



**GAZİOSMANPAŞA BİLİMSEL ARAŞTIRMA DERGİSİ (GBAD)**  
**Gaziosmanpaşa Journal of Scientific Research**  
ISSN: 2146-8168  
<http://dergipark.gov.tr/gbad>  
**Derleme Makalesi (Review Article)**

Cilt/Volume : 6  
Sayı/Number: 2  
Yıl/Year: 2017  
Sayı/Pages: 28-46

**Alınış tarihi (Received):** 28.03.2017  
**Kabul tarihi (Accepted):** 09.08.2017

**Baş editor/Editors-in-Chief:** Ebubekir ALTUNTAŞ  
**Alan editörü/Area Editor:** İzzet KADIOĞLU

## **Pamuk Bitkisinde *Verticillium dahliae*'ye Karşı Algılama ve Savunma Sistemleri**

**Aysel Özgül KORAL<sup>a</sup> Mine TÜRKTAŞ<sup>b,\*</sup>**

<sup>a</sup> Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş,-Türkiye. e-mail: a\_ozgul\_11@hotmail.com

<sup>b</sup> Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çankırı, Türkiye. e-mail: mineturktas@karatekin.edu.tr

\*Corresponding author.

**ÖZET:** Pamuk bitkisi en önemli lif bitkilerinden birisi olmakla birlikte, yüksek ekonomik öneme de sahiptir. Bununla birlikte pamuk bitkisinin yetiştirilmesinde birçok hastalık ve çevre koşullarına bağlı olarak, ürün geliştirilmesinde ve kalitesinde azalmalar gözlenebilmektedir. Bu hastalıklardan en yıkıcı olanı *Verticillium dahliae* patojeninin neden olduğu *Verticillium solgunluk* hastalığıdır. Bitkiler, patojene karşı savunma yapabilmek için tanımlama-algılama mekanizmalarına sahiptirler. Tanımlamayı takiben hem algılamanın gerçekleştiği hücrede lokal olarak hem de bitkinin diğer kısımlarına gönderilmek üzere çeşitli sinyal mekanizmaları harekete geçmektedir. Uyarılan bu mekanizmalar ile de çeşitli transkripsiyon faktörleri aktifleştirilerek bitkide dayanıklılık sağlayacak gen ürünlerinin oluşması sağlanmaktadır. Dolayısıyla pamukta, *Verticillium solgunluk* hastalığı ile mücadele için *V. dahliae* patojeni ve pamuk bitkisinin etkileşim mekanizmasının tam olarak anlaşılması gerekmektedir. Bugüne kadar *Verticillium solgunluk* hastalığına karşı etkili bir mücadele yöntemi henüz tespit edilememiştir. Bu makalede, bitkilerde patojenlere karşı savunma mekanizmalarına yönelik araştırmalar derlenerek, bu minvalde pamuk ve *V. dahliae* patojeninin etkileşimi ve pamuk bitkisinde gözlenen savunma mekanizmalarının anlaşılmasına katkı sağlamak amaçlanmıştır.

**Anahtar kelimeler** – Bitki patojen etkileşimi, pamuk, *Verticillium solgunluk* hastalığı,

## **Detection and Defense Systems in Cotton against *Verticillium dahliae***

**ABSTRACT:** Cotton plant is one of the most important fiber plants and has high economic value. On the other hand, it is possible to observe quality and product development decrease depending on many diseases and environmental conditions during cotton cultivation. The most devastating of these diseases is *Verticillium wilt* disease, which is caused by the *Verticillium dahliae* pathogen. Plants have identification-perception mechanisms to defend themselves against pathogens. Following the identification, a variety of signaling mechanisms are activated both locally in the cell where the detection is performed and sent to other parts of the plant. With these triggered mechanisms, various transcription factors are activated and gene products that provide resistance in plants are formed. Therefore, the interaction mechanism of *V. dahliae* pathogen and cotton plants must be fully understood in order to combat *Verticillium wilt* disease of cotton. Up to now, an effective control method against *Verticillium wilt* disease has not yet been established. In this article, researches on defense mechanisms against pathogens in plants have been reviewed and it is aimed to contribute to the understanding of the cotton and *V. dahliae* pathogen interaction and defense mechanisms of cotton against this pathogen.

**Keywords** – Plant pathogen interaction, cotton, *Verticillium wilt* disease.

## 1. Giriş

Pamuk (*Gossypium hirsutum*), ürettiği liflerin yapısal özelliği nedeniyle ideal bir tekstil ürünü olarak kabul edilen en önemli doğal lif bitkilerindedir (Brubaker ve ark., 1999). Lifinin yanında tohumları ve hem yağ hem de protein içeren küspesi de önemli bir yem kaynağı olarak değerlendirilmektedir (Smith, 1999). Ayrıca, tohumları üzerinde bulunan havlar; sicim, lamba-mum fitili, halı ipliği, tıbbi pamuk, fotoğraf filmi, plastik, rayon (suni ipek) ve barut yapımı gibi selüloza gereksinim duyan çok sayıda endüstri kolunda da kullanılmaktadır (Gençer, 2010).

Ekonomik önemi yüksek olan pamuk bitkisinin yetiştirilmesinde ve kaliteli ürün elde edilmesinde en önemli kısıtlayıcı etkenlerin başında *Verticillium solgunluk* hastalığı gelemektedir. *Verticillium solgunluğuna Verticillium dahliae* Kleb. ve *Verticillium albo-atrum* olmak üzere *Verticillium*'un iki suşu sebep olmaktadır (Far ve ark., 1995). *Verticillium albo-atrum* sadece 20-24 °C'de ki sıcaklıklarda solgunluk hastalığına sebep olurken 25 °C'nin üzerinde ki sıcaklıklarda hastalık oluşturma yeteneği yoktur (Anonim, 2014). Bu sebeple de pamuk bitkisinde tarla koşullarında *Verticillium*'un türlerinden sadece *Verticillium dahliae* Kleb. suşu hastalığa sebep olmaktadır (Domsch ve ark., 1980).

Bu makalede de *Verticillium dahliae* suşuna karşı pamuk bitkisinin savunma mekanizmaları üzerinde durulmuştur. Günümüzde bu hastalığa karşı etkin bir kimyasal mücadele henüz geliştirilememiştir. Kaliforniya'da % 75, Rusya'da % 8-10 ve Suriye'de % 4 gibi yüksek verim kayıplarına neden olan *V. dahliae* (Bejarano- Alcazar ve ark., 1996), Türkiye'de de yaklaşık % 20 gibi oldukça yüksek bir oranda ürün kaybına neden olmaktadır (Sarsu ve Yücer, 2011). Ülkemizde, Ege ve Akdeniz Bölgeleri başta olmak üzere pamuk yetiştirilen alanların tamamında *Verticillium solgunluk* hastalığı yaygın olarak görülmektedir (Esentepe, 1979). *Verticillium solgunluğunun* Ege Bölgesinde % 11,8, Antalya'da % 4 ürün kaybına neden olduğu (Esentepe, 1979), Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde ise yaygınlığının giderek arttığı ve yüksek miktarda ürün kayıplarına neden olduğu belirlenmiştir. Özellikle Adıyaman, Batman, Siirt, Diyarbakır ve Şanlıurfa illerinde hastalığın yaygınlık oranının % 79,28, yakalanma oranının ise % 16,27 olduğu belirtilmiş ve yapılan çalışmalarda, bu oranın % 86'ya kadar çıktığı ve münavebe uygulanmayan ekim alanlarında zararın daha da yüksek olduğu bildirilmiştir (Sağır ve ark., 1992). Kahramanmaraş, Adana, Mersin, Osmaniye ve Hatay illerini kapsayan bir çalışmada pamuk solgunluk hastalığının yaygınlık oranının % 37,1, hastalık oranının da % 31,2 olduğu belirtilmiştir (Derviş ve Biçici, 2005). Antalya'da pamuk ekim alanlarında hastalık şiddeti ve hastalığa yakalanma oranının; 2000, 2001 ve 2002 yıllarında sırasıyla % 81,90, % 56,95 ve % 63,06 olduğu ve hastalığın bölgede önemli derecede artış gösterdiği belirtilmiştir (Çelik ve ark., 2010).

Solgunluk etmeni *V. dahliae* toprak kaynaklı bir fungus olup, yaşamı dormant, parazitik ve saprobik dönemlere ayrılmaktadır. *V. dahliae* patojeninin hastalığa neden olan mikrosklerotları ve hifleri, kötü çevre koşullarında toprak ve bitki artıklarında 14 yıl gibi uzun bir zaman canlı kalabilmektedir (Isaac, 1967). *Verticillium solgunluğu*, pamuğun lif ve teknolojik özelliklerini olumsuz yönde etkilemektedir (Schnathorst ve Mathe, 1966). Hastalık sonucu, pamukta olgunlaşmayan liflerin yüzdesi artmakta, lif uzunluğu, lif mukavemeti ve lif kalitesi düşmektedir. Bunlarla birlikte solgun bitkilerden elde edilen liflerin işleme sırasındaki artıkları da fazla olmaktadır (Watkins, 1981).

*Verticillium solgunluk* hastalığını kontrol altına almak için dayanıklı çeşit kullanımı ve toprağın bulaşık olmaması gerekmektedir. Bununla birlikte hastalığın mücadelesine yönelik yapılan çalışmalarda bugüne kadar etkili bir yöntem henüz tespit edilememiş olmakla beraber, dayanıklı çeşitlerin geliştirilerek üretimde kullanılması sonucunda, verim ve kalitede meydana gelen kayıpların önemli ölçüde azalacağı belirtilmektedir (Çelik ve ark., 2010).

Bitkiler, patojenlere karşı savunma yapabilmek için bazı tanımlama-algılama mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu sebeple, solgunluk hastalığına neden olan etmenin konukçu ile etkileşiminin bilinmesi hastalıkla ilgili mücadele çalışmalarında önemli yer tutmaktadır. Bu makalede, solgunluk hastalığı etmeni olan *Verticillium dahliae*'nin bitkileri enfekte etme yolları, bitki patojen etkileşimi, bitkide meydana gelen sinyal iletimi ve tepki mekanizmaları ve ayrıca bitkide oluşturulan savunma yanıtları hakkında yapılan çalışmalardan bir derleme yapılmıştır. Bitkilerde solgunluk hastalığına karşı savunma mekanizmasının daha iyi anlaşılması için, ilgili yolaklarda görev alan genlerin fonksiyonlarına ait farklı birkilerden elde edilen verilerden de örnekler derlenerek sunulmuştur.

## 2. *Verticillium Dahliae* Patojeninin Penetrasyon Mekanizmaları

Patojenin oluşturduğu sistemik kolonizasyonda bitki hücre duvarının zengin pektin içeriği önemli rol oynamaktadır (Ludwig, 1952). *Verticillium* patojeninin bitki dokularında (damar elementlerinde ve damar ucunda) yayılabilmesi için öncelikle pektin ve selülozdan oluşan hücre duvarı yapısının patojen tarafından bozulması gerekmektedir (Pegg, 1976). Bitki hücre duvarını parçalamada önemli rolü olan enzimlerin türleri ve üretim miktarları patojenlerin virülenslik düzeyi ile ilişkilendirilmiştir (Carder, 1987). Bitki hücre duvarının yapısının bozulmasında poligalakturonaz pektat liyaz ve pektinesteraz pektinolitik enzimleri önemli rol oynamaktadır (Wang ve Keen, 1970). *Verticillium* patojeni de pektin tabakasını parçalayarak bitki hücre duvarını deiecek bir takım enzimler üretmektedir (Pegg, 1976; Dobinson ve ark., 2004). Ayrıca, hücre duvarını bozmaya yarayan bu enzimlerden bazılarının bitkilere verildiğinde de solgunluk hastalığı semptomlarına neden olduğu belirtilmiştir (Cooper ve Wood, 1980).

*Verticillium* patojeni tarafından enfeksiyon süresince salgılanan bazı proteinler tespit edilmiştir. Bunlar küçük proteinler, Nekroz ve Etilen Uyarıcı Peptid1-benzeri (Necrosis-and Ethylene Inducing Peptide; Nep1-like) proteinler ve salınan enzimler ve hydrohobins'lerdir (Sain ve Rep, 2015)..

