

## **FUSARIUM OXYSPORUM F.SP. CİCERİS' İN FUSARİK ASİT ÜRETİMİNİN İNCE TABAKA KROMATOĞRAFİSİ VE SPEKTROFOTOMETRİK METODLAR İLE BELİRLENMESİ**

Muharrem TÜRKKAN<sup>1,\*</sup>

F. Sara DOLAR<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Ordu  
<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Ankara

\*e-mail: muharremturkkan@mynet.com

Geliş Tarihi: 05.11.2009

Kabul Tarihi: 27.09.2010

**ÖZET:** Bu çalışma *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* izolatlarının fusarik asit üretimi ve virülenslikleri arasında bir ilişki olup olmadığını belirlemek için yürütülmüştür. *F. oxysporum* f.sp. *ciceris*' in beş izolatu (KC 7, A4, KA6, KC9 ve KC6) Czapek Dox sıvı besin ortamında 5, 10, 15 ve 20 gün süreyle geliştirilmiş ve toksin C18 katı faz ekstraksiyon kartijleriyle ekstrakte edilerek asetonitril ile elue edilmiştir. Asetonitrildeki fusarik asitin varlığı hem ince tabaka kromatografisi hem de spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Fusarik asitin ince tabaka kromatografisinde Rf değeri 0.70 olarak bulunmuş ve floresan kremite rengi parlaklıkta bir leke vermiştir. Buna ilave olarak ince tabaka kromatografisi analizinde bir izolatın tanımlanamayan bir metabolit ürettiği belirlenmiştir (Rf 0.87). Fusarik asitin kantitatif miktar analizi Agilent Specord 200 spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. İzolatların hiçbirisi inkübasyonun 5. gününde fusarik asit üretmemiştir. Ayrıca düşük ve yüksek virülens izolatların fusarik asit üretimindeki farklılıklar inkübasyonun 20. gününde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

**Anahtar Sözcükler:** Nohut, *Fusarium oxysporum*, Fusarik asit, TLC, Spektrofotometre,

### **DETERMINATION OF FUSARIC ACID PRODUCTION BY *FUSARIUM OXYSPORUM* F.SP. *CICERIS* WITH THIN LAYER CHROMATOGRAPHY AND SPECTROPHOTOMETRIC METHODS**

**ABSTRACT:** This study is performed to determine whether a relation exists between fusaric acid production and virulence of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* isolates. Five isolates (KC 7, A4, KA6, KC9 ve KC6) of *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* were grown in Czapek Dox liquid medium for 5, 10, 15 and 20 days and toxins were extracted by solid phase extraction using C18 cartridge. Then, toxins were eluted with acetonitrile. The presence of fusaric acid in acetonitrile was confirmed by both thin-layer chromatography and spectrophotometer. Thin-layer chromatography of fusaric acid gave a fluorescent brick colored spot at Rf 0.70. In addition to that, an unknown metabolite was found in thin-layer chromatography analysis (Rf 0.87). Quantitative analysis of fusaric acid was performed by Agilent Specord 200 spectrophotometer. None of the isolates produced fusaric acid in the 5th day. Also, differences in fusaric acid production between low and high virulent isolates were found as statistically significant in the 20th day of incubation.

**Key word:** Chickpea, *Fusarium oxysporum*, Fusaric acid, TLC, Spectrophotometer

### **1. GİRİŞ**

Türkiye'de nohut (*Cicer arietinum* L.) yemeklik dane baklagil ekim alanları içerisinde % 48.4' lük bir orana sahip olup, üretim 551746 ton ve verim ise 989 kg/ha' dır (Anonymous, 2008). Nohutlarda solgunluğa neden olan *Fusarium oxysporum* Schlecht Fr. f.sp. *ciceris* (Foc) (Padwick) Matuo & Sato dünyada olduğu gibi Türkiye'de de üretim alanlarında yaygın olarak görülmektedir (Traperocasas and Jimenez-Diaz, 1985; Maden, 1987; Dolar, 1996; Nene et al., 1996). Değişik araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda Foc' un yedi irkının olduğu ve Irk 0' in virülensi en düşük, irk 2 ve 3' ün ise virülenslikleri yüksek irklar olduğu bildirilmektedir (Haware and Nene, 1982; Cabrera de la Colina et al., 1985). Dolar (1997) Foc' un 0, 2 ve 3 nolu irklarının Türkiye'de bulunduğunu tespit etmiştir. Hastalık bitkilerin köklerini enfekte ederek köklerde nekrozlara, bitkinin üst kısmında solgunluğa ve sonuç olarak bitkinin ölmesine neden olmaktadır.

