

**GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YABANI VE KÜLTÜRE ALINAN
Cicer spp.'de
ASCOCHYTA YANIKLIK ETMENİ
Didymella rabiei
(ANAMORF: *Ascochyta rabiei*)'nin
GENETİK, EKOLOJİK VE PATOJENİK
AÇIDAN POPÜLASYON ANALİZLERİ**

**BİYOLOJİ BÖLÜMÜ
DOKTORA TEZİ**

**HİHAL ÖZKILINÇ
HAZİRAN 2010**

**Yabani ve Kültüre Alınan *Cicer* spp.’de
Ascochyta Yanıklık Etmeni
Didymella rabiei (Anamorf: *Ascochyta rabiei*)’nin
Genetik, Ekolojik ve Patojenik Açıdan Popülasyon
Analizleri**

**Gaziantep Üniversitesi
Biyoloji Bölümü
Doktora Tezi**

**Danışman
Doç. Dr. Canan CAN**

**Hilal ÖZKILINÇ
Haziran 2010**

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

Tezin Adı: Yabani ve kültüre alınan *Cicer* spp.'de *Ascochyta* yanıklık etmeni *Didymella rabiei* (anomorh:*Ascochyta rabiei*)'nin genetik, ekolojik ve patojenik açıdan popülasyon analizleri
Öğrencinin, Adı Soyadı: Hilal ÖZKILINÇ
Tez Savunma Tarihi: 07.06.2010

Prof. Dr. Ramazan KOÇ
FBE Müdürü

Bu tezin Doktora Tezi olarak gerekli şartları sağladığımı onaylarım.

Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN
Enstitü ABD Başkan

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Canan CAN
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Doktora Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri:

İmzası

Prof. Dr. Saadet D. SAYGIDEĞER

Doç. Dr. Canan CAN

Doç. Dr. Bahattin TANYOLAÇ

Yrd. Doç. Dr. Berna BAŞ

Yrd. Doç. Dr. Abuzer ÇELEKLİ

*Sevgili anneme, babama (Seval ve Mehmet
Özkılınç) ve kardeşlerim Zeynep ve Bilal'e...*

ÖZET

YABANI VE KÜLTÜRE ALINAN *Cicer spp.*'de ASCOCHYTA YANIKLIK ETMENİ *Didymella rabiei* (ANAMORF: *Ascochyta rabiei*)'nin GENETİK, EKOLOJİK VE PATOJENİK AÇIDAN POPÜLASYON ANALİZLERİ

ÖZKILINÇ, Hilal
Doktora Tezi, Biyoloji Bölümü
Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Canan CAN
Haziran 2010, 146 sayfa

Türkiye ve İsrail'den örneklenmiş yabancı ve kültür nohudu orijinli *Didymella rabiei* izolatlarının genetik yapısı, *in vitro*'da sıcaklık-koloni hifsel gelişim ilişkisi ve saldırganlık özellikleri araştırılmıştır. 128 *D. rabiei* izolatının genetik varyasyonunu incelemek üzere altı STMS lokusu çalışılmıştır. En yüksek genetik çeşitlilik, kültür nohudu orijinli Türkiye popülasyonunda bulunmuştur (H=0,69). Yabancı ve kültür nohudu orijinli *D. rabiei* izolatlarının *EFI-α* baz dizilim sonuçları, dört nükleotid polimorfizmiyle farklılık göstermiştir. Genetik açıdan birbirine uzak olduğu belirlenen yabancı ve kültür nohudu orijinli popülasyonların bazı izolatları arasındaki genetik yakınlık, Bayes algoritması ve PCoA ile gösterilmiştir. STMS markırlara dayalı olarak saptanan popülasyon genetik farklılaşma değerleri kullanılarak, popülasyonlar arası gen/genotip akışları hesaplanmıştır. Yabancı konukçu orijinli izolatlardan farklı olarak, kültür nohudu orijinli izolatların 25 °C'deki koloni çapları, 15 °C'dekinden daha büyük olmuştur. *In vitro*'da saptanan sonuçlar, sıcaklık-koloni gelişim fenotipinin kalıtım dereceleri ile uyumlu bulunmuştur. Türkiye kültür nohudu orijinli izolatlar hariç, testlenen tüm izolatlar, orijinal konukçuları üzerinde daha yüksek saldırganlık ölçüleriyle konukçu adaptasyonu göstermiştir. Tüm veriler, yabancı ve kültür ekosistemlerindeki farklı seçilim baskısının, *D. rabiei* popülasyonlarında ekolojik farklılaşmaya yol açtığını ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Konukçu-patojen birlikte evrimleşmesi, popülasyon genetik yapısı, sıcaklık adaptasyonu, konukçu adaptasyonu, doğal ekosistem, saldırganlık

ABSTRACT

POPULATION ANALYSIS OF *Didymella rabiei* (ANAMORPH: *Ascochyta rabiei*) CAUSING ASCOCHYTA BLIGHT IN WILD AND DOMESTICATED *Cicer* spp. IN VIEW OF GENETIC, ECOLOGIC AND PATHOGENIC FEATURES

ÖZKILINÇ, Hilal

Ph.D. Thesis, In Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Canan CAN

June 2010, 146 pages

Genetic structure, *in vitro* temperature growth response and aggressiveness traits of Turkish and Israeli *Didymella rabiei* isolates from wild and domesticated chickpea were studied. The six STMS loci were used to determine genetic variation of 128 *D. rabiei* isolates. Turkish isolates exhibited the highest genetic diversity ($H=0.69$) within the investigated *D. rabiei* populations. *EFL- α* sequences distinguished between *D. rabiei* isolates from domesticated and wild *Cicer* spp. by four nucleotid polymorphisms. While *D. rabiei* populations from domesticated and wild hosts genetically far away from each other, a few isolates from the different origins were genetically close to each other as demonstrated using the Bayesian algorithm as well as with the PCoA. Gene/genotype flows were estimated by using population genetic differentiation values among the populations from different origins. Isolates from domesticated chickpea had larger colony areas at 25 °C than at 15 °C while the isolates from wild hosts had the vice versa and these *in vitro* phenotypic observations were supported by the heritability values of the temperature growth response. Except for Turkish isolates from domesticated chickpea, isolates from different origins had higher aggressiveness on their original hosts indicating the host adaptation. All the data concluded that the distinct ecological selections of wild and domesticated chickpea systems result in ecological divergence of *D. rabiei* populations.

Key Words: Host-pathogen co-evolution, population genetic structure, temperature adaptation, host adaptation, aggressiveness

TEŞEKKÜR

Akademik çalışmalarında ve eğitim sürecimde her türlü desteği sağlayan, özgür düşünme ve çalışma prensibini benimseten, üzerimde büyük emeği olan ve kendisiyle çalışmış olmaktan mutluluk duyduğum değerli danışman hocam Doç. Dr. Canan Can'a,

Tez çalışmalarımı gerçekleştirebilmem için materyal temininde yardımcı olan, tüm laboratuvar olanaklarını açan, fikir ve tecrübeleriyle her zaman yardımcı olan, iyi bir bilim insanı olma yolunda yönlendiren ve desteklerinden dolayı her zaman minnettar olacağım Assoc. Prof. Dr. Shahal Abbo'ya (The Hebrew University of Jerusalem/ İsrail), Prof. Dr. Dani Shtienberg'e (The Volcani Center/İsrail) ve Dr. Amir Sherman'a (The Volcani Center/ İsrail),

Tez İzleme Komite'mde yer alan ve çalışmalarımı destekleyen Prof. Dr. Saadet D. Saygıdeğer'e ve Doç. Dr. Bahattin Tanyolaç'a (Ege Üniversitesi),

Birlikte çalışmaktan zevk aldığım değerli arkadaşım, fikir ve tecrübelerinden yararlandığım saygıdeğer meslektaşım Dr. Omer Frenkel'e (The Volcani Center/ İsrail),

Pozitif kontrol veri setlerini sağlayan ve değerli tavsiyelerini esirgemeyen Assoc. Prof. Dr. Tobin Peever'a (Washington State University/ A.B.D.),

Biyoinformatik konularındaki tavsiyelerinden dolayı Dr. Ron Ophir'e (The Volcani Center/ İsrail),

İstatistik konularındaki tavsiyelerinden dolayı Prof. Dr. Avigdor Cahaner'e (The Hebrew University of Jerusalem/ İsrail),

Tez çalışmalarımı yürütebilmem için tüm olanakları sunan ve beni destekleyen bölümüme ve bölüm başkanımıza (Prof. Dr. Mehmet Özaslan),

Tohum ve örnek temininde yardımcı olan Sayın Dürdane Mart'a (Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü) ve Yrd. Doç. Dr. Abdullah Kahraman'a (Harran Üniversitesi),

Arazi araştırmalarında yardımcı olan Gaziantep Tarım İl Müdürlüğü'ne ve Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü'ne,

Doktora çalışmalarımı rahat bir şekilde sürdürebilmemde büyük etkisi olan TÜBİTAK- Yurt İçi Doktora Burs Programına ve yurt dışı araştırma olanağı sunan İsrail Dış İlişkiler Bakanlığı'na,

Maddi ve manevi desteklerinden güç aldığım canım aileme,

İçten teşekkürlerimi sunuyorum...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	xiii
BÖLÜM 1: GİRİŞ.....	1
1.1. Ascochyta Yanıklığı.....	3
1.2. Doğal ve Tarımsal Ekosistem Farklılıklarının Patosistemler Üzerindeki Etkileri.....	6
1.3. Konukçu Yaşam Döngüsü ve Ekolojik Faktörlerin Patojen Popülasyon Yapılarına Etkileri.....	7
1.4. Koloni Hifsel Gelişim Fenotipi ve Kalıtım Dereceleri.....	9
1.5. Fungal Moleküler Sistematik ve Filogenetik Çalışmalar.....	10
1.6. Popülasyon Genetik Analizleri.....	11
1.7. Gen/Genotip Akışı ve Patojen Göçü.....	13
1.8. Saldırganlık ve Lokal Adaptasyon.....	13
1.9. <i>Cicer</i> spp./ <i>D. rabiei</i> İnteraksiyonları ve Patojen Popülasyon Biyolojisi.....	15
BÖLÜM 2: LİTERATÜR ÖZETLERİ.....	17
2.1. Tarımın Başlangıcı ve Nohudun Orijin Alanları.....	17
2.2. <i>Cicer</i> Türleri.....	18

2.3. <i>Didymella</i> spp ve <i>Didymella rabiei</i>	19
2.4. Konukçu-Patojen Birlikte Evrimleşmesi.....	22
2.5. Nohudun Kültüre Alınma Süreci.....	23
2.6. Ascochyta Yanıklığı; Hastalık Karakterizasyonu, Epidemiyolojisi ve Mücadelesi.....	24
2.7. <i>D. rabiei</i> 'de Genetik Varyasyon ve Fungal Popülasyon Genetik Analizlerinde STMS (Sequence Tagged Microsatellite Site) Markırların Kullanımı.....	27
2.8. Patojen Göçü.....	31
2.9.Fungal Koloni Hifsel Gelişimi.....	32
2.10. Kantitatif Genetik ve Kalıtım Dereceleri.....	34
2.11. <i>D. rabiei</i> 'de Patojenik Varyasyon ve Saldırganlık.....	36
BÖLÜM 3: MATERYAL VE METOD.....	40
3.1.Materyal.....	40
3.1.1. <i>D. rabiei</i> İzolatları.....	40
3.1.2. Saldırganlık analizlerinde kullanılan fungal izolatlar ve konukçu bitkiler...43	
3.2.Yöntem.....	44
3.2.1. Arazi çalışmaları.....	44
3.2.2. Patojen izolasyonu.....	45
3.2.3. Koch postülatının uygulanması.....	46
3.2.4. Fungal genomik DNA izolasyonu.....	46
3.2.5. <i>D. rabiei</i> izolatlarının moleküler karakterizasyonu.....	47
3.2.6 STMS analizleri.....	48
3.2.6.1. STMS veri analizleri.....	50
3.2.7. Sıcaklık ve <i>in vitro</i> koloni hifsel gelişim ilişkisi.....	52
3.2.8. Farklı konukçu/bölge orijinli <i>D. rabiei</i> izolatlarının saldırganlık analizleri.....	53
3.2.8.1. Saldırganlık analizleri için fungal kültürlerin hazırlanması.....	54

3.2.8.2. Saldırganlık analizleri için konukçu bitkilerin yetiştirilmesi.....	54
3.2.8.3. Deneme Planı ve Analizler.....	55
BÖLÜM 4: BULGULAR.....	59
4.1. Arazi Çalışmaları.....	59
4.2. <i>D. rabiei</i> İzolatları.....	64
4.3. <i>D. rabiei</i> İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu.....	65
4.4. <i>D. rabiei</i> Popülasyon Genetik Yapıları.....	66
4.4.1. Alelik varyasyon ve popülasyon genetik yapıları.....	67
4.4.2. Türkiye ve İsrail kültür nohudu orijinli <i>D. rabiei</i> örneklerinin karşılaştırmalı moleküler varyasyon analizleri.....	71
4.4.3. Yabani ve kültür nohudu orijinli <i>D. rabiei</i> örneklerinin karşılaştırmalı moleküler varyasyon analizleri.....	72
4.4.4. Kümeleme analizleri.....	74
4.5. Sıcaklık Etkisine Kaşı <i>D. rabiei</i> 'nin <i>in vitro</i> Koloni Hifsel Gelişim Cevapları.....	77
4.5.1. Farklı orijinli <i>D. rabiei</i> popülasyonlarında sıcaklık/hifsel gelişim ilişkisi.....	78
4.5.2. Sıcaklık/koloni gelişim cevabının kalıtım dereceleri.....	81
4.6. Farklı Orijinli <i>D. rabiei</i> İzolatlarının Kültür ve Yabani Nohut Konukçuları Üzerindeki Saldırganlık Değerlendirmeleri.....	82
4.6.1. Testlenen <i>D. rabiei</i> izolatlarının Türkiye kültür nohudu çeşitleri üzerindeki saldırganlık durumu.....	85
4.6.2. Testlenen <i>D. rabiei</i> izolatlarının İsrail kültür nohudu çeşitleri üzerindeki saldırganlık durumu.....	86
4.6.3. Testlenen <i>D. rabiei</i> izolatlarının yabani nohut <i>C. pinnatifidum</i> üzerindeki saldırganlık durumu.....	88
4.6.4. Testlenen <i>D. rabiei</i> izolatlarının yabani nohut <i>C. judaicum</i> üzerindeki saldırganlık durumu.....	90

BÖLÜM 5: TARTIŞMA ve SONUÇ.....	91
KAYNAKLAR.....	109
EKLER.....	132
Ek 1: Fungal Besi Ortam İçerikleri.....	133
Ek 2 (a) Arazi araştırmalarının yapıldığı Türkiye’deki yörelere ait aylık “Ortalama Sıcaklık” (°C) verileri.....	134
Ek 2 (b) Arazi araştırmalarının yapıldığı Türkiye’deki yörelere ait aylık “Ortalama Yağış” (mm) verileri.....	135
Ek 3: <i>D. rabiei</i> izolatlarının <i>EF1-α</i> , <i>G3PD</i> , <i>CHS</i> ve <i>ITS</i> gen bölgelerinin kısmi baz dizilimleri.....	136
Ek 4. Altı STMS Markıra dayalı olarak saptanan haplotipler.....	141
Ek 5. Epidemik sezon boyunca örnekleme alanlarında görülen ortalama maksimum ve minumum sıcaklıklar (°C).....	143
ÖZGEÇMİŞ.....	144

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1.1. Ascochyta yanıklık etmeninin yaşam döngüsü.....	4
Şekil 3.1. <i>D. rabiei</i> izolatlarının elde edildiği konukçu örnekleme alanlarını gösteren Türkiye ve İsrail haritaları.....	41
Şekil 3.2. <i>D. rabiei</i> patojen izolasyonu için kullanılan Ascochyta yanıklık belirtileri gösteren bitki kısımları.....	45
Şekil 3.3. <i>Cicer</i> spp konukçu bitkilerin yetiştirildiği ortamdan görünüş.....	55
Şekil 3.4. Her bir izolatın inokule edildiği sekiz konukçuyu içeren bir muamele ünitesi.....	56
Şekil 3.5. Örnek hastalık değerlendirmeleri.....	57
Şekil 4.1. Yabani ve kültür nohudunda Ascochyta yanıklık belirtileri.....	60
Şekil 4.2. Yabani nohut türlerinin doğal habitat alanlarının genel görünümü.....	61
Şekil 4.3. Kültür nohudu (<i>C. arietinum</i>) (tarlada) ve yabani atası (<i>C. reticulatum</i>) (doğal ortamında).....	62
Şekil 4.4. <i>C. reticulatum</i> bitkilerinin tespit edildiği lokasyonlardan görüntüler.....	62
Şekil 4.5. Yabani ve kültür nohudu arazi görüntüleri.....	63
Şekil 4.6. <i>D. rabiei</i> koloni kültür morfolojileri; fungal piknidiospor yatakları, piknidiosporlar ve hiflerin mikroskop görüntüleri.....	64
Şekil 4.7. <i>EF1-α</i> kısmi baz dizilimindeki polimorfik nükleotid bölgeleri.....	65
Şekil 4.8. PCR sonrası jel elektroforezi sonuçları.....	66
Şekil 4.9. ArR01D lokusu için tepecik ölçümleri.....	67
Şekil 4.10. ArR01D ArH06T ArH05T ArA06T lokusları için tepecik ölçümleri.....	67
Şekil 4.11. Altı STMS markırın kültür nohudu orijinli Türkiye ve İsrail <i>D. rabiei</i> popülasyonları arasındaki varyasyona etkisi.....	71

Şekil 4.12. Altı STMS markırın yabani (<i>C. judaicum</i>) ve kültür nohudu orijinli <i>D. rabiei</i> popülasyonları arasındaki varyasyona etkisi.....	73
Şekil 4.13. Farklı orijinli 15 <i>D. rabiei</i> grubunun 6 STMS veri setine dayalı olarak oluşturulmuş Yakın bağlantı ağacı-NJ tree.....	75
Şekil 4.14. Çalışılan 128 <i>D. rabiei</i> izolatının Bayes algoritmasına dayalı olarak gruplandırılması.....	76
Şekil 4.15. <i>D. rabiei</i> izolatlarının aralarındaki genetik uzaklığa dayalı olarak standardize edilmiş kovaryans metodu kullanılarak uygulanan PCoA analizlerine göre dağılımları.....	77
Şekil 4.16. 25 °C ve 15 °C'deki 8 günlük inkübasyon sonrası koloni çapları ölçülen izolatlar.....	78
Şekil 4.17. Farklı orijinli <i>D. rabiei</i> popülasyonlarının 25 °C ve 15 °C'deki ortalama koloni büyüklüklerinin grafiksel gösterimi.....	79
Şekil 4.18. Farklı orijinli <i>D. rabiei</i> izolatlarının 25 °C ve 15 °C'deki ortalama koloni büyüklüklerine göre saçılım çiziti.....	80
Şekil 4.19. Farklı orijinli <i>D. rabiei</i> izolatlarının yabani ve kültür konukçuları üzerindeki hastalık şiddeti değerlendirmeleri.....	84

TABLolar LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 3.1. <i>Cicer spp</i> 'den izole edilen <i>Didymella rabiei</i> örnekleri.....	4
Tablo 3.2. Saldırganlık denemelerinde kullanılmak üzere seçilen <i>D. rabiei</i> izolatları.....	43
Tablo 3.3. Çalışılan 6 STMS markırı ile ilgili bilgiler.....	49
Tablo 4.1. Tek yıllık yabancı <i>Cicer</i> türlerinin saptanan lokasyonları.....	60
Tablo 4.2. Gözlenen aleller ve alel frekansları.....	68
Tablo 4.3. Popülasyonlardaki alelik yapı ve haploid genetik çeşitlilik.....	69
Tablo 4.4. Patojen gruplardaki alelik yapı ve haploit genetik çeşitliliği.....	70
Tablo 4.5. Kültür nohudu orijinli Türkiye ve İsrail <i>D. rabiei</i> popülasyonları arasındaki moleküler varyans analizleri (AMOVA).....	71
Tablo 4.6. Nei'nin genetik benzerlik ve genetik uzaklık ölçümleri.....	72
Tablo 4.7. Kültür nohudu orijinli Türkiye ve İsrail <i>D. rabiei</i> popülasyonları arasındaki gen/genotip akışı hesaplamaları.....	72
Tablo 4.8. <i>C. arietinum</i> ve <i>C. judaicum</i> 'dan örneklenen <i>D. rabiei</i> popülasyonları arasındaki moleküler varyans analizleri.....	73
Tablo 4.9. <i>C. judaicum</i> orijnli <i>D. rabiei</i> popülasyonu ile kültür nohudu orijinli İsrail ve Türkiye <i>D. rabiei</i> popülasyonları arasındaki gen/genotip akışı hesaplamaları.....	74
Tablo 4.10. Farklı orijinli <i>D. rabiei</i> izolatlarının 25°C ve 15°C'deki <i>in vitro</i> koloni hifsel gelişim fenotipinin kalıtım dereceleri.....	82
Tablo 4.11. Türkiye ve İsrail orijinli kültür ve yabancı nohut konukçuları üzerinde testlenen <i>D. rabiei</i> izolatlarının saldırganlık özelliklerinin.....	83

Tablo 4.12. Farklı orijinli <i>D. rabiei</i> izolatlarının Türkiye kültür nohudu konukçusundaki saldırganlık ölçümleriyle ilgili istatistik veriler.....	85
Tablo 4.13. Türkiye kültür nohudu konukçusunda “patojen izolatın ülkesi × patojen konukçu orijini” interaksiyonu için inkübasyon periyodu.....	86
Tablo 4.14. Farklı orijinli <i>D. rabiei</i> izolatlarının İsrail kültür nohudu konukçusundaki saldırganlık ölçümleriyle ilgili istatistik veriler.....	87
Tablo 4.15. İsrail kültür nohudu konukçusunda “patojen izolatın ülkesi × patojen konukçu orijini” interaksiyonu için inkübasyon periyodu ve RAUDPC.....	87
Tablo 4.16. Farklı orijinli <i>D. rabiei</i> izolatlarının <i>C. pinnatifidum</i> konukçusundaki saldırganlık ölçümleriyle ilgili istatistik veriler.....	88
Tablo 4.17. <i>C. pinnatifidum</i> konukçusunda “patojen izolatın ülkesi × patojen konukçu orijini” interaksiyonu için final hastalık şiddeti ve RAUDPC.....	89
Tablo 4.18. Farklı orijinli <i>D. rabiei</i> izolatlarının <i>C. judaicum</i> konukçusundaki saldırganlık ölçümleriyle ilgili istatistik veriler.....	90
Tablo 4.19. <i>C. judaicum</i> konukçusundaki “patojen izolatın ülkesi × patojen konukçu orijini” interaksiyonu için inkübasyon periyodu, final hastalık şiddeti ve RAUDPC.....	91

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

A	: Adenin
bç	: Baz çifti
AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
C	: Sitozin
CMA	: Chickpea Meal Agar
DNA	: Deoksiriboz Nükleik Asit
dH ₂ O	: Destile su
dk	: Dakika
FAO	: Food and Agriculture Organization
G	: Guanin
Gr	: Gram
l	: Litre
MAT	: Mating Type
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
PCR	: Polimerase Chain Reaction
PDA	: Patates Dektroz Agar
RAPD	: Random Amplified Polymorphic DNA
RAUDPC	: Relative Area Under Disease Progress Curve

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism

S : Sitozin

Sn : Saniye

STMS : Sequence-Tagged Microsatellite Site

T : Timin

μ l : Mikrolitre

μ M : Mikromolar

BÖLÜM 1 GİRİŞ

Tarımsal faaliyetler, yaklaşık 10000-12000 yıl önce, Yakın Doğu'da, "Bereketli Hilal" topraklarında, buğdaygil ve baklagillerin evcilleştirilerek kültüre alınmasıyla başlamıştır (Zohary ve Hopf, 2000; Lev-Yadun vd., 2000; Salamini vd., 2002). Böylece bugünkü Irak, Suriye, Lübnan, İsrail, Kuveyt, Ürdün, Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve Batı-Güneybatı İran'ı içine alan bölgeler olarak tanımlanan "Bereketli Hilal" toprakları, günümüzdeki birçok bakliyat ve tahıl ürünlerinin ve bu ürünlerin patojenlerinin orijin alanlarını oluşturmaktadır (Lev-Yadun vd., 2000; Salamini vd., 2002). Birçok kanıt, "Yakın Doğu"da tarımın Güneydoğu Anadolu ve Kuzey Suriye'yi kapsayan belirli bir çekirdek alanda başlatıldığını göstermiştir (Lev-Yadun vd., 2000; Gopher vd., 2001; Salamini vd., 2002; Abbo vd., 2009). Tarımsal faaliyetler az sayıda ürün bitkisi ile başlamıştır ve bu bitkiler "Kurucu Ürünler" olarak tanımlanmaktadır (Zohary ve Hopf, 2000; Abbo vd., 2007). "Kurucu Ürünler", buğday, arpa, mercimek, bezelye, nohut ve burçak'ı içermektedir (Zohary ve Hopf, 2000; Abbo vd., 2007).

Bugünkü tarım ürünlerinin atasal formlarından evcilleştirilmesi, istenilen ürün genotiplerinin seçilimi ve kültüre alınma süreci, eş zamanlı olarak patojenlerini de etkilemiştir (Stukenbrock ve McDonald, 2008). Konukçularıyla birlikte patojenler de, doğal ekosistemlerden tarımsal ekosistemlere geçişe adapte olmuştur (Stukenbrock ve McDonald, 2008). Böylece tarımsal ekosistemlerde yer alan ürün bitkileri ile patojenleri birlikte evrimleşme göstermiştir (Stukenbrock ve McDonald, 2008).

Kültür nohudunun (*Cicer arietinum* L.) orijin alanı ve ilk kültüre alındığı bölgeler Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve Suriye'nin kuzey kesimleridir (Ladizinsky ve Adler, 1976a; Lev-Yadun vd., 2000). Kültür nohudunun atası, yabancı *C. reticulatum*'dur (Ladizinsky, 1975; Ladizinsky ve Adler 1976a; Lev-Yadun vd. 2000; van der Maesen vd. 2005) ve bu türün günümüzdeki doğal yayılım alanı, sadece Güneydoğu

Anadolu'daki birkaç lokasyonla sınırlıdır (Ladizinsky ve Adler, 1976b; Berger vd., 2003; van der Maesen vd., 2005). Kültür nohudu, tek yıllık yabancı atası *C. reticulatum*'un yanı sıra tek yıllık yabancı akrabalarından *C. pinnatifidum*, *C. echinospermum* ve *C. bijugum* ile birlikte Güneydoğu Anadolu'da simpatrik olarak gelişme göstermektedir (Berger vd., 2003; van der Maesen vd. 2005). Neolitik tarım devrimini takiben, nohut, Doğu Akdeniz boyunca yayılmış ve nihayet bir milenyum içinde Güney Levant'a (İsrail ve Ürdün'ü kapsayan bölge) ulaşmıştır (Gopher vd., 2001). Böylece kültür nohudu, Güney Levant'ta da bir diğer tek yıllık yabancı akrabası olan *C. judaicum* ile birlikte simpatrik olarak gelişme göstermeye başlamıştır (Ladizinsky, 1995; Berger vd., 2003; Ben-David vd., 2006; Frenkel vd., 2007). Nohut tarımı, tarımın başlangıcından itibaren, tüm Levant'ta yoğun olarak yapılmaya devam etmektedir (Lev-Yadun vd., 2000). Levant, Fırat ve Dicle nehirlerinin üst kısımlarından Negev ve Sina çöllerine kadar olan alanı ifade eden bir coğrafik terimdir (Gopher vd., 2001).

Ascomycota takımında yer alan *Didymella rabiei* (Kovachevski) von Arx [anamorph: *Ascochyta rabiei* (Passerini) Labrousse], *Cicer* spp.'de konukçu özgülüğü gösteren ve "Ascochyta Yanıklığı" olarak bilinen hastalığa neden olan bir fungal fitopatojendir (Nene ve Reddy, 1987; Akem, 1999; Frenkel vd., 2007). Patojenin orijin merkezinin, konukçu-patojen birlikte evrimleşmesi hipotezinin, konukçusuyla aynı olduğu kabul edilmektedir (Leppik, 1970; Stukenbrock ve McDonald, 2008). Böylece *D. rabiei* patojeninin orijin alanlarının da Güneydoğu Anadolu Bölgesi olması beklenir. Konukçu-patojenin orijin alanlarının aynı olduğu hipotezini destekleyen çeşitli çalışmalar farklı patosistemlerde sunulmuştur. Örneğin; *Magnaporthe oryzae*'nin konukçusu Asya kökenli pirinç ile (Kumar vd., 1999) ve *Mycosphaerella graminicola*'nın Doğu Akdeniz kökenli konukçusu buğday ile orijin merkezlerinin aynı olduğu sonucu (Stukenbrock vd., 2007) çeşitli moleküler verilerle desteklenmiştir. *Cicer* spp.-*D. rabiei* patosisteminde de bu hipotezi desteklemek üzere orijin alanlarındaki kültür ve yabancı konukçularından örneklenmiş patojen popülasyonların araştırılması gerekmektedir. Literatürde orijin alanlarından örneklenmiş *D. rabiei* patojen popülasyonlarının eşey tipi dağılımlarının belirlenmesi (Özkılınç, 2006) dışında, popülasyon yapısı ve çeşitliliği hakkında bilgi mevcut değildir.

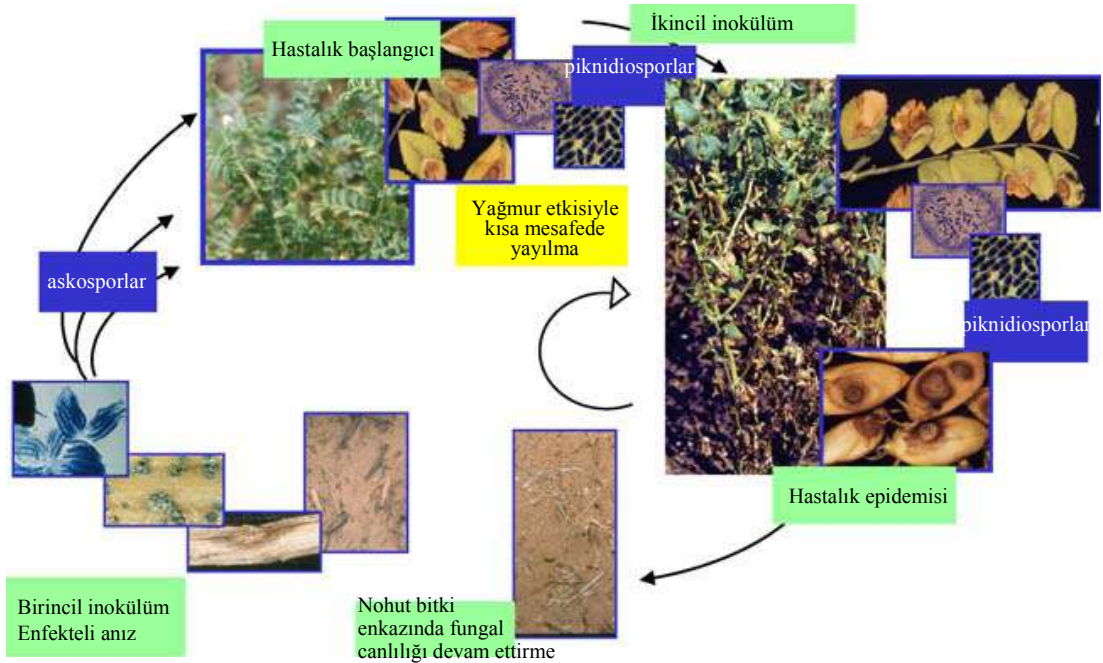
Nohut tarımını ciddi boyutta etkileyen *D. rabiei*, kültür nohudunun yabancı akrabalarında da tespit edilmiştir. *D. rabiei* patojeni, Türkiye’den Can vd. (2007) tarafından *C. pinnatifidum*’dan, İsrail’de Frenkel vd. (2007) tarafından ise *C. judaicum*’dan rapor edilmiştir. Ayrıca patojenin varlığı, Bulgaristan’dan *C. monbretii* (Kaiser vd., 1998) ve Gürcistan’dan *C. incisum* (sinonim *C. ervoides*) (Peever vd., 2007) olmak üzere çok yıllık yabancı nohut türleri için de bildirilmiştir. *Cicer-D. rabiei* patosisteminin evrimsel analizlerinde, kültür nohudunun gen havuzunu oluşturan tek yıllık yabancı *Cicer* türlerindeki (Ladizinsky ve Adler, 1976b) *D. rabiei* patojen izolatları özellikle önemlidir.

Morfolojik açıdan birbirine oldukça benzer olan yabancı nohut türlerinden *C. judaicum* ve *C. pinnatifidum*, allopatrik dağılım göstermektedir (Ladizinsky ve Adler, 1976b). *C. judaicum*, İsrail ve Ürdün’de, yüksek kesimlerde, taşlık-kayalık habitatlarda; *C. pinnatifidum* ise Türkiye’nin Güneydoğu Anadolu’su, Suriye ve Lübnan’da, kalkerli veya volkanik ana kayanın hakim olduğu yüksek kesimler, dik yamaç alanlarında doğal olarak yetişmektedir (Berger vd., 2003). Tek yıllık *Cicer* türlerinin kendi aralarındaki çaprazlanabilirliği baz alınarak yapılan gruplandırma *C. pinnatifidum* ve *C. judaicum*’un, *C. bijugum* ile birlikte aynı grupta yer aldığı bildirilmiştir (Ladizinsky ve Adler, 1976b). Doğu Akdeniz’de kültür nohudu ile simpatrik olan yabancı nohut türleri, tarımsal ekosistemin sunduğu şartlardan çok farklı şartlara sahip, oldukça heterojen ve değişik habitat özellikleri gösteren doğal ekosistemlerde varlıklarını devam ettirmektedirler (Berger vd., 2003; Ben-David vd., 2006). Bu açıdan, doğal ve tarımsal ekosistem farklılıklarının *D. rabiei* patojen popülasyonlarını da etkilemesi beklenebilir. Bu hipotezi test etmek üzere simpatrik *Cicer* spp. sistemlerinden örneklenmiş *D. rabiei* izolatlarının karşılaştırmalı popülasyon analizleri yapılmalıdır.