Domates bitkisinde hastalık meydana getiren *V. dahliae* suşlarında (Race 1 ve Race2) belirlenen ve efektör protein olan *Ve1 Üzerine Avirulent (Avirulence on Ve1, AVe1)* geni patojenitede görev alan küçük protein kodlayan gendir. Bu gen de, domateste bulunan ve reseptör benzeri direnç geni olan *Ve 1* tarafından algılanmaktadır (Fradin ve ark., 2009). Her iki *V. dahliae* suşunun da *AVe1* genini taşıdığı belirlenmiştir (De Jonge ve ark., 2012). Enfeksiyon süresince *Vd Avel* (patojen efektör proteini) proteininin, domates bitkisi tarafından *Ve1* geni ile algılanması, savunma için ilgili diğer genleri uyarmaktadır. *Vd AVe1* geni taşıyan *V. dahliae*, *Ve1* geni taşıyan domates bitkileri virülens değilken, *Ve1* taşımayan bitkilerde tamamen virülens özellik göstermektedir (De Jonge ve ark., 2012). Ancak *AVe1*'in bu virülensliği nasıl sağladığı şu ana kadar bilinmemektedir (Sain ve Rep, 2015).

Pamuğa özgü solgunluk etmeni suşu olan Vd8'de, ESTs (expressed sequence tags) sekanslanması ile vdNEP olarak adlandırılan ve Arabidopsis'te nekroz oluşumunu uyarıcı bir sitotoksit olan VdNLP proteinler tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2004). VdNEP Arabidopsis'te etilen, salisilik asit ve jasmonik asit sinyalizasyonunda ki markör genlerin ifadelerini artırmaktadır. Pamuk bitkisinde de tespit edilen bu protein programlanmış hücre ölümünü ve Sesquiterpene Aldehyde'lerin oluşumunu aktif etmektedir (Wang ve ark., 2004). Çoğu *V. dahliae* suşunun VdNLP1-9 olarak adlandırılan sekiz veya dokuz NLP üyesi proteinleri taşıdığı belirtilmiştir (Santhanam ve ark., 2013). Verticillium'un pamuğa patojen suşu olan V592'de VdNLP1-9 geninin sitotoksitesisi üzerine yapılan bir çalışmada VdNLP1 ve VdNLP2 proteinlerinin pamuk hipokotil dokularında solgunluk belirtisine neden olduğu belirtilmiştir (Wang ve ark., 2004). Buradan da bu proteinlerin hastalık belirtisi oluşturmada gerekli olduğu sonucuna varılabilmektedir (Sain ve Rep, 2015).

Solgunluk patojeni tarafından salgılanan enzimler bitki hücre duvarı fiziksel bir bariyerdir. Bu bariyer hücre duvarı parçalayıcı enzimler aracılığı ile parçalanabilmektedir. Bu enzimlerin *V. dahliae* suşunda mutasyonu ile fungal patojenin kolonizasyonunun ciddi şekilde azaldığı bildirilmiştir (Tzima ve ark., 2011). Bu durum da hücre duvarı delici enzimlerin patojenitede ki önemini açığa çıkarmaktadır (Sain ve Rep, 2015). *V. dahliae*'den salınan proteinlerin domates bitkisi hücresinin dış kısmında bulunan kitinazları parçalayabildiği gözlemlenmiştir (Sain ve Rep, 2015). *V. dahliae* genomunda fusarium fungusunda bulunan proteaz enzimlerden olan ve kitinaz aktivite gösteren metalloproteaz (MEP1) ve serinproteaz (SEP1)'in homologları tespit edilmiş ve bu enzimlerin virülenslik için gerekli olduğu belirtilmiştir (Sain ve Rep, 2015).

Bitki savunma mekanizmasında hormon sinyalizasyonu etkin bir rol oynamaktadır. Bitkilerde ki bu hormon sinyalizasyonunda hormon üretimini etkileyen enzimler bulunmaktadır. Patojenler bu hedef bitki enzimlerine efektör genleri gönderip hormon üretimini engelleyebilmektedir. Örneğin İzokorizmatlar (Isochorismates; ISCI) *V. dahliae* tarafından konak bitkinin salisilik asit biyosentezini durdurmak için salınmaktadır (Liu ve ark., 2014). Pamuk bitkisinde yapılan bir çalışma sonucunda ISCI'nin delesyonu ile hastalık belirtilerinin azaldığı gözlemlendiğinden ISCI'nın *V. dahliae* için virülenslik faktörü olduğu belirtilmiştir (Sain ve Rep, 2015).

Bununla birlikte, poligalakturonaz ve diğer pektinolitik enzimlerden yoksun *V. dahliae* mutantlarının da pamuk bitkisinde solgunluk oluşturabildiği belirtilmiştir (Howel, 1976). Bu nedenle bitki hücre duvarına ait pektin tabakasının sadece patojen tarafından salınan enzimler ile parçalanmadığı, bu parçalanmanın konukçu bitki tarafından da yapılabileceği düşünülmektedir. Patojene ait bazı metabolitlerin konukçu bitkideki etilen sentezini teşvik ettiği ve bunun da poligalakturonaz enzimini aktifleştirdiği düşünülmektedir (Cooper ve Wood, 1980). Pamuk bitkisinde bulunan poligalakturonazı engelleyen gen olan *GhPGIP1* (*Polygalacturonase-Inhibiting Protein*) geninin Verticillium solgunluk hastalığına karşı duyarlılığı önemli ölçüde uyardığı belirtilmiştir. Ayrıca *GhPGIP1* geninin *PR* (*Pathogenesis Related Protein*), *ICS1* (*Isochorismate Synthase 1*), *EDS1* (*Enhanced Disease Susceptibility1*) ve *PAD4* (*Phytoalexin-deficient 4*) genlerinin ifade seviyelerini artırdığı belirtilmiştir (Nana ve ark., 2017).

Su geçirmez özelliğe sahip olan Hydrophobin 8 sistein kalıntısı içeren ve yaklaşık 100 aminoasitlik proteinlerdir (Wösten, 2001). *V. dahliae*'de tespit edilmiş olan VDHI bu hydrophobin'lerdendir. VDHI'in delesyon edilmesi ile domates bitkisinde hastalık belirtilerinde bir azalma olmamış ancak patojenin ciddi bir şekilde konidia oluşumu ve

mikrosklerotlarında kuruma toleransında bir azalma olduğu gözlemlenmiştir (Klimes ve Dobinson, 2006).

### 3. Bitki Savunma Sistemleri

Patojenler bitki tarafından oldukça karmaşık bir şekilde algılanmakta ve buna göre savunma yanıtı oluşturulmaktadır. Bitkide öncelikle patojenin tanınması ile başlayan savunma mekanizmaları, ardından lokal (sadece hasarlı bölgenin etkilendiği) ve sistemik (bitkinin diğer dokularının uyarıldığı) olarak iki farklı yolla harekete geçmektedir.

#### 3.1. Bitkideki patojen tanımlama mekanizmaları

Bitkilerin savunma sistemlerinin harekete geçebilmesi için öncelikle patojenlerin bitki tarafından algılanmaları gerekmektedir. Bitki hücre reseptörleri ile, patojenden kaynaklanan ve özgül olmayan bazı uyarıcı molekülleri (örn; biyotik uyarıcılar, glikoproteinlerin dahil olduğu proteinler, polienoik yağ asitleri, kitin ve  $\beta$ -1,3 glukanolardan türetilen parçalar) (Ryals ve ark., 1996) algılayarak, iki farklı yol ile patojeni tanımaktadır (Jones ve Dangl, 2006). Bu tanıma yollarından birincisi, patojende bulunan Patojenle İlgili Korunmuş (Pathogen Associated Patterns; PAMPs) moleküllerinin, konukçu hücresinin yüzeyinde bulunan Patojen Tanıma Reseptörleri (Pathogen Recognition Receptors; PRRs) tarafından tanımlanmasıdır. PAMP'lar, tüm patojenlerde tipik olarak bulunan flagellin ve kitin gibi moleküllerdir. Aynı zamanda patojen saldırısı sırasında salınan (Danger-Assosiated Molecular Patterns, DAMPs) hücre duvarı veya kütikular moleküller endojen kökenli molekülleri de bu gruba girmektedir. PRR'lerin uyarılması, PAMP Tarafından Harekete Geçirilen Bağışıklığa (PTI, PAMP- Triggered Immunity) neden olmaktadır (Tsuda ve ark., 2009). Bu mekanizma ile kitinazlar ve bunlara ait kitinaz uyarıcı genleri (*Verticillium solgunluk* hastalığında *V. dahliae*'nin hücre duvarını parçalayarak pamuğun patojene karşı dayanıklılığını sağlayan) aktifleşmektedir. Düzenleyici reseptör benzeri kinazlar, PTI ile ilişkili bir diğer gen grubudur (Zhang ve ark., 2013).

Patojen tanımlama mekanizmasının ikincisi, aynı zamanda savunma tepkilerinin de en önemlisi olan direnç genleri tarafından patojen ırklarınca özgül olarak kodlanan Avirulans (Avirulence; Avr) proteinlerinin algılanmasıdır (Ellis ve ark., 2002). Flor (1956) tarafından ileri sürülen gene-karşı-gen teorisine göre patojendeki *avirulans* (*avr*) gen ürünleri, konukçudaki dayanıklılık (Resistance; R) genleri aracılığı ile algılanmaktadır. Bu tanımlanma işleminin ise doğrudan mı yoksa dolaylı yoldan mı olduğu anlaşılamamıştır (Stephen ve ark., 2006).

Pamuk bitkisinin kotiledon ve yapraklarında hastalığa karşı bitkiyi uyardığı öne sürülen patojene ait Nekroz Oluşturucu ve Etilen Uyarıcı Protein (Necrosis and Ethylene-Inducing Protein; VdNEP) proteinleri bu uyarıcı proteinlerdendir. *V. dahliae*'ye ait VdNEP proteininin pamuk bitkisinde kotiledon ve pamuk yapraklarını uyararak, ön solgunluk belirtilerinin oluşmasında önemli rol oynadığı saptanmıştır (Wang ve ark., 2004).

Uyarıcının algılanması, pamuk dahil birçok bitkide, hücre yüzeyinde sinyal ağının gizli bir bileşeni olarak görev yapan ve Lösence Zengin Bölge (Leucine Rich Region; LRR) ile ilişkili olan Poligalakturonaz Baskılayıcı Proteinler (Polygalacturonase Inhibiting Proteins; PGIPs) (Jones ve Jones, 1997) olan dayanıklılık genlerinin yardımıyla yapılmaktadır (Jones ve Jones, 1997). Uyarıcının algılanmasıyla R genleri, Uyarıcının Harekete Geçirdiği