Bitki patojeni birçok fungus bitkilerde zararlara neden olan bir veya daha fazla toksik metabolit üretmektedir. Bu toksinlerin bitkilerde hastalıktan dolayı meydana gelen belirtilerin çoğunu veya

tamamını oluşturması bunların bitki hastalıklarında önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir (Yoder, 1980).

*Fusarium* türü fungusların bitkilerde meydana getirdiği solgunluk belirtilerinin fungus tarafından üretilen nonspesifik bir toksin olan Fusarik asit (FA)' ten kaynaklandığı bildirilmektedir (Davis, 1969; Toyada et al., 1988). Ayrıca toksinin patateslerdeki kuru çürüklük (*Fusarium oxysporum* Schlecht. Emend Snyd. & Hans.) hastalığında da önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir (Venter and Steyn, 1998). FA üzerine günümüze kadar yapılan çalışmalarda toksinin bitkilerde hücre zarının seçici geçirgenliğini değiştirdiği, mitokondrinin aktivitesini ve ATP sentezini azalttığı ve bitki kök gelişimini engellediği belirlenmiştir (Bouizgarne et al., 2004; Bouizgarne et al., 2005; Bouizgarne et al., 2006; Wu et al., 2008). Toksin *Fusarium oxysporum* başta olmak üzere birçok *Fusarium* türü (*F. moniliforme*, *F. crookwellense*, *F. subglutinans*, *F. sambucinum*, *F. napiforme*, *F. heterosporum*, *F. solani* ve *F. proliferatum*) tarafından üretilmektedir (Bacon et al., 1996).

Bu çalışma virülenslikleri bilinen Foc izolatlarının ürettiği FA' in TLC ve spektrofotometrik yöntemlerle

tanılarının yapılması, miktarlarının belirlenmesi ve izolatların ürettiği toksin miktarları ile virülenslik arasında bir ilişkili olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Fungal materyal

Çalışmada kullanılan 5 *Foc* izolatı [KC7 (patojen olmayan izolat), A4 (ırk 0), KA6 (Irk 2), KC9 ve KC6 (Irk 3)] Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Öğretim üyelerinden Prof. Dr. F. Sara DOLAR' ın kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

### 2.2. İzolatların geliştirilmesi ve spor süspansiyonu hazırlanması

Cryo tüplerden aşılamanın *Fusarium* izolatları Patates Dekstroz Agar (PDA) ortamına aktararak  $23\pm 1^{\circ}\text{C}$  sıcaklık ve 12 saat aydınlık periyot içeren inkübasyon odasında iki hafta süreyle geliştirilmiştir. Daha sonra her bir *Fusarium* kültürü üzerine 10 ml steril saf su ilave edilerek spatül ile nazik bir şekilde kazınmış ve elde edilen süspansiyon Whatman no.1 filtre kağıdından süzülmüştür. Spor yoğunluğu thoma lamı ile  $10^7$  spor/ml olarak ayarlanmış ve steril ependorf tüplere konulmuştur. Ependorf tüpler 10 dk süreyle 10000 rpm'de ( $+4^{\circ}\text{C}$ ' de) santrifüj edilmiştir. Birinci santrifüjden sonra üstteki sıvı kısım mikropipet yardımıyla alınarak pellet üzerine steril saf su ilave edilmiş ve aynı koşullarda 2. kez santrifüj işlemi yapılmıştır. Daha sonra pelletlerin üzerine tekrar steril saf su ilave edilerek son konsantrasyonu %15' lik gliserol içerecek şekilde cryo tüplere aktarılmıştır. Cryo tüpler kullanılmaya kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ ' de derin dondurucuda bekletilmiştir (Hamid and Strange, 2000).