1.1. Ascochyta Yanıklığı

D. rabiei, hem kültürü yapılan nohutta, hem de yabancı nohut türlerinde, bitkinin tüm toprak üstü aksamında Ascochyta yanıklığı olarak bilinen hastalığa neden olan nekrotrofik bir patojendir (Nene, 1984; Can vd., 2007; Frenkel vd., 2007; Peever vd., 2007). Etmen, misel gelişimini takiben bitki hücrelerini öldürmektedir (Höhl vd., 1990; Köhler vd., 1995; İlarıslan ve Dolar, 2002). Hastalık, nohut bitkisinin gövde, yaprak ve kapsüllerinde nekrotik lekelerin oluşması ile karakterize edilmekte ve ileri

dönemlerde gövde ve dallarda kırılmalara neden olarak bitki ölümüne yol açmaktadır (Nene ve Reddy, 1987; Özkılınç, 2006; Frenkel vd., 2007). Fungal lezyonlar: yaprakçıklar üzerinde dairesel veya uzamış formda kahverengimsi-kırmızı hatlarla çevrelenmiş şekildedir; yeşil tohum kapsülü üzerinde, piknidyalari bulunduran iç içe geçmiş konsantrik halkalar görünümündedir ve bu dairesel lezyonlar siyah hatlarla çevrelenmiştir; gövde ve petiyoller üzerinde ise 3-4 cm'e kadar uzamış, siyah benekler taşıyan kahverengi lezyonlar, çerçevelemiş bir görüntüye sahiptir (Nene ve Reddy, 1987; Özkılınç, 2006; Frenkel vd., 2007). Lezyonlar gövdeyi çevrelediğinde hastalıklı bölgenin üst bölümü, ana gövde fungal lezyonla çevrelediğinde ise bitkinin tamamı hızla ölmektedir (Nene ve Reddy, 1987; Özkılınç, 2006; Frenkel, 2007). Etmen, pseudotesya (eşeyssel dönemde askus ve askosporları barındıran yapı) formunda kışı geçirmekte, ilkbaharda yeni çıkan bitkilerde birincil enfeksiyonları gerçekleştirmektedir (Wilson ve Kaiser, 1995) (Şekil 1.1). Bitki dokusunda oluşturulan piknidya yatakları (eşeyssiz dönemde konidilerin bulunduğu yapı) nekrotik lezyonlar formuna dönüşmekte, bu yataklardan nemli koşullarda salınan konidiler, yetiştirme periyodu boyunca ikincil enfeksiyonlara neden olmaktadır (Wilson ve Kaiser, 1995) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Ascochyta yanıklık etmeninin yaşam döngüsü (Tivoli ve Banniza, 2007)

Hastalık döngüsünün sayısı, hastalık şiddetini ve yaygınlığını belirlemektedir

(Wilson ve Kaiser, 1995). Hastalık üzerinde en büyük etkiye sahip çevresel faktörler sıcaklık, yağmur ve rüzgardır (Nene ve Reddy, 1987; Trapero-Casas ve Kaiser, 1992). Sıcaklık ve rüzgar hastalık gelişimini ve yayılımını etkilemesine rağmen, çoğu *Ascochyta* hastalık ve epidemilerinin gelişiminde yağmur kritik faktördür (Nene ve Reddy 1987; Akem, 1999). Çoğunlukla patojen, yağmur aracılığıyla dağıtılan konidileriyle yayılmaktadır (Nene, 1984).

Ascochyta yanıklığına karşı fungusitlerin kullanımı tam koruma vermemekle beraber, ekonomik de değildir; dirençli hatların geliştirilmesi, üretimin artması ve stabilizasyonu için en ekonomik yaklaşım olarak kabul edilmektedir (Nene ve Reddy, 1987; Muehlbauer ve Kaiser, 1994; Akem, 1999; Shtienberg vd., 2000; Chen vd., 2004; Muehlbauer ve Chen, 2007; Pande vd., 2009). Bununla beraber, tüm dünyada nohut tarımının yapıldığı alanlarda *Ascochyta* yanıklığının ciddi epidemiler göstermesi ve *D. rabiei*'nin nohut tarımında en ciddi biyotik problem olarak kabul edilmesi (Chaube ve Mishra, 1992; Kaiser ve Küsmenoğlu, 1997; Shtienberg vd., 2000; Chen vd., 2004; Pande, 2005; Gan vd., 2006; Muehlbauer ve Chen, 2007), halen hastalığa karşı tam dirençli nohut hatlarının bulunmadığını göstermektedir. Pek çok ülkede var olan çeşitler içerisinde direnç düzeyi, hastalık etkisine karşı özellikle de patojeni destekleyen şartlarda, yeterli olmamaktadır (Akem, 1999; Shtienberg vd., 2000; Düşünceli vd., 2007). Bununla beraber, bitki direnç etkinliği, fungal popülasyondaki patojenik varyasyondan dolayı sınırlı kalmaktadır (Lichtenzweig vd., 2005; Imtiaz vd., 2009). Devam etmekte olan ıslah çalışmalarının patojen üzerindeki seçim baskısı sonucu, patojen popülasyonda saldırganlık düzeyinin artışına yönelik evrimleşme ortaya çıkmaktadır (McDonald, 2004). Patojene karşı uygun kontrol stratejilerinin geliştirilmesinde, patojen popülasyon yapısının bilinmesi, genetik ve patojenik varyasyonun ortaya çıkarılması son derece önemli ve gereklidir (Milgroom ve Peever, 2002).

Patojen için uygun iklim koşullarının olduğu yıllarda epidemiler ile ciddi ürün kayıpları meydana gelmektedir (Nene ve Reddy, 1987; Chaube ve Mishra; 1992; Akem, 1999; Khan vd., 1999b; Muehlbauer ve Chen, 2007). Ülkemizde de yanıklık hastalığının, nohut üretiminde önemli bir problem olduğu rapor edilmiştir (Açıkgöz, 1983; Kaiser ve Küsmenoğlu, 1997; Toker ve Çancı, 2003; Düşünceli vd., 2007). Ancak, tarlalardaki durumun aksine, hastalık, doğal ekosistemlerdeki konukçularını

ciddi bir şekilde etkilememekte ve epidemilere yol açmamaktadır (Dinoor ve Eshed, 1987; Özkılınç, 2006; Frenkel vd., 2007). Konukçunun fiziksel yapısı ve genetik kompozisyonu, direnç gen kaynakları, ekolojik farklılıklar, mikro/makro iklim şartları ve farklı sistemlerde özelleşen patojen popülasyonların farklı virülenslik düzeyleri gibi çeşitli faktörler, tarımsal ve doğal ekosistemlerdeki hastalık epidemiyolojisini etkiliyor olabilir (Dinoor ve Eshed, 1987; Gilbert, 2002; Abbo vd., 2007; Stukenbrock ve McDonald, 2008). Dolayısıyla, yabani ve kültür ekosistemleri, *D. rabiei*'nin konukçu adaptasyonunu ve saldırganlık özelliklerini farklı bir biçimde şekillendiriyor olabilir.

1.2. Doğal ve Tarımsal Ekosistem Farklılıklarının Patosistemler Üzerindeki Etkileri

Çevresel heterojenite ve konukçu genetik çeşitliliği, doğal ekosistemleri tarımsal ekosistemlerden ayıran temel faktörlerdendir (Burdon, 1993; Stukenbrock ve McDonald, 2008; Burdon ve Thrall, 2008). Bu farklılıklar, patosistem biyolojisini etkilemektedir ve patojenik uyumun şekillenmesinde konukçu ve patojenleri üzerinde seçici bir güce sahiptir (Dinoor ve Eshed, 1987; Burdon, 1993; Stukenbrock ve McDonald, 2008). Doğal ekosistemlerde, konukçu-patojen ilişkileri, nadiren epidemilerin görüldüğü, iyi huylu ve dengeli ilişkiler olarak ortaya çıkarken, tarımsal ekosistemlerde ciddi ürün kayıplarına yol açan bir mücadele sahasını ortaya çıkarmaktadır (Burdon, 2006).

Doğal ekosistemlerde dağılım gösteren “yabani konukçu popülasyonlar”, küçük gruplar halinde dağılım, düşük bitki yoğunluğu ve yüksek genetik çeşitlilik ile karakterize edilirler (Burdon, 1993; Burdon ve Thrall, 2008). Bu yabani sistemler, patojen popülasyonlarını, nem, yüksek ultraviyole radyasyonu ve besin varlığı açısından zorlayıcı çevresel faktörlere maruz kılar (Burdon, 1993; Stukenbrock ve McDonald, 2008). Tarımsal ekosistemlerdeki “evcilleştirilmiş konukçu popülasyonlar” ise yüksek bitki yoğunluğu, daha fazla besin dağılımı, genetik homojenite ile karakterize edilir ve patojen popülasyonlarına daha az çevresel değişkenlere sahip, daha tek düze ve patojen yayılımını destekleyen bir ortam sunar (Burdon, 1993; Stukenbrock ve McDonald, 2008). Konukçu türü ile birlikte ekolojik faktörler de patojen popülasyonlar üzerinde farklı seçim baskısına yol açabilir (Stukenbrock ve McDonald, 2008). Diğer taraftan ise, bitki patojenleri, konukçuları

üzerinde etkili evrimsel güçlerden biridir (Harlan, 1976; Dinooor ve Eshed, 1984; Burdon ve Thrall, 2008).

Yabani sistemlerde, konukçu bitkiler direnç düzeyleri artırma yönünde evrimleşme gösterirken, patojenleri de konukçuları üzerindeki uyum seviyesini korumak üzere optimum virülenslik düzeylerine çıkmak üzere evrimleşme göstermektedir (McDonald, 2004). Doğal ekosistemlerde genetik, ekolojik ve patolojik faktörler arasındaki dinamiklerin denge durumu korunmaktadır (Gilbert, 2002). Bu dengede meydana gelen değişkenlikler (vejetasyon tahribi, iklimsel ve edafik faktörlerde değişkenlik vs.) sonucu patojenik etkiler belirgin duruma gelmekte ve epidemiler görülebilmektedir (Alexander ve Holt, 1998; Gilbert, 2002). Tarımsal ekosistemlerdeki bitki-patojen evrimleri ise insan, özelde ise ıslahçılar, tarafından yönlendirilmektedir (McDonald, 2004). Patojen, kültürü yapılan bitkideki direnç genine karşı evrimleşme göstermektedir ve direnç kırıldığında, farklı bir direnç genine sahip yeni bir çeşit sunulmakta ve bu ilişki böylece devam etmektedir (McDonald, 2004). Bu sebeple, tarımsal sistemlerde konukçu direnç ve patojen virülenslik genlerinin bir arada uzun süre var olabildiği denge durumuna ulaşılması mümkün olmamaktadır (McDonald, 2004).

Hastalık modeli, patojen evrimi ve konukçu direncinin anlaşılması için, hem doğal hem de tarımsal sistemlerden patojen izolatların örneklenmesi ve popülasyon yapılarının çalışılması gerekmektedir. Bu yöndeki çalışmaların, özellikle, konukçu genetik çeşitliliğinin yüksek olduğu orijin alanlarındaki patojen popülasyonlar için yapılması, konukçu-patojen evrimsel biyoloji çalışmaları için ayrıca önemlidir (Leppik, 1970; Stukenbrock vd., 2007).

1.3. Konukçu Yaşam Döngüsü ve Ekolojik Faktörlerin Patojen Popülasyon Yapılarına Etkileri

Yakın Doğu'da simpatrik olarak yetişen yabani nohut türleri ve kültür nohudunun yaşam döngülerinde sezonsal farklılıklar vardır (Abbo vd., 2003a). Yabani *Cicer* türlerinin yaşam döngüsü, evcilleştirilen kültür formu *C. arietinum*'dan farklı olarak, kışın çimlenme, kış sonu-bahar başı çiçeklenme ve yaz başı olgunlaşma şeklindedir (Abbo vd., 2003a). Nohut üretimi için ana sınırlayıcı biyotik faktör olan *D. rabiei*'nin neden olduğu *Ascochyta* yanıklığının etkisini azaltmasından dolayı, tarihi süreç içerisinde nohut ekiminin kıştan ilkbahara alındığı hipotezi önerilmiştir (Abbo

vd., 2003a). Zira, Yakın Doğu'da temel ürün verimini etkileyen su faktörü, kışlık ekim ürünleri için verimi olumlu yönde etkilerken, yağışlı sezon boyunca nohudun *Ascochyta* yanıklığına karşı aşırı duyarlılığını da sonuçlamaktadır (Shtienberg vd., 2000; Abbo vd., 2003a; Düşünceli vd. 2007; Ben Mohammed vd., 2010). Çünkü, patojen konidilerinin dağılımı yağmur etkisiyle olmaktadır ve bu durum, yağış miktarı ve sıklığına bağlı olarak epidemilere yol açmaktadır (Nene ve Reddy 1987; Akem, 1999; Abbo vd., 2003a). Böylece kışlık nohut ekiminin *Ascochyta* yanıklığından ciddi bir şekilde etkilenmesinden dolayı ürün yetiştirme dönemiyle ilgili değişikliğe gidilmiştir (Abbo vd., 2003a). Kışlık nohut ekimi, daha uzun vejetatif ve generatif periyodu destekleyen kış yağışları ve yetiştirme dönemi boyunca optimum sıcaklıkları sunmasıyla, üründe ciddi bir artışı sağlayabilmesine rağmen (Saxena, 1984; Reddy ve Singh, 1990; Singh vd., 1997a; Shtienberg, 2000; Düşünceli vd., 2007; Ben Mohammed vd., 2009), *Ascochyta* yanıklığının yıkıcı etkilerinden kaçınmak amacıyla, özellikle Akdeniz ülkelerinde geleneksel olarak geç ekim uygulamaları görülmektedir (Reddy ve Kabbabeh, 1985; Saxena vd., 1984; Singh vd., 1997a; Navas-Cortes vd., 1998; Abbo vd., 2003a; Düşünceli vd., 2007; Ben Mohammed vd., 2010). Türkiye'de de hastalıktan kaçınmak amacıyla, Mart başı ve hatta Nisan gibi geç ekim pratiği uygulanmaktadır (Düşünceli vd., 2007). Bu durum, olgunlaşma öncesi sıcak ve kuru havanın etkisinden dolayı verimde azalmaya yol açmasına rağmen uygulanmaya devam etmektedir (Düşünceli vd., 2007). İsrail'de ise, hastalığa rağmen, yaklaşık kırk yıldır kışlık nohut ekim uygulaması yapılmaktadır (Shtienberg vd., 2000). Tohumlar kış ortasında (Aralık-Ocak) ekilmektedir ve hasat yaz başında (Haziran-Temmuz) yapılmaktadır (Shtienberg vd., 2000).

Kültüre alınma sürecinde konukçusunun yaşam döngüsündeki değişikliğe, değişen ekolojik ve çevresel faktörlerle birlikte, patojenin de farklı ekolojik adaptasyonlar geliştirmesi beklenir (Abbo vd., 2003a; Abbo vd., 2007). Örneğin, spor çimlenmesi, penetrasyon, piknidya yataklarının gelişimi ve konidi oluşumu için istenen optimum sıcaklık şartları, yabani ve kültür ekosistemlerinde özelleşen patojen popülasyonlarda farklılık gösterebilir (Abbo vd., 2007). Benzer şekilde diğer çevresel parametrelerin (nem, ıslaklık süresi vs.) de popülasyon biyolojileri üzerinde farklı etkilere sahip olması olasıdır (Abbo vd., 2007). Bu durum, tarımsal ve doğal ekosistemlerdeki genel farklılıklara ek olarak, *Cicer spp./D. rabiei* ilişkisine bir ayrıcalık

kazandırmaktadır. Farklı ekosistemlerdeki farklı seçim baskıları, ekolojik özelleşmenin temel belirleyicilerinden biri olarak kabul edilmektedir (Hutchinson 1959).

1.4. Koloni Hifsel Gelişim Fenotipi ve Kalıtım Dereceleri

Konukçu ürün yetiştirme periyodunda yapılan değişikliğin ve doğal-tarımsal ekosistem farklılıklarının, *D. rabiei* popülasyonlarının koloni hifsel gelişim fenotipinde sıcaklığa bağlı farklılıklara neden olması beklenir. Koloni hifsel gelişim fenotipi ve bunun sıcaklıkla ilişkisinin genetik bileşeni (Genetik x Çevre) veya kalıtım dereceleri tahmin edilebilir (Frenkel vd., 2010). *D. rabiei*'de koloni hifsel gelişim fenotipinin farklı sıcaklıklardaki cevapları ve bunun genetik arka planının tahmini, konukçusunun patojeni üzerindeki evrimsel ve ekolojik etkilerini açıklamak üzere kullanılabilir.

Genetik ve çevresel faktörlerin kombinasyonundan dolayı fenotipte farklı derecelerde varyasyon görülebilir (Falconer ve Mackay, 1996). Fenotipik varyansın ne kadarının genetik varyans ve ne kadarının çevresel varyanstan kaynaklı olduğu kalıtım değerlerinin hesaplanmasıyla ortaya çıkarılmaktadır (Holland vd., 2003). Kalıtım derecelerinin hesaplamaları geniş ve dar duyarlı kalıtım olmak üzere iki türdür (Holland vd., 2003). Geniş duyarlı kalıtım derecesi, fenotipik varyansın, genotipik varyanstan dolayı olan kısmıdır: $H=V_G/V_P$ (V_G , total genetik varyans, V_P , total fenotipik varyans) (Falconer ve Mackay, 1996; Lehman ve Oudemans, 2000). Dar duyarlı kalıtım derecesi, toplam fenotipik varyansın eklemeli gen etkilerinden dolayı olan varyans kısmıdır: $h^2=V_A/V_P$ (V_A , eklemeli genetik varyans, V_P total fenotipik varyans) (Holland vd., 2003). Fungal koloni hifsel gelişim fenotipinin dar duyarlı kalıtım dereceleri tahmin edilebilir (Zhan vd., 2005; Frenkel vd., 2010). Tahmin bir popülasyondur, bireysel parametre değildir (Holland vd., 2003). Kalıtım derecesi, genelde, çevreye nazaran, kalıtımın ne kadar önemli olduğunu ölçmek için kullanılmaktadır (Holland vd., 2003). Kalıtım derecesi sabit bir değer olmayıp, örneklenen popülasyonun genetik ve çevresel varyasyonuna göre değişmektedir (Holland vd., 2003).

Fitopatojen fungal popülasyonlarda farklı kantitatif özelliklerin (fungusit direnci, koloni büyüklüğü, sıcaklık duyarlılığı, latent periyot gibi) kalıtım değerleri hesaplanmıştır (Zhan vd., 2005; Lehman ve Shaner, 2007; Frenkel vd., 2010).

Maksimum olasılık (Maximum likelihood, ML), sınırlanmış maksimum olasılık (Restricted Maximum Likelihood, REML) ve ANOVA (Analysis of Variance) metodları kullanılarak kalıtım değerleri hesaplanabilmektedir (Holland vd., 2003).

1.5. Fungal Moleküler Sistemik ve Filogenetik Çalışmalar

PCR temelli teknikler ve özellikle DNA dizileme çalışmalarının fungal sistemikte, evrimsel ve filogenetik ilişkilerin araştırılmasında kullanımları giderek artmaktadır (Bridge vd., 2005; Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008). DNA dizi analizi, organizmalar arasındaki filogenetik ilişkileri belirlemek için çok kullanışlı bir yöntemdir ve de sonuçların elektronik veri tabanlarında yayınlanmasıyla farklı laboratuvar sonuçlarının doğrudan karşılaştırılabilmesini mümkün kılmaktadır. Filogenetik çalışmalarda dizi analizi için kullanışlı olduğu ispatlanmış DNA bölgeleri; rRNA ve protein kodlayan çeşitli gen bölgeleridir (Roger vd., 1999; Carbone ve Cohn, 1999; Berbee vd., 1999; Bridge vd., 2005).

Fungal çekirdek rRNA genleri her genomda birkaç yüz kopyası olan, ardışık tekrarlanan yapılar olarak düzenlenmiştir. Her bir birimde 18S, 5.8S ve 28S olmak üzere üç rRNA geni bulunmaktadır; 5S rRNA geni ise fungal taksona bağlı olarak tekrarlayan birim içinde olabilir veya olmayabilir (Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008). Transkribe olan aralayıcı rRNA bölgeleri (*ITS*, Internal Transcribed Spacer) ve genler arası aralayıcı bölgeler (*IGS*, Inter Genic Spacer) şeklinde gruplandırılan alt birimler arasındaki ara bölgeleri, alt birim dizilerinden daha değişken olup, bir cins içindeki türlerin ya da tür içi ırklar veya popülasyonların karşılaştırmalarında kullanılmaktadır (White vd., 1990; Goodwin vd., 2001; Bridge vd., 2005; Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008).

Translasyonda rol alan “*Translasyon uzama faktörü 1- α* ” (Roger vd., 1999; Carbone ve Cohn, 1999; Rehner ve Buckley, 2005; Peever vd., 2007), fungal hücre duvarının ana bileşeni olan kitin sentezinde görevli proteini kodlayıcı “*Kitin Sentaz I*” (Carbone ve Cohn, 1999; Peever vd., 2007), karbonhidrat metabolizmalarında rol alan proteini kodlayan “*Gliseraldehit-3-Fosfat Dehidrogenaz*” (Berbee vd., 1999; Peever, 2007), fungal moleküler filogeni çalışmalarında yararlanılan protein kodlayıcı gen bölgeleri arasında yer almaktadır. *ITS* bölgesi ile birlikte bu protein kodlayıcı bölgeler, çeşitli yabancı ve kültür baklagil konukçularında sorun olan fitopatojen *Ascochyta* cinsleri arasındaki evrimsel ilişkilerin belirlenmesinde

kullanılmıştır (Peever vd., 2007). Filogenetik açıdan bilgilendirici bölgelerin baz dizilim verileri, yabani ve kültür nohudunda özelleşme gösteren *D. rabiei* izolatlarında tür içi varyasyon gösterebilir.

1.6. Popülasyon Genetik Analizleri

Fungal popülasyon genetik çalışmalarında ilk adım, popülasyonun genetik yapısının belirlenmesidir (McDonald, 1997). Genetik yapı, popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitliliği ve bu çeşitliliğin dağılımını ifade etmektedir (McDonald, 1997). Popülasyonlardaki genotip veya alel frekansındaki değişiklikler, evrimsel değişiklikler olarak kabul edilir ve “mikro-evrim”i gösterir (Milgroom ve Peever, 2002). Popülasyon genetik çalışmalarında temel amaç, popülasyonlardaki genetik varyasyonun şekillenmesi ve korunması ile ilgili evrimsel süreci anlamaktır (Milgroom ve Peever, 2002; McDonald ve Linde, 2002). Mutasyon, genetik sürüklenme, gen/genotip akışı, üreme sistemi ve seleksiyon, patojen popülasyon yapılarının şekillenmesinde rol oynayan temel evrimsel güçlerdir (McDonald ve Linde, 2002). Patojen popülasyon genetik yapılarının bilinmesi, hem popülasyonlar üzerinde etkili olan evrimsel sürecin anlaşılması, hem de patojenlere karşı geliştirilen ıslah programlarının etkinliği açısından önem taşımaktadır (Milgroom ve Peever, 2002; McDonald ve Linde, 2002).

1980’lerden beri nötral genetik markırlar, bitki patojenlerinin genetik varyasyonu ve popülasyon genetik yapılarının incelenmesiyle ilgili çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Milgroom ve Peever, 2002). STMS’ler gibi moleküler markırlar tarafından oluşturulan multilokus profilleri, bitki patojeni funguslarda evrimsel biyoloji ve popülasyon genetik yapılarının belirlenmesi ile ilgili çalışmalarda başarıyla kullanılmıştır (Brown, 1996; Milgroom, 1996; Phan vd., 2003; Peever vd., 2004; Stukenbrock vd., 2006; Rhaïem vd., 2008; Isenegger vd., 2008). Mikrosatellit lokusları, genomda, 1-6 baz’dan oluşan kısa tekrar motifleri olup, STMS (Sequence-Tagged Microsatellite Site) veya SSR (Simple Sequence Repeats, basit tekrar dizileri) olarak da adlandırılırlar (Dutech vd., 2007). Mikrosatellit lokusları veya STMS’ler, yüksek düzeyde polimorfizmi ortaya çıkaran, yüksek tür spesifitesi gösteren, kodominant ve oldukça duyarlı nötral moleküler markırlar olup, evrimsel ilişkilerin analizi ve popülasyon genetik yapısı ile ilgili çalışmalarda sıkça tercih edilirler (Jarne ve Lagoda, 1996; Michalakos ve Excoffier, 1996; Tenzer vd., 1999;

Dutech vd., 2007). Bu markır sistemleri Avustralya, Amerika Birleşik Devletleri ve Tunus gibi farklı ülkelerdeki *D. rabiei* popülasyon yapılarının araştırılmasında da kullanılmıştır (Phan vd., 2003; Peever vd., 2004; Rhaïem vd., 2008). Patojenin orijin bölgesindeki popülasyonun genetik yapısı hakkında ise literatürde bir çalışma bulunmamaktadır. Diğer coğrafik alanlardaki patojen popülasyonlara kıyasla, konukçunun orijin alanlarından örneklenen patojen popülasyonlarda en yüksek genetik çeşitliliğin görülmesi beklenir. Ayrıca farklı coğrafik alanlardaki ve de farklı ekosistemlerdeki (tarımsal ve doğal) patojen popülasyonların genetik yapılarının kıyaslanması, patojen popülasyonlar arasındaki benzerlik/uzaklık hesaplamaları, popülasyon genetik yapılarının şekillenmesinde etkili faktörler ve olası farklı evrimsel rotaları hakkında önemli işaretler gösterebilir. Evrimsel sürecin, yakın dönem ve günümüz patojen popülasyonlarındaki genetik çeşitliliğe katkısını anlamak için, popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik varyasyonun nasıl dağıldığı ve geniş coğrafik alanlarda görülen patojenler için bölgesel varyasyon şablonları bilinmelidir (McDonald, 1997; Kubisak vd., 2004).

Genotipleme çalışmalarında floresan işaretli primerler kullanılarak kapillar jel elektroforezi ve lazer belirleme sistemi ile PCR ürün büyüklükleri saptanabilmektedir (Schuelke, 2000). Fungal popülasyon genetik analizleri floresan işaretli primerler kullanılarak STMS lokuslarındaki alel büyüklüklerinin belirlenmesine dayalı çalışmalara son zamanlarda raslanmaktadır (Stukenbrock vd., 2006; Rhaïem vd., 2008; Hemati vd., 2009). Floresan işaretli PCR ürünleri için okunan baz çifti büyüklüğü ile baz dizilim analizlerinden alınan sonuçların aynı olduğu gösterilmiştir (Rhaïem vd., 2008). Böylece baz dizilimi yapmaksızın, PCR ürününün kaç baz çifti olduğu belirlenebilmektedir.

Evrimsel biyoloji ve popülasyon genetik analizlerinin çoğunda Wright'ın F-istatistik'lerine (Wright, 1951; 1965) veya analogu olan Φ (phi)-istatistiklerine (Michalakis ve Excoffier, 1996) dayalı ölçümler kullanılmaktadır. Geleneksel istatistik analizlerde, örneklemeler hiyerarşik bir şekilde düzenlenir ve farklı istatistik ölçümler kullanılarak genetik varyasyon tipleri ölçümlenir (Corander vd., 2003). Bununla beraber son zamanlarda geliştirilen kompleks modeller kullanılarak, multilokus moleküler markır verilerinin Bayes metoduna dayalı analizleri ile popülasyon yapıları çıkarılabilmektedir (Prichard vd., 2000; Davson ve Belkhir,

2001; Corander vd., 2003). Böylece, örnek bireylerin bilinmeyen bir zamandaki hangi popülasyonlara ait olabileceği belirlenebilmektedir (Prichard vd., 2000). Tüm kombinasyonlar önce eşit ihtimalli olarak kabul edilmekte, daha sonra deneysel olarak uygun yapılar Bayes yaklaşımına göre değerlendirilmektedir (Prichard vd., 2000).

1.7. Gen/Genotip Akışı ve Patojen Göçü

Popülasyonlar arası gen veya genotip akışı, popülasyon yapılarının şekillenmesinde etkili olan evrimsel güçlerden biridir (McDermott ve McDonald, 1993; McDonald ve Linde, 2002). Genetik markırlar, fungal patojenlerde popülasyon dinamiklerini çalışmak ve göç şablonlarını çıkarmak üzere kullanılmıştır (Burt vd., 1997; Banke ve McDonald, 2005; Stukenbrock vd., 2006). Nötral lokuslardaki ortak aleller, endirekt gen/genotip akış hesaplamalarında kullanılabilir (Slatkin ve Barton, 1989; McDermott ve McDonald, 1993; Phan vd., 2003). Popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik çeşitlilik dağılımının analiz edilmesi ile, gen çeşitlilik merkezlerinin belirlenmesi ve göç şablonlarının çıkarılması mümkündür (Beerli ve Felsenstein, 2001). Rüzgar aracılığıyla çıkış noktasından 15 km'ye kadar uzaklıktaki alanlara askosporların taşınımı (Trapero-Casas ve Kaiser, 1992) veya daha geniş coğrafik skalada, enfekteli bitki materyalinin taşınımı (Kaiser, 1997; Kaiser ve Hannan, 1988) gibi yollarla, *D. rabiei* popülasyonları arasında gen/genotip akışının meydana gelmesi olasıdır. Ayrıca, yabancı ve kültür konukçularının simpatrik gelişme gösterdiği Yakın Doğu'da, gen/genotip akışının doğal ve tarımsal sistemlerdeki patojen popülasyonlar arasında gerçekleşmesi de beklenebilir. Bu şekilde genetik bilginin değişimi, yakın zamanda gerçekleşmiş olan, popülasyonlar arası ortak polimorfizmi sonuçlamaktadır (Stukenbrock vd., 2007).

1.8. Saldırganlık ve Lokal Adaptasyon

Saldırganlık (aggressiveness), patojenisite ile ilgili kantitatif özellikler için kullanılmaktadır (Pariaud vd., 2009). Nekrotroflarla ilgili bitki-patojen ilişkilerinde saldırganlığın çok-genli kontrol altında olduğu kabul edilmektedir (Thrall vd., 2005). Çok genli veya kantitatif temelli konukçu-patojen sistemlerinde, bireysel patojen genotipinin uyumunun belirlenmesinde saldırganlık bileşenleri önemlidir. Bu saldırganlık bileşenleri: inkübasyon periyodu (inokulasyondan itibaren ilk belirtilerin oluşumuna kadar geçen süre), enfeksiyon sıklığı (enfeksiyona neden

olan üreme ünitesinin oranı), latent periyot (enfeksiyondan sporulasyona kadar geçen süre), lezyon genişleme hızı (konukçu dokuyu öldüren fungusun büyüme hızı), spor üretim oranı (enfekteli konukçu dokusunun birim alanında üretilen üreme ünitesinin sayısı) olarak rapor edilmiştir (Burdon, 1987; Thrall vd., 2005; Pariaud vd., 2009). Pratikte bu saldırganlık özellikleri farklı skalalara göre ölçümlenebilir (Pariaud vd., 2009). Saldırganlık bazen hastalık şiddeti aracılığıyla tahmin edilir ve patojen lezyonlarıyla kaplı enfekteli bitki organlarının yüzdesi olarak ölçümlenir (Kolmer ve Leonard, 1986; Mundt vd., 2002; Frenkel vd., 2008; Pariaud vd., 2009).

Virülenslik, saldırganlıktan farklı olarak, kalitatif duyarlılıkta, patojenisitenin derecesi veya ölçümü olarak tanımlanmaktadır (Sharma, 2004; Pariaud vd., 2009) Patojenisite ise, hatalığa neden olma kabiliyetidir (Sharma, 2004).

Patojen lokal adaptasyonu, patojenin lokal veya simpatrik konukçularına yabancı veya allopatrik konukçularına nisbeten daha yüksek uyum göstermesi olarak açıklanmaktadır (Gandon vd., 1998; Laine, 2008). Patojen lokal adaptasyonu için yapılan bu tanımlama evrensel olmamakla beraber, genel kabul bulmaktadır (Kaltz ve Shykoff, 1998; Gandon ve Michalakis, 2002). Bununla beraber, patojenlerin yalnızca konukçularına değil, abiyotik habitatlarına da adaptasyon göstermeleri beklenmektedir (Kawacki ve Ebert, 2004). Örneğin; sıcaklık, patojenin konukçuda yerleşimini, latent evresini, hastalık şiddetini etkilemektedir (Burdon, 1987; Laine, 2008). Ayrıca, patojen veya konukçu göçü, lokal adaptasyonu ciddi biçimde etkilemektedir (Gandon ve Michalakis, 2002; Laine, 2005).

Patojenlerin lokal adaptasyon araştırmaları için oluşturulan deney düzeneklerinden biri, farklı habitatlardan veya coğrafik alanlardan örneklenen bitkilerin kontrollü şartlarda (laboratuvar, sera, deneme alanları gibi) testlenmesidir (Thrall vd., 2002; Kawacki ve Ebert, 2004). Bu tip deney düzeneklerinde, konukçu bitki popülasyonlarının genetik kompozisyonları, patojen adaptasyonu için gerekli çevresel faktör olarak kabul edilmektedir (Thrall vd., 2002; Kawacki ve Ebert, 2004). *D. rabiei*'nin konukçu ve lokal adaptasyonunu hakkında bilgi sahibi olmak için simpatrik ve allopatrik konukçuları üzerindeki saldırganlık analizleri yapılmalıdır.

1.9. *Cicer spp./D. rabiei* İnteraksiyonları ve Patojen Popülasyon Biyolojisi

“Popülasyon biyolojisi” teriminin, “bitki-patojen popülasyonlarının ve aralarındaki ilişkilerin, ekolojik ve evrimsel dinamiklerin bütünsel bakış açısı ile tanımlanması” olarak kullanımı önerilmiştir (Milgroom ve Peever, 2002). Bu bağlamda, popülasyon biyolojisi, ekolojik, genetik ve evrimsel prensipleri, popülasyon kavramı içinde bir arada inceler (Milgroom ve Peever, 2002). Patojen popülasyon biyolojilerinin çalışılması, popülasyonların genetik yapısı, patojenik çeşitliliği, hastalık epidemiyolojisi ve konukçu/patojenin evrimsel süreci hakkında önemli bilgiler sağlar ve hastalıkla mücadeleye yönelik çok yönlü yaklaşımlar geliştirmeye katkıda bulunur (Milgroom, 1996; Milgroom ve Fry 1997; Milgroom ve Peever, 2002). Bu noktada tarımsal ekosistemlerdeki patojen popülasyonlar üzerinde gerçekleştirilen yoğun çalışmalara ek olarak, yabani sistemlerdeki patojen popülasyon yapılarının da aydınlatılması ve özellikle de konukçu/patojenin orijin alanlarında böyle bir çalışmanın yapılması son derece önemli ve gereklidir.

Yabani ve kültüre alınan *Cicer* türlerinde saptanan *D. rabiei* patojen popülasyonları ile ilgili olarak hipotezlerimiz şunlardır: Kültür nohudu ve yabani *Cicer* türlerinden örneklenen izolatlar genetik açıdan farklı popülasyonları oluşturur ve orijin alanlarından örneklenen *D. rabiei* popülasyonları yüksek genetik varyasyona sahiptir (i), özellikle simpatrik yabani ve kültür nohudu patojen popülasyonları arasında gen/genotip akışı vardır (ii), patojenin hifsel gelişiminde sıcaklık önemli bir rol oynamaktadır ve konukçularının yetiştirme periyotları dikkate alındığında, patojenin tarımsal ve doğal ekosistemlerdeki popülasyonlarının sıcaklık adaptasyonları farklıdır (iii), sıcaklık etkisine karşı hifsel gelişimin fenotipik cevabı, genetik bir temele dayalı olarak, farklı ekosistemlerdeki patojen popülasyonlarda farklı kalıtım derecelerine sahiptir (iv), yabani ve kültür nohudu orijinli izolatların saldırganlık özellikleri (hastalık şiddeti, inkübasyon periyodu, final hastalık şiddeti) konukçu türü bazında farklılık gösterir (v). Bu hipotezleri test etmek için planlanan çalışmada amaçlar şunlardır: Yabani *Cicer* (*C. pinnatifidum* ve *C. judaicum*) ve kültür nohudu (*C. arietinum*)’dan örneklenen *D. rabiei* izolatlarının popülasyon yapılarının incelenmesi ve genetik varyasyonun belirlenmesi (i), simpatrik ve allopatrik patojen popülasyonlar arasındaki endirekt gen/genotip akışının hesaplanması (ii), yabani ve kültür konukçusundan elde edilen *D. rabiei* izolatlarının koloni hifsel gelişimi ve sıcaklık ilişkisinin belirlenmesi (iii), farklı konukçu ve ülke orijinli popülasyonların

koloni hisfel gelişim fenotipi ve bunun sıcaklıkla ilişkisinin kalıtım derecelerinin tahmini (iv), yabancı ve kültür nohudu orijinli izolatların simpatrik ve allopatrik konukçularında saldırganlık analizlerinin yapılması ve konukçu adaptasyonlarının değerlendirilmesi (v). Bu amaçlar doğrultusunda, Türkiye ve İsrail'den örneklenen yabancı nohut ve kültür nohudu orijinli *D. rabiei* popülasyonlarının kıyaslamalı olarak incelenmesi planlanmıştır.

