

Hidrojen Peroksit Uygulamalarının Domates Bakteriyel Solgunluk ve Kanser Hastalığı (*Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* (Smith) Davis et al)'na Etkileri

Hüseyin TÜRKÜSAY¹

Necip TOSUN²

Summary

The Effects of Hydrogen Peroxide Treatments on Tomato Cancer Disease (*Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* (Smith) Davis et al)

In this study, effectiveness of hydrogen peroxide (HuwaSan TR 50) was evaluated to control of *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* *in vitro*, as seed treatment, and *in vivo* on tomato. Hydrogen peroxide showed a strong dezinfectant effects on petri studies as 61.3% efficacy. Moreover, artificially infected seeds were treated with HuwaSan TR 50. Promising results were found to control Cmm in seeds as 73.5% efficacy compare to that of untreated ones. In pot trials, HuwaSan TR 50 application resulted in 80.0% efficacy on tomato seedlings. To understand the mode of action of hydrogen peroxide, total protein contents and peoxidase activity were measured on treated and untreated plants. The highest peroxidase activities were received from HuwaSan TR 50 alone and with combination of Champ Formula. Total protein content was found highest on the plants treated with HuwaSan TR 50 + ChampFormula. According to the results, HuwaSan TR 50 was classified as plant activator.

Key words: Plant activator, hydrogen peroxide, peroxidase activity, *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*.

Giriş

Son yıllarda çevre ve insan sağlığı bilincinin gelişmesi ile, bitkisel ürünlerde kalıntı sorunu yaratan bitki koruma ürünlerine alternatif madde arayışı ve bu maddelerin kullanımı artış göstermektedir. Buna paralel olarak Entegre Zararlı Yönetimi (IPM) ve Entegre Ürün Yönetimi (ICM) projeleri işlerlik kazanmıştır. Yapılan

¹ Yrd.Doç.Dr., E.Ü. Ziraat Fak., Bitki Koruma Böl., Bornova 35100 İzmir
(e-mail: turkusay@ziraat.ege.edu.tr)

² Doç.Dr., E.Ü. Ziraat Fak., Bitki Koruma Böl., Bornova 35100 İzmir

çalışmalar, pestisit kombinasyonlarının bitki aktivatörleri sayesinde daha uzun süreli etkili olduklarını göstermiştir. Böylece, bitki aktivatörü ilavesi sonradan devam edecek enfeksiyonlara karşı çiçeklenme, meyve tutumu gibi bitkilerin kritik dönemlerinde uzun süreli koruma sağlarken, bitkinin temel fonksiyonlarını optimize ederek yüksek verimlilik sağlar.

Clavibacter michiganensis ssp. *michiganensis* (Smith) Davis et al.'ın (Cmm) neden olduğu bakteriyel kanser hastalığı tohum kaynaklı olması itibariyle savaşımı güç ve yıkıcı hastalıklardandır (Smith and Jensen, 1982; Gitaitis, 1991; Agarwal and Sinclair, 1997; Erkan, 1998). Bu hastalık tarla ve serada önemli kayıplara neden olabilmekte ve hastalığın kontrolü için bakırlı preparatlar başta olmak üzere yoğun miktarda pestisit kullanılmaktadır. Bu durum gerek üründe kalıntı sorununun yaşanmasına gerekse toprakta ağır metal olarak birikimi nedeniyle çevre kirliliğine yol açmaktadır.

