

Pamukta *Fusarium Solgunluğuna Karşı Herbisitlerle Dayanıklılığın Teşviki ve Konukçu Hücrelerinin Gossypol Üretimi*

Yeter CANIHOŞ

Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Balcalı, Adana-TÜRKİYE

Şener KURT

Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Hatay-TÜRKİYE

Hülya ÖZGÖNEN

Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Balcalı, Adana-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 23.02.1998

Özet: Çukurova Bölgesi pamuk ekim alanlarında kullanılan bazı herbisitlerle pamuk tohumlarının muamele edilmesi, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'un neden olduğu solgunluk hastalığına karşı pamuk bitkisinin dayanıklılığını önemli ölçüde arttırmıştır. Haloxyfob ve linuronun, katı ve sıvı kültürde *Fusarium*'un miselyal gelişimini engellediği bulunmuştur. Bununla birlikte prometryn bitki gelişimini linuron ve haloxyfoba göre daha fazla teşvik etmiştir. Gossypol sentezinde, patojen inokule edilen bitkilerde, inokulasyon yapılmamış kontrol bitkilere oranla önemli ölçüde artış kaydedilmiştir. Maksimum gossypol üretimi ise herbisit uygulanmış ve patojen inokule edilmiş bitkilerde bulunmuştur. Herbisit uygulaması yapılan bitkilerden ekstrakte edilen gossypol, *in vitro*'da *F. oxy. f. sp. vasinfectum*'un miselyal gelişimini önemli oranda engellenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Pamuk, *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, herbisit, dayanıklılığın teşviki, gossypol.

Herbicide-induced Resistance to *Fusarium Wilt* in Cotton and Gossypol Production of Host Cells

Abstract: Pretreating cotton seeds with some herbicides used in cotton-growing areas of the Çukurova region markedly increased cotton resistance to *Fusarium wilt* caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. Haloxyfob and linuron reduced the mycelial growth of the pathogen in both solid and liquid cultures. However, prometryn was more effective in plant development than linuron and haloxyfob. Synthesis of Phytoalexin gossypol was significantly produced in inoculated cotton plants compared with uninoculated control plants. Maximum amounts of gossypol production were obtained in herbicide-treated and inoculated cotton plants. Gossypol extracted from herbicide-treated plants markedly reduced the mycelial growth of the pathogen *in vitro*.

Key Words: Cotton, *F. oxy. f. sp. vasinfectum*, herbicide, induced resistance, gossypol

Giriş

Pamukta *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* tarafından neden olunan solgunluk hastalığı, ilk kez 1892 yılında ABD'de görülmüştür. Daha sonraki yıllarda ise Meksika, Mısır, Doğu Afrika, Tanzanya, Sudan, Hindistan, Zimbabve, İsrail, Çin ve Sovyetler Birliği gibi ülkelerde ortaya çıktığı ve bu hastalığın ülkemizde bulunmadığı bildirilmiştir (1). Pamukta *Fusarium solgunluğundan* kaynaklanan ürün kaybı ile ilgili kayıt sadece ABD'de mevcuttur (2). Buna göre 1989 yılında pamuk lif materyali dikkate alınarak yapılan hesaplamalarda ürün kaybı %0.2 olarak belirlenmiştir.

Pamukta *Fusarium solgunluğuna* hastalık etmeninin toprak kökenli olması ve birçok konukçularının bulunması nedeniyle mücadelesi güçtür. Her ne kadar nöbetleşe ekim, sulama, gübreleme, toprak işleme ve ekim yöntemi gibi faktörlerin solgunluk şiddetini azaltabileceği önerilse de kesin ve pratik bir mücadele yöntemi sağlanamamıştır. Bu nedenle en etkin çözüm yolu dayanıklı çeşit kullanılması veya duyarlı çeşitlerde dayanıklılığın teşvik edilmesidir.

Pamuk ekim alanlarında yıl boyunca genellikle geniş bir herbisit grubu kullanılmaktadır. Esas olarak yabancı otları kontrol etmek için kullanılan herbisitlerin özellikle

