

KÖK BAKTERİLERİ TARAFINDAN KONUKÇU BİTKİDE HASTALIKLARA KARŞI SİSTEMİK DAYANIKLILIĞIN UYARILMASI

Emek ASLAN

Hatice ÖZAKTAN

**Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü
35100 Bornova-İzmir/TURKEY**

ÖZ: Bitkiler patojen saldırılarına karşı, spesifik bir biyotik uyarıcının tetiklemesiyle aktive olabilen savunma mekanizmalarına sahiptir. Non-patojenik kök bakterilerinin spesifik strainleri bitkilerde Uyarılmış Sistemik Dayanıklılık (ISR) adı verilen ve fenotipik olarak patojen odaklı sistemik uyarılmış dayanıklılıkla (SAR) benzeşen bir dayanıklılığın ortaya çıkmasını sağlarlar. ISR pek çok fungal, bakteriyel ve viral etmene karşı Arabidopsis'te ve çeşitli konukçu bitkilerde denenmiş ve etkili olduğu saptanmıştır. SAR'ın aksine kök bakterisi odaklı ISR, salisilik asit birikiminden ve hastalık oluşumu ile ilgili proteinlerin gen aktivasyonundan bağımsızdır. ISR jasmonik asit ve etilenle bağlantılıdır ve NPR1 geninin aktivasyonuna dayanır. Tarla koşullarında da etkili olan ISR bitki hastalıklarıyla biyolojik savaşta konukçu üzerinden çalışan doğal bir mekanizma olarak ortaya çıkmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Uyarılmış sistemik dayanıklılık, bitki gelişimini uyarıcı kök bakterileri, biyolojik savaş, sistemik kazanılmış dayanıklılık.

INDUCTION OF SYSTEMIC RESISTANCE BY RHIZOSPHERE BACTERIA IN HOST PLANT AGAINST DISEASES

ABSTRACT: Plants have the ability to acquire an enhanced level of resistance to pathogen attack after being exposed to specific biotic stimuli. Specific strains of nonpathogenic rhizobacteria can induce a resistance in plants named rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) that is phenotypically similar to pathogen-induced systemic resistance (SAR). ISR has been demonstrated and observed to be effective against fungi, bacteria and viruses in Arabidopsis and several host plants. In contrast to SAR this rhizobacteria-mediated ISR response is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene activation. ISR requires responsiveness to jasmonate and ethylene and is dependent on NPR1. ISR is effective under field conditions and offers a natural mechanism for biological control of plant diseases.

Keywords: Induced systemic resistance, plant growth promoting rhizobacteria, biological control, systemic acquired resistance.

GİRİŞ

Bitkisel üretimde karşılaşılan hastalıklarla savaşmak için başvurulan bazı yöntemler olduğu bilinmektedir. Bu yöntemler; yasal önlemler, kültürel önlemler, fiziksel önlemler, kimyasal önlemler, biyolojik savaş, bütünleşik savaş başlıkları altında sıralanabilir. Uyarılmış sistemik dayanıklılık (Induced Systemic Resistance-ISR) bu yöntemlerden biyolojik savaşın bir alt konusudur. Biyolojik Savaş, kısaca; bitki hastalıklarıyla savaşta canlı organizmaların araç olarak kullanılmasıdır.

Dünyada ve ülkemizde hastalık ve zararın önlenmesi amacıyla her yıl tonlarca pestisit kullanılmaktadır. 1995 yılında dünyada kullanılan pestisit niceliği aktif madde olarak 2.5 milyon tona ulaşmış bulunmaktadır. Türkiye’ de ise bu değer 1998 yılında 14 bin ton olarak saptanmıştır. Tarım ilaçlarının 150 yıla varan geçmişi boyunca ilaç kullanımı her geçen yıl artarak bugün yukarıda anılan değerlere ulaşmıştır (Bora ve Özaktan, 1998). Tarım ilaçlarının etkisinin gözle hemen görülür nitelikte oluşu üreticinin yıllar boyu ilaçlı savaşıma yönelmesine neden olmuştur. Ancak, özellikle eğitimsiz üreticilerin elinde tarım ilaçları, bugün, yarardan çok zarar getirmeye başlamıştır. Tarım ilaçlarının bu tür risklerine ek olarak insanoğlunun neden olduğu kazalar da zaman zaman pestisit felaketlerine dönüşebilmektedir. Hindistan’ın Bhopal bölgesinde bir tarım ilacı fabrikasında ortaya çıkan sızıntının 2000 den çok insanın ölümüne ve 200 bin insanın kör kalmasına neden olduğunu anımsamak tehlikenin boyutunu vurgulayabilmek için yeterlidir. Ayrıca gelişmekte olan ülkelerde her yıl 10 binden çok insanın tarım ilaçlarıyla zehirlendiği bilinmektedir (Bora ve Özaktan, 1998). Bu gibi nedenlerle gelişmiş ülkelerde tarım ilaçlarına karşı çevreci hareketin başını çektiği bir kamuoyu oluşmaktadır. Bu oluşum uluslararası boyutta etkili olmaya başlamıştır. Böylece geçen yüzyılda bitki hekimliğinin gözdesi durumunda olan kimyasallar dışlanmaya başlamıştır.

Tarım ilacı kullanımının getirdiği bu sorunlar araştırmacıları başka savaşım yöntemlerinin geliştirilmesi gerektiği noktasına getirmiştir. Bir anlamda yararlı ve zararlı organizmaların doğada belirli bir denge içerisinde bulunmaları anlamına gelen doğal denge, hastalıkların çıkışında da belirleyici olmaktadır. Doğada bitki patojenleri üzerinde antagonistik etkinin zayıflaması ya da ortadan kalkması hastalığın çıkışına ya da şiddetlenmesine neden olabilmektedir. Aslında biyolojik savaş doğada kendiliğinden işleyen bir sistemdir.