### 2.3. Toksin üretimi ve kısmi saflaştırılması

Toksin üretimi için 250 ml'lik erlenlerde bulunan 50 ml zenginleştirilmiş (0.05 g/l  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.1 g/l  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.02 g/l  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.02 g/l  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , ve 0.02 g/l  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ilave edilmiş) Czapek Dox sıvı besi ortamı steril edildikten sonra, *Foc* izolatlarının  $10^7$  spor/ml' lik spor süspansiyonlarından 50  $\mu\text{l}$  ilave edilerek inokule edilmiştir. Deneme her izolat için üç tekerrürlü olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Erlenmayerler  $23\pm 1^{\circ}\text{C}$  sıcaklık ve karanlıkta durağan bir halde 5, 10, 15 ve 20 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda sıvı kültürler önce 4 kat tülbenkten daha sonra Whatman no.1 filtre kağıdından süzülerek miseller uzaklaştırılmıştır. Uzaklaştırılan misel kitlelerinin kuru ağırlıklarının tayini için  $70^{\circ}\text{C}$  sıcaklık içeren etüvde sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. Gopalakrishnan et al. (2005) metodu modifiye edilerek kültür filtratları (15 ml), metanol (5 ml) ve takiben su (5 ml) ile koşullandırılmış 1 g' lik C18 katıfaz ekstraksiyon kartijlerinden geçirildikten

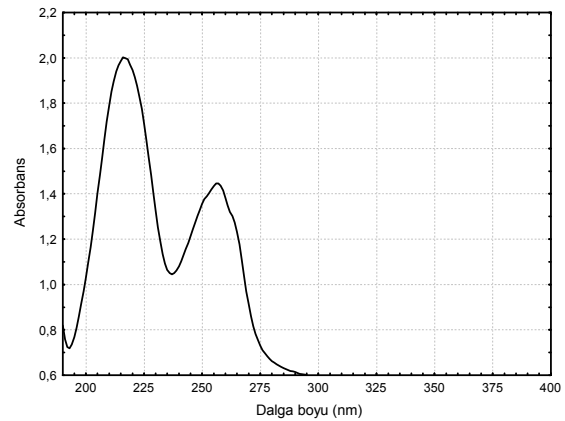
sonra tekrar su (5 ml) ile yıkanarak toksin 2 ml acetonitril ile elue edilmiştir.

### 2.4. Fusarik asidin ince tabaka kromatografi (TLC) ile belirlenmesi

TLC plakaları (LuxPlate silica gel 60  $F_{254}$ ,  $20 \times 20$  cm)  $110^{\circ}\text{C}$ ' de 10-15 dk aktive edildikten sonra FA standartı (Sigma Alrich, Germany) (10 ppm) ve örnekler mikropipet yardımı ile 25  $\mu\text{l}$  plakalar üzerine uygulanmıştır. Plakalar önceden hazırlanmış geliştirme solventinin (*n*-butanol:asetik asit:etil asetat:su, 3:2:2:2, v/v) bulunduğu tanka yerleştirilerek 3-3.5 saat gelişmeleri sağlanmış ve bu işlemi takiben plakalar tanktan çıkarılıp havada kurutulmuş ve daha sonra da 254 nm UV ışık (CAMAG) altında incelenmiştir (Šrobárová et al., 2004; Eged, 2005). Örneklerdeki FA yoğunlukları FA standartı ile kıyaslanarak Paterson and Rutherford (1991)' un metodu modifiye edilerek gözlemsel olarak belirlenmiştir.

### 2.5. Kantitatif miktar tayini

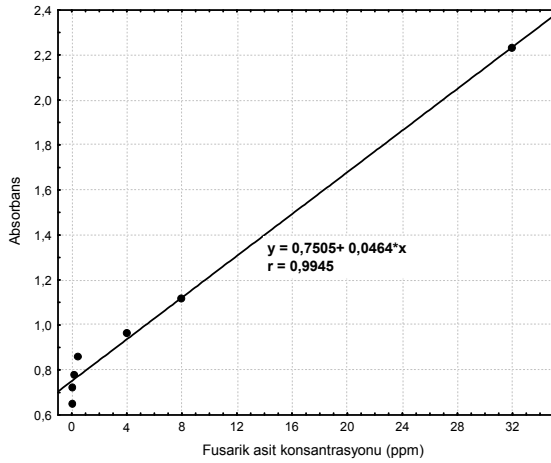
FA' in kantitatif miktarının hesaplanmasında 190-1100 nm dalga boyları arasında okuma yapan Agilent Specord 200 spektrofotometre kullanılmıştır. FA standartı metanolde çözüldükten sonra toksinin asetonitrilde hazırlanan farklı konsantrasyonları spektrofotometrede okunmuş ve FA' in maximum absorpsiyon yaptığı dalga boyları belirlenmiştir (Şekil 1). Daha sonra FA standartından hazırlanan 0.03, 0.06, 0.13, 0.50, 4.00, 8.00 ve 32.00 ppm' lik konsantrasyonları spektrofotometrede okunarak kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur (Şekil 2).