Cmm'den dolayı meydana gelen ürün kayıpları esas olarak bitkilerin solması ve çökmesiyle oluşmaktadır. Kuşgözü lekeleri olarak ta bilinen meyve lekeleri taze tüketilen meyvenin pazar değerini düşürmektedir. Etmen biber ve diğer Solanaceae familyası bitkilerinin bazılarında görülse de ekonomik zararlara yol açtığı tek konukçu domatestir (Gleason et al., 1993). Domatesin en yıkıcı ve en korkulan hastalıklarından biri olarak tanımlanmakta ve % 60-80'in üzerinde ürün kayıplarına yol açabileceği belirtilmektedir (Sherf and Macnab, 1986). Chang (1992), fide şaşırılması sırasında bulaşık olan hastalıklı domates bitkilerinde sistemik enfeksiyon oranının % 31-83 kadar olduğunda, ortalama meyve ağırlığının 13 g, ürünün ise % 46 oranında azaldığını bildirmektedir. Cmm ile bulaşık domates tohumlarının hastalığın en önemli inokulum kaynağı olduğu, etmenin tohumda taşınma oranının % 0.25-100 arasında olduğu belirtilmektedir (Thyr, 1969; Agarwal and Sinclair, 1997).

Türkiye'de domates tarımının giderek yaygınlaşmasının tohumluk problemini de beraberinde getirdiği, çok sayıda çeşidin ülkeye girmesi ile 1960'lı yıllardan itibaren, domates bakteriyel hastalıklarında bir artış görüldüğü bildirilmektedir (Öktem, 1985). Bakteriyel hastalıklara karşı tohuma uygulanan ruhsatlı bir ticari preparat yoktur. Ancak, tarla ve sera koşullarında bitkiler üzerinde yoğun miktarda bakır kullanımı söz konusudur.

Bitki hastalıkları ile savaşmada en ekonomik, güvenli ve etkili yol tohum ilaçlaması yoluyla gerçekleşmektedir.

Bu denemede Cmm'in oluşturduğu bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığına karşı hidrojen peroksit'in laboratuvar koşullarında petrilere, tohumlar üzerine ve fidelere uygulamaları gerçekleştirilmiştir.

Bitki aktivatörü yardımıyla domatesin önemli bakteriyel hastalığına karşı etkililiğin artırılması, kimyasalların bitki aktivatörleriyle kombine edilerek, uyarılan bitki savunma mekanizması enzimlerinde meydana gelen değişikliklerin saptanması çalışmamızın amacını oluşturmaktadır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Tüm çalışmada E.Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji laboratuvarı stok kültürlerinden sağlanan virulenslik derecesi yüksek, 24-48 saatlik taze Cmm izolatları kullanılmıştır. Etmen King B besi yerinde geliştirilmiş ve *in vitro* denemelerde kullanılmıştır. Tohum ve fide denemelerinde Zeraim Gedera F1 hibrit domates çeşidi kullanılmıştır.

Bitki aktivatörü olarak HuwaSan TR-50 (Hidrojen Peroksit 580 g/L ve kolloid gümüş 0.36 g/L) isimli preparat BioSav firmasından temin edilmiştir. Karşılaştırma preparatı olarak Champ Formula (Bakır hidroksit, 361.1 g/L) isimli preparat Hektaş firmasından sağlanmıştır.

Çizelge 1. *In vitro* testlerde kullanılan preparatlar ve özellikleri

Preparat	Aktif Madde	Firma	Etki şekli	Doz (Preparat/ 100 L su)
HuwaSan TR 50	H ₂ O ₂ + kolloid gümüş	BioSav	Bitki aktivatörü ve dezenfektan	% 0.1
Champ Formula	Bakır hidroksit 361.1 g/L	Hektaş	Fungisit/Bakterisit	250 ml

Yöntem

Cmm'ye karşı preparatların *in vitro* etkililiklerinin saptanması amacıyla; King B besi yeri dökülen 6 cm çaplı petrilere orta noktasına mikropipet yardımıyla 100'er µl Huwa San (% 0.1 dozunda) uygulanmıştır. Bu uygulamadan 15 dakika sonra, 25 °C'de 48 saat geliştirilen Cmm kültüründen 10⁸ cfu/ml yoğunluğunda hazırlanan süspansiyon 15-20 cm uzaklıktan bir püskürtme tabancası yardımıyla püskürtülmüştür. Kontrol petrilere sadece Cmm püskürtülmüştür. Petrilere 25 °C'de 48 saatlik inkubasyon süresi sonunda oluşan

inhibisyon zonu çapları cm olarak ölçülmüştür. Denemeler 10 tekerrürlü olarak yapılmıştır.

