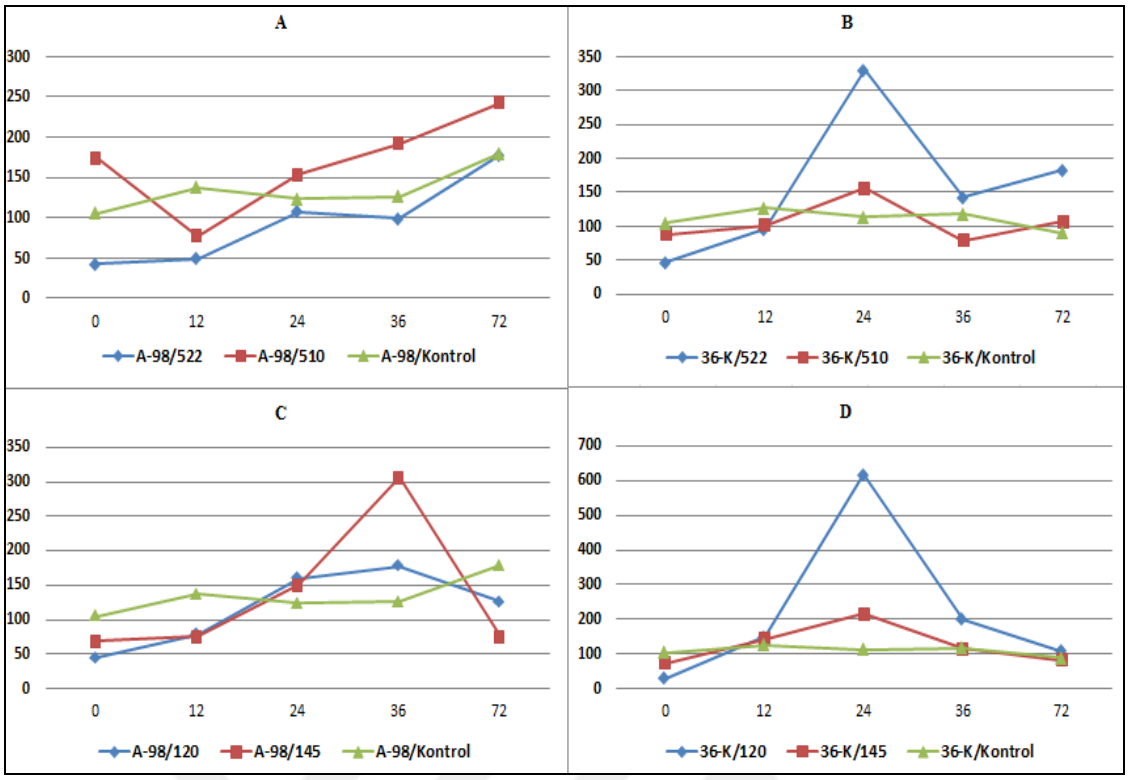
Bu sonuçlar Bashan ve ark., (1987) tarafından yapılan çalışmada *Pseudomonas syringae* pv. *tomota*'ya karşı dayanıklı ve hassas domates çeşitlerinde dayanıklı çeşitte daha yüksek PPO enzim aktivitesi, Dildey ve ark., (2017) yaptığı çalışmada *Trichoderma* spp uygulaması sonrası fasulyede, Raj ve ark., (2006) tarafından inci darısı bitkisinde yapılan çalışmalarla örtüşmektedir.

Aras-98 fasulye çeşidi ve 36-K fasulye genotipi fidelerinin kontrol, *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* izolatları ile inokule edilmiş fasulye fideleri yapraklarında yapılan analizler sonucunda belirlenen Polifenoloksidaz (PPO) enzim aktivitesi ölçüm sonuçları Çizelge 4.2 ve Şekil 4.4'de verilmektedir.

Çizelge 4.2. PPO enzim aktivitesi bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokule edilmiş fasulye çeşit/genotip ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	PATOJEN	ZAMAN (Saat)				
		0.	12.	24.	36.	72.
ARAS-98	Psp1	42.33±3.92 **Bb**	48.66±3.28 **Ba**	107.00±3.51 **ABa**	98.66±3.17 **ABc**	178.00±6.11 A**ab**
	Psp2	173.66±15.30 **Aa**	77.00±11.35 **Ba**	153.33±11.40 AB**a**	192.00±8.18 A**b**	242.33±9.68 **Aa**
	Xap1	45.00 ±0.57 **Cb**	78.66±8.29 **BCa**	160.33±28.95 **ABa**	177.33±8.83 **Abc**	126.66±10.83 **ABCbc**
	Xap2	68.66±1.76 **Bb**	75.33±9.52 **Ba**	150.33±2.02 **Ba**	306.33±191.83 **Aa**	76.33±20.99 **Bc**
	KONTROL	105.00 ±0.57 **Aab**	137.00±20.03 **Aa**	123.66±29.80 **Aa**	126.00±33.08 A**bc**	179.33±4.33 A**ab**
36-K	Psp1	47.00±6.24 **Da**	95.33±6.35 **CDa**	329.66±6.88 A**b**	142.00±11.53 **BCab**	182.66±10.47 **Ba**
	Psp2	87.66±8.83 **Aa**	100.66±5.45 A**a**	155.33±0.88 A**cd**	78.66±6.35 **Ab**	106.33±2.84 A**ab**
	Xap1	29.66±3.28 **Da**	149.66±9.24 BC**a**	617.00±16.62 A**a**	200.66±9.83 **Ba**	109.00±16.37 **CDab**
	Xap2	74.66±6.35 **ABa**	144.66±10.9138 **Ba**	216.00±16.64**ABc**	115.66±4.17 **Aab**	83.66±1.20 **ABb**
	KONTROL	104.00±5.56 **Ba**	126.67±6.83 **ABa**	114.00±0.57 **Ad**	118.33±7.35 **Bab**	89.66±5.17**Ab**

LSD %5 (Çeşit*Bakteri*Zaman)= 82,80
A, B, Her çeşit ve patojen seviyelerinde zamanların karşılaştırılması
a, b Her çeşit ve zaman seviyelerinde patojenlerin karşılaştırılması
P. s. pv. *phaseolicola*=Psp
X. a. pv. *phaseoli*=Xap
Psp1=522-p; Psp2=510-p; Xap1=120-x; Xap2=145-x



Şekil 4.4. Polifenoloksidaz (PPO) enzim analizi, **A;** *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, **B;** *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipi, **C;** *X. a* .pv. *phaseoli* (120-x,145-x) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, D; *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x,145-x) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipinde zamana bağlı enzimatik reaksiyonların değişimi

4.2.2. Katalaz (CAT) Enzim Analizi Sonuçları

P. s. pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli*'ya ait 2'şer izolat (522-p, 510-p ve 120-x, 145-x) ile enfekte edilmiş 4 haftalık dönemde bulunan Aras-98 fasulye çeşidi ve 36-K fasulye genotipi üzerinde zamana bağlı olarak meydana gelen Katalaz (CAT) enzim aktivitesindeki değişimler gözlemlenmiştir. Üç tekerrürlü olarak yapılan analiz sonuçlarına göre elde edilen veriler karşılaştırıldığında Çeşit x Bakteri x Zaman bakımından istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

Aras-98 çeşidi için, kontrol bitkilerin yapraklarında, Katalaz (CAT) enzim aktivitesi 0, 12, 24, 36 ve 72. saatlerde sırasıyla 0,06 ± 0,05, 0,07 ± 0,05, 0,15 ± 0,07, 0,09 ± 0,03, 0,15 ± 0,07 $Ügr^{-1}$/YA enzim olarak saptanmıştır. Aras-98 fasulye çeşidinde *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu için 522-p izolatı inokulasyonu sonrası kontrole kıyasla 24. saatte artış gözlemlenmiş olup 510-p izolatı inokulasyonu sonrası tüm saatlerde kontrol bitkilerine kıyasla enzim aktivitesi miktarında bir değişim saptanmamıştır. *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 120-x izolatı için inokulasyon sonrası enzim aktivitesinde kontrol bitkilerine kıyasla bir değişiklik olmamakla birlikte 145-x izolatı inokulasyonu sonrası 36. saatte bir miktar artış gözlemlenmiştir (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.5).

36-K fasulye genotipi için kontrol bitkilerin yapraklarında katalaz (CAT) enzim aktivitesi 0, 12, 24, 36 ve 72. saatlerde sırasıyla 0,04 ± 0,01, 0,03 ± 0,01, 0,03 ± 0,01, 0,02 ± 0,00, 0,02 ± 0,00 $Ügr^{-1}$/YA enzim olarak saptanmıştır. *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu için 510-p izolatı inokulasyonu sonrası en yüksek artış 36. saatte, 522-p izolatı için en yüksek artış 72. saatte gözlenmiştir. *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 120-x izolatı için en yüksek enzim aktivitesi 24. saatte, 145-x izolatı inokulasyonu sonrası en yüksek enzim artışı 12. saatte saptanmıştır. 36-K genotipi bakteriyel inokulasyon sonrası 145-x izolatı 24. ve 36. saatler dışında kontrol bitkilere kıyasla daha yüksek bir aktivite göstermiştir. Aras-98 fasulye çeşidi genel olarak kontrole kıyasla düşük çıkmıştır (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.5).

Süperoksit radikali (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi reaktif oksijen türleri (ROS), bitki büyümesinde ve farklılaşmasında rol oynayan önemli sinyal moleküleridir. Tüm canlı hücrelerde, H_2O_2 sürekli olarak aerobik metabolizmanın bir yan ürünü olarak üretilen nispeten stabil ve radikal olmayan bir ROS türüdür. Düşük konsantrasyonlarda, H_2O_2 belirli fotosentetik fonksiyonlar, hücre döngüsü, büyüme ve gelişme, biyotik, abiyotik strese karşı bitki tepkileri gibi biyolojik ve fizyolojik

işlemlerin düzenlenmesinde rol oynayan bir sinyal molekülü olarak görev yapar. Fakat toksik özelliği çok yüksek olduğundan bitkilerde oksidatif stres sonucu aşırı H_2O_2 birikimi hücre ölümüyle sonuçlanır ve stres koşulları altında artış gösteren endojen H_2O_2 seviyesini metabolize edici CAT gibi enzimler sayesinde koordine edilmesiyle kontrol edilmektedir (Sofo ve ark., 2015). CAT enzimi hemen hemen tüm aerobik hücrelerin peroksizomlarında bulunan temel görevi H_20_2 suya ve moleküler oksijene ayrışmasını katalize etmek olan bir enzimdir (Cavalcanti ve ark., 2006,).

Bu görevi ile CAT, hücrelerin zarar görmesini engelleyen bir koruyucu antioksidan enzimdir. Çünkü hidrojen peroksit CAT tarafından parçalanmadığında hidroksil radikallerin öncüsü olarak işlev görmekte ve bu radikaller hücrede kalıcı hasara neden olabilmektedir (Nicholls ve ark., 2000).

Katalazlar, özellikle bazı bitki hücrelerinde yüksek oranda eksprese edilen enzimlerdir ve bu nedenle bitki antioksidan sisteminin ayrılmaz bir parçasıdır (Mhamdi ve ark., 2010).

Mandal ve ark. (2011) yapmış oldukları çalışmada *Ralstonia solanacearum*'a karşı hassas (Arka Meghali) ve dayanıklı (BT-10) domates çeşitlerinde patojen inokulasyonu sonrası farklı zamanlarda (0, 12, 24, 36, 48, 72, 96, 120) incelenen CAT aktivitesinin dayanıklı çeşitte hassas çeşide ve kontrol grubuna göre daha yüksek miktarda aktivite gösterdiğini, dayanıklı çeşidin tüm zamanlarda kademeli olarak arttığını, hassas çeşidin 24. saatte maximum aktiviteye ulaştığını bildirmişlerdir.

Chandrashekar ve Umesha (2012), hassas, çok hassas ve dayanıklı domates çeşitlerinde *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* inokulasyonu sonrası CAT aktivitesini inceledikleri benzer bir çalışmada maximum aktivitenin 12. ve 24. saatlerde dayanıklı çeşitte gözlemlendiğini, hassas ve daha hassas olan çeşitlerde ise 42. ve 54. saatlerde en yüksek enzim aktivitesine ulaşıldığını dayanıklı çeşitteki enzim aktivtesinin kontrol bitkilere kıyasla hassas çeşitten daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Nowogo´rska ve Patykowski, (2015) *P. s.* pv. *phaseolicola*'ya dayanıklı fasulye çeşidinde inokulasyon sonrası 6-48. saatlerde kontrole kıyasla enzim aktivitesinin düştüğünü, bitkinin CAT aktivitesinin baskılayarak ve *P. s.* pv. *phaseolicola*'yı engelleyici etkide bulunan H_2O_2 konsantrosyanunun ortamda artmasını sağlayarak savunmaya katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir.

Keshavarz-Tohid ve ark. (2016) fasulyede *Rhizoctonia solani* inokulasyonundan 24 saat sonra CAT aktivitesinde artış gözlemlediklerini bildirmişlerdir.

Bizim bulgularımıza göre 36-K genotipi *P. s.* pv. *phaseolicola* için 522-p ve 510-p izolatları inokulasyonu sonrası sırasıyla 72. ve 36. saatte, *X. a.* pv. *phaseoli* için 145-x ve 120-x izolatı inokulasyonu sonrası sırasıyla 12. ve 24. saatlerde kontole kıyasla artış göstermiştir. Ancak Aras-98 çeşidi sadece 522-p izolatı sonrası 24. saatte ve 145-x izolatı inokulasyonu sonrası 36. saatte en yüksek seviyeye ulaşmakla birlikte diğer zamanlarda kontrol bitkilerden daha düşük bir enzim aktivitesi göstermiş olup meydana gelen artış miktarının kontrole kıyasla önemli bir miktarda olmadığı tespit edilmiştir. 36-K genotipi kontrol gurubuna göre daha yüksek enzim aktivitesi gösterirken, Aras-98 çeşidinde kontrol grubuna göre daha düşük enzim aktivitesi gözlemlenmiştir. Yani 36-K genotipi için CAT bitkinin savunma sisteminde yer alarak patojene karşı dayanıklılığı arttırmış, ancak Aras-98 çeşidi için CAT bitkide yeterli seviyede sentezlenmemiştir. 36-K genotipinde 145-x izolatı inokulasyonu sonrası 24. ve 36. saatlerde meydana gelen düşüş ise bitkinin o süreler içerisinde CAT enzimini çalıştırma kapasitesinin düşük olması ve antioksidan savunma sisteminde bu süreler içerisinde yetersiz kalmasıyla ilişkilendirilebilir. Ayrıca bitki tarafından baskılanan CAT aktivitesi ile ortamda artan H_2O_2 konsantrasyonu patojeni engelleyici etkide bulunarak savunmaya katkıda bulunduğu söylenebilir.

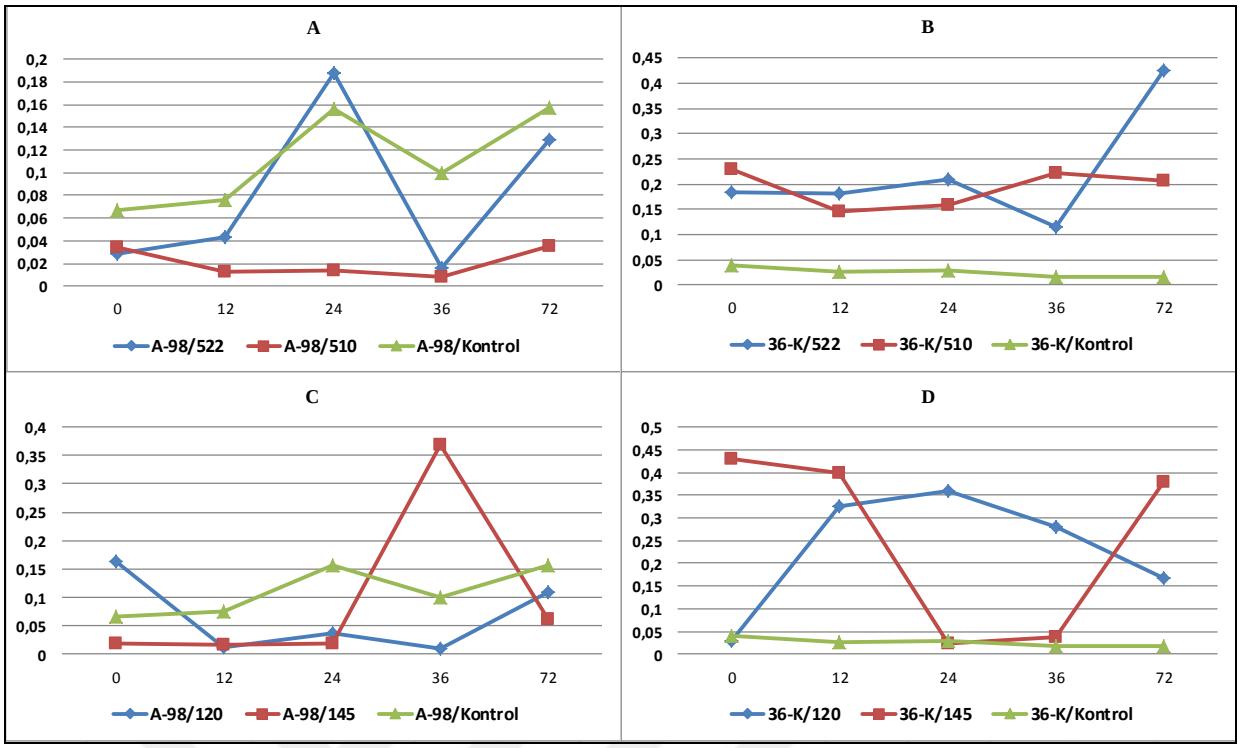
Aras-98 çeşidi ve 36-K genotipinde bakteriyel patojen inokulasyonu sonrası elde CAT enzim bulguları Mandal ve ark. (2011), Chandrashekar ve Umesha (2012), Nowogo´rska ve Patykowski, (2015) ve Keshavarz-Tohid ve ark. (2016)'yi destekler yönde elde edilmiştir.

Aras-98 ve 36-K fasulye fidelerinin kontrol, *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* izolatları ile inokule edilmiş fasulye fideleri yapraklarında yapılan analizler sonucunda belirlenen CAT enzim aktivitesi ölçüm sonuçları Çizelge 4.3 ve Şekil 4.5'de verilmektedir.

Çizelge 4.3. CAT aktivitesi bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokule edilmiş fasulye çeşit/genotip ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	PATOJEN	ZAMAN (Saat)				
		0.	12.	24.	36.	72.
ARAS-98	Psp1	0,0287±0,0151 **A a**	0,0430±0,0110 **A a**	0,1883±0,0992 **A a**	0,0160±0,0047 **A b**	0,1293±0,0217 **A a**
	Psp2	0,0340±0,0000 **A a**	0,0133±0,0044 **A a**	0,0143±0,0009 **A a**	0,0083±0,0032 **A b**	0,0353±0,0199 **A a**
	Xap1	0,1623±0,0316 **A a**	0.0130±0,0075 **A a**	0,0363±0,0216 **A a**	0,0110±0,0066 **A b**	0,1093±0,0680 **A a**
	Xap2	0,0190±0,0046 **B a**	0,0173±0,0073 **B a**	0,0193±0,0044 **B a**	0,3683±0,2354 **A a**	0,0610±0,0300 **B a**
	KONTROL	0,0670±0,0540 **A a**	0,0757±0,0553 **A a**	0,1563±0,0777 **A a**	0,0997±0,0384 **A b**	0,1577±0,0742 **A a**
36-K	Psp1	0,1827±0,0729 **B b**	0,1810±0,0291 **B ab**	0,2080±0,0913 **B ab**	0,1147±0,0222 **B ab**	0,4260±0,1900 **A a**
	Psp2	0,2303±0,0438 **A ab**	0,1460±0,0499 **A b**	0,1583±0,0631 **A b**	0,2210±0,1541 **A ab**	0,2077±0,0243 **A bc**
	Xap1	0,0293±0,0044 **B b**	0,3253±0,1013 **A a**	0,3610±0,1542 **A a**	0,2813±0,0911 **A a**	0,1690±0,0531 **AB c**
	Xap2	0,4290±0,1020 **A a**	0,3987±0,1138 **A b**	0,0230±0,0076 **B b**	0,0377±0,0038 **B b**	0,3803±0,0226 **Aab**
	KONTROL	0,0397±0,0066 **A b**	0,0257±0,0073 **A b**	0,0287±0,0064 **A b**	0,0167±0,0023 **A b**	0,0173±0,0043 **A c**

LSD %5 (Çeşit*Bakteri*Zaman)= 0,1967
A, B, Her çeşit ve patojen seviyelerinde zamanların karşılaştırılması
a, b Her çeşit ve zaman seviyelerinde patojenlerin karşılaştırılması
P. s. pv. *phaseolicola*=Psp
X. a. pv. *phaseoli*=Xap
Psp1=522-p; Psp2=510-p; Xap1=120-x; Xap2=145-x



Şekil 4.5. Katalaz (CAT) enzim aktivitesi, **A;** *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, **B;** *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipi, **C;** *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, **D;** *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipi zamana bağlı enzimatik reaksiyonların değişimi

4.2.3. Askorbat Peroksidaz (APX, EC 1.11.1.11) Enzim Analizi Sonuçları

P. s. pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli*'ye ait 2'şer izolat (522-p, 510-p, 120-x, 145-x) ile enfekte edilmiş 4 haftalık 36-K ve Aras-98 fasulye çeşitleri üzerinde zamana bağlı olarak meydana gelen Askorbat Peroksidaz (APX) Enzim aktivitesindeki değişimler gözlemlenmiştir. Üç tekerrürlü olarak yapılan analiz sonuçlarına göre elde edilen veriler karşılaştırıldığında Çeşit x Bakteri x Zaman bakımından istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

Aras-98 çeşidi için kontrol bitkilerin yapraklarında APX enzim aktivitesi 0, 12, 24, 36 ve 72. saatlerde sırasıyla 2,36 ± 0,24, 1,84 ± 0,15, 1,94 ± 0,06, 1,84 ± 0,22, 2,18 ± 0,31 $Ügr^{-1}$/YA enzim olarak saptanmıştır. Aras-98 çeşidinde *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası Aras-98 çeşidinde *P. s.* pv. *phaseolicola*'ye ait 522-p izolatı hariç tüm uygulamalarda kontrol bitkilerine kıyasla bir artış görülmemiştir. 522-p izolatı inokulasyonu sonrası 36. saate meydana gelen artış ise beklenen düzeyde değildir.

Aras-98 çeşidinde *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası meydana gelen APX enzim aktivitesi tüm zamanlarda *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrasında olduğu gibi artış ve azalış göstermiş fakat kontrol bitkilerinin enzim aktivitesinden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Burada dikkati çeken yalnızca 522-p izolatı inokulasyonu sonrası 24. saatte kontrol bitkilerine kıyasla bir miktar artış belirlenmiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.6).

36-K genotipi için kontrol bitkilerin yapraklarında APX enzim aktivitesi 0, 12, 24, 36 ve 72. saatlerde sırasıyla 3,07 ± 1,10, 2,69 ± 1,19, 1,37 ± 0,20, 2,75 ± 1,13, 2,80 ± 1,40 $Ügr^{-1}$/YA enzim olarak saptanmıştır. *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu için 510-p izolatı inokulasyonu sonrası en yüksek enzim artışı 24. saatte gözlemlenmiş olup, 522-p izolatı inokulasyonu sonrası ise 36. saatte 7.93 ± 0.84 $Ügr^{-1}$/YA'lık bir enzim artışı ile tüm parametrelere kıyasla en yüksek enzim aktivitesi olarak kaydedilmiştir. 36-K genotipi *X. a.* pv. *phaseoli* için 120-x ve 145-x izolatı inokulasyonu sonrası tüm zamanlarda bir değişiklik gözlemlenmemiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.6).

Bitkilerde hücre için zararlı olan biyotik ve ya abiyotik stres koşullarında ortaya çıkan ROS'u detoksifiye edebilen antioksidan savunma sistemleri mevcuttur. Bitki hücrelerindeki bu antioksidan savunma sistemlerinden biri de APX'in majör bir hidrojen peroksitin detoksifikasyon sisteminde yer alarak, spesifik bir elektron donör olan askorbatı kullanılmasıyla H_2O_2'nin H_2O'ya dönüşümünü katalizleyen askorbat

glütasyon döngüsüdür (Caverzan ve ark., 2012). Askorbat-glutation döngüsünde APX kilit bir enzimdir ve H_2O_2'yi suya indirgemek için spesifik elektron vericisi olarak askorbik asiti kullanır ve H_2O_2'nin monodihidroascorbat (MDHA) ve $2H_2O$'ya dönüşümünü katalize eder. APX stres sonrası kloroplastlar, sitosol, mitokondri ve peroksizomlarda ROS metabolizmasına katılarak artan H_2O_2'nin toksik etkilerini yok eder (Asada, 1992b; Payton ve ark. 2001; Blokhina ve ark. 2003).

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar incelendiğinde en yüksek APX enzim aktivitesi dayanıklı çeşit olan 36-K fasulye genotipinde *P. s.* pv. *phaseolicola* 522-p izolatı inokulasyonu sonucu saptanmıştır. Aynı çeşit için *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası APX enzim aktivitesi yeterli düzeyde artış göstermemiş olup, kontrol gruplarına göre daha düşük bir aktivite sergilemiştir. Dayanıklı bir genotip olan 36-K'da *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası APX aktivitesinde görülen azalmanın patojen kaynaklı bir toksinin direk olarak APX enzim aktivitesini inhibe etmesi nedeniyle olabileceği gibi glikoz 6 fosfat dehidrogenaz enzimini inhibe ederek NADPH miktarının azalmasıyla glutatyonun tekrar indigenememesinden olabileceği düşünülmektedir (Roush ve Gowdy, 1961). Bir başka düşüncemiz ise 36-K genotipi için *X. a.* pv. *phaseoli*'ye dayanıklılıkta APX'den sorumlu genlerin transkripsiyonunun gerçekleşmemiş olabileceği ya da POX, CAT gibi enzimlerin APX ile kombine çalışması ve ortak substratlarının H_2O_2 olmasından dolayı ortamdaki substratın azalmasıyla APX'in bu genotipin savunma sisteminde yetesiz kalmasıdır. Dolayısıyla enzim aktivitesi bitkiden bitkiye değişiklik gösterebileceği gibi inokule edilen patojen ve patojene ait izolatlara göre de değişiklik göstermektedir.

Elde edilen verilere göre 36-K genotipinde APX'in patojen savunmasına karşı dayanıklılıkta rol aldığını, Aras-98 çeşidinde ise savunma mekanizmasında ise yer almadığını söyleyebiliriz.

