

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



Pisum sativum subsp. *elatus* (M. BIEB.) ASCH. & GRAEBN. İÇİN
YANIKLIK HASTALIĞININ (*Ascochyta pisi* LIB.) MOLEKÜLER
TEKNİKLERLE TANISI

Adem ÇETİN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARLA BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN 2018

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



Pisum sativum subsp. *elatus* (M. BIEB.) ASCH. & GRAEBN. İÇİN
YANIKLIK HASTALIĞININ (*Ascochyta pisi* LIB.) MOLEKÜLER
TEKNİKLERLE TANISI

Adem ÇETİN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARLA BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN 2018

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Pisum sativum subsp. *elatus* (M. BIEB.) ASCH. & GRAEBN. İÇİN
YANIKLIK HASTALIĞININ (*Ascochyta pisi* LIB.) MOLEKÜLER
TEKNİKLERLE TANISI

Adem ÇETİN
TARLA BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından FYL-2017-
3603 nolu proje ile desteklenmiştir.

HAZİRAN 2018

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***Pisum sativum* subsp. *elatus* (M. BIEB.) ASCH. & GRAEBN. İÇİN
YANIKLIK HASTALIĞININ (*Ascochyta pisi* LIB.) MOLEKÜLER
TEKNİKLERLE TANISI**

Adem ÇETİN
TARLA BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 21/06/2018 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cengiz TOKER
Prof. Dr. Ahmet ZEYBEK
Doç. Dr. Hüseyin ÇANCI

ÖZET

***Pisum sativum* subsp. *elatius* (M. BIEB.) ASCH. & GRAEBN. İÇİN YANIKLIK HASTALIĞININ (*Ascochyta pisi* LIB.) MOLEKÜLER TEKNİKLERLE TANISI**

Adem ÇETİN

Yüksek Lisans, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Cengiz TOKER

Haziran 2018; 32 sayfa

Yanıklık hastalığı ya da kara leke tarımı yapılan bezelyenin en çok verim kayıplarına neden olan hastalıklarından birisidir ve *Ascochyta pinodes*, *A. pisi*, *Phoma pinodella*, *P. koolunga*, *P. herbarum*, *P. glomerata* ve *Boerema exigua* var. *exigua*'yı içeren karmaşık patojenik mantarlar tarafından meydana getirilmektedir. Bezelye cinsinde (*Pisum* L.), tek yıllık yabancı bir tür olan *P. elatius* (M. Bieb.) Asch. & Graebn. Orta ve Kuzeybatı Asya ile Türkiye'nin de dahil olduğu Akdeniz'e kıyısı olan Avrupa ülkelerinde doğal olarak yayılış göstermektedir. Bu tür Türkiye, Toros Dağlarında bazı yerlerde yanıklık hastalığından muzdariptir. *Ascochyta* yanıklığı lezyonları olan yapraklar Göynük Kanyonu (Rakım:1000 m) Kemer, Antalya folarısından toplanmış fakat tür adı belirlenememiştir. Bu nedenle bu çalışma moleküler tekniklerle *P. elatius*'un yanıklık hastalığının teşhisini amaçlamaktadır. Yapraklar üzerindeki semptomların *ascochyta* yanıklığına benzer dairesel ve oval şekillilerde olduğu görülmüştür. Hastalık örnekleri PDA (patates dekstroz agarı) ortamında 2-7 gün arasında bekletilmiş ve sonrasında gelişen *ascochyta* yanıklığına morfolojik olarak benzer olan koloniden saf kültür elde edilerek 7 ile 14 gün arasında inkübe edilmiştir. CTAB metodu kullanılarak mantar izolatlarından DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Moleküler olarak tanı amacıyla ITS bölgeleri (ITS-1, 5.8S rDNA subunit, ITS-2) ITS4 ve ITS5 primerleri ile PCR yapılmış ve PCR ürünleri dizilenmiştir. BLAST analizi sonuçlarına göre hastalığın GenBank'taki dizilerin karşılaştırılmasıyla % 99 oranında *Ascochyta pisi* Lib. ile örtüştüğü tespit edilmiştir. Bu tez çalışması ülkemizde *Pisum elatius* türünde yapılan ve *ascochyta* yanıklığının incelendiği ilk çalışmadır. Patojenin *P. elatius* ile birlikte evrimleştiği düşünülmektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: *Ascochyta pisi*, bezelye, ITS, *Pisum elatius*, yanıklık

JÜRİ: Prof. Dr. Cengiz TOKER

Prof. Dr. Ahmet ZEYBEK

Doç. Dr. Hüseyin ÇANCI

ABSTRACT

DIAGNOSIS OF ASCOCHYTA BLIGHT OF *Pisum sativum* subsp. *elatius* (M. BIEB.) ASCH. & GRAEBN. VIA MOLECULAR TECHNIQUES

Adem ÇETİN

MSc Thesis in Field Crops

Supervisor: Prof. Dr. Cengiz TOKER

June 2018; 32 pages

Ascochyta blight or black spot is one of the most devastating disease of the cultivated pea (*Pisum sativum* L.) and caused by a complex of pathogenic fungi consisting of *Ascochyta pinodes*, *A. pisi*, *Phoma pinodella*, *P. koolunga*, *P. herbarum*, *P. glomerata* and *Boerema exigua* var. *exigua*. In the genus *Pisum* L., *P. elatius* (M. Bieb.) Asch. & Graebn., annual wild pea species, is a native species to Middle and northwest Asia and the Europe-Mediterranean region including Turkey. It is suffered from ascochyta blight in some sites in Toros Montains, Turkey. Characteristic lesions on leaves of ascochyta blight were collected in Goynuk Canyon (c. 1000 m asl) in Kemer, Antalya, Turkey but its species has been unclear. Therefore, the present study was aimed diagnosing ascochyta blight of *P. elatius* via molecular techniques. Symptoms on leaves were circular to oval such as ascochyta blight. Samples were placed on PDA plates for 2 to 7 days, and colonies with morphological characteristics typical of pea ascochyta blight were single-spored and transferred to new PDA plates and incubated for 7 to 14 days. DNA was extracted from small pieces of fungus isolates using CTAB method. For molecular characterization, internal transcribed spacer (ITS) regions (ITS-1, 5.8S rDNA subunit, ITS-2) were amplified with PCR primers ITS 5 and ITS 4. Based on BLAST analysis result, the sequence had 99% nucleotide identity with the corresponding sequence in GeneBank for *Ascochyta pisi* Lib. To our knowledge, this is the first report of ascochyta blight of *P. elatius* in Turkey. The pathogen is considered to be co-evolved with *P. elatius*.

KEYWORDS: Ascochyta blight, *Ascochyta pisi*, ITS, Pea, *Pisum elatius*

COMMITTEE: Prof. Dr. Cengiz TOKER

Prof. Dr. Ahmet ZEYBEK

Assoc. Prof. Dr. Hüseyin ÇANCI

ÖNSÖZ

Baklagiller, bünyelerinde barındırdıkları yüksek protein sebebiyle beslenmede çok önemli rol oynamaktadırlar. Özellikle düşük gelirli ülkelerde başlıca protein kaynaklarından olmasıyla birlikte önemi daha da artmaktadır. Ülkemiz birçok ana gen merkezlerinden birisidir ve çok fazla bitki çeşitliliğine sahiptir. Bu nedenle, bu bitki çeşitliliğini korumaya yönelik birçok çalışma yapılmaktadır.

Bezelye de baklagiller ailesinin bir üyesidir ve ürünleri birçok alanda kullanılmaktadır. Yabani türlerinin bazı abiyotik ve biyotik stres etmenlerine karşı dayanıklılığı bilinmekte ve bunlardan kültür formlarına aktarımı yapılmaktadır. Bu çalışmada, Antalya florasında doğal olarak yayılış gösteren *Pisum elatius*'ta karşılaşılan yanıklık hastalığının hem morfolojik hem de moleküler tekniklerle teşhisi yapılmıştır. Türkiye'de daha önce bu bezelye türünde yanıklık hastalığı ile ilgili hiçbir inceleme yapılmaması, bu çalışmayı özgün kılmaktadır.

Bu tez çalışmasının önerisini veren ve hazırlama aşamasında bilgi ve tecrübelerini paylaşmaktan çekinmeyen çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Cengiz TOKER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmaları süresince destek olan Araştırma Görevlisi Sayın Duygu Sarı YOL'a, yine çalışmam süresince desteklerini esirgemeyen Araştırma Görevlileri Sayın Rüstem ÜSTÜN ve Sayın Mehmet TEKİN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Bu süreçte desteğini hiç esirgemeyen sevgili eşim Hatice ÇETİN'e ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
AKADEMİK BEYAN	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	3
2.1. Bezelye (<i>Pisum</i>) İle İlgili Genel Bilgiler.....	3
2.1.1. Yabani bezelye türlerinin ıslahta kullanımı	6
2.2. <i>Pisum elatius</i> M. Bieb.	7
2.3. <i>Ascochyta pisi</i> Lib. İle İlgili Genel Bilgiler ve Bezelye Üzerinde Etkisi.....	9
2.4. ITS İle İlgili Genel Bilgiler	11
3. MATERYAL VE METOD	14
3.1. Materyal.....	14
3.2. Metod.....	15
3.2.1. Örneklerin toplanması	15
3.2.2. Yanıklık hastalığının morfolojik olarak değerlendirilmesi.....	15
3.2.3. Fungusun izole edilmesi ve çoğaltılması.....	16
3.2.4. DNA izolasyonu	18
3.2.5. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)	18
3.2.6. Sekans analizi	19
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	20
5. SONUÇLAR	24
6. KAYNAKLAR	25
7. EKLER.....	31
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Pisum sativum* subsp. *elatus* (M. Bieb.) Asch. & Graebn. İçin Yanıklık Hastalığının (*Ascochyta Pisi* Lib.) Moleküler Tekniklerle Tanısı” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

...../...../.....
Adem ÇETİN



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	:Yüzde
°C	:Santigrad derece
°	:Derece
'	:Dakika
“	:Saniye
bp	:Baz çifti
cm	:Santimetre
da	:Dekar
E	:Ekvatorial eksen
g	:Gram
ha	:Hektar
kg	:Kilogram
m	:Metre
me	:Miliequivalent
µl	:Mikrolitre
ml	:Mililitre
mm	:Milimetre
P	:Polar eksen
P/E	:Polar eksenin ekvatorial eksene oranı
rpm	:Dakikadaki dönüş sayısı
T_m	:Bağlanma sıcaklığı

Kısaltmalar

AFLP	:Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
BLAST	:Basic Local Alignment Search Tool
CTAB	:Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
DDBJ	:Japon DNA Veri Bankası
EMBL	:Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı
ETS	:External Transcribed Spacers
FAO	:Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
GPS	:Küresel Konumlama Sistemi
ILDIS	:Uluslararası Baklagil Veritabanı ve Bilgi Servisi
INSDC	:International Nucleotide Sequence Database Consortium
ISTO	:İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Herbaryumu
ITS	:Internal Transcribed Spacers
IUCN	:Dünya Doğa ve Doğal Kaynakları Koruma Birliği
NCBI	:Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
PCR	:Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDA	:Patates Dekstroz Agar
RAPD	:Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
rDNA	:Ribozomal DNA
SSR	:Basit Sekans Tekrarları
UPGMA	:Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Dünya geneli <i>P. elatius</i> türünün yayılış gösterdiği alanlar.....	7
Şekil 2.2. Türkiye’de <i>P. elatius</i> türünün ülkemizde yayılış gösterdiği bölgeler.....	8
Şekil 2.3. Tekrarlanabilen rRNA birimleri ve ITS bölgeleri	11
Şekil 2.4. ITS bölgelerinin rDNA üzerindeki bağlanma bölgeleri	11
Şekil 3.1. Göynük vadisi florasında bulunan <i>Pisum elatius</i> M. Bieb. türü; a) bitkinin genel görünümü; b) çiçek yapısı; c) yaprak ve yaprakçık yapısı; d) bakla yapısı.....	12
Şekil 3.2. <i>Pisum elatius</i> ’un yayılış gösterdiği alanlardan Göynük Kanyonu Bölgesi	13
Şekil 3.3. Göynük Kanyonu florasından toplanan hastalıklı bitki parçaları; a) hastalıklı yaprak ve yaprakçık; b) hastalıklı bakla	14
Şekil 3.4. Fungal kolonilerin gelişimi.....	15
Şekil 3.5. Fungus kazandıktan sonra PDA ortamı.....	15
Şekil 4.1. Toplanan hastalıklı bitki parçaları örneği.....	18
Şekil 4.2. Fungal DNA’ya ait rDNA ITS bölgesinin sekansı.....	19
Şekil 4.3. BLAST analiz sonuçları	19

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Makasheva (1979) tarafından yapılan morfolojik temelli bezelye sınıflandırması	4
Çizelge 2.2. Maxted ve Ambrose (2000) tarafından yapılan bezelye sınıflandırması.....	4
Çizelge 2.3. Smykal vd. (2015) tarafından yapılan bezelye sınıflandırması	5
Çizelge 2.4. Warkentin vd. (2015) tarafından yapılan son bezelye sınıflandırması	
Çizelge 2.5. Bezelye türleri için önerilen gen havuzları.....	6
Çizelge 2.6. <i>P. elatius</i> türünün sistematikteki yeri	8
Çizelge 2.7. Baklagillerde ascochyta yanıklığına karşı dayanıklılığın kalıtımı.....	9
Çizelge 2.8. <i>Ascochyta pisi</i> Liberty'nin sistematikteki yeri	9
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan primerler, baz dizilişleri ve bağlanma sıcaklıkları	16

1. GİRİŞ

Dünya genelinde baklagiller tanelerinde barındırdıkları insan için gerekli olan yüksek karbonhidrat ve protein sebebiyle (Wang vd. 2003) gıda kaynağı ve diyet programlarında kullanılmaktadır (McPhee ve Muehlbauer 2002).