Şekil 1. Fusarik asidin 216 ve 256 nm' deki absorpsiyon değerleri

### 2.6. Sonuçların değerlendirilmesi

*Foc* izolatlarının farklı inkübasyon dönemlerinde ürettikleri FA miktarları belirlendikten sonra Minitab Paket Programı (MINITAB Inc.814-238-3280 WS 112102553) ile *F*-testine ( $P = 0.05$ ) göre kontrol edilmiştir. Ortaya çıkan önemli farklılıklar Duncan testi ile ( $P \leq 0.05$ ) saptanmış ve bunlar harflerle gösterilmiştir.



Şekil 2. Fusarik asit için oluşturulan kalibrasyon eğrisi

### 3. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmada kullanılan virülenslikleri bilinen *Foc* izolatlarının (Dolar, 1997) farklı inkübasyon günlerinde değişik miktarlarda FA ürettiği hem ince tabaka kromatografisi hem de spektrofotometrik analizlerle belirlenmiştir. İnce tabaka kromatografisi analizlerinde FA standardı tek bir bant oluşturmasına karşın, izolatların kültür filtratlarının silika jel plakaları üzerinde iki farklı bant oluşturduğu gözlemlenmiştir. Floresans parlaklıkta krem rengi bu bantların yoğunluğunun inkübasyon dönemlerine göre izolatlar arasında farklılık gösterdiği ve alıkonma faktörü ( $R_f$ ) değerinin 0.70 olan FA' ya 0.87 olan ise tanımlanamayan diğer metabolite ait olduğu belirlenmiştir. Tanımlanamayan bu metabolit sadece A4 izolatında inkübasyonun hem 15. hem de 20. gününde gözlemlenmiştir (Çizelge 1).

Benzer olarak Luz et al. (1990) TLC analizlerinde *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* irklarının farklı besin ortamlarında farklı metabolitler ürettiğini bildirmişlerdir. Ayrıca diğer çalışmalarda kullanılan besin ortamları, ekstraksiyon yöntemleri, kromatografik yöntemler, TLC plakaları ve solvent sistemlerine göre *F. oxysporum* izolatlarının FA dışında, fusarik asit metilester, dehidrofusarik asit, metilbostrikoidin, fusarubin, fusapiron, deoksifusapiron, metiljavanisin, metilslaniol, enniatin gibi birçok fitotoksik metabolit ürettiği bildirilmektedir (Tatum et al., 1985; Luz et al., 1990; Paterson and Rutherford, 1991; Altomare et al., 2000; Amalfitano et al., 2002; Amraoui et al., 2005). Tanımlanamayan bu metabolitin düşük patojenisiteye sahip A4 (ırk 0) izolatının kültür filtratlarında bulunması, metabolitin patojenisitede önemli bir rol oynayabileceğinin bir işareti olabilir. Altomare et al. (2000) da nohut bitkisinden elde edilen hücre süspansiyonları ile yaptıkları denemede fusapiron ve

deoksifusapironun, FA' dan daha az toksik etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Kantitatif analiz çalışmalarında, inkübasyonun farklı dönemlerinde *Foc* izolatlarının kültür filtratlarındaki FA miktarlarının birbirinden farklı olduğu ve yapılan istatistik analizlerde de inkübasyon süreleri ile izolatlar arasındaki interaksyonun önemli olduğu belirlenmiştir (Şekil 3) (Çizelge 2).