Türkan ve ark., (2005) abiyotik strese hassas ve tolerant fasulye (*P. vulgaris* L. FM 53 ve *P. acutifolius* L.) bitkilerinde stres sonrası APX enzim aktivitelerini incelemişler dayanıklı çeşidin kontrol bitkileri ve hassas çeşide göre daha yüksek APX enzim aktivitesi gösterdiğini bildirmişlerdir.

Leite ve ark. (2014) *Sclerotinia sclerotiorum* patojen inokulasyonu sonrası fasulyede 12, 24, 48, 72, 96 ve 120 saatlerde alınan yaprak örneklerinde tüm fasulye çeşitlerinde APX enzim aktivitesinde artış ve azalışların olduğunu bildirmişlerdir

Akoğlu (2013) bazı taze fasulye (*Phaseolus vulgaris L.*) genotiplerinde stres sonrası APX aktivitesinde artış görüldüğünü, Doğan (2013) stres sonrası soya

fasulyesinde APX'de azalma olduğunu, Demirtaş (2011) fasulyede stres sonrası APX'de önce artış sonra azalma olduğunu, Zlatev ve ark. (2006) fasulyede stres sonrası tüm çeşitlerde APX aktivitesinin arttığını, Yılmaz (2015) fasulyede stres sonrası APX'de değişiklik olmadığını, Keshavarz-Tohid ve ark. (2016) fasulyede patojen inokulasyonu sonrası 6, 12, 24. saatlerde APX aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir.

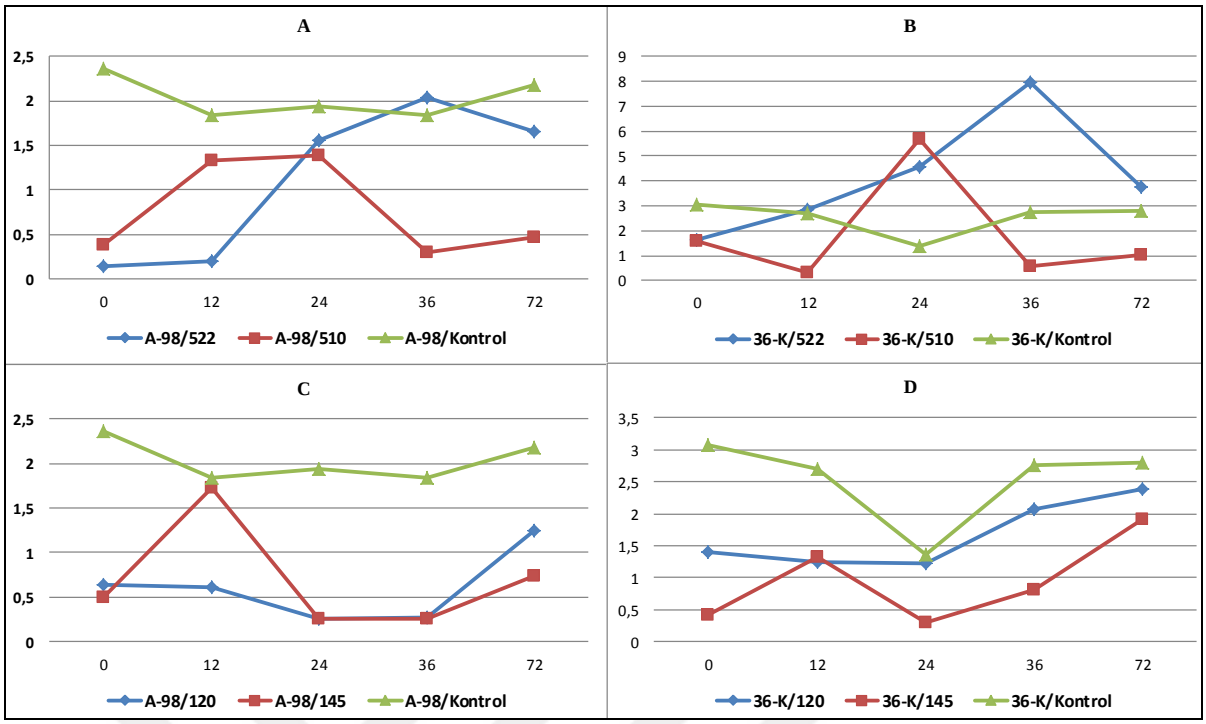
Bizim bulgularımız sonucunda 36-K genotipinde oksijen radikallerinde meydana gelen artışa bağlı olarak savunma sisteminde APX yer almakla birlikte Türkan ve ark., (2005), Demirtaş (2011) Akoğlu (2013), ve Leite ark. (2014), Keshavarz-Tohid ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmaları destekler yönde edilmiştir.

Aras-98 fasulye çeşidi ve 36-K fasulye genotipi fidelerinin kontrol, *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* ile inokule edilmiş fasulye fideleri yapraklarında yapılan analizler sonucunda belirlenen Askorbat Peroksidaz (APX) enzim aktivitesi ölçüm sonuçları Çizelge 4.4 ve Şekil 4.6'da verilmektedir.

Çizelge 4.4. APX aktivitesi bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokule edilmiş fasulye çeşit/genotip ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	PATOJEN	ZAMAN (Saat)				
		0.	12.	24.	36.	72.
ARAS-98	Psp1	0.1520±0.0803 **B b**	0.2070±0.0260 **B a**	1.5537±0.3869 **AB ab**	2.0393±0.6077 **A a**	1.6590±0.3054 **A ab**
	Psp2	0.3893±0.0217 **A b**	1.3277±0.4805 **A a**	1.3853±0.0759 **A ab**	0.2973±0.0497 **A b**	0.4720±0.0899 **A b**
	Xap1	0.6360±0.2676 **A b**	0.6183±0.1116 **A a**	0.2543±0.0525 **A ab**	0.2667±0.0698 **A b**	1.2453±0.3197 **A ab**
	Xap2	0.4927±0.0517 **A b**	1.7320±0.4372 **A a**	0.2577±0.0745 **A b**	0.2533±0.0323 **A b**	0.7340±0.0000 **A ab**
	KONTROL	2.3610±0.2380 **A a**	1.8433±0.1477 **A a**	1.9443±0.0614 **A a**	1.8390±0.2195 **A ab**	2.1747±0.3065 **A b**
36-K	Psp1	1.6107±0.5056 **D ab**	2.8307±1.2825 **CD a**	4.5450±0.4414 **B a**	7.9323±0.8347 **A a**	3.7690±0.4428 **BC a**
	Psp2	1.6007±0.5069 **B ab**	0.3297±0.0683 **B b**	5.6537±0.9208 **A a**	0.5580±0.0889 **B c**	1.0177±0.8227 **B c**
	Xap1	1.4020±0.4816 **A b**	1.2427±0.7827 **A ab**	1.2340±0.4723 **A b**	2.0710±0.0472 **A bc**	2.3773±1.2117 **A abc**
	Xap2	0.4287±0.0443 **A b**	1.3307±0.2053 **A ab**	0.3050±0.0782 **A b**	0.8090±0.2286 **A c**	1.9133±0.1466 **A bc**
	KONTROL	3.0713±1.0961 **A a**	2.6937±1.1914 **AB a**	1.3710±0.2021 **B b**	2.7530±1.1330 **AB b**	2.7970±1.4061 **AB ab**

$LSD_{\%5}$ (Çeşit*Bakteri*Zaman)= 1,529
A, B, Her çeşit ve patojen seviyelerinde zamanların karşılaştırılması
a, b Her çeşit ve zaman seviyelerinde patojenlerin karşılaştırılması
P. s. pv. *phaseolicola*=Psp
X. a. pv. *phaseoli*=Xap
Psp1=522-p; Psp2=510-p; Xap1=120-x; Xap2=145-x



Şekil 4.6. Askorbat peroksidaz (APX) enzim aktivitesi, **A;** *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, **B;** *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipi, **C;** *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, **D;** *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipi zamana bağlı enzimatik reaksiyonların değişimi

4.2.4. Süperoksit Dismutaz (SOD) enzim analizi sonuçları

P. s. pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli*'ye ait 2'şer izolat (522-p, 510-p ve 120-x, 145-x) ile enfekte edilmiş 4 haftalık 36-K ve Aras-98 fasulye çeşitleri üzerinde zamana bağlı olarak meydana gelen Süperoksit Dismutaz (SOD) aktivitesindeki değişimler incelenmiştir. Üç tekerrürlü olarak yapılan analiz sonuçlarına göre elde edilen veriler karşılaştırıldığında Çeşit x Bakteri x Zaman bakımından istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

Aras-98 çeşidi için kontrol bitkilerin yapraklarında Süperoksit Dismutaz (SOD) enzim aktivitesi 0, 12, 24, 36 ve 72. saatlerde sırasıyla 13,13 ± 1,86, 12,28 ± 2,21, 9,30 ± 2,34, 13,73 ± 0,00, 9,26 ± 0,00 $Ügr^{-1}$/YA enzim olarak saptanmıştır. Aras-98 çeşidinde *P. s.* pv. *phaseolicola* izolatları (522-p, 510-p) ile inokule edilen fasulye fideleri yapraklarında inokulasyon sonrası meydana gelen SOD enzim aktivitesi 522-p izolatı inokulasyonu sonrası 24. saatte 19,44 ± 0,52 $Ügr^{-1}$/YA enzim miktarıyla en yüksek seviyeye ulaşmıştır. 522-p inokulasyonu sonrası ise 24. ve 36. saatte en yüksek seviyeye ulaşmıştır. *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası SOD aktivitesi 120-x ve 145-x izolatları için inokulasyon sonrası 12. saatte en yüksek seviyeye ulaşmıştır (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.7).

36-K genotipi için kontrol bitkilerin yapraklarında Süperoksit Dismutaz (SOD) enzim aktivitesi 0, 12, 24, 36 ve 72. saatlerde sırasıyla 10,91 ± 1,54, 12,86 ± 0,38, 12,98 ± 0,90, 12,35 ± 1,68, 11,62 ± 0,94 $Ügr^{-1}$/YA enzim olarak saptanmıştır. 36-K genotipinde *P. s.* pv. *phaseolicola* 522-p inokulasyonu sonrası SOD enzim aktivitesi 12. saatte en yüksek seviyeye ulaşmıştır. 24. ve 36. saatte bir miktar azalmakla birlikte 72. saatte artış tespit edilmiştir. *X. a.* pv. *phaseoli* izolatı için inokulasyon sonrası 120-x izolatı için en yüksek artış 24. saatte, 145-x izolatı için ise 24. ve 36. saatte bir miktar artış görülmekle birlikte en yüksek artış 72. saatte görülmüştür (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.7).

Süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi, oksijen kullanımına bağlıdır ve lipid, protein peroksidasyonu nedeniyle hücresel hasara neden olabilir (Sánchez-Campos ve ark. 1999; Gieseg ve ark. 2000; Assady ve ark. 2011).

Süperoksit dismutaz enzimi süperoksit radikalini oksijen (O_2) ve H_20_2 dönüştürmesi dolayısıyla antioksidant savunma mekanizmasında ilk basamağı teşkil eder ve antioksidant sisteminin en önemli enzimi olarak kabul edilmektedir. SOD

enzimleri, süperoksit radikalinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene ayrışmasını katalize ederek süperoksit radikal toksisitesine karşı önemli bir savunma mekanizması sunar (Bowler ve ark., 1992).

SOD'ların bitkilerde oksidatif stres sonrası artış göstermesi çeşitli çalışmalarla desteklenmiştir (Malenčić ve ark., 2004; Asthir ve ark., 2010; Davar ve ark., 2013). Bununla birlikte, SOD enzimi bizim çalışmamızda değerlendirilen çeşit ve genotipte aktivitesi değişkendi ve bakteriyel patojenlere yüksek dayanıklılık seviyesine sahip 36-K fasulye genotipinde SOD aktivitesi Aras-98 çeşidine göre genel olarak daha düşük seviyede sentezlendi. Bazı araştırıcılar hassas çeşitlerde de patojen saldırısı sonucu enzimlerde artışı görülebileceğini fakat enzim miktarının saldırıyla baş edebilecek kadar yüksek olmaması nedeniyle belli bir zaman sonunda yine de hastalıkla neticelendiğini bildirmişlerdir (Jetiyanon, 2007). Çalışmamız sonuçlarına göre hassas çeşidin daha yüksek enzim aktivitesi göstermesinin bitkilerin patojen saldırılarına karşı doğal bir tepkisi olduğunu, bununla birlikte, artış düzeyi patojen istilasının üstesinden gelmek için çok düşük miktarda olduğunu ve hastalıkla sonuçlandığını söyleyebiliriz (Govrin ve Levine, 2000; Debona ve ark., 2014). Bununla birlikte enfeksiyonlara karşı savunma sırasında konukçu hücrelerde üretilen ROS seviyesinde daha yüksek bir artış olabileceği buna bağlı olarak bazı çeşitlerde daha yüksek SOD aktivitesinin olabileceğini ve Aras-98 fasulye çeşidinde SOD çalıştırma kapasitesinin yüksek olduğunu söyleyebiliriz.

Malencic ve ark. (2010), soya fasulyesinde bazı durumlarda yüksek ROS üretimi olan hassas çeşitlerin SOD aktivitesinin yüksek olduğunu buna rağmen, bu enzim aktivitesinin oksidatif hasarı önlemek için yeterli olmadığını bildirmişlerdir.

Zlatev ve ark. (2006) fasulyede stres sonrası tüm çeşitlerde SOD aktivitesinin arttığını bildirmiştir. Benzer bir çalışmada Veeralakshmi ve ark. (2017)'ye göre fasulyede *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* inokulasyonu sonrası SOD aktivitesinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Yılmaz (2015) fasulye çeşitlerinde stres sonrası SOD aktivitesinde değişiklik olmadığını, Kabay ve Şensoy (2016) tolerant ve hassas fasulye çeşitlerinde SOD, CAT ve APX'in tolerant genotiplerde duyarlı olanlara daha yüksek olduğunu, Cavalcanti ve ark. (2006) *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'yı inokule ettikleri domates bitkisinde inokulasyon sonrası daha yüksek SOD, CAT ve POX artışı görüldüğünü. Mandal ve ark. (2011) hassas ve dayanıklı domates çeşitlerinde *Ralstonia solanacearum* inokulasyonu sonrası hassas çeşitte daha yüksek SOD ve aktivitesi görüldüğünü bildirmişlerdir. Bizim bulgularımız Zlatev ve ark.

(2006), Veeralakshmi ve ark. (2017), Cavalcanti ve ark. (2006) ve Mandal ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmaları destekler yönde tespit edilmiştir.

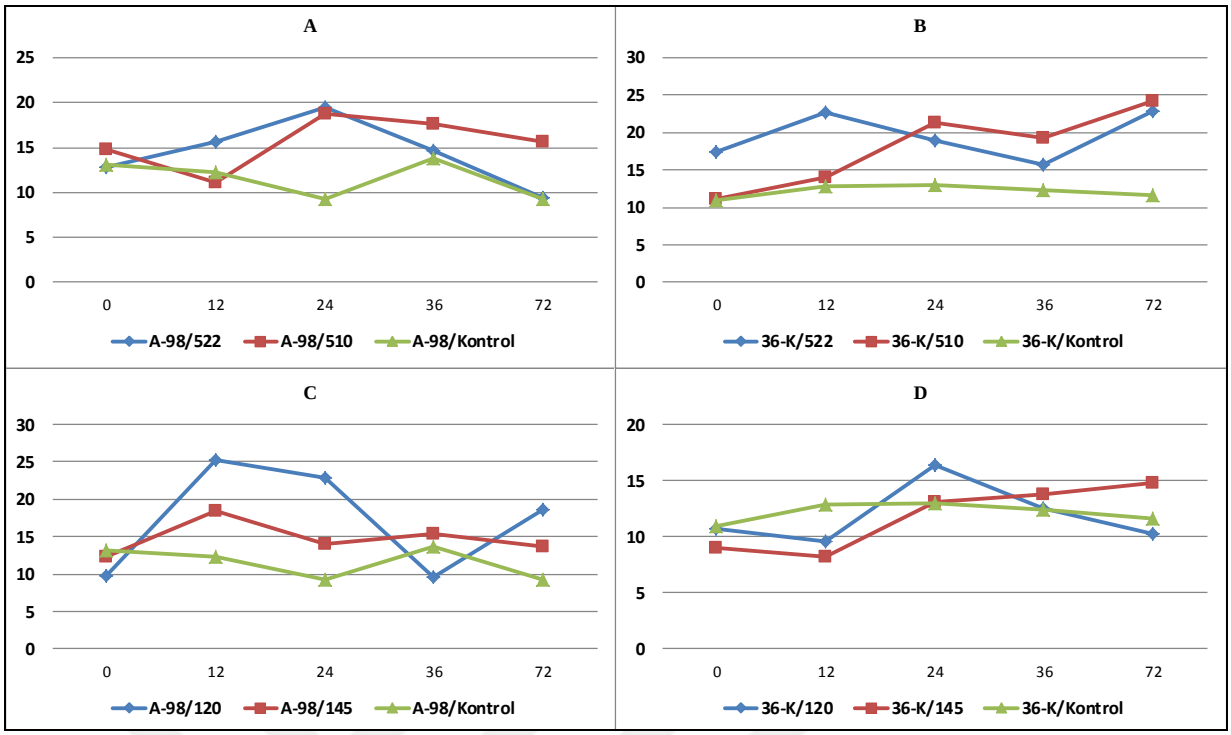
Aras-98 fasulye çeşidi ve 36-K fasulye genotipi fidelerinin kontrol, *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* ile inokule edilmiş fasulye fideleri yapraklarında yapılan analizler sonucunda belirlenen SOD enzim aktivitesi ölçüm sonuçları Çizelge 4.5 ve Şekil 4.7'de verilmektedir.

Çizelge 4.5. SOD aktivitesi bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokule edilmiş fasulye çeşit/genotip ve uygulama

ÇEŞİT	PATOJEN	ZAMAN (Saat)				
		0.	12.	24.	36.	72.
ARAS-98	Psp1	12,7633±0,8072 **BC a**	15,5833±0,9337 **AB bc**	19,4433±0,5233 **A a**	14,5833±1,8802 **ABC ab**	9,4000±0,0000 **C b**
	Psp2	14,7800±1,5877 **AB a**	11,1367±0,9435 **B c**	18,7567±2,5105 **A ab**	17,6967±1,7545 **A a**	15,6967±2,5144 **AB a**
	Xap1	9,6767±1,1145 **C a**	25,1700±0,0000 **A a**	22,8167±1,5591 **AB a**	9,5667±2,8273 **C b**	18,6300±0,0000 **B a**
	Xap2	12,2800±0,3113 **B a**	18,4067±3,8423 **A b**	14,0100±1,8543 **AB bc**	15,4200±0,8487 **AB a**	13,6300±0,0000 **AB ab**
	KONTROL	13,1267±1,8562 **A a**	12,2767±2,2076 **A c**	9,3033±2,3376 **A c**	13,7300±0,0000 **A ab**	9,2600±0,0000 **A b**
36-K	Psp1	17,3433±2,8252 **B a**	22,7033±0,2505 **A a**	19,0067±4,9416 **AB a**	15,6867±2,2826 **B ab**	22,9033±0,6982 **A a**
	Psp2	11,1100±1,8163 **B b**	14,0567±1,3128 **B b**	21,3967±1,9293 **A a**	19,3467±2,8550 **A a**	24,2533±4,6444 **A a**
	Xap1	10,6700±1,2083 **B b**	9,5800±0,7563 **B bc**	16,3833±1,1492 **A ab**	12,4700±0,0346 **AB b**	10,2600±1,4307 **B b**
	Xap2	9,0500±0,3753 **BC b**	8,2200±0,0000 **C c**	13,0333±0,3792 **ABC b**	13,7500±0,0000 **AB b**	14,7900±1,9341 **A b**
	KONTROL	10,9133±1,5434 **A b**	12,8567±0,3782 **A bc**	12,9767±0,9041 **A b**	12,3467±1,6772 **A b**	11,6200±0,9361 **A b**

zamanları arasındaki değerlendirme

LSD%5 (Çeşit*Bakteri*Zaman)= 5,05
A, B, Her çeşit ve patojen seviyelerinde zamanların karşılaştırılması
a, b Her çeşit ve zaman seviyelerinde patojenlerin karşılaştırılması
P. s. pv. *phaseolicola*=Psp
X. a. pv. *phaseoli*=Xap
Psp1=522-p; Psp2=510-p; Xap1=120-x; Xap2=145-x



Şekil 4.7. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi, **A;** *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, **B;** *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipi, **C;** *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, **D;** *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipinde zamana bağlı enzimatik reaksiyonların değişimi

4.2.5. Peroksidaz (POX) enzim analizi sonuçları

P. s. pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli*'ye ait 2'şer izolat (522-p,510-p ve 120-x,145-x) ile enfekte edilmiş 4 haftalık dönemde bulunan 36-K fasulye genotipi ve Aras-98 fasulye çeşitleri üzerinde zamana bağlı olarak meydana gelen Peroksidaz (POX) aktivitesindeki değişimler gözlemlenmiştir. Üç tekerrürlü olarak yapılan analiz sonuçlarına göre elde edilen veriler karşılaştırıldığında Çeşit x Bakteri x Zaman bakımından istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

Aras-98 fasulye çeşidi için kontrol bitkilerin yapraklarında Peroksidaz (POX) aktivitesi 0, 12, 24, 36 ve 72. saatlerde sırasıyla 623,00 ± 23,11, 607,00 ± 7,64, 501,33 ± 4,91, 698,33 ± 4,41, 418,67 ± 3,76 $Ügr^{-1}$/YA enzim olarak saptanmıştır. Aras-98 fasulye çeşidinde *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510- p) ile inokule edilen fasulye fideleri yapraklarında inokulasyon sonrası meydana gelen peroksidaz aktivitesi her iki izolat için kontrole kıyasla 12. saatte azalma, 24. saatte 510-p izolatı inokulasyonu sonrası bir miktar artış, 522-p izolatı inokulasyonu sonrası azalma, 36. saatte 522-p izolatı için bir miktar artış 510-p izolatı için ise azalma gözlemlenmiştir. Aras-98 fasulye çeşidi için tüm zamanlar arasında en yüksek artış 522-p izolatında 72. saatte 420 $Ügr^{-1}$/YA enzim artışı olarak belirlenmiştir. *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) ile inokule edilen fasulye fideleri yapraklarında ise inokulasyon sonrası her çeşit ve zaman seviyesinde patojenler karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlara göre kontrole kıyasla 120-x izolatı ile inokule edilen fasulye fidelerinde 72. saatte bir miktar artış gözlemlenirken 145-x izolatı inokulasyonu sonrası tüm zamanlarda azalma meydana gelmiştir (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.8).

36-K fasulye genotipi fidelerinin kontrol, *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* ile inokule edilmiş olan yapraklarında yapılan analizler sonucunda belirlenen POX aktivitesi ölçüm sonuçları değerlendirildiğinde kontrol bitkilerin yapraklarında 0, 12, 24, 36 ve 72. saatlerde sırasıyla 171,67 ± 17,90, 240,67 ± 9,82, 201,67 ± 28,43, 229,33 ± 18,19, 242,33 ± 3,48 $Ügr^{-1}$/YA enzim olarak saptanmıştır. *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokule edilen fasulye fideleri yapraklarında inokulasyon 12. saatte bir miktar azalma, 24. ve 36. saatte kademeli olarak artış görülmüştür. Kontrole kıyasla 36. saatteki artış miktarı 455 $Ügr^{-1}$/YA enzim olarak tüm parametreler içerisinde en yüksek enzim miktarı olarak kaydedilmiştir. 510-p izolatı için ise 36. saatte azalma gözlemlenirken diğer saatlerdeki enzim miktarı kontrole kıyasla değişiklik göstermemiştir. *X. a.* pv. *phaseoli* ile inokule edilen fasulye fideleri yapraklarında ise

120-x izolatı için inokulasyon sonrası 12. ve 24. saatlerde kontrole kıyasla azalma görülürken 36. ve 72. saatlerde bir miktar yükselmiştir. 145-x izolatı inokulasyonu sonrası ise 12. saatte azalma gözlemlenirken 24. saatte bir miktar artmakla birlikte 36. ve 72. saatlerde ise azalmaya devam etmiştir (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.8).

POX enzimi bitkide fiziksel bir bariyer görevi üstlenir ve patojen saldırılarında lignin biyosentezine katılarak patojenin yayılmasını engellemektedir (Milosevic, 1996). Yapılan çalışmalar POX enziminin hidrojen atomlarını verme eğiliminde olan bileşikler ile bu atomları alıcı durumunda olan H_2O_2 bileşiği arasındaki reaksiyonu katalizleyen oksido-redüktazlar olduğunu (Adams, 1978; Whitaker, 1994), lignin biyosentezi (hücre duvarı lignifikasyonu), bitkilerde hormonal faaliyet savunma mekanizmaları (oksin degredasyonu), sebze ve meyvelerin yetişme dönemleri süresince indoleasetik asit miktarının ayarlanması gibi önemli görevleri bulunduğunu bildirmişlerdir (Bartonek-Roxa ve ark., 1991; Wakamatsu ve Takahama, 1993; Agostini ve ark., 1997).

POX, lignin oluşturmak için radikal polimer olan hidroksil sinnamik alkol gruplarının hidrojen atomlarının uzaklaştırılmasından sorumludur. Bu polimer, dayanıklılık gösteren bitkilerin hücre duvarında meydana gelen selüloz ve diğer polisakaritlerle birlikte, patojen penetrasyonuna karşı fiziksel bir engel görevi görmektedir (Stangarlin ve ark., 2011; Stangarlin ve ark., 2012).

POX hidrojen peroksit varlığında, monofenolleri, difenolleri, monoaminleri, diaminleri, aromatik asitleri, amino asitleri ve askorbik asitleri, ayrıca inorganik iyodürleri ve nitritleri oksitleyebilir. Ayrıca metiyoninin oksidatif dekarboksilasyonu ve etilen biyosentezinde rol alır.

Dayanıklı genotiplerin POX aktivitesinin derecesini arttırdıkları ve bunun sonucu olarak da serbest radikallerin ve peroksitlerin zararlı etkilerini azaltabildikleri bunun yanında hassas bitkilerin ise bu bileşenleri detoksifiye edebilme yeteneklerinin olmadığı bildirilmiştir (Hildebrand ve ark., 1986, Heng-Moss ve ark., 2004, Gutsche ve ark., 2009). Çalışmamızın sonuçlarına göre her iki fasulye çeşidinde de patojen inokulasyonu sonrası bitki savunma sisteminde POX enzim aktivasyonu meydana gelmiştir. Yine bazı araştırmacılar POX enziminin hassas konukçuda da zaman içinde artabileceğini ve patojenin bitki dokularında aktif kalabileceğinden dolayı enzim seviyesinin korunabileceğini bildirmişlerdir (Beckman and Roberts, 1995). Kontrole kıyasla her iki fasulye çeşidinde de artış gözlemlenmiştir. Fakat en yüksek artış miktarı dayanıklı çeşit olan 36-K fasulye genotipinde 36. saatte meydana gelirken, Aras-98 fasulye çeşidi için en yüksek artış 72. saatte meydana gelmiştir.

