

Patlıcanda *Verticillium* Solgunluğuna Dayanıklılık ile Kallus Kültüründe Solavetivon Birikimi Arasındaki İlişkinin İncelenmesi*

Sevinç USLU-KIRAN¹ Şebnem ELLİALTIOĞLU² F.Sara DOLAR³ A.Sülün ÜSTÜN⁴
Ülkü MEHMETOĞLU⁵ Harun BAYRAKTAR³

¹ Toprak ve Su Kaynakları Araştırma Enstitüsü, Ankara
² Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara
³ Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Ankara
⁴ Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara
⁵ Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Ankara

Özet: Antalya'daki seralardan toplanan hastalıklı bitkilerden izole edilen *Verticillium dahliae* fungusu, bu hastalığa duyarlı Long Purple patlıcan çeşidi ile *Solanum sisymbriifolium* fidelerine bulaştırılmış ve patojenite testi yapılmıştır. Yabani türe ait bitkiler hastalık belirtisi göstermemiş, duyarlı çeşitte ise fungusun neden olduğu hastalık şiddeti %60.7 oranında belirlenmiştir. *V.dahliae* fungal elisitörünün üç farklı dozu uygulanan kallus dokularında solavetivon fitoaleksini oluşturmuştur. Elisitör uygulamasından 24, 48 ve 72 saat sonra yapılan ölçümlerde en yüksek solavetivon birikimi yabani türün kalluslarında, '2.0 ml elisitör + 72 saat uyarı süresi' kombinasyonundan elde edilmiştir. Kallus dokusunda solavetivon birikimi ile *V.dahliae*'ye dayanıklılık arasında bir ilişkinin bulunabileceği yönünde bir görüş oluşmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Solanum melongena*, *Solanum sisymbriifolium*, *Verticillium dahliae*, fitoaleksin, *in vitro*

Investigation on the Relationship Between Resistance to *Verticillium* Wilt and Solavetivone Accumulation in Callus Culture of Eggplants

Abstract: *Verticillium dahliae* fungus was isolated from diseased plants of greenhouses in Antalya and infected to Long Purple eggplant variety and *Solanum sisymbriifolium* seedlings susceptible to this disease and pathogenity test was carried out. While the wild plant varieties have not exhibited disease symptoms, fungus was found to be 60.7% pathogen for susceptible varieties. Solavetivone phytoalexin was formed within callus tissues over which three different doses of *V.dahliae* fungal elicitor were applied. Measurements carried out 24, 48 and 72 hours after elicitor application showed that the highest solavetivone accumulation was observed in callus of wild variety with '2.0 ml elicitor + 72 hour elicitation duration' combination. An opinion has grown out that there might be a relation between solavetivone accumulation in callus tissues and resistance to *V.dahliae*.

Key Words: *Solanum melongena*, *Solanum sisymbriifolium*, *Verticillium dahliae*, phytoalexin, *in vitro*

Giriş

Ülkemiz, patlıcan üreticisi ülkeler arasında önemli bir noktada bulunmakta olup tek başına Türkiye'nin patlıcan üretim değerleri, Avrupa'daki diğer ülkelerin toplamından daha yüksektir. Son on yıllık veriler incelendiğinde; dünya patlıcan üretiminde Çin'in % 50.6, Hindistan'ın % 30.1, Türkiye'nin % 3.8 ile ilk üç sırayı paylaştıkları, özellikle son beş yılda Çin üretiminin arttığı; Hindistan ve Türkiye üretimlerinin ise fazla değişmediği görülmektedir (Anonymous, 2005). Verim bakımından da ülkemiz, Japonya, İtalya ve İspanya'nın gerisinde olmakla birlikte A.B.D. ile aynı seviyede olup aralarında anavatanı bulunan diğer birçok Asya ülkesinden daha iyi durumdadır. Buna rağmen son yıllarda patlıcan ekim alanları ve dolayısıyla üretim miktarlarımızda önemli bir artış olmadığı gibi üretimin zaman zaman düştüğü gözlenmektedir. Hem yetiştiriciliğin hem de üretimin sınırlı düzeyde kalmasının pek çok nedeni bulunmakta birlikte, özellikle örtü altı yetiştiriciliğinin yapıldığı bölgelerde görülen *Verticillium* solgunluğu hastalığı bu sınırlamada önemli yer tutmaktadır. *Verticillium* solgunluğu, toprak kökenli bir patojen olan *Verticillium dahliae*'nin yol açtığı patlıcan hastalıklarından birisi olup yaygın olarak karşılaşılan solgunluklardandır. Hastalığa karşı etkili bir kimyasal mücadele olmaması nedeniyle kültürel önlemler ile mücadele yapılmaya çalışılmaktadır. Kültürel yöntemler arasında; toprak sıcaklığında ani düşüşlerin engellenmesi

için düzenli sulamanın yapılması, sıcak bölgelerde yetiştiricilik yapılmadığı dönemlerde solarizasyonun uygulanması, fungusla bulaşık alanlarda hastalıklı bitkilerin sökülüp atılması, toprak işlemeye dikkat edilmesi ve bunların yanı sıra ekim nöbetinin uygulanması sayılabilmektedir. Bununla birlikte, kültürel yöntemler kullanarak hastalıktan kurtulma çabaları veya tarım ilaçları kullanarak yapılan savaşım, *V. dahliae* ile mücadelede çok fazla etkin olmadığı gibi ekonomik de değerlidir. Yetiştiricilik sırasında kültürel önlemler almak, düşük etkili bir korunma yöntemi olarak sadece hastalığın çıkışını ve yayılmasını yavaşlatıcı rol oynamakta, dayanıklı çeşit kullanmaktan başka bir çıkar yol görülmemektedir. Ancak anılan hastalık etmenine karşı dayanıklılığın yabani türlerde bulunması ve türler arasında melezlemelerin yapılmasında karşılaşılan biyolojik engeller, dayanıklı çeşitlerin elde edilmesini ve kullanımını da pratik anlamda olanaksız kılmaktadır. Tüm bu unsurlar, *Verticillium* solgunluğu hastalığına dayanım konusunda çalışmaların devam etmesine neden olmakta ve araştırmacıları hastalıkla savaşımında yeni arayışlara yönlendirmektedir.

Bitkinin savunma mekanizmasının bir ürünü olan fitoaleksinlerin patojenlere ve özellikle de fungal etmenlere karşı dayanıklılıkta önemli rol oynadığının anlaşılmasından sonra değişik bitki türlerinde sentezlenen türe özgü fitoaleksinlere olan ilgi artmıştır. Seskiterenoid grubu fitoaleksinlerden biri olan kapsidolün biberde (Stoessl ve

* Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü tarafından desteklenmiştir.

ark.,1972; Üstün, 1990) ve tütünde (Chappel ve ark.,1987) üretimini etkileyen bazı uyarıcı uygulamaları önceki yıllarda rapor edilmiştir. Solanaceae familyasında yer alan türlerden patatesten risitin (Tomiyama ve ark., 1968), fitüberin (Vams ve ark., 1971) ve lubimin (Metlitskij ve ark., 1971) belirlenirken; risitinin domateste de oluşturulduğu ortaya konmuştur (Ahmed ve ark., 1997). *Hyoscyamus muticus* (Ramakrishna ve ark., 1993; Mehmetoğlu ve Curtis, 1997) türünde solavetivon tanımlanmıştır. Ward ve ark. (1975), patlıcanın enfekte edilmiş meyvelerinden özellikle lubimin elde edilebildiğini bildirmiştir. Stoessl ve ark. (1975) ise patlıcandaki fitoaleksinleri ve bunların yapılarını rapor etmiştir. Imoto ve Ohta (1988), kültüre alınmış patlıcan hücrelerinde abiyotik elisitör uygulamaları yapılmasını takiben diasetilenik bileşenler oluştuğunu saptamışlardır. Nagaoka ve ark. (2001), Afrika'da yetiştirilen patlıcan türlerinden biri olan *S.aethiopicum* bitkilerinin kök öz suyunda, beş seskiterpen fitoaleksini izole etmiştir: Solavetivon, lubimin, lubiminoik asit, aethion, lubiminol. Yokose ve ark. (2004) ise, toprak kökenli patojenlerden olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *melongenae*, *V.dahliae* funguslarına ve *Ralstonia solanacearum*'a dayanıklı olan *Solanum abutiloides* bitkilerinin köklerinde fitoaleksinin tabiatında yeni bir maddeye (3-beta-acetoxysolavetivone) rastladıklarından bahsetmektedir.