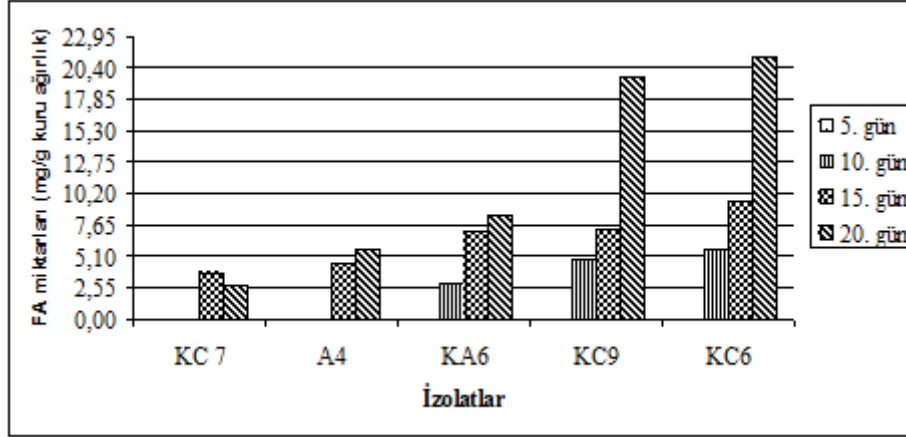
İnkübasyonun 5. gününde izolatların hiçbirinin kültür filtratında FA tespit edilememiştir. Benzer olarak yapılan başka bir çalışmada *Fusarium oxysporum* f. sp. *udum*' un kültür filtratlarında ve miseliyal ekstraktlarında inkübasyonun 5. gününde FA belirlenememişken, sonraki günlerde toksinin kültür filtratlarında hızla arttığı görülmüştür (Prasad and Chaudhary, 1974). Yine Curir et al. (2000) *Fusarium oxysporum* f. sp. *lilii*' nin kültür filtratlarında FA' i 7. günde belirlemişlerdir. Bu çalışmada ırk 3 (KC9 ve KC6) izolatlarının kültür filtratlarında inkübasyonun 10. gününden itibaren FA tespit edilmiş ve ırk 3 izolatlarının kültür filtratlarındaki FA miktarının 20. güne kadar hızla arttığı gözlemlenmiştir. Yapılan istatistiksel analizlerde de inkübasyonun ilk üç döneminde tüm izolatların FA miktarları arasında istatistiksel olarak bir fark olmamasına karşın, inkübasyonun 20. gününde ırk 3 izolatlarının her ikisi de diğer izolatlardan ayrı bir grupta yer almıştır. Ancak ırk 2 izolatının kültür filtratındaki FA miktarı 10. ve 20. günler arasında çok değişmemiştir. Ayrıca ırk 0 (A4) ve patojen olmayan (KC7) izolatlarının kültür filtratında FA ilk olarak 15. günde belirlenmiş ve bu izolatlardan ilkinin kültür filtratındaki FA 20. günde ırk 3 ve 2 izolatlarına oranla çok daha az miktarda artış gösterdiği ancak ikincisinde ise aksine azaldığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla izolatların kültür filtratlarındaki FA miktarları ile izolatların virülenslikleri arasındaki ilişki istatistiksel olarak da teyit edilmiştir (Çizelge 2). Benzer olarak Venter and Steyn (1998)' in Güney Afrika' da yaptıkları bir çalışmada *F. oxysporum* izolatlarının ürettikleri FA miktarlarıyla hassas ve dayanıklı patates çeşitlerinin yumrularında bu etmenin neden olduğu kuru çürüklük hastalık şiddeti arasında bir ilişki olduğunu ve FA' in patojenisitede önemli bir rol oynadığını bildirmişlerdir.

Sonuç olarak *Foc* izolatlarının kültür filtratlarında FA' in ortaya çıktığı periyod ve toksinin miktarı patojenisitede önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Ayrıca çalışma esnasında TLC analizlerinde tespit edilen ve farklı bir metabolit olduğu düşünülen madde üzerinde detaylı bir çalışma yapılmasının gerekliliği de görülmüştür.