Fabaceae (Leguminosae) familyası tohumlu bitkilerin içerisinde en büyük üçüncü familyadır ve içerisinde yaklaşık 800 cins ve 20.000 tür bulunmaktadır (Lewis vd. 2005, Symkal vd. 2015). Dünya çapında dağılıma sahip, çok çeşitli yaşam formları olan ve dağılımları ılıman veya tropikal alanları kapsayan son derece farklı bir ailedir. Türkiye’de ise 71 cins ve bu cinsle ait 1013 tür ile tür sayısı bakımından en büyük ikinci familyadır (Erik ve Tarıkahya 2004).

Fabaceae familyası üyeleri, aileye orijinal adını veren bir baklagil olarak adlandırılan farklı meyve yapıları ile karakterize edilir. Çiçek yapısı oldukça değişkendir; bununla birlikte kelebek benzeri (papilionoid) çiçek Faboideae (Papilionoideae) alt ailesinde (~14,000 tür) evrenseldir (Symkal vd. 2015). Baklagillerin azot bağlayıcı bakterilerle simbiyozu yalnızca tarımda fayda sağlamakla kalmaz aynı zamanda doğal ekosistemlerde de önemli bir rol oynar.

Baklagillerin dünya ticaretindeki önemi büyüktür. Bu familyada bulunan bezelye (*Pisum sativum* L.) ise dünyanın en eski kültüre alınan bitkilerinden birisidir. En yaygın olarak yetiştirilen üçüncü baklagildir. Tohumları insanlar ve çiftlik hayvanları için zengin protein kaynağına sahiptir. Dünya 2016 yılı verilerine göre kuru dane için toplam bezelye ekim alanı 7 625 705 ha, toplam üretim miktarı 14 363 099 ton ve verim 18 835 kg/ha’dır (FAOSTAT 2016). Türkiye’de ise bu değer 1 088 ha ekim alanı, 2 919 ton üretim miktarı ve 26 829 kg/ha’dır (FAOSTAT 2016).

Baklagiller içerisinde önemli bir yere sahip olan bezelye yaklaşık 10 000 yıl önce kültüre alınmıştır (Ambrose 1995; Zohary ve Hopf 2000) ve dünya çapında ılıman bölgelerde yetiştirilmektedir. Seleksiyon ve ıslah çalışması binlerce bezelye çeşidiyle sonuçlanmıştır (Smykal vd. 2008b). Bezelye (*Pisum Sativum* L.) en eski genetik çalışmalarda kullanılmıştır. Bunlardan en ünlüleri Mendel (1866) ve daha öncesinde Knight (1799) tarafından yapılan çalışmalardır. Ancak genomunun büyüklüğü (4000 mb) ve tekrarlayan sekansların yüksek oluşu nedeniyle (Macas vd. 2007) günümüz moleküler genetik çalışmalarının çoğu bezelye üzerinde yürütülmemiştir.

Günümüzde hala *Pisum* taksonomisi ile ilgili ortak fikir oluşturulamamış ve tartışmalar devam etmektedir. Günümüze kadar yapılan morfolojik ve moleküler teknikler sonucunda araştırmacılar farklı görüşler ortaya atmışlardır. Örneğin; Govorov (1937)’a göre bezelye (*Pisum* L.) 5 tür, Davis (1970)’e göre *P. sativum* ve *P. fulvum* olarak sadece iki tür, Marx (1977)’a göre ise tek tür içerir ve monotipiktir. Smykal vd. (2015)’nin yapmış olduğu sınıflandırmaya göre: *Pisum sativum* L., (subsp. *sativum* var. *sativum*) *P. sativum* subsp. *elatius* (Bieb.) Aschers. & Graben., *P. sativum* subsp. *abyssinicum* A. Br.), *Pisum fulvum* Sibth. & Sm. Warkentin vd. (2015) tarafından yapılan son bezelye sınıflandırması: *Pisum sativum* subsp. *sativum* var. *sativum*, subsp. *sativum* var. *arvense* ve subsp. *abyssinicum* tarımı yapılanlar. *Pisum sativum* subsp. *elatius* var.

elatus, subsp. *elatus* var. *brevipedunculatum*, subsp. *elatus* var. *pumilio* ve *Pisum fulvum* Sibth. & Sm. yabancı türlerdir.

Bezelye bitkilerinin gelişim ve büyümesini engelleyen canlı ve cansız stres etmenleri bulunmaktadır. Etkilenilen alan bakımından en önemli canlı stres etmeni yanıklık hastalığıdır. Bu hastalığın % 50'ye varan kayıplara neden olduğu bilinmektedir. Nemin yüksek olduğu bölgelerde hastalık bitkinin alt yapraklarında görülmekte ve hastalık için uygun sıcaklık ve nemin devam ettiği şartlarda gövdeye de sıçrayarak ciddi verim kayıplarına neden olduğu belirtilmiştir (Khan vd. 2013).

Yanıklık hastalığına sebep olan patojenik etmenler; *Ascochyta pinodes*, *A. pisi*, *Phoma pinodella*, *P. koolunga*, *P. herbarum*, *P. glomerata* ve *Boerema exigua* var. *exigua*'yı içeren karmaşık yapıya sahip mantarlardır. Ancak bunlardan en önemli 4 patojen *Peyronellaea pinodes* (Berk. & A. Bloxam.) Petrak, *Phoma medicaginis* var. *pinodella* (L. K. Jones) Morgan-Jonse & K. B. Burch, *Ascochyta pisi* Lib. Ve *Phoma koolunga*'dır (Davidson vd. 2009). En fazla zarara uğratan patojen ise *Peyronellaea pinodes* olarak bilinmektedir (Bretag vd. 2006).

Bu çalışmanın amacı, Türkiye'de de yayılış gösteren *Pisum sativum* subsp. *elatus* (M. Bieb.) Asch. & Graebn. türünde görülen yanıklık hastalığı türünün morfolojik olarak ve moleküler tekniklerle teşhis edilmesidir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Bezelye (*Pisum*) İle İlgili Genel Bilgiler

Bezelye (*Pisum sativum* L.) Fabaceae familyasında bulunur ve önemli bir ekolojik avantaja sahiptir. Çünkü atmosferdeki azotu bağlayabilme özelliği ile düşük girdili çiftçilik sistemlerinin geliştirilmesine katkıda bulunur. Baklagiller 650'den fazla cins ve 18.000 türden oluşan en büyük üçüncü çiçekli bitkiler ailesini oluşturmaktadır (Bastianelli vd. 1998). Baklagiller ekonomik olarak dünyada % 27'lik bir üretim payıyla Buğdaygiller (Poaceae) familyasından sonra en önemli ikinci familyadır (Graham ve Vance 2003). Dünya çapında baklagiller, insanlığın doğrudan protein alımının yaklaşık üçte birine katkıda bulunurken, aynı zamanda hayvanlar ve yenilebilir ve endüstriyel yağlar için önemli bir yem ve yem kaynağı olarak hizmet etmektedir.

Bezelye taneleri % 23-25 protein, % 50 yavaş sindirilebilir nişasta, % 5 çözünebilir şeker, lif, vitamin ve mineraller içerir (Bastianelli vd. 1998). Bezelye proteini kükürt içeren amino asitler, sistin ve metiyonin bakımından düşüktür, ancak lizin ve diğer esansiyel amino asitler açısından zengindir (Ceyhan ve Avcı 2005). Taze baklaları sebze, daneleri veya hasat kalıntıları hayvan yemi olarak da kullanılır (Akçin 1988). Ancak bezelye genellikle daneleri taze iç ve kuru daneleri doğrudan yemek olarak kullanılan baklagildir.

Bezelye tüketim ve kullanım alanı bakımından dünyada önemli bir yere sahiptir. 2016 yılı istatistiklerine göre dünya toplam ekim alanı 7 625 705 ha, toplam üretim miktarı 14 363 099 ton ve verim 18 835 kg/ha'dır. Yine 2016 verilerine göre Türkiye'de ise bu değer 1 088 ha ekim alanı, 2 919 ton üretim miktarı ve 26 829 kg/ha'dır (FAOSTAT 2016). Dünya genelinde nohut, mercimek gibi baklagillerde önemli üretici pozisyonunda olan ülkemiz, orjin merkezi olmasına rağmen bezelyede geniş ekim alanlarına sahip değildir.

Bezelyede ülkemizde kuru dane tüketimine yönelik tescillenmiş bir çeşit yoktur. Bugüne kadar tescilli, üretim izinli veya yabancı kaynaklı olarak 11 adet taze tüketim amaçlı çeşit piyasada yer almıştır ve içlerinden sadece bir tanesi (Marmara cv.) ülkemizde tescil ettirilmiştir. Ancak üretimi günümüzde devam ettirilememiştir. Oysa dünya bitkilerinin % 2.5'ine ve topraklarının % 0.6'sına sahip, iki bitki gen merkezi üzerinde yer alan, üç bitki coğrafik alanı ile Türkiye, yabancı *Pisum* türlerinin hem orijin yeri hem de en önemli dağılım merkezidir (İnal ve Toker 2010).

Bezelye dünyada en eski kültüre alınan bitkilerdendir (Ambrose 1995; Zohary ve Hopf 2000). Menşei ve ilk kültüre alınma alanları başta Orta Doğu olmak üzere Akdeniz Bölgesi'ne kadar uzanır. Kültüre alınmadan önce bezelye, fiğ ve nohut ile birlikte Orta Doğu ve Avrupa'da Buz Çağı'nın sonlarında avcı-toplayıcıların günlük gıda ihtiyaçlarının bir parçasıdır. Tahıl ve baklagiller kalıcı yerleşimlerin kurulmasını kolaylaştıran tarım devriminin başlangıcında temel ürünlerdir. Daha sonra yüzyıllar boyunca yapılan seleksiyon ve ıslah çalışmaları sonucu binlerce bezelye çeşidi geliştirilmiş ve bunlar dünya çapında çok sayıda germplasm koleksiyonunda muhafaza edilmiştir (Smykal vd. 2011). Bezelyenin yabancı türleri İran ve Türkmenistan'dan

Asya'ya, Kuzey Afrika ve Güney Avrupa'ya kadar uzanmaktadır (Makasheva 1979; Maxted vd. 2010).

Bezelye cinsinin (*Pisum* L.) morfolojik olarak sınıflandırılmasında günümüze kadar çeşitli görüşler ortaya atılmıştır. Bu görüşler: Bezelye cinsi 5 tür içerir (Govorov 1937), *P. sativum* ve *P. fulvum* olmak üzere iki tür içerir (Davis 1970) ve tek tür (monotipiktir) içerir (Marx 1977). Ben-Zeeve ve Zohary (1973) bezelye cinsinin *P. sativum* ve *P. fulvum* olarak iki tür içerdiğini ve diğer tür ve alt türlerin *P. sativum* türünün varyeteleri olduğunu bildirmişlerdir. Buna benzer bir sınıflandırma Makasheva (1979) tarafından yapılmış ve *P. sativum* kompleks bir tür ve *P. elatius*, *syriacum*, *asiaticum*, *abyssinicum* ve *transcaucasicum* birer alt tür olarak nitelendirilmiştir (Makasheva 1979) (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Makasheva (1979) tarafından yapılan morfolojik temelli bezelye sınıflandırması

Türler	Alt türler
<i>Pisum sativum</i> L.	subsp. <i>sativum</i> subsp. <i>elatius</i> subsp. <i>syriacum</i> subsp. <i>asiaticum</i> subsp. <i>abyssinicum</i> subsp. <i>transcaucasicum</i>
<i>Pisum fulvum</i> Sibth. & Sm.	

Maxted ve Ambrose (2000) ise *Pisum* içerisinde üç tür (*P. sativum*, *P. abyssinicum* ve *P. fulvum*) olduğunu bildirmişlerdir (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. Maxted ve Ambrose (2000) tarafından yapılan bezelye sınıflandırması

Türler	Alt türler
<i>Pisum sativum</i> L.	subsp. <i>sativum</i> var. <i>sativum</i> (Yemeklik ya da bahçe tipi bezelye) subsp. <i>sativum</i> var. <i>arvense</i> (Yemlik ya da tarla tipi bezelye) subsp. <i>elatius</i> var. <i>elatius</i> (Bieb.) Aschers. & Graben subsp. <i>elatius</i> var. <i>brevipedunculatum</i> subsp. <i>elatius</i> var. <i>pumilio</i> (syn: <i>syriacum</i> ya da <i>humile</i>)
<i>Pisum fulvum</i> Sibth. & Sm.	
<i>Pisum abyssinicum</i> A. Br.	