Biyolojik savaş, hastalık etmenleriyle antagonistik organizmler arasındaki etkileşimin bir ürünü olarak ortaya çıkar. Bu etkileşim tipleri; antibiyosis, yarışma, hiperparazitizm, hipovirulens, uyarılmış dayanıklılık, çapraz koruma şeklinde sıralanabilir. Bu altı etkileşim sistemini kısaca açıklamak ve örnek vermek gerekirse; antagonistlerin metabolik salgılarıyla patojenlerin gelişmelerini engellemeleri ya da

patojeni öldürme durumuna antibiyosis denmektedir. Bu metabolik salgılar toksinler, antibiyotikler ve enzimler olabilir. Yarışma yani rekabet yoluyla biyolojik savaşta, bir ortamda patojen ve antagonistik organizma aynı faktöre gereksinim duyar ve bu faktör de sınırlı bulunursa burada bir rekabet ortamı doğar. Bu yarışma çeşitli besin maddeleri üzerinde olabileceği gibi yer açısından da olabilir. Doğada çok yavaş işleyen bir antagonizm biçimi olan hiperparazitizm tipi etkileşimde ise antagonist, patojen fungusu parazitlemektedir. Yine bir biyolojik savaş mekanizması olarak hipovirulens ise düşük hastalandırma yeteneği genlerinin yüksek derecede hastalandırma genleri taşıyan organizmalara aktarılması sonucunda bu virulent patojenlerin hastalık oluşturamaz duruma gelmesi temeline dayalı bir ilişki tipidir. Çapraz koruma yoluyla biyolojik savaş mekanizmasına örnek olarak da turuncgillerde Tristeza virusunun biyokontrolü verilebilir. Burada durumu, yalın olarak belirtmek gerekirse; Tristeza virusunun düşük virulensli ırkıyla turuncgil plantasyonları patojenik ırk bahçeye girmeden önce bulaştırılmaktadır. Ağaçlara daha sonradan taşınan virulent virus ırkı tutunmadığı için ağaçlarda hastalık belirtisi oluşmamaktadır.

Bu makalenin konusunu oluşturan uyarılmış dayanıklılık sistemi ise diğer antagonistik ilişki tiplerinden ayrı olarak konukçu üzerinden sağlanan bir biyolojik savaş olanağını kapsar. Antagonistin kimi salgıları ya da içerdiği kimi kimyasal maddeler konukçu bitkide patojene karşı dayanıklılık sitemlerinin çalışmasını ya da harekete geçmesini sağlar. Konukçunun artan savunma etkinliği patojeni konukçuda engeller. Özellikle, bitki köklerini kolonize eden non-patojenik kök bakterileri hastalıkları baskılama ve konukçu bitkide sistemik dayanıklılığı uyarma (ISR) özellikleri yönünden ön plana çıkmıştır.

Bitkilerin çeşitli patojenlere karşı canlı ve cansız elemanlarla uyarılmış korunması Chester (1933)'ın "Kazanılmış Fizyolojik Bağışıklık" terimini önerdiği 1930'lu yıllardan beri bilinmektedir. Uyarılmış dayanıklılık olgusunu tanımlamak üzere "Kazanılmış Sistemik Dayanıklılık" (Ross, 1961), "Taşınan Dayanıklılık" (Hurbert ve Helton, 1967) ve "Bitki İmmünizasyonu" (Tüzün ve Kuc, 1991) gibi terimler kullanılmıştır.

Bütün bitkiler patojen saldırılarına karşı aktif savunma mekanizmalarına sahiptir. Bu mekanizmalar, bitki bir virulent patojen tarafından infekte edildiğinde sekteye uğrarlar. Bunun sebebi patojenin, bitkide dayanıklılık mekanizmalarının harekete geçmesini önlemesi ya da aktive olmuş savunmanın etkilerini önlemesidir. Eğer savunma mekanizmaları bitki patojeni infeksiyonundan önce başlatılabilirse hastalık azaltılabilir. Uyarılmış dayanıklılık bitkinin uygun şekilde teşvik edildiğinde oluşturduğu savunma kapasitesinin artırılması durumudur (Kuc, 1982; 1995). Uyarılmış dayanıklılık, bitkinin geniş bir patojen ve zararlı dizisine karşı uygun bir

uyarma sonucu savunma kapasitesi artışı olarak da tanımlanır (Ramamorthy ve ark., 2001). Bu tanımlamaların yanında uyarılmış dayanıklılık, olmayan bir dayanıklılığın yaratılması değil pasif durumdaki dayanıklılık mekanizmalarının harekete geçirilmesidir (Van Loon ve ark., 1998).

UYARILMIŞ DAYANIKLILIK TİPLERİ VE TERMİNOLOJİ

Uyarılmış dayanıklılık, bazı kimyasallar, non-patojenler, patojenlerin avirulent formları, patojenlerin uyumsuz ırkları tarafından ya da çevre koşulları yoluyla enfeksiyonun durdurulduğu durumlarda virulent patojenler tarafından başlatılıyorsa Kazanılmış Sistemik Dayanıklılık (Systemic Acquired Resistance-SAR) olarak adlandırılır. Bu tip uyarılmış dayanıklılık sistemiktir çünkü savunma kapasitesinin artışı sadece birincil olarak infekte edilmiş bitki kısımlarında değil infekte edilmemiş tamamen ayrı dokularda da ortaya çıkar (Ross 1961; Ryals ve ark., 1997; Sticher ve ark., 1997).

Patojenler ve patojenlerin formları dışında Sistemik Kazanılmış Dayanıklılığın canlı uyarıcılarından birisi de fungal hücre çeperi metabolitlerinin elisitörleridir. Cansız öğeler ise Salisilik Asit (SA), ethylene (ET), dichloro-isonikotinik ve benzothiadiazole'dür (Görlach ve ark., 1996; Sticher ve ark., 1997). Hastalık etmenlerinin uyarıcı eleman olarak kullanılması tarla koşullarında başarılı olmamıştır.

