

BİTKİLERİN HASTALIKLARA KARŞI DAYANIKLILIĞINDA KONUKÇU ENZİMLERİN ROLÜ

Nuh BOYRAZ

Selçuk DELEN

Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Kampüs-Konya

ÖZET

Hastalığa dayanıklılıkta bazı konukçu enzimleri önemli rol oynarlar. Glukonaz ve kitinaz enzimleri çoğunlukla konukçu orijinli olup, fungal patojenlerin misellerini parçalarlar ve aynı zamanda çoğu fungusun hücre duvarlarının da önemli bileşenlerindedirler. Bu enzimler dayanıklı bitkilerde daha çok lizogeniye sebep olurlar. 1,3- β -glukonaz aktivitesi, kavun *Fusarium solgunluk* hastalığına dayanıklı varyetelerde hassas varyetelere nazaran birkaç kat daha fazla olmaktadır. Bu enzimler bütün konukçu-patojen ilişkisinde hastalığa dayanıklılıkta tek başlarına belirleyici unsur olmamışlardır.

Hastalığa dayanıklılıkla sıkı bir ilişkisi olan diğer bir konukçu enzim de peroksidazdır. Lignin sentezinde önemli bir enzim olup fenoliklerin oksidasyonu ile daha toksik quinonları katalize eder. Polifenoloksidazlar peroksidaza benzer bir aktivite gösterirler. Bu enzim aktivitesi mikroorganizmalara karşı yüksek derecede toksik olan tanen ve quinonların sentezine neden olur.

Fenilalanin amonyum liyaz (PAL) fenolik bileşikler, fitoaleksinler ve lignin sentezi için anahtar enzimdir. Seçici inhibitörlerle PAL inhibasyonu dayanıklı dokuda duyarlılığa yol açtığı için, hastalığa dayanıklılıkta bu enzimin önemli olduğu düşünülmektedir.

β -glukosidaz enfeksiyondan sonra aktif olan önemli bir konukçu enzimidir. Bu enzim, toksik olmayan glikozitleri patojenleri inhibe eden fenolliklere dönüştürür ve böylece β -glukosidaz hastalığa dayanıklılıkta önemli bir rol oynar.

Esterazlar ve hastalığa dayanıklılık arasında ilginç ilişkiler gözlenmiştir. Superoksit anyon üreten NADPH oksidaz sisteminin dayanıklılığın nedeni olduğu ortaya çıkmıştır. Bir steroid glikoalkoloid olan digitonin birçok bitkide bu sistemi harekete geçirerek dayanıklılığa neden olmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Dayanıklılık, bitki hastalıkları, enzimler

ROLE OF HOST ENZYMES IN PLANT DISEASE RESISTANCE

ABSTRACT

Some of the host enzymes play an important role in disease resistance. Glucanase and chitinase, two enzymes which are mostly of host origin, lyse the mycelia of fungal pathogens, as glucans and chitin are the major components of the cell wall of most fungi. These enzymes cause more lysogeny in resistant plants. 1,3- β -Glucanase activity may increase severalfold more in resistant varieties than in susceptible varieties as envisaged in muskmelon. However, these enzymes need not be involved in the disease-resistance mechanism in all host-pathogen systems.

Peroxidase is another host enzyme which is frequently correlated with disease resistance. The exact mode of action of this enzyme is not known. It is an important enzyme in the synthesis of lignin, and it catalyzes the oxidation of phenolics into more toxic quinones. Polyphenoloxidase has a similar activity to that of peroxidase. The enzyme activity leads to the synthesis of quinones and tanins which are highly toxic to microorganisms.

Phenylalanine ammonia lyase (PAL) is the key enzyme for the synthesis of phenolics, phytoalexins, and lignin. Inhibition of PAL by selective inhibitors leads to susceptibility in resistant tissues, suggesting the importance of this enzyme in disease resistance.

β -Glicosidase is the important host enzyme which is activated after infection. This enzyme converts the nontoxic glycosides into phenolics, which are inhibitory to pathogens. Thus, β -glycosidase also plays an important role in disease resistance.

An interesting relation between esterases and disease resistance has been observed. The superoxide anion-generating NADPH oxidase system has been found to induce resistance. Digitonin, a steroid glycoalkoloid, activates this system in many plants and induces resistance.

Key words: Resistance, enzymes, plant diseases

GİRİŞ

Tarımsal üretimde farklı etmenlerden dolayı oluşan ürün kayıpları yürütülen farklı mücadele yöntemlerine rağmen kaçınılmaz olmaktadır. Dünyada tüm etmenlere dayalı verim kayıpları 500 milyar dolar (USD) olarak tahmin edilmektedir (Oerke, 1994). Bitkileri hastalık etmenlerinin zararından korumak için pek çok yöntem kullanılmaya rağmen, kayıplar tehdit edici boyuttadır. Hastalıklardan dolayı ortaya çıkan ürün kayıplarının dünyadaki toplam ürünün yaklaşık %12'si civarında olduğu sanılmaktadır (Agrios, 1997). Hastalıklar sadece ürün miktarını düşürmekle kalmazlar, aynı zamanda ürünün kalitesinde etkilemektedirler.

Hastalıkların yaptığı zararları önlemek için pek çok durumda kimyasallar kullanılsa da bitki hastalıklarının oluşturacağı zararın tam olarak önlenmesi olası görülmemektedir. Üstelik kimyasalların kullanımı, hem ürün maliyetini arttırması hem de çevreye ve diğer canlılara verebileceği olası zararlar yüzünden her geçen gün kısıtlanmaktadır. Hastalıkların neden oldukları ürün kayıplarını azaltmak için hastalıklarla mücadelede kimyasal mücadeleye alternatif olarak hastalıklara dayanıklı bitki kullanımına yer verilmelidir.

Konukçu bitkiler hastalıkların oluşturacağı zararlara engel olmak için dayanıklılık genlerini geliştirmişlerdir. Dayanıklılık geninin ürünü olan proteinler hastalık

etmenin bitkiye girmesi sırasında salgıladığı sinyal moleküllerini tanıma yeteneğine sahiptirler. Bu tanıma işlemi, bitkinin savunma sisteminin harekete geçirilmesi bakımından zorunludur. Sonuçta bitki savunma mekanizmasının uyarılması antimikrobiyal etkiye sahip bir çok proteinin bitkide üretilmesine neden olur. İşte bunlardan bir kısmında protein yapısındaki enzimlerdir. Bitki, hayvan ve mikroorganizmaların canlı hücreleri tarafından oluşturulan enzimler hücredeki işlevlerinin yanı sıra hücre dışında da aktivite göstermektedirler.

