

## Ascochyta Yanıklığı ( *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.) 'na Dayanımları Farklı Nohut Çeşitlerinde Oransal Su, Kuru Madde ve Prolin Miktarlarındaki Değişimler

A. Sülün ÜSTÜN<sup>1</sup>

Sara DOLAR<sup>2</sup>

Geliş Tarihi: 20.12.2000

**Özet:** Bu çalışmada, *Ascochyta* Yanıklığı hastalığının çıkma şiddetine bağlı olarak meydana gelen hastalığa duyarlı, Canitez 87 ve dayanıklı, ILC 195 nohut çeşitlerinin yapraklarında hastalık stresinin Oransal Su İçeriği (% O. S. I.), kuru maddeye (% K.M.) etkisi ile aynı çeşitlerin yaprak, gövde ve köklerinde değişen prolin miktarları incelenmiştir.

Duyarlı çeşide ait yapraklarda %O. S. I. dayanıklı çeşide ait yapraklardan daha yüksektir. Her iki nohut çeşidinin enfekteli yapraklarında da % O.S.I.'nin daha az olduğu bulunmuştur. Her iki çeşidin enfekteli yapraklarında 8. günde kuru madde (% K.M.) 'de artış olduğu tespit edilmiştir. Prolin miktarı yapraklarda , gövde ve köklerden daha fazla bulunmuştur. Enfekteli bitkilerde su eksikliğine bağlı olarak prolin miktarında artış her iki nohut çeşidinde de tespit edilmiştir. Hastalığın ortaya çıkmasına bağlı olarak duyarlı çeşitte en fazla prolin 8. günde bulunurken dayanıklı çeşitte 11. günde daha fazla prolin birikimi olduğu tespit edilmiştir. Hastalığın çıkma şiddetine bağlı olarak prolin miktarının değişimi *Ascochyta* Yanıklığına karşı dayanımda belirleyici bir parametre olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Nohut, *Ascochyta rabiei* , oransal su içeriği, kuru madde, prolin

### Changes in the Relative Water Content, Dry Matter and Proline Amount in the *Ascochyta* Blight ( *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.) Resistant and Susceptible Chickpea Cultivars

**Abstract:** In this study, the effect of *Ascochyta* blight (*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.) disease stress on the relative water content ( RWC %) and dry matter ( D. W %)content of susceptible( Canitez 87) and resistant (ILC 195) cultivars were investigated. Proline amount alternations in the leaves, stems and roots of the same cultivars were also studied.

RWC % was higher in the leaves of susceptible cultivar than of resistant cultivar. RWC % was found to be less in both cultivar leaves which were infected. The amount of dry matter content increased in the infected leaves of both cultivars in the 8<sup>th</sup> day. The amount of proline was higher in leaves than stems and roots. In infected resistant and susceptible cultivars the amount of proline increased as the water content decreased. In susceptible cultivar the amount of proline was found to be highest in the 8<sup>th</sup> day, however, the amount of proline accumulation was higher than 11<sup>th</sup> day. The changes in the amount of proline could be a determinative factor in resistance to the disease.

**Key Words:** Chickpea, *Ascochyta rabiei* , relative water content, dry matter, prolin

#### Giriş

Nohut (*Cicer arietium* L.), insan beslenmesi için mutlak gerekli olan lösin, histidin, isolösin, lizin, fenilalanin, trionin ve valin gibi aminoasitlerce zengin ve oldukça yüksek oranda proteine sahip olduğundan önemli bitkisel protein kaynaklarından biri durumundadır (Eser ve Soran, 1978). Bu neden ile nohut özellikle hayvansal proteinin yeterince sağlanamadığı ülkelerde dikkatleri üzerinde toplamakta ve geniş ekim alanları bulunmaktadır. Ülkemizde nohut 780 000 ha ekiliş alanı ve 732 000 ton üretim değerleri ile baklagiller arasında ilk sırayı almaktadır (Anonymous, 1998). Ancak nohut üretimi ve verimi yeterli düzeyde değildir. Bunun önemli nedenlerinden biri *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. (Eşeyli devresi= *Didymella rabiei* Kovachevski) tarafından meydana getirilen " *Ascochyta* Yanıklığı " hastalığıdır. Hastalıkla mücadelede birçok metod mevcut olmasına rağmen bu metodlar problemi çözmede henüz yeterli ve ekonomik değildir ( Singh ve ark., 1981, Singh ve Reddy,

1989). Bu neden ile araştırmacılar hastalığa karşı dayanıklı çeşitleri tespit etmeye ve yetiştirmeye çalışmakta ve bu çalışmaları yaparken bir yandan da bitkilerde dayanıklılığı sağlayan mekanizmayı araştırmaktadırlar (Dolar ve Gürçan, 1995, Erdiller ve ark., 1998). *Ascochyta* Yanıklığı'na nohut bitkilerinin dayanıklılığında medikarpin ve maackiain adı verilen pterokarpan yapısında iki fitoaleksinin önemli rol oynadığı bu araştırmaların sonucunda saptanmıştır (Weigand ve ark., 1986, Dolar ve Gürçan 1993 ). Bitkiler stres koşullarından kurtulabilmek için bazı biyokimyasal önlemler ile olumsuz duruma karşı önlem alırlar (Aspinall ve Paleg 1981, Taylor ve ark., 1982, Stewart ve Votenberg 1985, Kuo ve ark., 1986, Öncel 1991). Bu streslerden biri olan hastalanmaya karşıda farklı dayanıklı ve duyarlı çeşitler çoğu zaman farklı reaksiyonlar gösterirler (Öncel ve ark., 1996). Bazı patojenler ile enfekte olmuş bitkilerin doku ve organlarında prolin birikiminin olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından

<sup>1</sup> Ankara Üniv. Fen Fak. Biyoloji Bölümü-Ankara

<sup>2</sup> Ankara Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Bölümü-Ankara

bildirilmektedir (Aspinall ve Paleg 1981, Ochsenbauer ve Ochsenbauer 1988, Nikolopoulos ve Manetas 1991, Liu ve ark., 1992, Öncel ve ark., 1996). Bu çalışmada, *Ascochyta* Yanıklığı'nın çıkma şiddetine bağlı olarak meydana gelen hastalığa duyarlı ve dayanıklı çeşitlerin yapraklarında hastalık stresinin oransal su içeriği, kuru maddeye etkisi ile bu çeşitlerin yaprak, gövde ve köklerdeki prolin miktarları incelenmiştir.

## Materyal ve Yöntem

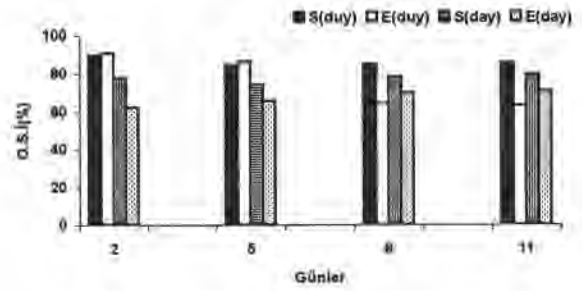
**Bitki materyali:** ILC 195 (dayanıklı) ve Canitez 87 (duyarlı) nohut çeşitlerinin tohumları ekimden önce yüzeysel dezenfeksiyon amacı ile %1 lik sodyum hipoklorit'te 3 dakika tutulmuş ve takiben 3 seri saf sudan geçirilmiştir. Bu işlem tamamlandıktan sonra steril toprak içeren 15 cm çapındaki saksılara tohumlar ekilmiştir. Saksılar 12 saat aydınlık (ışık intensitesi (11000 lux), 12 saat karanlık periyot ve  $25 \pm 1^\circ \text{C}$  sıcaklık içeren iklim dolabında 15 gün süre ile tutulmuştur.

***Ascochyta rabiei* izolatının yetiştirilmesi ve bitki inokulasyonu:** *Ascochyta rabiei*'nin Çr. I izolatu Nohut Unu Dekstroz Agar (CSMDA: 40 g nohut unu, 20 g dekstroz, 20 g agar ve 1 L saf su) içeren 9 cm lik steril cam petrilere aşılandıktan sonra 12 saat aydınlık (yakın Ultraviyole ışık), 12 saat karanlık periyot ve  $20 \pm 1^\circ \text{C}$  sıcaklık içeren inkübasyon odasında 14 gün süre ile geliştirilmiştir. 15 günlük bitkiler, 14 günlük *A. rabiei*'nin kültüründen hazırlanan  $6.4 \times 10^5$  spor/ml lik spor süspansiyonu ile iyice ıslanmaya kadar püskürtme yapılarak inokule edilmişlerdir. Kontrol bitkilerinin üzerine ise steril saf su püskürtülmüştür. Inokulasyonu takiben bitkilerin üzerine yüksek nem sağlamak amacı ile nemli şeffaf torbalar geçirilmiş ve saksılar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık periyot ve  $20 \pm 1^\circ \text{C}$  sıcaklık içeren iklim odasına yerleştirilmişlerdir. Inokulasyondan 4 gün sonra bitkilerin üzerindeki torbalar kaldırılmış ve bitkiler yüksek nemli bir ortamdan sonra nisbi nem düşük bir ortamda şoka girmemeleri için günde üç kez (saat 9<sup>00</sup>, 14<sup>00</sup>, 19<sup>00</sup>) üzerlerine su püskürtülmüştür.

Enfekte edilen ve edilmeyen dayanıklı ve duyarlı çeşitlerden inokulasyondan sonraki 2., 5., 8. ve 11. günlerde yaprak, gövde ve kök örnekleri alınmıştır. Denemede her saksıda 5 bitki olacak şekilde üç tekrarlolu çalışılmış ve deneme iki kez tekrarlanmıştır.

**% Oransal su içeriği (%O.S.) ve % kuru madde (% K. M):** Smart ve Bingham (1974) yöntemine göre %O.S. ve % K. M tayini yapılmıştır. Yaprak yaşından dolayı meydana gelecek hatayı en aza indirmek amacıyla mümkün olduğunca aynı yaşta bitkilerin seçilmesine dikkat edilmiştir. Bu nedenle bitkilerin aşağıdan itibaren 8. ve 9. yaprak sapındaki yapraklardan her tekrarı için 40 yaprak alınmış ve taze ağırlıklar saptanmıştır. Daha sonra 4 saat saf suda tutulan örneklerin turgor ağırlıkları tartılarak,  $105^\circ \text{C}$ 'ye ayarlanmış etüvde kurutulan örnekler sabit ağırlığa gelince kuru ağırlıkları tartılmıştır.