* Bu araştırma TÜBİTAK (Proje No: TOGTAG-1375) tarafından desteklenmiştir

toprak kökenli bitki patojenlerinin oluşturduğu bitki hastalıklarını azalttığı veya arttırdığı bildirilmiştir (3, 4, 5). Herbisitlerle sağlanan hastalık kontrolü, herbisitlerin patojen üzerine direkt etkisi ile veya konukçu-patojen interaksiyonunu etkileyerek veya fitoaleksinin üretimini teşvik etmek suretiyle konukçu dayanıklılığını artırarak oluşmaktadır (6). Trifluralin ile ön uygulama yapılmış ve *F. oxysporum* ile inokule edilmiş pamuk bitkilerinin hipokotilinden elde edilen etanol ekstraktlarının bu patojene fungitoksik olduğu ve kullanılan herbisitlerin bitki kök ve gövdelerinde gossypol üretimini arttırdığı bildirilmiştir (7). Herbisit uygulanmış tohumlardan yetiştirilmiş ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* ile inokule edilmiş pamuk bitkisinde gossypol konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir (8). Pamuk ekim alanlarında kullanılan herbisitlerin, bitkilerin bu patojenin infeksiyonuna tepkide bir değişime neden olabileceği veya böyle herbisitlerin toprak organizmalarını etkileyebileceği ileri sürülmüştür (3, 9).

Bu nedenle bu çalışmada *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla Çukurova bölgesinde pamukta yabancı ot kontrolünde kullanılan prometryn, linuron ve haloxyfob herbisitlerin pamuk solgunluk etmeni *F. oxy.* f. sp. *vasinfectum*'a direkt ve indirekt etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Konukçu Bitki, Patojen ve Herbisitler

Konukçu bitki olarak Çukurova Bölgesi'nde en yoğun yetiştiriciliği yapılan Çukurova 1518 pamuk çeşidi kullanılmıştır. Patojen olarak ise bölgedeki pamuk alanlarında solgunluk semptomu gösteren bitkilerden izole edilmiş *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'un CF5 nolu izolatu kullanılmıştır.

Herbisit olarak çıkış öncesi kullanılan linuron (3(3,4-dichlorophenyl)-1-methoxy-1-methyl urea), ve prometryn (2,4-bis (isopropyl amin)-6-(methylthio)-s-triazine), ve çıkış sonrası uygulanan haloxyfob (methyl-2-(4-(3-chloro-5 trifluoromethyl-2-pyridyloxy) kullanılmıştır. Bu herbisitler sırasıyla Hoechst, DowElanco Agriculture Ltd. ve ovartis firmalarından temin edilmiştir.

Herbisitlerin patojen üzerine direkt etkisinin belirlenmesi

Bu amaçla *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* için haloxyfob, linuron ve prometryn'nin farklı konsantrasyonlarını içeren ve kontrol olarak da herbisit içermeyen Pepton PCNB seçici agar ortamı kullanılmıştır. Ortamlar otoklav edildikten sonra su banyosunda 65°C'ye soğutulmuş ve her bir herbisit için sırasıyla 5×10^{-5} , 1×10^{-3} ve 2×10^{-3} M konsantrasyonda olacak şekilde herbisit

ilave edilmiş ve petrilere dökülmüştür. Ortam katılaştıktan sonra etmenin 1 haftalık taze kültüründen 5 mm'lik diskler alınarak herbisitli ortam içeren petrilere ekim yapılmıştır. Patojen diskleri içeren bu petri kapları 23°C'de inkübe edilerek günlük koloni çapları ölçülmüştür. Denemeler her herbisit konsantrasyonu için 6 tekrarlı yürütülmüştür. Aynı denemeler seçici ortam ve etmenin gelişimi yönünden karşılaştırmak amacıyla, PDA (Patates-Dextroz-Agar) ortamında da yürütülmüştür.

Herbisitlerin sıvı kültürde fungus üzerindeki etkisini saptamak amacıyla sıvı patates dekstrozu ortamı hazırlanarak daha önce belirtilen konsantrasyonlarda herbisitler ilave edilmiştir. 100 ml'lik ortamlar 250 ml'lik erlenler içerisinde otoklav edildikten sonra herbisitler ilave edilmiştir. Kontrol erlenlere ise steril distile su konmuştur. Daha sonra 10^6 spor/ml konsantrasyondaki spor süspansiyonundan 5 ml herbisit erlene konularak karanlıkta 23°C'deki 125 devir/dakika'da çalışan bir çalkalayıcıya yerleştirilmiştir. 2 haftalık inkübasyondan sonra herbisit erleninin içeriği Bucher hunisi yardımıyla Whatman no. 1 filtre kağıdından (kullanmadan önce ağırlıkları alınmış) geçirilerek filtre edilmiştir. *Fusarium*'un misellerini içeren bu kağıtlar, tek tek alüminyum folyo ile sarılarak 80°C'deki bir fırında 48 saat süreyle kurutulmuştur. Daha sonra bu kağıtlar hassas bir tartım aletinde tartılmıştır. Deneme her herbisit için her bir konsantrasyonu ve her patojen için 3 kez tekrarlanmıştır.