Daha önce morfolojik özelliklerine göre, bezelye olarak teşhis edilen *Pisum maritimum* ile *P. formosum* daha sonra *Lathyrus japonicus* ve *Vavilovia formosa* olarak adlandırılmıştır (Smykal vd. 2009). Günümüzde hala *Pisum* taksonomisi konusunda net bir fikir birliği sağlanabilmiş değildir. Tür, alt tür ve varyete grubu sayıları çalışmadan çalışmaya ve sınıflandırmadan sınıflandırmaya farklılık göstermiştir (Smartt 1990;

Muehlbauer 1993; Hoey vd. 1996; Vershinin vd. 2003; Mikic vd. 2009; Smykal vd. 2009; Oskoueian vd. 2010; Smykal vd. 2015). Örneğin; *P. abyssinicum* (A. Braun) Govorov türü ILDIS (International Legume Database & Information Service) tarafından ayrı bir tür olarak adlandırılmıştır (ILDIS 2010). Vershinin vd. (2003) yaptıkları moleküler çalışmalarla bu yaklaşımı desteklemişlerdir. Diğer taraftan, USDA (United State Department of Agriculture) genetik kaynaklar veri bankası bu türü bezelyenin bir alt türü olarak göstermiştir (USDA 2010). Mikic vd. (2009) *Vavilovia formosa* türünün ayrı bir cins olmaktan ziyade bezelyenin bir türü olabileceğini işaret etmişlerdir. Bu görüş moleküler çalışmalarla (sekans çalışmaları ile) desteklenmiş ve *Vavilovia formosa* (Stev.) Fed. türünün tekrar bezelyeler sınıfında yer alması ve *Pisum formosum* (Stev) Fed. olarak anılması gerektiği bildirilmiştir (Oskoueian vd. 2010).

Pisum L. cinsi Fabeae (Viciae) Alefeld oymağının beş cinsinden (*Lathyrus* L., *Pisum* L., *Vavilovia* Federov, *Lens* Miller ve *Vicia* L.) biridir (Smartt 1990). Bezelye cinsinin çiçek morfolojisi ve ITS ile kloroplast gen dizilerine göre mürdümük (*Lathyrus* L.) ve fiğ (*Vicia* L.) cinsleri arasında taksonomik bir konuma sahip olduğu belirtilmiştir (Kenicer vd. 2005; Endo vd. 2008). Kosterin ve Bogdanova (2008) bezelyeleri kültürü yapılanlar ve yabancılar olarak iki gruba ayırdıktan sonra, kültürü yapılanları *P. sativum* ssp. *sativum*, *P. sativum* ssp. *transcaucasicum* ve *P. abyssinicum* olarak tür ve alt türlere ayırmıştır. Yabancıları da *P. sativum* subsp. *elatius* ve *P. fulvum* olarak ikiye ayırmıştır. Symkal vd. (2015) tarafından yapılan sınıflandırma ise Çizelge 2.3'te verilmiştir.

Çizelge 2.3. Smykal vd. (2015) tarafından yapılan bezelye sınıflandırması

Türler	Alt türler
<i>Pisum sativum</i> L.	subsp. <i>sativum</i> var. <i>sativum</i> (Yemeklik ya da bahçe tipi bezelye) subsp. <i>elatius</i> (M. Bieb.) Asch. & Graebn. subsp. <i>abyssinicum</i> A. Br.
<i>Pisum fulvum</i> Sibth. & Sm.	

Warkentin vd. (2015) tarafından yapılan son sınıflandırma ise Çizelge 2.4'te verilmiştir.

Çizelge 2.4. Warkentin vd. (2015) tarafından yapılan son bezelye sınıflandırması

Türler	Alt türler
<i>Pisum sativum</i> L.	subsp. <i>sativum</i> var. <i>sativum</i> (Yemeklik ya da bahçe tipi bezelye) subsp. <i>sativum</i> var. <i>arvense</i> (Yemlik ya da tarla tipi bezelye) subsp. <i>abyssinicum</i> (Dekoko ya da Etiyopya bezelyesi) subsp. <i>elatius</i> var. <i>elatius</i> subsp. <i>elatius</i> var. <i>brevipedunculatum</i> subsp. <i>elatius</i> var. <i>pumilio</i>
<i>Pisum fulvum</i> Sibth. & Sm.	

P. sativum L. ve alt türleri (*P. sativum* subsp. *sativum* ve subsp. *elatus* Asch. & Graebn.) Avrupa-Akdeniz bölgesi ve Orta ve Kuzeybatı Asya'ya özgü iken, *P. fulvum* Sibht -Sm Orta Doğu ve Türkiye ile sınırlıdır. *Pisum sativum* subsp. *abyssinicum* A. Braun Doğu Afrika'da (*P. sativum* subsp. *sativum* ile birlikte) kültüre alınmıştır. Bu takson Etiyopya ve Yemen'e özgüdür ve çok az genetik çeşitliliğe sahiptir. Ayrıca erken çiçeklenme özelliği ve kuraklığa uyumu ile farklı fenotipik ve genotipik özelliklere sahiptir (Smykal vd. 2011, 2013).

Pisum cinsi gövdeyi yarım şekilde saran büyük kulakçıkları ile *Lathyrus* ve *Vavilovia*'dan morfolojik olarak ayrılır. *Pisum* cinsi *Lathyrus* cinsindeki ile aynı fakat *Vicia* türlerinde bulunmayan flavanoid fitoalexin pisatini içerir (Bisby vd. 1994).

2.1.1. Yabani bezelye türlerinin ıslahta kullanımı

Harlan ve de Wet (1971)'in kültür bitkilerini sınıflandırmak için önerdiği birincil, ikincil ve üçüncül gen havuzu tanımlamaları bezelye bitkisi için kullanılmaktadır (Çizelge 2.5). Bu gen havuzu felsefesine göre, birincil gen havuzundaki türlerle kültür bezelyesi arasında kolaylıkla gen aktarımı yapılmaktadır. İkincil gen havuzundaki türler de germplazm kaynağı olarak kullanılabilir ancak genetik bariyerler ya da kromozom yapısındaki değişikliklerden dolayı kültür bezelyesiyle yapılan melezler çok başarılı olmamakta ve döller yüksek oranda steril bulunmaktadır. Ancak embriyo kurtarma yöntemleri ile melez elde edilebilmektedir. Üçüncül gen havuzundaki türleri melezleme programında kullanmak çok zordur. Yapılan melezlemeler sonucunda F₁ döllerini steril bulunmaktadır (Harlan ve de Wet 1971; Smykal vd. 2015).

Çizelge 2.5. Bezelye türleri için önerilen gen havuzları (Smykal vd. 2015)

Gen Havuzları	Türler
Birincil	<i>P. sativum</i> <i>P. abyssinicum</i> <i>P. elatus</i>
İkincil	<i>P. fulvum</i>
Üçüncül	<i>Vavilovia formosa</i>

Genetik veritabanı oluşturma ve geliştirmeye yönelik kapsamlı girişimlere rağmen bugüne kadar bezelye ıslah programlarında egzotik kaynakların veya yabani genotiplerin kullanımı sınırlı olmuştur. Yabani türlerin kültür formlarına karşı biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı daha üstün olduğu bilinmektedir (Sorrells ve Wilson 1997). Örneğin, bezelyede yabani hatlar kültür formlarında bulunmayan ascochyta yanıklık hastalığında dayanım kaynağı olarak değerlendirilmektedir (Priliouk vd. 1999). Sorrells ve Wilson (1997) dayanıklılık aktarılması sonucu ortaya çıkan negatif etkileri minimuma indirmek ve allelik varyasyonu kullanmak için birtakım geri melezleme veya markör destekli seleksiyon yapılmasını önermişlerdir.

Bezelye bitkisinin büyüme ve gelişmesini kısıtlayacak birçok hastalık ve zararlı olduğu bilinmektedir (Kraft ve Pflieger 2001). En fazla zarara uğratan etmenler fungal ve viral patojenlerdir. *Fusarium solgunluğu*, *ascochyta yanıklığı*, külleme, pas ve bezelye

mozaik virüsü (PSbMV) bunlardan bazılarıdır. Bezelyede günümüze dek külleme (*Erysiphe pisi*) hastalığına dayanıklılık sağlayan üç adet dayanıklılık geni (*Er1*, *Er2* ve *Er3*) rapor edilmiştir (Tiwari ve Penner 1997; Fondevilla vd. 2007) ve *Er1* geni ıslah çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu gen tarafından sağlanan dayanımın stabil olduğu ve patojen penetrasyonuna bir bariyer oluşturduğu kanıtlanmıştır (Fondevilla vd. 2006). Yabani bir tür olan *Pisum fulvum*'da küllemeye dayanıklılık genlerinden *Er3* tespit edilmiş ve *Pisum sativum* türüne başarıyla aktarılmıştır (Fondevilla vd. 2007).

Tropikal ve subtropikal alanlarda *Uromyces viciae-fabae* kaynaklı, ılıman bölgelerde ise *U. pisi* kaynaklı bezelye pası görülmektedir (Kushwaha vd. 2006; Barilli vd. 2010). Yine *P. fulvum* ile yapılan melezlerde % 63 oranında fenotipik varyasyon olduğu belirlenmiştir.

Canavar otu bir diğer ismiyle orobanş ise verimi etkileyen diğer önemli unsurlardandır ve bazı bezelye türlerinde (*P. sativum* ssp. *sativum*, ssp. *abyssinicum*, ssp. *arvense* and ssp. *elatius* and *P. fulvum*.) bu parazite karşı dayanım olduğu belirlenmiştir ve bu dayanımın ticari bezelye çeşitlerine aktarımı konusunda çalışmalar yapılmaktadır (Rubiales vd. 2005; Fondevilla vd. 2010). Yine *P. fulvum*'da bezelye tohum böceğine (*Bruchus pisorum*) karşı dayanıklılık mekanizması olduğu belirlenmiştir.

Pisum cinsi, *P. fulvum* ve *P. sativum* türlerini gen havuzunda barındırır (Smartt 1990). Bu iki tür arasında melezleme olduğunun kesin bir kanıtı yoktur ancak *P. sativum* subsp. *abissinicum* alt türünün muhtemelen bu iki türün melezlenmesi sonucu ortaya çıktığına inanılır (Vershinin vd. 2003). Bu iki tür de aynı kromozom sayısına sahiptir fakat karyotiplerde farklılık gösterirler (Hoey vd. 1996).

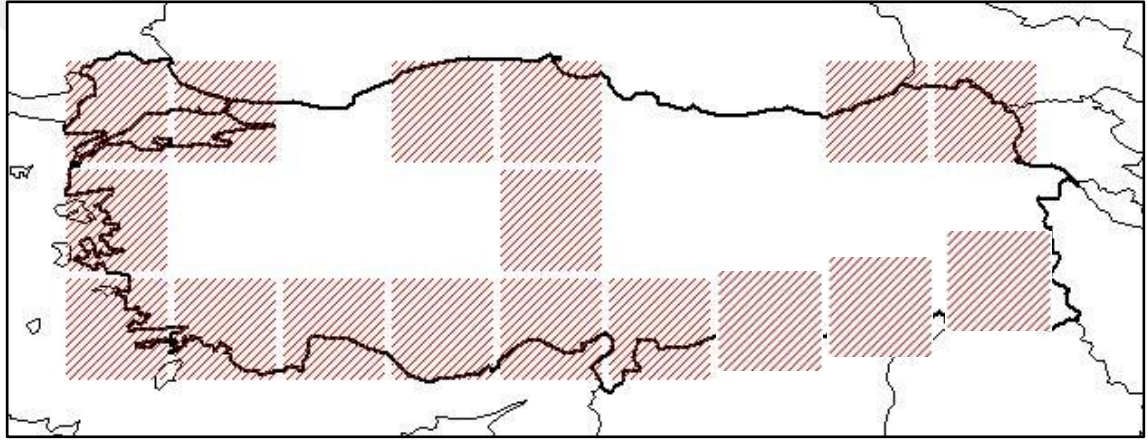
Bezelyeye (*P. sativum*) külleme, *Fusarium*, virüs ve tohum böceklerine dayanım *P. fulvum*'dan aktarılmaktadır (Provvidenti 1990; McPhee vd. 1999; Fondevilla vd. 2008; Byrne vd. 2008). *Lathyrus* cinsi ile çok sayıda melezlemeler yapılmasına karşın fertil bitki elde edilememiştir (Ochatt vd. 2004) ve bu nedenle *Pisum* cinsi sadece kendi içerisinde etkileşim göstermektedir.

2.2. *Pisum sativum* subsp. *elatius* (M. Bieb.) Asch. & Graebn.

Yabani bir bezelye (*Pisum* L.) türü olan *Pisum elatius* türü genel olarak Avrupa'da yayılış göstermekle birlikte Kırım, Kuzey Afrika, Kıbrıs, Batı Suriye ve Kafkasya bölgelerinde de bulunmaktadır (Şekil 2.1) (Smykal vd. 2015; TUBIVES 2017). Ülkemizde de daha çok Adana, İstanbul, Kastamonu, Amasya, Artvin, Aydın, Çanakkale, Hatay, İçel ve Muğla civarlarında yayılış gösterdiği bilinmektedir (Şekil 2.2).