Bir canlıdaki parçalanma ve yapım (sentez) reaksiyonlarının tümü enzimlerin katalitik aktiviteleri ve yöntemleriyle gerçekleştirilmektedir. Bu tanıma göre de enzimler canlılığın oluşumu ve devamı için elzem maddelerdir. Canlı dışındada aktivitelerini göstermeleri enzimlerin önemini bir kat daha artırmaktadır. Enzimler bu özellikleriyle günlük yaşantımızda önemli rolü olan maddeler haline gelmiştir. Bugün enzimlerden gıda, ilaç ve kimya endüstrisinde, dericilik, boya ve temizlik maddeleri üretimi gibi özel konularda, biyoloji ve biyoteknoloji bilim dallarında, tıp, tarım ve veterinerlik alanlarında yaygın olarak yararlanılmaktadır (Temiz, 1998).

Yukarıda çoğu alanda pek çok rollerinin olduğu belirtilen ve enzim olarak nitelendirilen bu organik moleküllerin bitkilerde aktif halde bulunanlarının bazıları konukçu bitkiyi hastalıklara karşı koruma görevinde üstlenmişlerdir. Bu enzimlerden kitinaz ve glukonazlar, fungal hücre duvarında bulunan kitin ve glukonu eritici enzimlerdir. Kitinaz enzimini kodlayan genler bitkiye aktarıldığında hastalık belirtilerinin önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. Bu geni taşıyan fasülye, çeltik ve tütün bitkileri *Rhizoctonia solani*'ye karşı önemli dayanıklılık göstermiştir (Broglie ve ark., 1991). Kitinaz ve glukonaz genleri birlikte aynı bitkide ifade edildiğinde elde edilen dayanıklılığın daha da arttığı gözlenmiştir (Zhu ve ark., 1994; Mauch ve ark., 1998). Bu iki enzimi birlikte taşıyan bitkilere, ribozomları inaktive eden proteinleri kodlayan üçüncü bir gen aktarıldığında bitkilerde gözlenen dayanıklılık çok daha artmıştır (Jack ve ark., 1995). Benzer biçimde, yüksek düzeyde fenilalanin amonyum liyaz (PAL) enzimi üreten tütün bitkilerinin *Cercospora nicotianae* hastalığına karşı dayanıklılığı önemli ölçüde artırmıştır (Way ve ark., 2000). Yukarıda verilen bazı örneklerde de görüldüğü gibi konukçu kaynaklı bazı enzimlerin konukçunun bazı hastalıklarına

karşı dayanıklılığında önemli rol oynadıkları anlaşılmaktadır. Bu derlemede konukçu bitkide bulunan enzimlerin hastalıklara karşı dayanıklılıktaki rolleri açıklanmaya çalışılmıştır.

LİTİK ENZİMLER

Kitin ve glukonazlar, daha çok fungusların hücre duvarlarının önemli bileşenleridir. Kitinaz ve β -1,3 glukonazlar (glukonaz, 1,3- β -D glukon, glukonohidrolaz ve laminarinaz) kitin ve glukonları parçalayan litik enzimlerdir. Bu enzimler hem mikroorganizmalar hem de bitkiler tarafından salgılanırlar. Mikroorganizmalardan elde edilen bu enzimlerin *in-vitro*' da fungal hücre duvarında hidrolize neden oldukları açık bir şekilde belgelenmiştir. Kitinaz ve glukonaz' ın *in-vivo*' da fungal hif erimesine sebep olduğu rapor edilmiştir (Pegg ve Vessey, 1973).

Wargo (1975) Akçaağaç, siyah, kırmızı ve beyaz meşe ağaçlarının sağlıklı gövde ve kök dokularında β -1,3-glukonaz ve kitinazın varlığını tespit etmiş ve bu enzimlerin bu ağaçlarda patojen olan *Armillaria mellea*'nın hif çeperlerinin erimesine sebep olduğunu bildirmiştir.

Dixon ve Pegg (1969) *Verticillium albo-atrum*'a hassas ve dayanıklı domates çeşitlerinde etmenin hiflerinin parçalanma ve erime durumlarını belirlemek için yapmış oldukları çalışmada hastalığa dayanıklı olan çeşitlerde inokulasyondan 14 gün sonra fungus miselinde erime gözlemlerken, duyarlı çeşitte ise inokulasyondan 28 gün sonra önemsiz seviyede misel erimesi gözlemlenmişler ve 35 gün sonra da tekrar eski haline döndüğünü saptamışlardır. Araştırmacılar dayanıklı çeşitlerde fungus hifi bulunan damar sayısında 7 gün içerisinde % 75 oranında bir azalma olduğunu gözlemişlerdir. Yapmış oldukları bu çalışmayla litik enzimlerin hastalığa dayanıklılıktan kısmen sorumlu olabileceklerini ileri sürmüşlerdir.

Netzer ve ark. (1974) dayanıklı ve duyarlı kavun bitkilerinde 1,3- β glukonaz aktivitesini ve *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*' in gelişimini araştırdıkları çalışmalarında enzim aktivitesinin infeksiyona yanıtta arttığını, dayanıklı fidelerin köklerindeki enzimin aktivitesindeki artışın duyarlı fidelerdekinden yaklaşık iki kat daha büyük olduğunu ve enzim aktivitesinin hastalık süreciyle başladığını tespit etmişlerdir (Tablo 1).

Tablo 1. *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*' e Dayanıklı ve Duyarlı Kavun Köklerinde 1,3- β Glukonaz Aktivitesi (mg glukoz/ μ g protein)

İnokulasyondan sonraki süre (gün)	Çeşit			
	Hemed (dayanıklı)		On (duyarlı)	
	İnokulumsuz	İnokulumlu	İnokulumsuz	İnokulumlu
7	35.23	153.90	31.77	107.10
10	34.12	534.70	33.44	242.00
13	35.33	645.65	30.20	356.66

Tablo 1'e bakıldığında dayanıklı çeşitlerdeki 1, 3- β glukanaaz aktivitesinin hassas çeşitlerdeki enzim aktivitesinden oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Dayanıklı çeşitlerdeki 1,3- β glukanaaz aktivitesindeki bu artışın *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*' e karşı bir savunma mekanizması olabileceği ileri sürülmektedir.

Dayanıklı kavunlarda 1,3- β glukanaaz aktivitesinin yüksek olması *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* 0 ırkına karşı monogenik dayanıklılığın nedeni olabileceği ileri sürülmüştür (Netzer ve ark., 1974).

Bezelye endokarp dokularındaki ham enzim ekstraktı kısmen *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* ve özellikle patojen olmayan *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*' nin hücre duvarlarını yok etmiştir. Bezelye endokarp dokusunda, glikozidaz, kitinaz, β -1,3 glukanaaz, kitosanaaz, β -D-N asetilglukosaminidaz, β -D-N asetilgalaktosaminidaz, β -D glukosidaz, α -glukosidaz, α -D-mannosidaz aktiviteleri tespit edilmiştir. Bezelye kabukları *Fusarium* sporları ile yada kitosan ile muameleye tabi tutulduklarında enfekteli dokunun kitinaz aktivitesi uygulamayı takiben 0,5 ile 6 saat boyunca suyla muamele edilen kabuklarınkinden daha fazla olmuştur. β -1,3 glukanaaz aktivitesi, hem inokulasyonlu hem de kontrol dokusunda 6 saat içinde artmıştır. Böylece bezelye tohum zarfı dokusunun, *Fusarium* hücre duvarlarının esas bileşenlerini azaltma potansiyeline sahip glikosidik enzimler içerdiği tespit edilmiştir (Nichols ve ark., 1980).