Cicer spp./*D. rabiei* ilişkisi, hem doğal ve hem de tarımsal ekosistemlerdeki konukçu-patojen ilişkileri ve evrimsel biyoloji çalışmaları için ideal bir model sistemdir (Peever, 2007; Abbo vd., 2007). Bu konuda nohut yetiştiriciliği yapılan birçok ülkede çalışmalar yürütülmekle beraber, orijin bölgesindeki yabancı ve kültüre alınan *D. rabiei* popülasyonları üzerinde yeterli araştırmanın yapılmamış olması, literatürdeki en önemli eksikliklerdir (Peever, 2007; Abbo vd., 2007). Orijin bölgesindeki *D. rabiei* popülasyon yapılarının incelenmesi ve nohut tarımının Neolitik dönemden beri yoğun olarak yapıldığı ve yabancı *Cicer* türlerinden *C. judaicum*'un doğal yayılım gösterdiği İsrail örnekleri ile kıyaslamalı analizleri, patojenin bölgesel ve konukçu bazındaki varyasyonunun anlaşılması ve popülasyon farklılıklarının yorumlanması açısından aydınlatıcı olacaktır. Ayrıca, konukçunun orijin alanlarındaki patojen popülasyonu hakkında ilk raporlar sunulacaktır. Planlanan çalışma ile sunulacak verilerin, ıslah programları gibi patojenle mücadeleye yönelik pratik uygulamalara da fayda sağlayacağı umulmaktadır.

BÖLÜM 2 LİTERATÜR ÖZETLERİ

2.1. Tarımın Başlangıcı ve Nohudun Orijin Alanları

Tarımın başlangıcının, günümüzden yaklaşık 10000-12000 yıl öncesi olduğu bildirilmiştir (Redman, 1978; Smith, 1995; Zohary ve Hopf, 2000; Lev-Yadun vd., 2000; Gopher vd., 2001; Salamini vd., 2002; Tanno ve Willcox, 2006). Neolitik dönemde, tarımın başlangıcıyla insanoğlunun yaşam kültüründe önemli değişiklikler başlamıştır (Redman, 1978; Salamini vd., 2002). Coğrafik açıdan, ilk tarımsal faaliyetlerin, “Bereketli Hilal” olarak adlandırılan ve günümüzde İsrail, Ürdün, Lübnan, Suriye, Türkiye’nin Güneydoğu Anadolu’su ve Fırat ve Dicle boyunca Irak ve İran’ı kapsayan bölgede başladığı gösterilmiştir (Zohary ve Hopf, 2000; Lev-Yadun vd., 2000; Gopher vd., 2001; Salamini vd., 2002). Bazı araştırmacılar ise tarımın başladığı coğrafik alanı işaret ederken, Fırat ve Dicle nehirlerinin üst kısımlarından Negev ve Sina çöllerine kadar olan alanı kapsayan ve bugünkü Güneydoğu Anadolu, Suriye, İsrail, Lübnan, Ürdün ve Mısır’ı gösteren “Levant” ifadesini kullanmaktadır (Gopher vd., 2001). Botanik, genetik ve arkeolojik kanıtlar, tarımın beşiği olan Bereketli Hilal toprakları içinde bir çekirdek alanı işaret etmektedir ve bu çekirdek alanın, bugünkü Güneydoğu Anadolu ve Suriye’nin kuzey kesimleri olduğu bildirilmiştir (Lev-Yadun vd., 2000). İlk kurucu ürün paketi içerisinde buğday [*Triticum monococcum* L. (Einkorn buğdayı) ve *T. turgidum* L. (Emer buğdayı)], arpa (*Hordeum vulgare* L.), mercimek (*Lens culinaris* L.), bezelye (*Pisum sativum* L.), nohut (*Cicer arietinum* L.), burçak (*Vicia ervilia* L.) ve keten (*Linum usitatissimum* L.) yer almıştır (Zohary ve Hopf, 2000; Abbo vd., 2005). Bu ürünlerin yabani ataları sırasıyla: *T. boeoticum* Boiss. (Einkorn buğdayı için), *T. dicoccoides* (Körn) Thell. (Emer buğdayı için), *H. spontaneum* C. Koch, *L. orientalis* (Boiss.) Hand-Mazz., *P. elatius* L., *C. reticulatum* Ladiz. ve *V. ervilia*, *Linum bienne* Mill. (Abbo vd., 2005). Lev-Yadun vd. (2000) tarafından, kurucu ürünlerin yabani atalarının, sadece bahsedilen çekirdek alanda hep beraber bulunduğu bildirilmiştir ve lokasyonları gösterilmiştir (Lev-Yadun vd., 2000). Tarım temelli ekonomi, Yakın

Doğu'daki orijin alanlarında Levant boyunca yayılmıştır ve buradan Avrupa, Orta ve Doğu Asya, Kuzey ve Güney Afrika ve yakın dönemde Yeni Dünya'ya (Amerika ve Avustralya) ulaşmıştır (Zohary ve Hopf, 2000; Salamini vd., 2002).

Nohudun (*Cicer arietinum* L.) insanlık tarihinde ilk kez kültüre alındığı alanların Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve Suriye'nin Kuzey kesimleri olduğu, arkeolojik veriler ve yabani atasının bu bölgedeki varlığı ile desteklenmiştir (Ladizinsky ve Adler, 1976a; Zohary ve Hopf, 2000; Lev-Yadun vd., 2000; Tanno ve Willcox, 2006). Ladizinsky (1975), *C. reticulatum*'u tanımlamıştır. *C. reticulatum*'un kültür nohudu çeşitleri ile çaprazlanabilirliği ve hibritlerin fertil olması dikkate alınarak, *C. reticulatum*'un kültür nohudunun yabani atası olduğu bildirilmiştir (Ladizinsky, 1975; Ladizinsky ve Adler, 1976a). *C. reticulatum*'un Dünya'da sadece Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki sınırlı birkaç lokasyonda bulunduğu çeşitli araştırmacılar tarafından tespit edilmiştir (Ladizinsky ve Adler, 1976 a ve b; Berger vd., 2003).

2.2. *Cicer* Türleri

van der Maesen (1987), 8 tek yıllık ve 31 çok yıllık *Cicer* türünün botanik özelliklerini, habitatlarını ve taksonomik kriterlerini açıklamıştır. Yakın zamanda, *Cicer* cinsinin taksonomisi yeniden gözden geçirilmiştir (van der Maesen vd., 2005); 9 tek yıllık ve 35 çok yıllık *Cicer* türü bildirilmiştir. Ayrıca bu türlerin taksonomik özellikleri ve habitat alanları da yeniden açıklanmıştır (van der Maesen vd., 2005). Kültür nohudu (*C. arietinum* L.) tek yıllık olup, diğer yabani tek yıllık akrabalarından *C. reticulatum* Ladiz., *C. pinnatifidum* Jaub. Et Spach, *C. echinospermum* P. H. Davis ve *C. bijugum* Rech. Fil. türleri ile Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde doğal yayılıma sahiptir (Ladizinsky ve Adler, 1976 a ve b; Berger vd., 2003; van der Maesen vd., 2005). Yabani *Cicer* türlerinin Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki lokasyonları 1976(b)'da Ladizinsky ve Adler, ve son zamanlarda Berger vd. (2003) tarafından açıklanmıştır. Habitat alanları olarak ise *C. pinnatifidum* ve *C. reticulatum*, kireçli anakayanın hakim olduğu kayalık alanlarda ve asma bağlarının içerisinde; *C. bijugum* ve *C. echinospermum*'un ise kireçli ve volkanik anakayanın hakim olduğu kayalık alanlarda, ayrıca, tarla ve bağ içlerinde doğal yayılıma sahip oldukları bildirilmiştir (Berger vd., 2003). Tek yıllık yabani *Cicer* türlerinden *C. judaicum* Boiss. ise, Lübnan, İsrail ve Ürdün'deki doğal bitki formasyonlarıyla birlikte kayalık alanlarda yayılım göstermektedir (Berger vd., 2003;

van der Maesen, 2005; Ben-David vd., 2006). Diğer tek yıllık *Cicer* türlerinden *C. chorassanicum* (Bge.) M. Pop. İran ve Afganistan'dan, *C. cuneatum* Hochst. ex Rich., Etiyopya, Mısır ve Sudan'dan ve *C. yamashiate* Kitamura, Afganistan'daki kayalık alanlarda veya açık vejetasyon alanlarında doğal yayılım göstermektedir (Berger vd., 2003; van der Maesen vd., 2005).

Ladizinsky ve Adler (1976 b), tek yıllık yedi *Cicer* türü (*C. arietinum*, *C. reticulatum*, *C. echinospermum*, *C. pinnatifidum*, *C. judaicum*, *C. bijugum* ve *C. cuneatum*) arasındaki çaprazlanabilirlik durumunu dikkate alarak gruplandırma yapmışlardır. Birinci grupta *C. reticulatum* ve *C. echinospermum* yer almıştır. Kültür nohudu *C. arietinum* için *C. reticulatum*'un birincil, *C. echinospermum*'un ise ikincil gen havuzunu oluşturduğu bildirilmiştir. İkinci grupta, *C. bijugum*, *C. judaicum* ve *C. pinnatifidum* yer almıştır. Üçüncü grup ise, diğer *Cicer* türleri ile hiçbir şekilde çaprazlanabilmesi ve döl vermesi mümkün olmayan *C. cuneatum*'u içermiştir. Son iki grubun, kültür nohudu için üçüncül gen havuzunu teşkil ettiği bildirilmiştir. Sitogenetik analizlerde, bu yedi tür için kromozom sayısı 2N=16 olarak tespit edilmiştir.

2.3. *Didymella* spp. ve *Didymella rabiei*

Ascocmycota şubesinde, *Dothideomycetes* sınıfında, *Pleosporales* takımında, *Didymellaceae* sınıfında yer alan (Mycobank; <http://www.mycobank.org>) *Didymella* (Anamorf: *Ascochyta*) cinsi türleri, ekonomik açıdan nohut, fasülye, mercimek ve bezelye gibi önemli baklagillerde sorun olan ve tüm dünyada baklagil üretiminde sınırlayıcı etmen olan fungal fitopatojenlerdir (Peever, 2007). *Ascochyta rabiei* (*D. rabiei*), *A. fabae*, *A. pisi*, *A. lentis* ve *A. viciae-villosae* patojenleri sırasıyla, nohut (*Cicer arietinum*), fasülye (*Vicia faba*), bezelye (*Pisum sativum*), mercimek (*Lens culinaris*) ve karaburçakta (*V. villosa*) *Ascochyta* yanıklığı olarak bilinen hastalığa yol açmaktadır (Nene vd., 1988; Peever, 2007).

Didymella rabiei (Kovachevski) von Arx [anamorph: *Ascochyta rabiei* (Passerini) Labrousse], yabani ve kültür nohudunda *Ascochyta* yanıklığına yol açmaktadır. Bu patojenin anamorfik (eşaysız dönem) isimleri olarak *Phyllostica rabiei* (Pass.) (Sprague, 1930), *Phoma rabiei* (Pass.) (Khune ve Kapoor 1980, Singh vd., 1997b) ve *Ascochyta rabiei* (Pass.) (Labrousse, 1931) önerilmiştir. Fakat ilk iki isim yaygın olarak kabul edilmemiştir (Peever vd., 2007). *Ascochyta rabiei*'nin teleomorfu

Didymella rabiei orijinal olarak Kovachevski (1936) tarafından *Mycospharella* türüne dahil edilmiş fakat daha sonra Muller ve von Arx (1962) tarafından pseudotesyum büyüklüğü, askospor büyüklüğü, fasikülat olmayan askusların ve pseudoparafizlerin varlığı temel alınarak *Didymella* türü olarak alınmıştır. Nohutta *Ascochyta* yanıklık etmeni için yaygın olarak kullanılan isimler Index Fungorum (www.indexfungorum.org) ve Mycobank (www.mycobank.org) gibi fungal taksonomik veri tabanlarında *Ascochyta rabiei* veya *Didymella rabiei* olarak gösterilmektedir.

Didymella (Ascochyta) türlerinin taksonomilerinde temel olarak morfolojik karakterler (konidi şekli, büyüklüğü, septa varlığı), ikincil olarak, izole edildikleri konukçu ve moleküler markırlar kullanılmaktadır (Gossen vd.,1986; Fatehi vd., 1998; Kaiser vd., 1997; Peever vd., 2007).

Kültür ortamında, *D. rabiei*'nin, diğer *Didymella* patojenlerine kıyasla kültürde beş kez daha yavaş geliştiği ve daha koyu bir koloni morfolojisine sahip olduğu bildirilmiştir (Kaiser vd., 1997).

Kontrollü koşullarda yapılan yapay inokulasyonlar, *Ascochyta (Didymella)* türlerinin konukçu spesifitesini göstermiştir (Kaiser, 1991; Kaiser vd., 1997; Khan vd., 1999a; Hernandez-Bello vd., 2006).

Peever vd. (2007) tarafından yabancı ve kültüre alınan baklagillerden örneklenen *Ascochyta (Didymella)* spp. izolatlarını, filogenetik açıdan bilgilendirici *ITS* (Transkribe olan aralayıcı rDNA bölgeleri, Internal Transcribed Spacer), *EF1- α* (Translasyon uzama faktörü 1- α), *G3PD* (Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz) ve *CHS1* (Kitin sentaz1) gen bölgelerinin kısmi baz dizilim sonuçları ile kıyaslamıştır. Elde edilen verilerin birleştirilmesi ile nohut patojeni *D. rabiei*'nin diğer *Ascochyta (Didymella)* patojenlerinden (*A. fabae*, *A. pisi*, *A. lentis* ve *A. viciae-villosae*) genetik olarak uzak ve farklı olduğunu göstermiştir (Peever vd., 2007). Ayrıca, *D. rabiei*'nin monofiletik orijinli olduğu bildirilmiştir (Peever vd., 2007).

Wilson ve Kaiser (1995) tarafından, 15 *D. rabiei* izolatu arasında tüm olası laboratuvar çaprazlamaları yapılmıştır; eşeyli ve eşeysiz üreme yapıları sitolojik açıdan incelenmiştir. Eşeysiz üremesi piknidya yataklarında oluşturulan konidileri ile gerçeklemektedir (Wilson ve Kaiser, 1995). Mat1.1 ve Mat1.2 olmak üzere iki

eşey tipi olan patojenin heterotallik eşeyli üremesi ise pseudotesyum tipi askus yataklarında oluşturulan askosporları ile gerçekleşmektedir (Wilson ve Kaiser, 1995). Askosporlar bariz bir septum içeren iki hücreli sporlardır (Wilson ve Kaiser, 1995). Askospor ve konidilerin çok nükleuslu olduğu, askosporlardan çimlenen hiflerin ise tek nükleuslu olduğu gözlenmiştir (Wilson ve Kaiser, 1995). Barve vd. (2003) ise, eşeysel döngüyü kontrol eden *MAT* lokusunun haritasını çıkarmıştır ve *D. rabiei* patojeni için *MAT*-spesifik multipleks-PCR analizini geliştirmişlerdir. Böylece klasik laboratuvar çaprazlamaları yapmaksızın patojen izolatların eşey tiplerinin DNA seviyesinde tespit edilmesi mümkün olmuştur (Barve vd., 2003). Patojenin eşey tipi dağılımları, Türkiye (Kaiser ve Küsmenoğlu, 1997; Özkılınç, 2006; Bayraktar vd., 2007a), İsrail (Lichtenzveig vd., 2005), Amerika Birleşik Devletleri (Barve vd., 2003; Peever vd., 2004), Kanada (Armstrong vd., 2001), İspanya (Navas-Cortes vd., 1998), Avustralya (Galloway ve MacLeod, 2003); Tunus (Rhaiem vd., 2008) gibi birçok ülkeden rapor edilmiştir.

Kaiser vd. (1997) ve Hernandez-Bello vd. (2006), *Ascochyta (Didymella)* patojenlerinin laboratuvar çaprazlamalarını yapmıştır. *A. rabiei* × *A. fabae* ve *A. rabiei* × *A. lentis* arasında yapılan çaprazlamaları başarısız olmuştur ve pseudotesyum oluşmamıştır (Kaiser vd., 1997). Bununla beraber aynı çalışmada, *A. fabae* × *A. lentis* arasındaki çaprazlamalar, pseudotesyum ve askosporların oluşumu ile başarılı sonuç vermiştir (Kaiser vd., 1997). Ayrıca Hernandez-Bello vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada, *A. pisi* × *A. fabae* ve *A. viciae-villosae* × *A. lentis* çaprazlamaları da pseudotesyum ve askospor neslinin oluşumu ile başarılı sonuç vermiştir. Hibrit askosporlardan elde edilen fungal kültürlerin morfolojileri normal olmakla beraber, ebeveynlerine göre daha fazla fenotipik varyasyon göstermiştir (Hernandez-Bello vd., 2006). Ancak, hibrit nesilde konukçu adaptasyonu açısından zayıflama olduğu bildirilmiştir. Fasulye ve bezelyede patojen *Ascochyta* türleri arasında yapılan çaprazlamalar (*A. pisi* × *A. fabae*) neticesinde elde edilen 120 hibrit askospor neslinden yalnızca 3'ü bezelye üzerinde patojenik bulunurken, fasulye üzerinde hiç biri patojenisite gösterememiştir (Hernandez-Bello vd., 2006).

Frenkel vd. (2010) tarafından, laboratuvar koşullarında yabancı *C. judaicum* ve kültür nohudu orijinli *D. rabiei* izolatları arasında eşeysel üremenin gerçekleşebildiği ve yaşayabilir askosporların oluşturulduğu bildirilmiştir. Bununla beraber, iki farklı

orijinden örneklenen bu izolatların laboratuvar aprazlarından elde edilen 7 hibrit izolatın, yabani ve kültür konukçuları üzerinde testlendiğinde, patojenisitelerinde kayıp olmadığı, fakat, ebeveyn izolatlarla kıyaslandığında, patojenik uyum glerinde azalma olduğu saptanmıştır (Frenkel vd., 2010).

2.4. Konukçu-Patojen Birlikte Evrimleşmesi

Patojenin orijin merkezinin, konukçu-patojen birlikte evrimleşmesi hipotezince, konukçusunun orijin merkezi ile aynı olduğu kabul edilmektedir (Leppik, 1970; Stukenbrock ve McDonald, 2008). Böylece, *D. rabiei*'nin orijin alanının da konukçusunun orijin alanı olan Güneydoğu Anadolu Bölgesi olması beklenmektedir (Leppik, 1970; Abbo vd., 2007). Konukçu ve patojenin birlikte evrimleşmesi hipotezini destekleyen çeşitli çalışmalar, farklı patosistemlerde gösterilmiştir (Stukenbrock ve McDonald, 2008).

Magnaporthe oryzae, pirinçte (*Oryza sativa*) yanıklık etmeni olan önemli bir fungal patojendir. Çoğunlukla eşeysiz üreme ile klonal popülasyon yapısında sahip olan patojenin (Zeigler, 1998), Himalayalar'da eşeyli üreme gösterdiği ve eşit eşey tipi dağılımını tespit edilmiştir (Kumar vd., 1999). Böylece, patojenin Asya orijinli olduğu bildirilmiştir (Kumar vd., 1999). Arkeolojik verilere dayalı olarak pirincin, ilk olarak Çin'de, yabani türlerinden evcilleştirildiği sonucuyla (Vaughan vd., 2003) uyumlu olarak konukçu-patojenin aynı orijinli olduğu desteklemiştir. Ayrıca, Couch vd. (2005) tarafından parsimoni, maksimum olasılık ve Bayes analizleri kullanılarak yapılan genetik çalışmalar ile de pandemik pirinç patojeni *M. oryzae*'nin monofiletik orijinli olduğu gösterilmiştir.

Stukenbrock vd. (2007) tarafından, buğdayda Septoria yaprak lekesi etmeni fungal patojen *Mycosphaerella graminicola* için konukçu-patojen birlikte evrimleşmesi hipotezini test etmek üzere bir çalışma yapılmıştır. İnan'daki yabani konukçularından ve Ortadoğu, Avrupa ve Kuzey Amerika'daki kültür konukçularından toplam 123 izolat örneklenmiştir (Stukenbrock vd., 2007). 7 kromozomal gende 464 polimorfik bölge saptanmıştır ve elde edilen tüm verilerin birleştirilmiş sonuçları, patojenin orijin alanlarının konukçusunun orijin alanlarıyla uyumlu olarak Bereketli Hilal toprakları olduğu ve zaman olarak da yaklaşık 10000-12000 yıl önce ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Popülasyonların simpatrik ayrımının ise, güçlü bir Şekilde genetik farklılaşmaya yol açtığı bildirilmiştir (Stukenbrock vd., 2007).

Konukçu-patojen birlikte evrimleşmesi üzerine yapılan bir diğer çalışma *Ustilago maydis*-mısır (*Zea mays*) patosistemi üzerinde olmuştur. Mısır, ilk kez, yaklaşık 8000 yıl önce Meksika’da kültüre alınmıştır (Matsuoka vd., 2002). Munkacsi vd. (2008) mikrosatellit markırlar kullanarak patojen popülasyon genetik yapısını ortaya çıkarmak ve patojen popülasyonların ayrılma zamanlarını belirlemek üzere bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. İki Meksika, ikisi Güney Amerika ve biri Kuzey Amerika olmak üzere beş *Ustilago maydis* patojen popülasyonu örneklemiştir (Munkacsi vd., 2008). Meksika, patojenin orijin merkezi olarak düşünülmesine rağmen, Meksika’dan örneklenen patojen popülasyonu beklenen en yüksek genetik çeşitliliği göstermemiştir (Munkacsi vd., 2008). Güney Amerika popülasyonlarından birinin en yüksek çeşitliliğe, Kuzey Amerika popülasyonunun ise en fazla sayıda özel alellere sahip olduğu saptanmıştır. Bununla beraber, patojen popülasyonların ayırım zamanları üzerine yapılan hesaplamalarda, Meksika popülasyonunun diğer Amerika popülasyonlarından daha eski olduğu tespit edilmiştir. İki Meksika popülasyonu için hesaplanan en eski ayırım zamanı 6000 ve 10000 yıl öncesi olmuştur. Mısırın ilk kültüre alınma zamanı (8000 yıl öncesi) ise bu iki zaman arasında yer almıştır (Munkacsi vd., 2008). Kuzey Amerika’daki patojen popülasyonunun orijin alanlarındakine kıyasla daha yüksek genetik çeşitlilik göstermesi, Kuzey Amerika’da mısırın çok yoğun kültürünün yapılmasından dolayı, daha geniş bir popülasyona sahip olabileceği ile açıklanmıştır. Ayrıca, orijin alanlarındaki patojen popülasyonunun nispeten daha düşük genetik çeşitliliği, orijin alanlarının diğer örnekleme alanlarına kıyasla coğrafik açıdan daha izole olmasına bağlanmıştır (Munkacsi vd., 2008).

2.5. Nohudun Kültüre Alınma Süreci

Abbo vd. (2003 a ve b), nohudun evcilleştirilme ve kültüre alınma sürecinde rol oynayan faktörleri ve *D. rabiei* patojeninin, konukçusunun kültüre alınma sürecini nasıl etkilediğini açıklamıştır. Yabani atanın (*C. reticulatum*) sınırlı dağılımı ve seyrek oluşu, kültüre almada kurucu etkisi, ürün ekim nöbetinin kıştan ilkbahara alınması ve bitki geliştirme programlarında kendine döllek bitkiler kullanılmasının nohut için çeşitliliği önleyen dört temel faktör olduğu bildirilmiştir (Abbo vd., 2003b). Bu faktörler içerisinde ürün ekiminin kıştan ilkbahara alınmasındaki temel sebebin ise *D. rabiei* tarafından neden olunan *Ascochyta* yanıklığının etkilerinden kaçmak olduğu ileri sürülmüştür (2003 a ve b). Birçok araştırma sonucuna göre, kışlık ekim uygulamasının daha yüksek verim sağladığı gösterilmiş olmasına rağmen

(Saxena, 1984; Reddy ve Singh, 1990; Shtienberg, 2000; Düşünceli vd., 2007; Ben Mohammed vd., 2010), *Ascochyta* yanıklığının ciddi boyuttaki etkilerinden kaçınmak amacıyla, özellikle çoğu Akdeniz ülkesinde geç ekim uygulamasının daha uygun olduğu bildirilmiştir (Saxena, 1984; Reddy ve Kabbabeh, 1985; Singh vd., 1997a; Abbo vd., 2003a; Düşünceli vd., 2007; Ben Mohammed vd., 2010). Yakın Doğu orijinli ve *Ascochyta* yanıklığından etkilenen diğer baklagillerden mercimek ve bezelye için ise orijinal kışlık ekim rejimlerinde bir değişiklik yapılmasına gerek duyulmamıştır (Abbo vd., 2003a). Bunun nedeni ise, *Ascochyta* patojenlerinin mercimek ve bezelye’de yol açtığı ürün kayıplarının, nohutta olduğu gibi çok ciddi boyutlarda ve ciddi epidemiler şeklinde görülmemiş (Gossen ve Morrall, 1983; Baya vd., 1992; Ali vd., 1994; Tivoli vd., 1996; Morall, 1997) olmasına bağlanmıştır (Abbo vd., 2007). Agronomik problemlerine rağmen, kültüre alma sürecinde nohut için bu kadar yoğun uğraşının sürdürülmesi ise, son derece önemli besin içeriğiyle ilişkilendirilmiştir (Kerem vd., 2007). Nohudun, çeşitli beyin fonksiyonları ve insan davranışlarını etkileyen beyin serotonin sentezinde belirleyici triptofan aminoasidi (Fernstrom ve Fernstrom, 1995) açısından zengin olduğu bildirilmiştir (Kerem vd., 2007). Bu açıdan, Kerem vd. (2007) tarafından, nohudun, özellikle tarih öncesi dönem insanların temel ihtiyaçlarını karşılama noktasındaki öneminden bahsedilmiştir.

Kültür nohudunun ekim zamanlamasında değişikliğe gidilirken, yabani nohut türleri doğada, kışın çimlenme, kış sonu-bahar başı çiçeklenme ve yaz başı olgunlaşma şeklindeki orijinal yetiştirme döngüsünü korumuştur (Abbo vd., 2003 a ve b). Abbo vd. (2007) tarafından, yabani nohut türleri ve kültür nohudu arasındaki yetiştirme periyodu farklılıklarının, doğal ve tarımsal ekosistemlerdeki patojen popülasyonlar arasında ekolojik ayrıma yol açabilecek önemli bir seleksiyon faktörü olabileceğini ileri sürülmüştür.

2.6. *Ascochyta* Yanıklığı; Hastalık Karakterizasyonu, Epidemiyolojisi ve Mücadelesi

Nohut (*C. arietinum*), fasüye ve bezelyeden sonra dünyadaki en önemli üçüncü baklagil ürünüdür (Pande vd., 2005). Dünyadaki başlıca üretim alanları, Hindistan, Ortadoğu ve Akdeniz Ülkeleri, Kuzey Afrika, Meksika, Kuzeybatı Amerika, Avustralya, Güney Avrupa ve Kanada’dır (FAO, 2007). *D. rabiei* patojeni, nohut (*C. arietinum*) tarımı yapılan tüm ülkelerde üretimi sınırlandıran en önemli biyotik

faktör olarak bildirilmiştir (Nene, 1984; Reddy ve Kabbabeh, 1985; Chaube ve Mishra, 1992; Kaiser ve Küsmenoğlu, 1997; Akem, 1999; Shtienberg vd., 2000; Düşünceli vd., 2007; Ben Mohammed vd., 2010). Ayrıca fungal etmenin çeşitli yabancı *Cicer* türlerini de etkilediği rapor edilmiştir; Bulgaristan'da *C. montbretii* (Kaiser vd., 1998), Gürcistan'da *C. incisium* (Peever vd., 2007), İsrail'de *C. judaicum* (Frenkel vd., 2007) ve Türkiye'de *C. pinnatifidum* (Can vd., 2007) olmak üzere doğal alanlarında yayılım gösteren yabancı nohut türlerinden *D. rabiei* izolasyonları yapılmıştır.

Patojenin neden olduğu hastalık etkileri morfolojik, histolojik, sitolojik ve biyokimyasal boyutlarda tanımlanmıştır (Höhl vd., 1990; Köhler vd, 1995; İlarlan ve Dolar, 2002). Patojen, “emeç (apressorium)” yapısının oluşumundan sonra epidermise ve/veya hidadotlara doğrudan penetrasyonu ile bitkiye giriş yapmaktadır (Höhl vd., 1990; Köhler vd, 1995). *D. rabiei*, epidermis altında, apoplastik boşlukta yayılmakta, hücreler arası kısımları ve hücreleri istila etmekte, yaprak dokusunun hızla yıkılmasına ve plazmolize neden olmaktadır ki bu durum sonuçta, nekrotik bölgelerin oluşumuna yol açmaktadır (Höhl vd., 1990; Köhler vd., 1995). Piknidialar (eşeysiz dönemde konidilerin bulunduğu yapı) genellikle, bitki dokularının iletim demetlerinin yanında gelişmektedir (Köhler vd., 1995). Hastalık belirtileri konukçunun tüm toprak üstü kısımlarında gelişebilen nekrotik lezyonlardan oluşmaktadır (Shtienberg vd., 2000; Tivoli ve Banniza, 2007). Gövde üzerindeki derin lezyonlar gövde kırılmalarına yol açmaktadır (Reddy ve Singh, 1990; Tivoli ve Banniza, 2007). Tohum kapsülü üzerinde meydana gelen nekroz ise, tohum enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Kaiser, 1981; Tivoli ve Banniza, 2007).

İlarlan ve Dolar (2002) tarafından duyarlı ve dayanıklı nohut çeşitlerinin gövde ve yapraklarında *D. rabiei* inokulasyonundan sonra meydana gelen değişiklikler, doku ve hücre seviyesinde araştırılmıştır. İnokulasyondan 3, 5 ve 7 gün sonra konukçu bitkilerdeki histopatolojik ve sitopatolojik etkiler, geçirimli ve taramalı elektron mikroskoplarında incelenmiştir. Penetrasyon bölgelerindeki (patojenin giriş yaptığı bölgelerde) kütikula ve stomalarda tipik emeçlerin oluştuğu; 3. günde duyarlı bitkilerin gövde ve yapraklarında, epidermis altında, patojenin hücreler arası yayılım gösterdiği; 5. günde, hücre plazmolizi, organel ve selüloz dejenerasyonuna yol açtığı; 5. ve 7. günler arasında ise piknidya yataklarının oluştuğu bildirilmiştir. Duyarlı

bitkilerde lignin hücre duvarı 7. günden sonra zarar görmeye başlarken, dayanıklı bitkilerde, daha az hücre dejenerasyonu ve piknidya oluşumu gözlenmiştir (İlarslan ve Dolar, 2002).

Ürün kayıpları, ülkeye ve iklim şartlarına bağlı olarak, %10-20 ile %50-70 arasında olabilmektedir (Nene, 1981; Açıkgöz vd., 1994; Tivoli ve Banniza, 2007). Patojen gelişimini destekleyen iklim koşullarında ise hastalık %100'e varan ürün kayıplarına yol açabilmektedir (Nene, 1984; Akem, 1999). Hastalık epidemiyolojisinde sıcaklık ve nemin temel çevresel etkenler olduğu bildirilmiştir (Nene ve Reddy, 1987; Trapero-Casas ve Kaiser, 1992; Tivoli ve Banniza, 2007). Epidemilerin başlaması ve gelişimi için ise spor salınımı en önemli faktördür (Trapero-Casas vd., 1996; Tivoli ve Banniza, 2007). Konidiler yağmur yardımıyla kısa mesafede, askosporlar ise rüzgar yardımıyla uzak mesafelere yayılımı sağlamaktadır (Tivoli ve Banniza, 2007). Askosporların, hastalığın görüldüğü tarlalardan 10-15 km uzaklıktaki başka bir tarlada enfeksiyonları başlatabildiği bildirilmiştir (Kaiser, 1987; Tivoli ve Banniza, 2007). Enfekteli bitki materyalinin taşınımı ise, patojenin ülkeler ve kıtalar arası geniş coğrafik alanlara yayılmasında en önemli role sahiptir (Maden vd., 1975; Kaiser ve Hannan, 1988; Kaiser, 1997; Tivoli ve Banniza, 2007).

Hastalıkla mücadelede, dayanıklı veya tolerant nohut çeşitlerinin kullanımı başta olmak üzere, sertifikalı ve hastalıktan arı tohum kullanımı, bir önceki döneme ait nohut anızının uzaklaştırılması, nohut tarlalarının arasında diğer ürün bitkilerinin ekimi, ürün rotasyonu ve geç ekim uygulaması (özellikle hassas çeşitler için) gibi kültürel mücadeleler önerilmektedir (Nene ve Reddy, 1987; Akem, 1999; Chongo vd. 2000; Düsünceli vd., 2007; Ben Mohammed vd., 2010).

Dayanıklı hatların kullanımı *Ascochyta* yanıklığını kontrol etmek için en pratik yol olduğundan, konukçuda genetik direnci geliştirmek, nohut ıslah programlarının temel amacı olmuştur (Reddy ve Singh, 1984; Muehlbauer ve Singh, 1987; Singh ve Reddy, 1994; Tivoli vd., 2006; Bsandrai vd., 2009; Buchwaldt vd., 2009). Bununla beraber *D. rabiei*'ye karşı ıslah çalışmalarında, dirençli tohum miktarının çok az ve nohudun kısıtlı genetik çeşitliliğe sahip olmasından dolayı hastalığa dayanıklı çeşit elde edilememektedir (Reddy ve Singh, 1984; Singh ve Reddy, 1993; Udupa vd., 1993; Abbo vd., 2003b; Imtiaz vd., 2009). Diğer taraftan, *D. rabiei* popülasyonlarındaki yüksek patojenik varyasyon da patojenle mücadeleyi

güçleştirmektir (Dolar ve Gürcan, 1992; Navas-Cortes vd., 1998; Udupa vd., 1998; Chen vd., 2004; Chongo vd., 2004; Lichtenzveig vd., 2005; Imtiaz vd., 2009). Dünyadaki birçok dayanıklı çeşit geliştirme programları, yabancı *Cicer* türlerini de taramaktadır; Ascochyta yanıklığına karşı dayanıklı yabancı ekotipler *C. echinospermum*, *C. reticulatum*, *C. bijigum*, *C. judaicum* ve *C. pinnatifidum* (Harware vd., 1992; Singh ve Reddy, 1993; Singh vd., 1994; Collard vd., 2001; Collard vd., 2003) arasında saptanmıştır. Ayrıca mutant oluşturma yoluyla nohut çeşitleri içinde dayanıklı hatların elde edilmesine yönelik çalışmalar da yürütülmektedir (Shah vd., 2009). Yabancı ekotiplerin kullanımı ve kültür çeşitleri üzerinde yoğun ıslah çalışmaları ICARDA (International Center for Agricultural Research in the Dry Areas) ve ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics) gibi uluslar arası araştırma kuruluşlarında devam etmektedir (Muehlbauer ve Chen, 2007; Imtiaz vd., 2009; Pande vd., 2009). Özellikle *D. rabiei* popülasyonlarındaki yüksek çeşitlilikte dolayı Ascochyta yanıklığına karşı ıslah edilen çeşitlerde sürdürülebilir direnç sağlanamamaktadır (Vir ve Grewal, 1974; Reddy ve Kabbabeh, 1985; Singh, 1990; Vail ve Banniza, 2008).