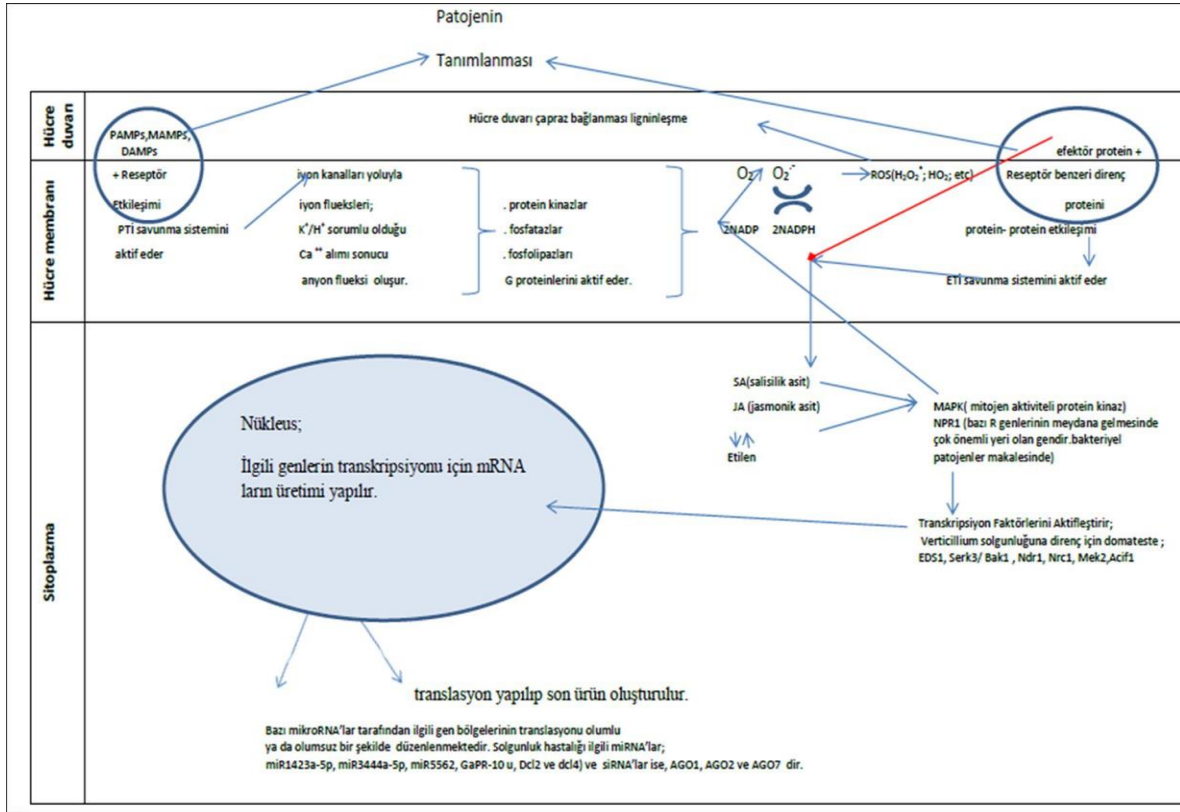
Bağışıklık (ETI; Effector Triggered Immunity) sistemini harekete geçirmektedir. Bitki patojen arasında tanımlamayı gerçekleştiren R tanıma gen ürünleri patojen tanıma reseptör genlerinden olan Nükleotid Bağlama Bölgesini (Nucleotide Binding; NB) ve Lösine Zengin Bölge (Leucine Rich Region; LRR) motiflerini içermektedir (Jones ve Dangl, 2006). Bu bölgeleri içeren direnç genleri sayesinde de, bitki savunma genlerinin aktifleştirilmesini sağlayan sinyal iletimi gerçekleştirilmektedir (Shanmugam, 2005). Örneğin; LRR yapısı içeren *Ve* direnç genlerinin *Verticillium* solgunluğu etmeni olan patojene ait uyarıcı proteinlerin tanınmasını sağladığı ve domates bitkisinde *Verticillium* solgunluk hastalığına karşı dayanıklılık sağladığı bulunmuştur (Di ve ark., 2009). Patates, nane ve pamuk bitkilerinde de *Ve* geni homologları tespit edilmiş ve bunların hastalığa dayanıklılık proteinleri sınıfından olan hücre yüzeyinde bulunan Reseptör Benzeri Proteinler (RLP; Receptor Like Protein) oldukları belirtilmiştir (Kawchuk ve ark., 2001). *Ve1* gibi dayanıklılık proteinlerinin aktivasyonu, sinyal iletimi ve moleküller arasındaki iletişimi sağlayan TIR–NBS–LRR (TNL) (McHale ve ark., 2006) dayanıklılık proteinlerinin işlevi için de önemlidir (Hu ve ark., 2005).

Reseptör benzeri dayanıklılık proteinlerinin uyarıcı proteinler ile aktive edilmesiyle de *Verticillium* solgunluk hastalığına dayanıklılık sağlamak amacıyla hem programlanmış hücre ölümü olarak bilinen Aşırı Duyarlılık Cevap (Hypersensitive Response; HR) savunma sistemi uyarılmaktadır (Ade ve Innes, 2007) hem de Salisilik Asit (SA) gibi savunmayla ilişkili metabolitlerin sentezi için ihtiyaç duyulan Patojenite İle İlişkili Protein (Pathogenesis Related Protein; PR) genlerinin ifadesini tetikleyen transkripsiyon faktörleri kodlanmaktadır (Woloshen ve ark., 2011). Süper oksit anyon ( $O_2^-$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) olan Reaktif Oksijen Türlerinin (Reaktif Oxygen Species; ROS) seviyesinde kayda değer bir şekilde artış olarak patojen öldürülmekte ya da bulunduğu bölgede sınırlı kalmasını sağlayacak HR oluşturulmaktadır (Greenberg ve ark., 1994). HR ile enfeksiyon bölgesi etrafındaki bitki hücreleri öldürülerek enfeksiyonun bitki boyunca yayılması önlenmekte ve Sistemik Kazanılmış Bağışıklığın (Systemically Acquired Resistance; SAR) ortaya çıkması sağlanmaktadır (Tiryaki ve Tunaz, 2004).

Her iki tanımlama mekanizmasının da benzer yanıtlar oluşturmasına rağmen, ETI tanımlama mekanizmasında HR daha güçlü ve daha hızlı bir şekilde oluşturulmaktadır ve patojen tarafından gönderilen uyarıcılar bitkide oluşturulan PTI ile patojenin tanımlanmasını çoğunlukla baskılamaktadır (Dodds ve Rathjen, 2010) PTI uyarımlı bağışıklık sonucunda Salisilik asit (SA), Jasmonik asit (JA) ve Etilen (ET) uyarımı daha az olmaktadır (Tsuda ve ark., 2009). Şekil 1'de patojenin tanınmasına dair bitki tarafından verilen yanıtlar şematik olarak gösterilmiştir.

### 3.2. Lokal olarak oluşturulan ilk tepkiler

Bitki hücresinde PAMP'ların patojen tanıma reseptörleri tarafından tanımlanmasının gerçekleşmesinin ardından, sitoplazmada genel olarak çok düşük seviyede bulunan  $Ca^{+2}$  miktarında bir artış olmaktadır (Zipfel ve Robatzek, 2010). Miktarı artan kalsiyum iyonlarının bazı  $Ca^{2+}$ -sensörleri veya kalsiyum-bağlama proteinleri tarafından algılanmasıyla da, savunmaya bağlı birçok genin fonksiyonunun düzenlenmesinde görev alan kalsiyuma bağlı protein kinazlar aktifleştirilmektedir (Tuteja ve Mahajan, 2007).



**Şekil 1:** Patojenin bitki tarafından tanınması (Dodds ve Rathjen, 2010). Patojen tarafından gönderilen uyarıcılar konukçu bitki hücresinin patojeni tanımlanmasını çoğunlukla baskılamaktadır

**Figure 1:** Recognition of pathogen by plant (Dodds ve Rathjen, 2010). The stimulants sent by the pathogen usually suppress the pathogen identification of the host plant cell

### 3.3. Sistemik olarak uyarılan ilk tepkiler

Lokal reaksiyonlar dışında, saldırıya uğrayan bitki, enfeksiyon bölgesinden uzak dokularda da savunma kapasitesini artırmak üzere sistemik tepkiler oluşturmaktadır. Sistemik Kazanılmış Bağışıklık (Systemic Acquired Resistance; SAR) olarak bilinen bu tepki bitkilerde geniş spektremlü bir dayanıklılık sağlamaktadır (Neuenschwander ve ark., 1996).

*V. dahliae* gibi nekrotik patojenler tarafından da SAR uyarılmaktadır (Sticher ve ark., 1997). *Verticillium* solgunluk hastalığına karşı uyarılmış savunma tepkileri, iç bağlantıları olan sinyal iletimi yolları ağı ile düzenlenmektedir ve bu sinyal iletiminde hormonal sinyal molekülleri olan SA, JA ve ET temel moleküllerdir (Glazebrook, 2001). Patojen enfeksiyonu sonucunda, ETI reaksiyonları tarafından hem SA, JA, ET hormonlarının uyarılması sağlanmakta hem de tüm bitkide savunma tepkisinin oluşması için sinyal molekülü olarak (Rojo ve Solanao, 2003) üretilmeleri sağlanmaktadır, (Jones ve Dangl, 2006). SA, JA ve ET hormonları uzak ya da kısmen birlikte bulunan savunmaya bağlı genlerin aktivasyonunu ve MAP Kinaz benzeri sinyal iletimini uyarılmaktadır (Pedley ve Martin, 2004).

### 3.3.1. Salisilik asit

Salisilik Asit, hem lokal hem de sistemik direncin oluşturulmasında anahtar bir rol oynayarak (Ryals ve ark., 1996), aralarında PR proteinlerinin de bulunduğu birçok proteinin sentezini uyarmaktadır (Hammond-Kosack ve Jones, 1996; Van Loon ve Van Strien, 1999). Salisilik asit, PR-Gen İfade Etmeyen-1 (Non-Expressor of PR Genes1; NPR1) monomerlerinin çekirdeğe girmesi için gereken koşulları sağlayarak, PR gen ifadesini düzenlemekte ve TGA transkripsiyon faktörlerinin DNA'ya bağlanmasını artırarak savunma genlerinin aktivasyonunda önemli bir rol oynamaktadır (Despres ve ark., 2000). Ayrıca *Verticillium solgunluk* hastalığında *V. dahliae* pamuk etkileşiminin de SA'e bağlı direnç oluşumunun SA→NPR1→TGA→PR→hastalık direnci şeklinde olduğu belirtilmiştir (Zhang ve ark., 2013). *Verticillium* ile enfekteli pamuk bitkisinde (*Gossypium barbadense*) yapılan transkriptom analizi ile SA'e bağlı dayanıklılık mekanizmasında aktif hale gelmesi gereken *EDS1* ve *PAD4* genlerinin (Kunkel ve Brooks., 2002) üretim seviyelerinde bir artış meydana geldiği gözlemlenmiş ve buna ek olarak doğal pamuk bağışıklığında *V. dahliae* gibi nekrotrofik patojenlere karşı SA'in direnç sağlamada gerekli olmadığı öne sürülmüştür (Zhang ve ark., 2013).

### 3.3.2. Jasmonik asit

Jasmonik asit (JA) ve jasmonatlar olarak adlandırılan JA türevleri, thioninler (Epple ve ark., 1995) ve proteinaz inhibitörleri (Farmer ve ark., 1992) gibi savunması ile ilgili protein genlerinin kodlanmasını uyarmaktadırlar. Jasmonatlar aynı zamanda sinerjistik olarak elisitör uyarımlı Patojenite İle İlişkili Protein (Pathogenesis-Related; PR proteinleri)genlerinin ifadesini (Xu ve ark., 1994), bitki savunmasında yer alan genlerin (Penninckx ve ark., 1996) ve fitoaleksinin sentezinde gerekli olan enzimlerin kodlanmasını uyarmaktadırlar (Gundlach ve ark., 1992).

Köklerde kolonize olan *Pseudomonas fluorescens* bakterisinin patojen olmayan suşlarına karşı, SA'dan bağımsız bir sinyal yoluna sahip olan ve *PR-1* geni ekspresyonunu aktive etmeksizin oluşturulan Uyarılmış Sistemik Direncin (Induced Systemic Resistance; ISR) bir çok patojene karşı da etkili bir direnç meydana getirdiği gösterilmiştir (Pieterse ve ark., 1998). JA tarafından *PDF1.2* (Plant Defensin1.2) (Penninckx ve ark., 1996), *HEL* (Hevein-Like Protein), küçük antimikrobiyal protein (Reymond ve Farmer, 1998), *THI2.1* (*Thionin2.1*), antifungal protein; (Penninckx ve ark.,1998) ve *CHIB* (*Chitinase B*) genleri uyarılmaktadır (Reymond ve Farmer, 1998).

Jasmonik asit sinyalizasyonunda pamuk bitkisinin kök kısımlarında ifade edilen uyarılmayı sağlayan *NINJA* (novel interactor of JA ZIM-domain) geninin *Verticillium* patojenine karşı uyarılmada önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir. *NINJA* geni tarafından hastalığa karşı savunma markör genlerinden *PDF1.2* and *PR4* genlerinin ifade seviyesini artırdığı belirtilmiştir (Le ve ark., 2017). Jasmonik asit sinyal yoluna ait bir diğer gen de *Cytochrome P450* genidir. Bu genin de aşırı ifadesi yapıldığında *Verticillium solgunluk* hastalığına dayanıklılığın arttığı belirtilmiştir.