Fusarium solani f.sp. *phaseoli*' ye dayanıklılığın ifadesinde kritik periyot fungusun bezelye dokusuyla temasından 6 saat sonra başlarken β -1,3 glukanaaz, kitosanaaz ve kitinazın aktivite seviyeleri inokulasyondan 24 saat sonra ortaya çıkabilmiştir (Nichols ve ark., 1980). Tohum zarfının makrokonidi veya bir fungal hücre duvarı bileşeni olan kitosan ile muamelesi 0,5-3 saati aşan stabil kitinaz aktivitesindeki bir artışla sonuçlanmaktadır. β -1,3 glukanaaz aktivitesi tüm uygulamalarda zamanla artmış ve böylece fungal hücre sindirimi için kullanılabilir enzim aktivitesi her zaman görülmüştür.

Bezelyede salgılanan bu enzimler, patojen olmayan *F.solani* f.sp.*phaseoli*' nin hücre duvarından kitosani serbest bırakırlar (β -1,4 bağlı glukozamin). Kitinin bir deasetil türevi olan kitosan birçok fungusun hücre duvarı bileşenidir. Kitosanın 0,9 μ g/ml dozu bile fitoaleksinin düzenlemesi yapabilir ve bu fitoaleksinler 3 μ g/ml de *F.solani* makrokonidilerinin çimlenmesini engelleyebilir. Bir histokimyasal analizde göstermektedir ki inokulasyonu müteakip fungal sporlarda belirgin derecede kitosan birikimi gözlenmiş ve bu birikim özellikle bitki dokusuyla teması sonrası büyümenin sonlandığı çim borusunda görülmüştür. Kitosan aynı zamanda çimlenen fungal sporların bitişindeki bitki hücrelerinde de tespit edilmiştir (Hadwiger and Beckman, 1980). Pato-

jenden önce veya birlikte 10 mg/ml dozunda kitosan uygulaması bezelye endokarp dokusunu patojenin inokulasyonundan en az 17 gün sonrasına kadar koruduğunu, böyle uzun süreli korumanın kitosan konsantrasyonu 500 μ g/ml gibi düşük seviyeye düşürüldüğünde elde edilebildiği, kısa süreli koruma (24 saat) için ise 30-500 μ g/ml kitosan ile sağlandığı saptanmıştır (Hadwiger and Beckman, 1980).

Kitosan fungal sporda mevcut olup fungal sporun en dış yüzeyinden salınır. [³H]-kitosani bitki dokusunun yüzeyine salgılandıktan sonraki 15 dk içerisinde stoplazmada özellikle doku nükleusu içerisinde farkedilebilir olduğu gözlenmiştir. Sonuçlara göre hastalık-dayanıklılık cevaplarını ortaya çıkarma ve fungal büyümeyi engelleme potansiyeline ek olarak, *F. solani* sporları ve bezelye hücresi arasında kitosan nakil potansiyeli kitosanın konukçu-parazit ilişkisinde düzenleyici rol aldığına da işaret etmektedir (Hadwiger ve ark., 1981).

Patojen *F. solani* f. sp. *pisi*' nin 10⁶ makrokonidisi 100 μ g kitosan içerirken; patojen olmayan *F. solani* f. sp. *phaseoli*' nin aynı miktardaki makrokonidileri 200 μ g kitosan içermektedir. Bezelye endokarp dokusuyla temastan 1 saat sonrasında *F. solani* f. sp. *pisi* ve *F. solani* f. sp. *phaseoli*' nin aynı miktardaki sporlarında kitosanlar sırasıyla, 138 ve 403 μ g' a yükselmektedir. Kitosanın sporlardaki kitine oranı konukçu-patojen özelleşmesi ile ilişkili olabilir. Çünkü kitosan konukçu dayanıklılığını aktive edebilir ve fungal patojenlerin gelişmesini engelleyebilir (Hadwiger, 1979).

PEROKSİDAZ

Peroksidaz bitkilerde bulunan önemli bir enzimdir. Bir çok bitki sistemlerinde, peroksidaz hastalığa dayanıklılıkla ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, peroksidazın fizyolojik rolü hatta bitkilerde normal metabolizması anlaşılmamıştır (Lobenstein and Linsey, 1961). Peroksidaz ligninlerin sentezinde önemli bir enzimdir. Ayrıca hidrojen oksidaz varlığında pek çok mono ve difenoller ile aromatik aminleri oldukça toksik quinonlara oksidasyonlarını katalize ettiği bilinir (Bonner,1950).

Fehrmann ve Dimond (1976) *Phytophthora infestans*' a dayanıklılık ve duyarlılıkta patates bitkisinin değişik organlarındaki peroksidaz aktivitesi ile güçlü bir pozitif ilişki bulmuşlardır (Tablo 2). Kök uçları ve uçtaki genç yapraklar patojene çok dayanıklı olup, her ikisi de yüksek peroksidaz aktivitesi sergilemiştir.

Umaerus (1959) patates mildiyösüne dayanıklı ve duyarlı farklı patates yapraklarının peroksidaz aktivitesini mukayese etmiş ve düşük düzeydeki tarla dayanıklılığının düşük peroksidaz aktivitesiyle ilişkili olduğunu bulmuştur. Benzer şekilde yüksek düzeyde tarla dayanıklılığı gözlenen varyetelerde peroksidaz aktivitesinin

düşük düzeyde tarla dayanıklılığı görülenlerden en az % 50 daha fazla olduğunu tespit etmiştir (Tablo 3).

Wang ve Pinckard (1973) orta yaşlı pamuk kozalalarının *Diplodia gossypina* çürüklüğüne karşı dayanıklılık sebeplerini araştırdıkları çalışmalarında, orta yaşlı tohum kozalarında genç ve yaşlılara nazaran daha fazla peroksidaz aktivitesi gözlemişlerdir (Tablo 4).

Pseudomonas tabaci'nin sebep olduğu vahşi yanıklık hastalığına duyarlı olan *Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN bitkilerinin yaprakları Tütün Mozaik Virüsü (TMV) ile inokule edildiklerinde virüs yapraklarda aşırı duyarlı nekrotik lekelerinin oluşumunu teşvik ederek yaprakların *P.tabaci*'ye dayanıklı hale gelmesini sağlar. Virus enfeksiyonundan 1-6 gün sonra bakteri enjeksiyonu gerçekleştirildiğinde vahşi yanıklık belirtileri görülmemiştir.