Solgunluk hastalığına karşı konukçu dayanıklılığında herbisitlerin etkisinin belirlenmesi

Bu amaçla prometryn, linuron ve haloxyfob'un her birinin 3 ayrı dozda (5×10^{-5} , 1×10^{-3} ve 2×10^{-3} M) solüsyonu hazırlanmış ve 5 ml alınarak daha önce birlikte steril edilmiş petri kapları içindeki kurutma kağıtlarına emdirilmiştir. Her herbisit için her doz için 3 adet petri kabı kullanılmıştır. Kontrol olarak 5 ml steril distile su uygulanmıştır. Daha sonra Çukurova 1518 pamuk çeşidinin tohumları yüzey sterilizasyonu yapılarak herbisit solüsyonu emdirilmiş kurutma kağıtları üzerine ekilmiştir. Her petriye 5 tohum ekilmiş ve herbisit için 4 petri kullanılmıştır. Bu petriler alüminyum folyoya sarılarak 25°C'dek 5 gün inkübe edilmiştir. Çimlenen tohumlar, içinde MeBr ile steril edilmiş toprak bulunan her saksıya 1 bitki olacak şekilde ekilmiş ve 20-25°C'deki serada gelişmeye bırakılmıştır. Herbisitlerin bitki gelişimi üzerine etkisini belirlemek amacıyla yaprak sayısı ve bitki boyu ölçülerek kaydedilmiştir. Saksılara ekimden 3 hafta sonra her uygulamadan 4 bitkinin kök kısmına 2×10^6 spor/ml konsantrasyondaki spor süspansiyonundan 50 ml verilmiştir. Diğer 4 bitkiye ise yulafın kaynatılıp daha sonra otoklav edilmesiyle hazırlanan kültüründe

geliştirilen patojen verilmiş, 4 bitkiye de hiçbir inokulasyon yapılmamıştır. Yaklaşık 8 hafta sonra bitkiler fitoaleksinin (gossypol) analizi için laboratuvara getirildiklerinde kök ve göde kısımları kesilerek hastalığın iletim demetlerinde ilerlemesi 0-4 skalası (0, iletim demetlerinde herhangi bir kahverengileşme yok; 1, iletim demetlerinde %30'dan az kahverengileşme var; 2, iletim demetlerinde %30-60 kahverengileşme var; 3, iletim demetlerinde %60-100 kahverengileşme var; 4, kazık kökler ölmüş) kullanılarak değerlendirilmiştir (10).

Herbisit uygulanmış ve inokulasyon yapılmış her bitkiden alınan kök ve gövde parçalarından reizolasyonlar yapılmıştır.

Pamuk bitkilerinin kök ve gövdelerinden gossypol ekstraksiyonu

Bunun için her bir uygulama ve kontrolden 2 adet inokulasyon yapılmış ve 2 adet de inokulasyon yapılmamış bitki seçilmiştir. Bitkiler önce kök kısmındaki toprak gövde kısımlarından 5 g alınarak porselen havanlarda iyice ezilmiştir. Daha sonra %95'lik etanolde (10 ml) homojenize edilmiştir (11). Elde edilen ekstrakt 2 kat tülbenitten geçirilerek bitki kalıntıları uzaklaştırılmıştır. Daha sonra bir kez 1 hacim etileter'le ve iki kez de 1.5 hacim etil-eter olmak üzere 3 kez ekstrakte edilmiştir. Daha sonra eşit hacimdeki saf su ile ekstrakte edilmiş ve gossypol içeren bu solüsyon sodyum sülfat ile kurutulmuş ve toplam hacim 1 ml olacak şekilde konsantre edilmiştir. Daha sonra 1 ml %95'lik etanol eklenerek UV-visible bir spektrofotometrede 440 nm dalga boyunda gossypol miktarı ölçülmüştür (12). Sigma'dan temin edilen saf gossypol'un 1 mg'ı 2 ml etanol içinde çözülmüş ve aynı dalga boyunda ölçülerek 1 mg gossypol'un değeri belirlenmiştir.

Gossypol içeren ekstraktların antifungal etkisinin *vitro*'da saptanması

Ekstraktların *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'a karşı antifungal aktivitelerini araştırmak amacıyla katılaştırılan PDA ortamı üzerine önce her bir ekstraktan ve kontrol

ekstraktan 500 µm konularak yayılmıştır. Ekstrakt ortamda emildikten sonra *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'un 0.5 cm çapındaki kültür disklerinden ekim yapılmış ve 24°C'de inkube edilmiştir. Daha sonra gelişen kolonilerin çapları günlük olarak ölçülmüştür.