Yapılan çalışmalarda dayanıklı fasulye çeşitlerinde farklı patojenlerle etkileşim sonrası POX gibi H_2O_2 üretimi ve kullanımı ile ilgili enzimlerin etkinliğinin arttığı ve stres koşullarında bitki savunması için peroksidazların artışı ve azalışının dayanıklılıkla ilgili olduğu bildirilmiştir (de Freitas ve Stadnik, 2012; Milosevic ve Slusarenko, 1996; Çördük ve ark. 2016).

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre POX enzim aktivitesinde *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* bakteriyel patojenlerin inokulasyonu sonrası meydana gelen değişiklikler farklı patolojenlere karşı fasulyede dayanıklılık veya duyarlılık yanıtı ile ilişkilendirilebilir. *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli*'ye dayanıklı olduğu bilinen 36-K genotipinde POX enzim aktivitesinin Aras-98 çeşidine ve kontrol bitkilere kıyasla daha erken bir yanıt olarak ortaya çıkmış olması ve patojen inokulasyonu sonrası daha yüksek miktarda sentezlenmesi durumu bu genotipin POX enzimini çalıştırma kapasitesinin daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur.

Rudolph ve Stahmann (1964), hem dayanıklı hemde hassas fasulye bitkilerini *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* ile inokule etmişler ve dayanıklı varyetede POX aktivitesinin daha erken arttığını bildirmişlerdir. Baysal ve ark. (2003) domates bitkisine *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* bakteriyel patojenini inokule etmişler ve aynı zamanda dayanıklılığı uyaran bir bitki savunma aktivatörü asibenzolar-S-metil (ASM)'i uygulamışlardır. ASM ile muamele edilen bitki dokularında peroksidaz aktivitesinin önemli şekilde arttığını bildirmişlerdir.

Golubenko ve ark. (2007) patojen inokulasyonu sonrası dayanıklı çeşit için POX aktivitesinde daha hızlı bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Jetiyanon (2007) benzer bir çalışmada *Ralstonia solanacearum*'a karşı domateste POX aktivitesinin kontrol gruplarına oranla daha yüksek olduğunu bildirmiştir.

Vanitha ve Umesha (2008) *Ralstonia solanacearum*'a karşı hassas ve dayanıklı domates çeşitlerinde POX enzim aktivitesinin dayanıklı çeşitlerde patojen inokulasyonundan sonraki 9. saat için POX aktivitesinin en yüksek olduğunu, hassas ve daha hassas çeşitlerde ise 15. ve 24. saatlerden sonra artış görüldüğünü saptamışlardır. Çalışmamızda en yüksek POX aktivitesi dayanıklı çeşitte 36. saatte olduğu tespit edilmiştir.

Kavitha ve Umesha (2008) yapmış oldukları çalışmada *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* inokule ettikleri dayanıklı ve hassas domates çeşitlerinde patojen uygulaması sonrası POX enzim aktivitesinin dayanıklı çeşitlerde hassas

çeşitlere ve hiç uygulama yapılmamış kontrol bitkilerine kıyasla daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir.

Kurabachew ve Wydra (2014) yapmış oldukları çalışmada domateste patojen inokulasyonu sonrası dayanıklı çeşitte hassas çeşide oranla daha yüksek bir enzim aktivitesi gözlemlediklerini bildirmişlerdir.

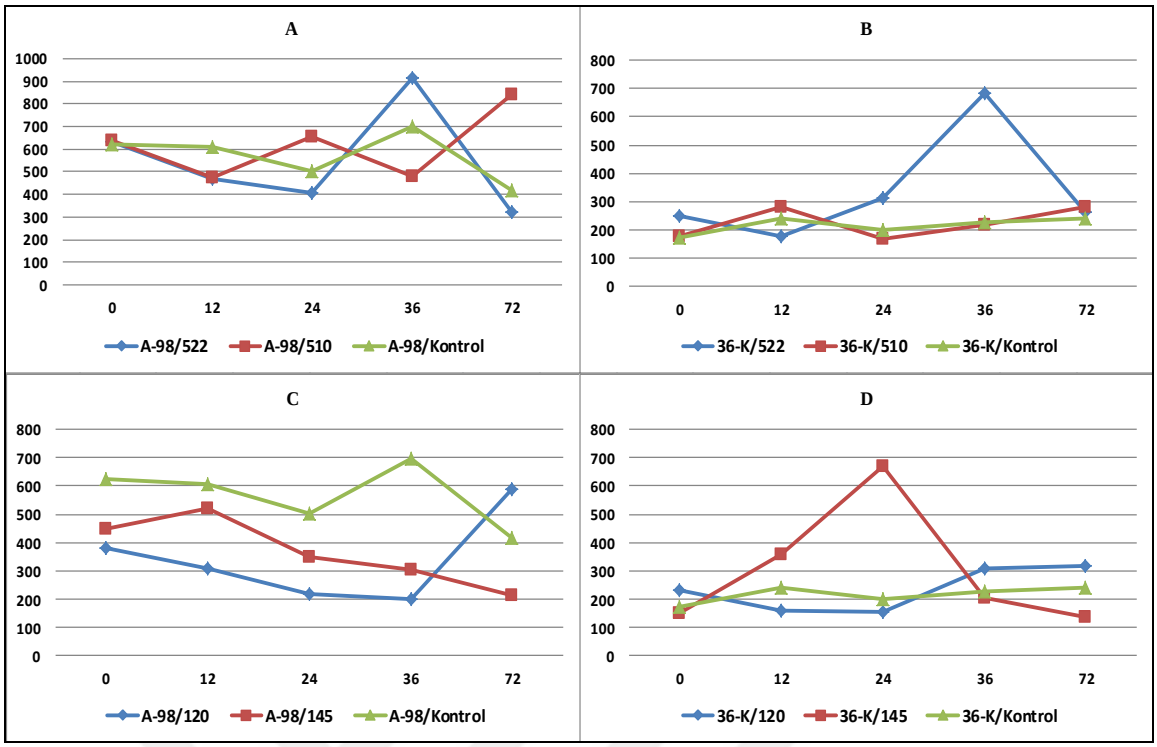
Bizim bulgularımız Rudolph ve Stahmann (1964), Baysal ve ark. (2003), Vanitha ve Umesha (2008), Kavitha ve Umesha (2008), Kurabachew ve Wydra (2014) tarafından yapılan çalışmaları destekler nitelikte elde edilmiştir.

Aras-98 fasulye çeşidi ve 36-K fasulye genotipi fidelerinin kontrol, *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* ile inokule edilmiş fasulye fideleri yapraklarında yapılan analizler sonucunda belirlenen POX enzim aktivitesi ölçüm sonuçları Çizelge 4.6 ve Şekil 4.8'de verilmektedir.

Çizelge 4.6. POX aktivitesi bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* ile inokule edilmiş fasulye çeşit/genotip ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	PATOJEN	ZAMAN (Saat)				
		0.	**12.**	**24.**	**36.**	**72.**
ARAS-98	**Psp1**	632,0000±30,1054 **B a**	471,3333±17,5721 **C b**	407,6667±27,8468 **CD c**	912,6667±92,3261 **A a**	324,0000±26,0576 **D d**
	Psp2	640,3333±38,5847 **B a**	474,3333±18,2239 **C b**	653,6667±59,3783 **B a**	482,0000±64,3765 **C c**	839,3333±124,7188 **A a**
	Xap1	381,0000±2,0817 **B b**	309,0000±3,2146 **BC c**	216,3333±17,1302 **CD d**	202,3333±12,4544 **D e**	586,6667±5,4874 **A b**
	Xap2	447.3333±11,2002 **A b**	522,5000±0,2887 **A ab**	349,3333±16,8556 **B c**	303,0000±47,6060 **BC d**	215,3333±1,4530 **C e**
	KONTROL	623,0000±23,1157 **A a**	607,0000±7,6376 **Aa**	501,3333±4,9103 **B b**	698,3333±4,4096 **A b**	418,6667±3,7565 **B c**
36-K	**Psp1**	249,6667±19,3420 **BC a**	176,0000±11,5036 **C c**	314,6667±10,1708 **B b**	684,3333±37,6711 **A a**	265,3333±18,4872 **BC a**
	Psp2	179,3333±15,7621 **B a**	280,6667±5,6960 **A ab**	166,6667±16,9542 **B c**	216,6667±9,8376 **AB bc**	281,3333±32,0902 **A a**
	Xap1	233.3333±8,5114 **AB a**	160,6667±9,8206 **B c**	155,6667±23,6807 **B c**	308,6667±15,2461 **A b**	317,3333±26,9650 **A a**
	Xap2	152,3333±15,8780 **C a**	360,0000±58,2065 **B a**	668,0000±48,0139 **A a**	203,0000±30,0222 **C c**	137,6667±15,7621 **C b**
	KONTROL	171,6667±17,9010 **A a**	240,6667±9,8206 **A bc**	201,6667±28,4273 **A c**	229,3333±18,1873 **A bc**	242,3333±3,4801 **A a**

LSD%5 (Çeşit*Bakteri*Zaman)= 92,61
A, B, Her çeşit ve patojen seviyelerinde zamanların karşılaştırılması
a, b Her çeşit ve zaman seviyelerinde patojenlerin karşılaştırılması
P. s. pv. *phaseolicola*=Psp
X. a. pv. *phaseoli*=Xap
Psp1=522-p; Psp2=510-p; Xap1=120-x; Xap2=145-x



Şekil 4.8. Peroksidaz (POX) enzim aktivitesi, **A;** *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, **B;** *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipi, **C;** *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, **D;** *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipinde zamana bağlı enzimatik reaksiyonların değişimi

4.2.6. Fenil Alanin Amonyum Liyaz (PAL) Enzim Analizi Sonuçları

P. s. pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli*'ye ait 2'şer izolat (522-p, 510-p ve 120-x, 145-x) ile enfekte edilmiş 4 haftalık 36-K ve Aras-98 fasulye çeşitleri üzerinde zamana bağlı olarak meydana gelen Fenil Alanin Amonyum Liyaz (PAL) Enzim aktivitesindeki değişimler incelenmştir. Üç tekerrürlü olarak yapılan analiz sonuçlarına göre elde edilen veriler karşılaştırıldığında Çeşit x Bakteri x Zaman bakımından istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

Aras-98 fasulye çeşidi kontrol bitkilerinin yapraklarında Fenil Alanin Amonyum Liyaz (PAL) enzim aktivitesi 0, 12, 24, 36 ve 72. saatlerde sırasıyla 16.63 ± 0.83, 18.43 ± 1.01, 17,89 ± 1,38, 17,15 ± 1,58, 16.46 ± 1.79 $Ügr^{-1}$/YA enzim olarak saptanmıştır. Aras-98 fasulye çeşidinde *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası her iki izolat için en yüksek artış 36. saatte meydana gelmiştir. *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 120-x izolatı için 12. saatte, 145-x inokulasyonu için 24. saatte en yüksek artış meydana gelmiştir (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.10).

36-K fasulye genotipi için kontrol bitkilerin yapraklarından elde edilen PAL enzim aktivitesi 0, 12, 24, 36 ve 72. saatlerde sırasıyla 12.49 ± 0.02, 18.21 ± 0.22, 19,16 ± 0,83, 12,94 ± 0,88, 20,31 ± 4,50 $Ügr^{-1}$/YA enzim olarak saptanmıştır. 36-K fasulye genotipinde *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 510-p izolatı için en yüksek enzim artışı 72. saatte, 522-p izolatı için en yüksek enzim artışı 36. saatte meydana gelmiş olup 34.92 ± 0.42 $Ügr^{-1}$/YA artış miktarıyla bu parametreler içerisinde en yüksek enzim aktivitesi olarak kaydedilmiştir. *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 120-x izolatı için en yüksek enzim aktivitesi 72. saatte, 145-x izolatı için en yüksek enzim aktivitesi 36. saatte saptanmıştır (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.10).

PAL, bitki-patojen etkileşimlerinde indüklenen fenilpropanoid yolunun ilk enzimidir. Gözlenen PAL aktivite seviyelerindeki artış, enzimin indüklenmesi veya aktif olmayan bir formun aktif forma dönüştürülmesi nedeniyle olabilir. Benzer şekilde, fenilpropanoid ve fitoaleksin biyosentezinde rol oynayan önemli bir enzim olan PAL fenilpropanoid seviyelerini arttırmasıyla, konukçu dayanıklılığını da arttırmaktadır (Maher ve ark., 1994).

Pek çok fenolik, bir aromatik aminoasit olan fenilalaninden bir amonyum molekülünün ayrılmasıyla oluşan sinnamik asitten türevlenmektedir. Bu tepkimeyi katalizleyen fenilalanin amonyum liyaz enzimidir. PAL enzimi fenilpropanoid

metabolizmada en çok çalışılan enzimdir. Bu enzimin etkinliği için kofaktöre ihtiyacı yoktur (Crotau ve ark., 2000).

Baron ve Zambryski (1995); PAL aktivitesinin, biyotik ve abiyotik stresle birlikte artış gösterdiğini bildirmektedir.

Klessig and Malamy (1994) PAL aktivitesinin lignin biyosentezinin öncüllerini ve enfeksiyona cevap olarak biriken diğer fenolik bileşiklerin de üretimini yaptığını bildirmiştir.

PAL amonyağın ortadan kaldırılmasıyla L-fenilalaninin trans-sinnamik aside dönüştürülmesine yol açar. PAL, birçok bitkinin metabolik aktivitesindeki varlığı yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır ve fenoller ve ligninler gibi savunma ile ilgili sekonder bileşiklerin sentezinde anahtar enzimdir (Whetten ve Sederoff, 1995; Hemm ve ark., 2004; Vanitha ve ark., 2009).

Pekçok çalışma, patojen enfeksiyonundan sonra PAL indüksiyonunun, önemli ölçüde lignifikasyon ve fenolik bileşiklerin üretimi gibi alternatif işlemlere yol açtığını ve bunun da hastalıklara karşı koruma sağladığını göstermiştir (Zeier ve ark., 2004; Umesha, 2006; Vanitha ve ark., 2009).

Podile ve Laxmi 1998, cinammik asit olan PAL ürününün doğrudan hücre lignifikasyon işlemleriyle bağlantılı olduğunu ve en yüksek PAL aktivitesinin genellikle ilk enfeksiyondan yaklaşık 24 saat sonra ortaya çıktığını bildirmişlerdir. Çalışmamızdan elde edilen bulgulara göre en yüksek PAL aktivitesi dayanıklı olan 36-K genotipinde 36. saatte meydana gelmiştir.

Tang ve Smith (2001) ve Tuzun (2001) tarafından özellikle biyotik stres faktörlerinin etkisinin belirlenmesinde önemli bir kriter olarak değerlendirilen PAL'ın, enfeksiyon aşamasında sentezlenmesi çok kısa sürede olduğu ve genel olarak seviyesi, enfeksiyona, bitki genetiğine ve etmenin şiddetine bağlı olarak değiştiği bildirilmektedir. Bizim bulgularımıza göre de PAL enzim aktivitesi fasulye çeşitlerine *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli*'ye ait izolatlara göre değişiklik göstermiştir.

Toillier ve ark. (2010); Farahani ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada fasulyede *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası PAL enzim aktivitesinin arttırdığını bildirmişlerdir. Silva ve ark. (2004) *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* inokulasyonu sonrası domateste PAL enzim aktivitesinde bir değişiklik olmadığını tespit edilmişlerdir. Çalışmamızda Aras-98 çeşidi ve 36-K genotipinde zamana göre farklılık olmakla birlikte *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası artış görülmüş olup bulgularımız Toillier ve ark. (2010); Farahani ve ark. (2016)'yı destekler

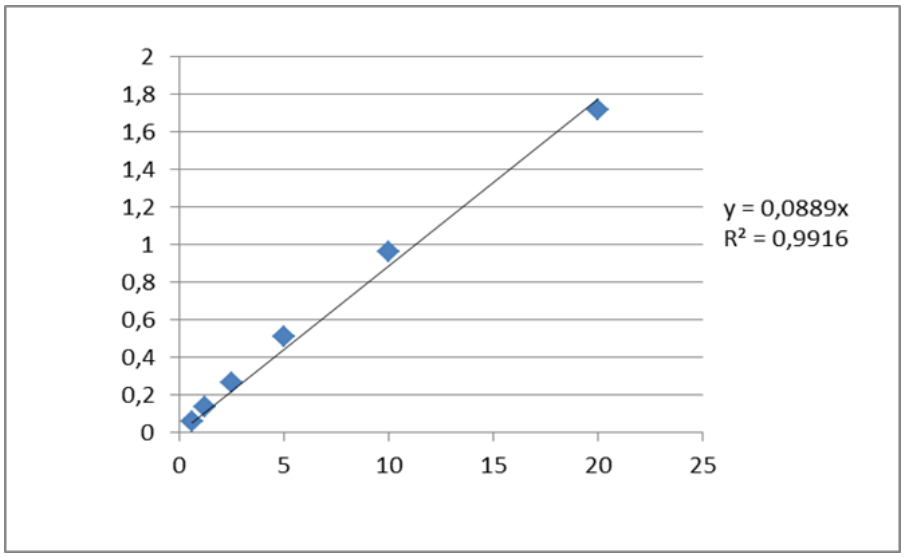
yönde elde edilmiştir. Umesha (2006) *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* patojenine dayanıklı ve hassas domates çeşitlerine patojen inokulasyonu sonrası PAL enzim aktivitesini incelemişler sonuç olarak dayanıklı çeşitlerdeki PAL aktivitesinin inokulasyondan 21 saat sonra artış gösterdiğini, hassas çeşitlerde ise azalmanın olduğunu bildirmişlerdir. Bizim bulgularımız 36-K genotipinde 24 ve 36. saatlerde artış görülmesi ile Umesha (2006)'yı destekler yönde tespit edilmiştir. Ayrıca benzer durum Aras-98 çeşidinde de gözlemlenmiştir.

Kurabachew ve Wydra (2014) çalışmada domateste bakteriyel solgunluğa neden olan *R. solanacearum*'a karşı hassas ve dayanıklı bitkilerde PAL enziminin dayanıklı bitkilerde hassas olanlara göre daha yüksek olduğunu, Hariprasad ve Umesha, (2007) domateste bakteriyel leke hastalığına neden olan *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* inokulasyonu sonrası PAL enzim aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. Bizim bulgularımız Kurabachew ve Wydra (2014) ve Hariprasad ve Umesha, (2007)'yı desteklerler nitelikte elde edilmiştir

Vanitha ve ark. (2009) *Ralstonia solanacearum*'un neden olduğu bakteriyel solgunluğa dayanıklı domates çeşitlerinde 12. saatte maksimum artış görüldüğünü, hassas çeşitler için önemli bir artışın olmadığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda tolerant ve ya hassas olan Aras-98 çeşidinde 12. saatte bir artış gözlemlenmiş ancak daha sonra azalmıştır.

PAL enzim aktivitesi sonuçlarına göre Aras-98 çeşidi ve 36-K genotipinde *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası her iki fasulye çeşidininde de PAL enzim aktivitesi ile ilişkili savunma mekanizmasının başlamış PAL bu çeşitlerin savunmasında yer almış, ancak 36-K genotipinin patojen saldırısına gösterdiği PAL cevabının daha yoğun bir şekilde uyarıldığı görülmüştür.

Aras-98 ve 36-K fasulye fidelerinin kontrol, *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* ile inokule edilmiş fasulye fideleri yapraklarında yapılan analizler sonucunda belirlenen Fenil Alanin Amonyum Liyaz (PAL) enzim aktivitesi ölçüm sonuçları Çizelge 4.7 ve Şekil 4.10'da, Trans-Sinnamik Asit Standart Eğrisi Şekil 4.9'da verilmektedir.



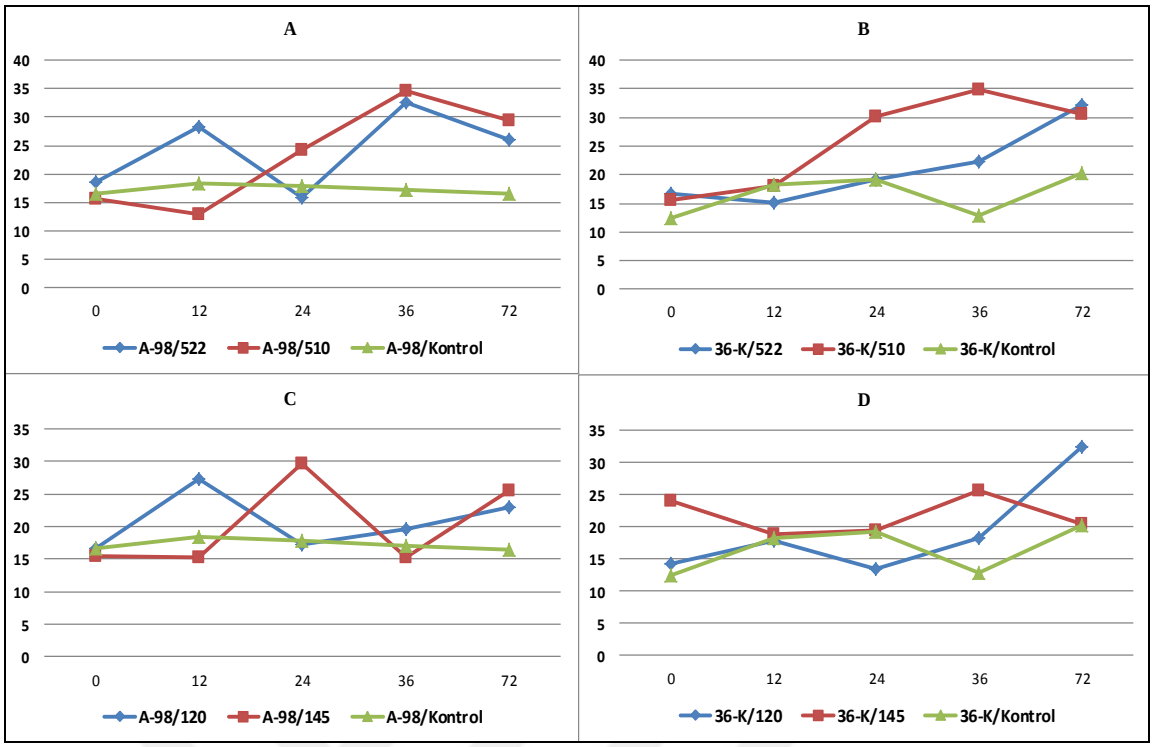
Şekil 4.9. Trans-Sinnamik Asit Standart Eğrisi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan cinnamik asit standartları 290 nm'de okunarak elde edilen absorbanslar ile trans-sinnamik asit standart eğrisi oluşturulmuştur. Çalışmamızda elde edilen standart eğrinin R=0,9916 değeri, lineer regresyonun güvenilir olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.7. PAL aktivitesi bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokule edilmiş fasulye çeşit/genotip ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	PATOJEN	ZAMAN (Saat)				
		0.	**12.**	**24.**	**36.**	**72.**
ARAS-98	**Psp1**	18.5997±1.0747 **C a**	28.3070±0.9059 **AB a**	15.8440±0.4059 **C b**	32.5533±0.5846 **A a**	26.1180±0.0000 **B ab**
	Psp2	15.6470±1.0473 **C a**	12.8760±0.7236 **C b**	24.3343±6.6964 **B a**	**34.5367**±4.4305 **A a**	29.3643±1.0031 **AB a**
	Xap1	16.5880±1.1430 **C a**	27.3480±0.0000 **A a**	17.2403±1.7245 **BC b**	19.5333±4.3350 **BC b**	23.0820±1.2794 **AB b**
	Xap2	15.5120±3.1824 **B a**	15.2640±0.0000 **B b**	29.6290±1.1951 **A a**	15.2307±1.9939 **B b**	25.5737±1.6400 **A ab**
	KONTROL	16.6253±0.8311 **A a**	18.4250±1.0132 **A b**	17.8850±1.3833 **A b**	17.1483±1.5817 **A b**	16.4620±1.7892 **A c**
36-K	**Psp1**	16.6290±2.7251 **BC b**	15.1220±0.4341 **C a**	19.0927±1.5315 **BC b**	22.3903±0.8409 **B bc**	32.2500±3.3706 **A a**
	Psp2	15.6810±0.1559 **B b**	17.9840±1.1547 **B a**	30.1857±1.3410 **A a**	34.9160±0.4157 **A a**	30.5967±1.1526 **A a**
	Xap1	14.2127±1.1850 **B b**	17.8910±3.5363 **B a**	13.5150±0.2760 **B b**	18.2850±0.6657 **B cd**	32.4073±3.2933 **A a**
	Xap2	24.0160±0.0520 **AB b**	18.8940±0.9805 **B a**	19.5083±2.2424 **AB b**	25.7253±1.8840 **A b**	20.5457±0.0032 **AB b**
	KONTROL	12.4917±0.0228 **B b**	18.2113±0.2208 **AB a**	19.1563±0.8247 **A b**	12.9363±0.8831 **B d**	20.3073±4.4956 **A b**

LSD%5 (Çeşit*Bakteri*Zaman)= 5,682
A, B, Her çeşit ve patojen seviyelerinde zamanların karşılaştırılması
a, b Her çeşit ve zaman seviyelerinde patojenlerin karşılaştırılması
P. s. pv. *phaseolicola*=Psp
X. a. pv. *phaseoli*=Xap
Psp1=522-p; Psp2=510-p; Xap1=120-x; Xap2=145-x



Şekil 4.10. Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL) enzim aktivitesi, **A;** *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, **B;** *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipi, **C;** *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidi, **D;** *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipinde zamana bağlı enzimatik reaksiyonların değişimi

4.3. Çözünebilir Toplam Protein Tayini Sonuçları

P. s. pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli*'ye ait 2'şer izolat (522-p, 510-p, 120-x, 145-x) ile enfekte edilmiş 4 haftalık 36-K fasulye genotipi ve Aras-98 fasulye çeşidi üzerinde zamana bağlı olarak meydana gelen Çözünebilir Toplam Protein aktivitesindeki değişimler gözlemlenmiştir. Yapılan analiz sonuçlarına göre elde edilen veriler karşılaştırıldığında Çeşit x Bakteri x Zaman bakımından istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p<0,01$). Çeşit x Bakteri x Zaman interaksiyonu önemli olmadığından dolayı ana etkilere bakılmıştır. Çeşit x Bakteri interaksiyonunun protein üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Aras-98 çeşidi kontrol bitkilerin yapraklarında çözünebilir toplam protein miktarı 0, 12, 24, 36, ve 72. saatlerde sırasıyla 24.49±5.28, 63.17±13.51, 42.94±12.47, 35.06±5.97, 53.61±6.35 mg/ml proteindir.

Zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte Aras-98 çeşidinde *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu için kontrol bitkilerine kıyasla 510-p izolatı inokulasyonundan sonra 24 ve 36. saatte kademeli olarak artış görülmüş olup, 522-p izolatı inokulasyonu sonrası ise 36. saatte artış görülmüştür. Aras-98 çeşidinde *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası ise her iki izolat içinde (120-x, 145-x) 24. saatte artış gözlenmenmiş olup, 120-x izolatının inokulasyonu sonrası artış devam etmekle birlikte, 145-x izolatı inokulasyonu sonrası azalmıştır. Aras-98 çeşidi için diğer zamanlarda değişiklik olmamıştır.

Çetin ve Baştaş (2012) tarafından yapılan çalışmada *Erwinia amylovora* bakteriyel patojen inokulasyonu sonrası armut çeşitlereinde 24 ve 36. saatlerde artış görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçları Aras-98 çeşidinde meydana gelen değişimler ile uyumludur.

36-K genotipi kontrol bitkilerin yapraklarında çözünebilir toplam protein miktarı 0, 12, 24, 36, ve 72. saatlerde sırasıyla 31,19± 6,75, 41,47±3,78, 58,78 ± 18,14, 45,82 ± 8,14, 40,97 ± 10,65 mg/ml proteindir. 36-K genotipinde *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası her iki izolat içinde 24. saatte (510-p ve 522-p) bir miktar azalma meydana gelmiştir.

Dölek (2001), Çanakçı ve Munzuroğlu (2004), Eroğlu (2007) tarafından yapılan çalışmalarda farklı fasulye çeşitlerinde stres sonrası protein miktarının azaldığını, öte yandan Demir ve Kocaçalışkan (2002), Farhangi-Abriz ve Torabian (2017) ise fasulyede stres sonrası çözünebilir toplam protein miktarının arttığı bildirmiştir. 36-K

genotipine ait çözünebilen toplam protein sonuçlarımız ise Dölek (2001), Çanakçı ve Munzuroğlu (2004), Eroğlu (2007)'nu destekler yöndedir.

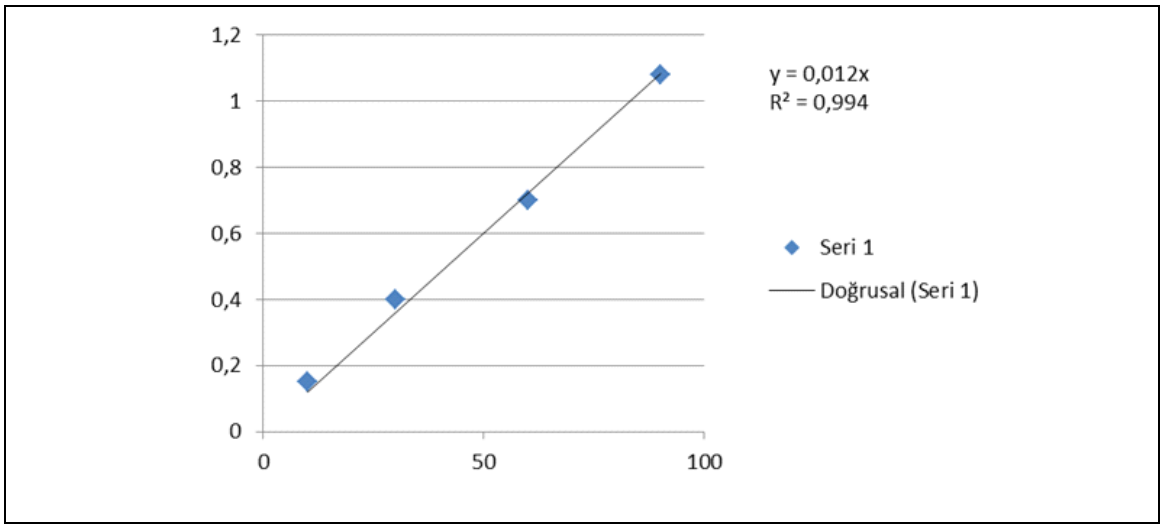
Aras-98 çeşidi ve 36-K genotipine ait fasulye bitkilerinde her iki bakteriyel patojen inokulasyonu sonrası meydana gelen toplam protein miktarı kontrol grubu bitkiler ile karşılaştırıldığında; her iki bitki çeşidinde ve zamanlarda farklı düzeylerde artış ve azalış gösterdiği belirlenmiştir. Burada dikkati çeken dayanıklı çeşit olan 36-K genotipinde toplam protein miktarı Aras-98 çeşidi ve kontrol bitkilerine göre düşüş göstermiştir.

Bazı çalışmalar, çeşitli stres koşulları altında stres dayanıklılık mekanizması ile ilişkili proteinlerin bitkiler tarafından değişik miktarlarda sentezlediklerini, protein miktarlarının bitki türüne, bitkinin kısımlarına göre değişiklik gösterebileceği gibi bu miktarın hücreden hücreye de değişiklik gösterdiğini bildirmektedir (Öztürk ve Tort, 2004, Baykal ve Öncel, 2006, Koç ve ark. 2012, Fang ve ark., 2015).

Stres koşulları altında bitki savunması için çözünebilir toplam protein içeriğindeki varyasyon önemlidir. Çünkü stres koşulları bitkide, ortaya çıkan hidroksil radikalleri, spesifik amino asit değişiklikleri, polipeptit parçalanması, denatürasyon ve proteolize kadar protein modifikasyonlarına neden olmaktadır (Wolff ve ark., 1986; Çördük ve ark. 2016).

Belirli durumlarda proteolizin, reaktif oksijen türlerinin teşvik ettiği oksidatif stres ile de ilişkili olduğunu oksidatif stres kaynaklı koşullar altında protein yıkımının meydana gelebileceğini bildirmektedir (Solomon ve ark. 1999, Çördük ve ark. 2016). Yani hücreler patojenlere maruz kaldıktan sonra artan proteoliz nedeniyle 36-K fasulye genotipinde savunma uyarılarak total proteinin yıkıma uğramış olabileceği düşünülmektedir. Bir başka yaklaşım ise stres koşulları altında bitkilerde protein sentezinin azalmasıyla, yeni proteinlerin sentezlenmesi ya da mevcut proteinlerin parçalanarak amino asitlere dönüşmesiyle bir savunma mekanizması oluşmuş olmasıdır.

Çözünebilir Toplam Protein miktarı bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokule edilmiş fasulye çeşitleri ve zaman arasındaki değerlendirme Çizelge 4.8 ve Şekil 4.12'de, bsa standart eğri grafiği Şekil 4.11'de verilmektedir.



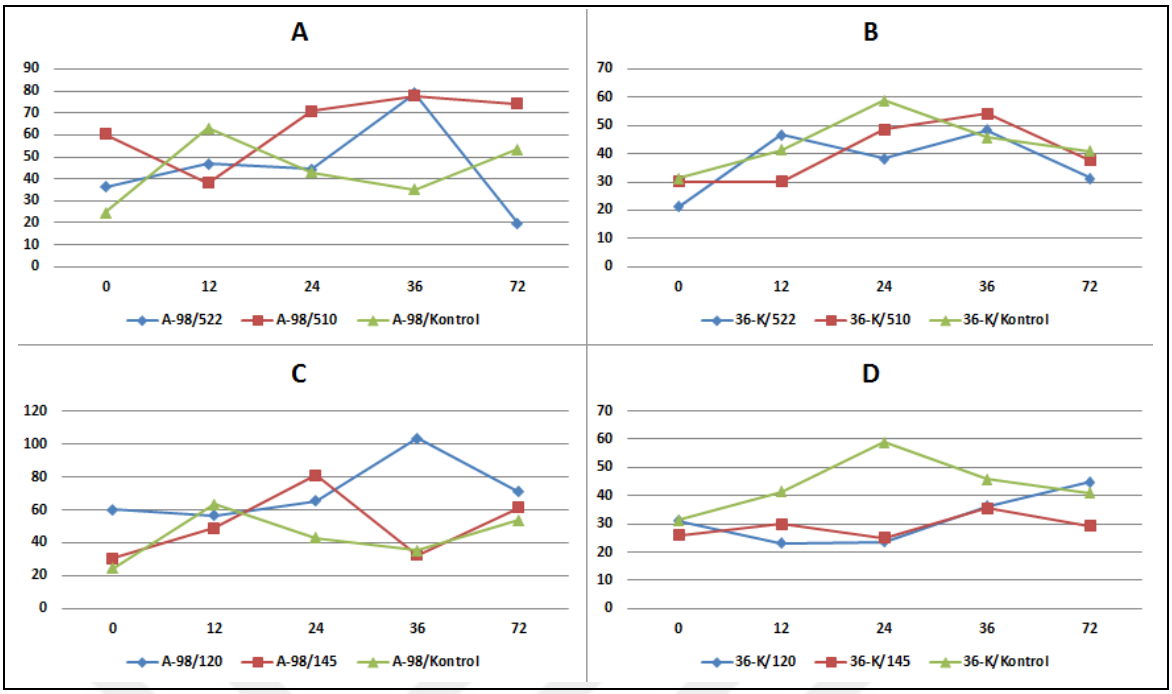
Şekil 4.11. Bovin Serum Albumin (BSA) Standart Eğri Grafiği

Bovin Serum Albumin (BSA) standart eğri grafiği Bradford (1976)'a göre, bovin serum albümin standart olarak kullanılarak hazırlanmış olup µg proteine karşılık gelen absorbanslar protein miktarının belirlenmesinde kullanılmıştır. Çalışmamızda elde edilen standart eğrinin R=0,994 değeri, lineer regresyonun güvenilir olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.8. Çözünebilir Toplam Protein miktarı bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokule edilmiş fasulye çeşit/genotip ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

BİTKİ	Psp 1	Psp 2	Xap 1	Xap 2	KONTROL
Aras-98	45.36±5.67 **a B**	64.30 ±8.11 **A a**	71.22 ±6.67 **a A**	50.72±6.08 **a B**	43.85±5.07 **a B**
36-K	37.17 ±3.82 **a AB**	40.12 ±4.61 **b AB**	31.75±2.80 **b AB**	29.12±2.14 b B	43.65±4.68 **a A**

LSD % 5 (Çeşit*Bakteri)= 12,88
a, b Her bir bakteri seviyelerinde çeşitlerin karşılaştırılması
A,B Her bir çeşit seviyesinde bakterilerin karşılaştırılması
P. s. pv. *phaseolicola*=Psp
X. a. pv. *phaseoli*=Xap
Psp1=522-p; Psp2=510-p; Xap1=120-x; Xap2=145-x



Şekil 4.12. Çözünebilir Toplam Protein miktarı, **A;** *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidinde, **B;** *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipi, **C;** *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidinde, **D;** *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipinde zamana bağlı enzimatik çözünebilir toplam protein miktarının değişimi

4.4. Prolin Tayini Sonuçları

P. s. pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli*'ye ait 2'şer izolat (522-p, 510-p, 120-x, 145-x) ile enfekte edilmiş 4 haftalık dönemde bulunan 36-K fasulye genotipi ve Aras-98 fasulye çeşidi üzerinde zamana bağlı olarak meydana gelen Prolin miktarındaki değişimler gözlemlenmiştir. Üç tekerrürlü olarak yapılan analiz sonuçlarına göre elde edilen veriler karşılaştırıldığında Çeşit x Bakteri x Zaman bakımından istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.01$).

Aras-98 fasulye çeşidi için kontrol bitkilerin yapraklarında Prolin miktarı 0., 12., 24., 36. ve 72. saatlerde sırasıyla 0.22 ± 0.09, 0.09 ± 0.03, 0.07 ± 0.01, 0.12 ± 0.01, 0.06 ± 0.02 µmol/ml Prolin g^{-1} YA olarak saptanmıştır. *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu için 522-p ve 510-p izolatı inokulasyonu sonrası kontrol bitkilere kıyasla artış olmakla birlikte en fazla artış miktarı sırasıyla 24 ve 36. saatte, *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu için kontrol bitkilere kıyasla artış olmakla birlikte her iki 120-x ve 145-x izolatlarının inokulasyonu sonrası maximum prolin miktarı 36. saatte tespit edilmiştir (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.14).

36-K genotipi kontrol bitkilerin yapraklarında prolin miktarı 0, 12, 24, 36. ve 72. saatlerde sırasıyla 0.42 ± 0.01, 0.46 ± 0.01, 0.50 ± 0.01, 0.37 ± 0.01, 0.41 ± 0.02 µmol/mL Prolin g^{-1} Y.A. olarak saptanmıştır. *P. s.* pv. *phaseolicola* inokulasyonu için 36-K genotipi yapraklarındaki prolin miktarı kontrol bitkilere kıyasla yüksek olmakla birlikte 522-p izolatı inokulasyonu sonrası 36. saatte en yüksek seviyeye ulaşırken, 510-p izolatı inokulasyonu sonrası kontrole kıyasla azalma görülmüştür. 36-K genotipi *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu için ise 145-x izolatı inokulasyonu sonrası kontrol bitkilere kıyasla prolin artışı görülmekle birlikte, 120-x izolatı inokulasyonu sonrası değişiklik olmamıştır (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.14).

Yapılan çalışmalar stres koşullarına bağlı olarak bitkilerde farklı miktarlarda prolin birikiminin olduğunu bildirmiştir (Hanson ve ark., 1977; Singh ve Rai, 1981; Aloni ve Rosenshtein, 1984). Aras-98 çeşidi ve 36-K genotipine *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası her iki çeşitte de prolin miktarında patojenlere ait izolatlara göre ve zamana bağlı olarak değişiklikler göstermiş olup, artış ve azalmalar meydana gelmiştir.

Eroğlu (2007) , Al-Karaki ve ark. (1996) farklı fasulye çeşitlerinde yapmış oldukları çalışmada stresle birlikte prolin birikiminin arttığını, KırbağZengin ve Munzuroglu (2005), Erkılıç (2005) ise fasulyede stres sonrası bitkide prolin birikiminin

azaldığını bildirmişlerdir. Bizim bulgularımız ise Eroğlu (2007), Al-Karaki ve ark. (1996)'ını destekler yönde elde edilmiştir.

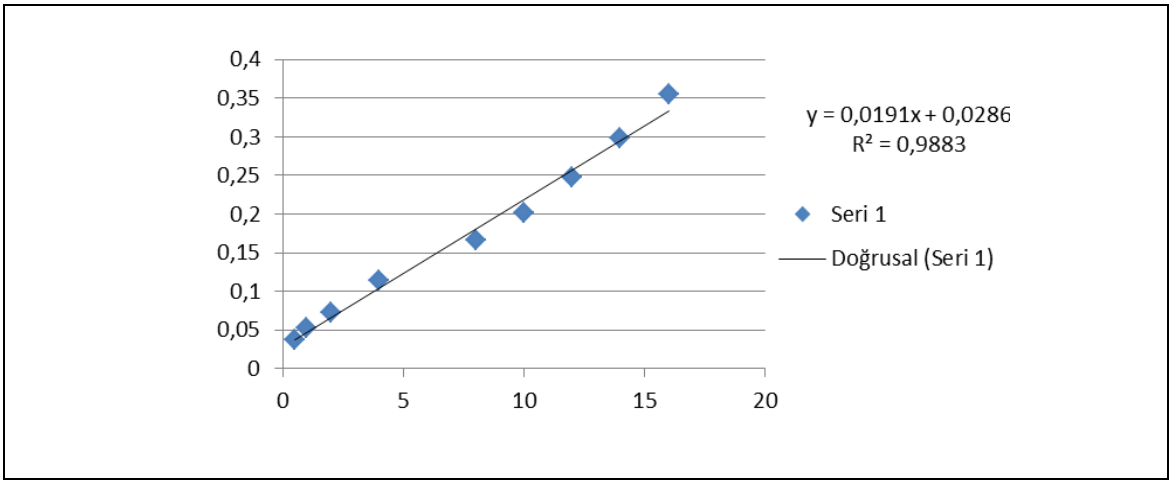
Jiménez-Bremont ve ark. (2006), stres sonrası dayanıklı çeşitte hassas olana göre daha yüksek prolin birikimi görüldüğünü, Misra ve Gupta (2005) stres uygulamaları sonrası tolerant çeşitte hassas olana göre daha yüksek prolin birikimi tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bizim sonuçlarımıza göre tüm parametreler içerisinde en yüksek prolin birikimi dayanıklı çeşit olan 36-K genotipinde 145-x izolatı inokulasyonu sonrası tespit edilmiştir.

Ayoubi ve Soleimani (2015) tarafından yapılan çalışmada farklı fasulye çeşitlerinde, Sreedevi ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada domateste, Fabro ve ark. 2004 tarafından yapılan çalışmada *Arabidopsis thaliana*'da patojene karşı bitki savunması sırasında prolin içeriğinin arttığını bildirmişlerdir. Sonuçlarımıza göre Aras-98 çeşidinde her iki bakteri sonrası prolin birikimi artış gösterirken, 36-K genotipinde *X. a.* pv. *phaseoli*'ye ait 120-x izolatı ve *P. s.* pv. *phaseolicola*'ye ait 510-p izolatı inokulasyonu sonrası azalma meydana gelmiştir. 120-x ve 510-p izolatı sonrası 36-K genotipinde meydana gelen prolin azalması bitki savunmasının erken aşamalarında prolin katabolizmasının artmasıyla açıklanabilir.

Hellmann ve ark. 2000; Hu ve ark. 2007; Nishimura ve ark. 2012; Lee ve ark. 2013 tarafından yapılan son çalışmalar, prolin metabolizmasında bir ara amino asit olan P5C'nin bitki savunmasında önemli bir rol oynadığını bildirmektedir. Prolin-P5C döngüsüne göre, mitokondride prolin katabolizmasına bağlı olarak sentezlenen P5C'nin, bilinmeyen bir taşıyıcıdan P5CR enziminin proline dönüştürerek sitozole taşınmaktadır ve bu şekilde oluşan prolinin, ProDH enzimi için bir substrat olarak etki ederek mitokondriye taşınmaktadır (Miller et al., 2009, Qamar ve ark., 2015). Bazı durumlarda, patojen enfeksiyonu ProDH transkript seviyesini arttırarak dolayısıyla prolin katabolizmasını da arttırmaktadır (Cecchini ve ark., 2011; Monteoliva ve ark. 2014, Qamar ve ark. 2015).

Dikilitaş ve Karakaş (2012) strese sonrası bitkide prolin artışının aminoasit sentezindeki artış ile ilgili olduğunu ve protein yıkımıyla da prolin konsantrasyonunda artışa rastlanabileceğini bildirmişlerdir. Buna paralel olarak çalışmamızda çözünebilir toplam protein azalmasıyla amino asit sentezininin arttığı düşünülmektedir.

Prolin aktivitesi bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* ile inokule edilmiş fasulye çeşitleri ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme Çizelge 4.9 ve Şekil 4.14'de, prolin standart eğri grafiği Şekil 4.13'verilmektedir.



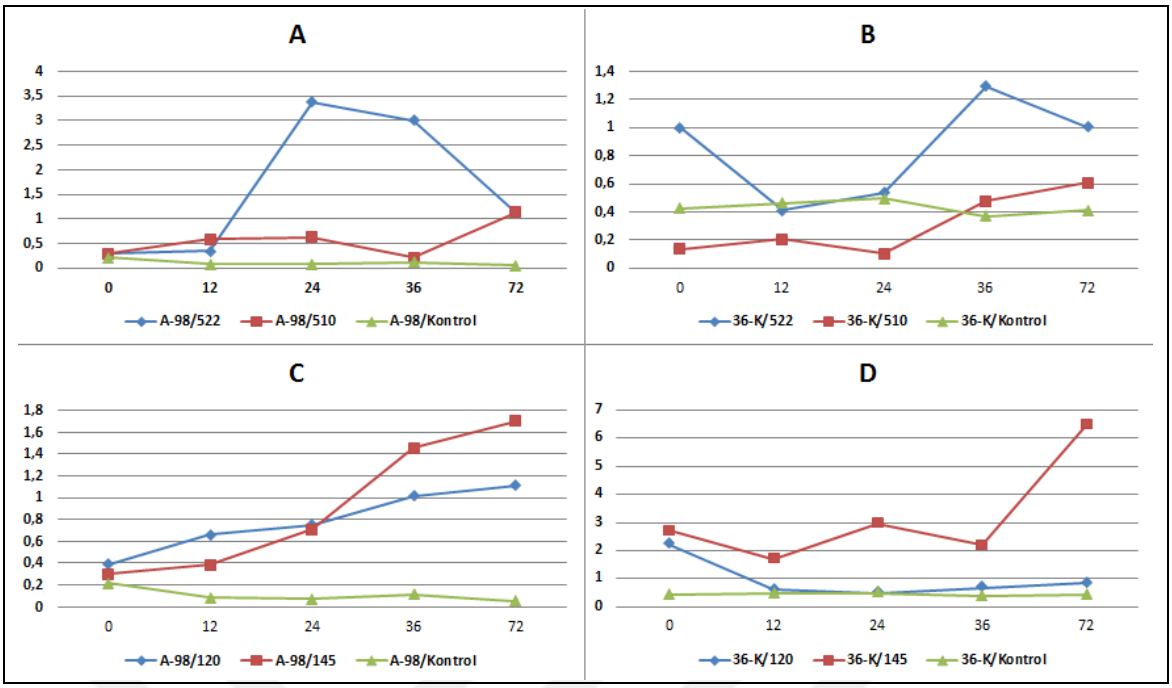
Şekil 4.13. Prolin Standart Eğri Grafiği

Prolin Standart Eğri Grafiği, Bates ve ark., 1973'e gore saf prolin kullanılarak asit-ninhidrin metoduyla elde edilen değerler kullanılarak prolin standart eğri grafiği çizilmiştir. Çalışmamızda elde edilen standart eğrinin R=0,9883 değeri, lineer regresyonun güvenilir olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.9. Prolin aktivitesi bakımından *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* inokule edilmiş fasulye çeşit/genotip ve uygulama zamanları arasındaki değerlendirme

ÇEŞİT	PATOJEN	ZAMAN (Saat)				
		0.	**12.**	**24.**	**36.**	**72.**
ARAS-98	**Psp1**	0.2970±0.0104 **B a**	0.3520±0.0104 **B a**	3.3800±0.0104 **A a**	2.9990±0.0104 **A a**	1.1313±0.0107 **B a**
	Psp2	0.2970±0.0104 **A a**	0.5873±0.0107 **A a**	0.6240±0.0000 **A b**	0.2067±0.1048 **A c**	1.1313±0.0107 **A a**
	Xap1	0.3880±0.0000 **A a**	0.6600±0.0104 **A a**	0.7510±0.0104 **A b**	1.0167±0.0162 **A bc**	1.1130±0.0104 **A a**
	Xap2	0.2970±0.0000 **B a**	0.3820±0.0698 **B a**	0.7080±0.1301 **AB b**	1.4517±0.3660 **A b**	1.6993±0.5654 **A a**
	KONTROL	0.2190±0.0943 **A a**	0.0857±0.0303 **A a**	0.0740±0.0060 **A b**	0.1160±0.0104 **A c**	0.0557±0.0162 **A b**
36-K	**Psp1**	0.9987±0.0162 **A b**	0.4120±0.0159 **A b**	0.5390±0.0159 **A b**	1.2947±0.0211 **A ab**	1.0047±0.0107 **A b**
	Psp2	0.1340±0.0104 **A b**	0.2067±0.0211 **A b**	0.1040±0.0216 **A b**	0.4790±0.0104 **A b**	0.6057±0.0107 **A b**
	Xap1	2.2130±0.0159 **A a**	0.6077±0.0742 **B b**	0.4850±0.0159 **B b**	0.6720±0.0159 **B b**	0.8350±0.0159 **B b**
	Xap2	2.7150±0.1327 **B a**	1.7057±0.3940 **C a**	2.9623±0.4502 **B a**	2.2070±0.4869 **BC a**	6.4623±2.1479 **A a**
	KONTROL	0.4240±0.0104 **A b**	0.4607±0.0107 **A b**	0.4970±0.0104 **A b**	0.3700±0.0104 **A b**	0.4120±0.0159 **A b**

LSD%5 (Çeşit*Bakteri*Zaman)= 0,9502
A, B, Her çeşit ve patojen seviyelerinde zamanların karşılaştırılması
a, b Her çeşit ve zaman seviyelerinde patojenlerin karşılaştırılması
P. s. pv. *phaseolicola*=Psp
X. a. pv. *phaseoli*=Xap
Psp1=522-p; Psp2=510-p; Xap1=120-x; Xap2=145-x



Şekil 4.14. Prolin aktivitesi, **A;** *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidinde, **B;** *P. s.* pv. *phaseolicola* (522-p ve 510-p) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipinde, **C;** *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası Aras-98 fasulye çeşidinde, **D;** *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası 36-K fasulye genotipinde zamana bağlı enzimatik çözünebilir prolin miktarının değişimi

4.5. Enfeksiyon Sonrası Fasulye Çeşitlerinde Bakteriyel Kolonizasyon Tespiti Sonuçları

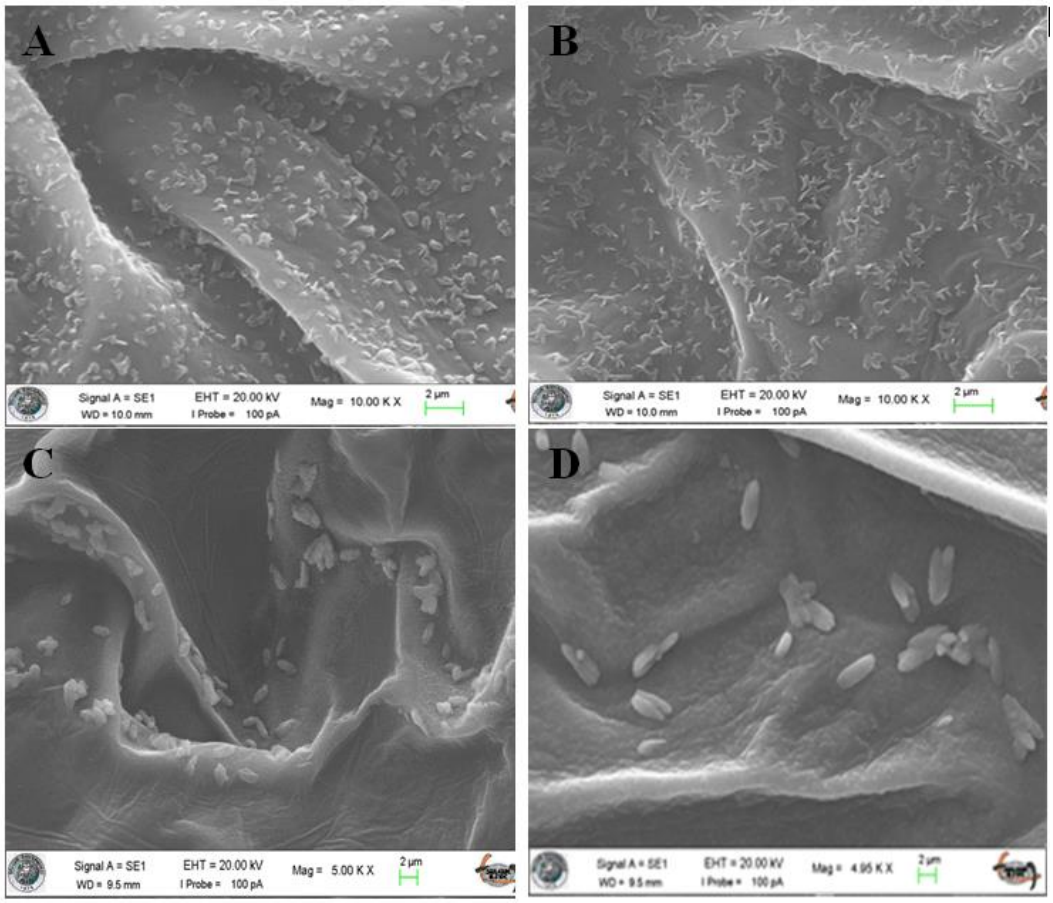
Araştırmamızın bu bölümününde Aras-98 fasulye çeşidi ve 36-K fasulye genotipi için *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli*'ye ait mix kültürler kullanılmış olup inokulasyon sonrası alınan yaprak dokuları Scanning Elektron Mikroskopta incelenerek görüntüler elde edilmiştir. Elde edilen görüntüler bakterinin bitki ile etkileşime girme, bitkiye adapte olabilme kabiliyeti, bakterilerin konukçuda meydana getirdiği kolonizazyon ve biyofilm oluşumu açısından değerlendirilmiştir.