**Prolin ekstraksiyonu ve tayini:** Bates ve ark.(1973)'ün metodu kullanılmıştır. Buna göre, dayanıklı



Şekil 1. Sağılam ve *Ascochyta rabiei* ile inokule edilmiş duyarlı (Canitez 87) ve dayanıklı (ILC 195) nohut bitkilerinin yapraklarında % oransal su içeriği değişimi [S (duy): Sağılam duyarlı, E (duy): Enfekteli duyarlı, S (day): Sağılam dayanıklı, E (day): Enfekteli dayanıklı]

ve duyarlı çeşitlere ait yaprak, gövde ve kök örnekleri liyofilize edilerek kurutulup öğütülmüş ve daha sonra %3'lük sülfosalisilik asit ile homojenize edilmiştir. Ekstraktın 2 ml si üzerine 2 ml ninhidrin çözeltisi ve 2 ml glasiyel asetik asit konularak Benmaride(  $95^\circ \text{C}$ ) 1 saat tutulmuş, soğutulduktan sonra üzerine 4 ml Toluene konulup sonra iyice karıştırılmıştır. Toluene fazı alınarak spektrofotometrik olarak (Cecil 5000, 520 nm dalga boyunda) absorbansı tayin edilmiş ve saf prolin standardına karşı  $\mu \text{mol g}^{-1}$  KA olarak hesaplanmıştır. Bütün tayinlerde üç paralel ekstrat çıkarılmış ve üç alet okumasının ortalama değerleri sonuçlarda verilmiştir.

## Bulgular ve Tartışma

*Ascochyta rabiei*'ye dayanıklı (ILC 195) ve duyarlı (Canitez 87) nohut çeşitlerinde, *A. rabiei* ile enfekte edilen ve sağılam bitkilerinden inokulasyondan sonra farklı zamanlarda alınan yaprak örneklerinde, % Oransal Su içeriğindeki (% O. S. I) değişimler Şekil 1'de gösterilmiştir. Her iki çeşidin sağılam bitkilerinin yapraklarında %O. S. I. karşılaştırıldığında duyarlı çeşidin daha yüksek %O. S. I.'ne sahip olduğu belirlenmiştir.

Duyarlı çeşidin %O. S. I. bakımından 2. ve 5. günlerde sağılam ve enfekte edilmiş yaprak örneklerinde fazla fark bulunmazken, dayanıklı çeşitte enfekte olmuş yaprak örneklerinde %O. S. I. deki azalmalar oldukça önemlidir. İlerleyen zamanda duyarlı çeşitte enfekte olan bitkilerin yapraklarında %O.S.I.'deki azalmalar daha şiddetli olmuş ve 11. günde sağılam bitkilerde  $85,6 \pm 0,7$  olan %O.S.I miktarı hastalandırılmış bitkilerde  $63,30 \pm 1,37$  bulunmuştur. Dayanıklı çeşitte ise %O.S.I enfekte edilen bitkilerde fazla değişim göstermemiş ancak sağılam bitkilerdekine göre daha az olduğu tespit edilmiştir.

*Ascochyta rabiei*'ye dayanıklı (ILC 195) ve duyarlı (Canitez 87) nohut çeşitlerinde, *A. rabiei* ile enfekte edilen ve sağılam bitkilerinden inokulasyondan sonra farklı zamanlarda alınan yaprak örneklerinde, % Kuru Madde (% K. M) miktarlarındaki değişimler Şekil 2'de gösterilmiştir. Inokulasyonu takip eden ikinci günde alınan örnekler kuru madde miktarları bakımından karşılaştırıldığında duyarlı çeşidin sağılam bitkilerinde %  $16,66 \pm 0,49$  olan kuru madde, enfekte edilmiş bitkilerde azalarak %  $13,48 \pm 0,5$

bulunmuştur. Aynı şekilde kuru madde miktarları 5. ve 8. günlerde de azalmış ve sağlam bitkilere kıyasla daha az kuru madde birikimi bulunmuştur. Ancak 11. günde kuru madde miktarı bakımından enfekte olmuş bitkilerde daha fazla kuru madde birikmiştir (%16,42± 0,70). Dayanıklı çeşitte ise ikinci günde enfekte edilmiş bitkilerinde az da olsa kuru madde % si sağlam bitkilere göre daha az bulunmuştur (sırası ile, % 16, 81± 0,42 ve 16,16± 0,46). Beşinci günde de azalmaya devam etmiş (%15,98± 0,23), daha sonraki günlerde ise artarak 11. günde %18,62± 0,94 kuru madde bulunmuştur.

Duyarlı ve dayanıklı çeşitlerin sağlam bitkilerinin yapraklarında farklı zamanlarda alınan örneklerde kuru madde miktarları bakımından önemli farklar bulunmazken aynı çeşitlerin enfekte edilmiş yaprak örneklerinde kuru madde birikimi bakımından önemli farklar olduğu tespit edilmiştir.