Araştırma Bulguları

Herbisitlerin patojen üzerine etkileri

Bu amaçla haloxyfob, linuron ve prometryn'nin farklı konsantrasyonlarını (5×10^{-5} , 1×10^{-3} ve 2×10^{-3} M) içeren ve kontrol olarak da herbisit içermeyen Pepton PCNB seçici agar ortamı ve PDA ortamının kullanıldığı denemede seçici ortamla, PDA ortamı fungusun gelişmeleri yönünden değerlendirildiğinde *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'un PDA'da Pepton PCNB ortamından daha iyi geliştiği saptanmıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda sıvı kültürde herbisitlerin etmenin miselyal gelişimine etkisini saptamada patates dekstrozu ortamının kullanılmasına karar verilmiştir.

Herbisitlerin katı ortamda *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'un miselyal gelişimi üzerine herbisite ve dozuna göre değişen etkilerinin olduğu gözlenmiştir (Tablo 1). En düşük konsantrasyonda (5×10^{-5} M) kullanılan herbisitlerin hiçbiri etmenin miselyal gelişimine etkili olmamıştır. Oysa 1×10^{-3} ve 2×10^{-3} M konsantrasyonlarda miselyal gelişimi engellediği bulunmuştur. Bu konsantrasyonda haloxyfob ve linuron prometryn'e oranla daha etkili bulunmuştur. 1×10^{-3} konsantrasyonda haloxyfob ve linuron içeren ortamlarda fungusun koloni çapları sırasıyla 40.1 ve 29.0 mm ile aynı grupta yer alırken prometryn içeren ortamda 59.8 mm ile istatistiksel olarak farklı grupta yer almıştır. Herbisitlerin 2×10^{-3} M konsantrasyonlarında da benzer etki söz konusu olmuştur.

Herbisitlerin *Fusarium*'un koloni gelişimine etkisi ise prometrynin 5×10^{-5} M dozunda koloni renginde ve yapısında herhangi bir değişiklik görülmezken

Herbisitler	Koloni çapı (mm) 5×10^{-5}	Koloni çapı (mm) 1×10^{-3} M**	Koloni çapı (mm) 2×10^{-3} M**
Kontrol	78.1a*	78.1c*	78.1c*
Haloxyfob	63.0a	40.1a	35.0a
Linuron	78.9a	29.0a	33.4a
Prometryn	80.2a	59.8b	63.0b

Tablo 1. Katı ortamda *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'un koloni gelişimi üzerine haloxyfob, linuron ve prometryn'in farklı konsantrasyonlarının etkisi.

* Sütunlar içerisinde farklı harfleri içeren ortalamalar LSD (0.05) testine göre istatistiksel olarak farklıdır.

** Herbisit konsantrasyonu (M)

Herbisit Konsantrasyonları	Ortalama miselyal kuru ağırlık (mg)		
	Prometryn	Linuron	Haloxfyfob
0 (kontrol)	527 a*	495.3 b*	504 c*
5x10 ⁻⁵	526.3 a	564.7 b	394 b
1x10 ⁻³ M	470.7 a	264.3 a	23.3 a
2x10 ⁻³ M	452.3 a	289 a	16.3 a

*Sütunlar içerisinde farklı harfleri içeren ortalamalar LSD (0.05) testine göre istatistiksel olarak farklıdır.

prometrynin diğer iki konsantrasyonunda ve haloxfyfob ile linuron uygulanan tüm konsantrasyonlarında koloni renginin pembeden sarı-kavuniçi rengine değiştiği gözlenmiştir. Linuronun 1x10⁻³ ve 2x10⁻³ M dozlarında ise koloni yapısının sertleştiği ve ortamı çatlatarak geliştiği görülmüştür.

Herbisitlerin, sıvı kültürde *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'un miselyal gelişim ve kuru ağırlıkları üzerindeki etkisi katı ortamda olduğu gibi herbisite ve dozuna göre farklılık göstermiştir (Tablo 2). Prometrynin üç konsantrasyonunda da *Fusarium*'un misel gelişimine olumsuz etkisi olmamıştır. Linuron'da 5x10⁻⁵ M konsantrasyonda olumsuz etki olmazken dozlar artırıldığında (1x10⁻³ ve 2x10⁻³ M) etkili bulunmuştur. Haloxfyfob ise en düşük konsantrasyonda bile etkili olmuş ve doz artırıldığında etki daha da artmıştır. Herbisitler içinde haloxfyfob, *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'un miselyal kuru ağırlığı üzerinde diğerlerinden daha etkili olurken bunu linuron izlemiştir.