SAR ayrıca, salisilik asit (SA) ve hastalık oluşumu ile ilişkili proteinlerin (Pathogenesis related proteins-PR) birikimi şeklinde de tanımlanmaktadır (Ward ve ark., 1991; Uknes ve ark., 1992; Kessman ve ark., 1994; Ryals ve ark., 1996; Sticher ve ark., 1997). SA birikimi gibi dışarıdan yapılan SA uygulamalarının da bazı bitki türlerinde SAR'ı uyardığı saptanmıştır (Gaffney ve ark., 1993; Ryals ve ark., 1996; Van Loon, 1997). Patojen ve SA kaynaklı uyarılmış dayanıklılık çeşitli PR proteinlerinin uyarılması ile ilişkilidir. PR proteinlerinin artışı değişmez bir şekilde öldürücü enfeksiyonlarla bağlantılıdır ve uyarılma durumunun bir işaretidir (Ward ve ark., 1991; Uknes ve ark., 1992; Kessmann ve ark., 1994). Salisilik asit (SA), patojenler tarafından uyarılan SAR'da temel bir sinyal molekülüdür. SA ilk infekte olmuş yapraklardan taşınabilmesine rağmen sistemik uyarılma için öncelikli uzun mesafeli sinyal olarak ortaya çıkmaz (Van Loon 1997). SAR'ın düzeyi ethylene ve jasmonik asit tarafından belirlenmektedir (Van Loon and Antoniw, 1982; Lawton ve ark., 1994; Xu ve ark., 1994; Sticher ve ark., 1997, Wasternack and Parthier 1997; Knoester, 1998). Bu sonuçlar göstermektedir ki SAR'ın uyarılması ve ifadesi, bazı sinyal verici bileşiklerin karşılıklı etkileşimi ile düzenlenmiştir (Van Loon, 1997).

Sistemik dayanıklılık kök bakterileri tarafından uyarılmışsa Uyarılmış Sistemik Dayanıklılık (Induced Systemic Resistance-ISR) olarak ifade edilir (Van Loon ve ark., 1998). Genellikle, patojen uyarısıyla olan korumanın süresi kök bakterileri yoluyla elde edilen korumadan daha kısadır ve patojen ile yapılan ön bulaştırma sonradan hastalık kaynağı haline geçmektedir (Wei ve ark., 1991). Virulent patojenin başarılı infeksiyonu SAR'ı etkinleştirebildiği gibi bazı durumlarda etkinleştirmeyebilmektedir (Dally, 1972; Gras ve ark., 1979; Heath, 1982).

Uyarılmış dayanıklılık her zaman sistemik olarak açıklanamaz. Lokal Kazanılmış Dayanıklılık (LAR), sadece uyarılan dokularda ortaya çıkan dayanıklılıktır. ISR, SAR ve LAR, çeşitli patojen tiplerine etkili olmalarıyla benzerlik gösterirler. ISR ve SAR'da artan savunma kapasitesini tüm bitkiye yayılan sinyal LAR'daki eksiklik olarak ortaya çıkmaktadır (Ramamorthy ve ark., 2001).

KÖK BAKTERİLERİNİN OLUŞTURDUĞU UYARILMIŞ SİSTEMİK DAYANIKLILIK (ISR)

Daha önce de değinildiği gibi, sistemik dayanıklılık kök bakterileri tarafından oluşturuluyorsa Uyarılmış Sistemik Dayanıklılık (ISR) olarak ifade edilir (Van Loon ve ark., 1998).

Kök bakterileri kök yüzeyinde yüksek miktarda bulunan epifitik bakterilerdir. Besinlerini bitki ekzudatları ve lysate'lar oluşturur (Rovira and Davery, 1974; Lynch, 1976). Rizosfer bakterilerinin bazı strainleri bitki gelişimini uyaran bakteriler olarak tanımlanırlar (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR). Çünkü bunların uygulanmaları bitki gelişimini artırır ve stresli koşullar altında bitkiyi ayakta tutar (Lynch, 1976; Kloepper, 1996). Bitki verimliliğinin artışı zararlı mikroorganizmaların ve toprak kökenli patojenlerin PGPR tarafından baskılanması sonucu olarak ortaya çıkar (Schippers, 1988). Floresan pseudomonaslar toprak patojenlerine karşı en etkili kök bakterileri arasındadır (Weller, 1988). Bu bakteriler patojenlere farklı mekanizmalarla antagonistik etki gösterirler. Örneğin, bakteriyel sideroforlar demir yarışması yoluyla patojeni engellerler, antibiyotikler yarışmacı mikroorganizmaları baskırlar, kitinaz ve glukanaz mikrobiyal hücreleri yıkıma uğrattırlar (Schippers, 1988; Bakker ve ark., 1991).

Uyarılmış Sistemik Dayanıklılığın (ISR) Kanıtları

Uyarılmış sistemik dayanıklılığı saptayabilmek için temel prosedürler, bakteriyel süspansiyonu otoklavlanmış toprağa karıştırmak, şaşırtma sırasında kökleri bakteriyel süspansiyona daldırmak ya da ekimden önce tohumları yüksek oranda bakteri ile kaplamaktır (Kloepper, 1996). Konukçu bitkide dayanıklılığın uyarıldığını

ve bu uyarının sistemik olduğunu söyleyebilmek için uyarılmayı sağlayan kök bakterisinin patojenin engellendiği bölgede bulunmaması ve deney süresince bakteri ile çekişmeye giren patojenin tamamen ayrı kalması gerekir. ISR etkisi gösteren kök bakterilerinin *in vitro*'da antagonistik etki göstermesi beklenmemelidir. ISR'nin moleküler düzeydeki kanıtı ise, NPR1 geninden (ISR'de rol oynayan gen) yoksun bitkilerde ISR'nin ortadan kalkmasıdır (Van Loon ve ark., 1998).

Kök patojenlerine karşı sistemik koruma, kök sisteminin bir kısmına bakteri, diğer kısmına ise patojen verilerek gösterilebilir. Bu uygulama Bölünmüş kök (split root) sistemi kullanılarak yapılabilir (Van Loon ve ark., 1998).

Yaprak patojenlerine karşı korumanın test edilmesi daha kolaydır. Çünkü patojenler doğal olarak kök bakterilerinden ayrıldılar. Bununla birlikte, tohumlara veya tohumların ekileceği ya da fidelerin şaşırtılacağı toprağa uygulanan kök bakterileri, bitkinin iç dokularına hareket edebilirler ve bu dokularda varlıklarını sürdürebilirler (Bakker ve ark., 2003).