Doku kültürü teknikleri, küçük alanlarda çok sayıda bitki materyaliyle, kontrol edilebilen optimum koşullarda çalışma olanağı verdiği için, fizyolojik çalışmalarda ve temel mekanizmaların aydınlatılması amacıyla tercih edilebilmektedir. Hastalıklara dayanıklılık mekanizmaları fitoaleksinin oluşumu arasındaki ilişkinin incelendiği çalışmalar, başka bazı bitki türlerinde de yapılmıştır. Bu çalışmaların sonucunda, fitoaleksinin biriktirme kapasitesi ile hastalıklara dayanıklılık arasında ilişki olabileceği yönünde bulgulara rastlanmaktadır (Duchense ve ark., 1994; Sbaghi ve ark., 1995; Gardner ve ark., 1994; Ellialtıoğlu ve ark., 2001). Uyarılmış dayanıklılık mekanizmasının koruyucu bir yöntem olarak kullanılabilme olasılığının yanısıra, patlıcanda *Verticillium* etmenine dayanımın veya duyarlılığın nedenlerinin anlaşılabilmesi çerçevesinde solavetivon, lubimin ve risitin fitoaleksinlerinin oluşum ve birikiminin incelenmesi, bu kapsamda planlanmış bir bütünün ilk halkasını oluşturmaktadır. *V.dahliae*'ye dayanıklı ve duyarlı olduğu bilinen genotipler kullanılarak *in vitro* kallus kültürlerinde fitoaleksinin birikiminin incelenmesi, dayanıklılık ve fitoaleksinin oluşturma kapasitesi arasında bir ilişkinin bulunup bulunmadığı hakkında bilgi edinmek, bu çalışmanın amacını oluşturmuştur.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Patlıcanda *Verticillium dahliae* hastalık etmenine karşı dayanıklılığın mekanizmasında fitoaleksinin sentezlenmesi ve birikiminin etkisini belirlemeye yönelik olarak gerçekleştirilen çalışmada iki farklı genotip kullanılmıştır. Bunlardan birisi *V. dahliae* hastalık etmenine duyarlı Long Purple kültür çeşidi olup, diğeri ise bu hastalığa yüksek dayanım gösterdiği bilinen *Solanum sisymbriifolium* yabani türüne ait bir hatır (Şekil 1 a ve b).

Araştırmada, son ürün olan risitin ve bunun yol izindeki öncül maddeler olan solavetivon, lubimin maddelerinin oluşumunu uyarmak amacıyla bir fungal

elisitör, *Verticillium dahliae*'nin otoklavlanmış spor süspansiyonu kullanılmıştır.

Yöntem

***Verticillium dahliae* fungusunun izole edilmesi ve patojenisite testi:** Antalya ve çevresindeki seralarda yetiştirilen patlıcan alanlarında *Verticillium* solgunluğu hastalığına yakalanmış bitkilerden fungusun izole edilmesi amacıyla hastalıklı bitki örnekleri toplanmıştır. Solgunluk belirtisi gösteren patlıcan bitkilerinin kök boğazından ve kök boğazının hemen üstündeki gövde kısmından 1 cm'lik parçalar alınıp %0.5'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 2 dakika süreyle tutularak yüzeysel dezenfeksiyonları yapıldıktan sonra, steril kurutma kağıtlarının arasında kurutulup 2-3 mm'lik parçalar halinde tekrar kesilip etanol-streptomisin agar ortamına ekimleri yapılmıştır. 7-10 gün sonra gelişen fungus kolonileri ortamda gözlenmiştir. Bu şekilde izolasyonları yapılan *V.dahliae* izolatları PDA (patates dekstroza agar) ortamı kullanılarak çoğaltılmış (Şekil 1c) ve yine aynı ortamda saklanmıştır (Melouk, 1992). Daha sonra bu fungusun izolatları ile sağlıklı fideler üzerinde patojenisite testleri kurulmuştur.

Verticillium solgunluğu hastalık etmenine dayanıklı (*S. sisymbriifolium* türü) ve duyarlı (Long Purple çeşidi) bitkilerde patojenisite testleri için kök daldırma yöntemi kullanılmıştır. Bunun için öncelikle vermikulit içerisinde çimlendirilerek Hoagland besin çözeltisiyle sulanan ve 5 yapraklı olacak kadar büyütülen patlıcan fideleri, tanımlanan aşamaya geldiklerinde buldukları ortamdaki kökleri uç kısmından kesilerek yara yeri açılması sağlandıktan sonra fideler, Thoma lamı kullanılarak 10^7 spor/ ml' ye ayarlanan spor süspansiyonunda bir saat süreyle bekletilmiştir (Koike ve ark., 1992). Böylece köklerin fungus sporları ile doğrudan teması sağlanmıştır. Kontrol bitkileri de aynı işleme tabi tutulduktan sonra steril saf suda bekletilmiştir. Steril toprak içeren saksılara şaşırtma yapılmış; denemeler 15 tekrerrür olarak yürütülmüştür. Değerlendirmeler dikimden 2 ay sonra aşağıda tanımlanan 0-5 skalasına göre yapılmıştır (Tsrör ve ark., 2001).

0-5 skalası

- 0: Hastalık belirtisi yok,
 - 1: Yapraklarda az düzeyde kloroz görülmekte,
 - 2: Orta düzeyde kloroz (yaprakların %30-50'si) görülmekte,
 - 3: Orta düzeyde solma ve karama görülmekte,
 - 4: Yaprakların %50'sinden fazla solma ve karama görülmekte,
 - 5: Bitkilerde ölüm meydana gelmekte.
- Skala değerlerine göre % hastalık şiddeti aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Hastalık Şiddeti} = \frac{\sum \text{Skala değeri} \times \text{Skaladaki örnek adedi}}{\text{Toplam örnek adedi} \times \text{En yüksek sınıf değeri}} \times 100$$

Kallus Dokusunun Elde Edilmesi

Tohum sterilizasyonu: Tohumlar önce %96'lık etil alkolde 3 dakika süreyle bekletilmiş; bunun ardından %30'luk ticari sodyum hipoklorit çözeltisinde 30 dakika tutulduktan sonra steril saf su ile 5'er dakika 3 kez çalkalanarak durulanmış (Erdem, 1998) ve dikime hazır hale getirilmiştir. Tohumlar, yüzey sterilizasyonuna tabi

tutulduktan sonra içerisinde 50'şer ml besin ortamı bulunan magenta kutularına 6'şar adet yerleştirilmiştir.