Şekil 2.1. Dünya geneli *P. elatius* türünün yayılış gösterdiği alanlar



Şekil 2.2. Türkiye’de *P. elatius* türünün ülkemizde yayılış gösterdiği bölgeler (TUBIVES 2017)

Pisum elatius türü de dâhil olmak üzere *Pisum* cinsinde yer alan türlerin kromozom sayıları $2n=14$ ’dür (Fouzdar ve Tandon 1976). *Pisum elatius* türünün taksonomik sınıflandırması Çizelge 2.6’te verilmiştir.

Çizelge 2.6. *P. elatius* türünün sistematikteki yeri (ITIS 2018)

Alem:	<i>Plantae</i>
Alt alem:	<i>Tracheobionta</i>
Bölüm:	<i>Magnoliophyta</i>
Sınıf:	<i>Magnoliopsida</i>
Alt sınıf:	<i>Rosidae</i>
Takım:	Fabales
Aile:	Fabaceae ya da Leguminosae
Alt aile:	Faboideae (Papilionoideae)
Oymak:	Fabeae
Cins:	<i>Pisum</i>
Tür:	<i>Pisum elatius</i> M. Bieb.

2.3. *Ascochyta pisi* Lib. İle İlgili Genel Bilgiler ve Bezelye Üzerinde Etkisi

Baklagillerde dünya genelinde bitki gelişimini ve büyümesini etkileyen bazı canlı stres etmenleri bulunmaktadır. Bunlardan en önemlilerinden biri ascochyta yanıklığıdır. Farklı baklagillerde farklı patojen etmenleriyle ortaya çıkmaktadırlar. Örneğin; nohutta *Ascochyta rabiei* (eşeyli formu *Didymella rabiei*), baklada *A. Fabae* (eşeyli formu *D. Fabae*), mercimekte *A. Lentis* (eşeyli formu *D. Lentis*) ve bezelyede *A. Pisi*, *Phoma medicaginis* var. *pinodella* (*A. Pinodella*) ve *Mycosphaerella pinodes* (Tivoli vd. 2016).

Çeşitli baklagil bitkilerinde günümüze kadar ascochyta yanıklığına karşı incelenen dayanıklılıklar genellikle poligenik ve birçok QTL tarafından kontrol edilmektedir. Ancak bazı baklagillerde ascochyta interaksyonu hem QTL hem de minor genlerin etkisi altındadır (Çizelge 2.7).

Bezelye 25'ten fazla fungus, bakteri, nematod ve virüslerin etkisi altındadır (Kraft ve Pflieger 2001). Etkilenilen yüz ölçümü bakımından en önemli hastalık ise ascochyta yanıklığıdır ve % 5-15 arasında verim kayıplarına neden olur. Akdeniz havzasında ve fungusit kullanılmayan alanlarda bu kaybın % 50'ye kadar ulaştığı görülmüştür (Anonymous 2008). Ascochyta yanıklığı dünya genelinde bezelye için ciddi bir hastalıktır (Bretag vd. 2006; Khan vd. 2013).

Bezelyede ilk semptomlar genellikle nemin yüksek olduğu yerlerde bitkinin alt kısmında, alt yapraklar üzerinde görülür. Semptomlar öncelikle morumsu kahverengi, küçük ve düzensiz lekeler olarak görünür. Nemli ortamın devam ettiği şartlarda lekeler genişleyip birleşerek yaprak alanını tamamıyla kaplar. Daha sonra patojen gövdeye doğru bulaşarak gövdenin zayıflamasına ve ciddi verim kayıplarına neden olur (Kaiser vd. 1998).

Çizelge 2.7. Baklagillerde ascochyta yanıklığına karşı dayanıklılığın kalıtımı

Patojen	Konukçu	Kalıtım şekli	
<i>A. pisi</i>	Bezelye	QTL'ler ile birlikte bir major gen	(Darby vd. 1985; Dirlewanger vd. 1994)
<i>M. pinodes</i>	Bezelye	Major genler	(Timmerman-Vaughan vd. 2002)
<i>A. lentis</i>	Mercimek	Major dominant gen Major resesif gen QTL'ler	(Ford vd. 1999) (Chowdhury vd. 2001) (Rubeena vd. 2006)
<i>A. rabiei</i>	Nohut	Major genler QTL'ler	(Chen vd. 2004) (Collard vd. 2003; Iruela vd. 2006)
<i>A. fabae</i>	Bakla	Major genler QTL'ler	(Kohpina vd. 2000; Kharrat vd. 2006) (Avila vd. 2004)

Bezelye yanıklık hastalığına dört patojen kompleksi sebep olur: *Peyronellaea pinodes* (Berk. & A. Bloxam.) Petrak, *Phoma medicaginis* var. *pinodella* (L. K. Jones) Morgan-Jonse & K. B. Burch, *Ascochyta pisi* Lib. Ve *Phoma koolunga* (Davidson vd. 2009). *Phoma*'nın diğer türlerinden olan *Phoma herbarum* ve *Phoma glomerata* türlerinin de bezelyede patojenik olabileceği ve ascochyta yanıklığı ile ilişkilendirildiği gösterilmiştir (Liv vd. 2011; Tran vd. 2014). Bu patojen kompleksi içerisinde *Peyronellaea pinodes*'in en önemlileri ve en fazla verim kayıplarına sebep olduğu yaygın olarak kabul edilir (Bretag vd. 2006; Tivoli ve Banniza 2007). *P. pinodes* ve *P. pinodella* semptomları morumsu kahverengi rengeyle, düzensiz şekilli lezyonları ve belirgin bir kenarlarının olmayışı ile birbirlerine benzerlik gösterir (Jones 1927). *A. Pisi* semptomları ise koyu kahverengi belirgin kenarıyla ortası açık kahverengi lezyonlardır.

Ascochyta pisi patojeni ilk kez 1830 yılında Libert tarafından tanımlanmıştır. *A. Pisi* Lib. Çizelge 2.8'da görüldüğü gibi *Ascochyta* cinsinin bir türüdür ve 20 cins ve 50'den fazla bitki türüne bulaşabilmektedir. Soya (*Glycine max*), mürdümük (*Lathyrus odoratus*), mercimek (*Lens culinaris*), yonca (*Medicago sativa*), fasulye (*Phaseolus vulgaris*), üçgül (*Trifolium* spp.), börülce (*Vigna unguiculata*) ve bakla (*Vicia faba*) bunlardan bazılarıdır (Fong vd. 2000). *Ascochyta pisi* ve *Phoma pinodella*'nın dünya çapında kozmopolit bir dağılımı olduğu düşünülmektedir; bununla birlikte *Mycosphaerella pinodes* çoğunlukla ılıman ve subtropikal bölgelerle sınırlıdır (Farr vd. 2010).

Çizelge 2.8. *Ascochyta pisi* Liberty'nin sistematikteki yeri (ITIS 2018)

Alem:	<i>Fungi</i>
Alt alem:	<i>Dikarya</i>
Bölüm:	<i>Ascomycota</i>
Alt Bölüm:	<i>Pezizomycotina</i>
Sınıf:	<i>Dothideomycetes</i>
Alt sınıf:	<i>Pleosporomycetidae</i>
Takım:	<i>Pleosporales</i>
Cins:	<i>Ascochyta</i>
Tür:	<i>Ascochyta pisi</i> Lib.

Patojenin (*Ascochyta* spp.) bezelye tohumuna bulaşması başlıca hayatta kalma mekanizmalarından biridir; ancak bazı türler için de gelişmekte olan bitki inokulum kaynağı olabilir (Tivoli ve Banniza 2007). Bulaşma tohumun çimlenme oranını düşürür ve bu tohumlardan elde edilen fidelerin bitki gelişiminin de zayıf olabileceği belirtilmiştir (Maude 1966; Moussart vd. 1998). Tohumun ciddi bir şekilde lekelenmesi *P. pinodes*'in tohumu daha derin nüfuzu ile ilişkili olabilir (Moussart vd. 1998). Kontrollü şartlar altında hastalığın *P. pinodes* için %100'e kadar (Xue 2000), *A. Pisi* için % 40'a kadar (Maude 1966) nüfuz edebileceği belirlenmiştir.

1961 yılına kadar Kanada'da bezelye tohumlarındaki dominant patojen *A. Pisi* olduğu bildirilmiştir (Wallen vd. 1967a). Kanada'da 1950 yıllarında hastalığın tohumu bulaşma oranı *A. Pisi* için % 85, *P. pinodes* için % 27.5 ve *Phoma pinodella* için % 10 olduğu rapor edilmiştir (Skolko vd. 1954). 1961 yılında ismi Century olan bir bezelye çeşidi tanıtılmış ve *A. Pisi*'ye karşı yüksek direnç göstermesi nedeniyle hızla yayıldığı görülmüştür. Aynı zamanda *P. pinodes*'in Kanada'da dominant bezelye yaprağı patojeni olduğu bildirilmiştir (Wallen vd. 1967a). 2000'li yılların başında ise batı Kanada'da hasat edilen danelerde *A. Pisi* kaynaklı patojenin yeniden artış gösterildiği tespit edilmiştir (Morrall vd. 2011).

Vladimirseva vd. (1989) bezelyelerde etkili 31 ırkın mevcut olduğunu ve bu ırkların etki alanlarının coğrafik olarak değişim gösterdiğini belirtmişlerdir. Daha önce bu alanda yapılan çalışmalardan da (Wallen 1957; Cousin vd. 1985) anlaşılacağı üzere farklı bölgelerde baskın olan fizyolojik ırklarla ilgili güncel bilgi ihtiyacı ve hastalığa karşı dayanıklı bezelye çeşitlerinin bölgesel bazda geliştirilmesi gerekliliği ortadadır.

2.4. ITS ile İlgili Genel Bilgiler

Funguslar ile ilgili pek çok araştırma ve bulgu olmasına karşın, bu organizmaların birçoğu henüz karakterize edilmemiştir. Filamentli fungusların taksonomisi yapılmaktadır fakat ekolojik türler konak hastalık semptomlarına göre ve konak ile bağlantılı olarak veya özel bir nişe uyumuna göre tanımlanmaktadır. Bu karmaşık süreci netleştirmek için rDNA (ribozomal DNA) genlerinin karşılaştırmalı dizi analizlerinin yapılmasının gerektiği ifade edilmiştir (Borneman ve Hartin 2000).

PCR (polimeraz zincir reaksiyonu), moleküler biyolojide sıklıkla kullanılan ve uygulama alanı fazla olan bir yöntemdir. PCR sayesinde kompleks DNA örneklerinden özel DNA dizilerinin çoğaltımı mümkündür. Bununla birlikte günümüze kadar tanımlaması fenotipik olarak yapılmış türlerin genotipik olarak da doğrulanması mümkün kılınmıştır (Edel 1998, Bridge ve Arora 1998).

Mikoloji alanında ilk PCR uygulamasını rDNA'nın sekans analizi ve amplifikasyonu ile White vd. (1990) yapmışlardır. Bu çalışma fungusların filogenetik ve taksonomik yakınlıklarını belirlemek için yapılmıştır. ITS (internal transcribed spacer) bölgelerinin hızlı bir şekilde evrimleşmesi nedeniyle bir türün, cinsin ve hatta popülasyonların incelenmesinde kullanılabileceği bildirilmiştir.

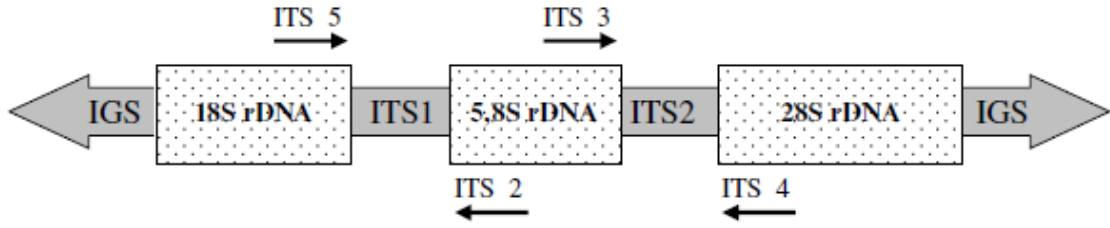
rDNA bölgeleri 3 birime ayrılmaktadır. Bunlar; küçük alt birim 18S rDNA, 5.8S rDNA ve büyük alt birim 28S rDNA olarak sıralanır. 18S rDNA yüksek derecede korunmuş DNA bölgelerinden biridir. Alem, şube ve sınıf düzeyindeki kategorilerde filogenetik çalışmaların yeniden yapılandırılması için sıklıkla kullanıldığı bilinmektedir. rDNA tekrar birimleri arasında en küçük uzunluğa sahip olan 5.8S rDNA bölgesidir. Bu bölgeye ait baz uzunluğu istenilen büyüklükte olmadığı (163-164 baz çifti) için filogenetik çalışmalarda tek başına kullanılmamaktadır. Bu nedenle ITS bölgeleriyle birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. 28S rDNA bölgesi, en uzun bölge olma durumu ve baz içeriği bakımından daha yüksek varyasyon gösterme kabiliyetine sahiptir (Baldwin 1992).