Tohum uygulamalarında domates tohumları 10^8 cfu/ml yoğunluğundaki Cmm süspansiyonuna 30 dakika daldırılıp ardından 15 dakika vakum uygulanarak inokule edilmiştir. İnokule edilen tohumlar 1 gece boyunca steril filtre kağıdı üzerinde steril kabinde kurutulmuştur. Tohumların bakteriyel etmenle bulaştırıldığı kanıtlamak amacıyla tesadüf olarak seçilen 30 tohum King B besi yerine ekilerek testlenmiştir. Yapay enfekteli tohumlar % 1 oranında karboksi metil selüloz içeren steril su ile hazırlanan % 0.1'lik HuwaSan TR 50'ye 30 dakika süreyle daldırılmıştır (Weller and Cook, 1983). Daha sonra, toprak, torf ve kum (1:1:1) karışımı içeren saksılara preparat uygulaması görmüş Cmm ile bulaşık tohumlar ekilmiştir. Pozitif kontrol amacıyla steril toprağa etmenle bulaştırılmış domates tohumlarının ekimi yapılmıştır. 5 tekerrürlü olarak yürütülen denemede her bir saksıya 10 adet tohum ekilmiştir. 20-25 °C sıcaklıkta, % 70-80 nemin sağlandığı nemlendirilmiş polietilen torbalar içindeki bitkiler iklim odasında 15 gün tutulmuştur. Saksılara eşit miktarlarda su verilmiştir. Yaklaşık 1 aylık inkubasyon periyodundan sonra gelişen fidelerin kotiledon yapraklarında hastalığın varlığı yönünden inceleme yapılmış ve uygulanan preparatın etkisi değerlendirilmiştir (Karman, 1971; Chang et al., 1992; Aysan, 1999). Cmm'ye karşı etki, tekerrürlerde çimlenen tohumlardan gelişen fidelerde solma, gövdede kanser oluşumu gibi tipik hastalık belirtileri gösteren bitkiler sayılarak kaydedilmiştir (Tokgönül, 1998).

In vivo koşullarda bitkilere yapılan uygulamalar; iklim odasında 20 cm çaplı plastik saksılarda her saksıda 3 adet olmak üzere yetiştirilen 8-10 yapraklı domates fidelerine HuwaSan TR 50 ve karşılaştırma preparatı olarak ChampFormula püskürtülerek gerçekleştirilmiştir. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 20 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Cmm'ye karşı etkinin incelendiği bu denemede, HuwaSan TR 50, ChampFormula ve HuwaSan TR 50+ChampFormula kombinasyon uygulanmasından 72 saat sonra, stok kültürlerinden alınmış 48 saatlik 10^8 cfu/ml yoğunluğunda Cmm süspansiyonu, 8-10 yapraklı fidelerin gövdelerinin steril bir ahşap kürdan ucuna bulaştırılarak delinmesi suretiyle verilmiştir. Bitkiler 10 gün boyunca nemlendirilmiş polietilen torbalar içinde %80-90 orantılı nemde tutulmuştur. İnokulasyondan 25 gün sonra değerlendirmeler yapılmıştır. Solma, gövdede kanser oluşumu gibi tipik hastalık belirtileri gösteren bitkiler sayılarak kaydedilmiştir Değerlendirmede

hastalanan bitkiler sağlam olanlara oranlanarak hastalık oranı saptanmış, daha sonra bu değerlerle; kontroldeki hastalanma oranından uygulamadaki hastalanma oranı çıkarılmış ve elde edilen değer kontroldeki hastalanma oranına bölündükten sonra yüz ile çarpılarak yüzde etki hesaplanmıştır.