2.7. *D. rabiei*'de Genetik Varyasyon ve Fungal Popülasyon Genetik Analizlerinde STMS (Sequence Tagged Microsatellite Site) Markırların Kullanımı

D. rabiei'nin popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik varyasyonunu araştırmak üzere farklı moleküler markır sistemleri kullanılmıştır (Morjane vd., 1994; Gesitlinger vd., 1997; Udupa vd., 1998; Jamil vd., 2000; Santra vd., 2001; Phan vd., 2003; Peever vd., 2004; Bayraktar vd., 2007b; Rhaiem vd., 2008; Frenkel vd., 2010). Bu markır sistemleri RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) (Morjane vd., 1994; Udupa vd., 1998), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) (Fischer vd., 1995; Udupa vd., 1998; Santra vd., 2001), kısa tekrar dizilerinin primer olarak kullanıldığı ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) (Geistlinger, 1997; Jamil vd., 2000; Özkılınç, 2006; Bayraktar vd., 2007b), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) (Peever vd., 2004) ve tekrar motiflerinin yer aldığı lokusların çalışıldığı STMS (Sequence Tagged Microsatellite Sites) (Phan vd., 2003; Peever vd., 2004; Rhaiem vd., 2008) olmuştur. Ayrıca farklı markır sistemleri kullanılarak Lichtenzveig vd. (2002) tarafından *D. rabiei* genomunun ilk bağlantı (linkage) haritası çıkarılmıştır. Bu amaçla, Amerika Birleşik Devletleri ve Suriye orijinli iki

izolatın laboratuvar aprazından elde edilen 77 F1 nesli üzerinde çalışılmıştır (Lichtenzweig vd., 2002). Toplam 232 DAF (DNA DNA Amplified Fragment) primeri ve 37 STMS primer çifti ebeveyn izolatlar arasındaki polimorfizm için testlenmiştir. 36'sı DAF ve 14' STMS olmak üzere 50 markır haritalanmıştır. Bu markırlar 10 bağlantılı grup olarak 261.4 cM (santimorgan) alan kaplamıştır. 19 markır ise bağlantısız bulunmuştur.

Morjane vd. (1994), (CAA)₅, (CA)₈ ve (GATA)₄ ve (CAT)₅ primerlerini kullanarak, Tunus'tan toplanan izolatlarda genetik farklılıkları belirlemişlerdir. Bu çalışmada 5 tarladan 156 izolat toplanmış ve 17 farklı genotip tespit edilmiştir (Morjane vd., 1994). Bir bitkiden alınan örneklerde bile farklı genotiplerin belirlendiği çalışmada, bir tarlada çok sayıda genotipin bulunabileceği rapor edilmiştir (Morjane vd., 1994).

Geistlinger vd. (1997) tarafından, *D. rabiei*'de (CATTT)_n, (CATTA)_n, (CATATCATTT)_n ve (TATTT)_n motiflerinin sık tekrarlandığı ve polimorfik olduğu saptanmıştır. (GTTTGG)₃, (GGAT)₄, (GATA)₄, (GACA)₄, (GAA)₅ oligonükleotid tekrarların primer olarak kullanıldığı Tunus ve Suriye'den rneklenmiş *D. rabiei* popülasyonlarında polimorfizm belirlenemezken, aynı oligonükleotidlerin prob olarak kullanıldığı RFLP çalışmalarında polimorfik bant profilleri görülmüştür.

Udupa vd. (1998), Suriye'den toplanan *D. rabiei* izolatlarının RAPD ve ISSR markırlar kullanarak genotip-spesifik DNA profillerini belirlemiştir.

Jamil vd. (2000), Pakistan'ın çeşitli bölgelerinden toplanan 130 *D. rabiei* izolatının genetik ve patojenik profili üzerinde yaptıkları çalışmada, (CAA)₅, (GAA)₅, (GA)₈, (CA)₈ ve (GATA)₄ markırlarının izolatları 6 farklı genotip gruba ayırdığını bildirmiştir.

Santra vd. (2001), Hindistan, Suriye, Amerika ve Pakistan'dan örneklenen *D. rabiei* izolatlarında RAPD markırları kullanarak, izolatların orijinlerine göre A ve B olmak üzere bir dağılım gösterdiklerini rapor etmişler.

Özkılınç (2006), Gaziantep, şanlıurfa, Diyarbakır, Adana, Eskişehir, Mersin ve Kahramanmaraş yörelerine ait *Ascochyta* yanıklığı görülen hastalıklı bitki örneklerinden izole edilen 69 *D. rabiei* izolatında (CAG)₅, (AGG)₅, (GTG)₅, (TCC)₅, (CAC)₅, (ACTG)₅, (GACAC)₃, (GACA)₄, (GCGT)₅, (CA)₈, (CT)₈, (GATA)₄, (GATT)₄

ve (GAAT)₄ ISSR markırlarını testlemiştir. Sadece (CAG)₅ ve (GACA)₄, izolatlar arasında üçer farklı DNA bandı oluşturmaları ile polimorfik bulunmuştur. (ACTG)₅ (CA)₈, (CT)₈, (GAAT)₄ (GCGT)₅ (AGG)₅ ve (CAC)₅ primerleri ise çok zayıf ve monomorfik bant profilleri oluşturmuştur. (GATA)₄ ve (GATT)₄ primerleri ise hiçbir ürün oluşturmamıştır (Özkılınç, 2006).

Bayraktar vd. (2007b), Türkiye'deki 18 ilden örneklenmiş 64 *D. rabiei* izolatında 16 ISSR markırını testleyerek genetik çeşitliliği araştırmışlardır. Tekrarlanabilir bant profili sunan 10 markırın çoğalttığı toplam 61 DNA fragmentinin 56'sı polimorfik bulunmuştur (Bayraktar vd., 2007b).

STMS markırların fungal popülasyon genetik yapısı ve evrimsel biyoloji çalışmaları için oldukça uygun olduğu pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Brown, 1996; Milgroom, 1996; Phan, 2003; Peever, 2004; Dutech vd., 2007; Rhaiem, 2008; Isenegger, 2008). *D. rabiei* popülasyonlarında genetik varyasyonu ortaya çıkarmak amacıyla STMS markırlar başarılı bir şekilde uygulanmıştır (Phan, 2003; Peever, 2004; Rhaiem, 2008; Frenkel vd., 2010). Ayrıca farklı patojen popülasyonlarda, örneğin; nohutta gri küf etmeni *Botrytis cinerea* (Isenegger vd., 2008); *Pinus taeda*'da patojen Basidiomycetes sınıfında yer alan fungal patojen *Cronartium quercuum* f.sp. *fusiforme* (Kubisak vd., 2004); buğday patojeni *Pheosphaeria nodorum* (Stukenbrock vd., 2006), Kanola'da *Sclerotinia sclerotiorum* (Hemati vd., 2009) patojen popülasyonlarında STMS markırlar kullanılarak, popülasyon genetik yapısı ve çeşitliliği ortaya çıkarılmıştır.

Geistlinger vd. (2000) tarafından yapılan çalışmada *D. rabiei* için 20 mikrosatellit lokusu (STMS) karakterize edilmiştir. Lichtenzweig vd. (2002), 37 STMS primer çiftini kullanmış ve 13'ünün (%35) net ve tekrarlanabilir polimorfik ürünler gösterdiğini rapor etmiştir. PCR tekniğine dayalı olarak STMS markırlar kullanılarak, *D. rabiei*'nin popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik varyasyonu ve popülasyon yapısı Avustralya'dan (Phan vd., 2003), Amerika Birleşik Devletleri'nden (Peever vd., 2004) ve Tunus'tan (Rhaiem vd., 2008) bildirilmiştir.

Phan vd. (2003), toplam 52 *D. rabiei* izolatında 20 STMS markırını ile genetik çeşitliliği araştırmışlardır. %5'lik poliakrilamid jelde alel büyüklükleri değerlendirilmiştir ve toplamda 76 alel belirlenmiştir. Elde edilen STMS verilerine

dayalı olarak, Avustralya popülasyonunda (toplam 36 izolat) oldukça düşük genetik çeşitlilik saptanmıştır ($H_T=0.02$). Farklı coğrafik orijinli izolatlarda (4 Amerika, 4 Suriye ve 5 Kanada izolatı) ise daha yüksek genetik çeşitlilik ($H_T=0.45$) bulunmuştur. Phan vd. (2003) tarafından patojenin daha geç giriş yaptığı Avustralya'daki genetik varyasyonun diğer bölgelerdeki *D. rabiei* popülasyonlarında saptanan genetik varyasyonda daha düşük olduğu bildirilmiştir.

Peever vd., (2004), toplam 496 *D. rabiei* izolatından oluşan alt-popülasyonlar ve iki ebeveyn izolatın laboratuvar çaprazından elde edilen hibrit izolatlar (41-45) için dört STMS (ArH05T, ArA06T, ArR12D, ArH02T) lokusundaki aleller tespit edilmiştir. Alt-popülasyonlar, Amerika Birleşik Devletleri'nin Kuzey-Batı Pasifik bölgesinden 1983-2000 yılları arasında örneklenmiş izolatlardan oluşmuştur. 240 haplotip belirlenmiştir. Lokus bazında alel sayılarının 3-6 arasında değiştiği bildirilmiştir. Alt-popülasyonlardaki genetik çeşitlilik 0.345 ile 0.604 arasında olmuştur (Peever vd., 2004). 1983 yılında örneklenmiş izolatlarda tek bir multilokus genotipi saptanırken, 1984 yılında daha fazla STMS alel çeşitliliği ve aynı örnekleme lokasyonunda patojenin diğer eşey tipi saptanmıştır. Böylece 1983-84 yılları arasındaki dönemde, bölgeye çok fazla patojen genotipinin giriş yapmış olduğu ve bugünkü genetik çeşitlilikten, o dönemin patojen izolatlarının sorumlu olduğu şeklinde yorum yapılmıştır. Ayrıca bu çalışmada STMS ve MAT lokusları arasında bağlantı olmadığı bildirilmiştir.

Rhaim vd. (2008), Tunus'taki 5 lokasyondan örneklenmiş *D. rabiei* popülasyonlarında genetik yapı ve varyasyonu ortaya çıkarmak; eşey tipi dağılımları ile genetik çeşitlilik arasında ilişki kurmak amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Genetik yapı ve çeşitlilik analizleri için 6 STMS lokusunu (ArR01D, ArH06T, ArH05T, ArA06T, ArR12D, ArH02T) araştırmışlardır. İleri primerleri floresan işaretli olarak gerçekleştirilen PCR analizlerinden elde edilen ürünlerin alel büyüklükleri, kapillar jel elektroforezi ile saptanmıştır. Lokuslara göre alel sayıları 2-17 arasında değişmiştir. Kapillar jel elektroforezi ile belirlenen bir ile üç baz çifti farklılıkları, seçilen bazı lokusların sekans analizleriyle de doğrulanmıştır. Popülasyonların genetik çeşitliliği 0.13-0.67, her lokus için saptanan genetik çeşitlilik ise 0.34-0.74 arasında olmuştur. Tüm örnekler için ortalama genetik çeşitlilik 0.56 olarak bulunmuştur. Mat1.1 eşey tipindeki izolatlar için genetik

çeşitliliğin, Mat1.2 eşey tipindeki izolatlarda saptananlardan daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca farklı popülasyonlardaki Mat1.2 izolatlarının aynı multilokus genotipleri olduklarını belirlemişlerdir. Tunus'ta patojen için, eşeysiz üremenin baskın olduğu ve konidiler için uzak mesafe dağılımının mümkün olmamasından dolayı sınırlı bir gen akışının bulunduğu ve böylece Mat1.2 eşey tipinin ülkeye son on yıl içerisinde girmiş olabileceği sonucuna varılmıştır. Rhaiem vd. (2008), Tunus'taki beş bölgeden elde edilen *D. rabiei* popülasyonları arasında yüksek genetik farklılaşma olduğunu ve genetik çeşitliliğin Phan vd (2003) ve Peever vd. (2004) tarafından araştırılan *D. rabiei* popülasyonlarında görülenden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Evrimsel çalışmalarda, moleküler markır verileri kullanılarak popülasyon farklılaşma derecesinin tahmini için istatistiksel metodların deneysel uygulaması üzerine yoğun çalışmalar yapılmıştır (Yang 1988; Weir, 1996; Excoffier, 2001; Corander vd., 2003). Yaygın olarak kullanılan Wright'ın F-istatistik (Wright, 1951; 1965) ölçümlerinin yanı sıra, son zamanlarda, daha kompleks metotlar da geliştirilmiştir (Holsinger, 1999; Edwards ve Beerli, 2000; Kitada vd., 2000; Prichard vd., 2000; Dawson ve Belkhir, 2001). Yakın zamanlarda Prichard vd. (2000) ve Dawson ve Belkhir (2001)'in yaklaşımları ile, Bayes-modeli temelli gruplandırmalar kullanılarak, bireylerin bilinmeyen bir zamandaki hangi popülasyonlara dahil olabileceği saptanabilmektedir. Bayes algoritmasına dayalı olarak Rhaiem vd. (2008) tarafından Tunus'taki ve Peever vd. (2004) tarafından Amerika Birleşik Devletleri'ndeki *D. rabiei* patojen popülasyonları analiz edilmiştir. Bu çalışmalarda, Tunus'taki *D. rabiei* izolatları 5 popülasyon (Rhaiem vd., 2008), Amerika Birleşik Devletleri'ndeki izolatlar ise 2 popülasyon (Peever vd., 2004) için en yüksek ardıl olasılık değerlerini vermişlerdir.

2.8. Patojen Göçü

Popülasyon yapılarının şekillenmesinde önemli etkiye sahip evrimsel güçlerden biri olan gen/genotip akışı, nötral lokuslardaki alel ortaklığı baz alınarak dolaylı yollardan hesaplanabilmektedir (McDermott ve McDonald, 1993). Genetik markırlar kullanılarak bazı bitki patojenleri için orijin merkezlerinden yeni alanlara doğru göç şablonları çıkarılmıştır. Örneğin; *Phytophthora infestans*, Meksika'dan Kuzey Amerika ve Avrupa'ya (Fry vd., 1992); *M. graminicola*, Orta Doğu'dan Avrupa ve

Yeni Dünya kıtalarına (Banke vd., 2004; Banke ve McDonald, 2005) doğru göç etmiştir

Phan vd. (2003) tarafından Avustralya'daki *D. rabiei* popülasyon yapılarının incelenmesi için çalışılan 20 STMS lokusu, popülasyonlar arası gen/genotip akışını göstermek üzere kullanılmıştır ve popülasyonlar arasındaki düşük farklılaşmayla birlikte yüksek gen/genotip akışının olduğu gösterilmiştir ($G_{st}=0.08$ ve $N_m=5.73$).

Stukenbrock vd. (2006) tarafından, floresan işaretli primerler ile 12 mikrosatellit lokusu incelenerek buğday patojeni *P. nodorum*'un global göç şablonu çıkarılmıştır . Bu amaçla, 5 kıtadaki 6 bölgeden (Avustralya, Çin, Güney Afrika, Orta ve Kuzey Amerika ve Avrupa) örneklenen ve 9 popülasyondan oluşan 693 izolat araştırılmıştır. Kıtasal popülasyonların yakın dönemde birbirinden ayrıldığı ve popülasyon farklılaşmasını azaltmaya yetecek düzeyde göçün var olduğu belirlenmiştir. Göç eden patojenlerin Avrupa, Çin ve Kuzey Amerika orijinli olduğu da rapor edilmiştir. *P. nodorum*'un genetik yapısının tarımın yayılma süreci ile yakından ilgili olduğu ifade edilmiştir. Buğday Avrupa ve Çin'de günümüzden 4000-5000 yıl önce kültüre alınmıştır (Salamini, 2002). Avrupa sömürgecileri, buğdayı, günümüzden yaklaşık 500 yıl önce, Amerika, Avustralya ve Güney Afrika'ya götürmüşleridir (Stukenbrock vd., 2006). Patojen de konukçusu ile birlikte global yayılım göstermiştir (Stukenbrock vd., 2006). Fakat patojenin daha yakın zamanlardaki kıtalar arası göçünün, gözlenen popülasyon genetik yapısını etkileyebildiği açıklanmıştır (Stukenbrock vd., 2006).

2.9. Fungal Koloni Hifsel Gelişimi

Fungal patojenlerde *in vitro* koloni gelişiminin sıcaklık ve/veya patojenisite ile ilişkileri farklı patosistemlerde araştırılmıştır (Braisner ve Webber, 1987; Thrall vd., 2005; Zhan vd., 2005; Zhao vd., 2006; Frenkel vd., 2008; Frenkel vd., 2010).

Braisner ve Webber (1987), Dutch elm (Karaağaç ölüm) hastalığı etmeni fungus *Ophiostoma ulmi*'de *in vitro* büyüme hızı ile patojenisite arasında pozitif bir korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. *O. ulmi*'nin neden olduğu vasküler solgunluk prosesinde, büyüme hızının göreceli metabolik aktiviteyle ilgili olduğu düşünülmüştür. Böylece, daha hızlı büyümeye bağlı olarak biyomas miktarındaki

artışın daha fazla toksin ve enzim üretimine yol açacağı sonucu çıkarılmıştır (Braisler ve Webber, 1987).

Thrall vd. (2005) *Cakile maritima-Alternaria brassicola* konukçu-patojen ilişkilerindeki saldırganlık varyasyonlarını ve bunun epidemiyolojik sonuçlarını araştırmışlardır. *In vitro*'da patojen büyüme hızı ve spor üretimindeki varyasyonu, inokulasyon denemelerinde ise hastalık şiddeti ve lezyon büyüme oranını incelemiştir (Thrall vd., 2005). Bireysel olarak izolatlar ve popülasyonlar arasında büyüme hızlarında önemli varyasyonlar saptanmıştır. Büyüme hızı ve spor üretimi arasında ters orantı olduğu, daha hızlı büyüyen izolatlarda, belirli bir birim alan için daha az spor üretimi olduğu saptanmıştır. Bireysel olarak hızlı ve yavaş büyüyen izolatlar şeklinde sınıflandırılan izolatların *in vitro* büyümeleri ile hastalık şiddeti veya lezyon gelişimi arasında bağlantı olduğuna dair kuvvetli bir delil elde edilememiştir (Thrall vd., 2005).

Zhao vd. (2006), *Rheum rhaponticum*' da patojen *Ascochyta rhei* ve *Ramularia rhei* için, sıcaklığın hifsel gelişim üzerindeki etkilerini *in vivo* ve *in vitro*'da incelemişler ve çevresel şartlarla hastalık gelişimi arasındaki ilişkiyi anlamayı amaçlamışlardır. *Ramularia rhei*'nin 25°C'nin altındaki ve *Ascochyta rhei*'nin ise 25°C'nin üstündeki sıcaklıklarda koloni gelişim oranlarının daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Sıcaklığın fungal gelişim üzerindeki etkisinin hastalık yönetiminde önemli işaretler olabileceğini önermişlerdir (Zhao vd., 2006).

Frenkel vd. (2008), kültür nohudu ve *C. judaicum* orijinli *D. rabiei* popülasyonlarının *in vitro*'da koloni hifsel gelişimi ve sıcaklık istekleri arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Kültür nohudu orijinli *D. rabiei* popülasyonlarının 25 °C ve yabani *C. judaicum* orijinli popülasyonların ise 15 °C sıcaklığa daha yüksek adaptasyon gösterdiği saptanmıştır (Frenkel vd., 2008).

Frenkel vd., (2010) *C. arietinum* orijinli iki Mat1.1 izolatı ve *C. judaicum* orijinli iki Mat1.2 izolatı arasında yapılan çaprazlamalardan elde edilen 105 hibrit izolatın 25 °C ve 15 °C'deki koloni hifsel gelişimlerini değerlendirmiştir. Hibrit izolatlar arasından rasgele seçilen düşük sıcaklığa (15 °C) adapte üç izolat ve yüksek sıcaklığa (25 °C) adapte dört izolat olmak üzere toplam 7 izolatın sıcaklık adaptasyonları ve patojenik uyumu [RAUDPC (Relative Area Under Disease Progress Curve) ve

inkubasyon periyodu] arasındaki ilişki araştırılmıştır (Frenkel vd., 2010). İki kültür nohodu çeşidi ve iki *C. judaicum* ekotipinin konukçu olarak kullanıldığı inokulasyon denemeleri, yüksek (21-29 °C) ve düşük (12-20 °C) sıcaklığın sağlandığı klima odalarında yürütülmüştür. *C. judaicum* orijinali ebeveyn izolatların, düşük sıcaklığın sağlandığı koşullarda, orijinal konukçusu (*C. judaicum*) üzerinde RAUDPC değerleri daha yüksek ve inkübasyon süresi daha kısa olmuştur. *C. arietinum* orijinali ebeveyn izolatların ise, yüksek sıcaklığın sağlandığı koşullarda, orijinal konukçusu (*C. arietinum*) üzerinde RAUDPC değerleri daha yüksek ve inkübasyon süresi daha kısa olmuştur. Hibrit izolatların ise farklı sıcaklık uygulamalarındaki patojenik uyumları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık saptanamamıştır. *In vitro* sıcaklık-hifsel gelişim sonuçları ve patojenik uyum arasındaki ilişkiyi testlemek üzere az sayıda izolat değerlendirilmiş olmakla beraber, *in vitro* sıcaklık adaptasyonu ile *in vivo* patojenik uyum arasında kuvvetli bir ilişki olmadığı sonucuna varılmıştır.

2.10. Kantitatif Genetik ve Kalıtım Dereceleri

Genetik ve çevresel faktörlerin kombinasyonundan dolayı fenotipte farklı derecelerde varyans görülebilir ve kantitatif genetiğin amaçlarından biri, spesifik bir fenotip üzerinde genetik ve çevresel faktörlerin katkısını ölçmektir (Holland vd., 2003). Kalıtım derecelerinin hesaplanması üzerine farklı yöntemler Holland vd. (2003) tarafından açıklanmıştır. Maksimum olasılık (Maximum likelihood, ML) ve özellikle sınırlandırılmış maksimum olasılık (Restricted Maximum Likelihood, REML) metodları kalıtım derecelerinin hesaplamalarında kullanılmaktadır (Holland vd., 2003). ANOVA metodu da bu amaçla kullanılabilen olup, dengeli verilerde ve varyans bileşenlerinin negatif değer almadığı durumlarda REML ile aynı sonuçları verdiği bildirilmiştir (Holland vd., 2003).

Bitkilerde çeşitli kantitatif karakterlerin geniş ve dar duyarlı kalıtım hesaplamaları çoğunlukla bitki ıslah çalışmalarıyla ilgilidir (Holland vd., 2003). Bununla beraber, literatürde fungal patojenlerdeki kantitatif karakterlerin dar duyarlı kalıtım derecelerini tahmin etmek üzere yapılan az sayıda çalışma bulunmaktadır (Zhan vd., 2005; Lehman ve Shaner, 2007; Frenkel vd., 2010).

Zhan vd. (2005), buğday patojeni *Mycosphaerella graminicola*'nın Dünya'daki beş farklı lokasyondan örneklenmiş popülasyonlarının genetik ve kantitatif özellikler açısından varyasyonunu araştırmışlardır. 8 RFLP lokusundaki genetik varyasyon ve

7 kantitatif karakterdeki (fungusit direnci, sıcaklık duyarlılığı, piknidyal büyüklük, piknidyal yoğunluk, koloni büyüklüğü, piknidya ile kaplı yaprakların yüzdesi, lezyonlarla kaplı yaprakların yüzdesi) varyasyon analiz edilmiştir (Zhan vd., 2005). Çalışılan kantitatif karakterler için, hem her bir karakterin tek başına hem de tüm karakterlerin çoklu-karakter skalası üzerinden dar-duyarlı kalıtım dereceleri hesaplanmıştır. Haploid organizmalarda fenotipik varyans, dominantlık olmadığından, sadece eklemeli genetik varyans ve çevresel varyansı kapsamaktadır. *M. garaminicola*'da sıcaklık ve konukçu çeşidi sabit etki (fixed effect), izolat ise rasgele etki (random effect) olarak alınmıştır. Replikatlar arası varyans kullanılarak, fenotipik varyanstan, çevresel varyans çıkarılmıştır ve dar-duyarlı kalıtım dereceleri REML metodu ile hesaplanmıştır. Fungusit direnci ve piknidyal yoğunluk, popülasyonlar arası kalıtım dereceleri açısından farklılıklar göstermiştir. Dirençli çeşitlerden örneklenen patojen popülasyonlar, hassas çeşitlerden örneklenen popülasyonlara kıyasla incelenen yedi kantitatif karakter açısından daha yüksek kalıtım derecelerine sahip olmuştur (Zhan vd., 2005).

Lehman ve Shaner (2007) Kuzey Amerika'dan örneklenen buğday patojeni *Puccinia triticina* popülasyonlarında patojenik uyumun kantitatif varyasyonunu araştırmıştır. Kısmi dirençli buğday kültürlerinde, direnç durumunun sürdürülebilirliğinin, patojen popülasyonlarda görülen patojenik uyumdaki genetik varyasyon miktarıyla ilgili olduğu düşünülmüştür. Eşeysiz üreme gösteren *P. triticina* patojen popülasyonlarında latent periyodun geniş duyarlı kalıtım dereceleri regresyon analizleri ile tahmin edilmiştir. *P. triticina*'da latent periyot karakterinin kalıtım dereceleri çeşitlilik göstermiştir. Bu durumun kısmi dirençli çeşitlerde patojen adaptasyonunu etkileyen bir faktör olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Frenkel vd. (2010) tarafından İsrail'den örneklenen *D. rabiei* izolatlarında koloni hifsel gelişimi ve bunun sıcaklıkla ilişkisinin genetik bileşeni (Genetik \times Çevre) tahmin edilmiştir. Koloni hifsel gelişim fenotipindeki varyansın genetik bileşenlerinin tahmini veya kalıtım derecelerinin hesaplanması için ANOVA metodu kullanılmıştır. İzolat orijini hifsel gelişim karakterinin genetik varyans bileşenini açıklamak üzere kullanılmıştır. 25 °C ve 15 °C sıcaklıklardaki koloni hifsel gelişimiyle ilgili kalıtım dereceleri sırasıyla *C. judaicum* orijinli izolar için 0.74 ve 0.68, *C. arietinum* orijinli izolatlar için ise 0.71 ve 0.68 olarak bulunmuştur.

2.11. *D. rabiei*'de Patojenik Varyasyon ve Saldırganlık

D. rabiei'de patojenik çeşitlilik, Hindistan'dan (Vir ve Grewal, 1974; Singh, 1990; Singh ve Pal, 1993; Ambardar ve Singh, 1996; Navas-Cortes vd., 1998), Suriye ve Lübnan'dan (Reddy ve Kabbabeh, 1985; Udupa vd., 1998), Amerika Birleşik Devletleri'nden (Jan ve Wiese, 1991; Chen vd., 2004), İtalya'dan (Porta-Puglia vd., 1996), Pakistan'dan (Jamil vd., 2000; Iqbal vd., 2004), İspanya'dan (Navas-Cortes vd., 1998), Avustralya'dan (Khan vd., 1999b), Tunus'tan (Hamza vd., 2000), Kanada'dan (Chongo vd., 2004), İsrail'den (Lichtenzveig vd., 2005) ve Türkiye'den (Dolar ve Gürçan, 1992; Türkkan ve Dolar, 2009) rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda 11-130 arasında izolat, 3-15 farklı nohut çeşidi üzerinde testlenmiş ve 3-14 farklı patotip veya ırk olarak gruplandırılmıştır. *D. rabiei* popülasyonlarında patojenik çeşitlilikle ilgili pek çok araştırma yapılmış olmasına rağmen, test prosedürlerinin, hastalık değerlendirme skalalarının ve kullanılan nohut çeşitlerinin farklılığından dolayı sonuçları kıyaslamak zordur. Ayrıca, literatürlerde *D. rabiei* patojeni için "ırk" veya "patotip" terimlerinin kullanımında birbiriyle uyumlu olmayan farklılıklar bulunmaktadır (Vail ve Banniza, 2008). Bazı araştırmacıların *D. rabiei* patojeni için "ırk" sınıflandırmasını kullanmasına rağmen (Vir ve Grewal, 1974; Singh ve Pal, 1993; Ambardar ve Singh, 1996; Dolar ve Gürçan, 1992; Türkkan ve Dolar, 2009), bazı araştırmacılar (Lichtenzveig vd., 2005) fungusun tamamlanmamış konukçu özelleşmesine dayanarak ırk terimini kullanmayı uygun bulmamaktadır. Lichtenzveig vd. (2005), virülenslikte görülen varyasyonu, patojenik izolatlar ve konukçu çeşitleri arasında görülen spesifik interaksiyonlar olarak tanımladıkları "patojenik özelleşme" ile açıklamaktadır. Bazı gruplar, anlamlı derecede çeşit-izolat interaksiyonunu rapor etmişlerdir (Phan vd., 2003; Chongo vd., 2004; Cho vd., 2004). Diğer bir yaklaşım ise, direnç kırılmalarına yol açan farklı genotip setlerine sahip izolatların saldırganlık düzeylerini tanımlamak üzere patojen popülasyondaki patotip grupları belirlemek üzerine olmuştur (Reddy ve Kabbabeh, 1985; Singh, 1990; Navas-Cortes vd., 1998; Udupa vd., 1998; Jamil vd., 2000; Chen vd., 2004). Ayrıca, *D. rabiei* için, biyotrof patosistemlerde karakterize edilen gene karşı gen ilişkilerine dayalı olarak tanımlanan "fizyolojik ırk" (Caten, 1987) terimi de kullanılmıştır (Vir ve Grewal, 1974; Navas-Cortes vd., 1998; Chongo vd., 2004).

Vail ve Banniza (2008), Kanada'daki *D. rabiei* popülasyonlarında mevcut patojenik çeşitliliği araştırmıştır. 1998, 2001 ve 2002 yıllarında elde edilmiş 9 izolat, 7 nohut

çeşidi üzerine inokule edilmiştir. Konukçu ve izolat arasında genotip spesifik ilişki bulunmamıştır. 2001 ve 2002 yılı izolatlarının, 1998 yılı izolatlarına göre daha fazla hastalık şiddetine yol açması, patojen saldırganlığında artış olduğu şeklinde yorumlanmıştır. İzolatların ırk veya patotip şeklinde sınıflandırılmadığı; hastalık şiddetinin, patojendeki saldırganlığın kantitatif kalıtımına işaret eden bir gösterge olduğu belirtilmiştir (Vail ve Banniza, 2008).

“Saldırganlık” ifadesi ilk olarak Van der Plank (1963) tarafından patojenisitenin spesifik olmayan bileşeni olarak tanımlanmıştır. Saldırganlık terimi yakın zamanlarda Pariaud vd. (2009) tarafından, konukçu-patojen interaksiyonlarında patojenle ilgili olarak patojenisitenin kantitatif bileşeni şeklinde açıklanmıştır. Pariaud vd. (2009), tahıllardaki çeşitli biyotorofik ve nekrotrofik fungal patojenler ve patateste fungal patojen *Phytophthora infestans* üzerine yapılmış çeşitli deneysel araştırmaların sonuçlarına dayalı olarak saldırganlık bileşenlerinin doğası ve patojen saldırganlığının konukçu ve çevreye cevaptaki evrimleri üzerinde durmuştur. Patojen saldırganlık bileşenleriyle ilgili analizlere dayalı olarak çıkarılan sonuçlar şöyle özetlenmiştir: Patojen popülasyonlarda saldırganlığın seleksiyonu iklimsel parametreler aracılığıyla yönetilmektedir (i), global popülasyon değişiklikleri veya fark edilebilir popülasyon yapıları saldırganlıktaki varyasyonla açıklanabilir (ii), kantitatif özellikler için seleksiyon, tarımsal patosistemlerdeki patojen evrimini etkileyebilir ve konukçu çeşitlerinde farklı adaptasyonlara yol açabilir (Pariaud vd., 2009).

Cicer spp./D. rabiei ilişkisinde direnç/saldırganlığın çok-genli kontrol altında olduğu önerilmektedir (Abbo vd., 2007). Konukçudaki kantitatif dirençle ilgili olarak birçok çalışma (Santra vd., 2000; Tekeoğlu vd., 2000; Lichtenzweig vd., 2002; Flandez-Galvez vd., 2003; Cho vd., 2004; Lichtenzweig vd., 2006) bildirilmiş olmasına rağmen, patojendeki saldırganlığın genetik kontrolü hakkında henüz bir bilgiye ulaşılamamıştır (Abbo vd., 2007). *D. rabiei*'de patojenisite ile ilgili genetik belirleyicileri araştırmak üzere White ve Chen (2007), *Agrobacterium* aracılığıyla, *D. rabiei* izolatlarında insersiyon mutasyonları oluşturarak patojenik aktivitede olası değişiklikleri incelemiştir. Daha düşük patojenisite gösteren transformantlardan birinde kinezin benzeri bir genin etkilendiği sonucuna ulaşılmış olmasına rağmen, direnç cevabı ve patojenik belirleyicilerin genetiği hakkında daha detaylı verilere

ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir (White ve Chen, 2007). Patojenik olmayan mutant izolatların elde edilmesiyle, patojenisiteyle ilgili genetik bölgelerin belirlenmesi üzerine çalışmalar devam etmektedir (White ve Chen, 2009).

Cicer spp./*D. rabiei* patosistemindeki konukçu-patojen özelleşmesinin henüz çözümlenememiş olduğu ve bu konuda hem yabani ekotipler hem de kültür çeşitlerini içeren geniş bir konukçu koleksiyonu ile yabani ve kültür konukçularından örneklenmiş patojen izolatların çalışılması gerektiği önerilmiştir (Abbo vd., 2007).

Frenkel vd. (2007), laboratuvar şartlarında da, *C. judaicum* orijinli *D. rabiei* izolatlarının diğer bazı tek yıllık yabani nohut türlerini (*C. reticulatum*, *C. pinnatifidum* ve *C. bijugum*) de enfekte edebildiğini bildirmiştir. Ayrıca bu çalışmada, doğal yetiştirme ortamındaki *C. judaicum*'dan *D. rabiei* patojeni ile birlikte, bezelyede *Ascochyta* yanıklık etmeni *Phoma pinodella* da izole edilmiştir. 13 baklagil türü (*C. arietinum*, *C. judaicum*, *C. pinnatifidum*, *C. reticulatum*, *C. bijugum*; *Pisum sativum*, *P. fulvum*; *Trifolium alexandrinum*; *Phaseolus vulgaris*; *Vicia faba*; *Lens culinaris*; *Medicago sativa* ve *M. truncatula*) üzerinde yapılan patojenisite analizlerinde, *D. rabiei* izolatlarının yalnız *Cicer* türleri üzerinde patojenik etki gösterdiği, *P. pinodella*'nın ise asıl konukçuları olan yabani ve kültür bezelyesi (sırasıyla, *Pisum sativum* ve *P. fulvum*) ile birlikte *Cicer* türleri (*C. judaicum*, *C. reticulatum*, *C. pinnatifidum* ve *C. bijugum*) üzerinde de patojenik olduğu bildirilmiştir. Böylece yabani *C. judaicum*'un kültür nohudu için patojen inokulum kaynağı olma potansiyelinin yanı sıra, diğer bazı bitki patojenleri için de alternatif konukçu olma durumu ortaya çıkarılmıştır.