Genomik DNA üzerindeki rDNA bölgeleri, ardışık sıralanmış tekrarlı diziler şeklindedir ve çoklu gen yapılarından oluşur. rDNA tekrarları; genomik DNA'nın NOR (nükleolar organizatör bölge) bölgelerinde yerleşmiş durumdadır ve 18S küçük alt birim, 5.8S ve 28S büyük alt birim rDNA'ları kodlayan genlerden meydana gelmektedir. ITS bölgeleri, genomik DNA üzerindeki bu rDNA tekrarları içinde yerleşmiştir. Bu bölgeler, rDNA'nın alt birimleri ile transkribe edilmektedir ve korunmuş bölgeleri (18S, 5.8S ve 28S) birbirinden ayıran iki kısımdan (ITS1 ve ITS2) oluşmaktadır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Tekrarlanabilen rRNA birimleri ve ITS bölgeleri (Underhill ve Iliev 2014)

Bu ITS bölgeleri, rDNA gen bölgelerine bağlanabilen evrensel primerler kullanılarak PCR çalışmalarıyla kolayca elde edilebilmektedir. Bu amaçla kullanılan evrensel ITS primerlerinin (ITS2, ITS3, ITS4 ve ITS5) (White vd 1990) rDNA üzerindeki bağlanma bölgeleri Şekil 2.4'te gösterilmiştir.



Şekil 2.4. ITS bölgelerinin rDNA üzerindeki bağlanma bölgeleri (Uzuner, 2006)

5.8S gen bölgesi ökaryotik organizmalarda, genellikle ITS bölgeleri ile birlikte değerlendirilir (Baldwin 1992).

Birçok organizmanın tür teşhisinin yapılmasında DNA sekanslarının öncelikli bilgi kaynağı olarak kullanılmasının önemi artmaktadır ve bu sekanslar türlere ait genetik barkodlar olarak tanımlanmaktadır (Hebert vd. 2003, Savolainen vd. 2005). Bu şekilde yapılan tür teşhisinin morfolojik teşhise göre birçok üstün tarafları bulunmaktadır. Bunlar: 1.) incelenen özelliklerde görülen genetik varyabiliteden ve fenotipik esneklik kaynaklı sorunların yanlış tanımlamalara yol açması, 2.) morfolojik olarak tespit edilmesi kolay olmayan taksonların belirlenmesi, 3.) morfolojik teşhislerde kullanılan anahtarların incelenen özellik bakımından özel bir döneme ya da cinsiyete bağlı olması ve 4.) kullanılan anahtarların yorumlanmasında yüksek derecede tecrübeye gereksinim duyulmasıdır (Hebert vd. 2003, Schoch vd. 2012).

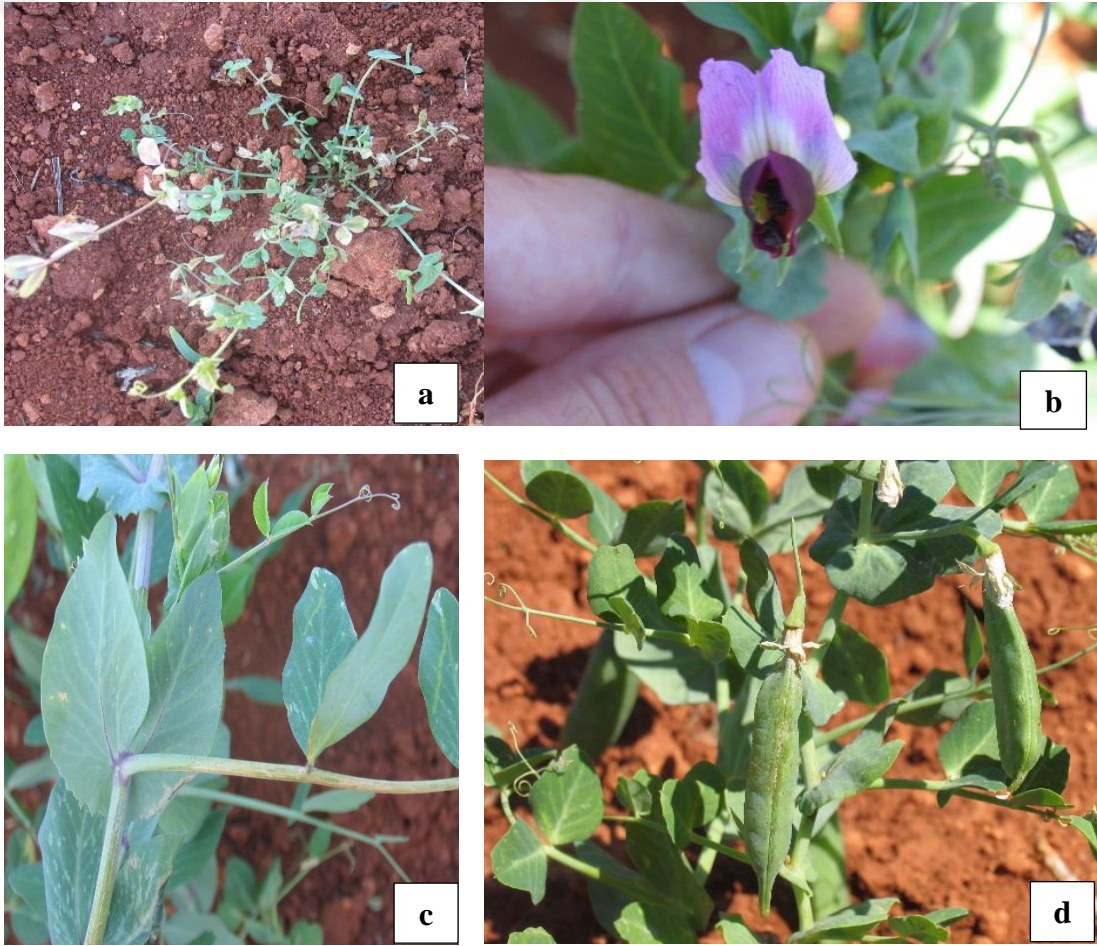
Sekanslanan DNA bölgeleri, Uluslararası Nükleotid Sekans Veritabanları (INSDC) olan GenBank, EMBL ve DDBJ'deki kayıtlı sekanslarla benzerlikleri ile karşılaştırılmaktadır (Nilsson vd. 2005, Nilsson vd. 2006). Ökaryotlar arasındaki en büyük ikinci alem olan mantarların sayısı tahmini olarak 1.5 milyondur (Hawksworth 2001). GenBank'ta mantarlara ait mevcut ITS bölgesi sekansı yaklaşık olarak 172.000'dir ve bu rakam da takriben fungus nüfusunun % 1'ini temsil etmektedir (Schoch vd. 2012). NCBI (Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi) tarafından geliştirilen BLAST yazılımı ile hedef gen bölgesine ait kısmi veya tüm sekans dizisi dünyanın değişik merkezlerinde çeşitli araştırmacılar tarafından GenBank veri tabanına girilen sekanslar ile karşılaştırılmaktadır (Nilsson vd. 2006, Kalaycıoğlu 2013, Benson vd.2013).

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada ülkemizde de yayılış gösteren bir bezelye türü olan *Pisum sativum* subsp. *elatius* (M. Bieb.) Asch. & Graebn. türünden alınan hastalıklı bitki parçaları toplanmış, canlı stres etmenlerinden biri olan yanıklık hastalığı (*Ascochyta pisi* Lib.) incelenmiş ve morfolojik olarak *A. Pisi* olduğu teşhis edilmiştir. Aynı zamanda moleküler tekniklerle teşhis edilerek morfolojik gözlemi de doğrulanmıştır. Daha önce bu alanda yapılan çalışmalara, *Pisum sativum* subsp. *elatius* (M. Bieb.) Asch. & Graebn. türü ile ilgili genel bilgilere ve hastalık etmeni olan *Ascochyta pisi* Lib. ile ilgili taksonomik ve detaylı bilgilere gerekli kaynaklar ve veri tabanları kullanılarak ulaşılmıştır.

3.1. Materyal

Çalışmanın genetik materyali, Antalya florasında yayılış gösteren *Pisum sativum* subsp. *elatius* (M. Bieb.) Asch. & Graebn.'dir (Şekil 3.1).



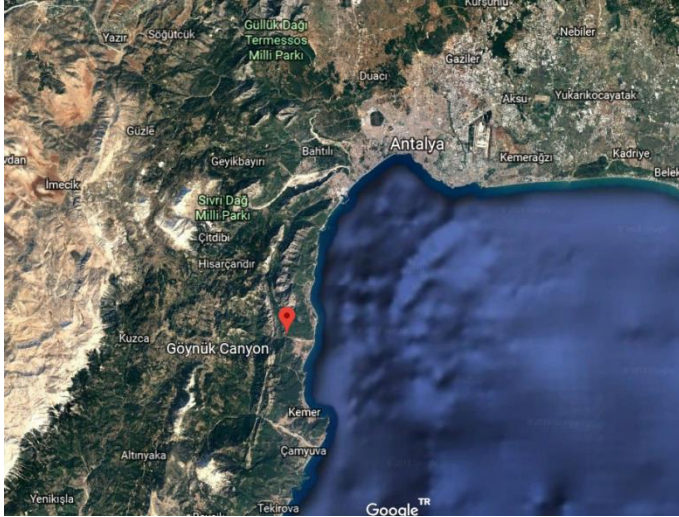
Şekil 3.1. Göynük vadisi florasında bulunan *Pisum sativum* subsp. *elatius* (M. Bieb.) Asch. & Graebn. türü; **a)** bitkinin genel görünümü; **b)** çiçek yapısı; **c)** yaprak ve yaprakçık yapısı; **d)** bakla yapısı

Kromozom Sayısı:	2n=14 (Fouzdar ve Tandon 1976)
Ömür:	Tek yıllık
Hayat Formu:	Terofit
Habitat:	Kayalık veya çimenlik yamaçlar, harabeler, tarla kenarları
Rakım:	0-1700 m
Endemizm Durumu:	Endemik değil
Türkiye dağılımı:	Trakya, Dış Anadolu
Genel Dağılımı:	G. Avrupa, Kırım, K. Afrika, Kıbrıs, B. Suriye, Kafkasya

3.2. Metod

3.2.1. Örneklerin toplanması

P. elatius türünün Antalya florasında yayılış gösterdiği alanlardan Göynük Kanyonu bölgesinde (Şekil 3.2) yanıklık semptomları olan hastalıklı bitki parçaları toplanmıştır.

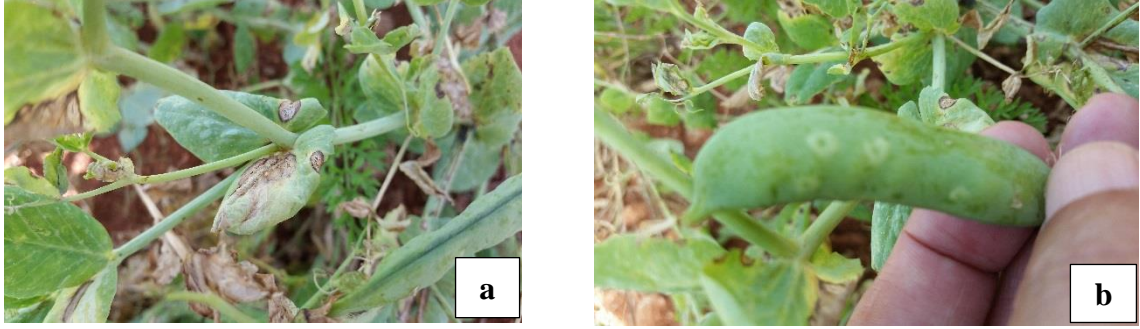


Şekil 3.2. *Pisum elatius*'un yayılış gösterdiği alanlardan Göynük Kanyonu Bölgesi

Örnek alma işlemi hava koşullarının uygun olduğu günlerde yapılmıştır. Toplanan örnekler ayrı ayrı sayılar verilmiş ve kaydedilmiştir. Örneklerin kuru olarak saklanmasında hassasiyet gösterilmiştir. Tespit edilen bölgeler kayıt altına alınmıştır.

3.2.2. Yanıklık hastalığının morfolojik olarak değerlendirilmesi

Toplanan hastalıklı bitki parçalarında (Şekil 3.3) gözlenen semptomların daha önceki literatürlerdeki morfolojik parametrelerle karşılaştırılması yapılmıştır. Bunun sonucunda bu semptomların *A. Pisi* kaynaklı olduğu düşünülmüştür.



Şekil 3.3. Göynük Kanyonu florasından toplanan hastalıklı bitki parçaları; **a)** hastalıklı yaprak ve yaprakçık; **b)** hastalıklı bakla

3.2.3. Fungusun izole edilmesi ve çoğaltılması

Toplanan hastalıklı bitki parçaları farklı ambalajlara koyulup gerekli gözlemler yapılabildiği kadar buzdolabında +4 °C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir.