Yapılan uygulamaların bitkinin savunma sistemine etkisini saptamak amacıyla protein ve enzim analizleri de gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, kontrol grubu için saf su ile, HuwaSan TR 50, ChampFormula tek başlarına ve kombine edilerek uyarılan bitki savunma mekanizması enzimlerinde meydana gelen değişiklikler saptanmıştır. Tüm uygulamalar bitirildikten sonra bitkilerin yaprakları kesilerek, sıvı azot içerisinde dondurulup enzim ve protein içeriklerinin kaybolması engellenmiş ve tüm örnekler 24 saat süre ile +4 °C'de liyofilizatörde tutularak su içeriklerinin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Daha sonra yapraklar Waren blender yardımıyla toz haline getirilerek soğuk sodyum fosfat tamponu içerisinde homojenize edilmiştir.

Analizler için homojenat santrifüje edilmiş, her örneğin protein konsantrasyonları Bradford (1976)'nın yöntemine uygun olarak saptanmış ve daha sonra aynı homojenatlardan peroksidaz enziminin tayini için faydalanılmıştır. Peroksidaz aktivitesinin spektrofotometrik ölçümlerinde Kanner ve Kinsella (1983)'nin metodu kullanılmıştır.

Yaprak ekstraktlarının hazırlanması:

1. Yaprakların kesilerek sıvı azot ile muamele edilmesi
2. 24 saat süreyle sođuk liyofilizasyon
3. Sođuk sodyum fosfat tamponunda homojenizasyon (1:5 oranında)
4. 20.000 g'de 15 dakika 4 °C'de santrifüj

Total protein analiz yöntemi:

1. BSA kullanılarak protein standart grafiğinin hazırlanması (0.01-0.1 mg protein)
2. Homojenatlardan 100 µl alınarak 5 ml taze hazırlanmış Brilliant Blue G250 katalizörlüğünde renk reaksiyonunun başlatılması
3. Total protein miktarının 595 nm'de spektrofotometrik olarak belirlenmesi
4. Standart grafik kullanılarak elde edilen sonuçların değerlendirilmesi

Spesifik enzim aktivitesinin kolorimetrik olarak analiz yöntemi:

1. Reaksiyon karışımında sodyum fosfat tamponu, 0.2 ml 0.1 M pyrogallol, 100 µl 90 mM H₂O₂ ve değişen miktarlarda yaprak homojenatı 10-40 µl kullanılmış ve final hacim sodyum fosfat tamponu ile 1 ml'ye tamamlanmıştır.
2. Peroksidaz kinetik reaksiyonunun analizi için spektrofotometrede 300 nm'de 3 dakika süreyle ölçüm yapılmıştır. Veriler arasında elde edilen en büyük fark mg protein düzeyine çevrilerek mg/ml/dk enzim birimi olarak verilmiştir.

Araştırma Bulguları

Cmm'ye karşı preparatların *in vitro* etkililiklerinin saptanması amacıyla yapılan denemelerde patojen uygulamasından 48 saat sonra alınan sonuçlar Çizelge 2'de görülmektedir.

Çizelge 2. Petride Cmm'ye karşı HuwaSan TR 50 uygulamasının etkileri

Tekerrürler	İnhibisyon zonu çapı (cm)	
	Kontrol	HuwaSan TR 50
1	0.0	3.5
2	0.0	3.4
3	0.0	3.6
4	0.0	3.7
5	0.0	3.8
6	0.0	4.2
7	0.0	3.6
8	0.0	3.8
9	0.0	3.9
10	0.0	3.3
Ortalama	0.0	3.68

Çizelge 2'den de anlaşılacağı gibi, inhibisyon zonlarının çaplarının ölçülmesi şeklinde yapılan denemede, kontrol ile karşılaştırıldığında 6 cm çaplı petrilerde Cmm'nin koloni gelişimi, HuwaSan TR 50 adlı preparat ile önemli oranda (% 61.3) engellenmiştir.