### 3.3.3. Etilen

Etilen, bitkilerde gelişimi düzenlemekle birlikte hem fungus hem de bakterilere karşı bitkilerde oluşan dirençte sinyal bileşeni olarak görev alan bir hormondur (Van Loon ve ark., 2006). Etilen üretiminin savunma tepkilerinde bitki direnci ile koordineli olduğu (Norman-Setterblad ve ark., 2000), aynı zamanda hastalık gelişimini uyararak savunmada etkili olduğu bildirilmiştir (Hoffman ve ark., 1999). Dışardan etilen uygulamasının ise



fitoaleksinin sentezi için gerekli enzimlerin (PAL - Phenylalanine Ammonia Lyase, şalkon sentaz ve vakuolar hidrolazlar) birikimini uyarmasına karşın, bitkide hastalık direncini uyarılmadığı bildirilmiştir (Ecker, 1995). Etilen ve JA yolları, patojene tepkide yer alan genlerin ifadesini düzenleyerek hastalık gelişimini engelleyen *Ethylene response-factor1* (*ERF1*) geninin transkripsiyonel aktivasyonu ile oluşturulmaktadır (Lorenzo ve ark., 2003). Bu genin aşırı ifadesinin, savunma tepkileri bozukluklarını ortadan kaldırabildiği ve aynı zamanda hem etilen hem de JA yolu bileşenlerinin salınımını uyardığı gösterilmiştir (Yıldız Aktaş ve Güven, 2005). Grant ve Jones (2009) SA ve JA/Etilen ile ilişkili savunma reaksiyonları arasında abiyotik ve biyotik uyarılmalara karşı çapraz bir ilişki gözlemlenmiştir.

Pamuk bitkisinde *V. dahliae* tarafından oluşturulan epinasti ve yaprak dökülmesinden etilen hormonunun sorumlu olduğu bilinmektedir (Tzeng ve De Vay, 1985). Etilen hormonu ile ilişkili olan etilen reseptörü *etr1-1* (*ethylene resistant 1-1*) geninin Arabidopsis transformantlarında *V. dahliae*'ye karşı hastalık şiddetini azalttığı belirtilmiştir (Veronese ve ark., 2003). Diğer bir etilen hormonu ile ilişkili olan gen ise domates bitkisinde bulunan ve bitkideki etilen hormonunun salınımı kontrol altında tutan *ACD* geninin (1-aminosiklopropan-1-karboksilat deaminaz), etilen hormon salınımında öncül molekül olan ACC (1-aminosiklopropan-1-karboksilik asit) deaminaz'ı engelleyerek, (Plett ve ark., 2009) bitkiyi hastalığa karşı tolerant hale getirdiği belirtilmiştir (Robison ve ark., 2001).

Ayrıca *GbERF1* (Ethylene Response-Related Factor) benzeri gen *V. dahliae* enfeksiyona ve bitki savunma fitohormonlarına duyarlıdır. *GbERF1* geninin lignin sentezini, *PAL*, *C4H*, *C3H*, *HCT*, *CCoAOMT*, *CCR* ve *F5H* genlerinin ifade seviyelerini artırmada etkili olduğu belirtilmiştir. Ayrıca yine bu genin aşırı ifadesinin *Verticillium solgunluk* hastalığına karşı dayanıklılığı artırdığı belirtilmiştir (Weifeng ve ark., 2016).

### 3.3.4. MAP kinaz sinyal iletimi

Sinyal iletiminde yer alan diğer bir mekanizma da MAP kinaz (Mitogen- Activated Protein Kinaz) sinyal iletimidir. Stres gibi belirli uyarılara karşı aktif edilen MAPK kaskatları aralarında TGA, protein kinazlar ve hücre iskeleti proteinlerinde bulunduğu proteinleri fosforile eden serin ve treonin kinazlardır. MAPK kaskatlarından olan *MAP kinaz kinaz* geni *Verticillium solgunluk* hastalığına karşı direnç mekanizmasında yer almaktadır (Gao ve ark., 2011).

### 3.4. *Verticillium solgunluk* hastalığında sinyal iletimi ile aktive edilen transkripsiyon faktörleri

Abiyotik ve biyotik stres koşullarında bu stres koşullarında savunmayı sağlayan genlerin transkripsiyonlarının kontrolü önemlidir. Bu kontrol genlerin ifadesi düzenleyen DNA'nın özel bölgelerine bağlanabilen proteinler olan transkripsiyon faktörleri ile sağlanmaktadır (Karam ve ark., 2002). MAP Kinaz benzeri sinyal iletimi transkripsiyon faktörlerini aktive etmektedirler (Pedley ve Martin, 2004). Domates bitkisinin sitoplazmasında bulunan *EDS1*, *Serk3/Bak1*, *Ndr1*, *Nrc1*, *Mek2*, *Acif1* (Fradin ve ark., 2009) ve pamuk bitkisinde *G2-benzeri*, *MYB*, *BHLH*, *bZIP*, *ERF*, *C3H* ve *WRKY* transkripsiyon faktörlerinin *solgunluk* hastalığı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Zhang ve ark., 2013).

*Verticillium solgunluk* hastalığının bulaştırılması ile aktive edilen transkripsiyon faktörlerinden bir diğeri de vasküler dokularda (ksilemde) su stoğunu artırarak ve

enzimlerin çalışmasını sağlayarak kuraklığa toleransı artıran VND7 transkripsiyon faktörüdür (Reusche ve ark., 2012). *Arabidopsis thaliana*'da yapılan bir çalışmada *Verticillium solgunluğu* ile mücadelede, bitkide bulunan *FLS2* ve *WRKY22* transkripsiyon faktörlerinin etkin bir role sahip olduğu ve *EFR1*, *MPK3* ve *MPK6* transkripsiyon faktörlerinin de duyarlılık faktörü olduğu bildirilmiştir. Ayrıca yine bu çalışmada daha belirlenmiş olan *Bak1* transkripsiyon faktörünün de aktif olmasının dayanıklılığı meydana getirdiği belirtilmiştir (Gkizi ve ark., 2016).

### 3.5. Savunma sırasında oluşturulan yanıtlar

#### 3.5.1. Patojenite ile ilişkili proteinler

Direnç genleri tarafından düzenlenen proteinler, enfekte olan hücrede ve çoğunlukla etrafındaki hücrelerde birikmektedir (Somssich ve Hahlbrock, 1998). Bu direnç genleri, Patojenite İle İlişkili Protein (Pathogenesis-Related; PR proteinleri) olarak adlandırılan kitinaz, glukanaz, difensin, peroksidaz ve fitoaleksinin sentez yolunda yer alan enzimleri kodlamaktadırlar (Rojo ve Solanao, 2003). PR proteinleri proteazlara karşı nispeten dirençlidir ve yaprakların hücre içindeki boşluklarda yapısını korumak için adapte olmuşlardır (Bol ve ark., 1990). PR proteinleri patojen, stres ve yaralanma sonucundaki uyarılmayla hücre dışında biriktirilen asidik proteinlerdir (Bruce ve West, 1989).

Fenilpropanoid metabolizması sadece antibakteriyel etki göstererek fungal gelişimi engelleyen fitoaleksinin (Kuc ve Rush, 1985) olarak değil aynı zamanda bitki savunma yanıtında sinyal molekülü olarak da önemli role sahiptir (Dixon ve ark., 2002). *V. dahliae* ile enfeksiyondan sonra pamukta şalkon (Chalcone; CHC) ve PAL sentezi içeren phenylpropanoid sinyalizasyonda bazı önemli enzimler üretilmektedir (Cu ve ark., 2000). *V. dahliae* ile inokulasyon sonrasında dirençli bitkide PAL ve Peroksidaz (Peroxidase; POD) birikiminin daha fazla ve artış hızının da daha hızlı bir şekilde enzim aktivitesi gözlemlendiği ve bu nedenle de *Verticillium*'a karşı pamuk bitkisinde fenilpropanoid sinyalizasyonunda gerekli olduğu düşünülmektedir (Xu ve ark., 2011). Benzer sonuçlar domateste *Verticillium solgunluk hastalığına* karşı (Smith ve Dubery, 1997) ve pamuk bitkisinde *Verticillium* uyarıcılarına karşı da gözlemlenmiştir (Gayoso ve ark., 2010).

#### 3.5.2. Lignin metabolizması

Fungal patojenlerin bitki dokusuna mekanik penetrasyonu ve enzimatik hidrolizleri sebebiyle karbonhidratlar ve proteinler ile kovalent çapraz bağlanarak ligninin polimerleşmesi ve lignin depolanması ile yapısal sertleşme ve hücre duvarının yeniden kuvvetlendirilmesi sağlanmaktadır (Bruce ve West, 1989). Lignifikasyon ile patojenin vasküler dokularda yayılmasını kesintiye uğratmak için etkili bir mekanizma olan monomer kompozisyonu değişmekte ve çapraz bağlanmayla hücre duvarının yeniden güçlendirilmesi sağlanmaktadır (Pomar ve ark., 2004; Gayoso ve ark., 2010). Lignin, flavonoid, fitoaleksinler ve fenolik bileşikler pamukta *V. dahliae*'ye karşı savunma sırasında önemli rol oynayan bileşiklerdir (Smit ve Dubery, 1997). Önceki çalışmalarda lignin sinyalizasyonu fungal enfeksiyon sonucunda önemli bir görevi olan hücre duvarı yenilenmesinin ve ligninleşmenin farklı yollarla gerçekleştiğini göstermektedir (Naoumkina ve ark., 2010). Ligninleşmenin biberde *V. dahliae* ile enfeksiyon sonrasında ksilemde patojenin hifsel gelişimini durdurmak için gerekli olduğu öne sürülmüştür (Pomar ve ark., 2004). Domates köklerinde *V. dahliae* ile inokulasyonun ardından hem dirençli hatlarda hem de duyarlı hatlarda lignin toplamda önemli bir miktarda artışını uyardığı

belirtmiştir (Gayoso ve ark., 2010). Pamuğun hipokotil dokularında, uyarıcılarla karşılaşma sonucunda fungal penetrasyon süresince *V. dahliae*'nin hüflerinin bitki hücre duvarına tutunmasını önleyici bir bariyer olarak direnci artırıcı etkisi olan lignin ve lignin benzeri fenolik bileşiklerin sentezi yapılmakta ve biriktirilmektedir (Smit ve Dubery, 1997). Pamuk bitkisinde de *V. dahliae* ile enfeksiyon sonrasında lignin sinyalizasyonunda gerekli olan bazı enzimleri kodlayan genlerin ifade düzeylerinin artması, ligninleşmenin pamuk bitkisindeki savunmada da önemli rolü olduğunu işaret etmektedir (Xu ve ark., 2011). *V. dahliae* ile inokulasyon sonucunda, lignin sinyalizasyonunda yer alan genlerin ifade düzeylerinin hastalığa duyarlı pamuk bitkisinde dayanıklı bitkilere göre daha geç bir zamanda ve daha az ifade olduğu gösterilmiştir (Xu ve ark., 2011). Ayrıca dirençli bitkilerdeki lignin birikiminin inokulasyondan 14 gün sonra duyarlı bitkiye nazaran daha fazla olduğu belirlenmiştir (Xu ve ark., 2011). Solgunluk hastalığı sonucunda oluşturulan gen ifadesi profilinin ve enzim aktivitesi sinyalizasyonunun her ikisinin de temel bir mekanizmaya sahip olduğu ve temel bir direnç uyarım mekanizması gösterdiği belirtilmiştir (Xu ve ark., 2011). İnokulasyondan sonra pamuk bitkisinde genin ifade seviyesinde, total lignin seviyesinde ve nispi ligninleşme derecesinde artma olduğu görülmüştür. *V. dahliae*'e karşı pamuğun hastalık direncinde ligninin kritik bir rol oynadığını belirtmişlerdir (Xu ve ark., 2011). *V. dahliae* ile bulaşmış dayanıklı pamuk bitkisinden alınan yaprak disklerinde *V. dahliae* uyarıcıların tanınması ile fitoaleksinin sentezinin ve lignin depolanmasının dokularda artırıldığı gözlemlenmiştir (Xu ve ark., 2011).