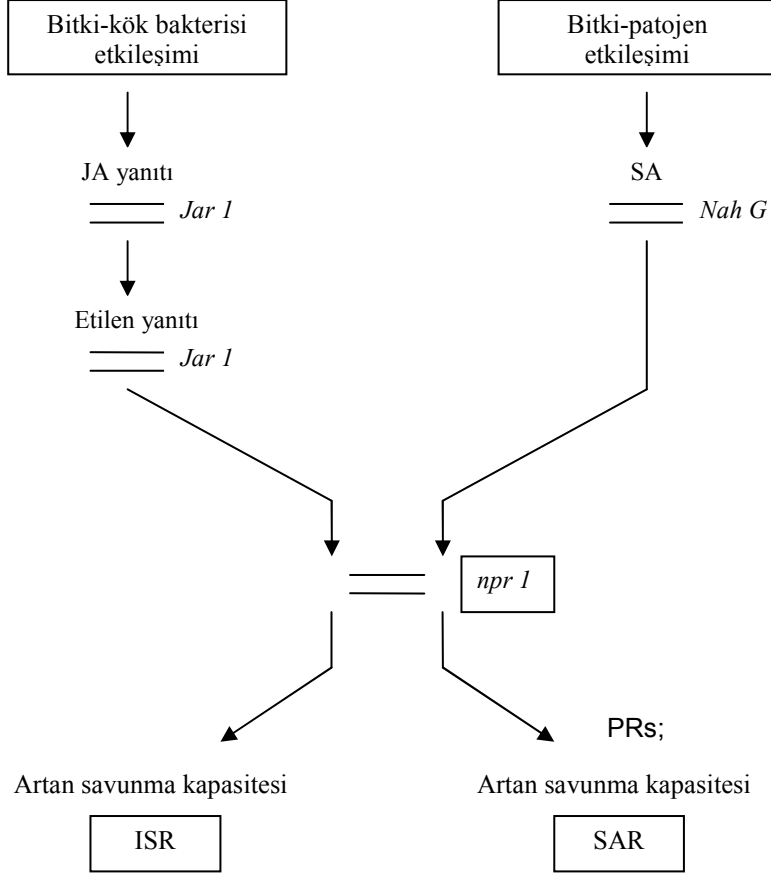
ISR için Kriterler

Sistemik uyarılmış dayanıklılıkla ilgili yapılan çalışmalar sonucunda ISR için bazı kriterler kabul edilmiştir. Bu kriterler ISR ile SAR'ın karakteristik özellikleri bakımından karşılaştırılmasında da kullanılabilir. ISR için kriterler; Uyarılmayı sağlayan ajanın patojene herhangi bir toksik etkisinin olmaması, uyarılmış dayanıklılığın, önceden uygulanan ve gen kodlamasını engelleyen actinomycin D (AMD) gibi spesifik bir inhibitörün etkisiyle önlenmesi, uyarıcının uygulanması ile bitkideki korunmanın ilk atağı arasındaki zaman aralığı gereksinimi, toksik bileşikler için bilinen doza bağlı korelasyonun yokluğu, korumanın spesifik olmaması, sistemik koruma kadar lokal de olması ve bitkinin genotipine bağımlılıktır (Van Loon ve ark., 1998).

ISR ve SAR Arasındaki Benzerlik ve Farklılıklar

ISR ve SAR konukçuda farklı yolları (pathway) uyarmaktadır. SAR, SA düzeyinde artışa ve PR proteinlerinin sentezini kodlayan genlerin aktivasyonuna neden olur. Aksine ISR, SA birikimi ve PR proteinlerinin aktivasyonu ile ilgili değildir. ISR, Jasmonik Asit (JA) ve Etilen'e (ET) bağlı bir savunma reaksiyonunun aktivasyonudur. SAR'da SA düzeyinde artış olmasına karşın ISR'da JA ve ET düzeyinde bir artış saptanamamıştır. Bu sonuçların ışığında ISR'in JA ve ET'e olan bağımlılığı bu hormonların üretimindeki artıştan çok konukçu bitkinin bunlara duyarlılığının artışına bağlıdır (Bakker ve ark., 2003).

Hem SAR'daki SA ve PR proteinlerinin üretiminden hem de ISR'deki JA ve ET üretiminden sorumlu olan gen NPR1 genidir. NPR1 geni uyarılan yola bağlı olarak farklı savunma genlerini aktive etmektedir (Şekil 1).



Şekil 1. *Arabidopsis thaliana*'da ISR ve SAR'a bağlı sinyal oluşumu ve uyarılma yolları (Van Loon ve ark., 1998).

Figure 1. Signal-transduction pathways leading to ISR and SAR in *Arabidopsis thaliana* (Van Loon et al., 1998).

Her iki dayanıklılık tipi de oldukça geniş bir bitki patojeni spektrumuna karşı etkilidir. ISR ve SAR bakteriyel, fungal ve viral hastalıklara karşı etkilidir. Ancak bazı ayrımlar da vardır. Örnek olarak SAR, özellikle mildiyölere karşı ISR'den daha etkilidir. ISR ise, *Alternaria* yanıklıklarına karşı daha etkili bulunmuştur.

ISR'in Bakteriyel Belirleyicileri

Lipopolisakkaritler

Bakteriyel lipopolisakkaritlerin (LPS) bazı konukçu bitkilerde dayanıklılığı uyarma yönünden tetikleyici olduğu bilinmektedir. Karanfilde *fusarium* solgunluğuna karşı *Pseudomonas fluorescens* WCS417'nin sıcaklıkla öldürülmüş bakteri süspansiyonu ya da saflaştırılmış bakteriyel dış membran LPS'leri dayanıklılığı uyarma yönünden canlı bakteriler kadar etkili bulunmuştur (Van Loon ve ark., 1998).