Simpatrik yabani ve kültür nohudunda farklı patosistem orijinli *D. rabiei* izolatlarının saldırganlık değerlendirmeleri üzerine bir çalışma Frenkel vd. (2008) tarafından yapılmıştır. İsrail'de simpatrik olarak gelişen kültür nohudu ve *C. judaicum*'dan örneklenen *D. rabiei* izolatlarının kültür ve yabani konukçuları üzerindeki saldırganlık analizleri değerlendirilmiştir. İki kültür nohudu orijinli ve üçü yabani nohut orijinli olmak üzere toplam beş izolat, iki kültür nohudu çeşidi ve dokuz *C. judaicum* ekotipi bitkilerine inokule edilmiştir. İzolatların orijinlendikleri patosisteme bağlı olarak saldırganlık değerlendirmelerinde önemli farklılıklar saptanmıştır. Kültür nohudu bitkileri üzerinde, kültür nohudu orijinli izolatların, *C. judaicum* orijinli izolatlara göre daha saldırgan olduğu rapor edilmiştir. Benzer

şekilde, *C. judaicum* orijinli izolatların, kültür nohudu orijinli izolatlara kıyasla kendi konukçuları üzerinde daha saldırgan olduğu bulunmuştur. Bununla beraber hem kültür hem de yabancı nohut orijinli izolatlar arasında farklı saldırganlık düzeyleri saptanmıştır. Ayrıca nohut çeşitleri ve yabancı ekotipler arasında da konukçu duyarlılığı açısından farklılıklar olduğu bildirilmiştir (Frenkel vd., 2008).

Doğal ve tarımsal ekosistemlerdeki fungal fitopatojen popülasyon yapılarının aydınlatılmasının; patosistemlerin biyoloji, epidemiyoloji ve evrimlerini anlama yolunda önemli bilgiler sağlayacağı ve de bitki hastalıklarının kontrolü için yeni yaklaşımlar sunacağı açıklanmıştır (McDonald ve Linde, 2002; Milgroom ve Peever, 2003). Özellikle, *D. rabiei*'de patojen evrimi ve konukçu-patojen ilişkileri üzerine yapılan tüm çalışmalarda konukçunun orijin alanlarından örnekleme yapılması ve patojen popülasyon yapılarının araştırılması gerektiği çeşitli araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (Peever, 2007; Abbo vd., 2007; Frenkel vd., 2010).

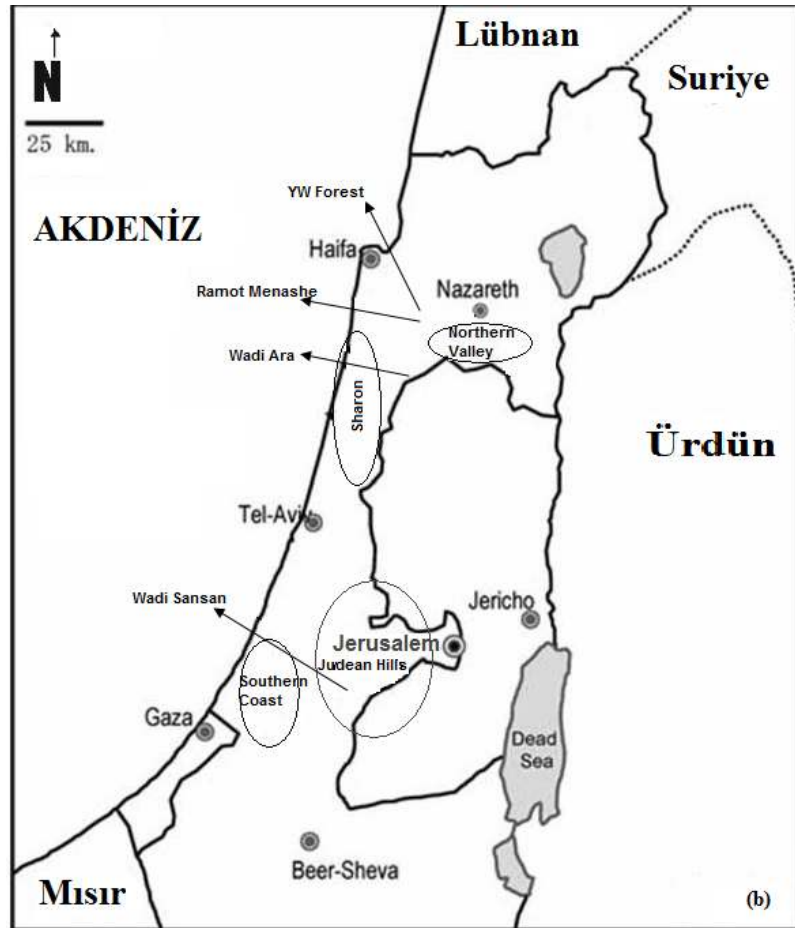
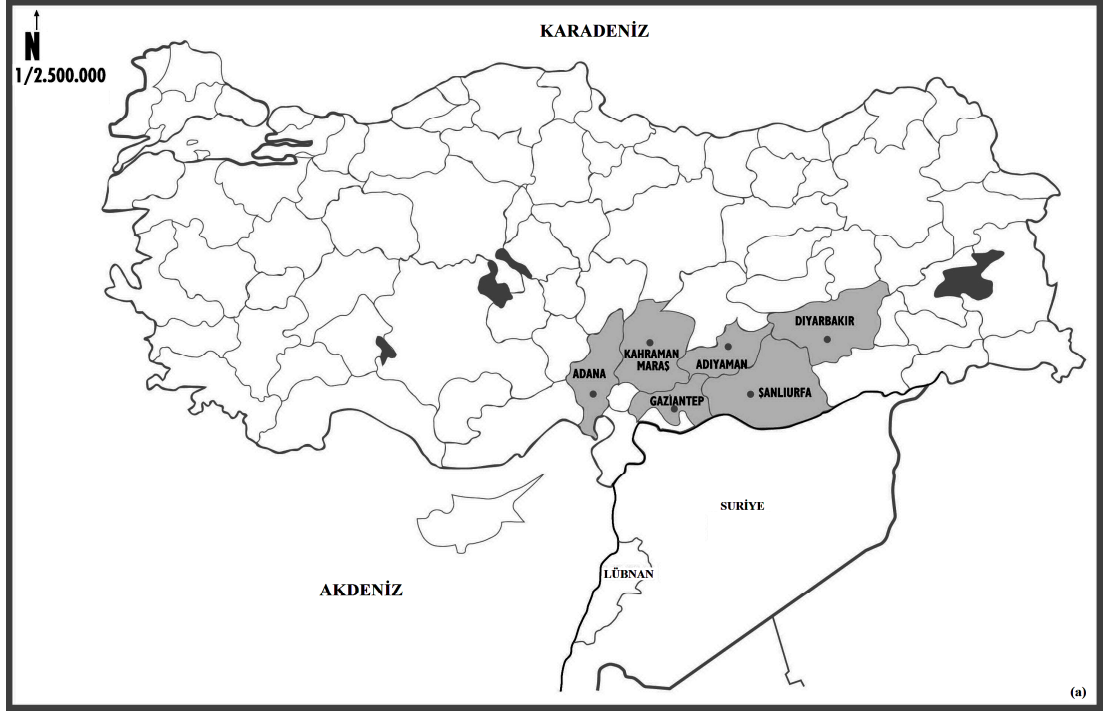
BÖLÜM 3 MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. *D. rabiei* izolatları

D. rabiei izolatları, Ascochyta yanıklık belirtilerini gösteren kültür nohudu (*C. arietinum*) ve yabancı nohut türlerinden (*C. judaicum* ve *C. pinnatifidum*) izole edilmiştir. Patojen izolatların elde edildiği bitki materyalleri Türkiye ve İsrail kaynaklı olmuştur. Türkiye ve İsrail'deki örnekleme alanları Şekil 3.1'deki haritalarda gösterilmiştir. 2005-2007 Mart-Haziran ayları arasında Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve bölgeye sınır illerden toplanmış örnekler kullanılmıştır (Şekil 3.1). Ascochyta yanıklığı gösteren bitki örnekleri rasgele olarak tarlalardan (Gaziantep, Adıyaman ve Kahramanmaraş) ve Ascochyta yanıklık hastalığıyla ilgili deneme istasyonlarından (Diyarbakır, Şanlıurfa ve Adana) elde edilmiştir. Çalışmada kullanılan *D. rabiei* örneklerinin bir kısmı (Diyarbakır ve Şanlıurfa) 2005-2006 yılında Özkılınç (2006) tarafından izole edilmiştir. Diğer örnekler 2006-2007 yetiştirme döneminde toplanan bitkilerden izole edilmiştir. *C. pinnatifidum* ise, Kahramanmaraş ve Adıyaman civarındaki doğal yayılım alanlarından Haziran 2005 ve 2006'da toplanmıştır (Özkılınç, 2006). İsrail'e ait *D. rabiei* izolatlarının elde edildiği kültür nohudu ve *C. judaicum* ise, 2004-2007 yıllarının Mart-Nisan yetiştirme dönemlerinde, ülkenin kuzey ve orta kesimlerindeki farklı lokasyonlardan O. Frenkel tarafından örnekleştirilmiştir (Frenkel, 2008) (Şekil 3.1).

Her bir hastalıklı bitki örneği, bir izolat kaynağı olarak değerlendirilmiştir. Hastalıklı bitki örnekleme alanları bir tarla içinde yaklaşık 10 m aralıklı olacak şekilde ve bir lokasyonda birbirinden en az 3-5 km uzaklık sağlanacak şekilde farklı tarlalardan yapılmıştır. Yabancı nohut türleri için ise, her lokasyonda birbirinden ayrı bitki gruplarından rasgele örnekleme yapılmıştır. Türkiye'deki örnekleme alanları her bir lokasyonda (il bazında) ~100-150 km² arasında olmuştur. İsrail'deki kültür nohudu örnekleme alanları ise ~100 km²'lik alanlar olmuştur. Oldukça dar alanlarda yayılım gösteren yabancı türler için ise örnekleme alanları da sınırlı olmuştur. *C. judaicum* için örnekleme alanları ~1 km²'lik araştırma alanlarıdır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. *D. rabiei* izolatlarının elde edildiği konukçu örnekleme alanlarını gösteren (a) Türkiye ve (b) İsrail haritaları (İsrail'deki kültür nohudu dört örnekleme alanları dairelerle ve *C. judaicum* örnekleme alanları ise ok işaretleriyle gösterilmiştir)

Türkiye ve İsrail'deki *Cicer* spp.'den örneklenen toplam 128 izolatin örnekleme orijinleri (ülke ve konukçu bazında), lokasyonları ve izolat sayıları ile ilgili veriler Tablo 3.1'de sunulmuştur. Enlem ve boylam ölçümleri GPS (Global Positioning System; Küresel Konumlama Sistemi) kullanarak veya Google-Earth bilgisayar yazılımı üzerinden (<http://www.itouchmap.com/latlong.html>) tespit edilmiştir.

Tablo 3.1. *Cicer* spp.'den izole edilen *Didymella rabiei* örnekleri

Örnekleme Orijini		Grup ^a	Lokasyon		N ^b
Ülke	Konukçu		Enlem	Boylam	
TÜRKİYE	<i>C. arietinum</i>	TA1-Kahramanmaraş	37°50'	37°00'	9
		TA2-Gaziantep	36°98'	37°35'	10
		TA3-Adıyaman	37°66'	38°32'	10
		TA4-Diyarbakır	37°82'	40°23'	10
		TA5-Şanlıurfa	37°05'	38°80'	10
		TA6-Adana	36°91'	35°35'	10
	<i>C. pinnatifidum</i>	TP1 {Kahramanmaraş -Adıyaman }	37°50'	37°00'	2
			37°66'	38°32'	1
İSRAİL	<i>C. arietinum</i>	IA1-Northern valleys	35°17'	32°36'	7
		IA2-Sharon	34°56'	32°05'	7
		IA3-Judean hills	34°58'	31°44'	10
		IA4-Southern coast	34°33'	31°35'	7
	<i>C. judaicum</i>	IJ1-Wadi Ara	35°09'	32°33'	9
		IJ2-Ramot Menashe	35°03'	32°33'	9
		IJ3-YW forest	35°04'	32°34'	9
		IJ4-Wadi Sansan	35°00'	31°41'	8

^aİzolatların örneklendikleri konukçuları gösteren kısaltmalar, TA: Türkiye-*C. arietinum*, TP: Türkiye-*C. pinnatifidum*, IA: İsrail-*C. arietinum*, IJ: İsrail *C. judaicum*; ^bİzolat sayısı

İzolatlar, örneklendiği lokasyona göre “grup” ve her bir konukçu/ülke orijinine göre tüm gruplar (Türkiye ve İsrail *C. arietinum* ve İsrail *C. judaicum* orijinli izolatlar) ise “popülasyon” olarak tanımlanmıştır (Tablo 3.1). Bu tanımlama kapsamında Türkiye kültür nohudu orijinli *D. rabiei* popülasyonu altı gruptan, İsrail kültür nohudu orijinli popülasyon dört gruptan ve *C. judaicum* orijinli popülasyon dört gruptan oluşmuştur (Tablo 3.1). Yetersiz örnek sayısından dolayı *C. pinnatifidum* izolatları popülasyon tanımlamasının dışında tutulmuştur ve tek bir grup olarak değerlendirilmiştir. Tez

çalışması kapsamında popülasyon ve grup kavramları bu tanımlamalara dayalı olarak kullanılmıştır.

3.1.2. Saldırıcılık analizlerinde kullanılan fungal izolatlar ve konukçu bitkiler

D. rabiei fungal izolat koleksiyonundan (Tablo 3.1) rasgele olarak Türkiye ve İsrail'e ait kültür nohudundan örneklenen ikişer izolat, *C. pinnatifidum*'dan iki izolat ve *C. judaicum*'dan iki olmak üzere toplam sekiz izolat seçilmiştir. Seçilen izolatların ülke ve konukçu orijinleri, lokasyonları ve toplandıkları yıla ait bilgiler Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Saldırıcılık denemelerinde kullanılmak üzere seçilen *D. rabiei* izolatları

Ülke	Lokasyon	Enlem (N)	Boylam (E)	Konukçu	Yıl	İzolat Adı
Türkiye	Kahramanmaraş	37°48'	37°29'	<i>C. arietinum</i>	2006	Myp3.2
	Adıyaman	37°78'	37°61'		2006	Ak4.7
	Kahramanmaraş	37°50'	37°00'	<i>C. pinnatifidum</i>	2005	Cp1.05
	Adıyaman	37°66'	38°32'		2006	Cp2.06
İsrail	Judean Tepeleri	31°41'	34°59'	<i>C. arietinum</i>	2004	Natif
	Judean Tepeleri	31°49'	34°55'		2005	Bakoa
	Kuzeybatı Samaria	32°34'	35°04'	<i>C. judaicum</i>	2005	Yw15
	Kuzeybatı Samaria	32°31'	35°08'		2007	Fahm5

Türkiye (Tr) ve İsrail (İs) orijinli olmak üzere dört kültür nohodu çeşidi ve dört yabancı *Cicer* spp. ekotipi konukçu olarak kullanılmıştır. *D. rabiei*'ye karşı duyarlılıkları daha önce çeşitli çalışmalarda bildirilen nohut çeşitleri tercih edilmiştir. Kültür nohodu çeşitlerinden “Çağatay (Tr)” ve “Spanish White (İs)” *D. rabiei*'ye karşı oldukça hassas (Özkılınç vd., yayınlanmamış veri; Frenkel vd., 2008); “Gökçe (Tr)” ve “Yarden (İs)” ise *D. rabiei*'ye karşı oldukça tolerant (Düsünceli vd., 2007; Frenkel vd., 2008; Özkılınç vd., yayınlanmamış veri) olarak bilinmektedir. Türkiye orijinli *C. pinnatifidum* ekotiplerinden “Cp2” ve “Cp18” sırasıyla Adıyaman (37°58'E ve 37°42'N) ve Gaziantep (37°9'E ve 37°8'N)'ten örneklenmiştir; İsrail orijinli *C. judaicum* ekotipleri olarak “Cj12” ve “Cj64” sırasıyla West Carmel (32°33'N ve 34°69'E) ve Nahal Abana (31°54'N ve 34°59'E)'dan örneklenmiştir (Ben-David ve Abbo, 2005).

3.2.Yöntem

3.2.1. Arazi çalışmaları

Tarla gözlemleri 2006-2007 yetiştirme döneminde, rasgele olarak nohut ekim alanlarında yapılmıştır. Bu amaçla, Nisan-Haziran ayları arasında, Gaziantep, Kahramanmaraş ve Adıyaman yörelerindeki nohut tarlalarından hastalıklı bitki örnekleri, Bölüm 3.1.1’de açıklandığı şekilde, toplanmıştır. Şanlıurfa, Diyarbakır ve Adana’dan hastalıklı bitki örnekleri ise, Nisan-Mayıs aylarında, deneme istasyonlarından temin edilmiştir. Morfolojik açıdan hastalık teşhisi, tipik *Ascochyta* yanıklık belirtileri (Bölüm 1.1 ve Şekil 1.1) dikkate alınarak yapılmıştır.

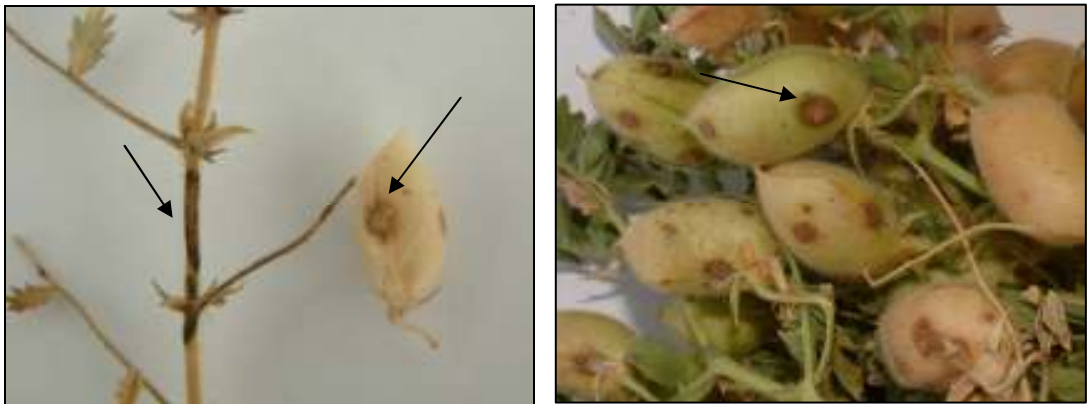
Güneydoğu Anadolu Bölgesi’ndeki yabancı *Cicer* türlerine ait bitki popülasyonlarının tespiti ve *Ascochyta* yanıklık belirtileri olan bitki örneklerinin toplanması amacıyla Gaziantep, Kahramanmaraş, Adıyaman, Şanlıurfa, Diyarbakır, Mardin yörelerinde arazi araştırmaları yapılmıştır. 2007-2008 ve 2008-2009 yetiştirme dönemlerinde, Nisan-Haziran aylarında, arazi çıkışları düzenlenmiştir. Ayrıca, bitki popülasyonlarının gelişme durumlarını gözlemek ve popülasyon tespiti yapmak amacıyla 2008 yılı Kasım ayında Kahramanmaraş, Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin yörelerinde arazi araştırmaları yapılmıştır. Güneydoğu Anadolu’da yürütülen arazi araştırmalarında, çeşitli araştırmacılar tarafından (Berger vd., 2003; van der Maesen, 2005; Ben-David vd., 2006) bildirilen lokasyonlar başta olmak üzere yabancı *Cicer* türlerinin olası dağılım gösterebileceği uygun habitat alanları araştırılmıştır. *C. pinnatifidum* için, kireçli ve volkanik ana kayanın hakim olduğu, kayalık alanlar ve yamaçlar; *C. reticulatum* için, sınırlı bir dağılım alanına sahip olduğu Mardin civarındaki kireçli anakayanın hakim olduğu kayalık alanlar ve bağ içleri; *C. echinospermum* ve *C. bijugum* için, *Vicia* spp. ve nohut tarla kenarları, bağ içleri ve yol kenarları araştırılmıştır (Berger vd., 2003). Bitki türlerinin tanımlanmasında, yabancı *Cicer* türleri arasında literatürde bildirilen (Berger vd., 2003; Ben-David vd., 2006) özellikler dikkate alınarak, teşhisleri Gaziantep Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Botanik A.B.D.’da yapılmıştır.

C. pinnatifidum ile benzer habitat özelliklerine sahip alanlarda (Ben-David vd., 2006) doğal yayılım gösteren İsrail’deki *C. judaicum* popülasyonları, 2007-2008 yetiştirme dönemi, Aralık-Mart aylarında, popülasyon durumu ve hastalık açısından incelenmiştir.

İsrail orijinli kültür nohudu ve yabancı *C. judaicum* örnekleri de 2004-2007 yıllarında Mart-Nisan ayları boyunca ülkenin orta ve kuzey kesimlerinden toplanmıştır (O. Frenkel, Department of Plant Pathology and Weed Research, ARO, Bet Dagan, İsrail) (Şekil 3.1b).

3.2.2. Patojen izolasyonu

D. rabiei patojen izolasyonu için, bitkinin Ascochyta yanıklık belirtileri gösteren gövde, dal ve kapsül kısımları kullanılmıştır (Şekil 3.2). Enfekteli dokuyu içine alacak şekilde hazırlanan küçük bitki kısımlarının %1,5'lik NaOCl çözeltisi/4 dk uygulamasıyla yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. NaOCl çözeltisinin uzaklaştırılmasının hemen ardından, bitki materyalleri, 3 kez steril dH₂O ile durulanmıştır. Steril kurutma kağıtları arasında 15-20 dk. bekletilerek nemi alındıktan sonra, bitki parçaları, her petride 3-4 adet olmak üzere PDA (Patates Dekstroz Agar) besi ortamı üzerine yerleştirilmiştir. Patojen izolasyonu ve kültüre alma işlemleri steril kabinde (Bilser) gerçekleştirilmiştir. Kültürler 22-25 °C sıcaklığın sağlandığı inkübatörlerde (Nüve) 6-8 gün süreyle inkübe edilmiştir. Süre sonunda kültür ortamı üzerinde gelişen farklı türlere ait fungal koloniler içerisinden koloni morfolojisi ve konidilerin özellikleri dikkate alınarak (Kaiser, 1973; Özkılınç, 2006; Can vd., 2007; Frenkel vd., 2007) *D. rabiei*'ye ait olduğu belirlenenler, yeni bir PDA (Patates Dekstroz Agar) veya CMA (Chickpea Meal Agar, Nohut unu ve agar) ortamına aktarılmıştır. Ortam içerikleri Ek 1'de verilmiştir. Besi ortamlarının hazırlanmasında karıştırıcı ısıtıcı (Are) ve hassas terazi (Precisa 160M) kullanılmıştır ve besi ortamları otoklavda (Nüve) steril edilmiştir.



Şekil 3.2. *Didymella rabiei* patojen izolasyonu için kullanılan Ascochyta yanıklık belirtileri gösteren (oklarla işaret edilen) bitki kısımları

Patojen karakterizasyonu ve araştırmaların hassasiyeti için elde edilen *D. rabiei* kùltürlerinin tek spordan gelişen kolonileri kullanılmıştır. Bu amaçla spor oluşturmuş fungal kùltür yüzeyinden öze ile alınan sporlar yeni bir PDA ortamına yayma yapılarak aktarılmıştır. Kùltüre almayı takiben ters (inverted) mikroskopta (Optik Idyman System) incelenmiştir. Tek spordan gelişen hifler belirlenmiş ve yeri petri kabı üzerinden işaretlenmiştir. Bir spordan 4-5 gün içerisinde gelişen koloni alınarak yeni bir PDA ortamına aktarılmıştır. Her bir izolat örneği için, aynı şekilde, tek bir spor orijinli kolonilerden çoğaltılan kùltürler hazırlanmıştır. Tüm analizlerde de tek spor orijinli kùltürler kullanılmıştır. Planlanan analizler uygulanıncaya kadar izolatlar, durağan fazda, steril filtre kağıtları üzerinde, -20 °C'de muhafazaya alınmıştır (Peever vd., 1999).

3.2.3. Koch postülatının uygulanması

D. rabiei izolatlarının patojenik açıdan doğrulanması amacıyla Koch postülatı uygulanmıştır. Patojenin izole edildiği *Cicer* türlerine (*C. arietinum* ve *C. pinnatifidum*) ait kùltür çeşitleri (Gökçe ve Çağatay) ve yabani ekotipin (TR47744) tohumları kullanılmıştır. Yabani nohut tohumları için skarifikasyon yapılmıştır. Tohumlar, 0,5 l'lik saksılara ekilmiştir. Her konukçu için beşer saksı ve her saksıda 3-4 bitki yetiştirilmiştir. Bitkiler 20-25 °C sıcaklık ve 12 saat ışık/12 saat karanlık koşullarının sağlandığı kapalı ortamda yetiştirilmiştir ve deneme de aynı ortamda gerçeleştirilmiştir. Patojen inokulasyonu için 14 günlük fungal kùltürler kullanılmıştır. Patojenin konidi süspansiyonu 1×10^6 konidi/ml olarak ayarlanmıştır. Yüzey gerilimini azaltmak ve inokulasyonu kolaylaştırmak amacıyla Tween-20 (1 ml/l) eklendikten sonra, hazırlanan süspansiyonla üç haftalık konukçu bitkiler spreyleneştir. Her konukçu türü için kontrol bitkileri ise su ile muamele edilmiştir. Her saksı, nem muhafazası için çift kat naylon poşet ile kapatılmıştır ve 24 saat sonunda naylon poşetler uzaklaştırılmıştır. Deneme boyunca, gerekli oldukça, bitkilerin sulaması yapılmıştır. Bitkiler hastalık belirtileri saptanıncaya kadar gözlenmiştir.

3.2.4. Fungal genomik DNA izolasyonu

2-YEG (2 gr yeast extract-maya ekstraktı, 10 gr glukoz/1 l için) sıvı kùltür ortamında ve orbital karıştırıcı (Nüve) üzerinde geliştirilen 7-10 günlük fungal miseller kullanılmıştır (Peever vd., 1999). Fungal miseller sıvı azot içerisinde,

havanda, toz haline getirildikten sonra, genomik DNA izolasyonları için Qiagen Plant DNeasy veya MasterPure DNA izolasyon kitleri kullanılmıştır. DNA konsantrasyonları spektrofotometerde (NanoDrop 1000, Nanodrop Technologies), 260 nm dalga boyunda ölçülmüştür. PCR reaksiyonlarında kullanılmak üzere DNA konsantrasyonları 15-20 ng/µl olacak şekilde ayarlanmıştır.

3.2.5. *D. rabiei* izolatlarının moleküler karakterizasyonu

Patojenin moleküler olarak tanımlanması için “Transkribe olan aralayıcı rDNA bölgeleri (Internal Transcribed Spacer)” (*ITS*) ve farklı konukçu ve ülke orijinli *D. rabiei* izolatları arasında olası bir nükleotid polimorfizminin araştırılması için, “Gliseraldehit 3-Fosfat Dehidrogenaz” (*G3PD*), “Kitin Sentaz 1” (*CHS1*) ve “Translasyon uzama faktörü 1- α (Translation Elongation Factor1- α)” (*EF1- α*) gen bölgelerinin baz dizilim analizleri gerçekleştirilmiştir. İzolatlar örnek koleksiyonu içinden (Tablo 3.1) rasgele olarak *C. pinnatifidum*’dan 3 izolat, *C. judaicum*’dan 3 izolat ve *C. arietinum*’dan 2 izolat (Türkiye ve İsrail’den olmak üzere) seçilmiştir. Çalışmada kullanılan İsrail’e ait izolatların *ITS* bölgesi için baz dizilim analizleri Frenkel vd. (2007) tarafından yapıldığı ve referans izolat Ar-20 ile %100 benzerlik gösterdiği için tekrarlanmamıştır. *ITS1* ve *ITS4* (White vd., 1990), *gpd1* ve *gpd2* (Berbee vd., 1999), *CHS-70* ve *CHS-354* (Carbone ve Kohn 1999), *EF1-728F* ve *EF1-986R* (Carbone ve Kohn 1999) primer çiftleri, sırasıyla *ITS1*, *G3PD*, *CHS1* ve *EF1- α* bölgelerini çoğaltmak üzere kullanılmıştır. PCR reaksiyonları Peever vd. (2007)’e göre gerçekleştirilmiştir. 1X reaksiyon tamponu (JMR, UK), 0.4 µM ileri ve geri primerler (her bir DNA bölgesi için ayrı) (Agentek), 0.2 mM dNTP (Sigma), 2 mM MgCl₂ (JMR, UK), 15-20 ng DNA ve 1 ünite Taq polimeraz (Supertherm Polymerase/JMR,UK) kullanılarak 25 µl hacimde PCR reaksiyonları hazırlanmıştır. Reaksiyonlar ısı döngücülerinde (DNA Engine Tetrad2/MJ Research ve Thermo PX2) gerçekleştirilmiştir. *CHS1* ve *EF1- α* için reaksiyon döngü şartları; 97 °C/1 dk başlangıcını takiben, 35 döngü devam eden 96 °C/15 sn denatürasyon evresi, *CHS* için 62 °C/15 sn ve *EF1- α* için 50 °C/15 sn bağlanma evresi ve 72 °C/15 sn uzama evresinden sonra son olarak 72 °C/5 dk final uzama evresi, şeklinde olmuştur. *ITS1* ve *G3PD* için reaksiyon döngü şartları ise; 94 °C/3 dk başlangıcını takiben, 30 döngü devam eden 94 °C/30 sn denatürasyon evresi, her iki bölge için de 60 °C/30 sn bağlanma evresi ve 72 °C/1 dk uzama evresinden sonra, son olarak 72 °C/5 dk final uzama evresi, şeklinde olmuştur. PCR ürünlerinin, 0,5 µg/ml etidium bromid içeren

%1'lik agaroz jelde elektroforezi yapılmıştır ve ürün büyüklükleri 100 bp'lik standart markıra (ladder) (Fast Ruler) göre belirlenmiştir. Elektroforez işlemleri için agaroz (Seakem LE, Cambrex Bioscience), elektroforez tankları (EC25090, Thermo) ve güç kanyağı (Biometra) kullanılmıştır. Elektroforez sonuçları jel görüntüleme sisteminde (WilberLourmat) görüntülenmiştir. PCR ürünlerinin saflaştırma işlemi ExoSAP_IT enzimi (Amersham) ile ürün protokolüne uygun olarak (enzim ile muamele sonrası 37 °C/15 dk inkübasyon ve ardından 80 °C/15 dk inkübasyon) yapılmıştır. Saflaştırılan PCR ürünlerinin baz dizilim analizleri yaptırılmıştır (Hylabs, İsrail). Baz dizilim verileri, NCBI/BLAST-n (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>), DNAMAN (versiyon 1.33) ve Vector-NTI advance10 (Invitrogen) programları ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar, NCBI-Gen Bankasındaki baz dizilim verileriyle de (*EF 1- α* için DQ386491 ve DQ386488, *G3PD* için DQ383958, *ITS* için DQ383949, *CHS1* için DQ386480) kıyaslanmıştır.

3.2.6. STMS analizleri

STMS (Sequence Tagged Microsatellite Sites) analizleri için toplam 128 *D. rabiei* izolatu kullanılmıştır (Tablo 3.1). Kültür nohudu orijinli izolatların 59'u Türkiye'deki altı yöreden ve 31'i İsrail'in dört farklı lokasyonundan elde edilmiştir (Tablo 3.1). Yabani konukçu orijinli izolatlar ise, İsrail'den *C. judaicum* orijinli 35 izolat ve Türkiye'den *C. pinnatifidum* orijinli 3 izolat olmuştur (Tablo 3.1).

İzolatların genotip analizleri ve popülasyon genetik yapılarının çalışılması için Geistlinger vd. (2000) tarafından tanımlanmış 6 STMS lokusu (ArR01D, ArH06T, ArH05T, ArA06T, ArR12D, ArH02T) seçilmiş ve çalışılmıştır (Tablo 3.3). Bu lokuslar arasında bağlantı (linkaj) olmadığı bildirilmiştir (Peever vd., yayınlanmamış veri; Lichtenzweig vd., 2002). Her bir lokus için ileri primerler floresan boyalarla [FAM (mavi), VIC (yeşil), PET (kırmızı), NED (sarı)] işaretlenmiştir (Tablo 3.3). Her örnek için 25 µl hacimde hazırlanan PCR reaksiyonu, 1X reaksiyon tamponu (JMR, UK), 0.2 µM ileri ve geri primerler (Agentek), 0,2 mM dNTP (Sigma), 1,5 mM MgCl₂ (JMR, UK), 15-20 ng DNA ve 1 ünite Taq polimeraz (Supertherm Polymerase/JMR,UK) içermiştir. Laboratuvar çalışmaları, floresan işaretli primerlerin ve PCR ürünlerinin zarar görmemesi için, mümkün olduğunca az ışık alan ortamlarda yapılmıştır ve ürünler karanlık ortamlarda muhafaza edilmiştir. PCR reaksiyonlarının döngü şartları ve her bir primer çiftinin bağlanma sıcaklıkları için

Peever vd. (2004) ve Rhaiem vd. (2008)'nin protokolleri takip edilmekle beraber, uygun modifikasyonlar yapılmıştır. Reaksiyonlar ısı döngüsünde (DNA Engine Tetrad2/MJ Research) gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon döngü şartları; 96 °C/2 dk başlangıç denatürasyon evresini takiben, 35 döngü devam eden 96 °C/15 sn denatürasyon evresi, her primer çifti için özel ayarlanmış olarak 53-59 °C/15 sn bağlanma evresi ve 72 °C/45 sn uzama evresinden sonra, son olarak 72 °C/20 dk final uzama evresi, şeklinde olmuştur. Her bir lokus için primerlerin bağlanma sıcaklıkları Tablo 3.3.'te verilmiştir. ArR01D, ArH06T, ArH05T, ArA06T, ArR12D, ArH02T lokusları için sırası ile yaklaşık 197 bç, 174 bç, 208 bç, 162 bç, 158 bç ve 367 bç amplifikasyon ürünleri beklenmiştir (Geistlinger vd., 2000). Lokuslarla ilgili bilgiler Tablo 3.3'de özetlenmiştir.

Tablo 3.3. Çalışılan 6 STMS markırı ile ilgili bilgiler

Lokus	Erişim numarası ^a	Primer Baz Dizilimi (5'→3')	Bç ^b	T ^c	Floresan boya
ArR01D	AJ246971	¹ AGAGGGGAGTCACAAGTATCGAC	197	59 °C	FAM (mavi)
		² AGGTGAGTTACAGCTGCAAGAC			
ArH06T	AJ246967	¹ AGCCTGTCACAGTAACGACAACG	174	53 °C	VIC (yeşil)
		² TCCAGAGAGCCTTGATTG			
ArH05T	AJ246966	¹ GTGGCATCTGACATCACTATGAGG	208	53 °C	NED (sarı)
		² CATTGTGCTTGTGGGTGGATG			
ArA06T	AJ246951	¹ CTCGAAACACATTCTGTGC	162	55 °C	PET (kırmızı)
		² GGTAGAAACGACGAATAGGG			
ArR12D	AJ246975	¹ ATA CAC CCA AAC CGG GTA TC	158	53 °C	FAM (mavi)
		² GTATGGAATGTGCGATAGGA			
ArH02T	AJ246964	¹ TGGGATGCTGTATAGCGTACTGT	367	58 °C	PET (kırmızı)
		² ATCCGTC TTGACATCCG TCCT			

^aNCBI gen bankası erişim numarası; ^bBeklenen ürün büyüklüğü; ^cBağlanma sıcaklığı (°C); ¹İleri primer dizisi; ²geri primer dizisi

PCR ürünleri için, 0,5 µg/ml etidium bromid içeren %1,5'luk agaroz jelde 80 v/cm'de 1-1,5 saat süre elektroforez işlemi uygulanmıştır ve sonuçlar jel görüntüleme sisteminde (WilberLourmat) görüntülenmiştir. 100 bç DNA markırı (ladder) (Fast Ruler), ürün büyüklüklerini (Tablo 3.3) değerlendirmek üzere kullanılmıştır. Agaroz jel elektroforezinde PCR işlemi doğrulandıktan sonra, her bir izolat için çalışılan lokuslardaki alel büyüklüğünü belirlemek üzere kapillar elektroforez işlemi uygulanmıştır. Bu amaçla, PCR ürünlerinin ABI PRISM 3700 DNA Analyzer (Applied Biosystem, USA) ile GeneScan analizleri yapılmıştır (HUJI Center of Genomic Technologies). Alınan verilere göre alel büyüklükleri Peak Scanner Software v1.0 kullanılarak değerlendirilmiştir. "500 LIZ" standart markır olarak kullanılmıştır. Bu lokuslar için genotipi bilinen iki pozitif kontrol (AR738 ve

WSFS003-1 izolatları) T.L. Peever (Washington State University/Department of Plant Pathology) tarafından temin edilmiştir.