Çizelge 3'te, tohumlara yapay olarak Cmm inokulasyonundan sonra uygulanan bitki aktivatörünün etkileri görülmektedir. Buna göre domates tohumlarına uygulanan HuwaSan TR 50 isimli bitki aktivatörü Cmm'ye karşı kontrole göre % 73.5'lik bir engelleme etkisi göstermektedir.

Çizelge 3. Tohumlara aktivatör uygulamasının Cmm üzerine etkileri

Tekerrürler	10 bitkide hasta bitki sayısı	
	HuwaSan TR 50	Kontrol (+)
1	3	10
2	2	9
3	3	10
4	2	10
5	3	10
Ortalama Hasta Bitki Sayısı	2.6	9.8
Etki Oranı (%)	73.5	-

Çizelge 4'te, HuwaSan TR 50 ve ChampFormula'nın tek başına ve kombinasyon halinde kullanılmasının hastalık gelişimi üzerine etkisi değerlendirilmiştir.

Çizelge 4. Domates fidelerinde Cmm'nin engellenmesi amacıyla uygulanan preparatların etkisi

Tekerrürler	Solma ve kanser belirtili hasta bitki sayısı			
	ChampFormula	HuwaSan	HuwaSan+CF	Kontrol (+)
1	2	1	0	3
2	0	1	1	3
3	1	0	0	3
4	1	2	1	2
5	2	1	0	3
6	0	2	0	2
7	1	0	1	3
8	2	1	1	3
9	2	2	1	3
10	1	1	0	3
11	2	1	0	3
12	1	0	1	3
13	2	1	0	2
14	1	0	1	3
15	2	1	1	2
16	2	0	0	2
17	3	1	0	3
18	1	1	1	3
19	1	2	0	3
20	2	0	2	3
Toplam	29/60 bitki	18/60 bitki	11/60 bitki	55/60
Hastalanma Oranı	48.3	30	18.3	91.7
Etki (%)	47.3	67.3	80.0	-

Bakterisit etkili ChampFormula tek başına kullanıldığında Cmm'ye karşı daha düşük oranda etkili olduğu görülmektedir. HuwaSan TR 50 uygulamalarında ise, etki artarak % 67.3 seviyesine çıkmıştır. Diğer yandan, HuwaSan TR 50+ChampFormula birlikte uygulamasında etkinin tek başına aktivatör kullanımına göre daha iyi seviyelerde (%80.0) olduğu dikkati çekmektedir.

Domates bitkilerindeki total protein ve peroksidaz enzim aktiviteleri değerlendirildiğinde Çizelge 5'teki sonuçlar elde edilmiştir.

Total protein bakımından tüm gruplar kontrol grubu ile ve kendi aralarında karşılaştırıldığında $p<0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli farklılık göstermektedir.

Çizelge 5. Total protein sonuçları (*Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*)

Grup	Tekerrür sayısı	mg/mL protein Ort.±SS
Kontrol (Cmm)	5	0.189±0.021
HuwaSan TR 50 + Cmm	5	0.487±0.006
ChampFormula + Cmm	5	0.521±0.030
HuwaSan TR 50 + Cmm + ChampFormula	5	0.623±0.043

Uygulamaların peroksidaz enzim aktivitelerine üzerindeki sonuçları Çizelge 6'da verilmiştir.

Çizelge 6. Peroksidaz sonuçları (*Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*)

Grup	Tekerrür sayısı	mg/ ml/ dk Ort.±SS
Kontrol (Cmm)	5	244.0 ± 1.18
HuwaSan TR 50+ Cmm	5	633.6 ± 1.27
ChampFormula + Cmm	5	473.0 ± 2.13
HuwaSan TR 50+ Cmm + ChampFormula	5	772.5 ± 2.03

Peroksidaz enzimi için en iyi aktivite, tek başına HuwaSan TR 50 ve ChampFormula ile kombinasyonda uygulanan gruplarda gözlenmiştir. Peroksidaz enzimi bakımından tüm gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında $p<0.05$ seviyesinde istatistiksel açıdan önemli farklılık göstermektedir.