SEM, bakteriyel patojenlerin hücreler arası yayılımını incelemek için yararlı bir araçtır (Roos ve ark., 2019). SEM ile bitki veya bakterinin hücre özelliklerinin incelenmesi, ışık mikroskobu ve geçirimli elektron mikroskobuyla elde edilemeyen bulguların elde edilmesi kolaylaşmaktadır (Gerçeker, 2013). Bu çalışmada elde edilen SEM görüntülerine göre Aras-98 çeşidinde inokulasyondan 24 saat sonra bakteri kolonilerinin 36-K genotipine göre daha yoğun olduğu görülmüştür. Goodwin ve ark. (1995) hassas ve dayanıklı fasulye çeşitlerinde *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası hassas çeşitte bakteri kolonizasyonunun daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu durum bizim çalışmamızın sonuçları ile uyumludur.

Biyofilm, hücrelerin birbirine ya da mevcut oldukları yüzeye yapıştıkları, ekstrapolisakkarit (EPS), DNA, proteinlerden oluşan bir bakteri topluluğudur (Donlan, 2001). *P. s.* pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* hücreler arası boşluklarda apoplastik sıvılarda çoğalmakta ve bitki hücrelerinin etrafında biyofilmler oluşturmaktadırlar. Çalışmamızda *P. s.* pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) ve *X. a.* pv. *phaseoli* (120- ve 145-x) inokulasyonundan 24 saat sonra Aras-98 çeşidi ve 36-K genotipinde alınan yaprak örnekleri SEM görüntülerine göre her iki çeşitte de biyofilm oluşumu gözlemlenmiştir. Ancak 24. saatte Aras-98 çeşidinde biyofilm oluşumu daha fazla ve belirgin bir görüntü sergilerken, 36-K genotipinde biyofilm oluşumunun yeni başladığı tespit edilmiştir. Bu durumu Aras-98 çeşidinin hassas, 36-K genotipinin dayanıklılığıyla ilişkilendirebiliriz. Yani 36-K genotipinin savunma sistemi bakterileri algılayarak bakteri enfeksiyonunu baskılamış, öte yandan Aras-98 çeşidi savunma sistemi yetersiz kaldığından bakterilerin virülans faktörlerinin savunmasıyla kolonizasyon ve biyofilm artışının olduğunu söyleyebiliriz. Bununla birlikte bu iki çeşit üzerinde yapmış olduğumuz patojenisite, enzim çalışmalarımız genel olarak 36-K genotipinin

dayanıklılığını ön plana çıkarmakta, kolonizasyon ve biofilm oluşumu görüntüleride bu sonuçlar ile paralellik göstermektedir.

36-K ve Aras-98 çeşitlerinin bakteriyel inokulasyon sonrası 24. Saatte Aras-98 çeşidi ve 36-K genotipinden alınan yaprak örneklerinin SEM görüntüleri şekil 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.15. Aras-98 fasulye çeşidi ve 36-K fasulye genotipi yapraklarında *P. s.* pv. *phaseolicola* (510-p ve 522-p) ve *X. a.* pv. *phaseoli* (120-x ve 145-x) inokulasyonu sonrası SEM görüntüleri, **A;** Aras-98 çeşidinde *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 24. saat görüntüleri, **B;** Aras-98 fasulye çeşidinde *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 24. saat görüntüleri, **C;** 36-K fasulye genotipinde *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 24. saat görüntüleri, **D;** 36-K genotipinde *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 24. saat görüntüsü

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bitkisel üretim insanoğlunun hayatiyetini sürdürmesi için elzem olan bir durumdur. Dünyada nüfus artışıyla birlikte tüketim artmakta dolayısıyla insan ve hayvan beslenmesinde en önemli paya sahip olan bitkisel üretimin arttırılması gerekmektedir. Bitkisel üretimin artırılması için en etkili faktör ise daha verimli ve kaliteli yeni çeşitler elde etmektir. Dünya'da yapılan çalışmalar sonucunda tam başarı elde edilememekle birlikte pek az sayıda dayanıklı çeşit geliştirilebilmiştir ve bu çeşitlerin kalite çalışmaları halen devam etmektedir.

Bitki bakteri hastalıkları tüm dünyada ekonomik olarak üretim yapılan tarım alanlarında şiddetli kayıplara yol açan önemli bir bitki hastalık grubudur. Bitki patojeni bakterilerin neden olduğu hastalıkların yönetimi oldukça zordur. Antibiyotik kullanımı bakterilerin bu antibiyotiklere karşı direnç kazanmasına yol açmış ve bu nedenle ülkemiz de dahil olmak üzere bazı ülkelerde antibiyotik kullanımı yasaklanmıştır. Bakteriyel hastalıklarla kimyasal mücadele, bakteriyel enfeksiyonun çoğalmasını önleyen bakır bileşiklerinin kullanılmasına dayanır ve ülkemizde yoğun olarak kullanılan bakırlı bileşikler, bir ağır metal olan bakırı içermektedir. Zamanla toprakta biriken bakırlı bileşikler toprağın verimliliğini azaltmakta, bitkide fitotoksiteye neden olmakta ve yoğun bakır kullanımı sonrası insanlarda kan ve karaciğer üzerinde olumsuz etkiler yaratmaktadır.

Nüfus yoğunluğunun gittikçe artması ve ekilebilir alanların azalması sebebiyle gelecekte besin sıkıntılarının yaşanabileceği dünyamızda ürün kayıplarının azaltılması oldukça önem kazanmıştır. Bu amaçla gelişen teknolojik gelişmeler ışığında; özellikle dayanıklı bitki türlerindeki savunma mekanizmalarının anlaşılması, ürün kayıplarının en aza indirilmesinde oldukça önemli bir adım olacaktır (Büyük ve ark., 2012).

P. s. pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* etmenlerine karşı dayanıklılık / hassasiyet reaksiyonlarının anlaşılması ile ileriki mücadele çalışmalarına ışık tutacak verilere ulaşılması beklenilmektedir.

Dayanıklılık çalışmaları bitki genotiplerinde var olan ve bir veya birden fazla gen tarafından kontrol edilen dayanıklılığın tespit edilmesi, bu dayanıklılığı veren genlerin klonlanması ve agronomik özellikleri çok iyi olan bitkilere klonlanan genlerin transferini içermektedir (Agrios, 2005).

Bitkilerin kendilerini patojenlerden nasıl koruduklarını anlamak, mevcut gıda tedariğimizi korumak ve hastalıklara dayanıklı bitki türleri geliştirmek için çok önemlidir (Freeman ve Beattie, 2008). Hastalıklara karşı bitkilerdeki dayanıklılık stratejileri, çevreye kimyasal girdiyi azalttıkları için sürdürülebilir tarıma yönelik çok güçlü yaklaşımlardır (Waller ve ark., 2005).

Bitkiler hayat döngüleri boyunca çeşitli hastalıklarla sonuçlanan biyotik ve abiyotik streslere maruz kalırlar (Gimenez-Ibanez ve Solano, 2013; Hakim Ullah ve ark., 2018).

Bitkiler istilacı organizmaları tespit etmek, kendilerini çevresel tehlikelere ve patojen saldırılarına karşı korumak ve önemli hasarlar oluşmadan önce onları durdurmak için tasarlanmış bir dizi yapısal, kimyasal ve protein tabanlı savunma sistemleri geliştirmişlerdir (Waller ve ark., 2005, Aslam ve ark., 2015, Kazan ve Lyons, 2014; Misra ve ark., 2016; Hakim Ullah ve ark., 2018).

Uzun yıllardan bu yana hastalıklı bitkilerdeki savunma mekanizmasında oksidatif enzimlerin ve metabolik ürünlerin rolü çalışılmaktadır. Ancak bu çalışmalar yeterli değildir. Bu nedenle bitki-bakteri interaksiyonları ile ilgili çalışmalar arttırılarak bakteriyel patojenlere karşı dayanıklı çeşitler geliştirmek için ön basamak oluşturulmalıdır.

Dünyada en fazla ekim alanı ve üretime sahip bitkisel ürün grubu bakliyatlardır. Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) ülkemizde ekim alanı bakımından nohut ve mercimekten sonra üçüncü sırada yer almaktadır.

Fasulye üretimini ve verimini olumsuz yönde etkileyen en önemli iki bakteriyel patojen *Pseudomonas savastonoi* pv. *phaseolicola* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*'nin neden olduğu fasulyede hale yanıklığı ve adi yaprak yanıklığı hastalıklarıdır. Bu hastalıklar fasulye üretimi yapılan tüm bölgelerde sorun olmakta, verim ve kaliteyi önemli oranda düşürmektedir. Bu iki hastalıkla mücadelede en etkili yöntemlerden biri dayanıklı çeşit kullanımıdır ve bu dayanıklılığı / hassasiyeti temel düzeyde anlamayı hedefleyen çalışmamızda, bu önemli iki bakteriyel patojene karşı bitkide meydana gelen PPO, CAT, APX, POX, SOD, PAL enzim aktiviteleri, prolin, protein miktarları ve bakteriyel patojenlerin bitki dokularındaki kolonizasyonu ve biyofilm oluşumunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızın sonuçlarına göre, POX enzim aktivitesi hiç uygulama yapılmamış kontrol bitkilerine kıyasla her iki fasulye çeşidinde de artış göstermiştir. Fakat en yüksek artış miktarı dayanıklı çeşit olan 36-K fasulye genotipinde *P. s.* pv. *phaseolicola*

inokulasyonu sonrası 36. saatte meydana gelirken, Aras-98 çeşidi için en yüksek artış 36-K fasulye genotipine kıyasla daha az miktarda olmakla birlikte 72. saatte meydana gelmiştir. PPO enzim aktivitesi her iki *P. s.*pv. *phaseolicola* ve *X. a.* pv. *phaseoli* bakteriyel inokulasyon sonrası 24. saatte 36-K fasulye genotipinde en yüksek enzim aktivitesi olarak belirlenmiştir. CAT enzim aktivitesi için en yüksek artış Aras-98 çeşidine ve kontrol bitkilerine kıyasla 36-K fasulye genotipinde *P. s.*pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 72. saatte meydana gelmiştir. APX enzim aktivitesi için en yüksek artış *P. s.*pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 36. saatte 36-K fasulye genotipinde meydana gelmiştir. SOD enzim aktivitesi için en yüksek artış miktarı *X. a.* pv. *phaseoli* inokulasyonu sonrası 36. saatte Aras-98 çeşidinde, PAL enzim aktivitesi için en yüksek değer *P. s.*pv. *phaseolicola* inokulasyonu sonrası 36. saatte 36-K fasulye genotipinde meydana gelmiştir.

Prolin miktarı her iki çeşit için de artış ve azalış göstermiş olup, en yüksek prolin birikimi 36-K genotipinde tespit edilmiştir. Çözünebilir Toplam Protein miktarı Aras-98 çeşidi için 24. ve 36. saatlerde artış gösterirken, 36-K genotipinde azalma göstermiştir. SEM analizi sonuçlarına göre her iki bakteriyel patojen de Aras-98 fasulye çeşidinde daha hızlı kolonize olmuş ve biyofilm oluşturmuştur.

PPO, POX, CAT, PAL enzim aktivitesi ve prolin birikimi her iki Aras-98 çeşidi 36-K genotipi için savunma sisteminde patojen inokulasyonu sonrası aktif hale gelmiş ancak 36-K genotipinde Aras-98'e göre enzim aktivasyonu daha erken başlatılmış ve daha yüksek miktarda enzim aktivitesi saptanmakla birlikte Aras-98 fasulye çeşidinde yetersiz kalmıştır. Prolin birikimi ise en yüksek miktarı 36-K fasulye genotipinde sergilemiştir. APX enzimi Aras-98 çeşidinde kontrol gruplarına göre düşük miktarda sentezlenmiş olup dayanıklılıkta yer almamış, 36-K genotipinde ise dayanıklılığa katılmıştır. Öte yandan enzim savunma sistemi içinde ilk basamağı teşkil eden SOD'lar 36-K genotipine kıyasla Aras-98 çeşidinde daha aktif olduğu tespit edilmiştir.

İncelenen tüm enzimler değerlendirildiğinde genel olarak dayanıklı çeşit olan 36-K fasulye genotipinde patojen inokulasyonu sonrası enzim aktivitesi hassas çeşide göre daha erken aktivasyon sağlamış ve miktar bakımından daha yüksek bir aktivite sergilemiştir. Bu durum genel enzimlerin antioksidatif yoldan farklı mekanizmalarla 36-K fasulye genotipinin savunma mekanizmasında çalıştığını, Aras-98 fasulye çeşidinde ise yetersiz kaldığını göstermektedir. Bitki-bakteri arasındaki moleküler ilişki fasulye çeşitlerinde meydana gelen enzimler, prolin, total protein gibi dayanıklılık reaksiyonları

açısından incelenmiş ve sonuçlar 36-K'nın *P. s*.pv. *phaseolicola* bakteriyel etmenine karşı dayanımının oldukça güçlü olduğunu ortaya koymuştur.

Dönmez (2004) tarafından yapılan doktora tezinde 36-K fasulye genotipinin *Pseudomonas savastonoi* pv. *phaseolicola* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*'ye karşı dayanıklılık sağladığından bahsedilmiştir. Tezimizde de 36-K fasulye genotipinin göstermiş olduğu reaksiyonların gerçek dayanıklılık mı yoksa zahiri dayanıklılık grubuna girip girmediği ana hipotezimiz olmuştur. Yürütülen tez çalışmamızda 36-K genotipinin fasulyede sorun olan en önemli iki bakteriyel patojen olan *Pseudomonas savastonoi* pv. *phaseolicola* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*'ye karşı dayanıklılık düzeyleri incelenmiş olan bu genotipin yapılan tüm araştırmalar sonucunda ıslah çalışmaları için genetik materyal olacağı düşüncesi oluşmuştur.

5.2. Öneriler

Gelecekte dünya nüfusunun artışına paralel olarak ekilebilir arazilerin azalması nedeniyle gittikçe artan gıda ihtiyacının karşılanması için tarımda sorun olan hastalık ve zararlılarla mücadele edilmesi zorunludur.

Hızla artan dünya nüfusunun yeterli ve dengeli beslenmesini sağlamak için tarımsal üretimin arttırılmasında biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklı, yüksek verimli ve kaliteli bitki çeşitlerinin geliştirilmesi önemli bir öncelik olmalıdır.

Her yıl firmalar binlerce kimyasalı piyasaya sürmektedir. Bu kimyasallar ruhsatlandırılırken maliyetli olduğundan toksikoloji testleri ve çevresel risk kontrolleri yeterli şekilde yapılmamaktadır. Çevreye, kültür bitkisine ve tüm canlılara verdiği toksik etkiler yanında çiftçi açısından üretimde kimyasalların girdisi için yapılan harcamalar oldukça yüksek miktarda olmakta ve hatta bazen çiftçi kazanç elde edememektedir. Bu nedenle hastalıklara dayanıklı bitki kullanımı uzun vadede etkin ve kesin çözüm olmakla birlikte ekonomik bir uygulama olarak ön plana çıkmaktadır.

Dünyada bakteriyel hastalıklara karşı etkin bir kimyasal ilacın bulunmadığı ayrıca kimyasalların çevreye ve canlılara verdiği zarar göz önünde bulundurulduğunda *Pseudomonas savastonoi* pv. *phaseolicola* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* patojenlerine dayanıklı fasulye çeşidi tespitinin ekonomik ve tarımın sürdürülebilirliği açısından büyük kazanç sağlayacağı düşünülmektedir. Şuan bu iki önemli hastalığa karşı dünyada kullanılan en etkili yöntem bakırlı preparat ve antibiyotik kullanımıdır. Ancak olması gereken en önemli mücadele yöntemi konukçu dayanıklılığıdır.

Agronomik ve özellikleri yüksek olan çeşit ya da genotipler biyotik ve abiyotik strese dayanıklı çeşit ve genotiplerle ıslahı önemli olacaktır. Bu nedenle dayanıklılık mekanizmaları ele alınarak incelenmeli yeni yaklaşımlarla çevre dostu mücadele teknikleri geliştirilmelidir.

Bitkilerin stres faktörlerine karşı gösterdiği dayanıklılık reaksiyonlarında bitkinin türü, stres faktörü, maruz kalma süresi ve bitkinin doku veya organın yapısı etkilidir. Bitkilerin bakteriyel patojenlere karşı hangi tepkileri verdiği ve hangi mekanizmaların etkilendiğini belirlemek oldukça önemlidir.

Bitki savunma sistemleri içerisinde önemli bir yere sahip olan enzim aktivitelerinin belirlenmesi, hastalığa karşı dayanıklılığın daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

Pseudomonas savastonoi pv. *phaseolicola* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* bakteriyel patojenlerin neden olduğu hale yanıklığı ve adi yaprak yanıklığı hastalıklarına dayanıklı ve aynı zamanda kaliteli fasulye çeşitlerinin geliştirilmesi; ülke ekonomisine yüksek katma değer sağlayacak, çiftçi açısından kimyasal girdiği azaltacak, çevre ve insan sağlığı üzerine yararı da büyük olacaktır.

Bitkilerin hastalık etmenlerine karşı toleransları ya da hassasiyeti bitki türüne, strese maruz kalma süresine ve strese maruz kalan doku veya organın yapısına bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle patojenlerin, meydana getirdiği zarar, bu zararla birlikte ortaya çıkan fizyolojik değişimlerin bilinmesi bitkilerin gelişimi ve canlılığı açısından oldukça önemlidir. Ayrıca bitkilerde patojenlere karşı savunma sisteminin açıklığa kavuşması fasulye bitkisinde ekonomik kayıplara neden olan bakteriyel hastalık etmenleri ile mücadelede, serbest radikallerin oluşumuna neden olan kimyasallar dışında yeni yöntemlerin geliştirilmesi ve denenmesi için bir kaynak oluşturacaktır.

Hastalıklara dayanıklı bitkilerin elde edilmesinde bitki savunma mekanizmalarından yararlanılarak elde edilen bulgular biyoteknoloji alanındaki gelişmeler ışığında bitki ıslahı amaçlı gen aktarımı çalışmaları, melezleme ve seleksiyon yöntemleri ile yapılan ıslah yöntemi çalışmalarında kullanılarak patojenlere dayanıklı bitki üretimi çalışmaları arttırılmalıdır.

Türkiye gibi zengin gen kaynaklarına sahip ve polikültür tarım yapılan ülkelerde, bitki bakteri hastalıkları alanında öncelikli biyoteknolojik ve ileri moleküler tekniklerin geliştirilmesi için yeterli altyapı oluşturulmalı ve yetkin araştırmacılar yetiştirilmeli, böylelikle sahip olunan genetik potansiyelin en iyi şekilde değerlendirilmesi ve korunması sağlanmalıdır.

Yapılan tüm araştırmalar ışığında, enzimatik reaksiyonlar hastalıklara karşı bitki direnci üzerinde önemli role sahiptirler ve hastalıklarla mücadele konusunda yapılacak çalışmalara konukçu-patojen interaksiyonları açısından ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

Acar, O., Türkan, I. ve Özdemir, F., 2001, Superoxide dismutase and peroxidase activities in drought sensitive and resistant barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties, *Acta Physiologiae Plantarum*, 23 (3), 351-356.

Açıkgöz, S., 1984, Erzincan ve Erzurum yörelerinde *Phaseolus vulgaris* üzerinde virüslerin tanılanması, yayılışları ve zararları üzerinde araştırmalar, Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi*, Erzurum, 75.

Adam, A., Bestwick, C., Barna, B. ve Mansfield, J., 1995, Enzymes regulating the accumulation of active oxygen species during the hypersensitive reaction of bean to *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, *Planta*, 197 (2), 240-249.

Adams, J. B., 1978, The inactivation and regeneration of peroxidase in relation to the high temperature–short time processing of vegetables, *International Journal of Food Science & Technology*, 13(4), 281-297.

Aebi, H., 1984, Catalase in vitro, In: Methods in enzymology, *Eds: Elsevier*, 121-126.

Aggarwal, M., Sharma, S., Kaur, N., Pathania, D., Bhandhari, K., Kaushal, N., Kaur, R., Singh, K., Srivastava, A. ve Nayyar, H., 2011, Exogenous proline application reduces phytotoxic effects of selenium by minimising oxidative stress and improves growth in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings, *Biological trace element research*, 140 (3), 354-367.

Agostini, E., de Forchetti, S. M. ve Tigier, H. A., 1997, Production of peroxidases by hairy roots of *Brassica napus*, *Plant cell, tissue and organ culture*, 47(2), 177-182.

Agrios, G., 2005, Plant pathology 5th Edition: Elsevier Academic Press, *Burlington, Ma. USA*, 79-103.

Akoğlu, A., 2013, Bazı taze fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotiplerinin bor uygulamalarına tepkileri, Yüksek Lisans Tezi, *ESOGÜ Fen Bilimleri Enstitüsü*, Eskişehir,144.

Al-Karaki, G., Al-Karaki, R. ve Al-Karaki, C., 1996, Phosphorus nutrition and water stress effects on proline accumulation in sorghum and bean, *Journal of Plant Physiology*, 148 (6), 745-751.

Aloni, B. ve Rosenshtein, G., 1984, Proline accumulation: A parameter for evaluation of sensitivity of tomato varieties to drought stress, *Physiologia Plantarum*, 61(2), 231-235.

Anonim, 2008, Zirai Mücadele Teknik Talimatları, *Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü*, 3, 332.

Anonim, 2016, FAO- Faostat Statistics Division, http://www.fao.org/faostat/en/#data, (Erişim tarihi: 28.03.2019).

Arnaudsantana, E., Penamatos, E., Coyne, D. P. ve Vidaver, A. K., 1991, Longevity of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* in Naturally Infested Dry Bean (*Phaseolus vulgaris*) Debris, *Plant Disease*, 75 (9), 952-953.

Arnold, D. L., Lovell, H. C., Jackson, R. W. ve Mansfield, J. W., 2011, *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*: from 'has bean' to supermodel, *Molecular Plant Pathology*, 12 (7), 617-627.

Arora, Y. ve Bajaj, K., 1985, Peroxidase and Polyphenol oxidase associated with, induced resistance of Mung bean to *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Journal of Phytopathology*, 114 (4), 325-331.

Asada, K., 1992a, Production and scavenging of active oxygen in chloroplasts, *Molecular biology of free radical scavenging systems*, 173-192.

Asada, K., 1992b, Ascorbate peroxidase–a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants, *Physiologia Plantarum*, 85 (2), 235-241.

Asada, K., 2006, Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions, *Plant physiology*, 141 (2), 391-396.

Assady, M., Farahnak, A., Golestani, A. ve Esharghian, M. R., 2011, Superoxide dismutase (SOD) enzyme activity assay in Fasciola spp. parasites and liver tissue extract, *Iranian Journal of Parasitology*, 6(4), 17.

Ashraf, M. ve Foolad, M., 2007, Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance, *Environmental and experimental botany*, 59 (2), 206-216.

Aslam, M. M., Ali, S. M., Fatehmulla, A., Farooq, W. A., Atif, M., Al-Dhafiri, A. M. ve Shar, M. A., 2015, Growth and characterization of layer by layer CdS-ZnS QDs on dandelion like TiO2 microspheres for QDSSC application, *Materials Science in Semiconductor Processing*, 36, 57-64.

Asthir, B., Koundal, A., Bains, N. ve Mann, S., 2010, Stimulation of antioxidative enzymes and polyamines during stripe rust disease of wheat, *Biologia Plantarum*, 54 (2), 329-333.

Avdiushko, S., Ye, X. ve Kuc, J., 1993, Detection of several enzymatic activities in leaf prints of cucumber plants, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 42 (6), 441-454.

Ayaz, F., Demir, O., Torun, H., Kolcuoglu, Y. ve Colak, A., 2008, Characterization of polyphenoloxidase (PPO) and total phenolic contents in medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit during ripening and over ripening, *Food Chemistry*, 106 (1), 291-298.

Aydemir, M., 2008, Zirai Mücadele Teknik Talimatları, *Ankara. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı*, 39-47.

Ayoubi, N. ve Soleimani, M. J., 2015, Possible effects of pathogen inoculation and salicylic acid pre-treatment on the biochemical changes and proline accumulation in green bean, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 48 (3), 212-222.

Babagil, G. E., Tozlu, E. ve Dizikısa, T., 2011, Erzincan ve Hınıs ekolojik koşullarında yetiştirilen bazı kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotiplerinin verim ve verim unsurlarının belirlenmesi, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 42 (1), 11-17.