*Ascochyta rabiei*' ye dayanıklı (ILC 195) ve duyarlı (Canitez 87) nohut çeşitlerinde, *A. rabiei* ile enfekte edilen ve sağlam bitkilerden inokulasyondan sonra farklı zamanlarda alınan yaprak, gövde ve kök örneklerinin içerdiği prolin miktarları bakımından önemli farklar bulunmuştur.

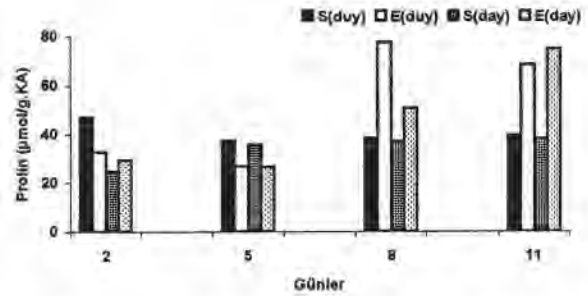
Yaprak örneklerinde prolin miktarlarındaki değişimler Şekil 3'de gösterilmiştir. Duyarlı çeşidin sağlam yapraklarında dayanıklı çeşite göre daha fazla prolin bulunmuştur. Hastalandırılmış duyarlı çeşidin yapraklarında 2. ve 5. günlerde prolin miktarlarında sağlam bitkilerin yapraklarına göre azalma olduğu tespit edilmiştir. Dayanıklı çeşitte sağlam yaprak örneklerinde duyarlı çeşidin yaprak örneklerinden daha az prolin bulunmuştur. Her iki çeşitte de sağlam bitkilere göre hasta bitkilerde yapraklarda 5. günde daha az prolin birikliği tespit edilmiştir. Hastalığın daha da ilerlediği 8 ve 11. günlerde ise hem duyarlı hem de dayanıklı çeşitlerde prolin miktarlarında önemli artışlar bulunmuştur. Duyarlı çeşidin hasta yapraklarında en fazla prolin (77,38±2,43µmol g<sup>-1</sup> KA) 8. günde bulurken, 11. günde 68,34±1,69 µmol g<sup>-1</sup> KA' e azalmış, dayanıklı çeşitte ise 8. günde 50,64 ±1,74 µmol g<sup>-1</sup> KA olan prolin miktarı 11. günde daha da artmıştır (74,81±0,92 µmol g<sup>-1</sup> KA).



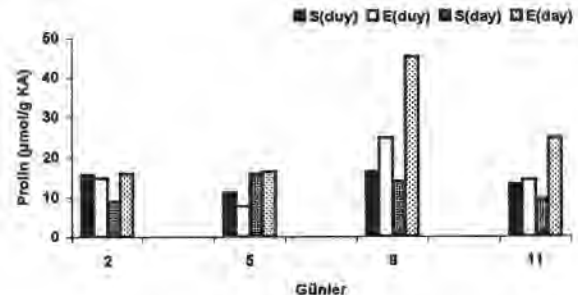
Şekil 2. Sağlam ve *Ascochyta rabiei* ile inokule edilmiş duyarlı (Canitez 87) ve dayanıklı (ILC 195) nohut bitkilerinin yapraklarında % kuru madde değişimi [S (duy): Sağlam duyarlı, E (duy): Enfekteli duyarlı, S (day): Sağlam dayanıklı, E (day): Enfekteli dayanıklı]

Gövde örneklerinde prolin miktarlarındaki değişimler Şekil 4' de gösterilmiştir. Duyarlı ve dayanıklı çeşitlerin sağlam gövde örnekleri karşılaştırıldığında, duyarlı çeşidin gövdelerinde prolin miktarının nispeten daha fazla olduğu bulunmuştur.

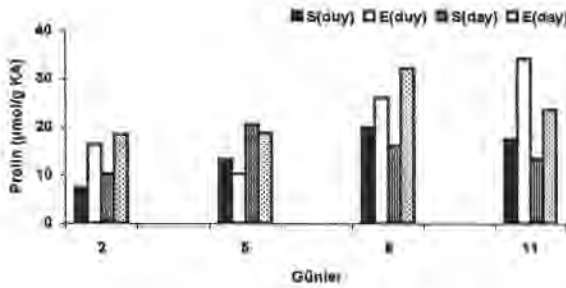
Enfekte edilen duyarlı ve dayanıklı çeşitlerin gövde örneklerinde prolin miktarları bakımından önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Duyarlı çeşidin enfekte edilen gövdelerinde beşinci güne kadar önemli azalmalar meydana gelirken (sırası ile 14,82±0,45; 7,79±0,17µmol g<sup>-1</sup> KA), 8. günde en fazla prolin (24,79±0,86µmol g<sup>-1</sup> KA) birikiminin meydana geldiği ve 11. günde ise sağlam bitkilere göre daha fazla prolin (14,37±0,23µmol g<sup>-1</sup> KA) bulunmasına rağmen 8. güne göre daha az olduğu tespit edilmiştir. Dayanıklı çeşidin gövdelerinde ise başlangıçta prolin birikimi fazla değil iken ilerleyen zamanla birlikte prolin miktarları enfekte edilen gövdelerde artmıştır. En fazla prolin 8. günde 45,17±0,33µmol g<sup>-1</sup> KA iken 11. günde bu miktar 24,79±1,52µmolg<sup>-1</sup> KA dir.