Tartışma ve Sonuç

Son yıllarda bazı domates alanlarında bakırlı ilaçların etkisiz olduğu görülmüş ve bakteriyel etmenlerin bakırlı bileşiklere dayanıklılık kazandığı tespit edilmiştir (Cooksey, 1986; Benlioğlu ve Benlioğlu, 1998).

Bu denemede *in vitro* testlerde, HuwaSan TR 50 adlı bitki aktivatörü tarafından Cmm'nin koloni gelişimi %61.3 oranında engellenmiştir.

Tohumlara yapay olarak Cmm inokulasyonundan sonra uygulanan HuwaSan TR 50 muamelesi % 73.5'lik bir etki sağlamıştır.

Domates fidelerinde Cmm'nin engellenmesi amacıyla uygulanan aktivatörün etkisi incelendiğinde, HuwaSan TR 50 tek başına %70.0'lik bir etki gösterirken, bakterisit etkili ChampFormula ile birlikte kullanıldıklarında patojen bakteriye karşı etkinin de arttığı (%81.7) görülmektedir.

Yapılan uygulamalar sonucunda Cmm ile enfekte edilmiş olan bitkilerde savunma tepkisinin bir göstergesi olarak peroksidaz enziminin spesifik aktivitesinde kontrol grubuna oranla önemli artış saptanmıştır. Peroksidaz aktiviteleri sırasıyla ChampFormula uygulamasında 473.0 mg/ ml/ dk, HuwaSan TR 50 uygulamasında 633.6 mg/ ml/ dk, HuwaSan TR 50+ ChampFormula kombinasyonunda 772.5 mg/ ml/ dk bulunurken sadece patojen verilen grupta bu oran 244.0 mg/ ml/ dk ile en düşük seviyede olmuştur.

Bitkilerde savunma mekanizmasında görev alan çeşitli enzimler sentezlenmekte ve gerekli durumlarda bitkiyi korumaktadır. Bu enzimlerden savunma mekanizmasının işleyişinde etkin olarak yer alan öncül enzim Peroksidaz'dır. Peroksidaz [EC 1.11.1.7] bitkilerdeki çoklu savunma sisteminin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır ve bitkilerin çoğunda kloroplastlarda sentezlenmektedir (Malolepsa and Urbanek, 1994). Peroksidaz bitkilerde sinnamil grubunun lignine polimerizasyonunu katalizlenmesini sağlar. Lignin hücre çeperinin ana bileşenidir ve bitki dokularına mekanik destek sağlar, bunun yanı sıra ksilemde de bulunur ve patojen saldırılara karşı bitkileri korumakta önemli bir rol oynar (Lagrimni et al., 1993). Peroksidaz ayrıca hücre çeperlerinin süberizasyonunu, fenolik polimerlerin birikimini sağlamaktadır (Sherf et al.,1993). Yaprakları K₂HPO₄ ile muamele edilen bitkilerde peroksidaz artışı sağlanmıştır (Irwing and Kuc, 1990).

Elde edilen sonuçlar topluca değerlendirildiğinde, bitki aktivatörlerinin fungusitler/bakterisitler ile karışım halinde veya

dönüşümlü uygulandıklarında etki yüzdelerinin arttığını ve muhtemelen etki süresinin de uzayabileceğini söyleyebiliriz.

Bu çalışmada, Cmm'ye karşı bir bitki aktivatörü ile söz konusu etmene karşı kullanılan fungusit/bakterisit tek başlarına ve birlikte kombinasyonları denenmiştir. Bu uygulamalar sonucunda bitki savunma sisteminde oluşabilecek enzimatik stimülasyonların saptanması yoluna gidilmiştir. Böylece, elde edilen veriler yardımıyla sera saksı koşullarında hastalıklara karşı en etkili bulunan uygulamalar, çiftçi koşullarında kullanılması için ışık tutacaktır.