Bailey-Serres, J. ve Mittler, R., 2006, The roles of reactive oxygen species in plant cells, *Plant Physiology*, 141 (2), 311-311.

Bartonek-Roxå, E., Eriksson, H. ve Mattiasson, B., 1991, The cDNA sequence of a neutral horseradish peroxidase, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 1088(2), 245-250.

Baron, C. ve Zambryski, P. C., 1995, The plant response in pathogenesis, symbiosis, and wounding: variations on a common theme?, *Annual Review of Genetics*, 29(1), 107-129.

Bashan, Y., Okon, Y. ve Henis, Y., 1987, Peroxidase, polyphenoloxidase, and phenols in relation to resistance against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in tomato plants, *Canadian Journal of Botany*, 65 (2), 366-372.

Bassler, B. L. ve Losick, R., 2006, Bacterially speaking, *Cell*, 125 (2), 237-246.

Bastas, K. K. ve Kannan, V. R., 2015, 2 Pathogenesis of Plant Pathogenic Bacteria, *Sustainable Approaches to Controlling Plant Pathogenic Bacteria*, 17.

Bastas, K. K. ve Sahin, F., 2017, Evaluation of seedborne bacterial pathogens on common bean cultivars grown in central Anatolia region, Turkey, *European Journal of Plant Pathology*, 147 (2), 239-253.

Bates, L. S., Waldren, R. P. ve Teare, I., 1973, Rapid determination of free proline for water-stress studies, *Plant and soil*, 39 (1), 205-207.

Baykal, Ş. ve Öncel, I., 2006, Buğday fidelerinin bor toksisitesine toleransında çözünür fenolik ve çözünür protein miktarındaki değişmeler, *Fen Bilimleri Dergisi*, 27(1), 13.

Baysal, Ö., Soylu, E. M., ve Soylu, S., 2003, Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*, *Plant pathology*, 52(6), 747-753.

Beckman, C. H. ve Roberts, E. M., 1995, On the nature and genetic basis for resistance and tolerance to fungal wilt diseases of plants, *In Advances in Botanical Research*, 21, 35-77.

Beebe, S., Skroch, P. W., Tohme, J., Duque, M., Pedraza, F. ve Nienhuis, J., 2000, Structure of genetic diversity among common bean landraces of Middle American origin based on correspondence analysis of RAPD, *Crop Science*, 40 (1), 264-273.

Ben Khaled, L., Pérez-Gilabert, M., Morte, A., Dreyer, B., Oihabi, A., Honrubia, M., 2002, Peroxidase study in date palm inoculated with *Trichoderma horzianumand* arbuscular mycorrhızal fungus *Glomus mosseae*, *Plant Peroxidases*, 267-270.

Benchimol, L. L., de Campos, T., Carbonell, S. A. M., Colombo, C. A., Chioratto, A. F., Formighieri, E. F., Gouvea, L. R. L. ve de Souza, A. P., 2007, Structure of genetic diversity among common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties of mesoamerican and andean origins using new developed microsatellite markers, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54 (8), 1861-1861.

Bender, C. L., Alarcon-Chaidez, F. ve Gross, D. C., 1999, *Pseudomonas syringae* phytotoxins: Mode of action, regulation, and biosynthesis by peptide and polyketide synthetases, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63 (2), 266.

Benlioglu, K., Ozakman, M. ve Onceler, Z., 1994, Bacterial blight of beans in Turkey and resistance to halo blight and common blight, *9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*, 547-550.

Bernal-Vicente, A., Pascual, J. A., Tittarelli, F., Hernández, J. A. ve Diaz-Vivancos, P., 2015, *Trichoderma harzianum* T-78 supplementation of compost stimulates the antioxidant defence system in melon plants, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95 (11), 2208-2214.

Blokhina, O., Virolainen, E. ve Fagerstedt, K. V., 2003, Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review, *Annals of botany*, 91(2), 179-194.

Boersma, J. G., Hou, A., Gillard, C. L., McRae, K. B. ve Conner, R. L., 2015, Impact of common bacterial blight on the yield, seed weight and seed discoloration of different market classes of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.), *Canadian journal of plant science*, 95(4), 703-710.

Bor, M., Özdemir, F. ve Türkan, I., 2003, The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L, *Plant Science*, 164 (1), 77-84.

Bowler, C., Montagu, M. v. ve Inze, D., 1992, Superoxide dismutase and stress tolerance, *Annual review of plant biology*, 43 (1), 83-116.

Bozkurt, İ. ve Soylu, S., 2001, Farklı Fasulye Çeşitlerinin Fasulye Hale Yanıklığı Etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* Irklarına Karşı Gösterdiği Reaksiyonların Belirlenmesi, *Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, Tekirdağ*, 506-515.

Bozkurt, İ. A., 2009, Fasulye Bakteriyel Yanıklık Hastalığına (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) Karşı Antogonist Bakterilerle Mücadele Olanakları, Doktora Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, 171.

Bradbury, J., 1984, Genus II Xanthomonas Dowson, *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 1, 187.

Bradbury, J. F., 1986, Guide to plant pathogenic bacteria, *CAB international*, 332.

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 (1-2), 248-254.

Broughton, W. J., Hernandez, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P. ve Vanderleyden, J., 2003, Beans (*Phaseolus* spp.) - model food legumes, *Plant and Soil*, 252 (1), 55-128.

Büyük, İ., Soydam-Aydın, S. ve Aras, S., 2012, Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar, *Turkish Bulletin of Hygiene & Experimental Biology/Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji*, 69(2).

Carvalho, A. d. O., Da Cunha, M., Rodrigues, R., Sudré, C. P., Santos, I. S., Fernandes, K. V., Rabelo, G. R. ve Gomes, V. M., 2011, Ultrastructural changes during early infection of *Vigna unguiculata* and *Phaseolus vulgaris* leaves by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* and an unexpected association between chloroplast and mitochondrion, *Acta Physiologiae Plantarum*, 33 (5), 2025-2033.

Cavalcanti, F. R., Resende, M. L. V., Lima, J. P. M. S., Silveira, J. A. G. ve Oliveira, J. T. A., 2006, Activities of antioxidant enzymes and photosynthetic responses in tomato pre-treated by plant activators and inoculated by *Xanthomonas vesicatoria*, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 68 (4-6), 198-208.

Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S. B., Ribeiro, C. W., Lazzarotto, F. ve Margis-Pinheiro, M., 2012, Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection, *Genetics and molecular biology*, 35 (4), 1011-1019.

Cecchini, N. M., Monteoliva, M. I. ve Alvarez, M. E., 2011, Proline dehydrogenase contributes to pathogen defense in Arabidopsis, *Plant physiology*, 155 (4), 1947-1959.

Chacon, M. I., Pickersgill, B. ve Debouck, D. G., 2005, Domestication patterns in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the origin of the Mesoamerican and Andean cultivated races, *Theoretical and Applied Genetics*, 110 (3), 432-444.

Chandrashekar, S. ve Umesha, S., 2012, Induction of antioxidant enzymes associated with bacterial spot pathogenesis in tomato, *Int. J. Food Agric. Vet. Sci*, 2, 22-34.

Chandrashekar, S. ve Umesha, S., 2014, 2, 6-Dichloroisonicotinic acid enhances the expression of defense genes in tomato seedlings against *Xanthomonas perforans*, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 86, 49-56.

Chen, Y., He, Y., Luo, Y., Yu, Y., Lin, Q. ve Wong, M., 2003, Physiological mechanism of plant roots exposed to cadmium, *Chemosphere*, 50 (6), 789-793.

Chiorato, A. F., Carbonell, S. A. M., Benchimol, L. L., Chiavegato, M. B., Dias, L. A. d. S. ve Colombo, C. A., 2007, Genetic diversity in common bean accessions

evaluated by means of morpho-agronomical and RAPD data, *Scientia Agricola*, 64 (3), 256-262.

Chittoor, J. M., Leach, J. E. ve White, F. F., 1999, Induction of peroxidase during defense against pathogens, *Pathogenesis-related proteins in plants*, 171-193.

Choudhary, N., Sairam, R. ve Tyagi, A., 2005, Expression of Δ^1-pyrroline-5-carboxylate synthetase gene during drought in rice (*Oryza sativa* L.), CSIR, 42(6), 366-370.

Chunhua, S., Ya, D., Bingle, X., Xiao, L., Yonshu, X. ve Qinguang, L., 2001, The purification and spectral properties of PPO I from *Nicotiana tababcum*, *Plant Mol Biol*, 19, 301-314.

Croteau, R., Kutchan, T. M. ve Lewis, N. G., 2000, Natural products (secondary metabolites), *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, 24, 1250-1319.

Constabel, C. P., Bergey, D. R. ve Ryan, C. A., 1995, Systemin activates synthesis of wound-inducible tomato leaf polyphenol oxidase via the octadecanoid defense signaling pathway, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(2), 407-411.

Constabel, C. P. ve Barbehenn, R., 2008, Defensive roles of polyphenol oxidase in plants, In: Induced plant resistance to herbivory, *Eds: Springer*, 253-270.

Coyne, D. ve Schuster, M., 1974, Differential reaction of pods and foliage of beans (*Phaseolus vulgaris*) to *Xanthomonas phaseoli*, *Plant Disease Reporter*, 58 (3), 278-282.

Çakmak, İ., Strbac, D. ve Marschner, H., 1993, Activities of hydrogen peroxide-scavenging enzymes in germinating wheat seeds, *Journal of Experimental Botany*, 44 (1), 127-132.

Çanakçı, S. ve Munzuroğlu, Ö., 2004, Fasulye *Phaseolus vulgaris* L. Çeliklerinde Ağırlık Değişimleri, Pigment ve Protein Miktarları Üzerine Asetilsalisilik Asit ve Tuz NaCl Uygulamasının Karşılıklı Etkileri, *Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 24 (1).

Çetin, Ş. ve Baştaş, K. K., 2014, Determination of Quantities of Host Protein after Infection with *Erwinia amylovora* of Apple, Pear And Quince Cultivars, *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 3 (3), 154-163.

Çepni F. E.,2014, Bakteriyel Quorum-Sensıng İnhibitörlerinin Araştırılması ve Biyokimyasal Olarak Tanımlanması, Doktora Tezi, *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*,İstanbul, 113.

Çördük, N., Akıncı, N., Kaya, N., Yücel, G. ve Akı, C., 2016, Effects of dodine on total protein content and peroxidase activity in *Vicia faba* L., *Sakarya University Journal of Science*, 20(3), 627-633.

Dangl, J. L. ve Jones, J. D., 2001, Plant pathogens and integrated defence responses to infection, *nature*, 411 (6839), 826.

Darrasse, A., Bureau, C., Samson, R., Morris, C. E. ve Jacques, M. A., 2007, Contamination of bean seeds by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* associated with low bacterial densities in the phyllosphere under field and greenhouse conditions, *European Journal of Plant Pathology*, 119 (2), 203-215.

Davar, R., Darvishzadeh, R. ve Majd, A., 2013, Changes in antioxidant systems in sunflower partial resistant and susceptible lines as affected by Sclerotinia sclerotiorum, *Biologia*, 68 (5), 821-829.

de Freitas, M. B. ve Stadnik, M. J., 2012, Race-specific and ulvan-induced defense responses in bean (*Phaseolus vulgaris*) against *Colletotrichum lindemuthianum*, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 78, 8-13.

Debona, D., Rodrigues, F., Rios, J., Nascimento, K. ve Silva, L., 2014, The effect of silicon on antioxidant metabolism of wheat leaves infected by *Pyricularia oryzae*, *Plant Pathology*, 63 (3), 581-589.

Deep, A., Chaudhary, U. ve Gupta, V., 2011, Quorum sensing and bacterial pathogenicity: from molecules to disease, *J Lab Physicians*, 3(1): 4-11.

Delauney, A. J. ve Verma, D. P. S., 1993, Proline biosynthesis and osmoregulation in plants, *The Plant Journal*, 4 (2), 215-223.

Demir, G. ve Gündogdu, M., 1994, Bacterial diseases of food legumes in Aegean region of Turkey and effectivity of some seed treatments against bean halo blight, Journal of Turkish Phytopathology, 23 (2), 57-66.

Demir, Y. ve Kocaçalişkan, İ., 2001, Effects of NaCl and proline on polyphenol oxidase activity in bean seedlings, *Biologia Plantarum*, 44 (4), 607-609.

Demir, Y. ve Kocaçalişkan, I., 2002, Effect of NaCl and proline on bean seedlings cultured in vitro, *Biologia Plantarum*, 45 (4), 597-599.

Demiral, T. ve Türkan, I., 2004, Does exogenous glycinebetaine affect antioxidative system of rice seedlings under NaCl treatment, *Journal of Plant Physiology*, 161 (10), 1089-1100.

Demirtaş, Ö., 2011, Bor Kirliliğinin *Phaseolus vulgaris* L. Üzerindeki Etkilerinin Fizyolojik Ve Biyokimyasal Analizlerle İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Fatih Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, 61.

Dicko, M. H., Gruppen, H., Traoré, A. S., Voragen, A. G. ve van Berkel, W. J., 2006, Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use, *Biotechnology and Molecular Biology Review*, 1 (1), 20-37.

Diggle, S. P., Crusz, S. A. ve Cámara, M., 2007, Quorum sensing, *Current Biology*, 17 (21), 907-910.

Dikilitas, M. ve Karakas, S., 2012, Behaviour of plant pathogens for crops under stress during the determination of physiological, biochemical, and molecular approaches for salt stress tolerance, *In Crop Production for Agricultural Improvement*, 417-441.

Dildey, O. D. F., 2017, Indução de resistência a antracnose do feijoeiro por frações de filtrato de cultura e extrato de micélio de *Trichoderma longibrachiatum, Unıversıdade Estadual do Oeste do Paraná*, 101.

Doğan, M. ve Avu, A., 2013, Kuraklık Stresine Karşı Borun Antioksidant Enzimlere Etkisi, *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*,14(1),94-103.

Donlan, R. M., 2001, Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process, *Clinical Infectious Diseases*, 33 (8), 1387-1392.

Donmez, M. F., Sahin, F. ve Elkoca, E., 2013, Identification of bean genotypes from Turkey resistance to common bacterial blight and halo blight diseases, *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 12 (4), 139-151.

Dönmez, M., 2004, Erzurum ve Erzincan illerinde fasulye bitkisinde, (*Phaseolus vulgaris*) görülen bakteriyel hastalık etmenlerinin tanılanması ve *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola ve Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli'*ye karşı çeşitli fasulye genotip ve çeşitlerin dayanıklılıklarının belirlenmesi, Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,* Erzurum, 305.

Dölek, B., 2001, Tuz stresinin *Phaseolus vulgaris* L.'in çimlenmesi ve gelişmesi üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, 45.

Duncan, R. W., Gilbertson, R. L., Lema, M. ve Singh, S. P., 2014, Inheritance of resistance to the widely distributed race 6 of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in common bean pinto US14HBR6, *Canadian Journal of Plant Science*, 94 (5), 923-928.

Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O. ve Gürbüz, F., 1987, Araştırma ve deneme metodları (İstatistik Metodları-II), *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, 1021, 295.

Elkoca, E. ve Çinar, T., 2015, The adaptation, agronomical and quality characteristcs of some dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars and lines under Erzurum ecological conditions, *Anadolu Tarim Bilimleri Dergisi*, 30 (2), 141.

Erkılıç, E. G., 2005, Tuz stresi altındaki biber (*Capsicum annuum* L.) fidelerinde salisilik asitin prolin birikimi ve bazı fizyolojik özelliklere etkisi, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 132.

Eroğlu, İ., 2007, Tuz stresine bazı fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) kültür çeşitlerinde tohum çimlenmesi ve fide gelişimi üzerine etkileri, Yüksek lisans tezi, *Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,* Bornova-İzmir, 91.

Espín, J. C., Morales, M., Varón, R., Tudela, J. ve Garciacanovas, F., 1995, A continuous spectrophotometric method for determining the monophenolase and diphenolase activities of apple polyphenol oxidase, *Analytical biochemistry*, 231 (1), 237-246.

Fabro, G., Kovács, I., Pavet, V., Szabados, L. ve Alvarez, M. E., 2004, Proline accumulation and AtP5CS2 gene activation are induced by plant-pathogen

incompatible interactions in Arabidopsis, *Molecular plant-microbe interactions*, 17 (4), 343-350.

Fang, F., Wang, W., Zhang, D., Lv, Y., Zhou, D., Ma, L., Shen, B., Sun, Y. ve Zhu, C., 2015, The cuticle proteins: a putative role for deltamethrin resistance in Culex pipiens pallens, *Parasitology research*, 114(12), 4421-4429.

Faillace, G. R., Santarém, E. R. ve Astarita, L. V., 2019, Extract of X*anthomonas axonopodis* induces resistance in *Solanum tuberosum* against *Pectobacterium atrosepticum*, *Biological Control*,134, 53-62.

Farahani, A. S. ve Taghavi, M., 2016, Changes of antioxidant enzymes of mung bean [*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek] in response to host and non-host bacterial pathogens, *Journal of plant protection research*, 56 (1), 95-99.

Farahani, A. S., Taghavi, S. M., ve Afsharifar, A., 2016, Induction of superoxide dismutase, malate dehydrogenase and phenylalanine ammonia-lyase during enhancing resistance of common bean against *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* by exogenous salicylic aci, *Journal of Plant Diseases and Protection*, 123(2), 83-87.

Farhangi-Abriz, S. ve Torabian, S., 2017, Antioxidant enzyme and osmotic adjustment changes in bean seedlings as affected by biochar under salt stress, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 137, 64-70.

Ferguson, W., Lyall, L. H. ve Jasmin, J. J., 1955, Breeding work with beans, *Rev. Appl. Micol, 35*, 421.

Ferreira, C. F., Pereira, M. G., Dos Santos, A. D. S., Rodrigues, R., Bressan-Smith, R. E., PioViana, A. ve Daher, R. F., 2003, Resistance to common bacterial blight in Phaseolus vulgaris L. recombinant inbred lines under natural infection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, *Euphytica*, 134 (1), 43-46.

Ferreira, C. F., Pereira, M. G., Santos, A., Rodrigues, R., Bressan-Smith, R. E., Viana, A. ve Daher, R. F., 2004, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) recombinant inbred lines, *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 4 (2), 100-104.

Fett, W. F., 2000, Naturally occurring biofilms on alfalfa and other types of sprouts, *Journal of food protection*, 63 (5), 625-632.

Freeman, B. C. ve Beattie, G. A., 2008, An overview of plant defenses against pathogens and herbivores, *The Plant Health Instructor*, 94, 12.

Fukasawa-Akada, T., Kung, S.D. ve Watson, J. C., 1996, Phenylalanine ammonia-lyase gene structure, expression, and evolution in Nicotiana, *Plant molecular biology*, 30 (4), 711-722.

Gailīte, A., Samsone, I., ve Ievinsh, G., 2005, Ethylene is involved in Trichoderma-induced resistance of bean plants against *Pseudomonas syringae*, *Acta Universitatis Latviensis*, 691, 59-70.

Galeazzi, M. A., Sgarbieri, V. C. ve Constantinides, S. M., 1981, Isolation, purification and physicochemical characterization of polyphenoloxidases (PPO) from a dwarf variety of banana (*Musa cavendishii* L), *Journal of Food Science*, 46 (1), 150-155.

Geçit, H., Çiftçi, C., Emeklier, Y., İkincikarakaya, S., Adak, M., Kolsarıcı, Ö., Ekiz, H., Altınok, S., Sancak, C. ve Sevimay, C., 2009, Tarla bitkileri, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları,* 1569.

Gepts, P. ve Debouck, D., 1991, Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *Common beans: research for crop improvement*, 7, 53.

Gerçeker, F., 2013, Bakteri-Epitel Hücre İlişkisinin Işık ve Scannıng (Taramalı) Elektron Mikroskobu İle İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,* Ankara, 95.

Ghanbari, A. A., Mousavi, S. H., Gorji, A. M. ve Rao, I., 2013, Effects of water stress on leaves and seeds of bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *Turkish Journal of Field Crops*, 18 (1), 73-77.

Giannopolitis, C. N. ve Ries, S. K., 1977, Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants, *Plant physiology*, 59 (2), 309-314.

Gieseg, S., Duggan, S. ve Gebicki, J. M., 2000, Peroxidation of proteins before lipids in U937 cells exposed to peroxyl radicals, *Biochemical Journal*, 350(1), 215-218.

Gilbertson, R. ve Maxwell, D., 1992, Common bacterial blight of bean, *Common bacterial blight of bean.*, 18-39.

Gimenez-Ibanez, S. ve Solano, R., 2013, Nuclear jasmonate and salicylate signaling and crosstalk in defense against pathogens, *Frontiers in Plant Science*, 4.

Golubenko, Z., Akhunov, A., Khashimova, N., Beresneva, Y., Mustakimova, E., Ibragimov, F. ve Stipanovic, R., 2007, Induction of peroxidase as a disease resistance response in resistant (*Hibiscus trionum*) and susceptible (*Althea armeniaca*) species in the family Malvaceae, *Phytoparasitica*, 35(4), 401-413.

Goodwin, P., Sopher, C. ve Michaels, T. E., 1995, Multiplication of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and intercellular enzyme activities in resistant and susceptible beans, *Journal of Phytopathology*, 143 (1), 11-15.

Govrin, E. M. ve Levine, A., 2000, The hypersensitive response facilitates plant infection by the necrotrophic pathogen *Botrytis cinerea*, *Current biology*, 10 (13), 751-757.

Gutsche, A., Heng-Moss, T., Sarath, G., Twigg, P., Xia, Y., Lu, G. ve Mornhinweg, D., 2009, Gene expression profiling of tolerant barley in response to *Diuraphis noxia* (Hemiptera: Aphididae) feeding, *Bulletin of Entomological Research*, 99(2), 163-173.

Gür, A., Demirel, U., Özden, M., Kahraman, A. ve Çopur, O., 2010, Diurnal gradual heat stress affects antioxidant enzymes, proline accumulation and some

physiological components in cotton (*Gossypium hirsutum* L.), *African Journal of Biotechnology*, 9 (7), 1008-1015.

Gürel, F. ve Şerbetçi, T., 2009, *Pseudomonas syrıngae* pv. *savastanoı*'de "Quorum-Sensıng"den Sorumlu N-(3-Okzo-Hekzanoıl)-L-Homoserın Lakton (OHHL) Üretimi, *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 39, 58-61.

Güven, K., Jones, J., Momol, M. ve Dickstein, E., 2004, Phenotypic and genetic diversity among *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, *Journal of Phytopathology*, 152 (11-12), 658-666.

Hagedorn, D. J. ve Inglis, D., 1986, Handbook of bean diseases, *Publication-University of Wisconsin, Cooperative Extension Service*, 25.

Hakim, Ullah, A., Hussain, A., Shaban, M., Khan, A. H., Alariqi, M., Gul, S., Jun, Z., Lin, S., Li, J. Y., Jin, S. X. ve Munis, M. F. H., 2018, Osmotin: A plant defense tool against biotic and abiotic stresses, *Plant Physiology and Biochemistry*, 123, 149-159.

Hale, C. ve Taylor, J., 1973, Races of *Pseudomonas phaseolicola* causing halo blight of beans in New Zealand, *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 16 (1), 147-149.

Hall, R., 1994, Compendium of Bean Diseases (Edt), APS press, T*he American Phytopathological Society*, 73.

Hammerschmidt, R., Nuckles, E. ve Kuć, J., 1982, Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*, *Physiological Plant Pathology*, 20 (1), 73-82.

Hammerschmidt, R., 1999, Induced disease resistance: how do induced plants stop pathogens?, *Elsevier*, 2 (55), 77-84.

Hanson, A. D., Nelsen, C. E. ve Everson, E. H., 1977, Evaluation of Free Proline Accumulation as an Index of Drought Resistance Using Two Contrasting Barley Cultivars 1, *Crop Science*, 17(5), 720-726.

Hare, P. ve Cress, W., 1997, Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants, *Plant growth regulation*, 21 (2), 79-102.

Hariprasad, P. ve Umesha, S., 2007, Induction of systemic resistance in field grown tomato by PGPR against *Xanthomonas vesicatoria*–incitant of bacterial spot, *J. Mycol. Pl. Path*, 37, 460-463.

Haudecoeur, E., Planamente, S., Cirou, A., Tannieres, M., Shelp, B., Morera, S. ve Faure, D., 2009, Proline antagonizes GABA-induced quenching of quorum-sensing in *Agrobacterium tumefaciens*, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106 (34), 14587-14592.

Hayward, A., 1993, The hosts of Xanthomonas, In: Xanthomonas, *Eds: Springer*,1-119.

Hellmann, H., Funck, D., Rentsch, D. ve Frommer, W. B., 2000., Hypersensitivity of an Arabidopsis sugar signaling mutant toward exogenous proline application, *Plant Physiol*., 122, 357–367.

Hemm, M. R., Rider, S. D., Ogas, J., Murry, D. J. ve Chapple, C., 2004, Light induces phenylpropanoid metabolism in Arabidopsis roots, *The Plant Journal*, 38 (5), 765-778.

Heng-Moss, T., Sarath, G., Baxendale, F., Novak, D., Bose, S., Ni, X. ve Quisenberry, S., 2004, Characterization of oxidative enzyme changes in buffalograsses challenged by *Blissus occiduus*, *Journal of Economic Entomology*, 97(3), 1086-1095.

Hildebrand, D. F., Rodriguez, J. G., Brown, G. C., Luu, K. T. ve Volden, C. S., 1986, Peroxidative responses of leaves in two soybean genotypes injured by twospotted spider mites (Acari: Tetranychidae), *Journal of Economic Entomology*, 79(6), 1459-1465.

Hunter, P. J. ve Taylor, J. D., 2006, Patterns of interaction between isolates of three pathovars of *Pseudomonas syringae* and accessions of a range of host and nonhost legume species, *Plant Pathology*, 55 (1), 46-53.

Hu, C. A. A, Donald, S. P., Yu, J., Lin, W. W., Liu, Z., Steel, G., Valle, D. ve Phang, J. M., 2007, Overexpression of proline oxidase induces prolinedependent and mitochondria-mediated apoptosis, *Mol Cell Biochem*, 295, 85–92.

Jacques, M.-A., Josi, K., Darrasse, A. ve Samson, R., 2005, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* var. *fuscans* is aggregated in stable biofilm population sizes in the phyllosphere of field-grown beans, *Appl. Environ. Microbiol.*, 71 (4), 2008-2015.

Jebara, S., Jebara, M., Limam, F. ve Aouani, M. E., 2005, Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress, *Journal of Plant Physiology*, 162 (8), 929-936.

Jetiyanon, K., 2007, Defensive-related enzyme response in plants treated with a mixture of Bacillus strains (IN937a and IN937b) against different pathogens, *Biological Control*, 42 (2), 178-185.