Tablo 2. *Phytophthora infestans* İle Enfekteli Patates Bitkisinin Farklı Organlarındaki Nispi Peroksidaz Aktivitesi (Fehrmann ve Dimond, 1976)

Doku	Hastalık Reaksiyonu	Nispi Peroksidaz aktivitesi ^a
Uç bölgedeki genç yapraklar	Dayanıklı	135
Orta kısımdaki yapraklar	Hassas	100
Kök uçları	Dayanıklı	208
Genç soyulmuş yumru kabukları	Hassas	45
Genç yumru özü	Hassas	17

Tablo 3. Değişik Patates Çeşitlerinin Yaprak Ekstraktlarının Peroksidaz Aktivitesi Ve *Phytophthora infestans*'a Karşı Reaksiyonları (Umaerus 1959)

Çeşit	Peroksidaz aktivitesi (µM/min/g)	Dayanıklılık (n/m ³) ^a
Alpa	352	0.8
Voran	292	0.8
Centifolia	233	1.0
Earlaine	191	0.4
Pontiac	117	0.4
Cobbler	107	0.3
Katahdin	99	0.1

^a n= fungus sporulasyonunun olmadığı nekrotik yaprak alanları.

m= konukçu dokuda yaşayan fungus sporulasyonunun olduğu yerdeki yaprak alanı

Virüs enfeksiyonu konukçu dokusunda peroksidaz aktivitesinde artışa neden olarak bakteri çoğalmasında önemli derecede engel olur. Genelde, düşük peroksidaz aktivitesine nazaran yüksek peroksidaz aktivitesine sahip dokular vahşi yanıklık hastalığına karşı daha dayanıklı olmuşturlardır (Lovrekovich ve ark., 1968a).

Sıcaklıkla öldürülen *P.tabaci* hücrelerinin tütün yapraklarına enjeksiyonu peroksidaz aktivitesini artırmış, bu enzim yeni bir izoenzim bantlarının oluşumunu teşvik etmiş ve aynı patojene dayanıklılığı artırmıştır. Konukçu peroksidaz aktivitesinde ki bu artış bakterinin serbest hücrelerinden ari bakteri ekstraktları ile tütün yapraklarının enfeksiyonu ile yeniden sağlanabilmiştir. Ticari peroksidaz enjeksiyonu dayanıklılığın artışına sebep olmuştur. Tütün yapraklarındaki peroksidaz aktivitesinin seviyesiyle *P.tabaci*'ye dayanıklılık arasında pozitif korelasyon bulunmuş ve yaprakların yaşıyla da bu ilişkilendirilmiştir (Lovrekovich ve ark., 1968b).

Rudolph ve Stahmann (1964) hem dayanıklı hemde hassas fasulye bitkilerini *Pseudomonas phaseolicola* ile inokule etmişler ve dayanıklı varyetede peroksidaz aktivitesinin daha erken arttığını gözlemişlerdir. Araştırmacılar infekteli bitkilerde aynı zamanda katalaz aktivitesi gözlemlemişler, fakat buradaki peroksidaz konukçu orjinli iken katalazın patojen orjinli olduğunu ve katalaz aktivitesinin hassas varyetelerde daha yüksek çıktığını saptamışlardır. Katalaz H₂O₂ substratı açısından peroksidaza bir rakiptir ve katalaz peroksidaz aktivitesi üzerinde baskı yapıcı bir rol üstlenir. Fasulye fideleri ticari katalazla beslendirildiğinde peroksidaz aktivitesindeki artışı geciktirdiği görülmüştür. *P.phaseolicola*'nın oldukça yüksek virülente sahip izolatu yüksek katalaz aktivitesi gösterirken, orta seviyede virülente sahip izolatu ise düşük katalaz aktivitesi göstermiştir. Bütün bu sonuçlar peroksidazın hastalığa dayanıklılıktan sorumlu olduğunu göstermektedir. Hassas reaksiyonda patojen daha fazla katalaz üreterek peroksidaz aktivitesini baskı altında tutabilmektedir.

Macko ve ark., (1968) *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*'ye hassas ve dayanıklı buğday çeşitlerinde peroksidaz aktivitesi ile yapmış oldukları çalışmalarda, patojen inokulasyonundan önce hem hassas hem de dayanıklı çeşitlerde peroksidaz aktivitesinde her hangi bir değişim gözlemlenmezken, inokulasyondan 24 saat sonra dayanıklı çeşitlerde peroksidaz aktivitesinde büyük oranda, hassas çeşitlerde ise çok az artış gözlemlenmiştir. Ayrıca peroksidaz'ın *in-vitro*'da hastalık etmeninin misel gelişiminde engellediği tespit edilmiştir. Bu sonuçlarda peroksidazın buğday kara pas hastalığına karşı dayanıklılıkta rolünün olduğunu göstermektedir.

Tatlı patates kök dokusuna patojen olmayan *Ceratocystis fimbriata*'nın bir ırkı inokule edildiğinde daha fazla etilenin serbest kaldığı ve bunun sonucunda

da yüksek peroksidaz aktivitesi duyarlı kök dokusuna ise patojenik *C. fimbriata*'nın bir ırkı inokule edildiğinde daha az etilen oluştuğu ve peroksidaz aktivitesinin daha az olduğu gözlenmiştir. Tatlı patatesin duyarlı varyetesiinden alınan kök dokularının 8 ppm etilen de bekletilmesi *C. fimbriata* enfeksiyonunda bir dayanıklılığa, dokudaki polifenoloksidaz ve peroksidaz aktivite-

sinde bir artışa neden olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar etilenin daha fazla peroksidaz aktivitesi ve hastalık dayanıklılığına yol açan metabolik değişiklikleri başlatmak için hastalıklı alanlardan komşu dokulara yayılan bir uyarıcı olduğunu göstermektedir (Stahmann ve ark., 1966).