Şekil 3. Sağlam ve *Ascochyta rabiei* ile inokule edilmiş duyarlı (Canitez 87) ve dayanıklı (ILC 195) nohut bitkilerinin yapraklarında prolin değişimi [S (duy): Sağlam duyarlı, E (duy): Enfekteli duyarlı, S (day): Sağlam dayanıklı, E (day): Enfekteli dayanıklı]



Şekil 4. Sağlam ve *Ascochyta rabiei* ile inokule edilmiş duyarlı (Canitez 87) ve dayanıklı (ILC 195) nohut bitkilerinin gövdelerinde prolin değişimi [S (duy): Sağlam duyarlı, E (duy): Enfekteli duyarlı, S (day): Sağlam dayanıklı, E (day): Enfekteli dayanıklı]



Şekil 5. Sağlam ve *Ascochyta rabei* ile inokule edilmiş dayanıklı (ILC 195) ve duyarlı (Canitez 87) nohut bitkilerinin köklerinde prolin değişimi [S (duy): Sağlam duyarlı, E (duy): Enfekteli duyarlı, S (day): Sağlam dayanıklı, E (day): Enfekteli dayanıklı]

Kök örneklerinde prolin miktarlarındaki değişimler Şekil 5' de gösterilmiştir. Duyarlı ve dayanıklı çeşitlerin sağlam kök örnekleri karşılaştırıldığında, duyarlı çeşidin köklerinde de prolin miktarı nispeten daha fazla bulunmuştur. Enfekte edilen duyarlı ve dayanıklı çeşitlerin kök örneklerinde prolin miktarları bakımından önemli farklılıklar tespit edilmiştir.

Çeşitlerin sağlam kök örnekleri prolin miktarları bakımından karşılaştırıldığında 2. ve 5. günlerde dayanıklı çeşidin kök örneklerinde daha fazla prolin bulunurken, 8. ve 11. günlerde duyarlı çeşidin köklerinde prolin daha fazla bulunmuştur. Duyarlı çeşidin enfekte edilen bitkilerinde 5. günün dışında kalan günlerde önemli prolin artışları tespit edilmiştir. En fazla prolin 11. günde bulunmuştur ( $34,29 \pm 0,69 \mu\text{mol g}^{-1} \text{KA}$ ). Dayanıklı çeşidin enfekte edilen bitkilerinde ise en fazla prolin 8. günde bulunmuştur ( $32,21 \pm 0,46 \mu\text{mol g}^{-1} \text{KA}$ ).

Bitkiler, biyotik ve abiyotik herhangi bir stres faktörü ile karşılaştıklarında biyokimyasal ve fizyolojik olarak bazı tepkiler ortaya çıkmakta; bazı kimyasal bileşiklerin sentezlenmesi söz konusu olmaktadır. Stres koşullarında çeşitli osmoregülatörler veya antimikrobiyal özellik gösteren maddeler, genotiplere göre değişen miktarlarda, bitki bünyesinde sentezlenmektedir. Bu mekanizma, bitkilerin hastalık etmenine karşı gösterdiği dayanıklılığın en önde gelen nedenlerden birini oluşturmaktadır (Sequeira 1983).

Bir patojenle enfekte olan bitkilerde etmene karşı mikrobiyal stres bileşikleri meydana geliş düzeylerine bağlı olarak hastalığa karşı farklı dayanım gösterirler (Sequeira 1983). Çeşitli streslerde ortaya çıkan osmotik koşulların etkisi ile prolin, glisinbetain gibi osmoregülatörler azalan su potansiyeline karşı değişim gösterirler (Lone ve ark., 1987; Grumet ve ark., 1987). Bitkilerin çeşitli organlarında su eksikliğinin meydana gelmesi ile fotosentez ve azot alımı, proseslerinin etkilendiği bildirilmektedir (Iringoyen ve ark., 1992). Su eksikliğinin şiddetine göre prolinin tedricen artış gösterdiği ve protein sentezinin inhibe edildiği bildirilmektedir (Aspinal ve Paleg 1981). Stres koşullarında artan prolin miktarının dehidrasyonu etkilediğini belirten araştırmacılar, prolinin muhtemelen fosfolipidlerin etrafını çeviren hidrasyon

tabakasında etkili olduğunu ve fosfolipidin baş kısmı ile kuyruk arasında bir bölgeye girdiğini bildirmektedirler (Rudolph ve ark., 1986). Turgor ve prolin birikimi arasındaki ilişkinin bitki dokularının zarar görmesini engelleyecek yararlı bir sinyal olabileceği ileri sürülmektedir (Iringoyen ve ark., 1992). Su eksikliğinde meydana gelen dehidrasyon etkisinin oransal su içeriği ile incelenmesinin daha etkin olacağı çeşitli araştırmacılar tarafından ileri sürülmektedir (Jones ve ark., 1993; Morgan 1992). Her ne kadar çeşitli streslerde ve çeşitli bitkilerde kuru maddedeki değişimler, % O. S. I ve prolin ile ilgili değişimler araştırmacılar tarafından ele alınmış olmasına rağmen hastalık stresine karşı bu parametrelerin incelenmesine dair çok az çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada ele alınan *Ascochyta* Yanıklığına duyarlı ve dayanıklı nohut çeşitlerinde enfeksiyona bağlı olarak gelişen hastalık sırasında çeşitlerin % O. S. I ve prolin değişimlerinin farklı reaksiyon verdiği ilk kez tarafımızdan belirlenmiştir.