Bitki gelişimi ve Fusarium solgunluğuna karşı herbisitlerin etkisi

Prometryn, linuron ve haloxfyfob'un 3 ayrı dozunun pamuk bitkisinin gelişimi ve solgunluk hastalıklarına etkisini belirlemek için saksı denemeleri yürütülmüştür. Tablo 3'de görüldüğü gibi kullanılan herbisitler bitki gelişimini teşvik etmiştir ancak bitki boyunu teşvik edici etkileri konsantrasyon artışıyla doğru orantılı olmamıştır. Linuron ve haloxfyfobun 1x10⁻³ ve 2x10⁻³ M dozlarında bitki boyunda bir azalış olmuş ve istatistiksel olarak kontrolle farklılık göstermemiştir. Bitki boyuna bağlı olarak yaprak sayısında artış gözlenmiştir yine linuron ve haloxfyfobun 1x10⁻³ ve 2x10⁻³ M istatistiksel olarak kontrollerle aynı gruba girmiştir. Kullanılan herbisitler karşılaştırıldığında prometryn, gerek bitki boyuna gerekse yaprak sayısına linuron ve haloxfyfob'dan daha etkili olmuştur. Hem bitki boyu hemde yaprak sayısı önce herbisit uygulanmış ancak inokulasyon yapılmamış bitkilere oranla daha az artış olmuştur. Bu bitkilerden

Tablo 2. Prometryn, linuron ve haloxfyfob'un değişik konsantrasyonlarının sıvı ortamda *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'un misel gelişimi üzerine etkisi.

Herbisit Konsant. (M)	İnokulasyon yapılmış			İnokulasyon yapılmamış	
	Bitki boyu (cm)	Yaprak sayısı	Hastalık değeri**	Bitki boyu (cm)	Yaprak sayısı
Kontrol	9.00 c*	5.3 e*	1.50 a*	2073 a*	13.3
Prometryn					
5x10 ⁻⁵	14.48 a	10.3 a	0.50 b	21.63 a	10.8
1x10 ⁻³	14.58 a	8.0 bc	0.25 b	18.78 abc	11.2
2x10 ⁻³	13.20 ab	8.3 bc	0.25 b	21.70 a	14.0
Linuron					
5x10 ⁻⁵	14.50 a	8.5 ab	0.25 b	19.98ab	12.0
1x10 ⁻³	10.87 bc	6.0 de	0.67 ab	16.28 cd	10.3
2x10 ⁻³	9.63 c	6.3 cde	0.00 b	16.60 bcd	9.0
Haloxfyfob					
5x10 ⁻⁵	14.63 a	7.7 bcd	0.33 b	18.63 abc	11.3
1x10 ⁻³	11.28 bc	5.3 e	0.25 b	18.38 abc	11.0
2x10 ⁻³	11.00 bc	6.5 e	0.25 b	14.45 d	9.0

** 0-4 skalasına göre hastalık indeks değeri

* Sütunlar içerisinde farklı harfleri içeren ortalamalar LSD (0.05) testine göre istatistiksel olarak farklıdır.

Tablo 3. Herbisitlerin bitki gelişimi ve pamukta *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* tarafından neden olunan solgunluk hastalığının oluşumu üzerine etkisi.

kontrol, prometrynin her 3 konsantrasyonu, linuronun 1×10^{-3} ve 5×10^{-5} M ve haloxyfobun 5×10^{-5} ve 1×10^{-3} M dozu uygulanmış olanların boyları arasında istatistiksel bir farklılık görülmemiş ve aynı gruba dahil edilmişlerdir. Bununla birlikte 1×10^{-3} ve 2×10^{-3} M linuron ve 2×10^{-3} M haloxyfob uygulanan bitkilerin yaprak sayısında istatistiksel bir farklılık görülmüştür. Tablodan da görüldüğü gibi hastalık indeks değerlerinde önemli düşüşler gözlenmiştir. Linuron 2×10^{-3} M konsantrasyonda uygulandığında hiç hastalık belirtisi görülmemiştir. Prometryn, linuron ve haloxyfob ise hastalık gelişimi üzerine benzer etki göstermişlerdir. Prometryn, linuron ve haloxyfobda hastalık indeks değeri 0.0-0.67 arasında bulunurken kontrolde bu değer 1.5 bulunmuş ve istatistiksel olarak herbisit uygulananlardan farklı olmuştur. Linuronda beklenenin tersine 5×10^{-5} M'da hastalık indeks değeri 0.25 olurken 1×10^{-3} M'da 0.67'ye yükselmiş ve 2×10^{-3} M'da ise 0 olmuştur. Tüm uygulamalardan fungus geriye izole edilmiştir.