### 3.5.3. Kitinaz ve glukonaz aktivasyonları

1,3- $\beta$ -glukonaz ve kitinazlar fungal patojenlere karşı bitki savunmasında önemli hidrolazlar olup, özellikle birbirleriyle kombinasyonlu bir şekilde olduklarında *in vitro* fungal hücre duvarını hidrolize edebilme kabiliyetindedirler (Sela-Buurlage ve ark., 1993). Patojenin gelişmesinin etkili bir şekilde önlenmesi için, fungal hücre duvarını delici özellikte olan ve direk antifungal etki gösteren bu enzimlerin uyarılması düzenlenmektedir (Sela-Buurlage ve ark., 1993).

1,3- $\beta$ -glukonazların bazı formları hem hücreler arası ortamda hem de hücre içinde bulunabilmektedir. Bunlardan asidik ortamda bulunan formları hücreler arasındaki alanda bulunup ilk aşamadaki savunma olayında, bazik olanları ise bitkinin yaprak disklerinde hücre vakuollerinde saklanıp ikinci savunma aşamasında rol almaktadır (Mauch ve Staehelin, 1989).

Bir glikonhidrolaz olan kitinaz enzimi, *V. dahliae* patojeninin ana yapısal polisakkariti olan kitini bozarak patojenin yayılmasını sınırlandırmaktadır (Adams, 2004). Kitinazların *in vitro* fungisidal aktivite gösterdiğini ve bundan dolayı da kitinazhidrolazların bitki hücresine zarar vermeden fungal hüflerdeki kitini parçalayarak fungusu öldürdüğü belirtilmiştir. Fungal patojenlere karşı transgenik bitkilerde kitinaz seviyesinin artırılmasının bitki dayanıklılığını arttırdığı belirlenmiştir (Rajasekaran ve ark., 2005). Bitki bazik kitinazlarının *in vitro* ortamda fungal hücre duvarındaki kitin polimerlerini bozduğu belirtilmiştir (Nielsen ve ark., 1994). Aynı zamanda asidik kitinazların da *in vitro* antifungal aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Zhang ve Punja, 1994; Schlumbaum ve ark. 1986). Bir kitinaz geninin ürününün artırılması fungal hastalığa karşı dayanıklılığı arttırmaktadır (Grisson ve ark., 1996). Bununla birlikte, bitkilerde kitin bulunmadığından bu fungisidal enzimlerin kullanılmasının bitkilere herhangi bir zararının olmadığı belirtilmiştir (Collinge ve ark., 1993). Yapılan bir çalışmada *V. dahliae* ile bulaşık

bitkilerde kitinaz salınımının fungal gelişme ve bitkiye verdiği hasarın durdurulması arasında pozitif bir ilişkinin olduğu vurgulanmıştır (Kurosaki ve ark., 1987). Bunu ise kitinaz genleri ile hasar görmüş fungal kitinin açığa çıkardığı glikosidik parçaların salınmasıyla olduğu öne sürülmüştür (Kurosaki ve ark., 1987). Bazı bitkilerde kitinaz geninin ifadesinin sinyalizasyon sürecindeki aşamalardan kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (Jerzy ve Whitham, 2001). Fasulyedeki endokitinaz geninin pamuk bitkisinde *V. dahliae*'e karşı dayanıklılığı artırmada kullanışlı olduğu belirtilmiştir (Tohidfar ve ark., 2009).

### 3.5.4. Aktifleştirilen diğer PR proteinleri ve sinyal mekanizmaları

Taumatın benzeri genler (*Thaumatın Like Protein; TLPs*) ve ribozomu inaktif hale getiren genler (*RIPs*) pamuk bitkisinde solgunluk hastalığında direnç mekanizmasında rol oynamaktadırlar (Tohidfar ve ark. 2009). Thaumatın benzeri genlerden olan ve *G. barbadense* L.'den izole edilen *GbTLP1* ve *GbTLP2* genlerinin sekonder hücre duvarının gelişimini artırdığı (Petitot ve ark., 1997) ve fungusun gelişimini engellediği belirtilmiştir (Piron ve ark., 2010). Ayrıca *GbTLP1* geninin *V. dahliae* patojenine karşı direncin uyarılmasında da etkili olduğu belirtilmiştir (Munis ve ark., 2010).

Bunlara ilaveten, 14-3-3-benzeri protein, anti-apoptozis (p35), HR-uyarıcı Hpa1Xoo, thaumatın-benzeri protein ve Major Latex Protein (MLP)'lerin de *Verticillium*'a karşı savunmada rol aldıkları tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2004; Munis ve ark., 2010). Ayrıca oksijen transferi yapan ve simbiyotik olmayan haemoglobin geni (*GhHb1*) *Verticillium*'a karşı direnç mekanizmasında görev aldığı belirtilmiştir (Qu ve ark., 2006). Buna ilaveten pamuk bitkisinde PR proteini, kitinaz, *GST* (Glutathione S-transferase) gen ailesi, *PAL* ve *CYP* (cytochrome P450) genlerinin pamuk bitki bağışıklığı ile ilişkili olduğunu ve savunmada anahtar olarak rol oynadığını belirtilmiştir (Ayabe ve Akashi, 2006). Bunun dışında pamuk bitkisinde *NDR1* geninde (*Non-race specific Disease Resistance Gene*) *Verticillium* solgunluk hastalığına karşı direnç oluşturduğu belirtilmiştir (Gao ve ark., 2011; Xu ve ark., 2011;). Pamuk bitkisinde *Verticillium* solgunluk hastalığına direnç oluşturduğu belirtilen *PR- proteini*, *kitinaz*, *GST* gen ailesi, *PAL*, *CYP* ve *NDR1* geninin *Verticillium* solgunluğu ile ilişkili olduğu enfektesiz ve enfekteli pamuk bitkilerinin transkriptom analizinin yapılması ile de bir kez daha teyit edilmiştir (Zhang ve ark., 2013). Tüm bu genlere ilaveten lif gelişimi ile ilişkili olduğu bilinen *SusA1*, *CesAs*, *UXS1*, *ADF1*, *Tubulin*, ve *Aquaporin* genlerinin de *Verticillium* solgunluk hastalığına karşı bitkiyi korumak için sentezlendikleri belirtilmiştir (Chi ve ark., 2013). Ayrıca *Bet v1* (Major Pollen Allergen) gen ailesinin *Verticillium* enfeksiyonuna dayanıklılıkta önemli bir rol oynadığını belirtmiştir (Zhang ve ark., 2013)

Pamuk bitkisinde *V. dahliae*'ye karşı pamuk terpenoid sinyal iletiminin de patojene karşı yanıt oluşturmada katkı sağladığı (Xu ve ark., 2004) ve kritik bir öneme sahip olduğu belirtilmiştir (Smit ve Dubery, 1997; Pomar ve ark., 2004; Gayoso ve ark., 2010; Xu ve ark., 2011).

Diğer savunma tepkileri arasında çekirdek ve organelleri patojen saldırısının olduğu bölgeye taşımak (Heath ve ark., 1997), reaktif oksijen türleri (ROS) üretmek (Bolwell, 1999), hücre çeperini mekanik olarak güçlendirmek (lignin ve kaloz depozisyonları ile) ve antibiyotiklerin sentezi (fitoaleksinler) gibi reaksiyonlar bulunmaktadır. Tüm bu reaksiyonlar, hücrede aşırı duyarlılık reaksiyonu ile birlikte oluşmaktadır (Hammond-Kosack ve Jones, 1996).

## 4. Gen Regülasyonunu Düzenleyen Faktörler

### 4.1. RNA bağlama proteinleri

Bitkilerin immün yanıt oluşturmada RNA bağlama proteinlerinin (RBP) önemli rolü bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda RBP'lerin birçok geni posttranskripsiyonel seviyede regüle ettikleri bulunmuştur (Phillips ve ark., 2007). *GaPR-10* geni bu RBP türü proteinlerdendir (Woloshen ve ark., 2011). *GaPR-10* geninin patogeneze ile ilgili protein çeşidi olan aynı zamanda antifungal aktivite gösteren genlerden olan *PR-10* benzeri bir proteini kodlamaktadır. Kodlanan bu protein ağır bir şekilde asidik olup RNase aktivitesi göstermektedir (Bantignies ve ark., 2000). Ayrıca pamuk bitkisinde *GaPR-10* genin kodladığı proteinin sitoplazmik bir sinyal peptidinin eksilmesine neden olduğu belirtilmiştir (Xiang-Jun ve ark., 2002).

RBP'lerden olan Dicer proteinleri RNA interferaz (RNAi) mekanizmasındaki posttranskripsiyonel gen sinyalizasyonu için gereklidir. Arabidopsis bitkisinde tespit edilen 4 Dicer proteininden ikisi *Dcl2* ve *Dcl4* (helikaz, PAZ, RNase III- benzeri çift zincirli RNA bağlama bölgesi bulduran) hem fungus hem de virüslere karşı bitkilerde savunmaya katkı sağlamaktadır (Vazquez ve ark., 2008; Lu ve ark., 2006). Yapılan bir çalışmada ise *V. dahliae*'ye karşı ise *Dcl2* nin değil de *Dcl4*'ün hastalığa duyarlılığı artırdığı ve fungal kütle ve nekroz gibi hastalık belirtilerini artırdığı belirtilmiştir (Lu ve ark., 2006). Argonaute (AGO) RNAi'de gereken bir diğer protein grubudur (Meister ve Tuschl, 2004). Özellikle AGO proteinleri RNAi'de gerekli olan RISC (RNA-İnduced Silencing Complex) protein kompleksindeki RNA-bağlama proteinleridir (RNA binding Protein; RBP) (Meister ve Tuschl., 2004). RNAi'lerin AGO1, AGO2 ve AGO7'nin virüs ve patojenlere karşı bitki savunmasına katkı sağladığı gösterilmiştir (Lu ve ark., 2006). Bu AGO'lardan yalnız AGO1 ve AGO7 gibi RNAi için gereken RBP'lerinin *Verticillium solgunluk* hastalığı etmeni olan *V. dahliae*'ye karşı bitki savunmasına katkı sağladığı belirtilmiştir (Glazebrook, 2001). Yapılan başka bir çalışmada ise *AGO4* geninin bakteriyel patojenlere karşı ETI aracılığı ile olan savunmada ve temel savunma direncinde rol oynadığı gösterilmiştir (Agorio ve Vera, 2007). Aynı zamanda *V. dahliae*'ye karşı patlıcanda yapılan bir çalışmada, *AGO4*'e bağlı sinyal yolu ile uyarım yapılırken, *AGO1*'in uyarımı baskıladığı gösterilmiştir (Yang ve ark., 2013).

### 4.2. *Verticillium solgunluk* hastalığında belirlenen diğer genler

Yukarıda belirtilen genlerin yanı sıra, birçok farklı gen ve gen ailelerinin de *Verticillium solgunluk* hastalığına karşı oluşturulan savunmada görev aldıklarına dair çalışmalar bulunmaktadır. Ana Polen Alerjen (The Major Pollen Allergen, *Bet v1*) ve Ubiquitin (*UBI*) gen ailelerinin bu savunmada önemli rol oynadıkları belirtilmiştir (Zhang ve ark., 2013).