Fide sterilizasyonu: Tohumlara uygulanan yüzey sterilizasyon işlemleri enfeksiyon oluşumunu tamamen önlemiştir. Ancak Long Purple çeşidi tohumları *in vitro* koşullarda başarıyla çimlendirildiği halde, yabani türün tohumlarında sadece %2 oranında çimlenme meydana gelmiştir. Bu yolla fide elde etmek mümkün olamayınca, tohum ekimi iklim odasında vermikulit içerisine yapılmıştır. Vermikulit içerisine ekilen tohumların tamamı çimlenmiştir. İklim odasında fide kaplarında çimlenerek gelişen *S. sisymbriifolium*'a ait fideler 3-4 yapraklı olunca kök boğazından 2 cm kadar yukarıdan kesilmiş ve yüzeysel sterilizasyona tabi tutulmuştur. Bu amaçla yaprakları kopartılan ve sadece gövde kısımları alınan fideler %15'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 12 dakika tutulup ardından 3 kez 5'şer dakika steril saf suda çalkalama uygulamalarından geçtikten sonra hipokotil eksplantları hazırlanmıştır.

Besin ortamı bileşimleri: Long Purple patlıcan tohumlarının çimlendirilmesi amacıyla hormonsuz Murashige ve Skoog (1962) temel besin ortamı kullanılmıştır. Long Purple ve *S. sisymbriifolium*'a ait fidelerden alınan hipokotil eksplantlarından kallus elde edilmesi aşamasında ise MS temel besin ortamına dört farklı büyüme düzenleyici uygulaması yapılmıştır. Patlıcan eksplantlarından kallus elde etmek için 2,4-D ya tek başına ya da kinetin ile birlikte kullanılmıştır. (1. 0.5 mg/l 2,4-D, 2. 1.0 mg/l 2,4-D, 3. 0.5 mg/l 2,4-D + 0.1 mg/l kinetin, 4. 1.0 mg/l 2,4 D + 0.1 mg/l kinetin). Kontrol grubu olarak, hormonsuz ortama dikilen eksplantlar değerlendirilmiştir. Eksplantların dikiminden 21 gün sonra tüm ortamlar üzerinde oluşan kallus dokuları ana eksplantın ayrılacak, her iki genotipin de en iyi gelişim gösterdiği 0.5 mg/l 2,4-D + 0.1 mg/l kinetin içeren taze ortamlara aktarılmıştır. Kallus dokuları, 21 günlük aralıklarla aynı bileşime sahip taze ortamlara transfer edilerek üç kez alt kültüre alınmıştır. Besin ortamlarına yerleştirildiği gibi kalan ve hiç kallus oluşturmayan eksplantların dışında, en az düzeyde de olsa kallus oluşumu gösteren hipokotil eksplantlarının tümü "kallus oluşturan eksplant" kapsamında değerlendirilmiştir. Her iki genotipte, denemede yer alan tüm büyümeyi düzenleyicisi içerikleri için kallus oluşturma oranları yüzde (%) olarak verilmiştir.

Eksplantın hazırlanması ve besin ortamına dikimi: Hipokotil eksplantlarının hazırlanmasında patlıcan fideleri kök boğazından kesilerek kök kısmı uzaklaştırılmış, bunun ardından hipokotil kısmı 15 mm uzunluğunda parçalara ayrılmıştır. Her bir ortam bileşiminde 5'er adet petri kutusu ve her bir petri kutusunun içinde 5'er adet eksplant bulunacak biçimde dikim yapılmıştır. Dikim sırasında hipokotil eksplantları besin ortamına yatay konumda yerleştirilmiştir. Eksplant dikimi tamamlanan kültürler, 25°C ±1 sıcaklık derecesine sahip iklim odasında, sürekli karanlık koşullara bırakılmıştır.

Kalluslara uyarıcı uygulanması: Uyarıcı uygulamalarının tümü aseptik koşullar altında laminar akışlı kabin içerisinde gerçekleştirilmiştir. *Verticillium* izolatlarından hazırlanan ve otoklavlanan spor süspansiyonundan oluşan stok çözeltiden 1.0, 1.5 ve 2.0 ml alınarak içerisinde 2'şer g kallus dokusu bulunan petrilerdeki kallusların üzerine damlatılmıştır. Spor süspansiyonun glukoz eşdeğerleri antron Reaktif ile

Halhoul ve Kleinberg (1972)'e göre spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (sırasıyla 240, 360 ve 480 ppm/ml). Uyarıcı uygulamalarından 24, 48 ve 72 saat sonra kallus yaş ağırlığı (g) ölçülmüş, ağız kilitlenen küçük plastik poşetlere konarak analiz yapılmaya dek -40°C'deki derin dondurucuda saklanmıştır.

Fitoaleksin ekstraksiyonu ve GLC analizleri: Kallus dokusundaki olası lubimin ve solavetivon ekstraksiyonu için, derin dondurucuda saklanan örneklerden 1g alınarak üzerine + 4°C' deki %50'lik etil alkol'den 20 ml/g olacak şekilde eklenmiş, bu dokular homojenizatörde 1-2 dakika parçalanmış ve bir gece boyunca karanlıkta, +4°C'de bırakılmıştır. Whatman No:1 filtre kağıdı ile süzüntü (filtrat) kısmının ayrılmasını takiben süzülen kallus dokularının üzerine ilk hacmin yarısı kadar yine etil alkol konularak 1 saat daha +4°C'de beklenmiştir. Bu sürenin sonunda kallus dokuları tekrar süzülerek ilk filtratın üzerine daha önce ayrılan filtrat katılarak elde edilen 'toplam filtrat' rotari evaporatörden geçirilmiştir. Rotari evaporatörde 40°C sıcaklıkta, 50 devir/dakika çevirme hızında ve düşük basınç altında filtratın 1/3'ü kalacak şekilde etil alkol buharlaştırılmıştır. Daha sonra rotari balonunda kalan filtratın üzerine su ve etil asetat (3:2:5 v/v) ilave edilerek 1 saat süreyle fazların ayrılması için beklenilmiştir. Ayrırma hunisine alınan karışımdan etilasetat fazı ayrılmış ve kalan kısmın üzerine ilk hacmin yarısı kadar daha etil asetat ilave edilerek yarım saat kadar daha beklenmiştir. Tekrar etilasetat fazı ayrılarak ilk fazın üzerine eklenmiş ve aynı şartlardaki rotari balonuna konulmuş ve etil asetat fazı kuruluğa varmayana kadar ekstrakt buharlaştırılmıştır. Yaklaşık 0.1-0.5 ml kalan ekstrakt etiketli cam şişelere konularak, etil asetatın tamamen buharlaşması için en az 3 saat oda sıcaklığında daha sonra da desikatörde bekletildikten sonra kuruyan ekstraktlar GLC analizine kadar +4°C'de saklanmıştır (Desjardins ve ark., 1995 ve 1997). Analizler, Hewlett-Packard 5750 model Gaz Likit Kromatografisi cihazında ve ZB-1 30m x 0.25 mm kapillar kolonda gerçekleştirilmiştir. Dedektör sıcaklığı 250°C, enjeksiyon sıcaklığı da 120°C olarak ayarlanmıştır. Kolon sıcaklığı, 15°C/dakika artırılarak 210°C de 4 dakika, 15°C/dakika artırılarak 260°C'de 2 dakika kalacak şekilde ayarlanmıştır (Desjardins ve ark., 1995). Daha önce ekstrakte edilen ve buzdolabında saklanan örneklerin üzerine kromatografik safılıkta metanol ile hazırlanmış 4 mM. metil araşidat (SIGMA Cat.No: A-9298) iç standardından 50 µl ilave edilmiştir. Hamilton marka şırınga ile her örnekten 1µl alınarak 3'er kez enjeksiyon yapılmış ve sonuçların ortalaması alınmıştır. Bu koşullarda iç standart metil araşidat, solavetivon ve lubiminin alıkönme zamanları sırasıyla 13.45, 5.85, 8.45 dakika olarak tespit edilmiştir.