Ancak kök bakterilerinin LPS'i ile elde edilen ISR konukçu bitkiye göre değişmekte ve LPS, ISR'yi belirleyen tek bir özellik olmamaktadır (Van Loon ve ark., 1998; Ramamorthy ve ark., 2001). LPS in ISR'de aktif rol oynaması demirin elde edilebilirliği ile ilişkili olmakta, demirce zengin bir ortamda LPS'in dayanıklılığı uyarda daha aktif rol oynadığı bilinmektedir (Bakker ve ark., 2003).

Sideroforlar

Demir genelde toprakta boldur, ancak suda çözünemeyen bir formda bulunur. Aeroblar ve fakültatif anaeroblar metabolik fonksiyonları için demire gereksinim duyar. Demirin kısıtlı olduğu koşullarda, birçok organizma demir iyonlarına yüksek affinitesi olan, düşük molekül ağırlıklı, salgılanabilir, suda çözünebilir moleküller olan "siderofor"ları üretir. Bu yüksek demir (Fe⁺³) affiniteli moleküller demir iyonlarını bağlayarak bunları hücreye verirler (Bora ve Özaktan, 1998). Sideroforların konukçu bitkide dayanıklılığın uyarılmasındaki rolleri konusundaki çalışmalarda özellikle pyoverdin tipindeki pseudobactin sideroforun ISR'den sorumlu olduğu saptanmıştır (Van Loon ve ark., 1998; Ramamorthy ve ark., 2001).

P. fluorescens WCS374'de izole edilen saf pseudobazifik tek başına turp köklerine uygulandığında dayanıklılığı uyarmıştır (Ramamorthy ve ark., 2001). Ancak araştırmaların sonuçları ışığında sideroforların ISR'deki etkinliğinin demirin sınırlı olduğu koşullarda geçerli olduğu kanıtlanmıştır (Bakker ve ark., 2003).

Salisilik Asit

Bir çok bakteri straininin SA ürettiği bilinmektedir. Örneğin *P. fluorescens* WCS 374 demirin sınırlı olduğu koşullarda bol miktarda Salisilik Asit üretmektedir (Leeman ve ark., 1995).

Salisilik Asite (SA) bağlı yolun uyarılmasını sağladığı düşünülen bir rizobakteryal metabolit, SA'in kendisidir. Ancak yapılan deneysel çalışmalar SA'in ISR ile direkt ilişkili olmadığını kanıtlamıştır. Konuyla ilgili yapılan ilk çalışmalarda, ISR'nin oluşumunda SA'in rolü olduğu düşünülmüştür (Maurhofer ve ark., 1994). *P. fluorescens*'in CHAO straininin demirin sınırlı olduğu koşullarda doğal olarak SA ürettiği ve tütünde ISR'yi uyardığı belirtilmiştir. Bu örneğin tersine *Serratia marcescens*'in SA üretmeyen mutantları tütün ve hıyarda SA üreten doğal strainler kadar dayanıklılığı uyarmıştır. Bir başka çalışmada SA üreten *S. marcescens* straini hem yabancı tütünde hem de NahG geni (SA hidralazı kodlayan gen, SA'in catabole çevriminde görevlidir) eklenmiş tütünde dayanıklılığı uyarmıştır (Press ve ark., 1997). Benzer şekilde *P. fluorescens*'in SA üreten iki straini hem doğal Arabidopsis'te hem de NahG geni aktarılmış Arabidopsis'te dayanıklılığı uyarmıştır. Bu durum *P. fluorescens*'in bu iki straininin Arabidopsis'de SA üretiminin ISR ile ilgisi olmadığını göstermektedir. *P. fluorescens* WCS417r strainiyle ISR oluşumu etilene bağlı sinyal oluşumu ile ilgili iken, SA uygulama noktasındaki SA sinyaline bağlı değildir (Knoester ve ark., 1999).

Düşük molekül ağırlıklı pseudobactin sideroforlar demirin sınırlı olduğu koşullarda WCS374 tarafından üretilmektedir. Yapılan bir çalışmada WCS374'ün pseudobactin mutanti hastalığın baskılanmasında orijinal strain kadar etkili bulunmuştur. Bu nedenle demirin sınırlı olduğu koşullarda WCS374'ün etkililiğinde SA'in sorumlu olduğu düşünülmüştür. Ancak WCS 374 uygulamasından sonra turpta SA'e bağlı bir uyarılmanın aktive olduğunu gösteren bir bulguya rastlanmamıştır. (Hoffland ve ark., 1995).

Antibiyotikler

Bakteriyel bir metabolit olan antibiyotik üretiminin ISR'deki rolü araştırıldığında etkinin bitki aracılığıyla değil direkt patojen üzerine olduğu saptanmıştır. Ancak bu antibiyotiklerin bitkiler üzerinde strese yol açarak dayanıklılığı da uyarabileceği belirtilmektedir. ISR'nin uyarılmasında bir ölçüde etkili olabileceği düşünülen antibiyotiklerle ilgili çeşitli çalışmalar sürmektedir (Bakker ve ark., 2003).

Etilen

Etilen de (ET) bitkide savunma tepkisinin oluşmasında önemli rol oynayan bir sinyal bileşiğidir. ISR oluşumunda ET rolünü araştırmak üzere ET'e duyarlı bir *Arabidopsis* mutanını test edilmiştir. Konukçuda ISR 'yi uyardığı bilinen *P. fluorescens* WCS417'nin bu mutanın bitkide Bakteriye Benek hastalığına karşı dayanıklılığı uyarıya başarısız olduğu saptanmıştır. Bitkideki uyarılma yolunda etilenin habercisi olan, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) uygulaması doğal tip bitkide Bakteriye Benek hastalığına karşı dayanıklılığı kök bakteri straini ile aynı düzeyde uyarmıştır. Bunun yanında sadece doğal tip bitkide değil, NahG geni ile transforme edilmiş *Arabidopsis*'te de dayanıklılık uyarılmıştır (Van Loon, 1998). Bu gözlemler, etilenin ISR oluşumunda spesifik ve gerekli bir aşama olarak algılandığını göstermektedir. Gerçekten de etilenin tek başına uygulanması kök bakterisi strainleriyle aynı düzeyde konukçuda dayanıklılığı uyarmıştır. Bu gözlemler uyarıcı bakterinin etilen üretimini tetiklediğini ya da bitki tarafından etilenin algılanmasını kolaylaştırdığını göstermektedir. (Van Loon ve ark., 1998; Pieterse ve ark., 2001).