Ayrıca, Fradin ve Thomma 2006 yılında yaptıkları çalışma sonucunda RNA sinyalizasyonunun *Verticillium* genusuna karşı savunmada önemli olduğunu belirtmişlerdir. RNA sinyalizasyon molekülü olan *Suppressor of gene silencing 2* (*Sgs*) geninin *Arabidopsis thaliana* bitkisinde *Verticillium solgunluk* hastalığına karşı daha fazla hassasiyeti ortaya çıkarmıştır. (Ellendorff ve ark., 2009). *Arabidopsis thaliana* bitkisinde  $\beta$ -amilaz ( $\beta$ -amilase; *BAM*) geninin *Verticillium solgunluk* hastalığındaki öneminin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada *BAM1*, *BAM2*, *BAM3* ve *BAM4* genlerinin ikili, üçlü, dördü kombinasyonları ile oluşturulan mutant bitkilerin daha az hastalık belirtisi

gösterdiği bildirilmiştir (Gkizi ve ark., 2015). Dolayısıyla bu genin *Verticillium solgunluk* hastalığına karşı direnç oluşturma önemli yere sahip olduğu gösterilmiştir.

#### 4.3. *Verticillium solgunluk* hastalığında belirlenen mikro RNA'lar

Bitkilerde gen ifadesini çevredeki değişimlere uygun ve uyumlu yanıtlar oluşturmak için yüksek bir şekilde düzenlenmektedir. Bu düzenleme mekanizmalarından en önemlisi 23-24 nükleotid uzunluğunda küçük RNA (Small RNA; sRNA) molekülleri içeren posttranskripsiyonel düzenlemelerdir (Phillips ve ark., 2007). *Verticillium solgunluk* hastalığında da miR1423a-5p, miR3444a-5p, miR5562 mikroRNA'larının bitki patojen etkileşimde önemli bir rol oynadıkları belirtilmiştir (He ve ark., 2014).

MiR39, miR160, ve miR167 patojene karşı oluşturulan yanıtta bitki büyümesinde önemli bir hormon olan ve dışarıdan uygulandığında az olsa tedavi edici olan oksin hormonunun sinyal iletiminde ve çevresel uyarıların algılanmasında, önemli rol oynayan miRNA'lardandır. MiR393'ün *Verticillium* enfeksiyonunu önemli oranda azalttığı, miR160 ve miR167' nin oksin sinyalinin düzenlenmesini zayıf bir şekilde azalttığı belirtilmiştir. *Ubikitin-konjüge enzimi E2* geni AUX/ IAA parçalanmasına yardımcı olabilen *Verticillium* enfekteli patlıcan bitkisinde miR393 sentezinin azaltılmasıyla oksin sinyali uyarımı artırılarak fungal direnç sağlamaktadır. Bu nedenle *V. dahliae* ile enfeksiyon sonrasında miR393'ün sentezi azaltıldığından dolayı, patlıcan fidelerine farklı konsantrasyonlarda NPA (N-1-naphthylphthalamic acid) ve SA uygulaması ile oksin sentezi engellenmiş ve bu fidelerin muamele edilmemişlere oranla daha duyarlı oldukları belirtilmiştir (Yang ve ark., 2013).

Bu makalede *Verticillium dahliae* ile mücadelede bitki patojen etkileşiminin nasıl bir mekanizmaya sahip olduğu bu zamana kadar ki yapılan çalışmalar ışığında anlatılmaya çalışılmıştır. Ancak öyle görülüyor ki *Verticillium dahliae* patojeninin saldırı mekanizmalarında bulundurduğu enzimlerin ve proteinlerin, pamuğa patojen olan farklı suşlarda da tespit edilmiş olmasından dolayı, bunların pamuğa patojen diğer ırkların da olup olmadığının tespit edilmesi, ayrıca saldırıda görev alan başka enzim ve proteinlerin de bulunması önem arz etmektedir.

Tüm bunlara ilaveten, bu derlemede pamuk bitkisi ve *Verticillium dahliae* patojeni arasında ki etkileşimi göz önüne sermeye çalışırken bu hastalık üzerine yeterli bilgi olmamasından dolayı pamuk bitkisinin dışında ki farklı bitkilerde ki bilgilerden faydalanmaya çalışıldı. Bundan dolayı farklı bitkilerde bulunan genlerin, enzimlerin, hormonların, miRNA'ların ve transkripsiyon faktörlerinin pamuk bitkisinde de solgunluk hastalığında görev aldığını netleştirilmesi ve pamuk *Verticillium* etkileşim mekanizmasında bulunan diğer genlerin de yerlerinin ve görevlerinin daha iyi aydınlatılması gerekmektedir.

#### Kaynaklar

- Adams, D.J., 2004. Fungal Cell Wall Chitinases and Glucanases. *Microbiology*, 150: 2029-2035.
- Ade, J., Innes, R.W., 2007. Resistance to Bacterial Pathogens in Plants. *Encyclopedia of Life Sciences*, John Wiley & Sons, Ltd., doi: 10.1002/9780470015902.a0020091.
- Agorio, A., Vera, P., 2007. Argonaute4 is Required for Resistance to *Pseudomonas syringae* in Arabidopsis. *Plant Cell*, 19: 3778-3790.
- Anonim, 2014. <http://www.entofito.com/pamukta-verticillium-solgunlugu/>

- Aktaş, L.Y., ve Güven, A., 2005. Bitki Savunma Sistemlerinde Hormonal Sinyal Moleküller ve Çapraz İletişimleri. Çankaya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Journal of Arts and Sciences Sayı: 3 / Mayıs 2005.
- Ayabe, S., Akashi, T., 2006. Cytochrome P450s in Flavonoid Metabolism. *Phytochem. Rev.*, 5: 271-282.
- Bantignies, B., Seguin, J., Muzac, I., Dedaldechamp, F., Gulic, P., Ibrahim, R., 2000. Direct Evidence for Ribonucleic Activity of A PR-10-Like Protein from White Lupin Roots. *Plant Molecular Biology*, 42: 871-881.
- Bejarano-Alcazar, J., Blanco-Lopez, M.A., Melero-Vara, J.M., Jimenez-Diaz, R.M., 1996. Etiology, Importance, and Distribution of Verticillium Wilt of Cotton in Southern Spain. *Plant Dis.*, 80, 1233-1238.
- Bol, J.F., Lindhorst, H.J.M., Cornelissen, B.J.C., 1990. Plant Pathogenesis Related Proteins. In Gloud H (ed), *Annual Review of Phytopathology*, 28: 113.
- Bolwell, G.P., 1999. Role of Active Oxygen Species and NO in Plant Defense Responses. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2, 287-294.
- Brubaker, C.L., Bourland, F.M., Wendel, J. E., 1999. The Origin and Domestication of Cotton. (C.W. Smith, J.T. Cothren editors) *Cotton: Origin, History, Technology, and Production*. John Wiley and Sons, Inc., New York, Page: 3-31.
- Bruce, R.J., West, C.A., 1989. Elicitation of Lignin Biosynthesis and Isoperoxidase Activity by Pectic Fragments in Suspension Cultures of Castor Bean. *Plant Physiol.* 91, 889-897.
- Carder, J.H., Hignett, R.C. and Swinburne, T.R., 1987. Relationship Between The Virulence of Hop Isolates of *Verticillium albo-atrum* and Their *In Vitro* Secretion of Cell-Wall Degrading Enzymes. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 31, 441-452.
- Chi, J.N., Han, Y.C., Wang, X.F., Wu, L.Z., Zhang, G.Y., Ma, Z.Y., 2013. Overexpression of the *Gossypium barbadense* Actin-Depolymerizing Factor 1 Gene Mediates Biological Changes in Transgenic Tobacco. *Plant Mol Biol Rep.*, doi:10.1007/s11105-013-0557-4.
- Collinge, D.B., Kragh, K.M., Mikkelsen, J.D., Nielsen, K.K., Rasmussen, U., Vad, K., 1993. Plant Chitinases, *Plant J.*, 3, 31-40.
- Cooper, R.M., Wood, R.K.S., 1980. Cell Wall Degrading Enzymes of Vascular Wilt Fungi. III. Possible Involvement of Endo-Pectin Lyase in Verticillium Wilt of Tomato. *Physiol. Plant Pathol.* 16, 285-300.
- Cu, Y.X., Bell, A.A., Joost, O., Magill, C.W., 2000. Expression of Potential Defense Response Genes in Cotton. *Physiological And Molecular Plant Pathology* 56, 25-31.
- Celik, I., Soysal, M., Inan, O., Cetinkaya, M., 2010. Antalya Bolgesinde Pamuk Solgunluk Hastalığı (*Verticillium dahliae*) Surveyi. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi*, 27(1):18-3218.
- De Jonge, R.; van Esse, H.P.; Maruthachalam, K.; Bolton, M.D.; Santhanam, P.; Saber, M.K.; Zhang, Z.; Usami, T.; Lievens, B.; Subbarao, K.V.; et al., 2012. Tomato Immune Receptor *Ve1* Recognizes Effector of Multiple Fungal Pathogens Uncovered by Genome and RNA Sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2012, 109, 5110-5115.
- Dervis, S., Biciçi, M., 2005. Distribution of Verticillium Wilt in Cotton Areas of Southern Turkey. *Plant Pathology Journal* 4(2) 126-129.
- Despres, C., De Long, C., Glaze, S., Liu, E., Fobert, P.R., 2000. The Arabidopsis NPR1/NIM1 Protein Enhances the Binding Activity of a Subgroup of the TGA Family of bZIP Transcription Factors. *Plant Cell*, 12, pp. 279-290.
- Di, C.X., Li, M., Long, F., Bai, M.Q., Liu, Y.J., Zheng, X.L., Xu, S.J., Xiang, Y., Sun, Z.L., An, L.Z., 2009. Molecular Cloning, Functional Analysis and Localization of A Novel Gene Encoding Polygalacturonase-Inhibiting Protein in *Chorisporea bungeana*. *Planta* 231:169-178
- Dixon, R.A., Achnine, L., Kota, P., Liu, C.J., Reddy, M.S., Wang, L., 2002. The Phenylpropanoid Pathway and Plant Defence—A Genomics Perspective. *Molecular Plant Pathology* 3, 371-390.
- Dobinson, K.F., Grant, S.J., Kang, S., 2004. Cloning and Targeted Disruption, Via *Agrobacterium tumefaciens* -Mediated Transformation, of A Trypsin Protease Gene from The Vascular Wilt Fungus *Verticillium dahliae*. *Curr. Genet.* 45, 104-110.
- Dodds, P.N., Rathjen, J.P., 2010. Plant Immunity: Towards An Inte-Grated View of Plant-Pathogen Interactions. *Nat. Rev. Genet.* 11, 539-548.
- Ecker, J.R., 1995. The Ethylene Signal Transduction Pathway in Plants. *Science*, 268, pp. 667-675.
- Ellendorff, U., Fradin E.F., de Jonge R., Thomma, B.P.H.J., 2009. RNA Silencing is Required for Arabidopsis Defence against Verticillium Wilt Disease. *J Exp Bot* 60: 591-602.
- Ellis, J., Dodds, P., Pryor, T., 2002. Structure, Function and Evolution of Plant Disease Resistance Genes. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 3, pp. 278-284.