Duyarlı ve dayanıklı nohut çeşitlerinin yaprak kuru madde miktarları karşılaştırıldığında her iki çeşitte de enfekteli yapraklarda daha fazla kuru madde bulunduğuna ve hastalığın ilerlediği 8 ve 11. günlerde artış olduğu belirlenmiştir. Kuru maddedeki artış dayanıklı çeşitte 11. günde daha fazladır. %O.S.I duyarlı çeşidin enfektersiz bitkilerinde daha yüksek, dayanıklılığın enfektersiz bitkilerinde ise daha düşük bulunmuştur.

Diğer taraftan bitki dokularında biriken prolinin çözülebilir azot kaynağı olduğu ve prolin sentezinin protein hidrolizi ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Iringoyen ve ark., 1992). Prolin ve total karbonhidrat birikimi dokuların su kaybında meydana gelebilecek zararı engellemektedir. Prolin birikimi ve protein denaturasyonu ile hücresel pH kontrolü çeşitli bitki dokularında araştırılmaktadır. Strese bağlı proteolizisin meydana gelmesi bu arada ribulobisfosfat karboksilazın parçalanması sonucunda biriken prolin azot kaynağı olarak kullanılmaktadır (Venekamp 1989). Aynı zamanda parçalanmış proteinlerden meydana gelen serbest amino asitler de prolin sentezlenebilir. Prolin önemli miktarlarda yapraklarda sentezlendikten sonra gövde ve köklere taşınır (Venekamp ve Koot 1988; Venekamp ve ark., 1989). Çeşitli araştırmaların sonuçlarına göre yaprak su potansiyelinin azalması ile net fotosentez ve fotosolunumda azalma olduğu belirlenmiştir (Goyal 1987).

Duyarlı nohut çeşidinin sağlam yapraklarında daha fazla prolin bulunmuştur ve enfekteli yapraklarda 8. günde en fazla prolin artışı meydana gelmiştir. Dayanıklı nohut çeşidinde ise prolin en fazla 11. günde tespit edilmiştir. Bu durum *Ascochyta* Yanıklığına dayanıklı nohut çeşidinde hastalığın daha geç belirmesinin bir sonucu olarak protein bozulmalarının neticesinde prolin aminoasidinin birikiminin daha sonraki aşamada ise N kaynağı olarak kullanılmasının bir sonucu olarak ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir.

Kurağa dayanıklılığı farklı iki pirinç çeşidinde kurağın glikolat yolu maddelerine etkisi karşılaştırıldığında duyarlı çeşitte kuraklığın başlaması ile artan metabolit miktarları daha sonra azalırken aynı durum dayanıklı çeşitte ilerleyen günlerde ortaya çıktığı belirlenmiştir (Goyal 1987). İki çeşitte de su eksikliği arttıkça glikolat miktarında

azalmalar olurken glikolat oksidazın aktivitesi artmıştır. Araştırmacının sonuçlarına göre su stresi glikolat yolunu stimüle etmektedir. Glikolat yolunun stres koşullarında aktivasyonu fotosentetik yapıların korunmasında etkili olabileceği ileri sürülmektedir (Goyal 1987). Nitekim her iki nohut çeşidinde de prolin miktarlarının enfekteli bitkilerde birikmesi zaman olarak önemli bazı farklılıklar göstermektedir.

Çözülebilir karbonhidrat içeriği prolin birikimi ile ilişki bulunmuştur (Joyce ve ark., 1992). Genel olarak patojenler ile enfeksiyondan sonra enfekteli dokularda karbonhidrat miktarında artış olduğu, bununda fotosimilatların enfeksiyon noktalarına birikmesinden kaynaklandığı bilinmektedir (Zaki ve Durbin, 1965). Hasta bitkilerde fotosentez sonucu meydana gelen ürünlerin ve ayrıca besin maddelerinin enfektelilerden yapraklardan enfekteli olanlara doğru hareketi teşvik edilmektedir. Bunun tersine enfekteli dokulardan madde çıkışı büyük ölçüde azalmaktadır (Goldman ve ark., 1967, Misaghi 1988). Nitekim Dolar ve Gürcan (1995) *A. rabiei*'ye dayanımı fazla olan nohutlarda karbonhidrat birikiminin duyarlı çeşitte daha önce enfekteli yapraklarda başladığını tespit etmiştir. Karbonhidrat miktarı enfeksiyon şiddeti ve hastalığın gelişme devresine bağlı olarak değişmekte (Ingman 1962, Hwang ve ark., 1989), dokuda artan karbonhidrat miktarlarına bağlı olarak solunumda artmaktadır (Dolar ve Gürcan 1995).