Tablo 4. Değişik Olgunluktaki Pamuk Kozalarının Peroksidaz Aktivitesi(Wang ve Pinckard,1973)

Tohum kabuğu yaşı (gün)	Hastalık reaksiyonu	Peroksidaz birim/mg protein	
		Kontrol	Enfekteli
10	Hassas	8	38
20	Dayanıklı	80	613
30	Dayanıklı	135	876
40	Hassas	62	304

Simons ve Ross (1971) TMV ile inokulasyondan sonra, Samsun NN tütün varyetesinin sistemik bir dayanıklılık geliştirdiğini gözlemlemişler ve peroksidaz aktivitesinin dayanıklılık gelişimine paralel arttığını ve yüksek düzeyde kaldığını tespit etmişlerdir. Bu araştırmacılar dayanıklılığın yapraklarda yüksek peroksidaz aktivitesinin bir sonucu olarak oluştuğunu düşünmüşlerdir

Rama Raje Urs ve Dunleavy (1974) soya fasulyesinde H_2O_2 ve KI varlığında patojenik bir bakteri olan *Xanthomonas phaseoli* var. *sojensis*' e at turbu peroksidazının bakterisidal olduğunu rapor etmişlerdir. Peroksidazın antibakteriyel aktivitesi 20 dakikada 80 °C' de enzimlerin ön ısıtılmasıyla veya deneme sistemindeki H_2O_2 'nin yok edilmesiyle büyük oranda engellenmiştir. Soya fasulyesi peroksidazıda bakteriyel aktiviteye sahiptir. Bu enzim aktivitesi *X. phaseoli* var. *sojensis*' e dayanıklı soya fasulyesi kültüründe hassas kültürlerinkinden daha fazladır. Yukarıda açıklandığı gibi yapılan bazı çalışmalarda konukçu bitkide hastalığa dayanıklılıkta peroksidaz aktivitesindeki artışın rolünün olduğu ortaya konulurken diğer bazı araştırmacılar (Daly ve ark., 1970; Jennings ve ark.,1969; Grzelinski, 1976; Barbara ve Wood, 1972) yaptıkları çalışmalar sonucu peroksidaz' ın hastalığa dayanıklılıkta rolünün olmadığını ileri sürmüşlerdir.

POLİFENOLOKSİDAZ

Polifenoloksidaz, fenolik bileşikleri çok toksik quinonlara oksitler ve bu da hastalığa dayanıklılıkta rollerinin olduğuna bir işarettir. Hanusova (1969) dayanıklı ve duyarlı elma çeşitlerinin yapraklarında enfeksiyondan önce polifenoloksidaz aktivitesinde herhangi bir değişiklik gözlemlenmezken, enfeksiyondan sonra dayanıklı çeşitlerde polifenoloksidaz aktivitesinde belirgin bir artış tespit etmiştir.

Obukowicz ve Kennedy (1981) *Pseudomonas solanacearum*' un virulent (B1) ve virulent olmayan

(K60) ırklarının tütün yaprak dokusunu enfeksiyonundan sonra yapmış oldukları gözlemlerde fenoliklerin inokulasyondan 10 saat sonra stoplazmada depolandığını 20 saat sonrada polifenoloksidazların ortaya çıktığını ve öncelikle kloroplastın granasında lokalize olduklarını saptamışlardır. Araştırmacılar bu polifenoloksidazın bakteri hücrelerinin etrafında tanen sentezini harekete geçirdiğini ve oluşan taneninde bakteri enfeksiyonunu engellediğini gözlemlemişlerdir. Yapmış oldukları bu çalışmalarla araştırmacılar polifenoloksidazın tütünde hastalığa dayanıklılıkta önemli bir faktör olduğunu iddia etmişlerdir.

Woods ve Agrios (1974) Polifenoloksidazın bürülce klorotik beneklilik virüsünü (CCMV) engellediğini gözlemlemişlerdir. CCMV RNA' sını 30- 60 dakika polifenoloksidaza maruz bırakıldığında bu virüs RNA' sının enfeksiyon yeteneğinin düştüğü veya tamamıyla ortadan kaybolduğu tespit edilmiştir. Polifenoloksidazın Virüs RNA' sının aktivitesini düşürmede kullandığı mekanizma belirsizdir. Bu araştırmacılar virüs RNA' sında birkaç molekül polifenol bulunma ihtimalini ileri sürerek, polifenoloksidaza maruz bırakılan bu fenoller RNA ile tepkimeye girerek ve onu inaktive eden quinonları oluşturarak etkili olduklarını savunmuşlardır.

FENİLALANİN

AMONYUM LİYAZ

Fenilalanin amonyum liyaz (PAL) fenolikler, fitoaleksinler ve lignin sentezindeki gerekliliğinden dolayı hastalığa dayanıklılıkta dikkate alınan en önemli enzimdir.

Massala ve ark. (1980)'e göre Tütün mosaik virüsü 'nün yaygın ırkı ile inokulasyondan 48 saat sonra 300 lokal lezyon taşıyan bir Samsun NN tütün yaprağında PAL 6-10 kat uyarıcı etki sergilemekte ve lokal lezyonlar etrafındaki virus yayılımını sınırlandırmaktadır. Amino-oksiasetat güçlü bir PAL engelleyicisidir.

Amino-oksiasetat TMV ile infekteli yapraklara verildiği zaman PAL' ı inhibe ederek lezyon boyutlarının artmasını sağlar. Bu sonuçlar PAL' ın küçük nekrotik hipersensitiv lezyonlardaki virüsün sınırlandırılmasından sorumlu olduğunu göstermektedir.

Phytophthora infestans'ın 4 nolu ırkına dayanıklı Orion ve duyarlı Majestik patates çeşitlerinin yumruları etmenin sporangial süspansiyonu ile inokule edilmeleri sonucu dayanıklı çeşitlerdeki PAL aktivitesinin hassas çeşitlerdekinden birkaç kat daha fazla arttığı saptanmıştır (Friend ve ark., 1973). Benzer şekilde başka bir PAL inhibitörü olan L-2 amino-oxi-3-fenilpropionik asitin 500µm üzerindeki konsantrasyonları Harasoy 63 isimli soya fasulyesi çeşidi ile *Phytophthora megasperma* var. *sojae*'nın 1 no'lu ırkı arasındaki dayanıklılık interaksyonunu hassas hale getirmiştir (Moesta and Grisebach, 1982). Bu sonuçlar hastalığa dayanıklılıkta PAL' ın önemini açıkça göstermektedir.

β-GLUKOSİDAZ

Fenolikler sadece fungitoksik değil aynı zamanda fitotoksiktirler. Fenoliklerin bitkilerde yüksek oranlarda birikmesi bitkilerin büyümesini yavaşlatır ama bitkilerin savunma reaksiyonu içinde gereklidirler. Bu nedenle fenolikler daha az toksik olan glukosidler formunda depolanmış olarak bulunurlar. Enfeksiyon anında konukçu glukozidazları glukositleri toksik aglikonlara dönüştürebilir ve patojenlerin yayılmasını önleyebilir. Bu şekilde konukçu glukozidazları hastalığa dayanıklılıkta önemli bir rol oynayabilirler (Vidhyasekaran, 1988).

Hildebrand ve Schroth (1964) arbutinin armutta bulunan bir glikozit olduğunu ve β-glikosidaz hidrolizi sonucu oluşan aglikonun (hidrokinon) *Erwinia amylovora*'ya yüksek oranda engelleyici etkide bulunduğunu rapor etmişlerdir. β-glukosidaz konukçu orjinlidir ve nektarda, çiçek içinde, yaprak damarlarında, yaprak petiollerinde ve sap kabuğunda düşük miktarlarda bulunur. Armutun bu bölümleri genellikle enfeksiyona çok hassastır. Yüksek β-glukosidaz birikimi çiçeklerin dış kısmında, zayıf yapraklarda, yaprakların orta damarlarında ve sapın odunsu kısmında bulunur. Armutun bu kısımları bakteriye dayanıklıdır. Böylece armut ağaçlarındaki *Erwinia amylovora*'ya dayanıklılık β-glukosidaz aktivitesine dayanır.