Bulgular

***Verticillium dahliae* fungusu ile yapılan patojenite testi:** Antalya ilindeki seralarda yetiştirilen patlıcan alanlarından toplanan hastalıklı bitkilerden fungus izole edilmiştir. Gelişen funguslarda tür teşhisi yapılarak *Verticillium dahliae* olduğu belirlenen fungus besiyerlerinde çoğaltılarak geliştirilmiş ve her iki patlıcan genotipine ait sağlıklı fidelerle patojenite testleri yapılmıştır. Bu testlerin sonucunda fungusun duyarlı çeşit neden olduğu hastalık şiddetinin % 60.7 olduğu belirlenmiştir. Long Purple çeşidinde hastalık belirgin bir şekilde ortaya çıktığı halde (Şekil 1d ve e), dayanıklı türde inokülasyon yapılan bitkilerde hiçbir hastalık belirtisi ortaya çıkmamıştır (Şekil 1f). Hastalık etmeni inoküle edilmeyen

kontrol grubu bitkileri sağlıklı gelişmelerine devam etmişlerdir.

Kallus oluşumu için uygun besin ortamı: Long Purple ve *S.sisymbriifolium* fidelerinden alınan hipokotil dokuları, kallus elde edilmesi amacıyla, 4 farklı 2,4-D ve kinetin kombinasyonuna sahip MS besin ortamına dikilmişlerdir. Her iki genotipte de, aynı gelişme kuvvetinde olmamakla birlikte kallus dokusu elde edilebilmiştir. Long Purple çeşidinin besin ortamlarına dikilen eksplantlarından hızlı, kolay ve sağlıklı kallus elde edilebilirken, *S. sisymbriifolium* türünde kallus oluşumu ve gelişimi daha yavaş seyretmiştir.

Kallus oluşturma oranlarının toplamı bakımından aralarında farklılık görülmeyen uygulamaların çoğu, oluşan kallusun niteliği bakımından büyük farklılıklara sahip

olmuşlardır. Bu nedenle sayısal veriler, en uygun büyümeyi düzenleyicisi katkısının belirlenmesinde tek başına dikkate alınmamış, oluşan kallusun niteliği de önemli bir seçim kriteri olmuştur. Bu nedenle oluşan kalluslar besin ortamlarındaki gelişim durumlarına ve yapılarına bakılarak sınıflandırılmıştır. 1.sınıf kalluslar; beyaz renkli, iyi gelişmiş, yumuşak dokulu ve dağılabilir nitelikte iken, 2.sınıf kalluslar; sert, köpüğe benzer ya da eksplant ile kaynaşan, rengi hafifçe sararma yönünde değişmiş, 3.sınıf kalluslar ise; hafifçe kahverengileşerek kararışmış, çok az gelişmiş, alt kültüre alınma olanağı bulunmayan nitelikte olmuşlardır. Dayanıklı ve duyarlı genotiplere ait hipokotil eksplantlarının değişik büyümeyi düzenleyici içeriğine sahip ortamlardaki kallus gelişim sınıfları da, diğer oranlarla birlikte Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. Dayanıklı ve duyarlı genotiplerde farklı büyüme düzenleyici içeriklerine sahip ortamlarda kallus oluşumuna ilişkin veriler

Genotip	Oluşan Kallusun Niteliği	Kallus Oluşumu (%)				Kontrol
		2,4-D (mg/l)		2,4-D + Kinetin (mg/l)		
		0.5	1.0	0.5 + 0.1	1.0 + 0.1	
Long Purple	1.sınıf	0	0	31	26	0
	2.sınıf	30	15	45	18	0
	3.sınıf	40	60	20	45	20
	Kallus Yok	30	25	4	11	80
S.sis.	1.sınıf	0	0	20	0	0
	2.sınıf	40	0	50	40	40
	3.sınıf	20	60	20	40	50
	Kallus Yok	40	40	10	20	10

Long Purple çeşidinde, 0.5 mg/l 2,4-D ilave edilmiş besin ortamlarında hiç kallus oluşturmeyen eksplant oranı yüksek iken, 2,4-D dozu 1.0 mg/l'ye çıkartıldığında bu oran azalmış ve kaliteli kallus gelişimi olumsuz yönde etkilenmiştir. 0.5 mg/l 2,4-D içeren besin ortamına 0.1 mg/l kinetin ilavesi, hemen hemen tüm eksplantlar üzerinde kallus oluşumunu sağladığı gibi, 1.sınıf kallus gelişimini de olumlu yönde etkilemiştir (Şekil 1g). Bu çeşitte kontrol ortamlara dikilen eksplantların %80'inde kallus oluşumu gerçekleşmediği gibi, kallus meydana getiren doku parçalarında aynı zamanda adventif sürgün oluşumu gözlenmiştir.

S. sisymbriifolium'da da 2,4-D'nin tek başına besin ortamlarına ilave edilmesi istenen nitelikte kallus elde edilmesini sağlayamamıştır. 0.5 mg/l 2,4-D içeren ortamlara 0.1 mg/l kinetin ilave edildiğinde 1.sınıf kallus oluşum oranı %0'dan %20'ye çıkmıştır. Alt kültürlere alınarak kallus çoğaltmasında kullanılabilecek 2.sınıf kallus oranları da dikkate alınınca en iyi durumda bulunan büyüme düzenleyici kombinasyonu '0.5 mg/l 2,4-D + 0.1 mg/l Kinetin' olmuştur (Şekil 1h). Kontrol ortamlarına dikilen eksplantlarda diğer genotipin eksplantlarına göre daha fazla kallus oluşumu gerçekleşmiştir. Fakat bu türün eksplantlarında da adventif sürgün oluşumu gözlenmiştir.

Elisitör uygulamalarının fitoaleksinin oluşumuna etkisi

Long purple çeşidinde fitoaleksinin oluşumu: *V. dahliae* elisitörü ile 24, 48, 72 saat sürelerle uyarılan Long Purple çeşidi kallus kültürlerinde GLC'de yapılan fitoaleksinin analizleri sonucunda elde edilen bulgular, kallus dokusunda sadece 'solavetivon' fitoaleksininin biriktiğini ortaya koymuştur. Uyarıcı dozları ve uyarı sürelerine bağlı

olarak değişen miktarlarda ölçülen solavetivon'a ait değerlerin istatistiksel analizleri yapılmıştır. Tesadüf parsellerinde 2 faktörlü deneme desenine göre değerlendirilen varyans analiz sonuçları, *V. dahliae* dozu ile uyarı süresinin karşılıklı bir etkileşim içerisinde olduğunu ve kallus dokusunda biriken solavetivon miktarı üzerinde bu iki faktörün birlikte etki yaptığını göstermiştir. *V. dahliae* dozlarının kendi aralarında ve uyarı sürelerinin de kendi aralarında sahip oldukları farklılıklar istatistiksel anlamda %1 hata sınırları içerisinde önemli görünmekle birlikte, bu iki faktör arasındaki etkileşim de aynı hata sınırları içerisinde önemli bulunmuştur. Elde edilen ortalama değerler, standart hataları ile birlikte Çizelge 2'de; bu değerlere göre hazırlanan grafik ise Şekil 2'de verilmiştir. Çizelgede kullanılan harflendirmeler, etkileşim olmasına rağmen, saat uygulamalarının her birinde dozlarla bağlı olarak ortaya çıkan farklılığın görülebilmesi için saat bazında grup içinde yapılmıştır.