3.2.6.1. STMS veri analizleri

Popülasyonlar ve lokuslar düzeyinde alelik kompozisyon (alel frekansları, gözlenen aleller ve özel aleller), haploit genetik çeşitlilik hesabı, haplotiplerin belirlenmesi ve moleküler varyans analizleri (AMOVA, Analysis of Molecular Variance) için GeneAlex (versiyon 6.1) (Peakall ve Smouse, 2006) popülasyon genetik analiz programı kullanılmıştır.

Alel frekansları, popülasyonlar boyunca, her bir lokus için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Alel frekansı hesaplamaları için uygulanan formül $x = N / Nx$ (Nx , x alellerinin sayısı; N , örnek sayısı). Özel aleller ise, tüm veri seti içerisinde sadece tek bir grupta veya tek bir popülasyonda saptanan alellerdir (Peakall ve Smouse, 2006).

Haploit genetik çeşitlilik (h), popülasyonlar ve gruplar düzeyinde hesaplanmıştır. Haploit genetik çeşitlilik ölçümlerinde uygulanan formül $h = 1 - \sum p^2_i$ (p^2_i , i . alelin frekansıdır) olmuştur (Peakall ve Smouse, 2006).

GeneAlex programı, kullanılan markır setlerine dayalı olarak aynı multilokus genotiplerini veya haplotipleri tespit edebilmekte ve olası klonları hesaplamaktadır. Çalışılan altı lokus için aynı alel kompozisyonuna sahip izolatlar “haplotip” olarak değerlendirilmiştir (Milgroom, 1996). Tüm izolatlar içerisindeki haplotipler belirlenmiştir.

Moleküler varyans analizleri (The Analysis of Molecular Variance, AMOVA), Michalakis ve Excoffier (1996)'in metodlarını kullanan GeneAlex programı ile yapılmıştır. AMOVA, popülasyonlar arasındaki genetik varyasyonun hiyerarşik bölümlenmesine olanak sağlayan istatistiksel bir yöntemdir (Peakall ve Smouse, 2006). AMOVA hesaplamaları, F -istatistiğin analogu olan Φ -istatistik hesaplamalarına dayalı olarak 999 permütasyon ile hesaplanmıştır. Altı lokustan elde edilen verilere dayalı olarak AMOVA hesaplamaları ile gruplar içi total moleküler varyans (Φ_{PT}), gruplar arası moleküler varyans (Φ_{PR}) ve konukçu/ülke bazında değerlendirilen bölgeler arası moleküler varyans (Φ_{RT}) gösterilmiştir. Ayrıca her bir lokusun gözlenen varyasyona olan katkısı da gösterilmiştir. Φ -istatistik

hesaplamalarında uygulanan formüller ve açıklamaları aşağıda verilmiştir (Peakall ve Smouse, 2006).

$\Phi_{PT} = V_{AP} + V_{AR} / (V_{WP} + V_{AP} + V_{AR})$: V_{AR} , bölgeler (konukçu veya ülke bazında) arasındaki varyans; V_{AP} , popülasyonlar (veya gruplar) arasındaki varyans; V_{WP} , popülasyonlar içindeki varyanstır.

$\Phi_{PR} = V_{AP} / (V_{AP} + V_{WP})$: V_{AP} , bölgeler içindeki popülasyonlar (veya gruplar) arası varyans; V_{WP} , popülasyonlar içindeki varyanstır.

$\Phi_{RT} = V_{AR} / (V_{WP} + V_{AP} + V_{AR})$: V_{AR} , bölgeler arasındaki varyans; V_{AP} , bölgeler içindeki popülasyonlar (veya gruplar) arası varyans; V_{WP} , popülasyonlar içindeki varyanstır.

Nei'nin (1978) genetik benzerlik ve uzaklık hesaplamalarına dayalı olarak ülke ve konukçu bazındaki ilişkiler POPGENE versiyon 1.32 (Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Edmonton, Canada) programı ile hesaplanmıştır. Aynı program, G_{ST} değerlerini kullanarak $Nm = 0.5(1 - G_{ST}) / G_{ST}$ formülünün uygulandığı (Slatkin ve Barton, 1989) indirekt gen/genotip akışı ile ilgili hesaplamalar için de kullanılmıştır (McDermott ve McDonald, 1993). Popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşmayı ifade eden G_{ST} değeri, tüm popülasyondaki genetik çeşitlilik (H_T) ve popülasyonlar içindeki genetik çeşitlilik (H_S) değerleri üzerinden ($G_{ST} = 1 - H_S / H_T$) (Nei, 1973), POPGENE programı aracılığıyla hesaplanmıştır.

Örnekler arası genetik uzaklıklara dayalı olarak izolatların koordinatlara dayalı gösterimi olan “Ana Koordinatlar Analizi (Principle Coordinate Analysis)” (PCoA) GeneAlex programı ile yapılmıştır. PCoA, varyasyonun ana eksenlerini, çoklu veri setleri (çoklu örnek ve çoklu lokus) içinde yerleştiren bir uygulamadır (Peakall ve Smouse, 2006). Analiz, çok boyutlu ölçümler için oluşturulmuş, metrik ölçümlemeyle çalışan bir metottür. STMS sonuçlarına dayalı, haploit veri kullanılarak izolat-izolat veya grup-grup ($N \times N$) ikilileri için genetik uzaklık matrisi oluşturulmuştur. Aynı iki alel “0” uzaklığını, farklı iki alel “1” uzaklığını verir ve tüm bu uzaklıklar, total genetik uzaklığı belirlemek üzere, tüm lokuslar boyunca özetlenir. Örnekler arası genetik uzaklık matrisi, standardize edilmiş kovaryans metodu kullanılarak, PCoA gerçekleştirilmiştir.

Popülasyon/gruplardaki alel frekansı baz alınarak, çalışılan tüm örnekler için, Nei standart uzaklık (1973) modeline göre “Yakın-Bağlantı Ağacı (NJ, Neighbour-Joinig Tree)” çizilmiştir. Bu amaçla PowerMarker programı (Liu ve Muse, 2005) kullanılmıştır. Dallanma noktalarının ne derece kuvvetli olduğunu anlamak üzere 1000 kez çöz-bağla (bootstrap) ile elde edilen tüm sonuçların ortak (consensus) ağaç olarak gösterimi için PHYLIP (3.67) (Felstein, 1989) programı kullanılmıştır. Sonuçlar TreeView programı (Page, 1996) ile görüntülenmiştir.

Bayes algoritmasına dayalı olarak tüm çalışılan izolatlar genotiplerine göre gruplandırılmıştır. Bu amaçla STRUCTURE versiyon 2.2 programı kullanılmıştır (Prichard vd., 2000). Harman (admixture) modeli ve ilişkili alel frekansı (correlated allele frequencies) tercih edilmiştir. Analizler, 5×10^4 “burn-in period” ve 5×10^5 “MCMC (Markov Chain Monte Carlo)” üzerinden gerçekleştirilmiştir. MCMC, olasılık dağılımlarında örnekle aracı olarak kullanılan bir algoritmadır. Yapılan analizlerde MCMC ile 500000 örnek elde edilmiştir ve bunlar içerisinde 50000’i (burn in period) atılmıştır. Geri kalan kısım ulaşılmak istenilen dağılımı ortaya çıkarmak üzere kullanılan örnekleri oluşturmuştur. Log-olasılık değerleri ve en yüksek ardıl-olasılık (posterior probability) hesaplaması, total genetik verinin 1-7 arası grup olduğu kabulüne dayalı olarak yapılmıştır. Parametre hesaplamalarının doğruluğunu görmek üzere her bir olasılık için üç bağımsız analiz sonucu alınmıştır.

3.2.7. Sıcaklık ve *in vitro* koloni hifsel gelişim ilişkisi

Fungal örnek koleksiyonundan (Tablo 3.1) rasgele seçilen 80 *D. rabiei* izolatının *in vitro*’da 15 °C ve 25 °C’deki koloni hifsel gelişimleri belirlenmiştir. Hifsel gelişimlerin izleneceği sıcaklık değerleri olarak tipik Levant kış ve ilkbahar ortalama sıcaklık değerleri (sırasıyla, 15 °C ve 25 °C) (Frenkel vd., 2008) seçilmiştir. Analizlerde, *C. arietinum*’dan 28 Türkiye ve 27 İsrail izolatı, *C. judaicum*’dan 22 izolat ve *C. pinnatifidum*’dan 3 izolat kullanılmıştır. Her bir lokasyonu temsil edecek şekilde rasgele örnekleme yapılmıştır. Türkiye kültür nohudu orijinli örnekler: Kahramanmaraş, Adıyaman, Adana, Diyarbakır ve Gaziantep’ten 5’er izolat; Şanlıurfa’dan ise 3 izolat olmuştur. İsrail kültür nohudu orijinli örnekler ise Sharon, Judean Hills, Northern Valleys ve Southern Coast bölgelerinden sırasıyla 7, 8, 6 ve 6 izolat olmuştur. *C. judaicum* orijinli izolatlar Yw forest, Ramot Menashe, Wadi Sansan, Wadi Ara ve East bölgelerinden 5, 7, 4, 3 ve 4 izolat örneği ile temsil

edilmiştir. Kahramanmaraş ve Adıyaman'dan elde edilmiş 3 *C. pinnatifidum* örneği de çalışılmıştır.

Denemelerde 14 günlük tüm petri yüzeyini kaplamış fungal koloniler kullanılmıştır. Yaklaşık 7 mm çapındaki üst yüzeyi fungal hifle kaplı agar parçaları kesilmiştir ve yeni bir petrideki PDA'lı ortama yerleştirilmiştir. Her bir izolat için bu şekilde 3 örnek 15 °C ve 3 örnek 25 °C'de testlenmek üzere hazırlanmıştır. Petrilerin kenarları parafilm ile çevrelenmiştir. Petriler 15 °C ve 25 °C'deki inkübatörlerde 8 gün süreyle gelişmeye bırakılmıştır. 8 gün sonunda, her bir koloni büyüklüğü enine ve boyuna cetvel ile ölçülerek çapı (cm²) hesaplanmıştır.

Hem 15 °C hem de 25 °C sıcaklık için, her muamele (izolat) 3 tekerrürlü (üç petri kabı) yapılmıştır ve deneme iki kez tekrarlanmıştır. Elde edilen verilerin istatistik analizleri JMP 5.0 (SAS Institute, Cary, NC) programı kullanılarak yapılmıştır. Doğrusal (Linear) ANOVA (Analysis of Variance) modeli kullanılmıştır: $Y_{ijk} = \mu + M_i + C_k + F_j(C_k) + M_i \times C_k + M_i \times F_j(C_k)$. Y_{ijk} , koloni alanı (cm²) cevabı; μ , gerçek ortalama; M_i , 'sıcaklık' faktörü, C_k , 'izolat orijini' faktörü (Türkiye veya İsrail / yabani *Cicer* veya kültür nohudu); $F_j(C_k)$ bireysel olarak 'izolat' faktörü, 'izolat orijini' faktörü ile iç içe alınmıştır (nested). Farklı orijinli patojen popülasyonların testlenen sıcaklıklardaki ortalama koloni büyüklüklerinin kıyaslamaları için tek yön (one way) ANOVA modeli kullanılmıştır. Ortalamaların çoklu kıyaslamaları Tukey-Kramer testi ($\alpha=0.05$) ile yapılmıştır.

In vitro koloni hifsel gelişim analizlerinden elde edilen veriler, sıcaklık faktörü ve hifsel gelişimle ilgili genetik temelin değerlendirilmesinde kullanılmıştır (Frenkel vd., 2010). İzolat kaynağının (*C. judaicum*, Türkiye ve İsrail *C. arietinum* orijinli) ve gelişme sıcaklığının (15 °C ve 25 °C) her bir kombinasyonu için sıcaklık/hifsel gelişim cevabının kalıtım dereceleri, tek yönlü ANOVA modeli kullanılarak hesaplanmıştır. Modelde, 'izolat' faktörü rasgele etki (random effect) olarak kabul edilmiştir.

3.2.8. Farklı konukçu/bölge orijinli *D. rabiei* izolatlarının saldırganlık analizleri

Patojenisite ile ilgili kantitatif özellikleri ifade eden saldırganlık (aggressiveness) durumunu değerlendirmek üzere farklı orijinli *D. rabiei* izolatları ve konukçu bitkiler kullanılarak bir deneme planı oluşturulmuş ve uygulanmıştır. Saldırganlık ifadesi ile

ilgili özelliklerden olan inkübasyon periyodu ve hastalık şiddeti ölçümleri analiz edilmiştir.

3.2.8.1. Saldırıcılık analizleri için fungal kültürlerin hazırlanması

D. rabiei fungal izolat koleksiyonundan (Tablo 3.1) rasgele olarak Türkiye ve İsrail'e ait kültür nohudundan örneklenen ikişer izolat, *C. pinnatifidum*'dan iki izolat ve *C. judaicum*'dan iki izolat olmak üzere toplam sekiz izolat seçilmiştir (Tablo 3.2). PDA besi ortamındaki kültürler, 19 ± 1 °C sabit sıcaklığın ve 12 saat ışık/12 saat karanlık koşullarının sağlandığı klima odalarında inkübe edilmiştir. Yabani *Cicer* spp. orijinli izolatlar, yeterli sporulasyonu sağlamak için (Can vd., 2007; Frenkel vd., 2010), CMA ortamında geliştirilmiştir. On dört günlük fungal kültürler saldırıcılık denemelerinde kullanılmıştır.

3.2.8.2. Saldırıcılık analizleri için konukçu bitkilerin yetiştirilmesi

Türkiye ve İsrail orijinli olmak üzere dört kültür nohodu çeşidi ve dört yabani *Cicer* spp. (*C. pinnatifidum* ve *C. judaicum*) ekotipi konukçu olarak kullanılmıştır (Bölüm 3.1.2). Tohumlar 0,5 l'lik saksılara ekilmiştir. Yabani *Cicer* spp. tohumlarına çimlenmeyi kolaylaştırmak ve hızlandırmak amacıyla skarifikasyon uygulaması yapılmıştır. Yabani *Cicer* spp. tohumları kültür nohodu çeşitlerinden bir hafta önce ekilmiştir. Ekim sonrası yabani bitkiler yaklaşık dört hafta, kültür çeşitleri ise yaklaşık üç hafta kafesli dış ortamda gelişmeye bırakılmıştır (Şekil 3.3). İhtiyaç durumuna göre bitkiler sulanmıştır. Deneme yapılan zamanda hava sıcaklığı yaklaşık 15-25 °C olmuştur.



Şekil 3.3. *Cicer* spp. konukçu bitkilerin yetiştirildiği ortamdan görünüş

3.2.8.3. Deneme Planı ve Analizler

Farklı ülke ve konukçu orijinli 8 *D. rabiei* izolatu (Tablo 3.2) 8 *Cicer* spp. konukçusu (Türkiye ve İsrail’de ticari olarak kullanılmakta olan ikişer nohut çeşidi ve her bir yabancı konukçudan ikişer ekotip) (Bölüm 3.1.2) üzerinde testlenmiştir.

Her muamele {*D. rabiei* izolatu (yabancı veya kültür nohudu orijinli) × nohut çeşidi veya yabancı *Cicer* spp ekotipi} üç tekrarlı olmuştur ve deneme iki kez tekrarlanmıştır. Bir muamele ünitesi Şekil 3.4’de gösterilmiştir.

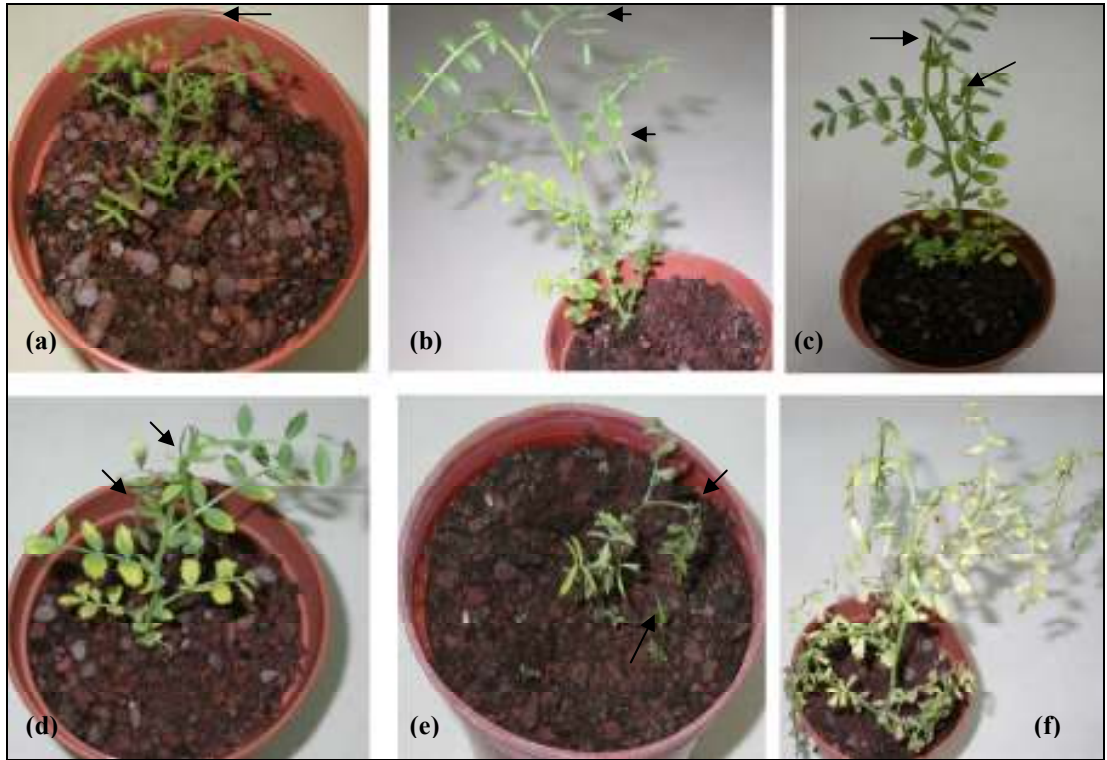


Şekil 3.4. Her bir izolatin inokule edildiği sekiz konukçuyu içeren bir muamele ünitesi

Üç-dört haftalık bitkiler (kültür nohudu bitkileri üç haftalık, yabani nohut bitkileri dört haftalık), 3×10^5 konidi/ml konsantrasyonundaki patojen konidi süspansiyonu ile bitkinin tamamı ıslanacak şekilde spreyleneştir. Her bir çeşit ve ekotip için kontrol grubu bitkileri su ile spreyleneştir. Her bir saksı patojen süspansiyonu ile spreylendikten hemen sonra, her bir muamele ünitesi (Şekil 3.4) nem muhafazası için, bir çift temiz plastik poşet ile kapatılmıştır. Bu şekilde tüm bitkiler 19 ± 1 °C sabit sıcaklığın ve 12 saat ışık/12 saat karanlık koşullarının sağlandığı klima odalarında inkübe edilmiştir. Plastik poşetler 24 saat sonra çıkarılmıştır ve bitkiler aynı klima odasında deneme süresince tutulmuştur.

İnokülasyonu takiben bitkiler, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 16 ve 19 gün sonrası hastalık durumu açısından değerlendirilmiştir. Kültür nohudu çeşitleri için 16. günde, yabani *Cicer* spp. ekotipleri için ise 19. günde son değerlendirmeler yapılmış ve deneme sonlandırılmıştır. İlk hastalık simptomunun görüldüğü gün kaydedilmiştir ve inokülasyonu takiben ilk hastalık gelişimine kadar geçen bu süre, patojenin her bir bitki üzerindeki “inkübasyon periyodu” olarak değerlendirilmiştir (Frenkel vd., 2008; Pariaud vd., 2009). Hastalık şiddeti, etkilenmiş bitki kısımlarının % oranı ile değerlendirilmiştir (Frenkel vd., 2008). Final hastalık şiddeti de % olarak ölçülmüştür (Frenkel vd., 2008). Simptomları gösteren yapraklar, dal ve gövde

kısımları, bitkinin genel görünüşü ve etkilenmiş bitki kısımlarının tüm bitkiye oranı dikkate alınarak değerlendirmeler yapılmıştır. İlk symptomların oluşmaya başladığı ve etkilenmiş birkaç yaprak (yaprak solgunluğu ve/veya zayıflayan petiyol): % 0,5-5; symptomların başladığı yapraklarda solgunluk ve etkilenmiş yaprak sayısında artış: % 5-10; yaprakların yanı sıra gövde ve dallarda görülmeye başlayan symptomlar: % 10-15; etkilenmiş yaprak sayısında artış, dallarda belirginleşen symptomlar: % 15-25; bitkinin en az 1/4'ünün etkilenmesi ve dal kırılmaları: % 25-35; gövde üzerinde lezyonların uzaması ve bitkinin yaklaşık yarısının hastalık belirtilerinin göstermesi: % 35-50; bitki oldukça solgun ve zararlanmış olmakla beraber halen az da olsa yeşil aksama sahip, % 60-80; bitkinin neredeyse tüm kısımları zararlanmış, genel solgunluk ve dal kırılmalarıyla beraber ana gövde halen dik: % 80-90; bitki tamamen etkilenmiş veya ölmüş: % 90-100 şeklinde değerlendirmeler yapılmıştır. Örnek bazı değerlendirmeler Şekil 3.5'te verilmiştir.



Şekil 3.5. Örnek hastalık değerlendirmeleri*: (a) % 5, (b) % 10, (c) % 15, (d) % 25, (e) % 60, (f) % 85 (hastalıktan etkilenmiş kısımlar oklarla işaret edilmiştir)

*Patojen izolat adı/konukçu adı/değerlendirme günü, sırasıyla: (a) Ak4.7/Cp2/8; (b) Yw15/Yarden/8; (c) Gökçe/Fahm5/9; (d) Cp1.05/Gökçe/9; (e) Cp1.06/Cp18/12; (f) Yw15/Çağatay/16

İlk symptom değerlendirmesinden son hastalık değerlendirmesine kadar tüm hastalık değerlendirme kayıtları kullanılarak önce AUDPC (Area Under Disease Progress Curve) hesaplamaları yapılmıştır. “ $AUDPC = \sum[(0.5)(Y_{i+1} + Y_i)(T_{i+1} - T_i)]$ ” (Y_i : i.

gündeki hastalık şiddeti (%), T_i : inokulasyondan itibaren değerlendirilmenin yapıldığı i. gün) formülü kullanılmıştır. Yabani ve kültür konukçuları için hastalık sonlandırma zamanları farklı olduğundan AUDPC değerleri üzerinden, RAUDPC (Relative Area Under Disease Progress Curve) değerleri alınmıştır. RAUDPC hesaplamaları kültür konukçuları için “AUDPC/16×100” ve yabani konukçular için “AUDPC/19×100” olarak hesaplanmıştır. Verilerin istatistik analizleri, üç-yönlü (three-way) ANOVA modelleri ile JMP 5.0 software for windows (SAS Institute, Cary, NC) paket programı kullanılarak yapılmıştır. ANOVA yapılmadan önce, homojeniteyi sağlamak için “arcsin square-root transformasyonu” ile RAUDPC değerleri normalize edilmiştir. Bu amaçla $[\text{ArcSine (RAUDPC)}^{1/2}]$ formülü uygulanmıştır.

Her bir konukçu orijini (Türkiye ve İsrail kültür nohudu çeşitleri; *C. pinnatifidum* ve *C. judaicum* ekotipleri) üzerinde her bir patojen orijininin (İsrail *C. Judaicum*, Türkiye *C. pinnatifidum* ve İsrail/Türkiye *C. arietinum*) saldırganlık durumu, hastalık şiddeti, inkübasyon periyodu ve final hastalık şiddeti açısından ayrı ayrı analiz edilmiştir.

İstatistik analizlerde doğrusal ANOVA modeli kullanılmıştır: $Y_{ijk} = \mu + M_i + C_k + F_j + M_i \times C_k + M_i \times F_j + C_k \times F_j + M_i \times C_k \times F_j$; Y_{ijk} , hastalık ölçüm değişkenlerine cevap; μ , gerçek değer; M_i , 'patojen izolatın ülkesi (Türkiye veya İsrail)' faktörü; C_k , 'patogen konukçu orijini' faktörü (yabani *Cicer* veya kültür nohudu); F_j , 'kültür nohudu çeşidi veya yabani nohut ekotipi' faktörü ve diğerleri bu faktörler arasındaki etkileşimlerin etkisidir. Ortalamaların çoklu kıyaslamaları Tukey-Kramer testi ($\alpha=0,05$) ile yapılmıştır.

BÖLÜM 4 BULGULAR

4.1. Arazi Çalışmaları

Tarlalardaki hastalık durumu ekilen çeşit, ekim zamanı ve başta yağış rejimi olmak üzere iklim şartlarına bağlı olarak dönemsel ve bölgesel farklılıklar göstermiştir. Geç ekim uygulamasının yapıldığı alanlarda hastalık görülmemiştir. Bu sebeple Mardin yöresine ait nohut ekim alanlarından örnek de elde edilememiştir. Hastalığın saptandığı nohut tarlalarında ise, kapsül, gövde, yaprak lezyonları ve yer yer gövde kırılmaları gözlenmiştir (Şekil 4.1).

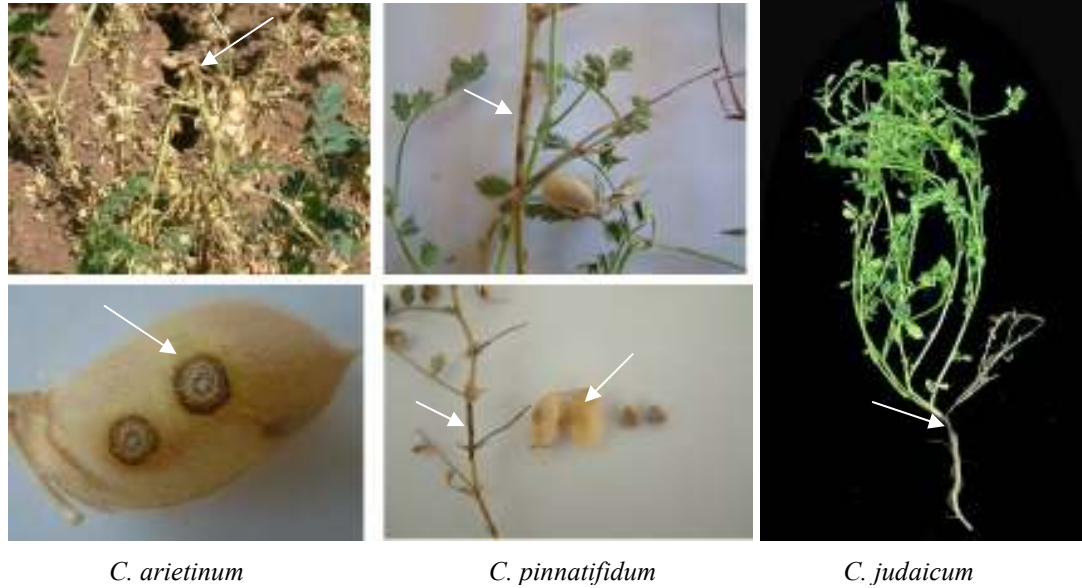
C. pinnatifidum popülasyonları, Gaziantep, Kahramanmaraş, Adıyaman ve Diyarbakır yörelerinde tespit edilmiştir ve lokasyonları kaydedilmiştir (Tablo 4.1). Ascochyta yanıklığının, *C. pinnatifidum* popülasyonlarında epidemik olmadığı gözlenmiştir. Tarlalardaki durumdan farklı olarak, dal ve gövde kırıklarına hiç rastlanmamıştır. Hastalık belirtileri, yapraklarda, dallarda ve nadiren tohum kapsüllerinde görülmüştür (Şekil 4.1). Ascochyta yanıklık belirtilerine sahip *C. pinnatifidum* bitkileri, Kahramanmaraş, Adıyaman ve Diyarbakır yörelerinde saptanmıştır.

Sıcaklık, yağmur ve rüzgar hastalık epidemiyolojisini etkileyen çevresel faktörlerdir (Nene ve Reddy, 1987; Trapero-Casas ve Kaiser, 1992). Arazi araştırmalarının yapıldığı Türkiye'deki yörelere ait ortalama yağış ve sıcaklık verileri Ek 2 (a ve b)'de sunulmuştur. Özellikle yağmur, patojen yayılımını ve hastalık gelişimini tetikleyen kritik bir faktördür (Nene ve Reddy 1987; Akem, 1999; Trapero-Casas ve Kaiser, 1992). Bununla beraber, hastalık epidemiyolojisi ve iklim şartları arasındaki ilişki, tez çalışması kapsamında değerlendirilmemiştir.

İsrail'deki *C. judaicum* popülasyonları da 2007-08 yetiştirme döneminde doğal yayılım alanlarında gözlenmiştir. Ancak bu yetiştirme döneminde hastalık gelişimini desteklemeyen iklim şartlarından dolayı bitkilerde Ascochyta yanıklığı görülmemiştir.

Tablo 4.1. Tek yıllık yabancı *Cicer* türlerinin saptanan lokasyonları

<i>Cicer</i> spp.	Lokasyon	Yükseklik(m)	Enlem	Boylam
<i>C. pinnatifidum</i>	Kahramanmaraş	995	37°41'	37°31'
	Kahramanmaraş	792	37°49'	37°33'
	Adıyaman	940	37°44'	37° 48'
	Adıyaman	855	37°45'	37°49'
	Adıyaman	776	37°42'	37°58'
	Adıyaman	733	37°66'	38°32'
	Diyarbakır	873	38°20'	39°43'
	Diyarbakır	970	38°19'	39°43'
	Diyarbakır	997	38°19'	39°43'
	Gaziantep	1275	37°16'	37°13'
	<i>C. reticulatum</i>	Mardin	967	37°31'
Mardin		935	37°28'	41°27'
<i>C. echinospermum</i>	Şanlıurfa	600	37°58'	39°10'



Şekil 4.1. Yabani ve kültür nohudunda Ascochyta yanıklık belirtileri (oklarla gösterilmiştir)

C. pinnatifidum, habitat olarak kireçli ve volkanik ana kayanın hakim olduğu, taşlık, dik yamaçlarda, çoğunlukla kaya diplerinde küçük popülasyonlar halinde dağılım göstermektedir (Şekil 4.2). Bir lokasyonda, tekli veya küçük gruplar halinde dar bir alanda dağınık yayılım halindedirler. Kaya diplerinde veya meşelik alanların yakınlarında bulunabilmektedirler. Doğal habitat alanlarını oluşturmalarına rağmen, otlama yapılan alanlarda *C. pinnatifidum* bitkilerine rastlanmamıştır.



Şekil 4.2. Yabani nohut türlerinin doğal habitat alanlarının genel görünümü (a) kireçli ana kayanın hakim olduğu Adıyaman'dan; (b) volkanik ana kayanın hakim olduğu Diyarbakır'dan bir lokasyon

Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde doğal yayılıma sahip diğer tek yıllık *Cicer* türlerinden *C. reticulatum* popülasyonları da incelenmiştir (Şekil 4.3). Dünya'da sadece Mardin-Hakkari civarlarında sınırlı ve seyrek bir dağılıma sahip olan bu türün Mardin civarındaki lokasyonları belirlenmiş ve kaydedilmiştir (Tablo 4.1). Kireçli ana kayanın hakim olduğu kayalık-taşlık alanlar (Şekil 4.4) ve üzüm bağlarının içi ve çevresinde doğal yayılım gösteren *C. reticulatum* popülasyonları saptanmıştır. *C. reticulatum* bitkilerinin doğal ortamlarında oldukça sağlıklı olduğu gözlenmiştir. Ascochyta yanıklık simptomlarını gösterdiği düşünülen birkaç bitki örneğinde ise *D. rabiei* patojeni rapor edilememiştir.



Şekil 4.3. Kültür nohudu (a) (*C. arietinum*) (tarlada) ve (b) yabani atası (*C. reticulatum*) (doğal ortamında)



Şekil 4.4. *C. reticulatum* bitkilerinin tespit edildiği lokasyonlardan görüntüler (Mardin/Midyat)

Az sayıdaki *C. echinospermum* bitkilerine ise Şanlıurfa civarında (Tablo 4.1) raslanmıştır. Ancak bu örneklerde Ascochyta yanıklığı görülmemiştir.