Noveroske ve ark. (1964) elma ağaçlarında bulunan β-glukosidazların *Venturia inaequalis*'e dayanıklılıktan sorumlu olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar glikozid floridzinin birçok varyetede gözlenen hastalığa dayanıklılıkla direkt ilişkisinin olmadığını ancak β-glikosidaz'ın, floridzini daha toksik aglikon olan floritine dönüştürerek hastalığa karşı dayanıklılık sağladığını ileri sürmüşlerdir.

ESTERAZLAR

Esterazların çoklu formları ve eriyebilir proteinlerinin elektrophoretik modelleri arpa küllemesi hastalığına karşı farklı seviyelerde dayanıklılık gösteren 6 arpa çeşidinin enfekte olmamış ilk ve bayrak yapraklarında araştırılmıştır (Hwang ve ark., 1982). Çözünbilir asidik proteinlerin kalıbı test edilen bütün kültürler için benzer olmasına rağmen, ilk yapraklarda görülen bazı düşük moleküler ağırlıktaki proteinler bayrak yapraklarda görülmemişlerdir.

Esterazların bazı çoklu formlarının görünüşleri bitki gelişiminin aşamasına bakmaksızın genotipe bağlıdır. Halbuki birinci ve bayrak yapraklardaki esteraz modeli arpa genotipine bakmaksızın karakteristik farklılıklar gösterir. Gelişim aşamalarına bakmaksızın, kültürvarlar arasında 4, 5 ve 6. bandların aralarında farklılıklar vardır. Çok koyu olan 4. band cvs. Villa, Asse, Stamm 41/71 çeşitlerinin hem ilk hem de bayrak yapraklarında bulunmuştur. 5. band Villa, Asse, Stamm 41/71 ve Rupee çeşitlerinde hem bayrak hemde ilk yapraklardan alınan extratlarda bulunmuştur. Fakat bayrak yapraklardan alınanlarda daha yoğundur. 6. band Mari S ve Perwanda çeşitlerinde belirgindir ama Rupee çeşidinde oldukça zayıftır.

Esterazların çoklu formlarındaki bu değişiklikler esas alındığında çeşitler 3 grupta gruplandırılabilirler: (1) Mari S ve Peruvian; (2) Villa, Asse ve Stam 41/71; (3) Ruppe. Dayanıklılık temeline göre bunlar (1) Mari S ve Peruvan (küllemeye çok hassas); (2) Villa, Asse ve Stamm 41/71 (hafif dayanıklı); ve (3) Ruppee (çok dayanıklı) olarak sınıflandırılır. Bu sonuçlar gösteriyor ki; esteraz modeli ile hastalık dayanıklılığı arasında direkt bir korelasyon vardır. Esterazlar farklı metabolitlerin ester bağını hidrolize eden kompleks ve heterojen bir enzim gurubudur. Esterazların fizyolojik rolü ve hastalık dayanıklılığında ne kadar rol oynadığıda tam olarak bilinmemektedir.

NADPH OKSİDAZ

Phytophthora infestans'ın uyumsuz bir ırkı, yarılanmış patates yumru dokularına inokule edildiğinde konukçunun NADPH oksidaz' ı bu olaydan hemen sonra aktif hale gelmiş ve hipersensitiv hücre ölümü ve fitoaleksinin üretimine eş zamanlı olarak süperoksit anyon O₂⁻ üretimi gerçekleşir (Doke, 1983a; Doke ve Chai, 1985). *P. infestans* ile inokule olan patates yapraklarında O₂⁻ üretimini aktive eden NADPH oksidaz sistemi hem uyumlu hemde uyumsuz ırkların penetrasyonundan önce meydana geldiği anlaşılmış fakat O₂⁻ üretimi uyumsuz ırklarda değil uyumlu ırkların penetrasyonu sonucu aktive olmuştur. O₂⁻ üretim sistemi; *P. infestans*'ın cystosporlarının çimlenme sıvısının yaprak dokusunda iken aktif olmuş ve uygun ırklar için patates yapraklarına inokulasyondan önce çimlenme sıvısının muamelesi hassaslığı azaltmıştır (Chai ve Doke, 1983).

Hipersensitiv hücre ölüm engelleyicileri uyumsuz ırklar ile enfekte edilmesinden dolayı patates dokularındaki O₂-üretimini baskı altında tutar (Doke, 1983a; Doke 1983b). Uyumlu *Phytophthora infestans* ırklarından alınmış suda eriyebilen glukanlar (hipersensitiviteyi önleyici faktör) özellikle protoplastta NADPH' a bağımlı O₂-üretim reaksiyonu ile hif duvarının bileşenlerinin aktivitesini inhibe eder (Doke, 1983b). Bu sonuçlara göre NADPH' a bağımlı O₂-üretim sisteminin inhibisyonu fungusların uyumlu interaksyon kurabilmesi için gerekli olabilir.

NADPH oksidaz aktivitesindeki artışın göstergesi sitokrom C-azaltma aktivesindeki artıştır. Bu artış hipersensitiv hücre ölümü ve fitoaleksinin üretimiyle yakın ilişkilidir. Patates dokularının, hif duvarı bileşenleri ile muamelesi (*P. infestans*' in hipersensitiv oluşturma faktörü) NADP⁺ tarafından inhibe edilen sitokrom C-üretimini de aktive eder. Süperoksit dismutaz (SOD) bir O₂⁻ çöpcüsüdür ve SOD uygulaması sitokrom C-üretim aktivitesini inhibe eder. Uyumlu *P. infestans* ırklarından bir hipersensitiv engelleyicisi olan suda çözünebilir glukanlar Sitokrom C-üretim aktivitesindeki artışı engellemiştir (Doke, 1985).

Digitalis purpurea' dan alınan bir steroid glikoalkoloid olan digitonin bitki dokularında O₂-üretim sistemini aktive eder. SOD, digitonin uygulanmış dokularda O₂-üretim sistemini inhibe eder. Kesilmiş patates yaprakları inokulasyondan önceki 4 saat digitonin ile muamele edildiği zaman *P. infestans*' in uyumlu ırklarının saldırılarından korunur. Bir uyumlu ırk ile inokule edilen patates yumru diskleri üzerindeki birçok cystospor inokulasyondan 3 saat sonra çimlenir fakat digitonin uygulanmış disklerde cystospor çimlenmesinde büyük bir azalma tespit edilmiştir. Digitonin ile muamele edilmemiş diskler üstündeki birçok çimlenmiş cystospor appresoralarını oluşturur ve inokulasyondan 7 saat sonra başarıyla dokuyu penetre ederler. Digitonin ile muamele edilmiş diskler üzerindeki çimlenmiş cystosporların yalnızca % 68' i appresoria oluşturmuş ve bunların yalnızca % 14' ü dokuyu penetre edebilmiştir. Digitonin ile muamele edilmiş dokuların üstünde ki birçok çimlenmemiş cystosporun parçalanmış ve şekillerini kaybetmiş durumda oldukları görülmüştür.