Stres koşullarında bitkilerde karbonhidratların artışı ile prolin artışının paralellik gösterdiği bildirilmektedir (Jones ve ark., 1993). Bu araştırmanın sonuçlarına göre de enfeksiyonla birlikte yaprak, gövde ve köklerde prolin miktarlarında artış olduğu bulunmuştur. Dayanıklı çeşitin gövde ve köklerinde prolin birikimi daha fazla olmasına rağmen yapraklarda prolin birikimi duyarlı nohut çeşidinde daha fazladır. Sitoplazmada prolin veya glisinbetainin artmasıyla daha az uyumlu solutlerin ( $K^+$ , glutamat veya trehaloz) konsantrasyonlarının indirgenmesine bağlı olarak sitosolik su hacimi artmaktadır (Samaras ve ark., 1995). Dışarıdan uygulanan prolinin yüksek bitkilerde osmotik koruyucu olabileceği belirlenmiştir (Handa ve ark., 1986). Su potansiyelinin düşük olduğu durumlarda prolinde artışlar olduğu çeşitli araştırmaların sonuçlarından anlaşılmaktadır (Samaras ve ark., 1995). Nitekim, her iki nohut çeşidinde de % O. S. I' nin daha az olduğu enfekteli bitkilerde prolin miktarı yaprak, gövde ve köklerde daha fazla bulunmuştur. Su eksikliğine bağlı olarak prolin miktarında artış her iki nohut çeşidinde de tespit edilmiştir. Farklı bitkilerde su miktarına bağlı olarak yapraklarda değişen prolin miktarlarını inceleyen Patel ve Vora (1985) prolin artışının düşük su miktarı içeren yapraklarda azalmaya ve su miktarı yüksekse türe bağlı olarak arttığını tespit etmişler ve fizyolojik kuraklığı belirlemede prolin ölçümünün tek başına yeterli olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

## Sonuç

Dayanıklı çeşitte hastalığın daha sonra ortaya çıkması ve semptomların daha az olması nedeni ile, yapraktaki prolin miktarındaki artış duyarlı çeşittekenden daha geç olmaktadır. Bu da iki çeşidin *Ascochyta Yanıklığına* dayanımlarının farklı olmasından

kaynaklanmaktadır. Prolin miktarlarındaki değişimler önemli olmakla birlikte, bu konuda glikolat yolu ile ilgili daha ileri araştırmaların gerektiğini düşünmekteyiz.

## Kaynaklar

- Anonymous, 1998. Tarımsal Yapı 1996. T. C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, Ankara, s. 591.
- Aspinall D. and L. G. Paleg, 1981. Proline accumulation: physiological aspects. In L.G. Paleg Aspinall D, eds. The physiology and biochemistry of drought resistance in plants. Academic Press, Sydney, Australia, s. 206- 241.
- Bates L. S., R. P. Walderen, I. D. Teare, 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-208.
- Dolar, F. S., A. Gürcan, 1993. The role of the phytoalexins on the resistance to Chickpea Blight (*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.) in Chickpeas. J. Turk. Phytopatho, 22: 17-26.
- Dolar, F. S., A. Gürcan, 1995. Nohut Antraknozu (*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.)'na dayanıklı ve duyarlı nohut hatlarında fizyolojik farklılıklar. Tr. J. of Agricul. and Forestry 19: 31- 37.
- Erdiller G., C. J. Smith, F. S. Dolar, B. Akbaş, Y. Z. Katircioğlu, İ. Ö. Elibüyük ve E. Seçer, 1998. *Ascochyta rabiei*'ye dayanıklı ve duyarlı nohut çeşitlerinde Beta-1, 3- gluconase ve chitinase aktivitelerinin belirlenmesi. Türkiye VIII. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, 21- 25 Eylül 1998, ANKARA, 95- 100.
- Eser, D. ve H. Soran, 1978. Yerli ve yabancı kökenli nohut çeşitlerinin Orta Anadolu çevre koşullarında erkencilik, verimlilik ve hastalıklara dayanıklılık yönünden mukayeseli incelenmesi. A. Ü. Z. F. Yayın No: 684, Ankara.
- Goldman, R. N., Z. Kraly and M. Zaitlin, 1967. The biochemistry and physiology of infectious plant disease. D. Van Nostrand Company, Inc. Princeton, New Jersey, Toronto, London, Melbourne.
- Goyal A. 1987. Effects of water stress on glycolate metabolism in leaves of rice seedlings (*Oryza sativa*). Physiol. Plantarum 69: 289- 294.
- Grumet R., S. A. Rulon and A. D. Hanson, 1987. Growth and yield of barley isopopulations differing in solute potential. Crop Science 27: 991-995.
- Handa, S., A. T. Handa, P. M. Hasegawa, and R. A. Bressan, 1986. Proline accumulation and the adaptation of cultured plant cells to stress. Plant Physiol. , 80: 938- 945.
- Hwang, B. K., K. D. Kim and B. K. Young. 1989. Carbohydrate composition and acid invertase activity in Rice leaves infected with *Pyricularia oryzae*. J. Phytopathology, 125: 124-132.
- Ingman, J. L. 1962. Induced and constitutive isoflavonoids from stems of Chickpeas (*Cicer arietinum* L.) inoculated with spores of *Helminthosporium carbonum* Mullstrup. Phytopath. Z. 87: 353- 367.
- Iringoyen J. J., D. W. Emerich and M. Sanchez-Diaz, 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiol. Plantarum 84: 55- 60.
- Jones, H. G., T. J. Flowers and M. B. Jones, 1993. Plants under stress. Biochemistry, Physiology and Ecology and their application to plant improvement. Cambridge University Press, 257s.