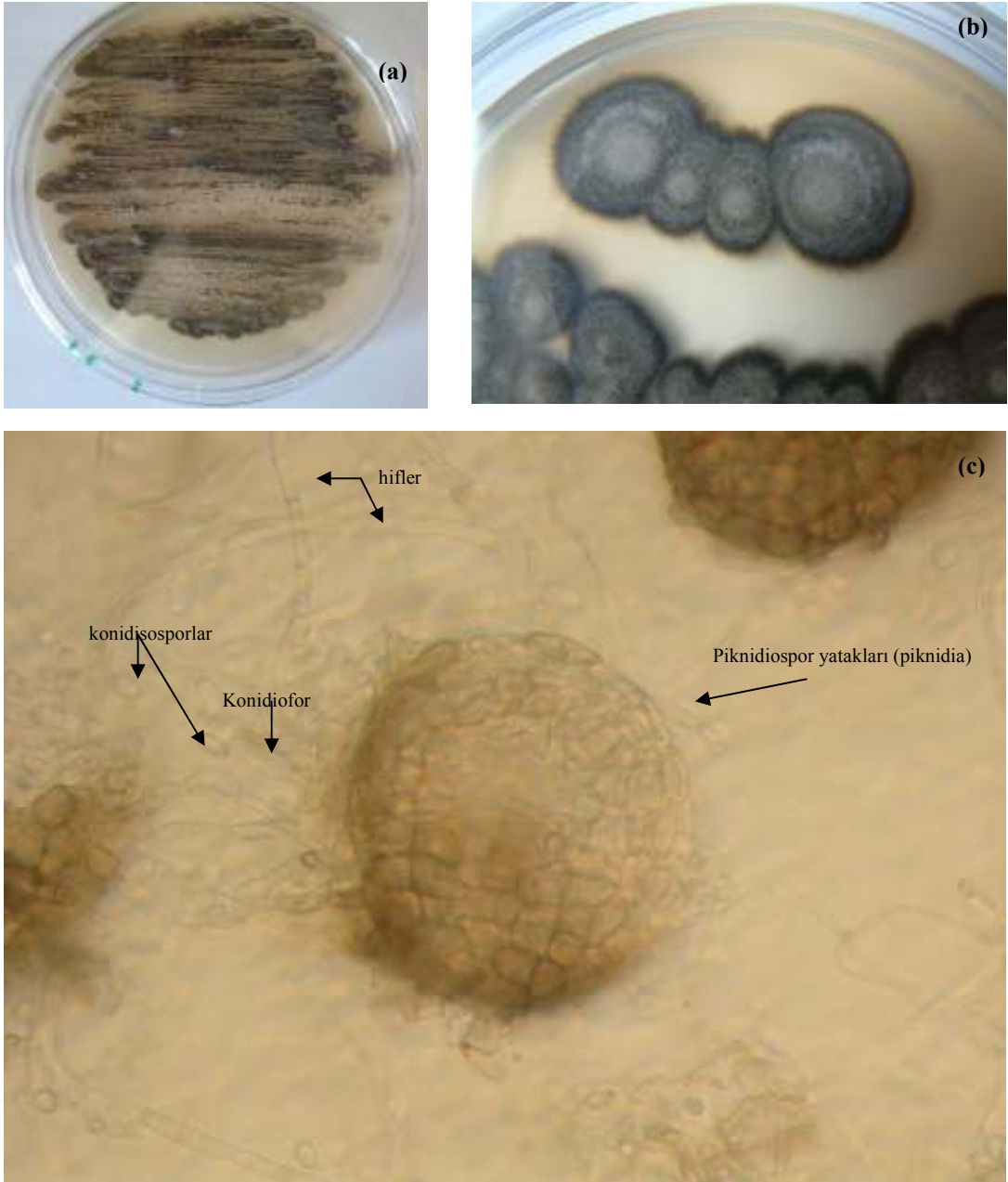
Arazi araştırmalarında çekilen çeşitli görüntüler Şekil 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.5. Yabani ve kültür nohudu arazi görüntüleri (a) *C. pinnatifidum*, Diyarbakır; (b) *C. pinnatifidum*, Kahramanmaraş; (c ve d) *C. pinnatifidum*, Adıyaman; (e ve f) *C. reticulatum*, Mardin; (g ve h) *C. arietinum*, Şanlıurfa

4.2. *D. rabiei* İzolatları

Farklı analizlerde araştırılmak üzere toplam 128 *D. rabiei* izolatu kullanılmıştır (Tablo 3.1). İzolatlar morfolojik olarak konidi şekline ve kültür morfolojisine göre tanımlanmış (Şekil 4.6) ve Koch postülatı başarıyla tamamlanmıştır (Can vd., 2007; Frenkel vd., 2007). Yabani nohut türünden elde edilen izolatlar, kültür nohudu orijinli izolatlardan farklı olarak, PDA ortamında düşük, CMA ortamında ise yüksek sporulasyon göstermiştir.



Şekil 4.6. *D. rabiei* (a, b) koloni kültür morfolojileri; (c) fungal piknidiospor yatakları, piknidiosporlar ve hiflerin mikroskop görüntüleri (Mikroskop büyütmesi 400×)

4.3. D. rabiei İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu

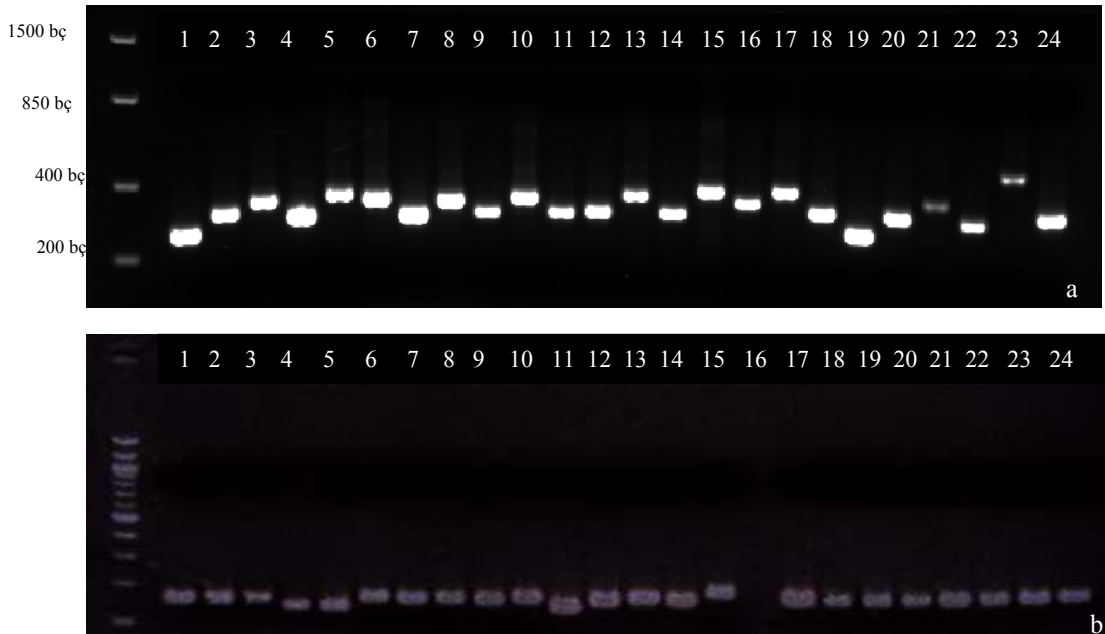
Filogenetik açıdan bilgilendirici dört gen bölgesinin kısmi baz dizilimleri, *EF1- α* (Elongation factor1- α , Translasyon Uzaman Faktörü1- α) için 280 bç , *G3PD* (Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz) için 500 bç, *ITS* (ITS 1, 5.8S ribozomal RNA geni ve ITS 2 bölgesi) için 450 bç ve *CHS1* (Kitin sentaz 1) için 280 bç olarak sonuçlandırılmıştır. *EF1- α* sonuçları hariç, çalışılan diğer üç bölge için örneklenen tüm izolatların baz dizilim sonuçları kendi aralarında ve NCBI gen bankasında kayıtlı Ar20 kodlu referans *D. rabiei* izolatının baz dizilim sonuçları (DQ386480, DQ383958, DQ383949) ile % 100 homoloji göstermiştir (Ek 3). *EF1- α* baz dizilim sonuçları ise kültür ve yabancı nohut orijinli izolatlar arasında farklılık göstermiştir. Yabancı nohut orijinli izolatlardan üçü (*C. pinnatifidum*'dan 2 ve *C. judaicum*'dan 1 izolat), kültür nohudu orijinli izolatlarla % 100 benzerlik gösterirken; yabancı konukçu orijinli diğer üç izolat, *D. rabiei* izolat-Ar20 (DQ386488) de dahil olmak üzere, kültür nohudu orijinli izolatlarla, 4 nükleotid (pozisyonlar: 53, 202, 246, 248) farklılığından dolayı % 98'lik homoloji göstermiştir (Şekil 4.7; Ek 3). Farklılık gösteren bu yabancı konukçu orijinli izolatlar, NCBI veri bankasında kayıtlı yabancı nohut *C. incisum*'dan örneklenmiş *D. rabiei* (DQ386491) izolatının *EF1- α* baz dizilimi ile % 100 homoloji göstermiştir (Şekil 4.7; Ek 3).

CP1	ATCTGGACGGCGTTTCCTCGCTTGCGGGTATCGTTTCATTG	66
CP2	ATTTGGACGGCGTTTCCTCGCTTGCGGGTATCGTTTCATTG	41
CP3CGCACGGCGTTTCCTCGCTTGCGGGTATCGTTTCATTG	33
TR1	ATCTGGACGGCGTTTCCTCGCTTGCGGGTATCGTTTCATTG	52
CJ1	ATTTGGACGGCGTTTCCTCGCTTGCGGGTATCGTTTCATTG	53
CJ2	ATCTGGACGGCGTTTCCTCGCTTGCGGGTATCGTTTCATTG	55
CJ3	ATTTGGACGGCGTTTCCTCGCTTGCGGGTATCGTTTCATTG	55
IS1	ATCTGGACGGCGTTTCCTCGCTTGCGGGTATCGTTTCATTG	65
AR-20	ATCTGGACGGCGTTTCCTCGCTTGCGGGTATCGTTTCATTG	90
Georgial0	ATTTGGACGGCGTTTCCTCGCTTGCGGGTATCGTTTCATTG	90
CP1	ATGCCCCACAGCGCAATTTGCATCGCGAGCTATGGGCTC	186
CP2	ATGCCCCACAGCGCAATTTGCATCGCGAGCTATGGGCTC	161
CP3	ATGCCCCACAGCGCAATTTGCATCGCGAGCTATGGGCTC	153
TR1	ATGCCCCACAGCGCAATTTGCATCGCGAGCTATGGGCTC	172
CJ1	ATGCCCCACAGCGCAATTTGCATCGCGAGCTATGGGCTC	173
CJ2	ATGCCCCACAGCGCAATTTGCATCGCGAGCTATGGGCTC	175
CJ3	ATGCCCCACAGCGCAATTTGCATCGCGAGCTATGGGCTC	175
IS1	ATGCCCCACAGCGCAATTTGCATCGCGAGCTATGGGCTC	185
AR-20	ATGCCCCACAGCGCAATTTGCATCGCGAGCTATGGGCTC	210
Georgial0	ATGCCCCACAGCGCAATTTGCATCGCGAGCTATGGGCTC	210
CP1	CGGTCC AAGGCTGCGACATCCTTGCCCACTTAATAAGT	226
CP2	CGGTCC AAGGCTGCGACATCCTTGCCCACTTAATAAGT	201
CP3	CGGTCC AAGGCTGCGACATCCTTGCCCACTTAATAAGT	193
TR1	CGGTCC AAGGCTGCGACATCCTTGCCCACTTAATAAGT	212
CJ1	CGGTCC AAGGCTGCGACATCCTTGCCCACTTAATAAGT	213
CJ2	CGGTCC AAGGCTGCGACATCCTTGCCCACTTAATAAGT	215
CJ3	CGGTCC AAGGCTGCGACATCCTTGCCCACTTAATAAGT	215
IS1	CGGTCC AAGGCTGCGACATCCTTGCCCACTTAATAAGT	225
AR-20	CGGTCC AAGGCTGCGACATCCTTGCCCACTTAATAAGT	230
Georgial0	CGGTCC AAGGCTGCGACATCCTTGCCCACTTAATAAGT	230

Şekil 4.7. *EF1- α* kısmi baz dizilimindeki polimorfik nükleotid bölgeleri (yeşil renkli) (CP, *C. pinnatifidum* orijinli izolatlar; CJ, *C. judaicum* orijinli izolatlar; TR1, Türkiye *C. arietinum* orijinli izolat; IS1, İsrail *C. arietinum* orijinli izolat; AR-20, *C. arietinum* orijinli referans izolat; Georgial0; *C. incisum* orijinli izolat)

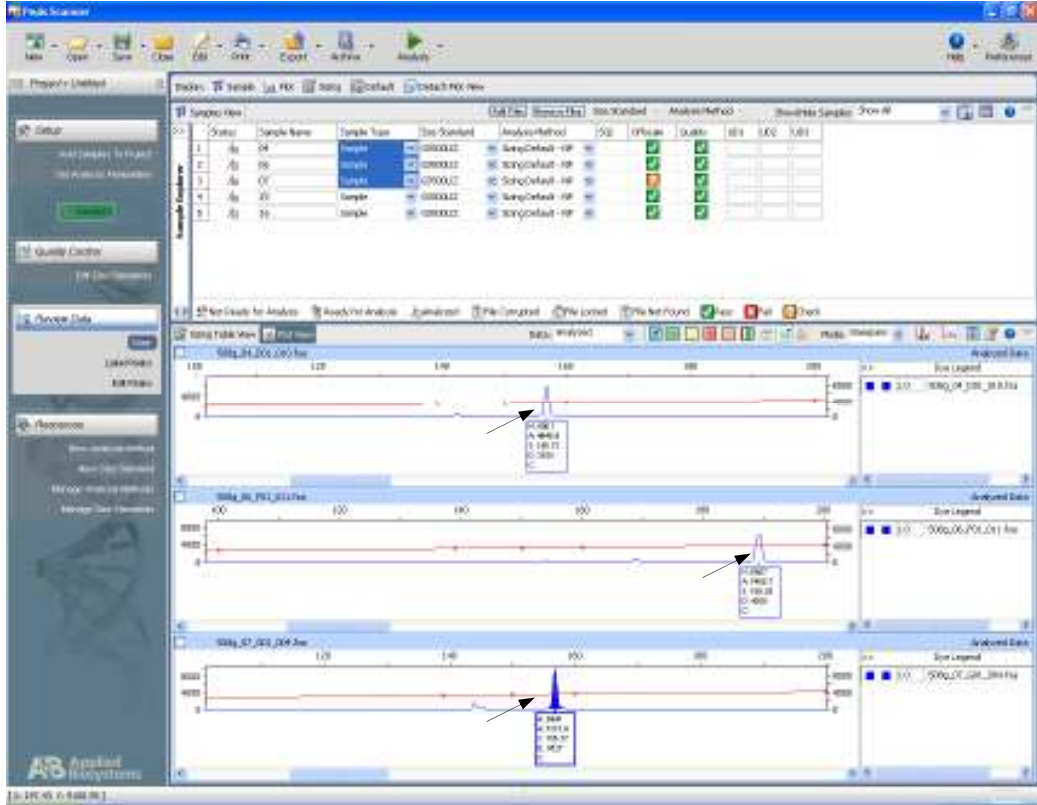
4.4. *D. rabiei* Popülasyon Genetik Yapıları

128 *D. rabiei* izolatu (Tablo 3.1) ve 2 pozitif kontrol (AR738 ve WSFS003-1 *D. rabiei* izolatları) olmak üzere toplam 130 izolat için 6 STMS lokusu (Tablo 3.3) PCR ile çoğaltılmıştır ve jel elektroforezi ile PCR'ın gerçekleştiği doğrulanmıştır (Şekil 4.8). Her bir izolat örneğinden, her bir lokus için tek bir ampikon elde edilmiştir. PCR ürünlerinin "Bölüm 3/Yöntem 3.2.6." kısmında açıklandığı üzere yapılan GeneScan analizleri ile alınan sonuçları Peak Scanner (v1.0) yazılım programı üzerinden değerlendirilmiştir. Her bir izolat/lokus için, PCR ürünlerini baz çifti büyüklüğünde veren net bir tepcecik (peak) değeri okunmuştur (Şekil 4.9). Olası hatalı okumalardan kaçınmak üzere, istenilen kalitede ürün büyüklüğü okumaları alınmadığında veya beklenen ana tepcecik dışında ekstra küçük tepceciklerin varlığında, örneklerin PCR'ı ve GeneScan analizleri tekrarlanmıştır. Bir örnek için aynı anda dört farklı floresan boya ile işaretli dört farklı lokus için de tepcecik ölçümleri net bir şekilde değerlendirilebilmiştir (Şekil 4.10). Her bir izolat için altı STMS lokusundaki baz çifti büyüklüğünde okunan alel büyüklükleri kaydedilmiştir. Veriler "Bölüm 3/Yöntem 3.2.6.1." kısmında belirtilen çeşitli popülasyon genetik analiz programlarında değerlendirilmek üzere kullanılan analiz programı ve yöntemine uygun olacak şekilde ayrı ayrı hazırlanmıştır.

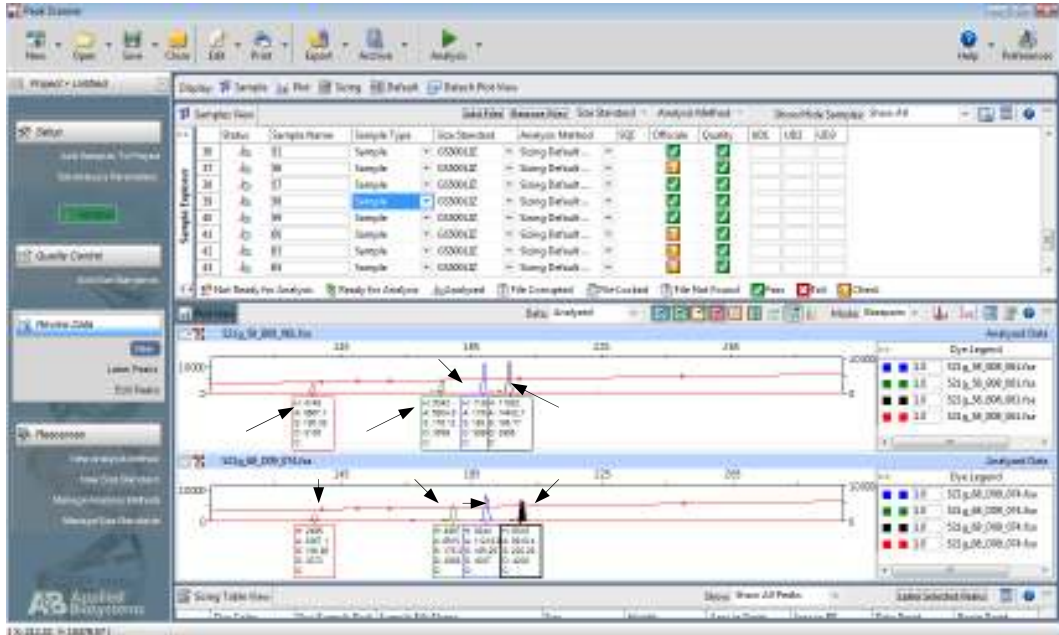


Şekil 4.8. PCR sonrası jel elektroforezi sonucu* (a) ArH02T lokusu ve (b) ArR12D lokusu için elektroforez görüntüleri

* (a) Çalışılan örnekler: 1-18 Türkiye izolatları ve 19-24 İsrail izolatları; (b) çalışılan tüm örnekler İsrail izolatları ve markır 100 bç



Şekil 4.9. ArR01D lokusu için tepecik ölçümleri*
*(Üç izolat için tepecik ölçümleri oklarla gösterilmiştir)



Şekil 4.10. ArR01D ArH06T ArH05T ArA06T lokusları için tepecik ölçümleri*
*İki izolat için dört lokustaki baz çifti büyüklükleri okunmuştur (oklarla gösterilen)

4.4.1. Alelik varyasyon ve popülasyon genetik yapıları

Çalışılan *D. rabiei* izolatlarının altı STMS lokusunda sahip olduğu aleller ve popülasyon düzeyinde alel frekansları saptanmıştır (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Gözlenen aleller ve alel frekansları

Lokus	Alel (bc)	*Patojen Popülasyondaki alel frekansı				Lokus	Alel (bc)	*Patojen popülasyondaki alel frekansı			
		Is Ca	Tr Ca	Is Cj	Tr Cp			Is Ca	Tr Ca	Is Cj	Tr Cp
ArR01D						ArR12D					
	156	0,065	0,034	0,543	1,000	137	0,032	0,000	0,086	0,000	
	161	0,000	0,017	0,000	0,000	150	0,000	0,017	0,000	0,000	
	164	0,258	0,271	0,029	0,000	154	0,000	0,000	0,543	0,667	
	189	0,677	0,661	0,429	0,000	156	0,097	0,068	0,114	0,333	
	197	0,000	0,017	0,000	0,000	158	0,806	0,559	0,229	0,000	
ArH06T						ArH02T					
	149	0,000	0,000	0,000	0,333	253	0,000	0,000	0,057	0,667	
	161	0,000	0,153	0,000	0,000	256	0,000	0,051	0,000	0,000	
	164	0,000	0,034	0,000	0,000	259	0,000	0,017	0,000	0,000	
	170	0,032	0,000	0,000	0,000	262	0,000	0,034	0,000	0,000	
	173	0,032	0,000	0,000	0,000	265	0,000	0,017	0,000	0,000	
	176	0,613	0,322	0,029	0,000	271	0,032	0,000	0,000	0,000	
	179	0,065	0,136	0,000	0,000	274	0,097	0,000	0,000	0,000	
	182	0,000	0,034	0,000	0,000	276	0,000	0,017	0,057	0,000	
	185	0,000	0,017	0,000	0,000	279	0,000	0,034	0,114	0,000	
	188	0,000	0,119	0,000	0,000	285	0,000	0,034	0,000	0,000	
	191	0,032	0,136	0,000	0,000	287	0,000	0,068	0,029	0,000	
	194	0,032	0,017	0,057	0,000	290	0,032	0,017	0,086	0,000	
	200	0,032	0,034	0,000	0,000	293	0,000	0,017	0,029	0,000	
	206	0,065	0,000	0,000	0,000	296	0,000	0,085	0,057	0,000	
	209	0,065	0,000	0,000	0,000	299	0,000	0,000	0,029	0,000	
	215	0,000	0,000	0,029	0,000	302	0,000	0,000	0,000	0,333	
	224	0,000	0,000	0,029	0,000	305	0,000	0,017	0,000	0,000	
	227	0,000	0,000	0,029	0,000	308	0,000	0,017	0,029	0,000	
	230	0,000	0,000	0,029	0,000	314	0,032	0,017	0,000	0,000	
	233	0,000	0,000	0,029	0,000	317	0,032	0,000	0,000	0,000	
	236	0,000	0,000	0,029	0,000	320	0,032	0,017	0,029	0,000	
	242	0,000	0,000	0,029	0,000	323	0,032	0,017	0,000	0,000	
	245	0,032	0,000	0,143	0,000	326	0,000	0,102	0,029	0,000	
	251	0,000	0,000	0,029	0,000	332	0,226	0,153	0,057	0,000	
	271	0,000	0,000	0,171	0,667	335	0,065	0,186	0,000	0,000	
	274	0,000	0,000	0,114	0,000	338	0,161	0,000	0,029	0,000	
	293	0,000	0,000	0,114	0,000	343	0,065	0,000	0,000	0,000	
	299	0,000	0,000	0,029	0,000	346	0,000	0,017	0,000	0,000	
	308	0,000	0,000	0,029	0,000	349	0,065	0,034	0,086	0,000	
	311	0,000	0,000	0,086	0,000	351	0,065	0,000	0,057	0,000	
ArH05T						ArA06T					
	179	0,000	0,017	0,000	0,000	136	0,613	0,542	0,057	0,000	
	191	0,000	0,017	0,000	0,000	146	0,000	0,000	0,000	1,000	
	194	0,000	0,119	0,000	0,000	149	0,000	0,068	0,029	0,000	
	197	0,032	0,017	0,000	0,000	155	0,065	0,000	0,914	0,000	
	200	0,548	0,492	0,057	0,000						
	203	0,097	0,000	0,000	0,000						
	206	0,000	0,017	0,029	0,000						
	209	0,032	0,034	0,914	0,333						
	212	0,000	0,102	0,000	0,667						
	215	0,290	0,000	0,000	0,000						
	222	0,000	0,119	0,000	0,000						
	225	0,000	0,017	0,000	0,000						
	231	0,000	0,017	0,000	0,000						
	235	0,000	0,017	0,000	0,000						
	240	0,000	0,017	0,000	0,000						

*Tr Ca, Türkiye *C. arietinum* (59 izolat); Is Ca, İsrail *C. arietinum* (31 izolat); Is Cj, İsrail *C. judaicum* (35 izolat); Tr Cp, *C. pinnatifidum* (3 izolat) (*C. pinnatifidum* orijinli izolatlar bir popülasyonu temsil edecek düzeyde olmamakla beraber, saptanan alelleri göstermek amacıyla tabloda yer almıştır)

Popülasyonlara göre, lokus bazında gözlenen alel sayısı 5 ile 40 arasında olmuştur (Tablo 4.3). Çalışılan STMS markırları, grup içi/gruplar arası ve konukçu/ülke bazında farklı derecelerde polimorfik bulunmuştur.

Tablo 4.3. Popülasyonlardaki alelik yapı ve haploid genetik çeşitlilik

Ülke	Örnekleme Orijini	Lokus	Na ¹	Nap ²	h ³	Majör Alel Frekansı	Φ_{PT} ⁴
Türkiye	<i>C. arietinum</i>	ArR01D	5	2	0,488	0,661	-0,019
		ArH06T	10	2	0,818	0,322	0,056
		ArH05T	13	6	0,717	0,492	0,049
		ArA06T	3	0	0,549	0,542	0,366*
		ArR12D	10	6	0,637	0,559	0,181*
		ArH02T	23	8	0,909	0,186	0,019
	Ortalama		10,67	4	0,686	0,461	
	Toplam						0,061
İsrail	<i>C. arietinum</i>	ArR01D	3	0	0,470	0,677	-0,043
		ArH06T	10	2	0,606	0,613	-0,087
		ArH05T	5	1	0,604	0,548	0,043
		ArA06T	3	0	0,516	0,613	-0,079
		ArR12D	4	0	0,335	0,807	-0,093
		ArH02T	15	3	0,889	0,226	-0,048
	Ortalama		6,67	1	0,570	0,581	
	Toplam						-0,054
	<i>C. judaicum</i>	ArR01D	3	0	0,521	0,543	-0,011
		ArH06T	17	12	0,905	0,171	-0,040
		ArH05T	3	0	0,160	0,914	0,130
		ArA06T	3	0	0,160	0,914	0,132*
		ArR12D	5	0	0,632	0,543	0,254*
		ArH02T	19	4	0,936	0,114	0,390
Ortalama		8,33	2,67	0,552	0,533		
Toplam						0,281*	

¹Alel sayısı. ²Özel alel sayısı. ³Her bir örnekleme orijini içindeki haploid genetik çeşitlilik.

⁴ Φ_{PT} (F_{ST} analoğu) popülasyon genetik farklılaşmasını hesaplar (Michalakis ve Excoffier, 1996).

*999 permutasyona dayalı olarak istatistiksel açıdan anlamlı Φ_{PT} değerlerini ($\alpha < 0.05$) gösterir.

Tüm lokuslar boyunca haploid genetik çeşitlilik ortalaması (H) ise haploid genetik çeşitlilik (h) değerlerinin aritmetik ortalaması olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.3). En yüksek genetik çeşitlilik H=0,69 değeri ile kültür nohudu orijinli Türkiye popülasyonunda tespit edilmiştir. İsrail *D. rabiei* popülasyonundaki genetik çeşitlilik ise, kültür nohudu orijinli popülasyonunda H=0,57 ve yabani *C. judaicum* orijinli popülasyonda H=0,55 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.3). Gözlenen ve özel alel sayısında da en yüksek değerleri kültür nohudu orijinli Türkiye popülasyonu sunmuştur (Tablo 4.3).

Konukçu ve ülke bazında her bir popülasyonu oluşturan grupların alelik kompozisyonu ve genetik çeşitliliği de çıkarılmıştır (Tablo 4.4). En yüksek genetik çeşitlik Diyarbakır grubunda, en düşük genetik çeşitlilik ise Şanlıurfa'da ve *C. judaicum* örnekleme alanlarından Wadi Ara'da görülmüştür. İsrail örnekleme alanlarından Judean Hill grubu hariç olmak üzere her bir izolat grubu özel aleller sunmuştur (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Patojen gruplardaki alelik yapı ve haploit genetik çeşitliliği*

Ülke	Konukçu	Popülasyon	NA ¹	h ²	NAP ³	Hn ⁴	Hna ⁵
Türkiye	<i>C. arietinum</i>	Kahramanmaraş	3,83	0,626	0,83	9	c
		Adiyaman	5,00	0,643	1,33	10	
		Gaziantep	4,50	0,627	0,50	10	
		Adana	3,00	0,417	0,17	8	b
		Diyarbakır	4,67	0,657	1,00	10	b,d
		Şanlıurfa	2,33	0,310	0,33	6	b,d
		Ortalama	3,88	0,546	0,69	8,8	
İsrail	<i>C. arietinum</i>	Northern valleys	3,17	0,558	0,50	7	
		Sharon	4,00	0,612	0,33	7	a,b,c
		Southern coast	3,00	0,422	0,17	7	a,b,c
		Judean hills	2,83	0,473	0,00	8	a,c
		Ortalama	3,25	0,516	0,25	7,25	
	<i>C. judaicum</i>	Ramot Menashe	3,67	0,465	1,17	9	
		YW forest	3,33	0,449	1,00	8	
		Wadi Sansan	2,83	0,474	0,17	6	c
		Wadi Ara	2,33	0,333	0,50	7	
		Ortalama	3,04	0,430	0,71	7,5	

1. Her bir grup için ortalama alel sayısı

2. Nei'nin genetik çeşitliliği (1973) [Her bir grup için lokuslar boyunca h'in (haploit genetik çeşitlilik) aritmetik ortalaması]

3. Her grup için ortalama özel alel sayısı

4. Haplotip sayısı

5. Konukçu ve ülke bazında farklı orijinli patojen popülasyonlar arasında saptanan aynı haplotipler (Her harf farklı bir haplotipi göstermektedir)

*Analizler için yetersiz örnek sayısından dolayı *C. pinatifidum*'dan orijinlenen izolatların sonuçları tabloda yer almamıştır.

Çalışılan 128 izolat için 100 haplotip belirlenmiştir (Ek 4). 12 tanesi en az iki kez saptanmıştır (Ek 4). Az sayıda olmakla beraber, aynı haplotipler farklı orijinli gruplar arasında görülmüştür (Tablo 4.4). Tespit edilen aynı haplotipler, lokasyon, konukçu ve ülke bazında farklı ve coğrafik açıdan uzak mesafeli örnekleme olduğu için dolaylı klon olarak değerlendirilmemiştir.

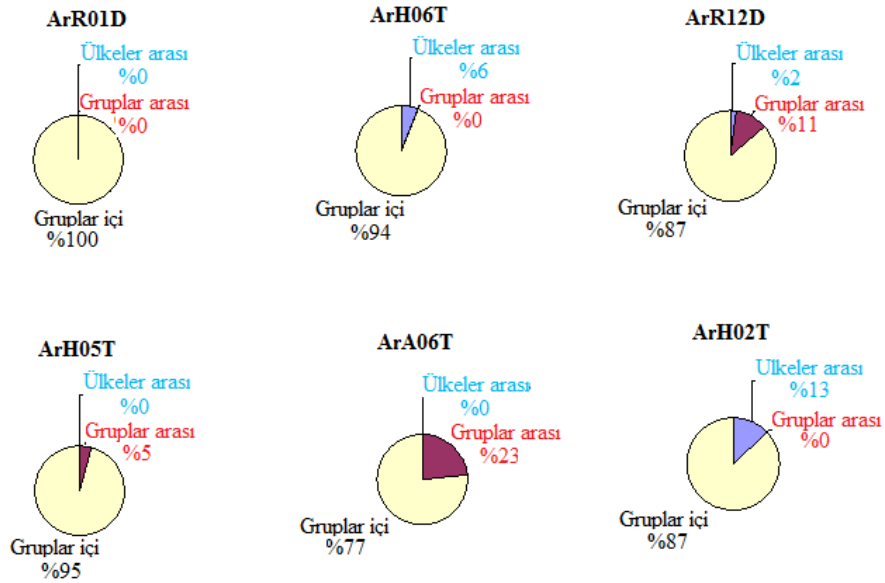
4.4.2. Türkiye ve İsrail kültür nohudu orijinli *D. rabiei* örneklerinin karşılaştırmalı moleküler varyasyon analizleri

Altı STMS markıra dayalı olarak Türkiye ve İsrail'den örneklenen patojen popülasyonlardaki alelik çeşitlilik, bu iki ülke arasında sadece % 8'lik bir moleküler varyasyon olduğunu göstermiştir (Tablo 4.5). Bu varyasyon, 3 lokustan (ArH06T, ArH02T and ArR12D) kaynaklanmıştır (Şekil 4.11). Varyasyonun en yüksek dilimi ise % 90 ile gruplar içinde gözlenmiştir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Kültür nohudu orijinli Türkiye ve İsrail *D. rabiei* popülasyonları arasındaki moleküler varyans analizleri (AMOVA)

Örnekleme Orijini		sd ¹	Varyasyon yüzdesi (%)	Φ değeri ²	P ³
Ülkeler arası (Türkiye ve İsrail)	Φ_{RT}	1	% 8	0,081	0,015
Gruplar arası (10 grup)	Φ_{PR}	8	% 2	0,022	0,273
Gruplar içi	Φ_{PT}	80	% 90	0,101	0,018
Toplam		89	% 100		

¹Serbestlik derecesi: $\sum[N(\text{örnek sayısı})-1]$; ² Φ -istatistik, popülasyon genetik farklılaşmasını hesaplar (Michalakis ve Excoffier, 1996); ³Olasılık değeri



Şekil 4.11. Altı STMS markırın kültür nohudu orijinli Türkiye ve İsrail *D. rabiei* popülasyonları arasındaki varyasyona etkisi

Nei'ni genetik benzerlik ve uzaklık analizleri de AMOVA sonuçlarını desteklemiştir. Kültür nohudu orijinli Türkiye ve İsrail patojen popülasyonları arasında % 91'lik genetik benzerlik olduğu sonucu hesaplanmıştır (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Nei'nin genetik benzerlik ve genetik uzaklık ölçümleri*

Örnekleme Orijini	Örnekleme Orijini		
	İsrail- <i>C. arietinum</i>	İsrail- <i>C. judaicum</i>	Türkiye- <i>C. arietinum</i>
İsrail- <i>C. arietinum</i>	****	0,2874	0,9144
İsrail- <i>C. judaicum</i>	<u>1,2468</u>	****	0,2642
Türkiye- <i>C. arietinum</i>	<u>0,0895</u>	<u>1,3312</u>	****

*Genetik benzerlik, koyu yazılı değerler; genetik uzaklık, altı çizili değerlerdir (Nei, 1978)

Kültür nohudu orijinli Türkiye ve İsrail *D. rabiei* popülasyonları arasındaki gen/genotip akışının $N_m = 14,66$ ($G_{ST} = 0,033$) ile oldukça yüksek bir değere sahip olduğu bulunmuştur (Tablo 4.7). $N_m > 1$ sonucu popülasyonlar arası gen/genotip akışının varlığını ve popülasyonlar arası farklılaşmanın az olduğunu göstermektedir (McDermott ve McDonald, 1993).