V.dahliae'nin tüm dozları, kallus dokusunda solavetivon birikimi üzerinde kontrole göre olumlu etkiye sahip olmuştur. Saf su ilave edilen kontrol örneklerinde solavetivon veya çalışmaya dahil olan başka bir fitoaleksinin oluşumu meydana gelmemiştir. *V. dahliae* dozundaki artış, uyarı süresindeki artışa bağlı olarak kallus kültürlerinde solavetivon miktarının da artmasına olanak tanımıştır. En yüksek solavetivon birikimi, 2.0 ml *V.dahliae* spor süspansiyonu uygulanan kültürlerde 72 saat sonra meydana gelmiştir (126.67±1.29 µg/g Taze ağırlık (TA)). Tüm dozlarda, uyarı sürelerinin 24 veya 48 saat olması solavetivon miktarı üzerinde farklılık yaratacak bir etkiye bulunmamış, fakat sürenin 72 saate çıkması ile madde birikimi tüm dozlarda önemli düzeyde artmıştır.

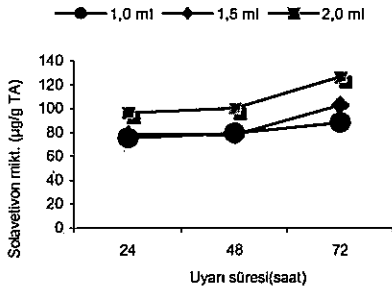
V.dahliae uyarı dozundaki artışa bağlı olarak uyarı sürelerinin etkinliğinin istatistiki olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. 24 saat uyarı süresinde 1.0 ve 1.5 ml uygulama dozlarında oluşan solavetivon miktarları (75.00 ± 0.75 ve 78.33 ± 0.75 $\mu\text{g/g TA}$) arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan önemli bulunmamış; fakat 2.0 ml dozu 96.67 ± 0.75 $\mu\text{g/g TA}$ değeriyle bunlardan ayrılmıştır. Elisitör uygulamasından 48 saat sonra 1.0 ve 1.5 ml dozunda uygulanan *V.dahliae* uyarıcısı, benzer

miktarlarda solavetivon birikimi sağladığı halde (79.17 ± 0.53 ve 77.6 ± 0.02 $\mu\text{g/g TA}$), bu dozun 2.0 ml'ye çıkmasıyla madde birikimi de 100.00 ± 1.05 $\mu\text{g/g}$ 'a ulaşmıştır. 72 saatlik uyarı süresinde dozların etkinliği daha belirgin olarak ortaya çıkmış; 1.0 ml'lik uygulamada 88.33 ± 0.75 $\mu\text{g/g TA}$ solavetivon oluşurken bu değer 1.5 ml'de 102.50 ± 1.18 $\mu\text{g/g TA}$, 2.0 ml'de ise 126.67 ± 1.29 $\mu\text{g/g TA}$ olmuştur.

Çizelge 2. Uyarı süresinin, *V.dahliae* dozuna bağlı olarak solavetivon birikimi üzerine etkisi ($\mu\text{g/g TA}$).

Uyarı süresi (saat)	<i>V.dahliae</i> dozu (ml)	Solavetivon miktarı ($\mu\text{g/g TA}$)
24	1	75.00 ± 0.75 B
	1.5	78.33 ± 0.75 B
	2.0	96.67 ± 0.75 A
48	1	79.17 ± 0.53 b
	1.5	77.60 ± 0.02 b
	2.0	100.00 ± 1.05 a
72	1	88.33 ± 0.75 c
	1.5	102.50 ± 1.18 b
	2.0	126.67 ± 1.29 a

($P < 0.01$) %1 hata sınırları içinde Duncan testine göre fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.



Şekil 2. *V.dahliae* ile uyarılan kallus kültürlerinde uyarı süresi ve uyarı dozunun solavetivon birikimi üzerine etkisi

S.sisymbriifolium türünde fitoaleksinin oluşumu:

S.sisymbriifolium türüne ait kalluslara *V. dahliae* elisitörünün 24, 48, 72 saat sürelerle uygulanması sonucunda, kallus dokusunda sadece 'solavetivon' fitoaleksininin biriktiği belirlenmiştir. Bu kültürde ilk 24 ve 48 saatte herhangi bir madde birikimi ortaya çıkmamış, ölçülebilen solavetivon madde miktarları 72 saat uyarı süresinden sonra elde edilebilmiştir. Tesadüf parsellerinde tek faktörlü deneme desenerine göre değerlendirilen varyans analiz sonuçları, 72 saat uyarı süresi sonunda oluşan solavetivon miktarı üzerinde etkili tek faktör olan *V. dahliae* dozlarının kendi aralarında sahip oldukları farklılıkların istatistiksel anlamda %1 hata sınırları içerisinde önemli olduğunu göstermiştir. Elde edilen sayısal değerlerin ortalamaları, standart hataları ile birlikte Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 3. *V.dahliae* uyarı dozlarının 72 saatlik uyarı süresi sonunda solavetivon birikimi üzerine etkisi ($\mu\text{g/g TA}$).

Uyarı süresi (saat)	<i>V.dahliae</i> dozu (ml)	Solavetivon miktarı ($\mu\text{g/mg TA}$)
72	1.0	68.34 ± 1.29 C
	1.5	107.50 ± 0.91 B
	2.0	167.17 ± 2.04 A

($P < 0.01$) %1 hata sınırları içinde Duncan testine göre fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

1.0, 1.5 ve 2.0 ml *V.dahliae* ile uyarılan kallus kültürlerinde dozdaki artışa bağlı olarak, 72 saat sonunda dokularda biriken solavetivon miktarında da artış gerçekleşmiş olup dozlar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar meydana gelmiştir. Buna göre en yüksek solavetivon birikimi 2.0 ml uyarı dozunda (167.17 ± 2.04 $\mu\text{g/g TA}$) gerçekleşirken, bunu 1.5 ml uyarı dozu izlemiştir (107.50 ± 0.91 $\mu\text{g/g TA}$); en düşük solavetivon birikimi ise 1.0 ml uyarı dozunda (68.34 ± 1.29 $\mu\text{g/g TA}$) belirlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Ülkemizde uzun yıllardan beri patlıcan yetiştirilen alanlarda en fazla karşılaşılan fungal hastalıklardan birisi *Verticillium solgunluğudur*. Bu hastalığa karşı etkin bir mücadele yönteminin bulunmaması, özellikle düşük toprak sıcaklığı veya toprağın kötü yapılı olması koşullarında önemli ürün kayıplarına neden olabilmektedir. *V.dahliae* etmeninin izolatını temin etmek amacıyla Antalya ve

çevresindeki patlıcan seralarında görülen ve solgunluk belirtilerine sahip patlıcan bitkilerinin kökboğazı kısımlarından yapılan izolasyonlar, beklenenden farklı bir başka gerçeği daha ortaya çıkarmıştır. Bu da solgunluk belirtisi görülen ve inokulasyon için toplanan patlıcanlardan bir kısmında *Fusarium oxysporum* fungusunun gelişmiş olmasıdır. Ülkemizde patlıcanda solgunluk yapan en yaygın fungal hastalık etmeninin *V.dahliae* olduğu yönündeki düşüncelerimiz ile tam olarak uyuşmayan bu durum, patlıcanda hastalıklara dayanıklılık ıslahı konusunda yapılacak çalışmalarda dikkate alınması gereken önemli bir nokta olarak dikkati çekmiştir.