Son yıllarda bitkilerin yapraklarına doğal bileşikler püskürtülerek veya enjeksiyon yolu ile bitkilerin bünyesine verilerek bitki hastalıklarıyla integre savaşım anlayışı içerisinde bitki aktivatörlerinin kullanılması, tüm dünyada araştırmalarda önemli bir yer tutmakta ve bu yöntemler sonucunda başarılı sonuçlar alınmaktadır (Lagrimni et.al, 1993; Benhamou, 1996). Böylece, fungusitlerin düşük dozları ve biyopreparatların aktivatörler ile birlikte kullanılmasıyla, bitki hastalıklarının kontrolünde etkinliğin artırılması sağlanmaya çalışılarak, ülkemiz tarımında ve dış satımında önemli yer tutan domatesin fitopatolojik sorunlarının çözümlenmesine katkıda bulunulacaktır.

Bitkinin savunma mekanizmasını harekete geçirerek daha az pestisit ile daha fazla etkinin pratikte de elde edilebilmesi için, ümitvar bulunan bu uygulamaların doğal koşullarda da denenmesinin yararlı olacağı kanısındayız.

Özet

Bu denemede Huwasan TR 50 isimli bitki aktivatörü kullanılmıştır. Laboratuvar koşullarında, domates tohumlarında ve fidelerinde tek başına ve kombine edilerek *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*'in kontrolündeki etkisi araştırılmıştır. Deneme sonuçları göstermiştir ki, petrilerde gerçekleştirilen testlerde HuwaSan TR 50, Cmm (% 61.3)'ye karşı önemli oranlarda inhibisyon oluşturmuştur. Tohumlara yapay olarak Cmm inokulasyonundan sonra bitki aktivatörü uygulandığında, HuwaSan TR 50 ile yapılan muamelede % 73.5'lik bir engelleme etkisi saptanmıştır. Bitki aktivatörlerinin domates fidelerinde Cmm'nin engellenmesindeki rolü incelendiğinde, aktivatörün bakterisit etkili ChampFormula ile birlikte kullanıldığında etmene karşı daha yüksek oranlarda etkili olduğu saptanmıştır. HuwaSan TR 50 + CF % 80.0'lik bir etki göstermiştir. Domates bitkilerindeki total protein ve peroksidaz enzim aktiviteleri değerlendirildiğinde Peroksidaz enzimi için en iyi aktivite, tek başına HuwaSan TR 50 ve ChampFormula ile kombinasyonda uygulanan gruplarda gözlenmiştir. Total protein bakımından tüm gruplar kontrol grubu ile ve kendi aralarında karşılaştırıldığında en iyi aktiviteyi HuwaSan TR 50 + ChampFormula uygulaması göstermiştir. Tüm sonuçlar

değerlendirildiğinde, HuwaSan TR 50 bitki aktivatörü sınıfında yer alabileceği düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: Bitki aktivatörü, hidrojen peroksit, peroksidaz aktivitesi, *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*.