- Epple, P., Apel, K., Bohlmann, H., 1995. An *Arabidopsis thaliana* Thionin Gene is Inducible Via A Signal Transduction Pathway Different from That for Pathogenesis-Related Proteins. *Plant Physiol.* 109, 813–820.
- Esentepe, M., 1979. Adana ve Antalya İllerinde Pamuklarda Görülen Solgunluk Hastalığının Etmeni, Yayılışı, Kesafeti ve Zarar Derecesi ile Ekolojisi Üzerine Araştırmalar. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Zir. Müc. ve Karantina Gen. Mud. Araştırma Eserleri Serisi, No 32–45.
- Farr, D., Gerald, B., Chamuris, G., Rossman, A., 1995. *Fungi on Plants and Plant products in the United States*. St. Paul: The American Pathological Society. 1995. Print.
- Farmer, E.E., Johnson, R.R., Ryan, C.A., 1992. Regulation of Expression of Proteinase Inhibitor Genes by Methyl Jasmonate and Jasmonic Acid. *Plant Physiol.* 98, 995–1002.
- Flor, H.H., 1956. The Complementary Genetic Systems in Flax and Flax Rust. *Adv. Genet.* 8, pp. 29-54.
- Fradin, E.F., Zhang, Z., Juarez Ayala, J.C., Castroverde, C.D.M., Nazar, R.N., Robb, J., Liu, C.M., Thomma B.P.H.J., 2009. Genetic Dissection of *Verticillium* wilt Resistance Mediated by Tomato Ve. *Plant Physiol* 150:320–333.
- Gao, X., Terry Wheeler, T., Li, Z., Kenerley, C.M., He, P., Shan, L., 2011. Silencing GhNDR1 and GhMCK2 Compromised Cotton Resistance to *Verticillium* wilt. *Plant J.* 2011,66: 293-305.
- Gayoso, C., Pomar, F., Novo-Uzal, E., Merino, F., Martínez de Ilarduya, O., 2010. The Ve-Mediated Resistance Response of The Tomato to *Verticillium Dahliae* Involves H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Peroxidase and Lignins And Drives PAL Gene Expression. *BMC Plant Biology* 10, 232–251.
- Gencer, O., 2010. *Lif Bitkileri Dersi, Ders Notları, Cukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Adana (yayınlanmamış)*.
- Gkizi, D., Santos-Rufo, A., Rodríguez-Jurado, D., Paplomatas, E.J., Tjamos, S.E., 2015. The  $\beta$ -Amylase Genes: Negative Regulators of Disease Resistance for *Verticillium dahliae*. *Plant Pathology*, 2015 Dec, 64 (6): 1484-1490.39. Gkizi, D., Lehmann, S., L'Haridon, F. Serrano, M., Paplomatas, E.J., Métraux, J.P., Tjamos, S.E., 2016. The Innate Immune Signaling System as a Regulator of Disease Resistance and Induced Systemic Resistance Activity against *Verticillium dahliae*. *Mol Plant Microbe Interact.* 2016 Apr;29(4):313-23.
- Glazebrook, J., 2001. Genes Controlling Expression of Defense Responses in Arabidopsis-2001 Status. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4, 301-308.
- Grant, M.R., Jones, J.D., 2009. Hormone (Dis)Harmony Moulds Plant Health and Disease. *Science* 324: 750–752.
- Greenberg, J.T., Guo, A., Klessing, D.F., Ausubel, F.M., 1994. Programmed Cell Death in Plants: A Pathogen-Triggered Response Activated Coordinately With Multiple Defense Functions. *Cell* 77: 551-563.
- Grisson, R., Grezes-Besset, B., Schneider, M., Lucante, N., Olsen, L., Leguay, J.J., Toppan, A., 1996. Field Tolerance to Fungal Pathogens of *Brassica napus* Constitutively Expressing A Chimeric Chitinase Gene. *Nat Biotechnol.* 14: 643-646.
- Gundlach, H., Müller, M.J., Kutchan, T.M., Zenk, M.H., 1992. Jasmonic Acid is A Signal Transducer in Elicitor-Induced Plant Cell Cultures. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 2389–2393.
- Hammond-Kosack, K.E., Jones, J.D.G., 1996. Resistance Gene-Dependent Plant Defense Responses. *Plant Cell*, 8: 1773-1791.
- Heath, M.C., Nimchuk, Z.L., Xu, H., 1997. Plant Nuclear Migrations as Indicators of Critical Interactions Between Resistant or Susceptible Cowpea Epidermal Cells and Invasion Hyphae of Rust Fungus. *New Phytol.*, 35, pp. 689-700.
- He, X., Sun, Q., Jiang, H., Zhu, X., Mo, J., Long, L., Xiang, L., Xie, Y., Shi, Y., Yuan, Y., Cai Y., 2014. Identification of Novel MicroRNAs in The *Verticillium* Wilt-Resistant Upland Cotton Variety KV-1 by High-Throughput Sequencing. *He et al. SpringerPlus*, 3: 564.
- Hoffman, T. et al., 1999. Isolation of Ethylene-Insensitive Soybean Mutants That are Altered in Pathogen Susceptibility and Gene-for-Gene Disease Resistance. *Plant Physiol.* 119, 935–949.
- Howel, C.R., 1976. The Use of Enzyme-Deficient Mutants of *Verticillium dahliae* to Assess The Importance of Pectolytic Enzymes in Symptom Expression of *Verticillium* Wilt of Cotton. *Physiol. Plant. Pathol.*, 9: 279-283.
- Hu, G., DeHart, A.K., Li, Y., Ustach, C., Handley, V., Navarre, R., Hwang, C.F., Aegerter, B.J., Williamson, V.M., Baker, B., 2005. EDS1 in Tomato is Required for Resistance Mediated by TIR- Class R Genes And The Receptor-Like R Gene *Ve*. *Plant J.*, 42, 376-391.
- ISAAC.I., 1967. Speciation in *Verticillium*. *Annual Review of Phytopathology*. 201-222.
- Jones, J.D.G., Dangl, J.L., 2006. The Plant Immun System. *Nature* 444,(7117): 323- 329.
- Jerzy, P., Whitham, S., 2001. Gene Silencing and DNA Methylation Processes. *Plant Biol.* 4: 123-129.
- Jones, D.A., Jones, J.D.G., 1997. The Role of Leucine-Rich Repeat Proteins in Plant Defenses. *Advances in Botanical Research Incorporating Advances in Plant Pathology* 24, 120–127.



- Karam, B., Singh, R.C. Foley, L.O.S., 2002. Transcription Factors in Plant Defense and Stress Responses. *Current Opinion in Plant Biology*. Volume 5, Issue 5, Pages 430–436.
- Kawchuk, L., Hachey, J., Lynch, DR., Klcsar, F., Van Rooijen, G., Waterer, DR., Robertson, A., Kokko, E., Byers, R., Howard, RJ., Fischer, R., Pruffer, D., 2001. Tomato *Ve* Disease Resistance Genes Encode Cell Surface-Like Receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 6511–6515.
- Klimes, A.; Dobinson, K.F., 2006. A Hydrophobin Gene, VDH1, is Involved in Microsclerotial Development and Spore Viability in The Plant Pathogen *Verticillium dahliae*. *Fungal Genet. Biol.*, 43, 283–294.
- Kuc, J., Rush, J.S., 1985. Phytoalexins. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 236, p455-472.
- Kurosaki, F., Tashiro, N., Nishi, A., 1987. Secretion of Chitinase from Cultured Cells Treated with Fungal Mycelium Walls. *Mol Plant Pathol.* 31: 211-216.
- Kunkel, B.N., Brooks, D.M., 2002. Cross Talk Between Signaling Pathways in Pathogen Defense. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5, 325–331.
- Le, W., Shu-Ming W., Yue, Z., Qiang, F., Zhen-Nan, Z., Guang, H., Qing-Zhong, P., Jia-He, W., 2017. Functional Characterization of A Novel Jasmonate ZIM-Domain Interactor (NINJA) from Upland Cotton (*Gossypium hirsutum*). *Plant Physiology and Biochemistry* 112: 52–160.
- Liu, T.; Song, T.; Zhang, X.; Yuan, H.; Su, L.; Li, W.; Xu, J.; Liu, S.; Chen, L.; Chen, T.; et al., 2014. Unconventionally Secreted Effectors of Two Filamentous Pathogens Target Plant Salicylate Biosynthesis. *Nat. Commun.* 5, 4686.
- Lorenzo, O. et al., 2003. Ethylene Response Factor1 Integrates Signals from Ethylene and Jasmonate Pathways in Plant Defense. *Plant Cell* 15, 165–178.
- Lu, C., Kulkarni, K., Souret, F.F., Muthu, V. R., Tej, S.S., et al., 2006. MicroRNAs and Other Small Rnas Enriched in The Arabidopsis RNA-Dependent RNA Polymerase-2 Mutant. *Genome Res* 16: 1276–1288.
- Ludwig, R.A., 1952. Studies on The Physiology of Hadromycotic Wilting in The Tomato Plant. *Macdonald Coll. Techn Bull.* 20, 1–40.
- Mauch, F., Staehelin, L., 1989. Functional Implications of The Subcellular Localization O F Ethylene-Induced Chitinase and  $\beta$ -L,3-Glucanase in Bean Leaves. *Plant Cell* 1,447-457.
- McHale, L., Tan, X.P., Koehl, P., Michelmore, R.W., 2006. Plant NBS-LRR Proteins: Adaptable Guards. *Genome Biol.* 7, 212.
- Meister, G. Tuschl, T., 2006. Mechanisms of Gene Silencing by Double-Stranded RNA. *Nature*, Vol. 431, no. 7006, pp. 343– 349, 2004.
- Munis, M.F.H., Tu, L.L., Deng, F.L., Tan, J.F., Xu, L., Xu, S., Long, L., Zhang, X.L., 2010. A Thaumatin-Like Protein Gene Involved in Cotton Fiber Secondary Cell Wall Development Enhances Resistance Against *Verticillium dahliae* and Other Stresses in Transgenic Tobacco. *Biochem Biophys Res Commun*, 393: 38 – 44.
- Nana, L., Xueyan, Z., Yun, S., Ping, W., Xiancai, L., Yakun, P., Fuguang, L., Yuxia, H., 2017. Molecular Evidence for The Involvement of A Polygalacturonase-Inhibiting Protein, GhPGIP1, in Enhanced Resistance to *Verticillium* and *Fusarium* Wilts in Cotton. *Scientific Reports* 7, Article number: 39840.
- Naoumkina, M.A., Zhao, Q., Gallego-Giraldo, L., Dai, X., Zhao, P.X., Dixon, R.A., 2010. Genome-Wide Analysis of Phenylpropanoid Defence Pathways. *Mol Plant Pathol*, 11: 829 – 846.
- Tuteja, N., Mahajan, S. 2007. Calcium Signaling Network in Plants. *Plant Signal Behav.* 2007 Mar-Apr; 2(2): 79–85.
- Neuenschwander, U., Lawton, K., Ryals, J., 1996. Systemic Acquired Resistance. In *Plant-Microbe Interactions*, Vol. 1, G. Stacey and N.T. Keen, eds (New York: Chapman and Hall), pp. 81-106.
- Nielsen, K.K., Bojsen, K., Roepstorff, P., Mikkelsen, J.D., 1994. A Hydroxyproline-Containing Class IV Chitinase of Sugar Beet is Glycosylated with Xylose. *Plant Mol. Biol.*, 25, 241-257.
- Norman-Setterblad, C. et al., 2000. Interacting Signal Pathways Control Defense Gene Expression in Arabidopsis in Response to Cell Wall- Degrading Enzymes from *Erwinia carotovora*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 13, 430–438.
- Pedley, K.F., Martin, G.B., 2004. Identification of MAPKs and Their Possible MAPK Kinase Activators Involved in The Pto-Mediated Defense Response of Tomato. *J. Biol. Chem.*, 279, 49229-49235.
- Pegg, G.F., 1976. The Occurrence of 1,3-P-Glucanase in Healthy and *Verticillium albo-atrum*-Infected Susceptible and Resistant Tomato Plants. *J. Exp. Bot.* 27, 1093-1101.
- Penninckx, I.A.M.A., Eggermont, K., Terras, F.R.G., Thomma, G.P.H.J., De Samblanx, G.W., Buchala, A., Metraux, J., Manners, J.M., Broekaert, W.F., 1996. Pathogen-Induced Systemic Activation of A Plant Defensin Gene in Arabidopsis Follows A Salicylic Acid-Independent Pathway. *Plant Cell*, 8: 2309-2323.
- Penninckx, I.A., Thomma, B.P., Buchala, A, Metraux, J.P., Broekaert, W.F., 1998. Concomitant Activation of Jasmonate and Ethylene Response Pathways is Required for Induction of A Plant Defensin Gene in Arabidopsis. *Plant Cell*, 10: 2103-2113.