Hasta bitkilerden elde edilerek geliştirilen *V.dahliae* izolatının yapay bulaştırma yoluyla hastalık oluşturabilme etkinliğini belirlemek amacıyla patojenisite testi yapılmıştır. Bunun için hastalığa dayanıklı olduğu çeşitli kaynaklarda ifade edilen *Solanum sisymbriifolium* yabancı patlıcanı ile

Verticillium solgunluğu hastalığına karşı duyarlı kültür çeşitlerinden biri olan Long Purple patlıcan çeşidine ait fidelere fungus bulaştırılmış ve bitkilerde hastalık belirtilerinin çıkıp çıkmadığına ve bunun oranına bakılmıştır. Patojeniste testlerinin sonunda, fungusun fungusun Long Purple çeşidinde hastalığın belirgin bir şekilde ortaya çıktığı ve neden olduğu hastalık şiddetinin %60.7 olduğu bulunmuş buna karşın, dayanıklı türde inokülasyon yapılan bitkilerde hiçbir hastalık belirtisi ortaya çıkmamıştır. Böylece yabancı tür olarak denemelerde yer alan *S. sisymbriifolium*'un *V.dahliae* fungal etmenine karşı dayanıklı olduğu bizim koşullarımızda da doğrulanmıştır. Bu bulgular, literatür bilgileriyle (Kalloo, 1993; Bletsos ve ark., 2004) tamamen uyumludur.

Long Purple patlıcan çeşidine ait hipokotil parçalarından büyüme düzenleyici içermeyen kontrol ortamlarında %20 düzeyinde ve hafif kallus oluşumu kaydedilmiş, eksplantların üzerinde adventif sürgün oluşumu gözlenmiştir. Kallus oluşumu için besin ortamlarına oksin ve özellikle de 2,4-D ilave edilmesi gerektiği konusunda önceden başka türlerde elde edilen sonuçlar bu türde de ortaya çıkmıştır (Pierik, 1989). Ortamlara 0.5 mg/l 2,4-D ilave edilmesiyle kallus oluşumu başlamış, 2,4-D dozu 1.0 mg/l'ye çıkartıldığında ise kallus oluşturan eksplant oranı artmıştır. Ancak 1.0 mg/l 2,4-D içeren ortamlarda oluşan kallusların dağılgan olmayıp kompakt bir yapıda oluştukları gözlenmiştir. 0.5 mg/l 2,4-D içeren besin ortamına 0.1 mg/l kinetin ilavesi, hemen hemen tüm eksplantlar üzerinde kallus oluşumunu sağladığı gibi, 1.sınıf kallus gelişimini de olumlu yönde etkilemiştir. Bu durum, aynı familyanın bir başka üyesi olan biber türüne ait üç farklı çeşitte (PM 217, PM 702 ve 11 B 14) yapılan önceki çalışma ile paralellik göstermektedir. Biberde kallus süspansiyon kültürü kurmak amacıyla en uygun nitelikteki kallus, 1.0 mg/l 2,4-D x 0.1 mg/l kinetin ve 1.0 mg/l 2,4-D x 0.5 mg/l kinetin kombinasyonlarından elde edilmiştir (Erdem, 1998).

S.sisymbriifolium türüne ait tohumlar, GA₃ çözeltisinde bekletme ya da Magenta kutularındaki steril vermikülit içine ekim yapılmasına rağmen çimlenmemiştir. İklim odasında vermikülit doldurulan kasalara ekilen tohumların tamamı çimlendiği halde *in vitro* koşullarda çimlenmenin olmayışı, kallus kültürlerinin geniş bir gen havuzundaki genotiplerin herhangi bir özellik bakımından taranarak seçilmesinde *in vitro* yöntemlerin kullanımını sınırlandırıcı bir durum olarak görülmüştür. Genotipler arasında ortaya çıkan bu önemli farklılık, genotip etkisinin her türlü olayda olduğu gibi doku kültüründeki gelişme üzerinde de çok büyük bir etkiye sahibi olduğunu burada bir kez daha ortaya çıkarmıştır. Ancak karşılaşılan olumsuzluklara rağmen *S.sisymbriifolium* türünde de kallus elde edilebilmiştir. *S.sisymbriifolium*, Long Purple çeşidinde olduğu gibi en iyi kallus oluşumunu 0.5 mg/l 2,4-D + 0.1 mg/l kinetin kombinasyonu ilave edilen MS ortamında oluşturmuştur. MS ortamının birçok bitkinin doku kültürlerinde çeşitli amaçlarla kullanıldığı bilinmektedir. Nitekim biberde hücre süspansiyon kültürlerinin kurulmasında MS ortamının kullanıldığı ve aralarında kapsidiolün de bulunduğu bazı ikincil ürünlerin elde edildiğini bildiren yayınlar bulunmaktadır (Hoshino ve ark., 1994; Ellialtıoğlu ve ark., 1999).

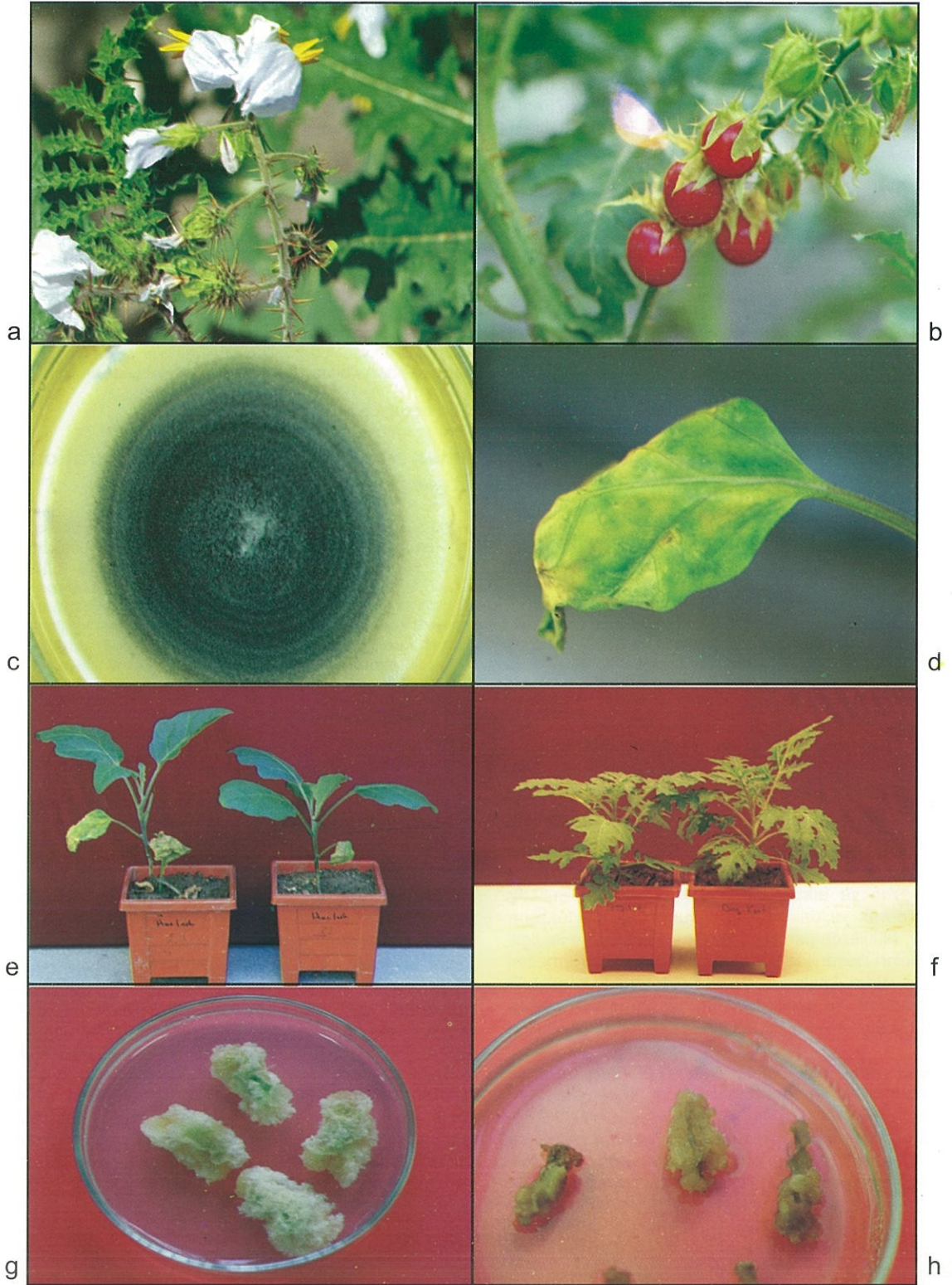
Patlıcan- kallus kültürlerinde *V.dahliae* biyotik elisitörünün uygulanması sonucunda solavetivon fitoaleksini birikimi ortaya çıkmıştır. *V.dahliae* elisitörünün uygulama dozları ile uyarı süresi faktörleri arasında interaksyonun önemli çıkması nedeniyle tüm uygulamaları bir arada değerlendirmek mümkün olamamış, uyarı süreleri sabit tutularak dozların etkileri kendi içlerinde karşılaştırılmıştır. Ancak buna rağmen genel bir değerlendirme yapıldığında *V.dahliae* dozunun artmasının solavetivon birikimi üzerinde olumlu etki yaptığını söylemek mümkündür. En yüksek solavetivon miktarı "2.0 ml *V.dahliae* dozu x 72 saat uyarı süresi" uygulamasından elde edildiği belirlenmiştir. Denemede kullanılan doz ve süreler çerçevesinde yüksek sınır değerleri en fazla madde birikimini sağlamıştır. Ancak sınırların genişletilmesiyle, diğer bir deyişle doz ve sürelerde artış yapılması halinde madde birikimlerinin artması da olası görülmüştür.