Jiménez-Bremont, J., Becerra-Flora, A., Hernández-Lucero, E., Rodríguez-Kessler, M., Acosta-Gallegos, J. A. ve Ramírez-Pimentel, J., 2006, Proline accumulation in two bean cultivars under salt stress and the effect of polyamines and ornithine, *Biologia Plantarum*, 50 (4), 763-766.

Kabay, T. ve Şensoy, S., 2016, Kuraklık stresinin bazı fasulye genotiplerinde oluşturduğu enzim, klorofil ve iyon değişimleri, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 26 (3), 380-395.

Kahveci, E. ve Maden, S., 1994, Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* by bacteriophages, *Journal of Turkish Phytopathology*, 23, 79-85.

Kaplan, L., 1965, Archeology and domestication in American *Phaseolus* (beans), *Economic Botany*, 19 (4), 358-368.

Kaplan, L. ve Kaplan, L. N., 1988, Phaseolus in archaeology, In: Genetic resources of Phaseolus beans, *Eds: Springer*, 125-142.

Karabay, N. Ü., Türküsay, H., Akı, C., Tosun, N. ve Türkan, İ., 2003, Domatesin Bakteriyel Hastalıklarının Kontrolünde Bitki Aktivatörleri ve Bakterisidlerin Etkileri, *Anadolu, J. Of Aari*, 13 (2), 88-102.

Karacif, E., 2012, *Erwinia amylovora* enfeksiyonundan sonra elma ve armut çeşitlerindeki bazı antioksidatif enzim seviyelerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya, *73*.

Karataş, A., Büyükdinç, D. T., İpek, A., Yağcıoğlu, M., Sönmez, K. ve Ellialtıoğlu, Ş. Ş., 2017, Türkiye'de Fasulyede Yapılan Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 10 (1), 16-27.

Kavitha, R. ve Umesha, S., 2008, Regulation of defense-related enzymes associated with bacterial spot resistance in tomato, *Phytoparasitica*, 36 (2), 144.

Kawano, T., 2003, Roles of the reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction, *Plant cell reports*, 21 (9), 829-837.

Kaya, E. C., 2015, Yapraktan Bor Ve İndol Asetik Asit (İaa) Uygulamalarının Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Bitkisinin Gelişimi Ve Kimi Fizyolojik Özelliklerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 65.

Kazan, K. ve Lyons, R., 2014, Intervention of Phytohormone Pathways by Pathogen Effectors, *Plant Cell*, 26 (6), 2285-2309.

Keen, N., 1990, Gene-for-gene complementarity in plant-pathogen interactions, *Annual review of genetics*, 24 (1), 447-463.

Keshavarz-Tohid, V., Taheri, P., Taghavi, S. M. ve Tarighi, S., 2016, The role of nitric oxide in basal and induced resistance in relation with hydrogen peroxide and antioxidant enzymes, *Journal of Plant Physiology*, 199, 29-38.

Klement, Z. ve Goodman, R., 1967, The hypersensitive reaction to infection by bacterial plant pathogens, *Annual review of phytopathology*, 5 (1), 17-44.

Klement, Z., Rudolph, K. ve Sands, D., 1990, Methods in phytobacteriology, *Akademiai Kiado*, 99.

Klessig, D. F. ve Malamy, J., 1994, The salicylic acid signal in plants, *Plant Molecular Biology*, 26(5), 1439-1458.

Kobayasti, L., Souza, R. d. ve Santos, J. d., 1999, Avaliação de cultivares e linhagens de feijoeiro quanto à reação foliar e de vagens à *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* var. fuscans, *Ciência e Agrotecnologia, Lavras*, 23 (1), 40-47.

Koç, E. ve Üstün, A. S., 2008, Patojenlere Karşı Bitkilerde Savunma ve Antioksidanlar, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 24 (1), 82-100.

Koç, E., Üstün, A. ve Arıcı, Y. K., 2012, Biber (*Capsicum annuum* L.) Fidelerinde farklı çinko konsantrasyonlarının total protein, hidrojen peroksit içeriği ve peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi, *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 13(2), 205-212.

Konappa, N. M., Maria, M., Uzma, F., Krishnamurthy, S., Nayaka, S. C., Niranjana, S. R. ve Chowdappa, S., 2016, Lactic acid bacteria mediated induction of defense enzymes to enhance the resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt, *Scientia horticulturae*, 207, 183-192.

Kovaks, N., 1956, Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction, *nature*, 178, 703.

Kroll, J., Rawel, H. M. ve Seidelmann, N., 2000, Physicochemical properties and susceptibility to proteolytic digestion of myoglobin− phenol derivatives, *Journal of agricultural and food chemistry*, 48 (5), 1580-1587.

Kroll, J. ve Rawel, H. M., 2001, Reactions of plant phenols with myoglobin: influence of chemical structure of the phenolic compounds, *Journal of Food Science*, 66 (1), 48-58.

Kurabachew, H. ve Wydra, K., 2014, Induction of systemic resistance and defense-related enzymes after elicitation of resistance by rhizobacteria and silicon application against *Ralstonia solanacearum* in tomato (*Solanum lycopersicum*), *Crop Protection*, 57, 1-7.

Kwak, M. ve Gepts, P., 2009, Structure of genetic diversity in the two major gene pools of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae), *Theoretical and Applied Genetics*, 118 (5), 979-992.

Lalk, I. ve Dörffling, K., 1985, Hardening, abscisic acid, proline and freezing resistance in two winter wheat varieties, *Physiologia Plantarum*, 63 (3), 287-292.

Lehmann, S., Funck, D., Szabados, L. ve Rentsch, D., 2010, Proline metabolism and transport in plant development, *Amino acids*, 39 (4), 949-962.

Lee, I. R., Lui, E. Y., Chow, E. W., Arras, S. D., Morrow, C. A. ve Fraser, J. A., 2013, Reactive oxygen species homeostasis and virulence of the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans* requires an intact proline catabolism pathway, *Genetics*, 194 (2), 421-433.

Leite, M. E., Dos Santos, J. B., Ribeiro, P. M., de Souza, D. A., de Castro Lara, L. A. ve de Resende, M. L. V., 2014, Biochemical responses associated with common bean defence against *Sclerotinia sclerotiorum*, *European Journal of Plant Pathology*, 138 (2), 391-404.

Lelliot, R. ve Stead, D., 1987, Diagnostic procedures for bacterial plant diseases, *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants*,37-131.

Lelliott, R. A. ve Stead, D. E., 1987, Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants, *Blackwell Scientific Publications*, 216.

Li, L. ve Steffens, J. C., 2002, Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic tomato plants results in enhanced bacterial disease resistance, *Planta*, 215 (2), 239-247.

Lin, C. C. ve Kao, C. H., 1999, NaCl induced changes in ionically bound peroxidase activity in roots of rice seedlings, *Plant and soil*, 216 (1-2), 147.

Macháčcková, I., Hanišová, A. ve Krekule, J., 1989, Levels of ethylene, ACC, MACC, ABA and proline as indicators of cold hardening and frost resistance in winter wheat, *Physiologia Plantarum*, 76 (4), 603-607.

Magbanua, Z. V., De Moraes, C. M., Brooks, T., Williams, W. P. ve Luthe, D. S., 2007, Is catalase activity one of the factors associated with maize resistance to *Aspergillus flavus*, *Molecular plant-microbe interactions*, 20 (6), 697-706.

Maher, E. A., Bate, N. J., Ni, W., Elkind, Y., Dixon, R. A. ve Lamb, C. J., 1994, Increased disease susceptibility of transgenic tobacco plants with suppressed levels of preformed phenylpropanoid products, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(16), 7802-7806.

Malenčić, D., Vasić, D., Popović, M. ve Dević, D., 2004, Antioxidant systems in sunflower as affected by oxalic acid, *Biologia Plantarum*, 48 (2), 243-247.

Malenčić, D., Kiprovski, B., Popović, M., Prvulović, D., Miladinović, J. ve Djordjević, V., 2010, Changes in antioxidant systems in soybean as affected by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Plant Physiology and Biochemistry*, 48 (10-11), 903-908.

Malin, E., Roth, D. ve Belden, E., 1983, Indirect immunofluorescent staining for detection and identification of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* in naturally infected bean seed, *Plant Disease*, 67 (6), 645-647.

Malolepsza, U. ve Urbanek, H., 1994, Changes in peroxidase activity in bean suspension cultures after *B. cinerea* and elicitor treatment, *Journal of Phytopathology*, 141 (3), 314-322.

Mandal, S., Das, R. K. ve Mishra, S., 2011, Differential occurrence of oxidative burst and antioxidative mechanism in compatible and incompatible interactions of *Solanum lycopersicum* and *Ralstonia solanacearum*, *Plant Physiology and Biochemistry*, 49 (2), 117-123.

Mani, S., Van de Cotte, B., Van Montagu, M. ve Verbruggen, N., 2002, Altered levels of proline dehydrogenase cause hypersensitivity to proline and its analogs in Arabidopsis, *Plant physiology*, 128 (1), 73-83.

March, J. C. ve Bentley, W. E., 2004, Quorum sensing and bacterial cross-talk in biotechnology, *Curr Opin Biotech*, 15, 495-502.

Maringoni, A. C. ve Lauretti, R. L. B., 1999, Behavior of dry bean genotypes to *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, *Macrophomina phaseolina*, and *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*, *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34 (4), 535-542.

Marotti, I., Bonetti, A., Minelli, M., Catizone, P. ve Dinelli, G., 2007, Characterization of some Italian common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces by RAPD, semi-random and ISSR molecular markers, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54 (1), 175-188.

Marques, A. S. D. ve Samson, R., 2016, Population dynamics of *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* in bean, throughout the epiphytic and pathogenic phases, *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 51 (5), 623-630.

Mauch, F., Mauch-Mani, B. ve Boller, T., 1988, Antifungal hydrolases in pea tissue: II. Inhibition of fungal growth by combinations of chitinase and β-1, 3-glucanase, *Plant physiology*, 88 (3), 936-942.

McCallum, J. A. ve Walker, J. R., 1990, Phenolic biosynthesis during grain development in wheat: changes in phenylalanine ammonia-lyase activity and soluble phenolic content, *Journal of Cereal Science*, 11 (1), 35-49.

Mehdy, M. C., Sharma, Y. K., Sathasivan, K. ve Bays, N. W., 1996, The role of activated oxygen species in plant disease resistance, *Physiologia Plantarum*, 98 (2), 365-374.

Mew, T., 1984, Scanning electron microscopy of virulent and avirulent strains of *Xanthomonas campestris* pathovar oryzae on rice *Oryzae sativa* leaves, *Phytopathology*, 74, 635-641.

Mhamdi, A., Queval, G., Chaouch, S., Vanderauwera, S., Van Breusegem, F. ve Noctor, G., 2010, Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models, *Journal of Experimental Botany*, 61 (15), 4197-4220.

Mhamdi, A. ve Van Breusegem, F., 2018, Reactive oxygen species in plant development, *Development*, 145 (15), 164-376.

Migdadi, H., El-Harty, E., Salamh, A. ve Khan, M., 2016, Yield and proline content of faba bean genotypes under water stress treatments, *J. Anim. Plant Sci.*, 26 (6), 1772-1779.

Miklas, P. N., Delorme, R., Stone, V., Daly, M. J., Stavely, J. R., Steadman, J. R. ve Beaver, J. S., 2000, Bacterial, fungal, and viral disease resistance loci mapped in a recombinant inbred common bean population (Dorado'/XAN 176), *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 125 (4), 476-481.

Miller, G., Honig, A., Stein, H., Suzuki, N., Mittler, R. ve Zilberstein, A., 2009, Unraveling Δ1-pyrroline-5-carboxylate-proline cycle in plants by uncoupled expression of proline oxidation enzymes, *Journal of Biological Chemistry*, 284(39), 26482-26492.

Miller, M. B. ve Bassler, B. L., 2001, Quorum sensing in bacteria, *Annual Reviews in Microbiology*, 55 (1), 165-199.

Milosevic, N., Slusarenko, A. J., 1996, Active oxygen metabolism and lignification in the hypersensitive response in bean, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 49(3), 143-158.

Misra, N. ve Gupta, A. K., 2005, Effect of salt stress on proline metabolism in two high yielding genotypes of green gram, *Plant science*, 169(2), 331-339.

Misra, R. C., Sandeep, Kamthan, M., Kumar, S. ve Ghosh, S., 2016, A thaumatin-like protein of *Ocimum basilicum* confers tolerance to fungal pathogen and abiotic stress in transgenic Arabidopsis, *Scientific Reports*, 6.

Mittler, R., 2017, ROS are good, *Trends in plant science*, 22 (1), 11-19.

Mohamed, M. F. ve Coyne, D. P., 1995, Photoperiod sometimes influences common bacterial blight disease of common beans, *HortScience*, 30 (3), 551-553.

Mohan, S. T., 1981, Breeding Dry Beans (*Phaseolus vulgaris* L) for Common Bacterial-Blight Resistance - Relation of Days to Flowering to Blight Reaction, *Turrialba*, 31 (2), 109-112.

Monteoliva, M. I., Rizzi, Y. S., Cecchini, N. M., Hajirezaei, M. R. ve Alvarez, M. E., 2014, Context of action of proline dehydrogenase (ProDH) in the hypersensitive response of Arabidopsis, *BMC plant biology*, 14(1), 21.

Monier, J.-M. ve Lindow, S., 2003, Differential survival of solitary and aggregated bacterial cells promotes aggregate formation on leaf surfaces, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100 (26), 15977-15982.

Mori, Y., Ishikawa, S., Ohnishi, H., Shimatani, M., Morikawa, Y., Hayashi, K., Ohnishi, K., Kiba, A., Kai, K. ve Hikichi, Y., 2018, Involvement of ralfuranones in the quorum sensing signalling pathway and virulence of *Ralstonia solanacearum* strain OE1-1, *Molecular plant pathology*, 19 (2), 454-463.

Morris, C. E., Monier, J. ve Jacques, M., 1997, Methods for observing microbial biofilms directly on leaf surfaces and recovering them for isolation of culturable microorganisms, *Appl. Environ. Microbiol.*, 63 (4), 1570-1576.

Nakano, Y. ve Asada, K., 1981, Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts, *Plant and cell physiology*, 22 (5), 867-880.

Nassar, R. M., Ahmed, Y. M. ve Boghdady, M. S., 2010, Botanical studies on *Phaseolus vulgaris* L. I-morphology of vegetative and reproductive growth, *International journal of Botany*, 6 (3), 323-333.

Naumann, K. ve Karl, H., 1985, On two bacterial plant diseases recorded for the first time in the GDR in leguminous crops, *Nachrichtenblatt für den Pflanzenschutz in der DDR*, 39 (12), 244-246.

Ng, W. L., Perez, L. J., Wei, Y., Kraml, C., Semmelhack, M. F. ve Bassler, B. L., 2011, Signal production and detection specificity in Vibrio CqsA/CqsS quorum-sensing systems, *Molecular microbiology*, 79 (6), 1407-1417.

Nicholls, P., Fita, I. ve Loewen, P. C., 2000, Enzymology and Structure of Catalases, *Advances in Inorganic Chemistry*, 51, 51-106.

Nisha, S., Revathi, K., Chandrasekaran, R., Kirubakaran, S. A., Sathish-Narayanan, S., Stout, M. J. ve Senthil-Nathan, S., 2012, Effect of plant compounds on induced activities of defense-related enzymes and pathogenesis related protein in bacterial blight disease susceptible rice plant, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 80, 1-9.

Nishimura, A., Nasuno, R. ve Takagi, H., 2012, The proline metabolism intermediate Δ1-pyrroline-5-carboxylate directly inhibits the mitochondrial respiration in budding yeast, *FEBS letters*, 586 (16), 2411-2416.

Nowogórska, A., ve Patykowski, J., 2015, Selected reactive oxygen species and antioxidant enzymes in common bean after *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* and *Botrytis cinerea* infection, *Acta Physiologiae Plantarum*, 37 (1), 1725.

Nuñez, A. M., Rodríguez, G. A., Monteiro, F. P., Faria, A. F., Silva, J. C., Monteiro, A. C., Carvalho, C. V., Gomes, L. A., Souza, R. M. ve de Souza, J. T., 2018, Bio-based products control black rot (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) and increase the nutraceutical and antioxidant components in kale, *Scientific reports*, 8, 1-11.

O'Boyle, P. D., Kelly, J. D., ve Kirk, W. W., 2007, Use of marker-assisted selection to breed for resistance to common bacterial blight in common bean, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132(3), 381-386.

Oerke, E. C., 1994, Estimated crop losses due to pathogens, animal pests, and weeds, *Crop Production and Crop Protection. Elsevier Science Publishing*, New York, NY, 535-597.

Ohta, H., Shida, K., Peng, Y.-L., Furusawa, I., Shishiyama, J., Aibara, S. ve Morita, Y., 1991, A lipoxygenase pathway is activated in rice after infection with the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*, *Plant physiology*, 97 (1), 94-98.

Opio, A., Teri, J. ve Allen, D. J., 1992, Assessment of yield losses caused by common bacterial blight of beans in Uganda, *Annual report of the Bean Improvement Cooperative (USA)*, 35, 113-114.

Osdaghi, E., 2014, Occurrence of common bacterial blight on mung bean (Vigna radiata) in Iran caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, *New Dis Rep*, 30, 9.

Özel, N., 2010, Kök Bakterilerinin Domates Bakteriyel Benek (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) Hastalığına Karşı Sistemik Dayanıklılığı Uyarma Potansiyellerinin (Isr) Phenyl-Alanıne Ammonıa Lyase (Pal) Enzimi Aktivasyonuyla İlişkisinin

Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, 61.

Özpay, T., 2008, Taze fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotiplerinin kuraklık stresine olan tepkilerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Van, 64.

Öztürk, L. ve Demir, Y., 2003, Effects of putrescine and ethephon on some oxidative stress enzyme activities and proline content in salt stressed spinach leaves, *Plant growth regulation*, 40 (1), 89-95.

Öztürk, İ. ve Tort, N., 2004, Fungisit Uygulamasının Domates (Lycopersicon esculentum Mill.) Bitkisi Yapraklarında Bazı Fotosentetik Pigment Maddeleri, Bitkisel Hormonlar ve Protein Miktarları Üzerine Etkisi, *Fen Bilimleri Dergisi*, 25 (1), 13.

Paquin, R., 1985, Survie à l'hiver des plantes fourragères et des céréales sous les climats nordiques, en particulier au Québec: progrès et prospectives, *Phytoprotection*, 66, 105-139.

Parsek, M. R. ve Greenberg, E., 2005, Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms, *Trends in microbiology*, 13 (1), 27-33.

Payton, P., Webb, R., Kornyeyev, D., Allen, R. ve Holaday, A. S., 2001, Protecting cotton photosynthesis during moderate chilling at high light intensity by increasing chloroplastic antioxidant enzyme activity, *Journal of Experimental Botany*, 52 (365), 2345-2354.

Podile, A. R. ve Laxmi, V. D. V., 1998, Seed Bacterization with *Bacillus subtilis* AF 1 Increases Phenylalanine Ammonia-lyase and Reduces the Incidence of Fusarial Wilt in Pigeonpea, *Journal of Phytopathology*, *146*(5-6), 255-259.

Popović, T., Balaž, J., Nikolić, Z., Starović, M., Gavrilović, V., Aleksić, G., Vasić, M. ve Živković, S., 2010, Detection and identification of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* on bean seed collected in Serbia, *African Journal of Agricultural Research*, 5 (19), 2730-2736.

Poyraz, İ., Şahin, B. ve Atmaca, E., 2017, SCAR Markörler Kullanarak On İki Yerel Fasulye Çeşidinde *P. syringae* pv. *phaseolicola* ve *X. axonopodis* pv. *phaseoli*'ye Karşı On Direnç Geninin Tespit Edilmesi, *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7 (2), 241-248.

Purseglove, J. W., 1972, Tropical crops. Monocotyledons. 1 & 2, 607.

Qamar, A., Mysore, K. ve Senthil-Kumar, M., 2015, Role of proline and pyrroline-5-carboxylate metabolism in plant defense against invading pathogens, *Frontiers in plant science*, 6, 503.

Raj, S. N., Sarosh, B. R. ve Shetty, H. S., 2006, Induction and accumulation of polyphenol oxidase activities as implicated in development of resistance against pearl millet downy mildew disease, *Functional Plant Biology*, 33(6), 563-571.

Ramzani, P. M. A., Shan, L., Anjum, S., Ronggui, H., Iqbal, M., Virk, Z. A. ve Kausar, S., 2017, Improved quinoa growth, physiological response, and seed nutritional quality in three soils having different stresses by the application of acidified biochar and compost, *Plant physiology and biochemistry*, 116, 127-138.

Rasmussen, T. B. ve Givskov, M., 2006, Quorum-sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs, *International Journal of Medical Microbiology*, 296 (2-3), 149-161.

Ravi, I., Varshney, S., Sharma, A., Dwivedi, V. ve Behera, K. K., 2012, Studies on Activation of Systemic Acquired Resistance (SAR) by Heterocyclic Compounds Having Azole Groups in *Vigna radiata* (L.) Wilczek, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 40 (1), 74-85.

Rehman, F., Khan, F. A. ve Anis, S. B., 2014, Assessment of aphid infestation levels in some cultivars of mustard with varying defensive traits, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 47 (15), 1866-1874.

Released, I. C., 2015, IBM SPSS Statistics for Windows, IBM Corp Armonk, NY.

Rodino, A. P., Santalla, M., De Ron, A. M. ve Singh, S. P., 2003, A core collection of common bean from the Iberian peninsula, *Euphytica*, 131 (2), 165-175.

Roos, I. M., Mansvelf, E. L. ve Hattingh, M., 2019, Pathological Anatomy of Infection and Systemic Invasıon Of Deciduous Fruit Trees By Bacterial Pathogens, *Cytology, Histology and Histochemistry of Fruit Tree Diseases*, 56.

Roush, A. H. ve Gowdy, B. B., 1961, The inhibition of yeast alcohol dehydrogenase by borate, *Biochimica et biophysica acta*, 52(1), 200-202.

Rudolph, K. ve Stahmann, M., 1964, Interactions of peroxidases and catalases between *Phaseolus vulgaris* and *Pseudomonas phaseolicola* (halo blight of bean), *nature*, 204 (4957), 474.

Rudolph, K., 1993, Infection of the plant by Xanthomonas, In: Xanthomonas, *Eds: Springer*,193-264.

Saettler, A., 1989, Assessment of yield loss caused by common blight of beans in Uganda, *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative*, 35, 113-114.

Sağlam, S., Çiftçi, C. Y., Khawar, K. M., Atak, M. ve Özcan, S., 2005, In Vitro Koşullarda Fasulye Bitkisine Dört Yapraklı Aşamada Transformasyon Çalışmaları, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18 (2), 291-294.

Sánchez-Campos, S., Tunon, M. J., Gonzalez, P., Gonzalez-Gallego, J., 1999, Oxidative stress and changes in liver antioxidant enzymes induced by experimental dicroceliosis in hamsters, *Parasitology research*, 85(6), 468-474.

Sánchez, E., López-Lefebre, L. R., García, P. C., Rivero, R. M., Ruiz, J. M. ve Romero, L., 2001, Proline metabolism in response to highest nitrogen dosages in green bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike), *Journal of Plant Physiology*, 158 (5), 593-598.

Saradhi, P. P., AliaArora, S. ve Prasad, K., 1995, Proline accumulates in plants exposed to UV radiation and protects them against UV-induced peroxidation, *Biochemical and biophysical research communications*, 209 (1), 1-5.

Saygılı, H., 1995, Fitobakteriyoloji, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Ders Kitabı, *Doğruluk Matbaası,* Bornova-İZMİR.

Schat, H., Sharma, S. S. ve Vooijs, R., 1997, Heavy metal-induced accumulation of free proline in a metal-tolerant and a nontolerant ecotype of *Silene vulgaris*, *Physiologia Plantarum*, 101 (3), 477-482.

Schuster, M. ve Coyne, D., 1981, Biology, epidemiology, genetics and breeding for resistance to bacterial pathogens of *Phaseolus vulgaris*, *Horticultural Reviews*, 3, 28-58.

Schuster, M., Coyne, D., Behre, T. ve Leyna, G., 1983, Sources of Phaseolus species resistance and leaf and pod differential reactions to common blight, *HortScience*, 18 (6), 901-903.

Schwartz, H. F. ve Corrales, M. A. P., 1989, Bean production problems in the tropics, *CIAT*, 2,726.

Seattler, A., 1989, The need for detection assay, *Detection of bacteria in seed and other planting material*, 54 (3), 1-2.

Seleim, M., Abo-Elyousr, K., Mohamed, A. ve Al-Marzoky, H., 2014, Peroxidase and polyphenoloxidase activities as biochemical markers for biocontrol efficacy in the control of tomato bacterial wilt, *Plant Physiol Pathol*, 2, 2-8.

Senthil-Kumar, M. ve Mysore, K. S., 2013, Nonhost resistance against bacterial pathogens: retrospectives and prospects, *Annual review of phytopathology*, 51, 407-427.

Senthıl-Kumar, M. ve Mysore, K. S., 2012, Ornithine-delta-aminotransferase and proline dehydrogenase genes play a role in non-host disease resistance by regulating pyrroline-5-carboxylate metabolism-induced hypersensitive response, *Plant, cell & environment*, 35 (7), 1329-1343.

Sharma, S. S., Schat, H. ve Vooijs, R., 1998, In vitro alleviation of heavy metal-induced enzyme inhibition by proline, *Phytochemistry*, 49 (6), 1531-1535.

Shevyakova, N., 1984, Metabolism and the physiological role of proline in plants under conditions of water and salt stress, *Soviet Plant Physiology*, 30, 597-608.

Shukla, P. ve Misra, S. P., 1979, introduction to taxonomy of Angiosperms, *Vikas Publishing House*, p.

Sibanda, S., Moleleki, L. N., Shyntum, D. Y. ve Coutinho, T. A., 2018, Quorum Sensing in Gram-Negative Plant Pathogenic Bacteria, In: Advances in Plant Pathology, *Eds: IntechOpen*, 67-84.

Silva, H. S. A., da Silva Romeiro, R., Macagnan, D., de Almeida Halfeld-Vieira, B., Pereira, M. C. B. ve Mounteer, A., 2004, Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: non-specific protection and increase in enzyme activities, *Biological Control*, 29(2), 288-295.

Singh, G. ve Rai, V. K., 1981, Free proline accumulation and drought resistance in *Cicer arietinum* L., *Biologia Plantarum*, 23(2), 86-90.

Singh, S. P., 2001, Broadening the genetic base of common bean cultivars: A review, *Crop Science*, 41 (6), 1659-1675.

Singh, S. P. ve Schwartz, H. F., 2010, Breeding Common Bean for Resistance to Diseases: A Review, *Crop Science*, 50(6), 2199-2223.