Bir SOD' lu zoospor süspansiyonu digitonin ile muamele edilmiş dokulara verildiğinde ele alınan dokularda çimlenme, appresoria oluşumu ve penetrasyonda önemli derecede bir canlanma gözlenmiştir. Böylece süperoksit anyon çöpcüsü olan SOD digitonin etkisiyle özelliğini kaybetmiştir. Digitonin uygulaması rishitin (bir patates fitoaleksini) sentezine neden olamaz fakat O₂ sentezine neden olur. Bu sonuçlara göre bitki dokuları digitonin tarafından aktif edilen O₂ üreten NADPH oksidaza sahiptirler ve bu aktivasyonun öncesinde ve sonrasındaki aşamalarında patatese uyumlu *P. infestans*

ırkları tarafından yapılan saldırılara karşı dayanıklılığa katkıda bulunmaktadır (Doke ve Chai, 1985).

PROTEAZLAR

Pseudomonas syringae pv *tomato* enfekte olmuş domates bitkilerinde amonyak meydana getirerek nekroz sendromuna sebep olduğu düşünülmektedir (Bashan ve ark. 1980). Bu amonyak üretimi hücre proteinlerinin proteolitik bozulması ile meydana gelen amino asitlerin deaminasyonundan kaynaklanır. Hem konukçu hem de patojen proteaz oluşturur. Farklı *Pseudomonas* türlerinin kültürlerde proteaz üretim yetenekleri ile domates bitkilerinde hastalıklara sebebiyet verme ve enfekte etme yeteneği arasında ilişki bulunamamıştır. Her nasılsa *P. syringae* pv. *tomato* tarafından enfekte olmuş 20 domates çeşidindeki preteolitik aktivite ile hastalık şiddetli arasında büyük bir ilişki gözlenmiştir. Bir çok dayanıklı çeşitteki proteolitik aktivite hassas çeşitlerden daha azdır. En dayanıklı çeşitlerin proteolitik aktivitesi hassas olanlarınkinden daha düşük bulunmuştur (Bashan ve ark., 1986). Yaprak yaşlandıkça hastalıklı yapraktaki proteolitik aktivitede azaldığı için yaşlı yaprakların hastalığa karşı daha dayanıklı oldukları gözlenmiştir (Yunis ve ark., 1980). Bu sonuçlar hastalığa dayanıklılıkta proteazların ne kadar önemli olduğunu göstermektedir (Bashan ve ark., 1986).

KAYNAKLAR

- Agrios, G., 1997. Plant Pathology, Fourth Edition, Academic Press.
- Barbara, D. J. and Wood, K. R., 1972. Virus multiplication peroxidase and polyphenoloxidase activity in leaves of two cucumbers (*Cucumis sativus* L.) cultivars inoculated with cucumber mosaic virus, *Physiol. Plant Pathol.*, 2, 167
- Bashan, Y., Okon, Y., and Henis, Y., 1980. Ammonia causes necrosis in tomato leaves infected with *Phytophthora tomato* (Okabe) Alstatt, *Physiol. Plant Pathol.*, 17, 11
- Bashan, Y., Okon, Y., and Henis, Y., 1986. A possible role for proteases and deaminases in the development of the symptoms of bacterial speck disease in tomato caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 28, 15
- Bonner, J., 1950. Plant Biochemistry, Academic Press, New York, 573
- Brogie, K., Chet, I., Holliday, M., Cressman, R., Biddle, P., Knowlton, S., Mauvais, C.J. and Brogie, R., 1991. Transgenic plants with enhanced resistance to fungal pathogen *Rhizoctonia solani*. *Science*, 254:1194-1197
- Chai, H. B. and Doke, N., 1983. Aspects of superoxide anion generation in potato leaf tissues infected by *Phytophthora infestans* and its stimulation by pre-