Jasmonik Asit

Jasmonik Asit (JA) de değişik savunma tepkilerinde bir uyarıcı olarak görülmektedir. *Arabidopsis*'in JA tepkisinden yoksun mutanını kök bakterisi kökenli ISR oluşturmada başarısız olmuştur. Doğal tip bitkilere methyl-jasmonate (MeJA) uygulandığında dayanıklılığın uyarıldığı saptanmıştır. Bununla beraber MeJa, *etr1* mutant bitkide dayanıklılığı uyarılamamıştır. Aynı durum jar 1 mutant bitkilere ACC uygulamasında da ortaya çıkmış, dayanıklılık uyarılmamıştır. Bu bulgular JA in algılanmasının etilen yanıtından önce gerekli olduğunu göstermektedir. ISR'nin oluşum basamakları incelendiğinde JA'in algılanması etilenden daha önce olmaktadır (Şekil 1). MeJA ve ACC uygulaması *npr1* mutant bitkide dayanıklılığı uyarılamamakta bu da NPR1'in önceliğini ortaya koymaktadır (Van Loon, 1997). ISR sırasında JA sentezinde herhangi bir artış olmamaktadır (Bakker ve ark., 2003).

UYARILMIŞ SİSTEMİK DAYANIKLILIĞA (ISR) ÖRNEKLER

Kök bakterileri bitkilerde fungal, bakteriyel, viral hastalıklara hatta zararlı böcek ve nematodlara karşı dayanıklılığı uyarabilmektedir. Bu etmenlere karşı farklı bitkilerde ve farklı etmenlere karşı uyarılmış dayanıklılığın belirlendiği pek çok örnek verilebilmektedir.

Fungal Hastalıklar

Karanfilde, *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*'ye karşı *Pseudomonas fluorescens* str WCS417R uygulaması karanfilde *Fusarium* solgunluğunu (Van Peer ve ark., 1991), hıyarda *Colletotrichum orbicularae*'ye karşı kök bakteri strainlerinin tohuma uygulanması hıyar antraknozunu ISR yoluyla önemli ölçüde azaltmıştır (Wei ve ark., 1991). Aynı şekilde hıyarda *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*'a karşı *Pseudomonas putida* ve *S. marcescens* sistemik dayanıklılığı uyarımda oldukça etkili bulunmuştur (Liu ve ark., 1995).

Bakteriyel Hastalıklar

Kök bakterilerinin, bakteriyel hastalıklara karşı ISR yoluyla koruma sağladığına ilişkin birçok örnek bulunmaktadır. *P. fluorescens* str97 ile fasulye tohumlarının uygulama görmesi *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*'nın neden olduğu haleli yanıklık hastalığını önlemiştir (Alstrom, 1991). Öte yandan hıyar tohumlarının *P. putida* ve *S. marcescens* ile uygulama görmesi *Erwinia tracheophila*'nın neden olduğu bakteriyel solgunluğu önemli düzeyde engellemiştir (Klopper ve ark., 1993). Benzer şekilde hıyar tohumlarının *P. putida*, *S. marcescens* ve *Bacillus pumilis* ile uygulama görmesi bakteriyel köşeli yaprak lekesi hastalığının toplam lezyon çapını azaltmıştır (Wei ve ark., 1996).

Viral Hastalıklar

Kök bakterileri, mücadelesinde diğer etmenlere oranla daha az kontrol olanağı olan viral hastalıklara karşı da ISR yoluyla etkili olabilmektedir. Bu konudaki örnekler incelenirse, hıyar ve domates tohumları *P. fluorescens* ve *S. marcescens* ile uygulama gördüğünde CMV ile infekteli bitki sayısı azalmış ve belirti oluşumu gecikmiştir (Raupach ve ark., 1996).

Çarpıcı sonuçların alındığı bir diğer örnekte, domateste CMV ye karşı kök bakterileriyle dayanıklılığın uyarılması konusunda yapılan bir çalışmada kök bakterileri domates tohumlarına uygulanıp domates fidelerine CMV ile mekanik inokulasyon yapıldığında bakterizasyon yapılmamış uygulamalara göre belirti gösteren bitkilerin oranı % 32-58 oranında azalmıştır (Zehnder ve ark., 2000).

P. fluorescens str. CHAO'nun toprağa uygulanması durumunda ise tütünde Tütün Nekroz Virusuna karşı bitkilerin ISR uyarılarak korunduğu gözlenmiştir. (Maurhofer ve ark., 1994).

Kök bakterilerinin bitkide farklı tip patojenlere karşı ISR'yi uyararak etkili olabildiğine daha önce değinilmişti. Arabidopsis üzerinde yapılan bir çalışmada fungal ve bakteriyel etmenlere karşı sistemik dayanıklılığın uyarıldığı belirlenmiştir. *A.thaliana*'nın 2 farklı ekotipi ile yapılan çalışmada *P. fluorescens* WCS417R köklere uygulandığında hem *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani* hem de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı sistemik dayanıklılığı uyarabilmiştir. *P. fluorescens* WCS 417R kontrol ile karşılaştırıldığında Arabidopsis bitkisinde *P. syringae* pv. *tomato* infeksiyonunu % 40 düzeyinde, *F. oxysporum* f. sp. *raphani* infeksiyonunu ise % 60 düzeyinde engelleyen en başarılı uygulama olmuştur. Özellikle str. WCS 417R ile uyarılmış yapraklarda *P. syringae* pv. *tomato*'nun kolonizasyonu kontrole göre oldukça düşük bulunmuştur. İnokulasyondan 4 gün sonra kontrolde *P. syringae* pv. *tomato* kolonizasyonu 1 g yaprakta 7×10^8 hücreye ulaşırken 417R ile uygulama görmüş olan yapraklarda aynı sürede 1×10^7 hücreye düşmüştür. Ancak *A. thaliana*'nın 3. bir ekotipinde aynı bakteri straini aynı hastalığa karşı herhangi bir tepki oluşturmamıştır. Bu sonuçlar aynı bitkinin farklı çeşitlerinin SIR açısından tepkilerinin farklı olabileceğini göstermektedir (Van Wees ve ark., 1997).