Bitki kök ve gödelerinden fitoaleksinin gossypolün ekstartksiyonu

Bitki gelişimi ve solgunluk hastalık durumları değerlendirilen bitkilerde fitoaleksinin (gossypol) analizleri yapılmıştır. Pamuk *Fusarium solgunluğu* etmeni *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* inokule edilen ve herbisit uygulanan bitkilerdeki fitoaleksinin gossypol sentezi Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. Herbisit uygulamasının, solgunluk patojeni *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* infeksiyonunun ve herbisit uygulaması+patojen inokulasyonunun pamuk bitkisinde fitoaleksinin (gossypol) sentezine olan etkisi.

Herbisit Konsant. (M)	Inokulasyon yapılmış Gossypol (mg/5 g bitki)	Inokulasyon yapılmamış Gossypol (mg/5 g bitki)
Kontrol	0.393 d*	0.029 d*
Prometryn		
5×10^{-5}	2.056 ab	1.036 c
1×10^{-3}	2.023 ab	1.201 bc
2×10^{-3}	2.147 ab	0.924 c
Linuron		
5×10^{-5}	1.398 c	0.841 c
1×10^{-3}	2.146 ab	1.103 bc
2×10^{-3}	2.211 a	1.689 a
Haloxyfob		
5×10^{-5}	2.212 a	1.790 a
1×10^{-3}	2.018 ab	1.443 ab
2×10^{-3}	1.802 b	1.207 bc

* Sütunlar içerisinde farklı harfleri içeren ortalamalar LSD (0.05) testine göre istatistiksel olarak farklıdır.

Tablodan da görüldüğü gibi gossypol sentezi herbisit uygulamasından sonra önemli oranda artmıştır. İnokulasyon yapılmamış ve herbisit uygulanmamış kontrol bitkilerde gossypol miktarı 0.029 mg/5 g bitki iken bu miktar, herbisit uygulaması ile 1.790 mg'a kadar yükselmiştir. Farklı konsantrasyonlarda prometryn uygulamasının gossypol sentezi üzerine etkisi istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır. Linuron uygulamasında dozun artışıyla gossypol miktarı da doğru orantılı artarken, haloxyfob uygulamasında ise tersi durum gözlenmiştir. Sadece patojen inokulasyonu bitkide gossypol sentezini önemli oranda teşvik etmiş, bu oran inokulasyon ve herbisit uygulamasının birlikte yapıldığı zaman daha da artmıştır. Herhangi bir herbisit uygulaması veya patojen inokulasyonu yapılmayan bitkilerde gossypol miktarı 0.029 mg/5 g bitki iken sadece *F. oxy. f. sp. vasinfectum* inokulasyonu yapılan bitkilerde gossypol sentezi 0.393 mg'a yükselmiştir. Bu miktar herbisit uygulanan pamuk bitkilerinde daha da artmıştır.

Gossypolün ekstraktların *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'un miselyal gelişimine etkisi

Gossypol içeren bitki ekstraktları, içerisinde eşit miktarda (500 µl) PDA ortamları bulunan petri kaplarına eklenmiştir. Fungusların miselyal diskleri konduktan sonra uygun koşullarda inkube edilmiş ve kontrol petriplerde fungus gelişimi petri kabını doldurduğunda tüm uygulamalardaki koloni çapları ölçülerek değerlendirilmiştir (Tablo 5). Herbisit uygulaması yapılan bitkilerden ekstrakte edilen gossypol *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'un miselyal gelişimini önemli oranda engellemiştir. Herbisit konsantrasyonları arasında istatistiksel farklılık görülmemiştir. Ancak konsantrasyonun 5×10^{-5} M'dan 1×10^{-3} ve 2×10^{-3} M'a yükselmesiyle fungal koloni çaplarında bir azalış kaydedilmiştir.

Tablo 5. Gossypol içeren bitki ekstraktlarının *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'un miselyal gelişimi üzerine etkisi

Herbisit Konsantrasyonları	Koloni çapı (mm)		
	Prometryn	Linuron	Haloxyfob
0 (kontrol)	84.5 b*	84.5 b*	84.5 b*
5×10^{-5} M	17.3 a	24.5 a	18.1 a
1×10^{-3} M	13.6 a	13.2 a	16.3 a
2×10^{-3} M	10.8 a	15.6 a	16.2 a

* Sütunlar içerisinde farklı harfleri içeren ortalamalar LSD (0.05) testine göre istatistiksel olarak farklıdır.