Yabancı türün kallusları ile uygulamalar yapıldığında, sadece bazı doz ve sürelerde madde birikimi meydana gelmiş ve bu madde yine sadece solavetivon olmuştur. *V. dahliae* elisitörü kullanıldığında sadece 72 saat süreyle uyarı yapılan kültürlerde solavetivon birikmiştir. Doz artışına paralel olarak fitoaleksinin miktarı da artmış ve 2.0 ml *V. dahliae* elisitörü kullanılan uygulamada elde edilen 167.17±2.04 µg/g TA'lık değer, hastalığa duyarlı Long Purple çeşidinde aynı koşullarda elde edilenden (126.67±1.29 µg/g TA) fazla olmuştur. Yabancı türde, duyarlı çeşide göre daha fazla bulunan solavetivon miktarı, dayanıklılık mekanizmasında fitoaleksinin etkili olabileceğini işaret etmiştir. Asma (Sbaghi ve ark.,1995), meşe (Duchense ve ark., 1994), domates (Kroon ve ark., 1991), pamuk (Davis ve ark., 1992) gibi değişik bitki türlerinde sentezlenen fitoaleksinin miktarının yüksek olmasının özellikle fungal hastalık etmenlerine karşı genetik dayanıklılığın temel mekanizması olduğu yönünde kaynaklar bulunmaktadır. Patlıcan fitoaleksini ile yapılmış çok az sayıdaki dünya literatüründeki kaynaklar incelendiğinde herhangi bir hastalığa dayanıklılık ile bağlantılı kurulduğuna rastlanmamış olmakla birlikte, aynı familyanın üyesi olan biberde kapsidiol fitoaleksininin *P. capsici* Leon. fungusunun özellikle misel büyümesi ve enzimleri üzerine etkili olduğu kanıtlanmıştır (Molot ve ark.,1980a; Molot ve ark., 1980b). Ancak bu maddenin etkisinin fungus gelişimini etkilemede tek başına yetersiz kaldığı; biber kökboğazı yanıklığı hastalığına duyarlı ve dayanıklı çeşitlerde kapsidiolün tek bir anahtar madde olmadığı da belirlenmiştir (Molot ve ark., 1981; Molot ve ark., 1985). Aynı familyada yer alan patatestede *Gibberella pulicaris* (Desjardins ve Gardner, 1991) ve *Globodera rostochiensis*'e (Desjardins ve ark., 1997) dayanıklılık ile fitoaleksinin oluşturma kapasitesi arasındaki ilişkinin incelendiği araştırmalarda elde edilen sonuçlar pozitif yönde bir ilişkiyi kanıtlamaktadır. Patlıcanda yürütülen bu araştırmada ise, "*V.dahliae* – fitoaleksinin birikimi" arasında pozitif bir ilişki bulunduğu yönünde bir izlenim edinilmiş olmakla birlikte bunun *in vivo* koşullarda tam bitkiyle yapılacak deneyler yoluyla kanıtlanması gerekli görülmüştür.