SONUÇ VE TARTIŞMA

Uyarılmış Sistemik Dayanıklılık hem toprak hem de yaprak patojenlerinin biyolojik savaşımında iş gören etkili bir biyokontrol mekanizmasıdır. Çok sayıda bitki patojenine karşı etkili olmasının yanı sıra, bitkide var olan dayanıklılık mekanizmalarını aktive ettiği için, hastalıklara karşı dayanıklılığın uyarılması son yıllarda bitki patolojisinde etkin bir bitki koruma yöntemi olarak dikkat çekmektedir. Üstelik konukçu bitkide dayanıklılık bir kez tetiklenerek uyarıldıktan sonra koruyucu etki diğer savaşım yöntemlerine oranla, genellikle daha kalıcı olmaktadır.

ISR sadece fungal ya da bakteriyel hastalıklara karşı etkili bir biyokontrol mekanizması olmakla kalmayıp, viruslara hatta nematod ve böceklere karşı da etkili bulunmaktadır. ISR'yi oluşturan kök bakterilerinin bir başka avantajı ise konukçu bitkide gelişme ve verim üzerine olan olumlu etkileridir. Böylece hastalıklara dayanıklılığın yanı sıra bitki gelişimini artırıcı etkilerinin olması bütünlük savaşım yaklaşımındaki üstünlüklerini göstermektedir. Antibiyosis, besin-yer yarışması ve dayanıklılığın uyarılması gibi birbirinden farklı mekanizmaları kullanan kök bakterilerinin kombinasyonu yoluyla aynı konukçuda birden fazla hastalığa karşı biyolojik savaşta sinerjistik etki yoluyla başarı sağlanabilir. Konukçu bitkide dayanıklılığın uyarılması konusundaki son eğilimler bitkide farklı sinyal reaksiyonlarını tetikleyen kök bakterilerini kombine etmenin biyolojik savaşım başarısı açısından daha çekici olduğunu vurgulamaktadır.

Aynı bitkinin farklı çeşitlerinin ISR açısından tepkileri farklı olabilmektedir. Bu nedenle kök bakterilerinin çeşitlerle olan kombinasyonları da ISR'nin başarısını etkileyen faktörler arasındadır.

Sonuçlanmış ve sürmekte olan pek çok çalışmayla ulaşılan bilgilerin ışığında, konukçu bitkide dayanıklılığı uyaran ve bitkide gelişimi uyarma (PGPR) etkileri de olan kök bakterilerinin hastalıklara karşı kullanımının pratiğe aktarılmasına dönük çalışmalar giderek hız kazanmaktadır. Bazı strainlerin preparatları deneme ve uygulama aşamasındadır.

LİTERATÜR LİSTESİ

- Alstrom, S. 1991. Induction of disease resistance in common bean susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere pseudomonads. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 37: 495-501.
- Bakker, P. A. H. M., L. X. Ran, CM. J. Pieterse, and L. C. Van Loon. 2003. Understanding the involvement of rhizobacteria-mediated induction of systemic resistance in biocontrol of plant diseases. *Can. J. Plant Pathol.* 25: 5-6.
- Bakker, P. A. H. M., R. Van Peer, and B. Schippers. 1991. Suppressions of soil-borne plant pathogens by fluorescent pseudomads: mechanisms and prospects. In *Biotic Interactions and Soil-Borne Diseases*, ed. ABR Beemster, GJ Bollen, M Gerlagh, MA Ruissen, B Schippers, et al. Pp. 217-30. Amsterdam: Elsevier.
- Bora, T. ve H. Özaktan. 1998. Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savaş, Prizma Matbaası, İzmir, 205s.
- Chester, K. 1933. Tje problem of acquired physiological immunity in plants. *Quart. Rev. Biol.* 8: 129-327.
- Dally, J. M. 1972. The use of near-isogenic lines in biochemical studies of the resistance of wheat to stem rust. *Phytopathology* 62: 392-400.
- Gaffney, T., L. Friedrich, B. Vernooji, D. Negrotto, and G. Nye, et al. 1993. Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. *Science* 261: 754-56.

- Görlach, J., S. Vorlath, G. Knauf-Beiter, G. Henry, and U. Beckhove. 1996. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *Plant Cell* 8: 629-43.
- Gras, N. A., N. Doke, and J. Kuc. 1979. Suppression of the hypersensitive reaction in potato tubers by mycelial components from *Phytophthora infestans*. *Physiol. Plant Pathol.* 15: 117-126.
- Heath, M. C. 1982. The absence of active defence mechanisms in compatible host-Pathogen interactions. In: Wood, R.K.S (Ed.), *Active Defence Mechanisms in Plants*. Plenum Pres, New York, pp. 143-156.
- Hoffland, E., C. M. J. Pieterse, and J. A. Van Pelt. 1995. Induced systemic resistance in radish is not associated with accumulation of pathogenesis-related proteins. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 46: 309-320.
- Hurbert, J. J., and A. W. Helton. 1967. A translocated resistance phenomenon in *Prunus domestica* induced by initial infection with *Cytospora cineta*. *Phytopathology* 57: 1094-1098.
- Kessmann, H., T. Staub, J. Ligon, M. Oostendorp, and J. Ryals. 1994. Activation of systemic acquired disease resistance. *Eur. J. Plant Pathol.* 100: 359-69.
- Kloepper, J. W. 1996. Host specificity in microbe-microbe interactions. *Bioscience* 46: 406-9.
- Kloepper, J. W., S. Tuzun, L. Liu, and G. Wei. 1993. Plant growth-promoting rhizobacteria as inducers of systemic disease resistance. In: Lumsden, R.D. and J.L. Waugh (Eds.), *Pest Management: Biologically Based Technologies*. American Chemical Society Boks, Washington, DC, pp. 156-165.
- Knoester, M. 1998. The involvement of ethylene in plant disease resistance. PhD thesis. Utrecht Univ.
- Knoester, M., C. M. J. Pieterse, J. F. Bol, and L. C. Van Loon. 1999. Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by rhizobacteria requires ethylene dependent signalling at the site of application. *Mol. Plant. Microbe. Interact.* 15, 720-727.
- Kuc, J. 1982. Induced immunity to plant disease. *Bioscience* 32: 854-60.