Tartışma

Herbisitlerin *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'un miselyal gelişimi ve kuru ağırlığı üzerine direkt etkisi katı

ve sıvı ortamlarda belirlenmiştir. Herbisitlerin *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'un miselyal gelişimi ve kuru ağırlığına etkisi farklılık göstermiştir (Tablo 1 ve 2). Katı ortamda en düşük dozdaki (5×10^{-5} M) herbisitlerin fungal gelişme üzerine etkisi olmazken konsantrasyonlar arttırıldığında linuron ve haloxyfob prometrynden daha etkili bulunmuştur. Herbisitlerin fungusun miselyal kuru ağırlığına etkisinde ise prometrynin hiçbir etkisi olmazken linuron ve haloxyfob miselyal kuru ağırlıkta önemli düşüşe yol açmıştır. Pamukta *Verticillium* solgunluğu etmeni *V. dahliae* ve *V. albo-atrum*'la yapılan benzer çalışmalarında (12, 13) prometryn, linuron ve haloxyfob herbisitlerinin *in vitro*'da patojenin miselyal gelişimini etkilediği belirtilmiştir. Ayrıca aynı çalışmalarda *Verticillium* solgunluğuna karşı bu herbisitlerin özellikle prometrynin pamukta dayanıklılığı teşvik ettiği bulunmuştur. Altman ve Campbell (3) herbisitlerin bitki hastalıkların etkisi konusunda yaptıkları derlemelerde, *F. oxysporium* f. sp. *lycopersici*, *Rhizoctania solani* etmenlerine karşı herbisitleri etkilerine göre gruplandırmışlardır. Buna göre prometryn fungal gelişmeyi teşvik edenler grubunda yer alırken, linuron fungal gelişmeyi azaltanlar grubunda yer almıştır. Pamukta *R. solani* ve *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* tarafından neden olunan çökerten ve solgunluk hastalıklarına karşı EPTC ve linuron herbisitlerinin etkisi ile ilgili çalışmalarda ise bu herbisitlerin *R. solani*'nin saprofitik aktivitesini ve *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'un klamidospore çimlenmesini azalttığı bulunmuştur (5).

Denemelerde kullanılan herbisitlerin pamukta *Fusarium* solgunluğunun oluşumunu azalttığı ve bitki gelişimini teşvik ettiği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre prometryn, bitki boyu ve yaprak sayısı bakımından linuron ve haloxyfoba göre daha etkili olmuştur. Hem bitki boyu hem de yaprak sayısı, önce herbisit uygulanmış ancak inokulasyon yapılmamış bitkilere oranla daha az artış olmuştur. Benzer sonuçlar pamukta prometryn, dalapon ve linuronun kullanıldığı bir araştırmada da elde edilmiştir (12). Başka bir çalışmada, trifluralin ve nitralin herbisitlerinin domatesle *Fusarium* ve *Verticillium* solgunluklarını %97'ye varan oranlarda azalttığı belirtilmiştir (14).

Gristein ve ark. (7) domates ve patlıcan fidelerine değişik dinitroaniline herbisit uygulamasının *Fusarium* ve

Verticillium türlerinin neden olduğu solgunluk hastalıklarını azalttığı bulmuşlardır. Herbisit uygulamasının yapıldığı bitkilerde fungitoksik metabolitlerin (fitoaleksin) arttığını ve bu herbisitlerin kendilerinin fungitoksik olmadığını belirtmişlerdir. Dinitroaniline herbisitlerinin bitkilerde dayanıklılık mekanizmalarını aktive ettiği sonucuna varmışlardır.

Kuç (15) yaptığı derlemede, fitoaleksinin olarak isimlendirilen düşük moleküler ağırlığa sahip antifungal metabolitlerin, konukçu-patojen ilişkisi sonucu konukçu bitki tarafından sentezlendiğini belirtmiştir. Bell (16) ilk kez pamuk bitkilerine kimyasal uygulamasının dokularda fitoaleksinin (gossypol) sentezini arttırdığını bulmuştur. Gossypol pamuk bitkisinin tohum, sap, yaprak ve köklerin pigment bezlerinde üretilir ve sadece funguslara değil aynı zamanda birçok memeli hayvana da toksiktir (17, 14).

Pamuk bitkilerinin *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'la inokulasyonu gossypol sentezini arttırmıştır. Gossypol sentez oranı herbisit uygulaması ile daha da artmıştır. Ancak bitkilerdeki hastalık değeri ile gossypol miktarı arasında bir ilişki kurulamamıştır. Tablo 3'de görüldüğü gibi hiçbir uygulamanın yapılmadığı kontrol bitkilerde bile hastalık indeks değeri çok düşük olmuştur. Bu durum kullanılan *Fusarium* izolatının virülenliğinin düşük olmasından veya saksı denemeleri ısıtmasız seralarda yürütüldüğü için çevre koşulları özellikle sıcaklığın infeksiyon için uygun olmamasından kaynaklanmış olabilir. Solgunluk belirtileri çok hafif görülmüş ancak bu bitkilerden etmen geriye izole edilmiştir. Kurt (19) Adana yöresinde yaptığı surveylerde pamukta, *Fusarium* solgunluğunun *Verticillium* solgunluğuna oranla çok daha düşük olduğunu, bunun da çevre koşullarının uygunsuzluğundan veya bu yörede pamukta kök ur netatodunun olmamasından kaynaklanabileceğini belirtmiştir.