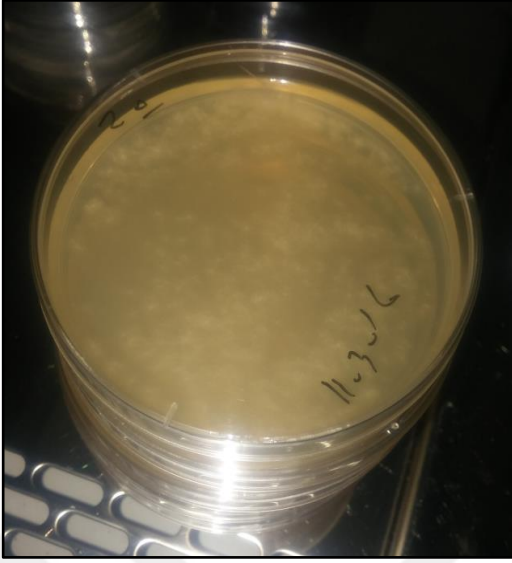
PDA ortamının hazırlanması:

500 ml distile su ile 20 gr PDA (patates dekstrozu agarı) birbirine karıştırılıp 120°C’de 1 saat otoklav uygulanmış ve bir müddet soğumaya bırakılmıştır. Sonrasında 1 mg amphisilin,ile 10 ml su karıştırılarak çözelti oluşturulmuş ve soğumaya bırakılan PDA’ya 2 ml aktarılmıştır. Hazırlanmış olan ortam petrilere aktarılıp 1 gün boyunca beklemeye bırakılmıştır.

Mantarın izole edilme aşamasında, öncelikle hastalıklı bitki materyallerinin yanıklık semptomları gösteren yaprakları üzerindeki lezyonlardan stereo mikroskop (Nikon SMZ 460) altında iğne ucuyla sporlar alınarak *Ascochyta pisi* mantarı içerip içermediğine bakılmıştır. Lezyonların bulunduğu bölgelerde *A. Pisi* mantarı içeren parçalar bistüri ile alınıp steril su damlatılan lamın üzerine koyulmuştur. Sonrasında lamın üzerine lamel kapatılıp sporların parçalanması için yavaşça ezilmiştir. Hazırlanan preparat binoküler mikroskop (Nikon E-100) altında incelenmeye alınmıştır. Bu mikroskopta görülen sporlar, steril su ile karıştırılıp ependorf tüplere konulmuştur.

Besiyerine (PDA) ekim ve inkübasyon:

Önceden hazırlanmış olan PDA ortamına sporların yayım işlemi gerçekleştirilmiştir. Ependorf tüpte bulunan sporlar 1:9 oranında saf su ile seyreltilmiştir (100 µl spor, 900 µl saf su). Sonrasında her bir besi ortamına 100 µl spor bırakılmış ve alevle sterilize edilmiş drigalski spatülü ile homojen şekilde yayılmıştır. Petriler mantar gelişimi için 1 hafta 25 °C sıcaklıkta iklim dolabında bekletilmiştir. 1 hafta sonunda koloniler gözlemlenmeye başlanmıştır (Şekil 3.4). *A. Pisi* olduğu düşünülen kolonilerden bir parça alınarak yeni bir PDA ortamına saf kültür elde etmek amacıyla aktarılmıştır. Küçük parçalar aktarılmadan önce mantarın ortamdaki kolay elde edilebilmesi için 1 saat 120 °C ‘de otoklavlanarak steril hale getirilen selefona kağıtları PDA ortamının üzerine koyulmuştur. Selefona kağıtların üzerine saf kültür aktarılmış ve petriler parafilm ile kaplanmıştır. PDA ortamları 25 °C’ye ayarlı inkübatörde 6-8 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.4. Fungal kolonilerin gelişimi

İnkübasyon sürecinden sonra gelişen fungus telefon kağıt üzerinden kazınarak (Şekil 3.5) DNA izolasyonuna hazır hale getirmek için ependorf tüplere aktarılmıştır. Bu örnekler DNA izolasyonuna kadar -20 °C’de saklanmıştır.



Şekil 3.5. Fungus kazandıktan sonra PDA ortamı

3.2.4. DNA izolasyonu

Patates dekstroz agarı ortamında çoğaltılan fungal materyalin CTAB (cetyl trimethyl ammonium bromide) metoduna göre DNA izolasyonu yapılmıştır (Doyle ve Doyle 1990).

Bu metoda göre; besi ortamından alınan küçük parça fungal materyal 1,5 ml'lik ependorf tüplerin içerisine koyulup, üzerine 500 µl CTAB tampon çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra fungal materyal tüp içerisinde kolaylıkla hareket ettirilebilen pistiller ile iyice ezilmiştir. Sonrasında DNA'ların sıvıyla karışmasını sağlamak amacıyla 65 °C'de 3 saat 250 rpm hızında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra örnekler 14000 rpm hızında 20 saniye santrifüj edilmiştir. Daha sonra örneklerden proteinin uzaklaştırılması için 500 µl kloroform-izoamil alkol (24:1) çözeltisi konularak 10 saniye kadar hafifçe ters düz edilerek çalkalanmış ve 15 dakika 14000 rpm hızında santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen örnekler, tüpün üst fazında DNA, alt tabakasında kloroform ve orta kısmında ise protein olacak şekilde üç faza ayrılmıştır. Tüpte bulunan yaklaşık 350 µl'lik süpernatant kısım 1,5 ml'lik temiz tüplere alınmıştır. Bu işlem süpernatant kısmın daha temiz çıkması için bir daha tekrarlanmış, bu sefer 350 µl kloroform-izoamil alkol eklenerek 15 dakika 14000 rpm hızında santrifüj edilmiştir. Bu işlem sonucunda 250 µl'lik süpernatant kısım 1,5 ml'lik temiz tüplere alınmıştır. Bu faz içerisindeki DNA'nın çökmesi için, 250 µl hacimde -20°C'de bulunan soğuk izopropanol konulup 10 saniye kadar çalkalanmıştır ve sonrasında -20 °C dondurucuda 1 gün bekletilmiştir. Sonrasında -20 °C'den alınan örneklerin DNA'larının çökmesi amacıyla 14000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Bu işlemin sonunda tüplerin dibinde pelet olduğu gözlenmiştir. Pelet yerinden oynatılmadan tüpün içerisindeki sıvı boşaltılmış ve pelet üzerine -20 °C'de bulunan % 70'lik etanolden 700 µl konularak 14000 rpm'de 10 dakika boyunca tekrar santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen tüplerin dibindeki pelete zarar vermeden sıvılar boşaltılmış ters çevrilerek 30-40 dakika boyunca ağzı açık vaziyette tüp içerisinde kalan etanolün uzaklaşması sağlanmıştır. Kurduğundan emin olduğumuz tüplerin içerisine 50 µl saf su konmuştur. DNA'ların sıvıya geçmesi için örnekler +4 °C'de bir gece bekletilmiş ve sonrasında bozulmamaları için -20 °C'de saklanmıştır.

DNA izolasyonu yapılan örneklerin DNA kalitelerine bakmak amacı ile %1'lik agaroz jel hazırlanarak örnekler jele yüklenmiştir. Elektroforez cihazında 65 voltta 15 dakika koşan örnekler UV transilluminatör cihazı ile görüntülenmiştir.

3.2.5. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Bu çalışmada daha önce benzer çalışmalarda kullanılan (White vd. 1990) 20-22 baz aralığında 2 adet ITS primerleri kullanılmıştır. Kullanılan primerlerin isimleri, baz dizilişleri ve bağlanma sıcaklıkları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan primerler, baz dizilişleri ve bağlanma sıcaklıkları

No	Primerin adı	Baz uzunluğu	Baz dizilimi (5'→3')	T _m (°C)
1	ITS4	20	TCCTCCGCTTATTGATATGC	58
2	ITS5	22	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG	63

Önceki çalışmalarda uygulanan PCR protokolleri (White vd. 1990, Bayraktar vd. 2007) bu çalışmada denenerek en iyi sonucu veren miktar ve oranlar ile program çalıştırılarak optimize edilmiştir.

ITS5 ve ITS4 primerleri kullanılarak reaksiyon hacmi toplam 15 µl olacak şekilde hazırlanmış, MyGenie-96 Gradient Thermal Cycler marka cihaz ile aşağıdaki bileşen ve koşullarda PCR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonu için gerekli kimyasallar ve miktarları aşağıda verilmiştir.

1 örneklik reaksiyon karışımı;
8,12 µl steril distile su,
1,5 µl 10 X Buffer,
1,5 µl MgCl₂,
1,5 µl dNTPs,
0,4'er µl F ve R primer,
0,08 µl Taq Polimeraz,
1,5 µl fungal DNA

PCR programı, ayrılma (denatürasyon), bağlanma (annealing) ve uzama veya sentez (extention) aşamalarından oluşmaktadır. Bu çalışmada uygulanan döngü sıcaklık ve süreleri aşağıda verilmiştir.

94 °C 5 dakika
94 °C 30 saniye
55 °C 30 saniye
72 °C 1 dakika
72 °C 10 dakika

} 30 döngü

Yukarıdaki belirtilen şekilde aşamalar tamamlanmış ve son olarak 72 °C'de 10 dakika bekletilerek PCR programı sona erdirilmiştir. PCR işlemi bittikten sonra % 2'lik agaroz jel hazırlanarak 8 µl PCR ürünü jele yüklenmiş ve 75 voltta 15 dakika koşturulup ürünün çalışıp çalışmadığı kontrol edilmiştir. Kalan PCR ürün dizi analizi için -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.6. Sekans analizi

Kalan PCR ürünleri sekans analizleri için kullanılmıştır. 25 µl PCR ürünü, 5'er µl forward (ITS5) ve reverse primer (ITS4) hazırlanarak sekans analizinin yapılması için Macrogen firmasına gönderilmiştir. Sekans analizleri iki yönlü olarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Pisum sativum subsp. *elatus* (M. Bieb.) Asch. & Graebn. türünde *A.pisi* olduğu düşünülen canlı stres faktörü belirlenmiştir. Morfolojik gözlemlere ek olarak hastalıklı bitki parçaları (Şekil 4.1) toplanarak moleküler teşhisleri de yapılmıştır.



Şekil 4.1. Toplanan hastalıklı bitki parçaları örneği

Hastalıklı bitki parçalarından elde edilen funguslar PDA (patates dekstroz agarı) ortamında çoğaltılmış ve moleküler karakterizasyon için ependorf tüplere koyulmuştur. Yapılan DNA izolasyonu sonucunda elde edilen fungal DNA ile ITS5 ve ITS4 primerleriyle PCR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. PCR ürününün sekanslama işlemi gerçekleştirilmiştir. Fungal DNA'ya ait rDNA ITS bölgesinin (ITS-1, 5.8S rDNA, ITS-2) 488 baz çifti uzunluğundaki sekansı Şekil 4.2'de verilmiştir.

GTGGGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGAGTACTTA
CGTTTCCTCGGTGGGCTCGCCCGCCGATTGGACAAATTTAAACCC
TTTGCAATGCAATCAGCGTCTGAAAAACATAATAGTTACAACCTT
TCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCG
AAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGA
ATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGC
CTGTTTCGAGCGTCATTTGTACCTTCAAGCTTTGCTTGGTGTGGG
TGTTTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAACAATTGGC
AGCCGGCGTATTGATTTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCA
CTCATAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTACTACTCTTGACCT
CGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATC

Şekil 4.2. Fungal DNA'ya ait rDNA ITS bölgesinin sekansı

Elde edilen sekans sonucu ile BLAST analizi yapılmış ve diğer türlerle yüksek derecede benzerlikler bulunduğuna görülmüştür (Şekil 4.3).

BLAST analizi sonucunda *Pisum sativum* subsp. *elatus* (M. Bieb.) Asch. & Graebn. türünde yanıklığa sebep olan mantarın ITS bölgesinin (ITS1-5.8S-ITS2) sekansının sonucu Uluslararası Biyoteknoloji Bilgi Servisi (NCBI) veri tabanındaki *Ascochyta pisi* (Accession no: EU167557.1) ile % 99 oranında örtüştüğü tespit edilmiştir.



Şekil 4.3. BLAST analiz sonuçları

Daha önce *Ascochyta* yanıklığı ile ilgili dünyanın farklı ülkelerinde, farklı bezelye türlerinde yapılan karakterizasyon çalışmaları mevcuttur. Ancak dünya genelinde *Pisum elatius* türündeki *A. Pisi* kaynaklı yanıklık ile ilgili yapılan çok az çalışma vardır ve hatta ülkemizde yabancı bezelyelerin hiçbirinde bu hastalık ile ilgili yapılan herhangi bir çalışma bulunmamıştır.

Chilvers vd. (2007) Gürcistan'ın üç farklı bölgesinde yayılış gösteren *Pisum sativum* subsp. *elatius* (M. Bieb.) Asch. & Graebn. bezelye türünde bitkilerin yapraklarında *Ascochyta* yanıklığı lezyonları ile karşılaşmışlardır. Bu lezyonların kültür formlarındaki *A. Pisi* semptomlarına morfolojik olarak çok benzediği belirtilmiştir. Fungus, hastalıklı bitki parçalarından izole edilerek floresan ışığı altında su agarında (% 3 konsantrasyon) 24 saat süreyle bekletilmiştir. Daha sonra bu üç fungus izolatları *A. Pisi* morfolojisine benzer koloniler oluşturmaya başlamıştır. DNA ekstraksiyonundan sonra iki yönlü sekanslama yapılmıştır ve BLAST analizi sonrasında en yakın eşleşme ATCC 201617 nolu (Accession No. DQ383963) *A. Pisi* ile olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu sonuçlar morfolojik gözlemleri doğrular niteliktedir ve bu çalışma Gürcistan'da *P. elatius* türünde görülen *A. Pisi* yanıklığı ile ilgili ilk çalışmadır.