Singh, S. P., 2013, Common bean improvement in the twenty-first century, *Springer Science & Business Media*, 167.

Siripornadulsil, S., Traina, S., Verma, D. P. S. ve Sayre, R. T., 2002, Molecular mechanisms of proline-mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae, *The plant cell*, 14(11), 2837-2847.

Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M. ve Vitti, A., 2015, Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses, *International Journal of Molecular Sciences*, 16(6), 13561-13578.

Sokal, R. ve Rohlf, F.j., 1981, Biometry: the principals and practice of statistics in biology research, *WF Freeman*, 373-384.

Solomon, M., Belenghi, B., Delledonne, M., Menachem, E. ve Levine, A., 1999, The involvement of cysteine proteases and protease inhibitor genes in the regulation of programmed cell death in plants, *The Plant Cell*, 11(3), 431-443.

Sommer, A., Ne'eman, E., Steffens, J. C., Mayer, A. M. ve Harel, E., 1994, Import, targeting, and processing of a plant polyphenol oxidase, *Plant physiology*, 105(4), 1301-1311.

Souza, A. A., Boscariol, R. L., Moon, D. H., Camargo, L. E. ve Tsai, S. M., 2000, Effects of *Phaseolus vulgaris* QTL in controlling host-bacteria interactions under two levels of nitrogen fertilization, *Genetics and Molecular Biology*, 23(1), 155-161.

Soylu, E., Soylu, S. ve Baysal, Ö., 2003, Induction of disease resistance and antioxidant enzymes by acibenzolar-S-methyl against bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) in tomato, *Journal of Plant Pathology*, 175-181.

Sreedevi, S., Remani, K. N. ve Benjamin, S., 2013, Biotic stress induced biochemical and isozyme variations in ginger and tomato by *Ralstonia solanacearum*, *American Journal of Plant Sciences*, 4(08), 1601.

Srinivas, V. ve Balasubramanian, D., 1995, Proline is a protein-compatible hydrotrope, *Langmuir*, 11(7), 2830-2833.

Stangarlin, J., Kuhn, O., Toledo, M., Portz, R., Schwan-Estrada, K. ve Pascholati, S., 2011, The plant defense against pathogens, *Scientia Agraria Paranaensis*, 10(1), 18-46.

Stangarlin, J. R., Viecelli, C. A., Kuhn, O. J., Schwan-Estrada, K. t. R. F., Assi, L., Portz, R. L. ve Meinerz, C. C., 2012, Plant Defense Enzymes Activated in Bean Plants by Aqueous Extract from *Pycnoporus sanguineus* Fruiting Body, *In: Plant Science*,153.

Stout, M. J., Fidantsef, A. L., Duffeya, S. S. ve Bostock, M., 1999, Signal interactions in pathogen and insect attack: systemic plant-mediated interactions between pathogens and herbivores of the tomato, *Lycopersicon esculentum*, Elsevier, 54, 115-130.

Sumayo, M. S., Kwon, D.-K. ve Ghim, S.-Y., 2014, Linoleic acid-induced expression of defense genes and enzymes in tobacco, *Journal of Plant Physiology*, 171(18), 1757-1762.

Sun, Y., Oberley, L. W. ve Li, Y., 1988, A simple method for clinical assay of superoxide dismutase, *Clinical chemistry*, 34(3), 497-500.

Szabados, L. ve Savoure, A., 2010, Proline: a multifunctional amino acid, *Trends in plant science*, 15(2), 89-97.

Szepesi, Á. ve Szőllősi, R., 2018, Mechanism of Proline Biosynthesis and Role of Proline Metabolism Enzymes Under Environmental Stress in Plants, In: Plant Metabolites and Regulation Under Environmental Stress, *Eds: Elsevier*, 337-353.

Şehirali, S., 1988, Yemeklik Dane Baklagiller, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, 314-435

Şehirali, S., Özgen, M., Karagöz, A., Sürek, M., Adak, S., Güvenç, İ., Tan, A., Burak, M., Kaymak, H. ve Kenar, D., 2005, Bitki genetik kaynaklarının korunma ve kullanımı, *TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası VI. Teknik Kongresi*, 1, 253-273.

Tan, M. ve Serin, Y., 2008, Baklagil Yem Bitkileri, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları* No:190, Erzurum.

Tang, M. ve Smith, C. J., 2001, Elicitor induced defence responses in *Medicago sativa*, *New phytologist*, 149(3), 401-418.

Taylor, J., 1970, Bacteriophage and serological methods for the identification of *Pseudomonas phaseolicola* (Burkh.) Dowson, *Annals of applied biology*, 66(3), 387-395.

Taylor, J., Teverson, D. M., Allen, D. J. ve Pastor-Corrales, M. A., 1996, Identification and origin of races of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* from Africa and other bean growing areas, *Plant Pathology*, 45(3), 469-478.

Terenashi, Y., Tanaka, A., Osumi, M. ve Fukui, S., 1974, Catalase Activity of Hydrocarbon Utilizing Candida, *Yeast, Agr. Biol. Chem*, 38, 1213-1216.

Thipyapong, P., Hunt, M. D. ve Steffens, J. C., 1995, Systemic wound induction of potato (*Solanum tuberosum*) polyphenol oxidase, *Phytochemistry*, 40(3), 673-676.

Thipyapong, P. ve Steffens, J. C., 1997, Tomato polyphenol oxidase (differential response of the polyphenol oxidase F promoter to injuries and wound signals), *Plant physiology*, 115(2), 409-418.

Thipyapong, P., Melkonian, J., Wolfe, D. W. ve Steffens, J. C., 2004, Suppression of polyphenol oxidases increases stress tolerance in tomato, *Plant Science*, 167 (4), 693-703.

Thipyapong, P., Stout, M. ve Attajarusit, J., 2007, Functional analysis of polyphenol oxidases by antisense/sense technology, *Molecules*, 12(8), 1569-1595.

Thulke, O. ve Conrath, U., 1998, Salicylic acid has a dual role in the activation of defence-related genes in parsley, *The Plant Journal*, 14(1), 35-42.

Tiryaki, D., 2018, Soğuğa Dirençli Bitkilerin Yaprak Apoplastından İzole Edilen Bakterilerin Fasulyede (*Phaseolus vulgaris* L.) Soğuk Stresi Toleransı Üzerine Etkileri, Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,* Erzurum, 183.

Tohma, Ö., 2007, Çilekte salisilik asit uygulamasının tuz stresine dayanıklılık üzerine etkisi, *Y*üksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,* Erzurum, 1-73.

Toillier, S., Iurkiv, L., Meinerz, C., Baldo, M., Viecelli, C., Kuhn, O., Schwan-Estrada, K. ve Stangarlin, J., 2010, Control of bacterial blight (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) and biochemical analyses of bean resistance treated with *Pycnoporus sanguineus* extracts, *Arquivos do Instituto Biológico (São Paulo)*, 77(1), 99-110.

Torres, J. P., Júnior, S. ve Maringoni, A. C., 2009, Detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* in common bean seeds from the state of Paraná (Brazil), *Summa Phytopathologica*, 35(2), 136-139.

Turan, P., 2005, *Ocimum basilicum* L.'den elde edilen polifenol oksidaz enziminin saflaştırılması, kinetik ve elektroforetik özelliklerinin incelenmesi.Yüksek Lisans Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Balıkesir, 100.

Tuzun, S., 2001, The relationship between pathogen-induced systemic resistance (ISR) and multigenic (horizontal) resistance in plants, *European Journal of Plant Pathology*, 107(1), 85-9.

Türkan, I., Bor, M., Özdemir, F. ve Koca, H., 2005, Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress, *Plant Science*, 168(1), 223-231.

Türküsay, H. ve Tosun, N., 2005, Hidrojen Peroksit Uygulamalarının Domates Bakteriyel Solgunluk ve Kanser Hastalığı (*Clavibacter michiganensis* ssp.

michiganensis (Smith) Davis et al)'na Etkileri, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 42 (2), 45-56.

Umesha, S., 2006, Note: phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance, *Phytoparasitica*, 34(1), 68-71.

Vanitha, S. ve Umesha, S., 2008, Variations in defense related enzyme activities in tomato during the infection with bacterial wilt pathogen, *Journal of plant interactions*, 3 (4), 245-253.

Vanitha, S. C., Niranjana, S. R. ve Umesha, S., 2009, Role of phenylalanine ammonia lyase and polyphenol oxidase in host resistance to bacterial wilt of tomato, *Journal of Phytopathology*, 157 (9), 552-557.

Vauterin, L., Hoste, B., Yang, P., Alvarez, A., Kersters, K. ve Swings, J., 1993, Taxonomy of the genus Xanthomonas, In: Xanthomonas, *Eds: Springer*, 157-192.

Veeralakshmi, M., Taghavi, M., Mahalakshmi, G., Kuralarasi, R. ve Lingakumar, K., 2017, Changes in anti oxidant enzyme activities in *Pseudomonas syringae* pv *syringae* (Bacterıal Brown Spot) infected seedlings of *Vigna radiata* L., *International Journal of Scientific Research Engineering & Technology*, 6(2278), 37-41.

Venisse, J.-S., Malnoy, M., Faize, M., Paulin, J.-P. ve Brisset, M.-N., 2002, Modulation of defense responses of *Malus* spp. during compatible and incompatible interactions with Erwinia amylovora, *Molecular plant-microbe interactions*, 15 (12), 1204-1212.

Vidaver, A., 2012, 1.5 *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*: Cause of Common Bacterıal Blıght of Bean, *Xanthomonas*, 40.

von Bodman, S. B., Bauer, W. D. ve Coplin, D. L., 2003, Quorum sensing in plant-pathogenic bacteria, *Annual review of phytopathology*, 41(1), 455-482.

Wakamatsu, K., Takahama, U., 1993, Changes in peroxidase activity and in peroxidase isozymes in carrot callus, *Physiologia Plantarum*, 88(1), 167-171.

Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Huckelhoven, R., Neumann, C., von Wettstein, D., Franken, P. ve Kogel, K. H., 2005, The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(38), 13386-13391.

Walters, D., Walsh, D., Newton, A. ve Lyon, G., 2005, Induced resistance for plant disease control: Maximizing the efficacy of resistance elicitors, *Phytopathology*, 95 (12), 1368-1373.

Waszczak, C., Carmody, M. ve Kangasjärvi, J., 2018, Reactive oxygen species in plant signaling, *Annual review of plant biology*, 69, 209-236.

Waters, C. M. ve Bassler, B. L., 2005, Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 21, 319-346.

Weller, D. M. ve Saettler, A., 1980, Evaluation of seedborne *Xanthomonas phaseoli* and *X. phaseoli* var. *fuscans* as primary inocula in bean blights, *Phytopathology*, 70 (2), 148-152.

Whitaker, J. R., 1994, Catalase and peroxidase, *Principles of enzymology for the food sciences*, 565-578.

Whetten, R. ve Sederoff, R., 1995, Lignin biosynthesis, *The plant cell*, 7(7), 1001.

Whitehead, N. A., Barnard, A. M., Slater, H., Simpson, N. J. ve Salmond, G. P., 2001, Quorum-sensing in Gram-negative bacteria, *FEMS microbiology reviews*, 25(4), 365-404.

Wolff, S. P., Garner, A. ve Dean, R. T., 1986, Free radicals, lipids and protein degradation, *Trends in Biochemical Sciences*, 11(1), 27-31.

Wotaszek, P., 1997, Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection, *Biochemical Journal*, 322(3), 681-692.

Yeken, M. Z., Göksel, Ö., Çelik, A. ve Çiftçi, V., 2018, Türkiye'de Ticari Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Çeşitlerinde Bean common mosaic virus ve Bean common mosaic necrosis virus Etmenlerine Dayanıklılıkla İlişkili Genlerin Karakterizasyonu, *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 5(4), 613-619.

Yılmaz, Ş., 2015, Tuz ve Kuraklık Stres Koşullarına Maruz Bırakılan *Phaseolus vulgaris* L. (Fasulye) Bitkisinde Giberellik Asit Uygulamasının Gaba ve Antioksidan Savunma Sistemine Etkisinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,* Aksaray, 61.

Yoshiba, Y., Kiyosue, T., Katagiri, T., Ueda, H., Mizoguchi, T., Yamaguchi-Shinozaki, K., Wada, K., Harada, Y. ve Shinozaki, K., 1995, Correlation between the induction of a gene for Δ1-pyrroline-5-carboxylate synthetase and the accumulation of proline in *Arabidopsis thaliana* under osmotic stress, *The Plant Journal*, 7 (5), 751-760.

Yu, Z., Stall, R. ve Vallejos, C., 1998, Detection of genes for resistance to common bacterial blight of beans, *Crop Science*, 38(5), 1290-1296.

Zaifnejad, M., Clark, R. ve Sullivan, C., 1997, Aluminum and water stress effects on growth and proline of sorghum, *Journal of Plant Physiology*, 150(3), 338-344.

Zapata, M., 2014, Identificación de Razas de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* en Hojas de *Phaseolus vulgaris*, *Síntesis de Resultados Experimentales del PRM 1993-1995*, 332.

Zaumeyer, W. J., 1930, The bacterial blight of beans caused by *Bacterium phaseoli*, *Technical Bulletin*, 186, 34.

Zaumeyer, W. J. ve Thomas, H. R., 1957, *A monographic study of bean diseases and methods for their control, le.chnical Bulletin*, 868, 67.

Zeier, J., Delledonne, M., Mishina, T., Severi, E., Sonoda, M. ve Lamb, C., 2004, Genetic elucidation of nitric oxide signaling in incompatible plant-pathogen interactions, *Plant physiology*, 136(1), 2875-2886.

Zengin, F. K. ve Munzuroglu, O., 2005, Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings, *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 47(2), 157-164.

Zhu, Z., Wei, G., Li, J., Qian, Q. ve Yu, J., 2004, Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.), *Plant Science*, 167(3), 527-533.

Zlatev, Z., Lidon, F., Ramalho, J. ve Yordanov, I., 2006, Comparison of resistance to drought of three bean cultivars, *Biologia Plantarum*, 50(3), 389-394.

EKLER

POX ‘İN VARYANS anali sonuçları EK-1’de verilmiştir.

EK-1 Peroksidaz (POX) parametresine ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	Serbestlik derecesi (SD)	Kareler toplamı (KT)	Kareler ortalaması (KO)	F
Bitkiler arası	1	1896075.735	1896075.735	580.06**
Bakteriler arası	4	494220.627	123555.157	37.80**
bitki*bakteri int.	4	641055.240	160263.810	49.03**
Zamanlar arası	4	87339.727	21834.932	6.68**
bitki*zaman int.	4	197598.673	49399.668	15.11**
bakteri*zaman int.	16	1854827.107	115926.694	35.47**
bitki*bakteri*zaman int.	16	576811.560	36050.723	11.03**
Error HATA	100	326875.167	3268.752	
Corrected Genel	149	6074803.835		

**P <0.01, R^2=0.95

EK-1’de verilen tablo incelendiğinde POX’a ilişkin toplam varyasyonun %95’i modele dahil n ana etkiler ve interaksiyon etkileri tarafından (varyasyon kaynakları) açıklandığı belirlenmiştir. lge incelendiğinde pox bakımından modele dahil edilen tüm etkilerin istatiksel olarak önemli olduğu ınmıştır (P <0.01).

SOD ‘un varyans analiz sonuçları EK-2 verilmiştir.

EK-2 Süperoksit Dismutaz (SOD) parametresine ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	Serbestlik derecesi (SD)	Kareler toplamı (KT)	Kareler ortalaması (KO)	F
Bitkiler arası	1	0.0104167	0.0104167	0.00
Bakteriler arası	4	594.3471627	148.5867907	15.29**
bitki*bakteri int.	4	524.6503467	131.1625867	13.49**
Zamanlar arası	4	321.2446493	80.3111623	8.26**
bitki*zaman int.	4	164.2601933	41.0650483	4.22**
bakteri*zaman int.	16	595.8595240	37.2412203	3.83**
bitki*bakteri*zaman int.	16	615.6783933	38.4798996	3.96**
Error HATA	100	972.000600	9.720006	
Corrected Genel	149	3788.051286		

**P <0.01, R^2=0,75

EK-2’de verilen tablo incelendiğinde incelendiğinde bitki ana etkisi dışındaki diğer ana ve interaksiyon etkilerinin SOD üzerindeki etkisi önemli bulunmuştur (P <0.01).

CAT ‘in varyans analiz sonuçları EK-3’de verilmiştir.

EK-3 Katalaz (CAT) parametresine ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	Serbestlik derecesi (SD)	Kareler toplamı (KT)	Kareler ortalaması (KO)	F
Bitkiler arası	1	0.45518113	0.45518113	30.86**
Bakteriler arası	4	0.21745711	0.05436428	3.69**
bitki*bakteri int.	4	0.36357044	0.09089261	6.16**
Zamanlar arası	4	0.05735084	0.01433771	0.97
Bitki x zaman int.	4	0.10214697	0.02553674	1.73
Bakteri x zaman int.	16	0.35469663	0.02216854	1.50
bitkixbakterizaman int.	16	0.82054596	0.05128412	3.48**
Error HATA	100	1.47480600	0.01474806	
Corrected Genel	149	3.84575507		

**P <0.01, R^2=0.62

EK-3’de verilen tablo incelendiğinde CAT parametresi bakımından bitki, bakteri, bitki x bakteri ve bitki x bakteri x zaman interaksiyonları önemli bulunmuştur (P <0.01).

APX ‘in varyans analiz sonuçları EK-4 verilmiştir.

EK-4 Askorbat Peroksidaz APX parametresine ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	Serbestlik derecesi (SD)	Kareler toplamı (KT)	Kareler ortalaması (KO)	F
Bitkiler arası	1	52.2563082	52.2563082	58.64**
Bakteriler arası	4	72.8245268	18.2061317	20.43**
bitki*bakteri int.	4	35.2025051	8.8006263	9.88**
Zamanlar arası	4	10.9535658	2.7383914	3.07*
bitki*zaman int.	4	8.8138229	2.2034557	2.47*
bakteri*zaman int.	16	102.3555992	6.3972249	7.18**
bitki*bakteri*zaman int.	16	37.6864263	2.3554016	2.64**
Error HATA	100	89.1163920	0.8911639	
Corrected Genel	149	409.2091463		

**P <0.01, R^2=0.78

EK-4’de verilen tablo incelendiğinde bitki (P <0.01), bakteri (P <0.01) , zaman ve (P<0.05), bitki x bakteri (P <0.01), bitki x zaman (P<0.05), bakteri x zaman (P <0.01), bitki x bakteri x zaman (P <0.01) interaksiyonlarının APX üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

PPO ‘nun varyans analiz sonuçları EK-5’de verilmiştir.

EK-5 Polifenoloksidaz PPO parametresine ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	Serbestlik derecesi (SD)	Kareler toplamı (KT)	Kareler ortalaması (KO)	F
Bitkiler arası	1	8199.2067	8199.2067	3.14
Bakteriler arası	4	41842.1733	10460.5433	4.01**
bitki*bakteri int.	4	136909.6933	34227.4233	13.12**
Zamanlar arası	4	321284.7067	80321.1767	30.80**
bitki*zaman int.	4	203521.8267	50880.4567	19.51**
bakteri*zaman int.	16	356455.8933	22278.4933	8.54**
bitki*bakteri*zaman int.	16	193649.4400	12103.0900	4.64**
Error HATA	100	260785.333	2607.853	
Corrected Genel	149	1522648.273		

**P <0.01, R^2=0.83

EK-5 de verilen tablo incelendiğinde Bitki faktörü hariç, bakteri, zaman ve bitki x bakteri, bitki x zaman, bakteri x zaman ve bitki x bakteri x zaman interaksiyonlarının PPO üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Bitki x bakteri x zaman interaksiyonun istatistiksel olarak önemli olması durumunda her bitki ve bakteri seviye kombinasyonunda zaman seviye ortalamalarının arasında farklılık olabileceği, her bitki ve zaman seviye kombinasyonunda bakteri seviye ortalamalarının farklı olabileceği ve her zaman ve bakteri seviye kombinasyonunda bitkiler arasında farklılık olabileceği dikkate alınmalıdır.

Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL)'ın varyans analiz sonuçları EK-6'da verilmiştir.

EK-6 Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL) parametresine ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	Serbestlik derecesi (SD)	Kareler toplamı (KT)	Kareler ortalaması (KO)	F
Bitkiler arası	1	2.755122	2.755122	0.22
Bakteriler arası	4	994.605371	248.651343	20.21**
bitki*bakteri int.	4	158.245457	39.561364	3.22*
Zamanlar arası	4	1517.085877	379.271469	30.83**
bitki*zaman int.	4	139.567410	34.891853	2.84*
bakteri*zaman int.	16	1974.829950	123.426872	10.03**
bitki*bakteri*zaman int.	16	1144.317033	71.519815	5.81**
Error HATA	100	1230.393909	12.303939	
Corrected Genel	149	7161.800129		

**P <0.01, R^2=0.83

EK-6'da verilen tablo incelendiğinde bitki faktörü hariç, bakteri (P <0.01), bitki x bakteri interaksiyonu(P<0.05), zaman (P <0.01), bitki x zaman (P <0.01), bitki x bakteri x zaman (P <0.01) interaksiyon etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Prolin parametresine ilişkin varyans analiz sonuçları EK-7'de verilmiştir.

EK-7 Prolin parametresine ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	Serbestlik derecesi (SD)	Kareler toplamı (KT)	Kareler ortalaması (KO)	F
Bitkiler arası	1	4.62987073	4.62987073	13.46**
Bakteriler arası	4	61.19533703	15.29883426	44.47**
bitki*bakteri int.	4	41.26693977	10.31673494	29.99**
Zamanlar arası	4	13.46750316	3.36687579	9.79**
bitki*zaman int.	4	9.06891671	2.26722918	6.59**
bakteri*zaman int.	16	37.86514084	2.36657130	6.88**
bitki*bakteri*zaman int.	16	23.59104529	1.47444033	4.29**
Error HATA	100	34.4042127	0.3440421	
Corrected Genel	149	225.4889662		

**P <0.01, R^2=0.85

EK-7'de verilen tablo incelendiğinde tüm ana ve interaksiyon etkilerinin prolin parametresi üzerindeki etkisi önemli bulunmuştur (P <0.01).

Proteine ait varyans analiz sonuçları EK-8'de verilmiştir.

EK-8 Protein parametresine ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	Serbestlik derecesi (SD)	Kareler toplamı (KT)	Kareler ortalaması (KO)	F
Bitkiler arası	1	13148.59201	13148.59201	41.60**
Bakteriler arası	4	3982.65811	995.66453	3.15*
bitki*bakteri int.	4	6918.26996	1729.56749	5.47**
Zamanlar arası	4	6641.19919	1660.29980	5.25**
bitki*zaman int.	4	319.30548	79.82637	0.25
bakteri*zaman int.	16	10973.10891	685.81931	2.17*
bitki*bakteri*zaman int.	16	8389.50823	524.34426	1.66
Error HATA	100	31609.81782	316.09818	
Corrected Genel	149	81982.45972		

*P<0.05, **P <0.01, R^2=0.61

EK-8'de verilen tablo incelendiğinde protein bakımından bitki (P <0.01), bakteri (P<0.05), zaman (P <0.01), bitki x bakteri (P <0.01) ve bakteri x zaman (P<0.05) interaksiyonlarının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Badel UYSAL ŞAHİN
Uyruğu : TC
Doğum Yeri ve Tarihi : MERSİN/25.03.1985
Telefon : 0555 718 67 71
Faks :
e-mail : badeluysal@hotmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	**Dumlupınar Lisesi, Mersin**	**2002**
Üniversite	:	**Gaziosmanpaşa Üniversitesi**	**2008**
Yüksek Lisans	:	**Gaziosmanpaşa Üniversitesi**	**2012**
Doktora	:	**Selçuk Üniversitesi**	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2010-Devam ediyor	Iğdır Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

YABANCI DİLLER
İngilizce

Yayinlar

1. **Uysal Badel**, Baştaş Kubilay Kurtuluş (2018). Defense reactions of bean genotypes to bacterial pathogens in controlled conditions. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 142, 12068, Doi: 10.1088/1755-1315/142/1/012068 (Yayın No: 4555285)

2. Dönmez Mesude Figen, **Uysal Badel**, Demirci Erkol, Ercişli Sezai, Çakmakçı Ramazan (2015). Biological Control of Root Rot Disease Caused by *Rhizoctonia solani* Kühn on Potato and Bean Using Antagonist Bacteria. Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus, 5(14), 29-40.

Uluslararası Tebliğler

1. **Uysal Badel**, Baştaş Kubilay Kurtuluş (2017). Modern Identification Methods of Halo Blight Disease Caused *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*. Plant Health: Challenges and Solutions, April 23-28, Antalya.
2. **Uysal Badel**, Baştaş Kubilay Kurtuluş (2017). Defense Reactıons of Bean Genotypes to Bacterıal Pathogens in Controlled Condıtıons. The 4th Internatıonal Conference on Sustaınable Agrıculture and Envıronment, August 10–12, Indonesia.
3. **Uysal Badel**, Dönmez Mesude Figen (2017). Biological Control of Common Bacterial Blight Caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* and Fuscous Blight Caused by

Xanthomonas axonopodis phaseoli var. *fuscans* on bean by Biocontrol Agent Applications Under in vitro Conditions. II. Uluslararası Iğdır Sempozyumu, 9-11 Ekim, Iğdır.

4. **Uysal Badel**, Baştaş Kubilay Kurtuluş (2016). Enzyme Activities Of Bean Genotypes to Bacterial Common Blight Infections Within Sustainable Management Approaches. 3 rd International Conference on Sustainable Agriculture and Environment, September 26-28, 2016 Warsaw, Poland.
5. **Uysal Badel,** Dönmez Mesude Figen (2016). Farklı Bakteri Uygulamalarının Domates (*Solanum lycopersicum L*.) Bitki Gelişimi Üzerine Etkisi. Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi, 5-8 Eylül 2016 Konya.
6. **Uysal Badel**, Baştaş Kubilay Kurtuluş (2015). Role of Enzymes in Plant Resistance to Bacterial Pathogens. 2nd International Conference on Sustainable Agriculture and Environment, 31 September-03 October, Konya.
7. **Uysal Badel, Kadıoğlu İzzet** (2014). Iğdır İli Mısır Ekim Alanlarında Sorun Olan Yabancı Otlar ve Kimyasal Mücadelesi. V. Bitki Koruma Kongresi, 5, 3-5 Şubat 2014, Antalya.

Ulusal Tebliğler

1. **Uysal Badel**, Kadıoğlu İzzet (2013). Control Of Weeds With Different Herbicides In Silage Maize. European Weed Research Society Symposium, 16 115, 24-27 Jun 2013, Samsun.