Kaynaklar

- Ahmed, E.S., A.A. El-Essaway, M.E. Abou El-Hawa, S.M. Ezzat, M.B. Metwaly, 1997. Biotic and abiotic initiators for rishitin formation and accumulation in tomato. *Folia Microbiology*, 42: 468-472.
- Anonymous, 2005. FAO (Food and Agriculture Organization), *FAO Statistics Database*.
- Bletsos, F.A., N.I. Staropoulos, P.P. Papadopoulou, P.D. Antonopoulou, 2004. Evaluation of eggplant (*Solanum melongena* L.) germplasm for resistance to *Verticillium* wilt. *Advances in Horticultural Science*, 18 (1): 33-37.
- Chappell, J., R. Nable, P. Fleming, A.R. Andersen, H.R. Burton, 1987. Accumulation of capsidiol in tobacco cell cultures treated with fungal elicitor. *Phytochemistry*, 26: 2259-2260.
- Davis, D. A. D. Tsao, J. H. Seo, A. Emery, P.S. Low, P. Heinstejn, 1992. Enhancement of phytoalexin accumulation in culture plant cells by oxalate. *Phytochemistry*, 31(5): 1603-1607.
- Desjardins, A. E, H. W. Gardner, 1991. Virulence of *Gibberella pulicaris* on potato tubers and its relationship to a gene for rishitin metabolism. *Phytopathology*, 81: 429-435.
- Desjardins, A. E., S.P. McCormick, D.L. Corsini, 1995. Diversity of sesquiterpenes in 46 potato cultivars and breeding selections. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 2267-2272.
- Desjardins, A. E., S.P. McCormick, R.L. Plaisted, B.B. Brodie, 1997. Association between solavetivone production and resistance to *Globodera rostochiensis* in potato. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45: 2322-2326.
- Duchense, L. C., R. S. Jeng, M. Hubbes, M. B. Sticklen, 1994. Accumulation of mansonones E and F in elm callus cultures inoculated with *Ophiostoma ulmi*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 16: 118-121.
- Ellialtıoğlu, Ş., A. S. Üstün, Ü. Mehmetoğlu, 1999. Biberde (*Capsicum annuum* L.) Kökboğazi yanıklığı hastalığına (*Phytophthora capsici* Leon.) dayanıklılık ile *in vitro* koşullarda kallus süspansiyon kültürlerinde kapsidiol oluşumu arasındaki ilişkiler üzerinde bir araştırma. *Biyoteknoloji (Kökem) Dergisi*, 22(2): 61-62.
- Ellialtıoğlu, Ş., A. S. Üstün, Ü. Mehmetoğlu, 2001. A research on the relationships between the resistance to root rot and capsidiol accumulation in *in vitro* callus suspension cultures of peppers. *Proceedings of XIth Meetings on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant*, 2001. Antalya, Turkey.
- Erdem, N. D., 1998. Biberde (*Capsicum annuum* L.) Farklı Eksplantlardan Elde Edilen Kallus Süspansiyon Kültürlerinde Kapsidiol Oluşumu. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi (basılmamış), Ankara, 72s.
- Gardner, H. W., A. E. Desjardins, S. P. McCormick, D. Weisleder, 1994. Detoxification of the potato phytoalexin rishitin by *Gibberella pulicaris*. *Phytochemistry*, 37: 1001-1005.
- Halhoul, M. N., I. Kleinberg, 1972. Differential determination of Glucose and Fructose yielding substances with Anthrone. *Anal. Biochem.*, 50: 337-343.
- Hoshino, T., M. Chida, T. Yamaura, Y. Yoshizawa, J. Mizutani, 1994. Phytoalexin induction in green pepper cell cultures treated with arachidonic acid. *Phytochemistry*, 36: 1417-1419.
- Imoto, S., Y. Ohta, 1988. Elicitation of diacetylenic compounds in suspension cultured cells of eggplant. *Plant Physiology*, 86: 176-181.
- Kallo, G., 1993. Eggplant (*Solanum melongena* L.) Genetic Improvement of Vegetable Crops. Pergamon Press, 587-606.
- Koike, M., J. Saito, T. Shimada, 1992. Alfalfa – *Verticillium albo-atrum* interactions: V. Phytoalexin accumulation in calli in response to the cytotoxic components of fungal culture filtrates. *Research Bulletin of Obihiro University, Natural Science*, 18: 35-39.
- Kroon, B. A. M., R.J. Scheffer, D. M. Elgersma, 1991. Interactions between *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and callus of susceptible and resistant tomato lines fungal growth and phytoalexin accumulation. *Journal of Phytopathology*, 132(1): 69-70.
- Mehmetoğlu, U., R. W. Curtis, 1997. Effects of abiotic inducers on sesquiterpene synthesis in hair root and cell-suspension cultures of *Hyoscyamus muticus*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 67: 71-77.
- Melouk, H. A., 1992. Methods for Research on Soil-Borne Phytopathogenic Fungi. (L.L. Singleton, J.D. Mihal, C.M. Rush eds. Aps St. Paul) *Verticillium*. 175 -177 p.
- Melitskii, L. V., O.L. Ozeretskovskaya, N.S. Vul'fon, L.I. Chalova, 1971. Chemical nature of lubimin a new potato phytoalexin. *Doklady Akademia Nauk., (SSSR)*, 200: 1470-1472.
- Molot, P. M., P. Mas, A. L. Hilario, 1980 a. La resistance du piment (*Capsicum annuum*) a *Phytophthora capsici* VI. pouvoir inhibiteur du capsidiol sur la croissance et l'activite'pectinolytique d'isolats d'agressivite variable. *Ann. Phytopathology*, 12(1): 1-9.
- Molot, P. M., P. Mas, M. Conus, H. Ferriere, 1980 b. La resistance du Piment'a *Phytophthora capsici* VII. Protection des organes foliaires après mise en survie sur un filtrat de culture du parasite caracterisation des conditions d'expression du phenomene. *Ann. Phytopat.*, 12(2): 95-107.
- Molot, P. M., P. Mas, M. Conus, H. Ferriere, 1981. Relations between capsidiol concentration speed of fungal invasion and level of induced resistance in cultivars of pepper (*Capsicum annuum* L.) susceptible or resistance to *Phytophthora capsici*. *Physiological Plant Pathology*, 18: 379-389.
- Molot, P.M., P. Mas, 1985. Evidence for induction of resistance in pepper and tomato after absorption by the roots of a water-soluble elicitor fraction. *Phytopathology Zeitschrift*, 112(4):315-321.
- Murashige, T., F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497.
- Nagaoka, T., K. Goto, A. Watanabe, Y. Sakata, T. Yoshihara, 2001. Sesquiterpenoids in root exudates of *Solanum aethiopicum*. *Zeitschrift für Naturforschung. Section C, Biosciences*, 56 : 707-713.
- Pierik, R. L. M., 1989. *In vitro* Culture of Higher Plants. Mart. Nijhoff Publishers, Dordrecht, Boston, Lancaster, 344 pp.
- Ramakrishna, S. U., G. R. Reddy, W.R. Curtis, A. Humphrey, 1993. Production of solavetivone by immobilized cells of *Hyoscyamus muticus*. *Biotechnology Letters*, 15: 301-308.
- Sbaghi, M., P. Jeandet, B. Faiure, R. Bessis, J.C. Fournioux, 1995. Developments of methods using phytoalexin (resveratrol) assessment as a selection criterion to screen grapevine *in vitro* cultures for resistance to grey mould (*Botrytis cinerea*). *Euphytica*, 86: 41-47.

- Stoessl, A., C. H. Unwin, E.W.B. Ward, 1972. Postinfectious inhibitors from plants. I. Capsidiol an antifungal compound from *Capsicum frutescens*. Zeitschrift für Phytopathologie, 74: 141-152.
- Stoessl, A., J. B. Stothers, E. W. B. Ward, 1975. The structure of some stress metabolites from *Solanum melongena*. Canadian Journal of Chemistry, 53: 3351-3358.
- Tomişyama, K., T. Sakuma, N. Ishizaka, N. Sato, N. Katsui, M. Takasugi, T. Masamune, 1968. A new antifungal substance isolated from resistant potato tuber tissue infected by pathogens. Phytopathology, 58: 115-116.
- Tsrör, L., S. Hazanovsky, S. Mordechi-Lebiush, S. Sivan, 2001. Aggressiveness of *Verticillium dahliae* isolates from different vegetative compatibility groups to potato and tomato. Plant Pathology, 50: 477-482.
- Üstün, A. S., 1990. Biberde Kökboğazı Yanıklığı (*Phytophthora capsici* Leon.) Hastalığına Dayanıklılığın Nedenlerinin Fizyolojik ve Biyokimyasal Olarak İncelenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi (basılmamış), Ankara, 121s.
- Varns, J. L., J. Kuc, E. B. Williams, 1971. Terpenoid accumulation as a biochemical response of the potato tuber to *Phytophthora infestans*. Phytopathology, 61: 174-177.
- Ward, E. W. B., C. H. Unwin, A. Stoessl, 1975. Sesquiterpenoid phytoalexins from fruits of eggplants. Phytopathology, 65: 859-863.
- Yokose, T., K. Katamoto, S. Park, H. Matsuura, T. Yoshihara, 2004. Anti-fungal sesquiterpenoid from the root exudate of *Solanum abutiloides*. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 68: 2640-2642.



Şekil 1. a ve b. *Solanum sisymbriifolium* türünün çiçekleri, dikenli gövdesi ve dilimli yapraklarından bir görünüş ile olgunlaşmamış ve olgunlaşmış meyveleri; c. *Verticillium dahliae* fungusunun besi yerinde gelişen hif ve sporlarının görünümü; d. *V. dahliae* fungusu inoküle edilen Long Purple patlıcan çeşidinin yapraklarındaki hastalık belirtileri; e. Long Purple patlıcan çeşidinde ve f. *S. sisymbriifolium* türünde inokülasyon sonrasında ait görüntüler; g. '0.5 mg/l 2,4-D + 0.1 mg/l Kinetin' içeren besin ortamında Long Purple patlıcan çeşidinde ve h. *S. sisymbriifolium* yabani patlıcan türüne ait hipokotiller üzerinde oluşan kalluslar