Kaiser vd. (2008) İspanya'nın kuzeyinde yer alan Burgos şehrinin iki farklı bölgesinde 2005, 2006 yılları Mayıs ve Haziran aylarında bezelye (*Pisum sativum* L.)

yaprak ve gövdelerinde Ascochyta yanıklığı lezyonları gözlemlemiştir. Hastalık semptomları 2005 yılında bitkilerin ortalama % 47'sinde, 2006 yılında ise % 72'ye ulaşan oranlarda olduğu belirtilmiştir. Koyu kahverengi, dairesel ve nekrotik olan bu lezyonlardan fungal izolatlar elde edilmiş ve PDA (patates dekstroz agarı) ortamında 20-24 °C sıcaklık aralığında 7 gün bekletilmiştir. PDA ortamında gelişen fungal kolonilerin *A. Pisi*'ye benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Fungal izolatlardan elde edilen konidial süspansiyonlar (5×10^5 conidia/ml) fasulye (*Phaseolus vulgaris* L. 'Contender'), nohut (*Cicer arietinum* L. 'Blanco lechoso'), mercimek (*Lens culinaris* Medik. 'Pardinar'), bezelye ('Lincoln'), ve bakla (*Vicia faba* L. 'Alameda') bitkileri üzerine bulaştırılmıştır. İnokulasyondan 7 gün sonra Ascochyta yanıklığı sadece bezelye gövde ve yaprakları üzerinde görülmüştür. Daha sonra fungal izolatlardan DNA ekstraksiyonu yapılmış ve sekanslamanın ardından BLAST analizi yapılmıştır. Analiz sonucu Uluslararası Biyoteknoloji Bilgi Servisi (NCBI) veri tabanındaki sonuçlarla karşılaştırılmıştır ve ATCC 201617 numaralı izolat ile % 100 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar hem morfolojik hem de koloni gözlemi sonrası kullanılan bezelye örneklerinde *A. Pisi* Lib. Kaynaklı yanıklık hastalığı olduğu fikrini doğrulamaktadır.

Yine başka bir çalışmada Mathew vd. (2010) Temmuz 2018'de Dakota'nın güneyinde bezelyelerin (*Pisum sativum* L. 'Agassiz') yapraklarında ortası belirgin koyu kahverengi lekeler gözlemlemiştir. Semptom gösteren yapraklardan alınan küçük kısımlar sterilize edilip patates dekstroz agarında (PDA) 7 gün boyunca bekletilmiştir. Saf kültür elde edildikten sonra oluşan sporların *A. Pisi* Lib. ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Moleküler teknikler kullanılarak morfolojik gözlemin doğrulanması sağlamak amacıyla elde edilen saf kültürden DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. ITS I ve II bölgeleri ITS 4 ve ITS 5 primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır. Sekanslama işleminin ardından BLAST analizi yapılmış ve analizi yapılan fungusun *A. Pisi* var. *pisi* (GenBank Accession No. EU167557) ile örtüştüğü tespit edilmiştir. Bu çalışma, Güney Dakota bölgesinde bezelyede (*P. sativum* L.) *A. Pisi* kaynaklı yanıklık ile ilgili yapılan ilk çalışmadır.

Geçmişten günümüze bu konuyla ilgili yapılan çalışmaların incelenmesi sonucu farklı bezelye türlerinde farklı yanıklık patojenleri gözlemlenmiştir. Ancak, hastalık etmeni olan bu patojenlerin etki düzeyleri belirli yıllar aralığında ve bölgeler bazında değişim gösterdiği görülmektedir. Örneğin; Wallen vd. (1967a) 1950'li yıllarda Kanada'da bezelye tohumlarında görülen dominant patojenin *A. Pisi* olduğunu belirtmişlerdir. Yine Kanada'da aynı yıl aralıklarında, Skolko vd. (1954) hastalığın tohuma bulaşma oranlarının *A. Pisi* için % 85, *P. pinodes* için % 27.5 ve *Phoma pinodella* için % 10 olduğunu rapor etmişlerdir. 1961 yılında Century isimli ve *A. Pisi*'ye karşı dirençli olarak bilinen bir çeşidin tanıtılması sonucunda *A. Pisi* popülasyonunun azaldığı ve dominant patojenin bu kez *P. pinodes* olduğu belirtilmiştir.

Yanıklık hastalığı sonucu oluşan semptomların morfolojik olarak değerlendirilmesi ile bu semptomların hangi patojenden kaynaklandığı yüksek ihtimalle tespit edilebilmektedir. Ancak fungusların birçoğunun henüz karakterize edilmemiş olması ve özellikle filamentli fungusların taksonomisindeki karmaşadan dolayı hastalık etmenleri teşhisinde dizi analizlerinin yapılmasının gerekliliği ortadadır. Bu alanda ilk PCR uygulamasını rDNA'nın sekans analizi ve amplifikasyonu ile White vd. (1990) yapmışlardır. Bu çalışma fungusların filogenetik ve taksonomik yakınlıklarını belirlemek için yapılmıştır.

DNA sekanslarının birçok organizmanın tür teşhisinin yapılmasında öncelikli bilgi kaynağı olarak kullanılmasının önemi gün geçtikçe artmaktadır (Savolainen vd. 2005). Bu sekanslar türlere ait genetik barkodlar olarak kullanılmaktadır ve Uluslararası Nükleotid Sekans Veritabanları (INSDC) olan GenBank, EMBL ve DDBJ’de saklanmaktadır. Bu şekilde yapılan tür teşhislerinin morfolojik teşhise göre tespit edilmesi kolay olmayan taksonların belirlenmesi ve fenotipik esnekten kaynaklı yanlış tanımlarının önüne geçebilmek gibi birçok avantajlı yanları vardır.



5. SONUÇLAR

Bu çalışmada ülkemizde de yayılış gösteren *Pisum sativum* subsp. *elatius* (M. Bieb.) Asch. & Graebn. türünün canlı stres etmenlerinden olan yanıklık hastalığı incelenmiştir.

Yanıklık hastalığının türü hem morfolojik olarak hem de moleküler tekniklerle belirlenmiştir. Mantarın ribozomal DNA ITS bölgesi sekanslanmış ve GenBank veritabanındaki nükleotid dizileri ile karşılaştırılmıştır. BLAST analizi uygulanmış ve hastalığa sebep olan mantarın *A. pisi* Lib. olduğu tespit edilmiştir.

Günümüze kadar bezelyede ascochyta yanıklık hastalığı ve dayanıklılık kaynakları incelenmiş ve hastalığın fizyolojik ırklarının farklı bölgelerde farklı etkilerde bulunduğu gözlemlenmiştir. Bu sebeple, farklı coğrafik alanlarda ırklar hakkında güncel bilgi ihtiyacı ve dayanıklılık çalışmalarının bölgeye spesifik ırklarla yapılması gerekliliği ortadadır.

6. KAYNAKLAR

- Akçin, A., 1988. Yemeklik Dane Baklagiller. Selçuk Üniversitesi Yayınları: 43. Ziraat Fakültesi Yayınları: 8. 377 s., Konya.
- Ambrose, M.J. 1995. From Near East centre of origin the prized pea migrates throughout world. *Diversity* 11: 118–119.
- Anonymous 1: Ascochyta blights of field peas. Online. Ministry of Agric., Gov. Of Saskatchewan, Regina, SK, Canada. <https://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/diagnosticguide/2011/pea/>. [Son erişim tarihi: 26.05.2018].
- Baldwin, B.G. 1992. Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: an example from the Compositae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1(1): 3-16.
- Barilli, E., Satovic, Z., Rubiales, D., Torres, A.M. 2010. Mapping of quantitative trait loci controlling partial resistance against rust incited by *Uromyces pisi* (Pers.) Wint. in a *Pisum fulvum* L. intraspecific cross. *Euphytica*, 175, 151–159.
- Bastianelli, D., Grosjean, F., Peyronnet, C., Duparque, M., Regnier, J.M. 1998. Feeding value of pea (*Pisum sativum*, L.)—1 Chemical composition of different categories of pea. *Anim. Sci.*, 67, 609–619.
- Benson, D.A., Cavanaugh, M., Clark, K., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D.J., Ostell, J. and Sayers, E.W. 2013. GenBank. *Nucleic Acids Research*, 41: D36-D42.
- Ben-zeev, N. and Zohary, D. 1973. Species relationships in the genus *Pisum* L. *Israel Journal of Botany*, 22:73-91.
- Bisby, F. A., Buckingham, J. and Harborne, J. B. 1994. *Phytochemical dictionary of the Leguminosae. Vol. 1: Plants and their constituents.* Chapman and Hall, London.
- Borneman, J. and Hartin, R.J. 2000. PCR primers that amplify fungal rRNA genes from environmental samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 10: 4356-4360.
- Bretag, T. W., Keane, P. and Price, T. V. 2006. The epidemiology and control of Ascochyta blight in field peas: A review. *Aust. J. Agric. Res.*, 57:883-902.
- Bridge, P.D. and Arora, D.K. 1998. Interpretation of PCR methods for species definition. In: Bridge, P.D., Arora, D.K., Reddy, C.A. and Elander, R.P. (editors), *Applications of PCR in Mycology*, CAB International, pp. 63-84. UK.
- Byrne, O. and Hardie, D. 2004. Incorporation of pea weevil resistance into a cultivar field peas. Grains Research and Development Corporation Project Report No UWA314SR, CLIMA, University of Western Australia, Australia.
- Byrne, O.M., Hardie, D.C., Khan, T.N., Speijers, J. and Yan, G. 2008. Genetic analysis of pod and seed resistance to pea weevil in a *Pisum sativum* × *P. fulvum* interspecific cross. *Aust J. Agric Res* 59:854–862.
- Ceyhan, E. and Avci, M. A. 2005. Combining ability and heterosis for grain yield and some yield components in pea (*Pisum ativum* L.). *Pakistan Journal of Biological Science*. 8(10):1447-1452.

- Chilvers, M. I., Horton, T. L., Peever, T. L., Kaiser, W. J. and Muehlbauer, F. J. 2007. First Report of Ascochyta Blight of *Pisum elatius* (Wild Pea) in the Republic of Georgia Caused by *Ascochyta pisi*. APS Journals, 91:326 .
- Darby, P.; Lewis, B. G.; Matthews, P. 1985. "Inheritance and expression of resistance to *Ascochyta pisi*," in The Pea Crop, eds Hebblethwaite P. D., Heath M. C., Dawkins T. C. K., editors. (London: Butterworths;), 231–236.
- Davis, P.H. 1970. *Pisum* L. In: Davis PH (ed.) Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh University Press, Vol. 3. pp. 370-373. Edinburgh.
- Davidson, J. A., Hartley, D., Priest, M., Krysinska-Kaczmarek, H., McKay, A. And Scott, E. S. 2009. A new species of Phoma causes Ascochyta blight symptoms on field peas (*Pisum Sativum*) in South Australia. Mycologia, 101:120-128.
- Dirlewanger, E.; Isaac, P.; Ranade, S.; Belajouza, M.; Cousin, R.; Devienne, D. 1994. Restriction fragment length polymorphism analysis of loci associated with disease resistance genes and developmental traits in *Pisum sativum* L. Theor. Appl. Genet. 88, 17–2710.
- Edel, V. 1998. Polymerase chain reaction in mycology: an overview. In: Bridge, P.D., Arora, D.K., Reddy, C.A. and Elander, R.P. (editors), Applications of PCR in Mycology, CAB International, pp. 1-20. UK.
- Erik, S. ve Tarıkahya, B. 2004. Türkiye florası üzerine. Kebikeç, 17: 139-163.
- FAOSTAT 2016. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. [Son erişim tarihi: 26.05.2018].
- Farr, D. F., Rossman, A. Y., Palm, M. E. and McCray, E. B. 2010. Fungal Databases. Online. Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, USDA-ARS, Washinton, DC.
- Fondevilla, S., Carver, T.L.W., Moreno, M.T., Rubiales, D. 2006. Macroscopic and histological characterisation of genes er1 and er2 for powdery mildew resistance in pea. Eur. J. Plant Pathol., 115, 309–321.
- Fondevilla, S., Torres, A.M., Moreno, M.T., Rubiales, D. Identification of a new gene for resistance to powdery mildew in *Pisum fulvum*, a wild relative of pea. Breed Sci., 57, 181–184.
- Fondevilla, S., Rubiales, D., Moreno, M.T., Torres, A.M. 2008. Identification and validation of RAPD and SCAR markers linked to the gene Er3 conferring resistance to Erysiphe pisi DC in pea. Mol Breed 22:193–200.
- Fondevilla, S., Fernández-Aparicio. M., Satovic. Z., Emeran, A.A., Torres, A.M., Moreno, M.T., Rubiales, D. 2010. Identification of quantitative trait loci for specific mechanisms of resistance to *Orobanche crenata* Forsk. in pea (*Pisum sativum* L.). Mol. Breed., 25, 259–272.
- Fong, Y. K., Anuar, S., Lim, H. P., Tham, F. Y., and Sanderson, F. R. 2000. A modified filter paper technique for long-term preservation of some fungal cultures. Mycologist, 14:127-130.
- Fouzdar, A. and Tandon, S.L. 1976. Cytogenetical evolution in the genus *Pisum*. Cytologia, 41: 91-104.