- Joyce P. A., D. Aspinall, and L. G. Paleg, 1992. Photosynthesis and accumulation of proline in response to water response. *Aust. J. Plant Physiol.*, 19: 249- 261.
- Kuo , C. G., H. M. Chen and L. H. Ma, 1986. Effect of high temperature on proline content in tomato floral buds and leaves. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 111(5): 746- 750.
- Liu C. H., I. Frmmhold, and S. Kluge, 1992. Increase of proline contents in tobacco plants after virüs infection. *J. of Plant Dis. and Prot.*, 99: 564- 568.
- Lone, M. I., J. S. H. Kueh, R. G. Wyn Jones and S. W. J. Bright, 1987. Influence of proline and glycinebetain on salt tolerance of cultured barley embryos. *J. of Experimental Botany* 38: 479- 490.
- Misaghi, I. J. 1988, *Physiology and biochemistry of plant-pathogen interaction*. Plenum Press , New- York, London.
- Morgan, J. M. 1992. Osmotic components and properties associated with genotypic differences in osmoregulation in Wheat. *Aust. J. Plant Physiol.*, 19: 67- 76.
- Nikolopoulos L. and Y. Manetas, 1991, *Compatible solutes and in vitro stability of Salsola soda enzymes proline in compatibility*. *Phytochem.*, 30(2): 411- 413.
- Ochsenbauer, S. A. and J. Ochsenbauer, 1988. Levels of free proline in ornamental plants: I. Influence of plant age, leaf region in *Saintpaulia* and *Chrysanthemum*. *J. Plant Physiol.*, 132: 758- 761.
- Öncel, I. 1991. Düşük sıcaklıklarda Lahana (*Brassica oleracea* L.) serbest prolin birikimi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Dergisi*, 3 (1): 25- 43.
- Öncel, I., A. S. Üstün, and Y. Keleş, 1996. Proline accumulation in peppers (*Capsicum annuum* L.) resistant and susceptible to root rot (*Phytophthora capsici* Leon.) . *Tr J . of Botany* 20: 489- 495.
- Patel J. A., and B. Vora, 1985. Free proline accumulation in drought- stressed plants. *Plant and Soil* 84: 427- 429.
- Rudolph, A. S., J. H. Crowe and L. J. Crowe, 1986. Effects of three stabilizing agents-proline, betaine and trehalose- on membrane phospholipids. *Arch. Biochem. Biophys.* 245, 134- 143.
- Samaras, Y., R. A. Bressan, L. N. Csonka, M. G. Garcia-Rios, ve ark., 1995. Proline accumulation during drought and salinity, in *Environmental plant metabolism* (ed. Smirnov, N.), Bios Scientific Pub. , OXFORD. s.161- 187.
- Sequeira, L. 1983. Mecanism of induced resistance in plants. *Ann. Rev. Microbiol.*, 37: 51- 79.
- Singh, K. B., G. C. Hawtin, Y. L. Nene and M. V. Reddy, 1981. Resistance in Chickpeas to *Ascochyta rabiei*. *Plant Disease*. 65: 586- 587.
- Singh, K. B. and M. V. Reddy, 1989. Genetics of resistance to *Ascochyta* blight in four Chickpea lines. *Crop Sci.* 29: 657- 659.
- Smart R. E. and G. E. Bingham, 1974. Rapid estimates of relative water content . *Plant Physiol.*, 53: 258- 260.
- Stewart C. R. and G. Voetberg, 1985. Relationship between stress induced ABA and proline accumulations and ABA- induced proline accumulation in excised Barley leaves. *Plant Physiol.*, 79: 24- 27.
- Taylor, A. A., J. D. E. Felice and D. C. Havill, 1982. Nitrogen metabolism in *Poterium sanguisorva* during water stress. *New Phytologist.* 90: 19- 25.
- Venekamp J. H. and J. T. M. Koot, 1988. The sources of free proline and asparagine in field bean plants , *Vicia faba* L. , during and after a short period of water withholding. *J. Plant Physiol.*, 132: 102- 109.
- Venekamp J. H., J. E. M. Lampe and J. T. M. Koot, 1989. Organic acids as sources for Drought- induced proline synthesis in field bean plants, *Vicia faba* L. *J. Plant Physiol.*, 133: 654- 659.
- Venekamp J. H. 1989. Regulation of cytosol acidity in plants under conditions of drought. *Physiol. Plantarum* 76: 112- 117.
- Weigand , F., J. Köster, H. C. Weltzien and W. Barz, 1986. Accumulation of phytoalexins and isoflavone glucosides in a resistant and a susceptible cultivar of *Cicer arietinum* during infection with *Ascochyta rabiei*. *J. Phytopathology.* 115: 214- 221.
- Zaki, A. I. and R. D. Durbin, 1965. Effect of Bean Rust on the translocation of photosynthesis products from diseased leaves. *Phytopathology.* 53: 528- 529.