Çizelge 1. Fusarik asit ve tanımlanamayan diğer metabolitin 254 nm UV ışıkta TLC plakaları üzerindeki yoğunlukları

İzolatlar	İnkübasyon dönemleri (gün)							
	5		10		15		20	
	FA	DM	FA	DM	FA	DM	FA	DM
KC7	-	-	-	-	-/+	-	-/+	-
A4	-	-	-	-	+	-/+	++	+
KA6	-	-	+	-	++	-	+++	-
KC9	-	-	+	-	+++	-	+++	-
KC6	-	-	+	-	+++	-	+++	-

Not: - belirlenemedi, -/+ = çok düşük (belli belirsiz), + = düşük, ++ = orta ve +++ = yüksek yoğunlukta  
DM= tanımlanamayan diğer metabolit



Şekil 3. Fusarik asit miktarlarının inkubasyon süresi ve izolatlara göre değişimi

Çizelge 2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının farklı inkubasyon dönemlerinde ürettikleri Fusarik asit miktarları

İzolatlar	Fusarik asit miktarları (mg/g kuru ağırlık)			
	5. gün	10. gün	15. gün	20. gün
KC 7	0.00±0.00 A*, a**	0.00±0.00 A, a	3.74±2.30 A, a	2.64±1.55 A, b
A4	0.00±0.00 A, a	0.00±0.00 A, a	4.55±1.85 A, a	5.75±0.85 A, b
KA6	0.00±0.00 A, a	2.78±0.60 A, a	7.06±2.19 A, a	8.38±2.35 A, b
KC9	0.00±0.00 B, a	4.86±1.65 B, a	7.31±3.36 B, a	19.68±7.73 A, a
KC6	0.00±0.00 B, a	5.71±0.91 B, a	9.56±2.18 B, a	21.23±9.51 A, a

Not: \* Satır ve \*\*sütun içindeki değerler arasındaki farklılığı göstermektedir.  
Duncan %5'e göre aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir.

#### 4. KAYNAKLAR

- Altomare, C., Perrone, G., Zonno, M.C., Evidente, A., Pengue, R., Fanti, F., Polonelli, L., 2000. Biological Characterization of Fusapyrone and Deoxyfusapyrone, Two Bioactive Secondary Metabolites of *Fusarium semitectum*. J. Nat. Prod. 63: 1131-1135.
- Amalfitano, C., Pengue, R., Andolfi, A., Vurro, M., Zonno, M.C., Evidente, A., 2002. HPLC Analysis of Fusaric Acid, 9,10-Dehydrofusaric Acid and their Methyl Esters, Toxic Metabolites from Weed Pathogenic *Fusarium* Species. Phytochem. Anal. 13: 277-282.
- Amraoui, H., Lazrek, H.B., Sedra, M.H., Sampieri, F., Mansuelle, P., Rochat, H., Hamdaoui, A., 2005. Chromatographic Characterization and Phytotoxic Activity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* and Saprophytic Strain Toxins. J. Phytopathology 153: 203-208.
- Anonymous, 2008. Web Sitesi. F.A.O. <http://www.fao.org>, Erişim Tarihi: 20.05.2008.
- Bacon, C.W., Porter, J.K., Norred, W.P., 1996. Production of fusaric acid by *Fusarium* species. Appl. Environ. Microbiol. 62: 4039-4043.
- Bouizgarne, B., Brault, M., Pennarun, A.M., Rona, J.P., Ouhdouch, Y., ElHadrami, I., Bouteau, F., 2004. Electrophysiological responses to fusaric acid of root hairs from seedlings of date palm susceptible and resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. J. Phytopathol. 152: 321-324.
- Bouizgarne, B., El-Maarouf-Bouteau, H., Madiona, K., Biligui, B., Monestiez, M., Pennarun, A.M., Amiar, Z., Rona, J.P., Ouhdouch, Y., El Hadrami, I., Bouteau, F., 2005. A Putative Role for Fusaric Acid in Biocontrol of the Parasitic Angiosperm *Orobanche ramosa*. MPMI Vol. 19: 550-556.
- Bouizgarne, B., El-Maarouf-Bouteau, H., Frankart, C., Rebutier, D., Madiona, K., Pennarun, A.M., Monestiez, M., Trouverie, J., Amiar, Z., Briand, J., Brault, M., Rona, J.P., Ouhdouch, Y., El Hadrami, I., Bouteau F., 2006. Early physiological responses of *Arabidopsis thaliana* cells to fusaric acid: Toxic and signaling effects. New Phytol. 169: 209-218.

***Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*' in fusaric asit üretiminin ince tabaka kromatografisi ve spektrofotometrik metodlar ile belirlenmesi**

- Cabrera de la Colina, J., Trapero-Casas, A., Jimenez-Diaz, R.M., 1985. Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in Andalusia, Southern Spain. International Chickpea Newsletter, 13: 24-26.
- Curir, P., Guglieri, L., Dolci, M., Capponi, A., Aurino, G., 2000. Fusaric acid production by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lilii* and its role in the lily basal rot disease. European Journal of Plant Pathology 106: 849-856.
- Davis, D. 1969. Fusaric acid in selective pathogenicity. Phytopathology 59: 1391-1395.
- Dolar, F.S., 1996. Determination of chickpea diseases in Ankara, Turkey. International Chickpea and Pigeonpea Newsletter No:3, 33-34.
- Dolar, F.S., 1997. Determination of the races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in Ankara province, Turkey. J. Turk. Phytopath., 26: 11-15.
- Eged, S., 2005. Thin-layer chromatography-an appropriate method for fusaric acid estimation. Biologia 60: 104.
- Gopalakrishnan, S., Beale, M.H., Ward, J.L., Strange, R.N., 2005. Chickpea wilt: identification and toxicity of 8-O-methyl-fusarubin from *Fusarium acutatum*. Phytochemistry 66: 1536-1539.
- Hamid, K., Strange, R.N., 2000. Phytotoxicity of solanapyrones A and B produced by the chickpea pathogen *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. and the apparent metabolism of solanapyrone A by chickpea tissues. Physiological and Molecular Plant Pathology 56: 235-244.
- Haware, M.P., Nene, Y.L., 1982. Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. Plant Dis. 66: 809-810.
- Luz, J.M., Paterson, R.R.M., Brayford, D., 1990. Fusaric acid and other metabolite production in *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. Letters in Applied Microbiology 11: 141-144.
- Maden, S., 1987. Seed-borne Fungal Diseases of Chickpea in Turkey. J. Turk. Phytopath., 16: 1-8.
- Nene, Y.L., Sheila, V.K., Sharma, S.B., 1996. A world list of chickpea and pigeonpea pathogens. 5<sup>th</sup> edn. atoncheru 502 324 Andhra Pradesh, India: International Crops Research Institute for the Semi Arid Tropics.27p.
- Paterson, R.R.M., Rutherford, M.A., 1991. A simplified rapid technique for fusaric acid detection in *Fusarium* strains. Mycopathologia 113: 171-173.
- Prasad, M., Chaudhary, S.K., 1974. In vitro production of Fusaric acid and its impact on growth and sporulation in *Fusarium oxysporum* f.sp. *udum*. Phytopath. Z. 80: 279-282.
- Šrobárová, A., Nadubinská, M., Eged, Š., Altomare, C., Kogan, G., 2004. Treatment with antagonist *Trichoderma* and cell-wall polysaccharide decreases maize root rot infestation by *F. verticillioides* and fusaric acid production. Acta fytotechnica et zootechnica 7: 293-299.
- Tatum, J.H., Baker, R.A., Berry, R.E., 1985. Naphthoquinones produced by *Fusarium oxysporum* isolated from citrus. Phytochemistry 24: 457-459.
- Toyada, H., Hashimoto, H., Utsumi, R., Kobayashi, H., Ouchi, S., 1988. Detoxification of fusaric acid by a fusaric acid-resistant mutant of *Pseudomonas solanacearum* and its application to biological control of Fusarium wilt of tomato. Phytopathology 78: 1307-1311.
- Trapero-Casas, A., Jimenez-Diaz, R.M., 1985. Fungal wilt and root rot diseases of chickpea in Southern Spain. Phytopathology 75: 1146-1151.
- Yoder, O.C., 1980. Toxins in pathogenesis. Ann. Rev. Phytopathol. 18: 103-129.
- Venter, S., Steyn, P.J., 1998. Correlation between fusaric acid production and virulence of isolates of *Fusarium oxysporum* that causes potato dry rot in South Africa. Potato Research 41: 289-294.
- Wu, H., Yin, X., Liu, D., Ling, N., Bao, W., Ying, R., Zhu, Y., Guo, S., Shen, Q., 2008. Effect of fungal fusaric acid on the root and leaf physiology of watermelon (*Citrullus lanatus*) seedlings. Plant Soil 308: 255-266.