- infectional treatment germination fluid, *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*, 49, 378
- Daly, J. M., Seevers, P. M., and Ludden, P., 1970. Studies on wheat stem rust resistance controlled at the Sr₆ locus. III. Ethylene and disease reaction, *Phytopathology*, 60, 1648
- Dixon, G. R. and Pegg, G. F., 1969. Hyphal lysis and tylose formation in tomato cultivars infected by *Verticillium albo-atrum*, *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 53, 109
- Doke, N. and Chai, H. B., 1985. Activation of superoxide generation and enhancement of resistance against compatible races of *Phytophthora infestans* in potato plants treated with digitonin, *Physiol. Plant Pathol.*, 27, 323
- Doke, N., 1983a. Generation of superoxide anion by potato tuber protoplasts during the hypersensitive response to hyphal wall components of *Phytophthora infestans* and specific inhibition of the reaction by suppressors of hypersensitivity, *Physiol. Plant Pathol.*, 23, 358
- Doke, N., 1983b. Involvement of superoxide anion generation in the hypersensitive response of potato tuber tissues to infection with an incompatible race of *Phytophthora infestans* and to the hyphal wall components, *Physiol. Plant Pathol.*, 23, 345
- Doke, N., 1985. NADPH-dependent O₂⁻ generation in membrane fractions isolated from wounded potato tubers inoculated with *Phytophthora infestans*, *Physiol. Plant Pathol.*, 27, 311
- Fehrmann, H. and Dimond, A. E., 1976. Peroxidase activity and *Phytophthora* resistance in different organs of the potato plant, *Phytopathology*, 57, 69
- Friend, J., Reynolds, S. B., and Aveyard, M. A., 1973. Phenylalanine ammonia lyase, chlorogenic acid and lignin in potato tuber tissue inoculated with *Phytophthora infestans*, *Physiol. Plant Pathol.*, 3, 495
- Grizelinski, A., 1976. Peroxidase isoenzymes in *Fusarium*-infected tomato plants, *Phytopathology*, Z., 69, 212
- Hadwiger, L. A. and Beckman, J. M., 1980. Chitosan as a component of pea-*Fusarium solani* interactions, *Plant, Physiol.*, 66, 205
- Hadwiger, L. A., 1979. Chitosan formation in *Fusarium solani* macroconidia in pea tissue, *Plant, Physiol.*, 63, 133
- Hadwiger, L. A., Beckman, J. M., and Adam, M. J., 1981. Localization of fungal components in pea-*Fusarium* interaction detected immunochemically with anti-chitosan and anti-fungal cell wall antisera, *Plant, Physiol.*, 67, 170
- Hanusova, M., 1969. On the activity of polyphenol oxidases and ascorbic acid oxidase in apple leaves, infected by *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. *Phytopathol. Z.*, 65, 189
- Hildebrand, D. C. and Schroth, M. N., 1964. Arbutin-hydroquinone complex in pear as factor in fire blight development, *Phytopathology*, 54, 640
- Hwang, B. K., Wolf, G., and Heitfuss, R., 1982. Soluble proteins and multiple forms of esterases in leaf tissue at first and flag leaf stages of spring barley plants in relation to their resistance to powdery mildew, *Physiol. Plant Pathol.*, 21, 367
- Jack, G., Görnhardt, B., Mundy, J., Logemann, J., Pinsdorf, E., Leah, R., Schell, J. and Maas, C., 1995. Enhanced quantitative resistance against fungal disease by combinatorial expression of different barley antifungal proteins in transgenic tobacco. *Plant J.*, 8: 97-109
- Jennings, P. H., Brannaman, B. L., and Zschiela, F. P., Jr., 1969. Peroxidase and polyphenol oxidase activity associated with *Helminthosporium* leaf spot of maize, *Phytopathology*, 59, 963
- Lobenstein, G. and Linsey, N., 1961. Peroxidase activity in virus-infected sweet potatoes, *Phytopathology*, 51, 533
- Lovrekovich, L., Lovrekovich, H., and Stahmann, M. A., 1968a. The importance of peroxidase in the wild fire disease, *Phytopathology*, 58, 193
- Lovrekovich, L., Lovrekovich, H., and Stahmann, M. A., 1968b. Tobacco mosaic virus-induced resistance to *Pseudomonas tabaci*. *Phytopathology*. 58, 1034
- Macko, V., Woodbury, W., and Stahmann, M. A., 1968. The effect of peroxidase on the germination and growth of miselium of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, *phytopathology*, 58, 1250
- Massala, R., Legrand, M., and Fritig, B., 1980. Effect of α -aminoxyacetate, a competitive inhibitor of phenylalanine ammonia lyase, on the hypersensitive resistance of tobacco to tobacco mosaic virus, *Physiol. Plant Pathol.*, 16, 213
- Mauch, F., Mauch-Mani, B. and Boller, T., 1998. Antifungal hydrolases in pea tissue. Inhibition of fungal growth by combinations of chitinase and B-1-3 glucanase. *Plant Physiol.*, 88: 936-942
- Moesta, P. and Grisebach, H., 1982. L-2-Aminoxy-3-phenylpropionic acid inhibits phytoalexin accumulation in soybean with concomitant loss of resistance against *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*, *Physiol. Plant Pathol.*, 21, 65
- Netzer, D., Kritzman, G., and Chet, I., 1974. β -(1,3)-glucanase activity and quantity of fungus in relation

- to *Fusarium* wilt in resistant and susceptible near-isogenic lines of muskmelon, *Physiol. Plant Pathol.*, 14, 47
- Nichols, E. J., Beckman, J. M., and Hadwiger, L. A., 1980. Glycosidic enzyme activity in pea tissue and pea-*Fusarium solani* interactions, *Plant, Physiol.*, 66, 199
- Noveroske, R. L., Kuc, J., and Williams, E. B., 1964. Oxidation of phyloridzin and phyloretin related to resistance of *Malus* to *Venturia inaequalis*, *Phytopathology*, 54, 92
- Obukowicz, M. and Kennedy, G.S., 1981. Phenolic ultracytochemistry of tobacco cells undergoing the hypersensitive reaction to *Pseudomonas solanacearum*, *Physiol, plant, Pathol.*, 18, 339
- Oerke, E.C., 1994. Estimated crop losses due to pathogens, animal pests and weeds. In: Oerke, E.C., Dehne, H.W., Schönbeck, F., Weber, A. (eds.), *Crop Production and Crop Losses: Estimated Losses in Major Foods and Cash Crops*, pp. 72-88. Elsevier, Amsterdam.
- Pegg, G.F. and Vessey, J. C., 1973. Chitinase activity in *Lycopersicon esculentum* and its relationship to the *in vivo* of *Verticillium albo-atrum* mycelium, *Physiol. Plant Pathol.*, 3, 207
- Rama Raje Urs, M. V. and Dunleavy, J. M., 1974. Bactericidal activity of horse radish peroxidase an *Xanthomonas phaseoli* var. *sojensis*, *Phytopathology*, 64, 542
- Rudolph, K. and Stahmann, M. A., 1964. Interaction of peroxidase and catalases between *Phaseolus vulgaris* and *Pseudomonas phaseolicola* (halo blight of bean), *Nature (London)*, 204, 474
- Simons, T. J. And Ross, A. F., 1971. Metabolic changes associated with systemic induced resistance to tobacco mosaic virus in Samsun NN tobacco, *Phytopathology*, 61, 293
- Stahmann, M. A., Clare, B. G., and Woodbury, W., 1966. Increased disease resistance and enzyme activity induced by ethylene and production by black rot infected sweet potato tissue, *Plant, Physiol.*, 41, 1505
- Temiz, A., 1998. Enzimler. Saydamlı, İ. (ed.) *Gıda Kimyası*. Hacettepe Üniversitesi yayımları, Ankara.
- Umaerus, V., 1959. The relationship between peroxidase activity in potato leaves and resistance to *Phytophthora infestans*, *Am. Potato J.*, 36, 124
- Vidhyasekaran, P., 1988. *Physiology of disease resistance in plants*, volume II, CRC press, inc. Boca Raton, Florida
- Wang, S. C. And Pinckard, J. A. 1973. Peroxidase activity in the developing cotton boll and its relation to decay by *Diplodia gossypina*, *Physiol. Plant Pathol.*, 63, 1095
- Wargo, P. M., 1975. Lysis of the cell wall of *Armillaria mellea* by the enzymes from forest trees, *Physiol. Plant Pathol.*, 5, 99
- Way, H., Kazan, K., Golter, K.G., Birch, R. and Manners, J.M., 2000. Expression of *Shpx2* gene from *Stylosanthes* confers resistance to *Phytophthora parasitica* and *Cercospora nicotiana* in transgenic tobacco. *Mol. Plant Pathol.*, 1: 223-232
- Woods, T. L. And Agrios, G. N., 1974. Inhibitory effects of a polyphenol-polyphenol oxidase system on the infectivity of cow pea chlorotic mottle virus ribonucleic acid, *Phytopathology*, 64, 35
- Yunis, H., Bashan, Y., Okon, Y., and Henis, Y., 1980. Two sources of resistance to bacterial speck of tomato caused by *Pseudomonas tomato*, *Plant Dis.*, 64, 851
- Zhu, Q., Maher, E.A., Masoud, S., Dixon, R.A. and Lamb, C.J., 1994. Enhanced protection against fungal attack by constitutive co-expression of chitinase and glucanase genes in transgenic tobacco. *Bio/Technology*, 12: 807-812