Kaynaklar

- Agarwal, V.K. and J.B. Sinclair, 1997. Principles of Seed Pathology. 2nd Ed. CRS Press Inc. Boca Raton, Florida. 539 p.
- Aysan, Y.Y., 1999. Domates Bakteriyel Kara Leke Hastalığının (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) Tanımı, Irklarının Tespiti, Domates Tohumlarında Saptanması ve Kimyasal Savaşma Alternatif Yöntemlerin Araştırılması Üzerine Çalışmalar. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı Doktora Tezi. Adana, IX+106 s.
- Benhamou, N., 1996. Elicitor-induced plant defence pathways. Elsevier Science Ltd. Vol.1 No.7, July.
- Benlioğlu, K. ve S. Benlioğlu, 1998. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı bakır dayanıklılığı üzerinde çalışmalar. 8. Türkiye Fitopatoloji Kongresi. 21-25 Eylül, Ankara s 52-56.
- Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72:248-254..
- Chang, R.J., 1992. Reductions in Yield of Processing Tomatoes and Incidence of Bacterial Cancer. Plant Dis. 76:805-809.
- Chang, R.J., S.M. Ries and J.K. Pataky, 1992. Local Sources of *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* in the Development of Bacterial Cancer on Tomatoes. Phytopath. 82:453-560.
- Cooksey, D.A., 1986. Inducibility of copper resistance in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. Phytopath. 76:1076.
- Erkan, S., 1998. Tohum Patolojisi. Gözdem Ofis. 275 S.
- Gitaitis, R.D., 1991. Bacterial cancer. In: Compendium of Tomato Diseases (J.B. Jones, J.P. Jones, R.E. Stall, T.A. Zitter (Eds.). APS Press. St. Paul., Minnesota 25-26 pp.
- Gleason, M.L., R.D. Gitaitis and M.D. Ricker, 1993. Recent Progress in Understanding and Controlling Bacterial Cancer of Tomato in Eastern North America. Plant Dis. 77(11):1069-1076.
- Irving, H.R. and J. Kuc, 1990. Local and systemic induction of peroksidase, chitinase and resistance in cucumber plants by potassium phosphate monobasic. Physiol. and Mol. Pl. Pathol. 37:355-366.
- Kanner, J and J.E. Kinsella, 1983. Lipid deterioration initiated by phagocytic cells in muscle foods: β -carotene destruction by a myeloperoxidase-hydrogen peroxide-halide system. J.Agric.Food Chem., 31:370-376. 12 nd. edn. Churchill Livingstone, Edinburgh, London, New York .
- Karman, 1971. Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler. Denemelerin Kuruluşu ve Değerlendirme Esasları. T.C. Tarım Bakanlığı Ziraî Mücadele ve Ziraî Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları. 279 s.

- Lagrimni, L.M., J. Vaughn, W.A. Erb and S.A. Miller, 1993. Peroxidase over production in tomato: wound induced polyphenol deposition and disease resistance. Hort.Sci. 28:218-221.
- Maleopsa, U. and U. Urbanek, 1994. Changes in peroxidase activity in bean suspension cultures after *Botrytis cinerea* elicitor treatment. J. of Phytopath. 141:314-322.
- Öktem, Y.E., 1985. Studies on Determination of Susceptibility of Tomato Varieties Against *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense*. IV. Türkiye Fitopatoloji Kongresi 8-11 Ekim 1995, İzmir, Türkiye.
- Sherf A.F. and A.A. Macnab, 1986. Vegetable diseases and their control. (2nd Ed.) John Wiley and Sons. Inc., New York 728 pp.
- Sherf, B.A., A.M. Bajar and P.E. Kollattukudy, 1993. Abolition of an inducible highly anionic peroxidase activity in transgenic tomato. Plant Physiology 101:201-208.
- Smith E.F. and H.L. Jensen, 1982. Data sheets on Quarantine Organisms *Corynebacterium michiganense*. Eppo Bulletin 12(1):1982.
- Thyr, B.D., 1969. Assaying Tomato Seed for *Corynebacterium michiganense*. Plant Dis. Repr. 53:858-860.
- Tokgönül, S., 1998. Ticari Domates Tohumlarında Bakteriyel Solgunluk Etmeni (*Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*)'nin Saptanması ve Etmene Karşı Mücadele Olanakları Üzerinde Araştırmalar. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı Doktora Tezi. Adana, VII+93 s.
- Weller, D.M. and R.J. Cook, 1983. Suppression of Take all of Wheat by Seed Treatments with Fluorescent Pseudomonads. Phytopath. 73:463-469.