Sonuç olarak prometryn, linuron ve haloxyfob gibi herbisitler pamuk bitkisinde *Fusarium* solgunluğunu azaltmıştır. Bu etki; yapısal savunma mekanizmasının artması, fitoaleksinin sentezi gibi biyokimyasal savunma mekanizmalarının artması ve herbisitlerin fungal etmenlerin gelişimini engellemesi ile ortaya çıkabilir. Pamukta geniş bir survey ve çeşitlerin reaksiyonunu gibi konular çalışılması gereken konular arasındadır.

Kaynaklar

1. Smith, S.N., Ebbels, D.L., Garber, R.H., Kappelman, J.R., A.J., *Fusarium* wilt of cotton in *Fusarium: Disease, Biology and Taxonomy*. ed: Nelson, P.E., Toussoun, T.A., Cook, R.J., The Pennsylvania State University Press, London (1981).
2. Hillocks, R.J., *Fusarium wilt in Cotton Diseases*. ed: Hillocks R.J., CAB International, Oxon UK, (1992), p: 127-161.

3. Altman, J., Campbell, C.L., Effect of herbicides on plant diseases. *Ann. Rev. Phytopathol.* 15, 361-385, (1977).
4. El-Khadem, M., El-Kazzaz, M.K., Hassan, M.A., Influence of different pre-emerge herbicides on cotton diseases caused by *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. *Plant and Soil*, 79, 29-36, (1984).
5. El-Khadem, M., Papavizas G.C., Effect of the herbicides EPTC and linuron on cotton diseases caused by *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. *Plant Pathology*, 33, 411-416, (1984).
6. Youssef, B.A., Amr, A.M., Heitefuss, R., Interaction between herbicides and soil-borne pathogens of cotton under greenhouse conditions. *J. Plant Dis. Prot.*, 92, 55-63, (1985).
7. Grinstein, A., Lisker, N., Katan, J., Eshel, Y., Herbicide-induced resistance to wilt diseases. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 24, 347-356, (1984).
8. Osman, M., El Sayed, M., Awadalle, O.A., Herbicides and cotton wilt caused by *Verticillium dahliae* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. II. Herbicides and fungal spores as elcitors of phytoalexins. *Delta J. Sci.*, 13, 388-415, (1989).
9. Katan, J., Eshel, Y., Interactions between herbicides and plant pathogens. *Residue Rev.*, 45, 147-177, (1973).
10. Katan, T., Katan, J., Vegetative-compatibility grouping of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* from the tissue and rhizosphere of cotton plants. *Phytopathology*, 78, 852-855, (1988).
11. Bell, A.A., Phytoalexin production and *Verticillium* wilt resistance in cotton. *Phytopathology*, 59, 1119-1127, (1969).
12. Awadalla, O.A., El-Refai, I.M., Herbicide-induced resistance of cotton to *Verticillium* wilt disease and activation of host cells to produce the phytoalexin gossypol. *Can. J. Bot.*, 70, 1440-1444, (1992).
13. Canıhoş, Y., Effect of herbicides on *Verticillium* wilt of cotton and induction of phytoalexin gossypol production by host cells. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 104(5), 516-522, (1997).
14. Grinstein, A., Katan, J., Eshel, Y., Effect of dinitroaniline herbicides on plant resistance to soilborne pathogens. *Phytopathology*, 66, 517-522, (1976).
15. Kuç, J., Plant immunization and its applicability for disease control in Innovative approaches to plant disease control. ed: Chet, I., John Wiley and Sons, New York, (1987), p: 255-274.
16. Bell, A.A., Formation of gossypol in infected or chemically irritated tissues of *Gossypium* species. *Phytopathology*, 57, 759-764, (1967).
17. Reyes, J., Allen, J., Tanphaichitr, N., Bellve, A.R., Benos, D.J., Molecular mechanisms of gossypol action on lipid membranes. *J. biol. Chem.* 259(15), 9607-9615, (1984).
18. Randel, R.D., Chase, C.C., Wyse, S.J., Effects of gossypol and cottonseed products on reproduction of mammals. *J. Anim. Sci.* 70, 1628-1638, (1992).
19. Kurt, Ş., Adana yöresinde pamuk solgunluk hastalıklarının nedenleri, yaygınlıkları ve oluşumları ile bölge çeşitlerinin bunlara karşı tepkileri, (Doktora tezi). Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, (1997).