- Kuc, J. 1995. Induced systemic resistance-an overview. See Ref. 33, pp. 169-75.
- Lawton, K., S. L. Potter, S. Uknes, and J. Ryals. 1994. Acquired resistance signal transduction in *Arabidopsis* is ethylene independent. *Plant Cell* 6: 581-88.
- Leeman, M., J. A. Van Pelt, F. M. Den Ouden, M. Heinsbroek, P. A. H. M. Bakker, and B. Schippers. 1995. Induction of systemic resistance against *Fusarium* wilt of radish by lipopolysaccharids of *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology* 86: 149-155.
- Liu, L., J. W. Kloepper, and S. Tuzun. 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85: 695-698.
- Lynch, J. M. 1976. Products of soil microorganisms in relation to plant growth. *Crit. Rev. Microbiol.* 5: 67-107.
- Maurhofer, M., C. Hase, P. Meuwly, J.P. Metraux, and G. Defago. 1994. Induction of systemic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by the root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO: influence of the *gacA* gene and polyverdine production. *Phytopathology* 84: 139-146.
- Pieterse, C. M. J., J. A. Van Pelt, S. C. M. Van Wees, J. Ton, and K. M. Leon-Kloosterziel, et al. 2001. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance: triggering, signalling and expression. *Eur. J. Plant Pathol* 107: 51-61.
- Press, C. M., M. Wilson, S. Tuzun, and J. W. Kloepper. 1997. Salicylic acid produced by *Serratia marcescens* 90-166 is not the primary determinant of induced systemic resistance in cucumber or tobacco. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 10: 761-68.
- Ramamorthy, V., R. Viswanathan, T. Raguchander, V. Prakasam, and R. Samiyappan 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protection* 20: 1-11.
- Raupach, G. S., L. Liu, J. F. Murphy, S. Tuzun, and J. W. Kloepper. 1996. Induced systemic resistance in cucumber and tomato against cucumber mosaic cucumovirus using plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *Plant Dis.* 80: 891-894.

- Ross, A. F. 1961. Systemic acquired resistance by localized virus infection in plants. *Virology* 14: 340-358.
- Rovira, A. D., and C. B. Davery. 1974. Biology of the rhizosphere. In *The Plant Root and its Environment*, ed. E. W. Carson, pp. 153-204. Charlottesville: Univ. Pres. VA.
- Ryals J., K. Weymann, L. Lawton, D. Friedrich, and D. Ellis. 1997. The arabidopsis NIM 1 protein shows homology to the mammalian transcription factor inhibitor IKB. *Plant Cell* 9: 425-39.
- Ryals, J., U. H. Neuenschwander, M. G. Willits, A. Molina, and H. Y. Steiner, et al. 1996. Systemic acquired resistance. *Plant Cell* 8: 1809-19.
- Schippers, B. 1988. Biological control of pathogens with rhizobacteria. *Phil. Trans. R. Soc. London B* 318: 283-93.
- Sticher, L., B. Mauch-Mani, and J. P. Mettraux. 1997. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 35: 235-70.
- Tuzun, S. and J. Kuc. 1991. Plant immunization: an alternative to pesticides for control of plant plant diseases in gren house and field. In: Bay-Peterson, J. (Ed.), *The Biological Control of Plant Diseases*. Food and Fertilizer Technology Centre, Taiwan, pp. 30-40.
- Uknes, S., B. Mauch-Mani, M. Moyer, S. Potter, and S. Williams, et al. 1992. Acquired resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 4: 645-56.
- Van Loon, L. C., and J. F. Antoniw. 1982. Comparison of the effects of salycilic acid and ethepton with virus-induced hypersensitivity and acquired resistance in tobacco. *Neth. J. Plant Pathol.* 88: 237-56.
- Van Loon, L. C. 1997. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis related proteins. *Eur. J. Plant Pathol.* 103: 753-65.
- Van Loon, L.C., P. A. H. M. Bakker, and C. M. J. Pieterse. 1998. Systemic Resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36: 453-483.
- Van Peer, R., G. J. Niemann, and B. Schippers. 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. Strain WCS 417r. *Phytopathology* 81: 728-734.

- Van Wees SCM, Pieterse CMJ, Trijssenaar A, Van't Westende YAM, Hartog F, Van Loon LC. 1997. Differential Induction of Systemic Resistance in arabidopsis by Biocontrol Bacteria. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 10: 716-724.
- Ward, E. R., S. J. Uknes, S. C. Williams, S. S. Dincher, and D. L. Wiederhold, et al. 1991. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *Plant Cell* 3: 1085-94.
- Wasternack, C., and B. Parthier. 1997. Jasmonate signalled plant gene expression. *Trends Plant Sci.* 2: 302-7.
- Wei, G., J. W. Kloepper, and S. Tuzun. 1991. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth - promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 81: 1508-12.
- Wei, L., J. W. Kloepper, and S. Tuzun. 1996. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology* 86: 221-224.
- Weller, D. M. 1988. biological control of soil-borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26: 379-407.
- Xu, Y., P. F. L. Chang, D. Liu, M. L. Narasimhan, and K. G. Raghobama, et al. 1994. Plant defense genes are synergistically induced by ethylene and methyl jasmonate. *Plant Cell* 6: 1077-85.
- Zehnder, G. W., C. Yao, J. F. Murphy, E. R. Sikora, and J. W. Kloepper. 2000. Induction of resistance in tomato against cucumber mosaic cucumovirus by plant growth-promoting rhizobacteria. *BioControl* 45: 127-137.