- Govorov, L.I. 1937. *Pisum* (N.I. Vavilov, E.V. Wulff), Flora of Cultivated Plants. IV. Grain Leguminosae. State Agricultural Publishing Company, Pp. 231-336. Moscow, Leningrad.
- Graham, P.H., Vance, C.P. 2003. Legumes: Importance and constraints to greater use. *Plant Physiol*, 131, 872–877.
- Harlan, J., de Wet, J.M.J. 1971. Towards a rational classification of cultivated plants. *Taxon*, 20: 509-517.
- Hawksworth, D.L. 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycol. Res.*, 105(12): 1422-1432.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. and deWaard, J.R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 270: 313-321.
- Hoey, B.K., Crowe, K.R., Jones, V.M. and Polans, N.O. 1996. A phylogenetic analysis of *Pisum* based on morphological characters, allozyme and RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.*, 92: 92-100.
- ITIS, https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_valu [Son erişim tarihi: 26.05.2018].
- İnal, B., Toker, C. 2010. Ecogeography and Distribution of wild pisum species in Turkey, 5th International Food Legumes Research Conference (IFLRC V) & 7th European Conference on Grain Legumes (AEP VII), Book of Abstracts, Antalya.
- Jones L. K. 1927. Studies of the nature and control of blight, leaf and pod spot, and foot rot of peas by species of *Ascochyta*. N. Y. State Agric. Exp. Stn. Bull., 547 1–45.
- Kaiser, W., Muehlbauer, F. J., Hannan, R. M. and Mihov, M. 1998. First report of natural infection of *Pisum sativum* subs. *elatius* by *Mycosphaerella pinodes* in Bulgaria. *Plant Dis.*, 82:830.
- Kalaycıoğlu, A.T. 2013. Nükleotid dizilerinin aminoasit formatına dönüştürülmesi ve dünya veri tabanlarındaki verilerle karşılaştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(2): 359-363.
- Khan, T. N., Timmerman-Vaughan, G. M., Rubiales, D., Warkentin, T. D., Siddique, K. H. M., Erskine, W. and Barbetti, M. J. 2013. *Didymella pinodes* and its management in field pea: Challenges and opportunities. *Field Crops Res.*, 148:61-77.
- Kraft, J.M. and Pflieger, F.L. 2001. *Compendium of Pea Diseases and Pests*; APS Press, pp. 14–17. St. Paul, MN, USA.
- Kushwaha, C., Chand, R., Srivastava, C. 2006. Role of aeciospores in outbreaks of pea (*Pisum sativum*) rust (*Uromyces fabae*). *Eur. J. Plant Pathol.*, 115, 323–330.
- Lewis, G., Schrire, B., Mackinder, B. and Lock, M. 2005. *Legumes of the World*. Royal Botanic Gardens, 577 p. Kew, UK.
- Libert, M. A. 1829-1830. Mémoire concernant les plantes cryptogames qui peuvent être réunies sous le nom d' Ascoxytacei. *Mem. Soc. Sci. Agr. Lille 1829-1830* (1831):174-176.

- Macas, J., Neumann, P. and Navra'tilova', A. 2007. Repetitive DNA in the pea (*Pisum sativum* L. genome: comprehensive characterization using 454 sequencing and comparison to soybean and *Medicago truncatula*. BMC Genomics, 8: 427.
- Makasheva, R.K. 1979. Gorokh (Pea). In Kulturnaya Flora SSR; Korovina, O.N., Ed.; Kolos Publishing, pp. 1–324; [in Russian]. Leningrad, Russia.
- Maude, R. B. 1966. Pea seed infection by *Mycosphaerella pinodes* and *Ascochyta pisi* and its control by seed soaks in thiram and captan suspensions. Ann. Appl. Biol., 57 193–200.
- Maxted, N., Kell, S., Toledo, A., Dulloo, E., Heywood, V., Hodgkin, T., Hunter, D., Guarino, L., Jarvis, A., Ford-Lloyd, B. A. 2010. Global approach to crop wild relative conservation: Securing the gene pool for food and agriculture. Kew Bull., 65, 561–576.
- Maxted, N. and Ambrose, N. 2000. Peas (*Pisum* L.) Chapter 10. In: Maxted N and Bennett SJ (eds) Plant Genetic Resources of Legumes in the Mediterranean. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, pp. 181–190.
- McPhee, K.E., Tullu, A., Kraft, J.M., Muehlbauer, F.J. 1999. Resistance to Fusarium wilt race 2 in the *Pisum* core collection. J Am Soc Hort Sci, 124:28–31.
- McPhee, K. E. and Muehlbauer F. J. 2002. Improving the nutritional value of cool season food legumes, Journal of Crop Production, 5: 1-2, 191-211.
- Mikic, A. and Stoddard, F.L. 2009. Grain Legumes, 51: 34.
- Morrall, R. A. A., Carriere, B., Ernst, B., Schmeling, D. 2011. Seed-borne pathogens of pea in Saskatchewan in 2010. Can. Plant Dis. Surv., 91 136–139.
- Moussart, A., Tivoli, B., Lemarchand, E., Deneufbourg, F., Roi, S., Sicard, G. 1998. Role of seed infection by the *Ascochyta* blight pathogen of dried pea (*Mycosphaerella pinodes*) in seedling emergence, early disease development and transmission of the disease to aerial plant parts. Eur. J. Plant Pathol., 104 93–102.
- Muehlbauer, F.J. 1993. Use of wild species as a source of resistance in cool-season food legume crops. In: K.B. Singh and M.C. Saxena, editors, Breeding for stress tolerance in cool-season food legumes. John Wiley & Sons, Chichester, UK. p. 359–372.
- Nilsson, R.H., Kristiansson, E., Ryberg, M. and Larsson, K-H. 2005. Approaching the taxonomic affiliation of unidentified sequences in public databases – an example from the mycorrhizal fungi. BMC Informatics, 6: 178.
- Nilsson, R.H., Ryberg, M., Kristiansson, E., Abarenkov, K., Larsson, K.H. and Kõljalg, U. 2006. Taxonomic reliability of DNA sequences in public sequence databases: a fungal perspective. Plos One, 1(1): e59. doi: 10.1371/journal.pone.0000059
- Ochatt, S.J., Benabdelmouna, A., Marget, P., Aubert, G., Moussy, F., Pontecaille, C., Jacas, L. 2004. Overcoming hybridization barriers between pea and some of its wild relatives. Euphytica, 137:353–359
- Oskoueian, R., Osaloo, S.K., Maassoumi, A. A., Nejdattari, T. & Mozaffarian V. 2010. Phylogenetic status of *Vavilovia formosa* (*Fabaceae-Fabeae*) based on nrDNA ITS and cpDNA sequences. – Biochem. Syst. Ecol., 38: 313–319.

- Priliouk, L., Vavilov, N.I., Robertson, L., Francis, C., Khan, T., Gorf, D. et al. 1999. Genetic diversity in pea germplasm from Vavilov Institute and ICARDA collections for black spot resistance and agronomic merit. *Pisum Genet.*, 31: 53.
- Provvidenti, R. 1990. Inheritance of resistance to pea mosaic virus in *Pisum sativum*. *J Heredity*, 81:43–45.
- Rubiales, D., Moreno, M.T., Sillero, J.C. 2005. Search for resistance to crenate broomrape (*Orobanche crenata*) in pea germplasm. *Genet. Res. Crop Evol.*, 52, 853–861.
- Savolainen, V., Cowan, R.S., Vogler, A.P., Roderick, G.K. and Lane, R. 2005. Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 360: 1805-1811.
- Schoch, C.L., Seifert, K.A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J.L., Levesque, C.A., Chen, W. and Fungal Barcoding Consortium. 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(16): 6241-6246.
- Skolko, A. J., Groves, J. W., Wallen, V. R. 1954. Ascochyta diseases of peas in Canada – with special reference to seed transmission. *Can. J. Agric. Sci.*, 34 417–428.
- Smartt, J. 1990. *Grain Legumes: evolution and genetic resources*. Cambridge University Press, UK 392 p. Cambridge.
- Smýkal, P., Coyne, C.J., Ford, R., Redden, R., Flavell, A.J., Hy'bl, M., Warkentin, T., Burstin, J., Duc, G., Ambrose, M. and Ellis, T.H.N. 2008b. Effort towards a world pea (*Pisum sativum* L.) germplasm core collection: the case for common markers and data compatibility. *Pisum Genetics*, 40: 11–14.
- Smýkal, P., Kenicer, G. and Mikic', A. 2009a. Beautiful Vavilovia (*Vavilovia formosa*) and molecular taxonomy of tribe *Fabeae*. *Book of Abstracts IV Congress of the Serbian Genet Society*, p. 166.
- Smýkal, P., Kenicer, G., Flavell, A. J., Kosterin, O., Redden, R. J., Ford, R., Zong, X., Coyne, C. J., Maxted, N., Ambrose, M. J. and Ellis, T. H. N. 2011. Phylogeny, phylogeography and genetic diversity of the *Pisum* genus. *Plant Genetic Resour. Charact.Util.*, 9: 4–18.
- Smýkal, P., Coyne, C., Redden, R. and Maxted, N. 2013. Peas. In: *Genetic and Genomic Resources of Grain Legume Improvement*. Singh, M. and Upadhyaya, H., Eds. Elsevier, Netherlands.
- Smýkal, P., Coyne, C.J., Ambrose, M.J., Maxted, N., Schaefer, H., Blair, M.W., et al. 2015. Legume crops phylogeny and genetic diversity for science and breeding. *Critical Reviews in Plant Sciences* 34 (1-3): 43-104.
- Smýkal, P., Coyne, C.J., Ambrose, M.J., Maxted, N., Schaefer, H., Blair, M.W., Berger, J., Greene, S.L., Nelson, M.N., Besharat, N., Vymyslický, T., Toker, C., Saxena, R.K., Rorkiwal, M., Pandey, M.K., Hu, J., Li, Y.H., Wang, L.X., Guo, Y., Qiu, L.J., Redden, R.J. and Varshney, R.K. 2015. Legume crops phylogeny and genetic diversity for science and breeding. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34: 43-104.
- Sorrells, M.E. and Wilson, W.A. 1997. Direct classification and selection of superior alleles for crop improvement. *Crop Sci.*, 37: 691–697.

- Timmerman-Vaughan, G. M.; Frew, T. J.; Russell, A. C.; Khan, T.; Butler, R.; Gilpin, M.; Murray, S.; Falloon, K. 2002. QTL mapping of partial resistance to field epidemics of ascochyta blight of pea. *Crop Sci.* 42, 2100–2111.
- Tivoli, B. and Banniza, S. 2007. Comparison of the epidemiology of Ascochyta blights on grain legumes. *European Journal of Plant Pathology*, 119: 59-76.
- Tiwari, K.R., Penner, G.A., Warkentin, T.D. 1997. Inheritance of powdery mildew resistance in pea. *Can. J. Plant Sci.*, 77, 307–310.
- TUBIVES, 2017. http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=3116. [Son erişim tarihi: 26.05.2018].
- Underhill, D.M. and Iliev, D.I. 2014. The mycobiota: interactions between commensal fungi and the host immune system. *Nature Reviews Immunology*, 14: 405-416.
- Uzuner, U. 2006. Kuzey Anadolu Doğal Primula L. (Primulaceae) Taksonlarının nrDNA ITS Bölgeleri Bakımından Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 66 s. Trabzon.
- Vershinin, A.V., Allnutt, T.R., Knox, M.R., Ambrose, M.J., Ellis, T.H.N. 2003. Transposable elements reveal the impact of introgression, rather than transposition, in *Pisum* diversity, evolution, and domestication. *Molecular Biological Evolution.*, 20:2067–2075.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J. and White, T.J. (editors), *PCR Protocols: A Guide to Methods and Amplifications*, Academic Press, pp. 315-322. New York, USA.
- Wallen, V. R., Cuddy, T. F., Grainger, P. N. 1967a. Epidemiology and control of *Ascochyta pinodes* on field peas in Canada. *Can. J. Plant Pathol.*, 47 395–403.
- Wang, T.L., Domoney, C., Hedley, C.L., Casey, R., Grusak, M.A. 2003. Can we improve the nutritional quality of legume seeds? *Plant Physiology*, 131, 886-891.
- Xue, A. G. 2000. Effect of seed-borne *Mycosphaerella pinodes* and seed treatments on emergence, foot rot severity and yield of field pea. *Can. J. Plant Pathol.*, 22 248–253.
- Zohary, D. and Hopf, M. 2000. *Domestication of Plants in the Old World*. Oxford: Oxford University Press.

7. EKLER

Şekil 7.1. Yanıklık hastalığı semptomları görülen *P. sativum* baklaları



Şekil 7.2. *P. elatius*'un yayılış gösterdiği bölgelerden birisi



Şekil 7.3. Yanıklık hastalığı görülen orman sarmaşığı

ÖZGEÇMİŞ

ADEM ÇETİN

admccetin@hotmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2012-2018	Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2007-2012	Ziraat Fakültesi, Ziraat Mühendisliği, Antalya

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Ziraat Mühendisi	Rijk Zwaan Tarım
2013-Devam Ediyor	AR-GE Departmanı