- Petitot, A.S., Blein, J.P., Pugin, A., Suty, L., 1997. Cloning of Two Plant Cdnas Encoding A B -Type Proteasome Subunit and A Transformer-2-Like SR-Related Protein: Early Induction of The Corresponding Genes in Tobacco Cells Treated with Cryptogein. *Plant Molecular Biology*, vol. 35, no. 3, pp. 261–269.
- Phillips, J.R., Dalmay, T., Bartels, D., 2007. The Role of Small RNAs in Abiotic Stress. *FEBS Lett* 581: 3592–3597.
- Pieterse, C.M.J., Van Wees, S.C.M., Van Pelt, J.A., Knoester, M., Laan, R., Gerrits, H., Weisbeek, P.J., Van Loon, L.C., 1998. A Novel Signaling Pathway Controlling Induced Systemic Resistance in Arabidopsis. *Plant Cell* 10: 1571–1586.
- Plett Jonathan, M., McDonnell, L., Regan, S., 2009. Plant Encoded 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid Deaminase Activity Implicated in Different Aspects of Plant Development. *Plant Signaling & Behavior* 4:12, 1186-1189.
- Piron, F., Nicolai, M., Minoia, S. et al., 2010. An Induced Mutation in Tomato Eif4e Leads to Immunity to Two Potyviruses. *PloS one*, Vol. 5, No. 6, Article E11313.
- Pomar, F., Novo, M., Bernal, M.A., Merino, F., Barcelo, A.R., 2004. Changes in Stem Lignins (Monomer Composition and Crosslinking) and Peroxidase are Related with The Maintenance of Leaf Photosynthetic Integrity During Verticillium Wilt in *Capsicum annuum*. *New Phytol*, 163:111 – 123.
- Qu, Z.L., Zhong, N.Q., Wang, H.Y., Chen, A.P., Jian, G.L., Xia, G.X., 2006. Ectopic Expression of The Cotton Non-Symbiotic Hemoglobin Gene *Ghhb1* Triggers Defense Responses and Increases Disease Tolerance in Arabidopsis. *Plant Cell Physiol*. 47(8): 1058-1068.
- Rajasekaran, K., Cary, J.W., Jaynes, J.M., Cleveland, T.E., 2005. Disease Resistance Conferred by The Expression of A Gene Encoding A Synthetic Peptide in Transgenic Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Plants. *Plant Biotechn J*. 3, 545–554.
- Reusche, M., Thole, K., Janz, D., Truskina, J., Rindfleisch, S., Drübert, C., Polle, A., Lipka, V., Teichmann, T., 2012. Verticillium Infection Triggers Vascular-Related NAC DOMAIN7-Dependent De Novo Xylem Formation and Enhances Drought Tolerance in Arabidopsis. *Plant Cell*. Sep;24(9):3823-37.
- Reymond, P., Farmer, E.E., 1998. Jasmonate and Salicylate as Global Signals for Defense Gene Expression. *Curr. Opin. Plant Biol*. 1: 404–411.
- Robison, M.M., Shah S., Tamot, B., Pauls, K.P., Moffatt, B.A., Glick, B.R., 2001. Reduced Symptoms of Verticillium Wilt in Transgenic Tomato Expressing A Bacterial ACC Deaminase. *Mol. Plant Pathol*. 2, 135–14.
- Rojos, E., Solanao, R., 2003. Interactions Between Signaling Compounds Involved in Plant Defense. *Journal of Plant Growth Regulation*, 22 82.
- Ryals, J.A., Neuenschwander, U.H., Willits, M.G., Molina, A., Steiner, H., Hunt, M.D., 1996. Systemic Acquired Resistance. *Plant Cell*, 8: 1809-1819.
- Sagır, A., Tath, F. ve Gurkan, B., 1992. Guneidoğu Anadolu Bölgesinde Pamuk Ekim Alanlarında Gorulen Hastalıklar Uzerine Çalışmalar. GAP Bölgesi Bitki Koruma Sorunları ve Cozum Onerileri Sempozyumu. Sanliurfa. 257-269.
- Sain, M., and Rep, M., 2015. The Role of Pathogen-Secreted Proteins in Fungal Vascular Wilt Diseases. *Int. J. Mol. Sci*. 2015, 16, 23970-23993.
- Santhanam, P.; van Esse, H.P.; Albert, I.; Faino, L.; Nurnberger, T.; Thomma, B.P., 2013. Evidence for Functional Diversification within A Fungal Nep1-Like Protein Family. *Mol. Plant Microbe Interact*. 26, 278–286.
- Sarsu, F., Yucer, A., 2011. Improvements in Cotton Production Techniques in Turkey. *Agricultural Research and Policies-Ankara –Turkey*.
- Schlumberg, A., Mauch, F., Vogeli, U., Boller, T., 1986. Plant Chitinases are Potent Inhibitors of Fungal Growth. *Nature* 324:365–367.
- Schnathorst, W.C., Mathe, D.E., 1966. Host Range and Differentiation of A Severe Form of *Verticillium albo-atrum* in Cotton. *Phytopathology*, 56: 1155-1161.
- Sela-Buurlage, M.B., Ponstein, A.S., Bres-Vloemans, S.A., Melchers, L.S., Van Den Elzen, P.J.M., Cornelissen, B.J.C., 1993. Only Specific Tobacco (*Nicotiana Tabacum*) Chitinases and B-1,3-Glucanases Exhibit Antifungal Activity. *Plant Physiol* 101: 857–863.
- Shanmugam, V., 2005. Role of Extracytoplasmic Leucine Rich Repeat Proteins in Plant Defence Mechanisms. *Microbiol Res* 160: 83–94.
- Smit, F., Dubery, L.A., 1997. Cell Wall Reinforcement in Cotton Hypocotyls in Response to a *Verticillium dahliae* Elicitor. *Phytochemistry* 44, 811–815.
- Smith, W.C., 1999. Production Statistics. In: W. C. Smith, J. T. Cothren, eds *Cotton: Origin, History, Technology and Production*. John Wiley and Sons, Inc., pp 435-449.
- Somssich, I.E., Hahlbrock, K., 1998. Pathogen Defense in Plants- A Paradigm of Biological Complexity. *Trends Plant Sci.*, 3, pp. 86-90.

- Stephen, T.C., Gitta, C., Brad Day, Brian, J.S., 2006. Host-Microbe Interactions: Shaping the Evolution of The Plant Immune Response. Cell 124, 803–814, February 24, 2006 Elsevier Inc. 803.
- Sticher, L., Mauch-Mani, B., Metraux, J.P., 1997. Systemic Acquired Resistance. Annu Rev Phytopathol., 35, pp. 235-270.
- Tiryaki, I., Tunaz, H., 2004. Systemic Acquired Resistance: Characterization of Genes Associated with Plant Defence Response. Journal of Cell and Molecular Biology. 3: 9-14.
- Tohidfar, M., Rassouli, H., Haghazari, A., Ghareyazie, B., Najafi, J., 2009. Evaluation of Stability of Chitinase Gene in Transgenic Offspring of Cotton (*Gossypium hirsutum*). Iranian Journal of Biotechnology, Vol. 7, No. 1.
- Tsuda, K., Sato, M., Stoddard, T., Glazebrook, J., Katagiri, F., 2009. Network Properties of Robust Immunity in Plants. PLoS Genet. 5, e1000772.
- Tzeng, D.D., DeVay, J.E., 1985. Physiological Responses of *Gossypium hirsutum* L. to Infection by Defoliating and Non-Defoliating Pathotypes of *Verticillium dahliae* Kleb. Physiol. Plant Pathol. 26, 57–72.
- Tzima, A.K.; Paplomatas, E.J.; Rauyaree, P.; Ospina-Giraldo, M.D.; Kang, S, 2011. VdSnf1, The Sucrose Nonfermenting Protein Kinase Gene of *Verticillium dahliae*, is Required for Virulence and Expression of Genes Involved in Cell-Wall Degradation. Mol. Plant Microbe Interact, 24, 129–142.
- Van Loon, L.C., Van Strien, E.A., 1999. The Families of Pathogenesis- Related Proteins, Their Activities and Comparative Analysis of PR-1 Type Proteins. Physiol. Mol. Pathol, 55: 85\_97.
- Van Loon, L.C., Geraats, B.P.J., Linthorst, H.J.M., 2006. Ethylene as A Modulator of Disease Resistance in Plants. Trends Plant Sci 11: 184–191.
- Vazquez, F., Blevins, T., Ailhas J., Boller, T., Meins, J.F., 2008. Evolution of Arabidopsis *MIR* Genes Generates Novel MicroRNA Classes. Nucleic Acids Res 36: 6429–6438.
- Veronese, P. et al., 2003. Identification of A Locus Controlling *Verticillium* Disease Symptom Response in *Arabidopsis thaliana*. Plant J. 35, 574–587.
- Wang, M.C., Keen, N.T., 1970. Purification and Characterization of *Endopolygalacturonase* from *Verticillium albo-atrum*. Arch. Biochem. Biophys. 141, 749–757.
- Wang, J.Y., Cai Y., Gou, J.Y., Mao, J.Y., Xu, Y.-H., Jiang, W.H. and Chen, X.Y., 2004. VdNEP, an Elicitor from *Verticillium dahliae*. Induces Cotton Plant Wilting Applied and Environmental Microbiology, Aug. 2004, p. 4989–4995.
- Watkins, G.M., 1981. Compendium Of Cotton Diseases. Published by The American Phytopathological Society, 41-44.
- Weifeng, G., Li, J., Yuhuan, M., Xin, H., Qin, H., Kai, G., Longfu, Z., Xianlong, Z., 2016. An Ethylene Response-Related Factor, *GbERF1*-Like, from *Gossypium barbadense* Improves Resistance to *Verticillium dahliae* Via Activating Lignin Synthesis. Plant Molecular Biology, June 2016, Volume 91, Issue 3, pp 305–318.
- Woloshen, V., Huang, S., Li, X., 2011. RNA-Binding Proteins in Plant Immunity. Journal of Pathogens Volume 2011, Article ID 278697, 11 pages.
- Wösten, H.A., 2001. Hydrophobins: Multipurpose Proteins. Annu. Rev. Microbiol., 55, 625–646.
- Xiang-Jun Z., Lu, S., Yan-Hua, X., Jia-Wei, W., Xiao-Ya, C., 2002. A Cotton cDNA (*GaPR-10*) Encoding A Pathogenesis-Related 10 Protein with *In vitro* Ribonuclease Activity. Plant Science 162 629/636.
- Xu, Y., Chang, P.F.L., Liu, D., Narasimhan, M.L., Raghothama, K.G., Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., 1994. Plant Defense Genes are Synergistically Induced by Ethylene and Methyl Jasmonate. Plant Cell 6, 1077–1085.
- Xu, Y.H., Wang, J.W., Wang, S., Wang, J.Y., Chen, X.Y., 2004. Characterization of *GaWRKY1*, A Cotton Transcription Factor That Regulates The Sesquiterpene Synthase Gene (+)-Delta-Cadinene Synthase-A. Plant Physiol, 135: 507 – 515.
- Xu, L., Zhu, L.F., Tu, L.L., Liu, L.L., Yuan, D.J., Jin, L., Long, L., Zhang, X.L., 2011. Lignin Metabolism has A Central Role in The Resistance of Cotton to The Wilt Fungus *Verticillium dahliae* as Revealed by RNA-Seq-Dependent Transcriptional Analysis And Histochemistry. J Exp Bot, 62: 5607 – 5621.
- Yang, L., Jue, D., Li, W., Zhang, R., Chen, M., et al., 2013. Identification of MiRNA from Eggplant (*Solanum melongena* L.) by Small RNA Deep Sequencing and Their Response to *Verticillium dahliae* Infection. PlosOne, doi:10. 1371/journal. pone.0072840.
- Zhang, Y., Wang, X.F., Ding, Z.G., Ma, Q., Zhang, G. R., Zhang, S.L., Li, Z.K., Wu, L.Q., Zhang, G.Y., Ma, Z.Y., 2013. Transcriptome Profiling of *Gossypium barbadense* Inoculated with *Verticillium dahliae* Provides A Resource for Cotton Improvement. Zhang et al. BMC Genomics 2013, 14: 637.
- Zhang, Y.Y., Punja, Z.K., 1994. Induction and Characterization of Chitinase Isoforms in Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Effect of Elicitors, Wounding and Pathogen Inoculation. Plant Sci. 99: 141-150.
- Zipfel, C., Robatzek, S., 2010. Pathogen-Associated Molecular Pattern-Triggered Immunity. Plant Physiol., 154: 551–554.