Tablo 4.7. Kültür nohudu orijinli Türkiye ve İsrail *D. rabiei* popülasyonları arasındaki gen/genotip akışı hesaplamaları

Lokus	Örnek Sayısı ¹	H_T ²	H_S ³	G_{ST} ⁴	N_m ⁵
ArR01D	90	0,4877	0,4865	0,0023	215,7165
ArH06T	90	0,7435	0,7084	0,0472	10,1022
ArH05T	90	0,6944	0,6600	0,0495	9,5910
ArA06T	90	0,5373	0,5327	0,0085	58,3594
ArR12D	90	0,5141	0,4858	0,0550	8,5928
ArH02T	90	0,9240	0,8988	0,0273	17,8486
Ortalama	90	0,6502	0,6287	0,0330	14,6656

1, Kültür nohudu orijinli 59 Türkiye ve 31 İsrail izolatı

2, Popülasyonlardaki genetik çeşitlilik (Nei, 1973)

3, Popülasyonlar içindeki genetik çeşitlilik (Nei, 1973)

4, Popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşma ($G_{ST} = 1 - H_S/H_T$) (Nei, 1973)

5, Gen/genotip akış değeri [$N_m = 0,5(1 - G_{ST})/G_{ST}$] (Slatkin ve Barton, 1989)

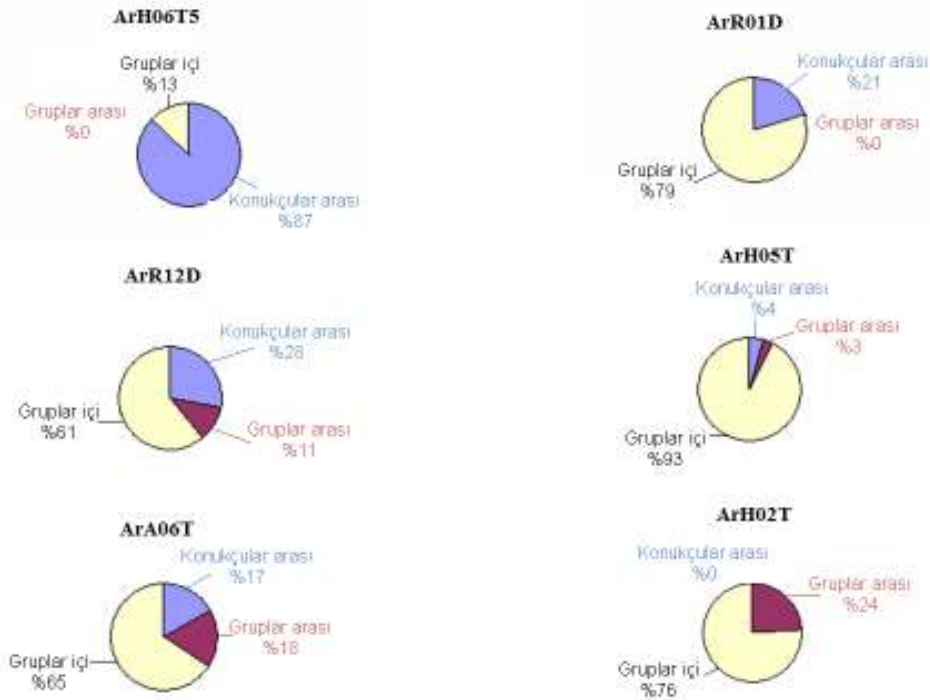
4.4.3. Yabani ve kültür nohudu orijinli *D. rabiei* örneklerinin karşılaştırmalı moleküler varyasyon analizleri

Yetersiz örnek sayısından dolayı *C. pinnatifidum*'dan elde edilen izotlar, popülasyon analiz kısımlarına dahil edilmemiştir. Kültür nohudundan örneklenen Türkiye ve İsrail *D. rabiei* popülasyonları, yabani *C. judaicum*'dan örneklenen *D. rabiei* popülasyonu ile moleküler varyasyon açısından kıyaslanmıştır. Toplam 125 izolatın AMOVA sonuçları, yabani ve kültür nohudu orijinli popülasyonlar arasında % 54'lük bir moleküler varyasyon olduğunu ortaya çıkarmıştır (Tablo 4.8). ArH02T lokusu dışında tüm lokusların bu varyasyonun oluşumuna farklı oranlarda etkisi olmuştur (Şekil 4.12).

Tablo 4.8. *C. arietinum* ve *C. judaicum*'dan örneklenen *D. rabiei* popülasyonları arasındaki moleküler varyans analizleri

Örnekleme Orijini		sd ¹	Varyasyon yüzdesi (%)	Φ değeri ²	P ³
Konukçular arası	Φ _{RT}	1	% 54	0,538	0,001
Gruplar arası (14 popülasyon)	Φ _{PR}	12	% 8	0,171	0,001
Gruplar içi	Φ _{PT}	111	% 38	0,617	0,001
Toplam		124	% 100		

¹Serbestlik derecesi: $\sum[N(\text{örnek sayısı})-1]$; ²Φ-istatistik, popülasyon genetik farklılaşmasını hesaplar (Michalakis ve Excoffier, 1996); ³Olasılık değeri



Şekil 4.12. Altı STMS markırının yabancı (*C. judaicum*) ve kültür nohudu orijinli *D. rabiei* popülasyonları arasındaki varyasyona etkisi

Nei'nin genetik benzerlik hesaplamalarına göre, *C. judaicum*'dan örneklenen patojen popülasyonunun, Türkiye kültür nohudu patojen popülasyonu ile % 26 ($I=0,26$) ve İsrail kültür nohudu patojen popülasyonu ile ise % 29 ($I=0,29$) oranında genetik benzerlik gösterdiği hesaplanmıştır (Tablo 4.6).

C. judaicum orijinli *D. rabiei* popülasyonu ile kültür nohudu orijinli Türkiye ve İsrail *D. rabiei* popülasyonları arasındaki gen/genotip akış derecesi, $N_m = 2,2$ ($G_{ST} = 0,18$) ve $N_m = 1,8$ ($G_{ST} = 0,22$) olarak bulunmuştur (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. *C. judaicum* orijinli *D. rabiei* popülasyonu ile kültür nohudu orijinli (a) İsrail ve (b) Türkiye *D. rabiei* popülasyonları arasındaki gen/genotip akışı hesaplamaları

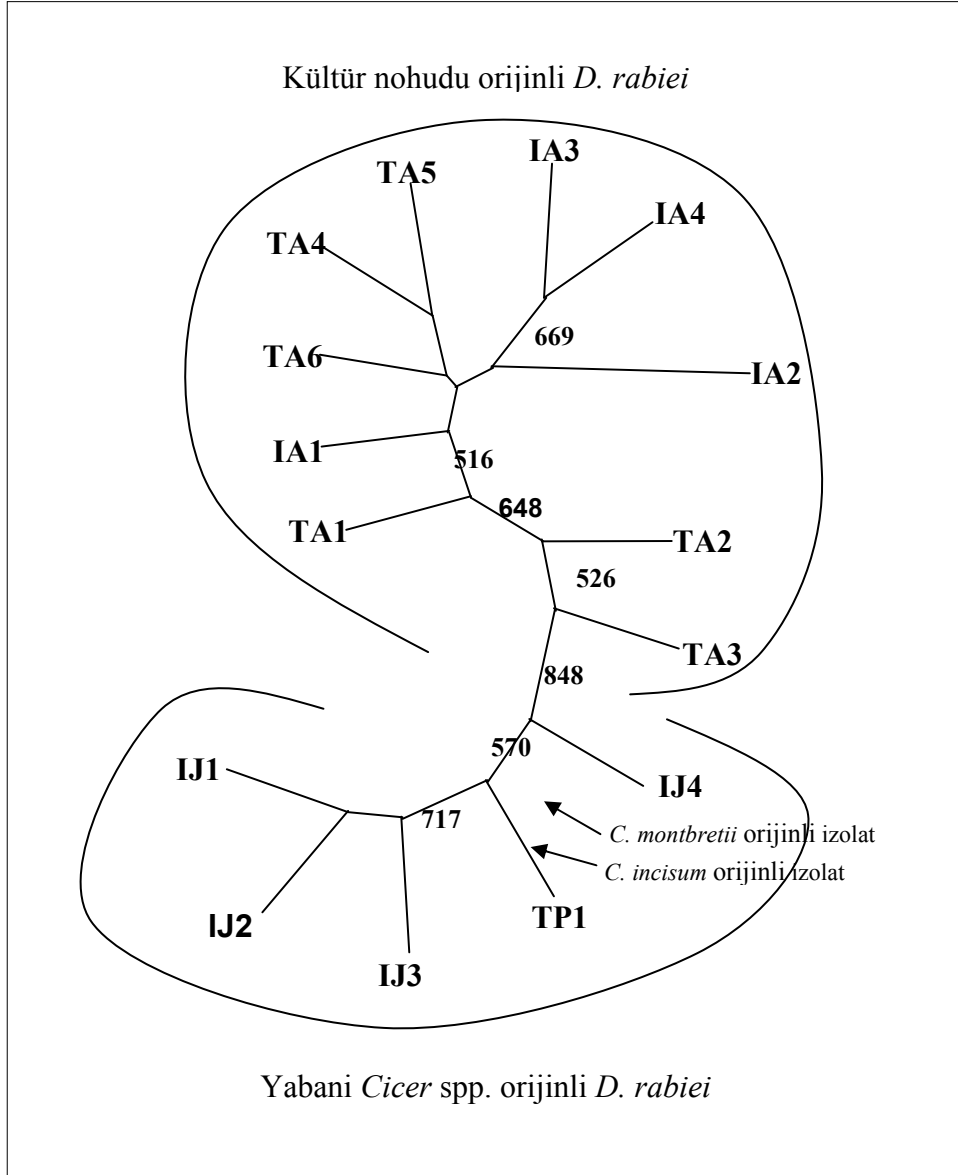
(a) Lokus	Örnek Sayısı ¹	H _T ²	H _S ³	G _{ST} ⁴	Nm ⁵
ArR01D	66	0,5814	0,4956	0,1477	2,8863
ArH06T	66	0,8655	0,7551	0,1277	3,4168
ArH05T	66	0,6605	0,3818	0,4220	0,6849
ArA06T	66	0,6220	0,3381	0,4565	0,5953
ArR12D	66	0,6588	0,5084	0,2283	1,6903
ArH02T	66	0,9399	0,9121	0,0296	16,3873
Ortalama	66	0,7214	0,5652	0,2165	1,8090

(b) Lokus	Örnek Sayısı ¹	H _T ²	H _S ³	G _{ST} ⁴	Nm ⁵
ArR01D	94	0,6016	0,5118	0,1494	2,8471
ArH06T	94	0,9236	0,8579	0,0712	6,5252
ArH05T	94	0,6893	0,4382	0,3643	0,8726
ArA06T	94	0,6609	0,3546	0,4634	0,5791
ArR12D	94	0,7464	0,6342	0,1503	2,8266
ArH02T	94	0,9466	0,9222	0,0257	18,9282
Ortalama	94	0,7614	0,6198	0,1859	2,1890

- 1, *C. judaicum* orijinli 35 izolat ile kültür nohudu orijinli (a) 31 İsrail izolatı; (b) 59 Türkiye izolatı
- 2, Popülasyonlardaki genetik çeşitlilik (Nei, 1973)
- 3, Popülasyonlar içindeki genetik çeşitlilik (Nei, 1973)
- 4, Popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşma ($G_{ST}=1 - H_S/H_T$) (Nei, 1973)
- 5, Gen/genotip akış değeri [$Nm = 0,5(1 - G_{ST})/ G_{ST}$] (Slatkin ve Barton, 1989)

4.4.4. Kümeleme analizleri

Konukçu ve ülke bazında farklı orijinli *D. rabiei* grupları için, 6 STMS markırının verileri kullanılarak, Nei'nin (1973) standart genetik mesafe ölçümlerine göre "yakın-bağlantı ağacı (Neighbour-Joining Tree)" çizilmiştir. 1000 çöz-bağla (bootstrap) analizlerinden sonra elde edilen ortak (consensus) ağaç veya dendogram Şekil 4.13'te gösterilmiştir. Dendogram, yabani ve kültür nohudu orijinli popülasyonları iki ayrı ana kümede toplamıştır. *C. judaicum* orijinli izolatlar ve *C. pinnatifidum*'dan örneklenen 3 izolat bir küme, *C. arietinum* orijinli Türkiye ve İsrail izolatları ise diğer bir ana kümeyi oluşturmuştur. Ayrıca, pozitif kontrol olarak kullanılan çok yıllık yabani *Cicer* türlerinden *C. monbretii* ve *C. incisum* orijinli izolatlar da analizlere dahil edildiğinde, yabani orijinli popülasyon kümesinde yerini almıştır (Şekil 4.13).

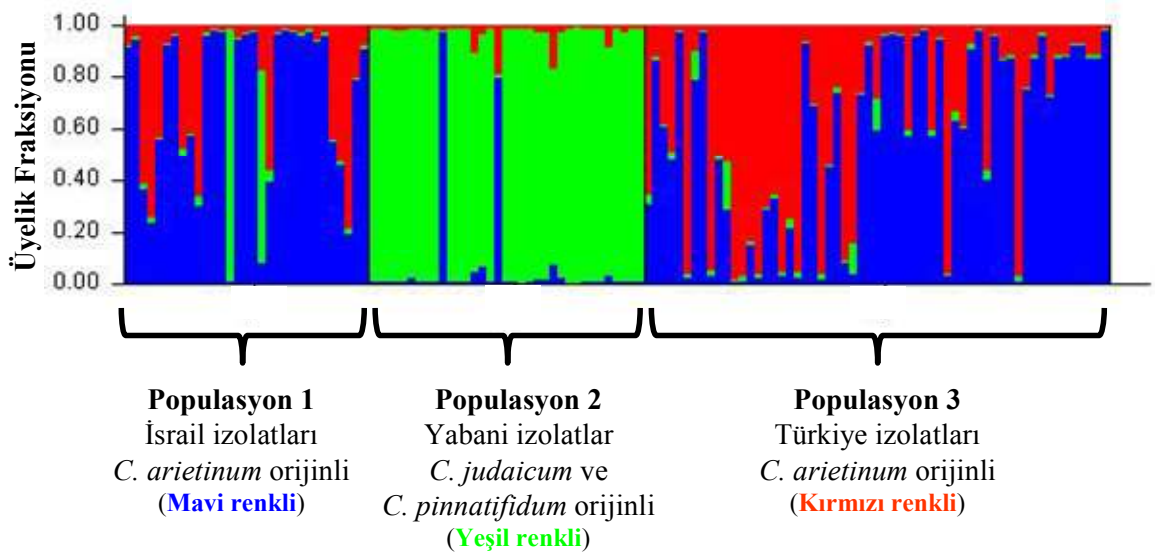


Şekil 4.13. Farklı orijinli 15 *D. rabiei* grubunun 6 STMS veri setine dayalı olarak oluşturulmuş “Yakın bağlantı ağacı-NJ tree”*

*500’ün üzerindeki çöz-bağla değerleri (dallanma noktaları üzerindeki değerler) gösterilmiştir. Patojen grupların dahil olduğu popülasyonlar; *C. arietinum*/Türkiye (TA), *C. pinnatifidum*/Türkiye (TP), *C. judaicum*/İsrail (IJ), *C. arietinum*/İsrail (IA) (Tablo 3.1)

STMS verilerine dayalı olarak gerçekleştirilen “Structure” analiz sonuçları, en yüksek ardıl olasılığı (posterior probability) 3 popülasyon için (K=3) için göstermiştir (Şekil 4.14). Çalışılan 128 *D. rabiei* izolatının oluşturduğu üç büyük gen havuzu farklı renklerle gösterilmiş olup, farklı orijinli izolatlar arasındaki karışımlar da ifade edilmiştir (Şekil 4.14). Her bir izolat bir dikey hatla gösterilmektedir. Dikey hatların rengi popülasyon orijinine göre mavi, yeşil veya kırmızı renkle gösterilmiştir (Şekil 4.14). Yabani konukçudan örneklenen izolatların % 90’ı yeşil renkle temsil edilen popülasyon 2’ye dahil olmuştur. Türkiye ve İsrail kültür nohudu orijinli

izolatlar kırmızı renkle temsil edilen popülasyon 1’de ve mavi renkle temsil edilen popülasyon 3’te yer almıştır (Şekil 4.14). Türkiye ve İsrail kültür nohudu orijinli izolatlar, iki ayrı popülasyonu oluşturuyor olarak görülse de, farklı ülkeden örneklenen bu izolatlar sıklıkla birbirlerinin grubunda yer almıştır ve bir diğerine üyelik değeri yüksek olmuştur (Şekil 4.14). Türkiye kültür nohudu orijinli izolatların % 44’i popülasyon 1’de ve % 56’sı grup 3’te yer alırken hiçbir izolat popülasyon 2’ye dahil olmamıştır. İsrail kültür nohudu orijinli izolatların ise % 61’i popülasyon 1’de, % 32’si popülasyon 3’te ve % 7’si popülasyon 2’de yer almıştır.

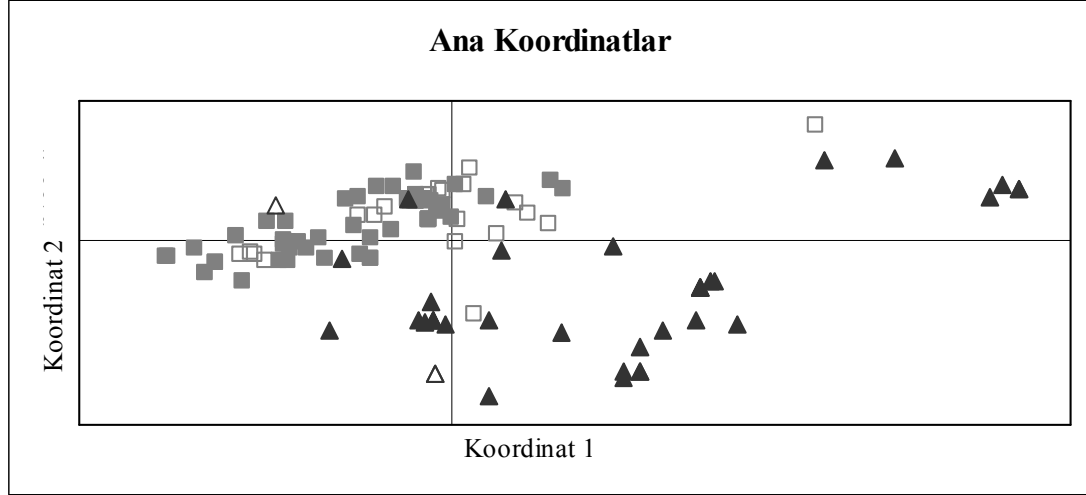


Şekil 4.14. Çalışılan 128 *D. rabiei* izolatının Bayes algoritmasına dayalı olarak gruplandırılması*

* Harman model, 5×10^4 (burn in period) ve 5×10^5 Markov Chain Monte Carlo (MCMC)

Örnekler arası genetik mesafeye bağlı olarak 128 izolatın PCoA [Principal Coordinates Analysis (Ana Koordinatlar Analizi)] sonucu elde edilen dağılımları gösterilmiştir (Şekil 4.15). Diyagramda, farklı orijinli izolatlar, aralarındaki genetik mesafeye göre düzenlenmiştir. Koordinat 1 varyasyonun % 39,4’ünü, koordinat 2 ise % 50,8’ini açıklamıştır. İki ana koordinat birlikte, gözlenen varyasyonun % 90,2’sini açıklamıştır. Örnekler arasındaki mesafe, ülke orijinine bağlı farklılık göstermeksizin, kültür nohudu orijinli izolatlar bir arada, yakın bir dağılım göstermiştir. Sadece iki İsrail kültür nohudu izolatı (Sharon ve Southern Coast patojen gruplarından), yabancı konukçudan örneklenen patojen gruplara yakın yer almıştır. Yabancı nohut orijinli örnekler ise, kültür nohudu orijinli örneklerden uzak olmakla birlikte, kendi içlerinde heterojen bir dağılım göstermişlerdir. *C.*

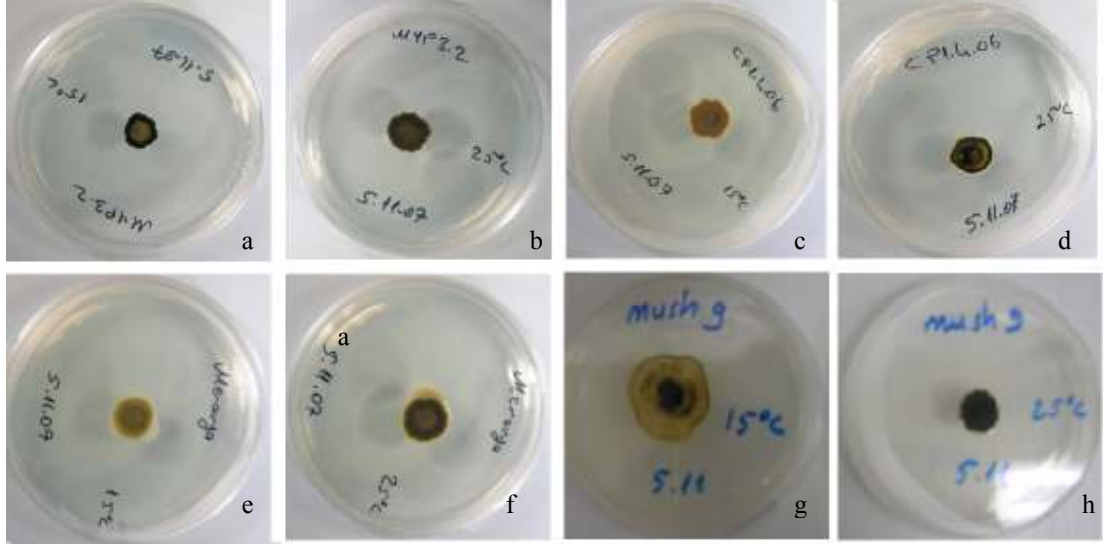
judaicum'dan örneklenmiş üç izolat (Yw Forest grubundan) ile *C. pinnatifidum*'dan örneklenmiş 1 izolat (Kahramanmaraş'tan), kültür nohudu orijinli gruplara yakın olarak yer almıştır.



Şekil 4.15. *D. rabiei* izolatlarının aralarındaki genetik uzaklığa dayalı olarak standardize edilmiş kovaryans metodu kullanılarak uygulanan PCoA analizlerine göre dağılımları; Patojen gruplar; (■) *C. arietinum*/Türkiye, (□) *C. arietinum*/İsrail, (△) *C. pinnatifidum* / Türkiye, (▲) *C. judaicum*/İsrail

4.5. Sıcaklık Etkisine Kaşı *D. rabiei*'nin *in vitro* Koloni Hifsel Gelişim Cevapları

Türkiye ve İsrail orijinli izolatların tipik Levant kış ve ilkbahar ortalama sıcaklıkları olan (Frenkel vd., 2008), sırasıyla, 15 °C ve 25 °C'deki *in vitro* koloni hifsel gelişim fenotipleri değerlendirilmiştir. Hem 25 °C hem de 15 °C için 3'er tekerrürlü her bir izolat için 8 gün sonunda ölçülen koloni büyüklükleri enine ve boyuna cetvel ile ölçülerek koloni çapları (cm²) hesaplanmıştır (Şekil 4.16). Elde edilen veriler kullanılarak istatistik analizler yapılmıştır (Bölüm 3, Yöntem 3.2.7). Her bir deneme, bir blok olarak, birlikte analiz edildiğinde 'deneme' faktörü istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P=0,156$). Böylece, ilk denemenin sonuçları sunulmuştur.



Şekil 4.16. 25 °C ve 15 °C'deki 8 günlük inkübasyon sonrası koloni çapları ölçülen izolatlar*

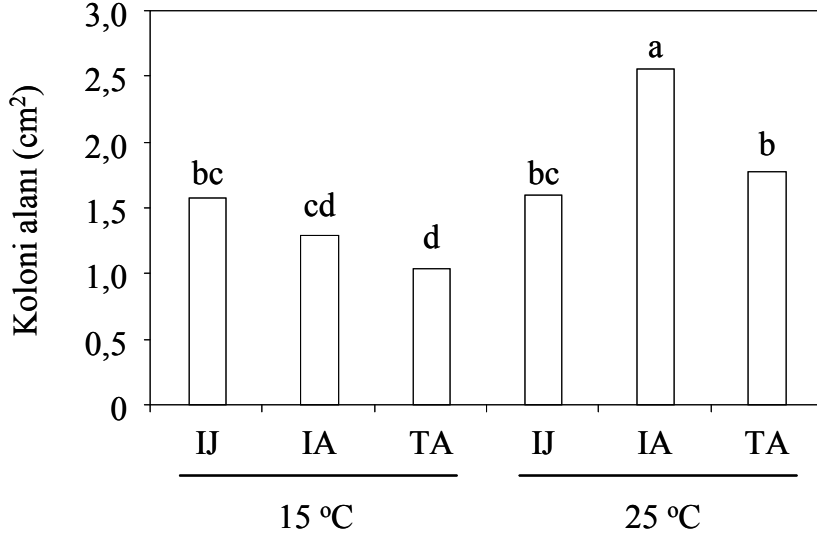
* (a) 15°C ve (b) 25°C'deki kültür nohudu orijinli Türkiye izolatı (MYP3.2); (c) 15°C ve (d) 25°C'deki, *C. pinnatifidum* orijinli Türkiye izolatı (CP1.06); (e) 15°C ve (f) 25°C'deki kültür nohudu orijinli İsrail izolatı (Meravya); (g) 15°C ve (h) 25°C'deki *C. judaicum* orijinli İsrail izolatı (Mush9)

4.5.1. Farklı orijinli *D. rabiei* popülasyonlarında sıcaklık/hifsel gelişim ilişkisi

Ülke bazında patojen popülasyonları kıyaslamak üzere, kültür nohudu orijinli Türkiye ve İsrail orijinli izolatların 15 °C ve 25 °C'deki *in vitro* koloni hifsel gelişim büyüklükleri değerlendirilmiştir. Verileri analiz etmek için kullanılan doğrusal (linear) ANOVA modeli istatistiksel açıdan oldukça anlamlı ($P < 0,0001$) bulunmuştur. Model, saptanan varyasyonun $R^2 = \% 94$ 'ünü açıklamıştır. R^2 , doğrusal istatistik modeli tarafından açıklanan varyasyonun oranını göstermektedir ve geriye kalan kısım model tarafından açıklanamayan rastgele hata payıdır. 'Sıcaklık' faktörü, 'izolat orijini' faktörü, 'izolat orijini' faktörüne kümelenen bireysel 'izolat' faktörü ve bu faktörler arasındaki etkileşimler istatistiksel olarak oldukça anlamlı bulunmuştur (tüm faktörler ve etkileşimler için, $P < 0,0001$). 15 °C ve 25 °C'deki ortalama koloni büyüklükleri, sırasıyla, Türkiye izolatları için 1,77 ve 1,04 cm²; İsrail izolatları için 2,56 ve 1,28 cm² olarak bulunmuştur. Hem Türkiye hem de İsrail popülasyonu için, *C. arietinum*'den örneklenen izolatlar ilkbahar sıcaklıklarına daha adapte bulunmuştur ve 25 °C'deki koloni çapları 15 °C'deki koloni çaplarına kıyasla daha büyük olmuştur ($P < 0,0001$).

Patojen popülasyonların sıcaklık/koloni büyüklükleri arasındaki ilişki, hem ülke hem de konukçu bazında kıyaslanmıştır. Her ülkeden (Türkiye ve İsrail) ve her konukçudan (kültür ve yabani) orijinlenen izolatlar tek-yönlü ANOVA (one-way

ANOVA) modeli ile analiz edilmiştir. Farklı orijin kaynaklarından elde edilmiş izolatların 25 °C ve 15 °C'deki ortalama koloni çapları arasında istatistiksel açıdan anlamlı ($P<0,0001$) derecede farklılıklar bulunmuştur. En büyük koloni çap ölçümü 25 °C sıcaklıkta *C. arietinum* orijinli İsrail popülasyonu için kaydedilmiştir (Şekil 4.17). En düşük koloni çap ölçümleri 15 °C'de *C. arietinum* orijinli Türkiye popülasyonu için kaydedilmiştir (Şekil 4.17).

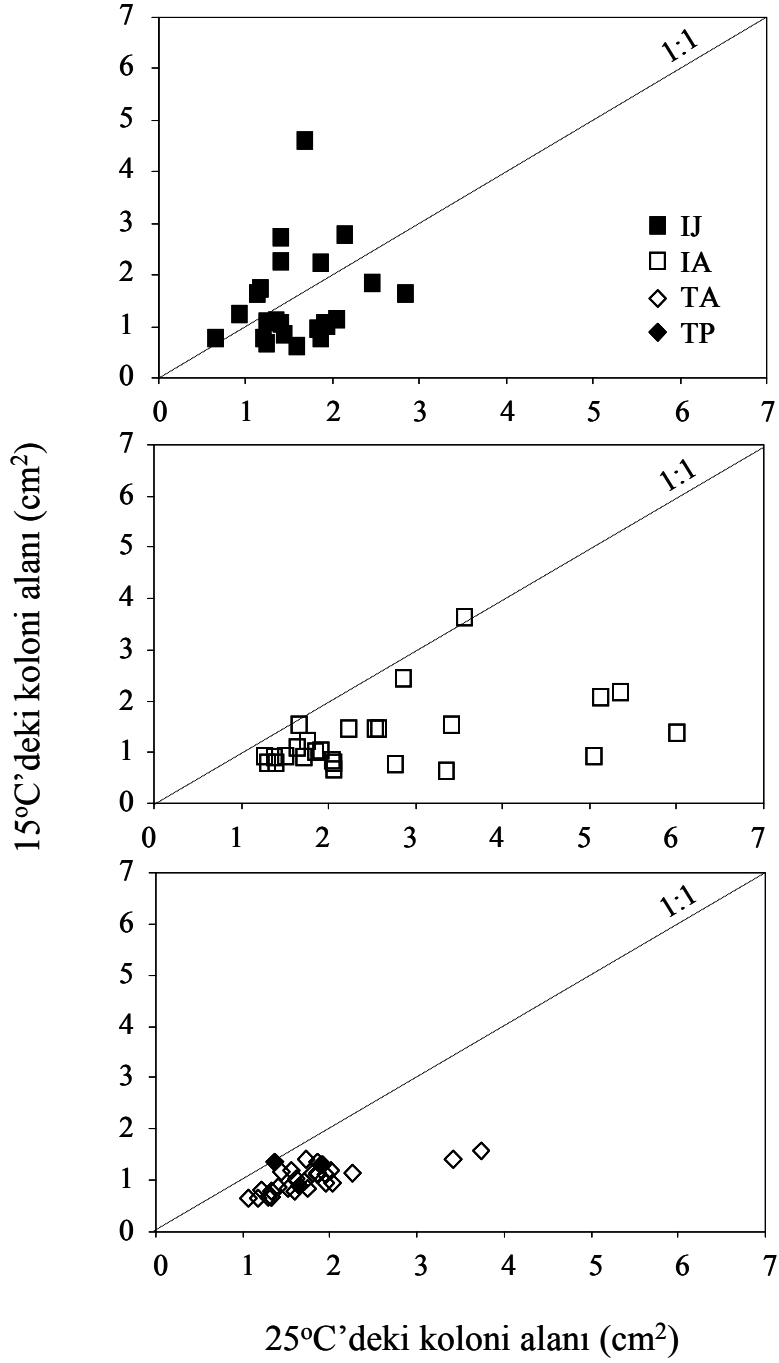


Şekil 4.17. Farklı orijinli *D. rabiei* popülasyonlarının 25 °C ve 15 °C'deki ortalama koloni büyüklüklerinin grafiksel gösterimi*

*İsrail-*C. judaicum* (IJ); İsrail-*C. arietinum* (IA) ve Türkiye-*C. arietinum* (TA) orijinli izolatlar; Sütunlar üzerinde gösterilen harfler, Tukey-Kramer testine göre ($\alpha=0,05$) yapılan gruplandırmalardır.

Her bir popülasyon orijini için 25°C ve 15°C sıcaklıklardaki ortalama koloni büyüklükleri arasındaki farklar tek-yönlü ANOVA ile değerlendirildiğinde; en büyük fark İsrail kültür nohudu orijinli popülasyonda (1,28 cm²), en küçük fark ise *C. judaicum* orijinli popülasyonda (0,07 cm²) saptanırken, Türkiye kültür nohudu orijinli popülasyon ise bu iki grubun arasında yer almıştır (0,73 cm²).

Testlenen tüm izolatların ortalama koloni büyüklüklerine dayalı “saçılım çiziti (scatter plot)” oluşturulmuştur (Şekil 4.18). Her bir izolat X ekseninde gösterilen 25°C'deki, Y ekseninde gösterilen 15°C'deki ortalama koloni büyüklüğüne göre konumlanmıştır (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Farklı orijinli *D. rabiei* izolatlarının 25°C ve 15°C'deki ortalama koloni büyüklüklerine göre saçılım çiziti*

*Kısaltmalar: İsrail-*C. judaicum* (IJ); İsrail-*C. arietinum* (IA); Türkiye-*C. arietinum* (TA) ve Türkiye-*C. pinnatifidum* (TP) orijinlidir izolatlardır; 1:1 hattı, hissel gelişim ve sıcaklıklar arasındaki tam uyumu gösteren teorik hattır.

25°C sıcaklıkta, İsrail *C. arietinum* orijinli izolatlar koloni büyüklüklerindeki çeşitlilikten dolayı, saçılım çiziti üzerinde geniş dağılım göstermişlerdir (Şekil 4.18). Türkiye *C. arietinum* orijinli izolatlar ise benzer koloni büyüklük cevapları ile saçılım çiziti üzerinde dar bir kümelenme göstermiştir (Şekil 4.18). Bir popülasyonu ifade edemeyecek kadar az örnek sayısından dolayı *C. pinnatifidum* orijinli

izolatların sıcaklık/hifsel gelişim verisinin istatistik analizleri yapılmamıştır; ancak, sıcaklık etkilerine karşı hifsel gelişim büyüklükleri, diğer Türkiye izolatlarıyla birlikte “saçılım çizitinde” gösterilmiştir (Şekil 4.18).

4.5.2. Sıcaklık/koloni gelişim cevabının kalıtım dereceleri

Türkiye / İsrail *C. arietinum* ve *C. judaicum* orijinli izolatların *in vitro* hifsel gelişim denemelerinden elde edilen verileri kullanılarak, “koloni hifsel gelişim” fenotipi ve bunun sıcaklık faktörü ile ilişkisinin genetik bileşeni veya bir diğer ifadeyle “genotip × çevre ilişkisi” değerlendirilmiştir. Her bir izolat örnekleme orijini (*C. judaicum*, Türkiye ve İsrail *C. arietinum*) ve sıcaklık (15 °C ve 25 °C) kombinasyonu için sıcaklık gelişim cevabının kalıtım dereceleri, tek-yönlü ANOVA modeli ile hesaplanmıştır. Model, rastgele etki (random effect) olarak alınan 'izolat' ve bunun dışındaki “geri kalan (residual)” faktörlerini içermiştir. Her bir popülasyon kaynağı ve sıcaklık değeri kombinasyonu için yapılan ANOVA analizleri sonucu, modelin açıkladığı varyasyon oranlarını gösteren R^2 değerleri 0,70 ve 0,92 arasında olmuştur (Tablo 4.10). Her durumda 'izolat' faktörü istatistiksel açıdan oldukça anlamlı bulunmuştur ($P<0,0001$). 'İzolat' faktörünün varyans bileşeni, her sıcaklık değeri için, her bir izolat grubunun sıcaklık/gelişim fenotipinin “dar duyarlı kalıtım dereceleri (the narrow sense heritability)” değerini açıklamak üzere kullanılmıştır (Tablo 4.10). Kültür nohudu orijinli Türkiye ve İsrail patojen popülasyonlarının daha büyük koloni çaplarına sahip oldukları 25 °C için bu fenotipin kalıtım derecesinin de daha yüksek olduğu bulunmuştur (Tablo 4.10). Koloni hifsel gelişiminin hem 15 °C hem de 25 °C’de aynı olduğu tespit edilen yabancı *C. judaicum* orijinli patojen popülasyon için ise sıcaklık/koloni hifsel gelişim fenotipiyle ilgili kalıtım derecesinin 15 °C için daha yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Farklı orijinli *D. rabiei* izolatlarının 25°C ve 15°C’deki *in vitro* koloni hissel gelişim fenotipinin kalıtım dereceleri

Patojen Orijini		25°C		15°C	
Ülke	Konukçu	Kalıtım Derecesi	R^2 *	Kalıtım Derecesi	R^2 *
Türkiye	<i>C. arietinum</i>	0,87	0,90	0,61	0,73
Türkiye	<i>C. pinnatifidum</i> **	0,57	0,62	0,73	0,75
İsrail	<i>C. arietinum</i>	0,89	0,92	0,68	0,80
İsrail	<i>C. judaicum</i>	0,61	0,70	0,78	0,86

* R^2 değerleri, ANOVA modellerinin varyasyon oranını göstermektedir.

** *C. pinnatifidum* orijinli izolatlar az sayıda olup, istatistiksel hesaplamalar sadece kıyaslama amaçlı yapılmıştır.

4.6. Farklı Orijinli *D. rabiei* İzolatlarının Kültür ve Yabani Nohut Konukçuları Üzerindeki Saldırganlık Değerlendirmeleri

Konukçu olarak seçilen kültür nohudu çeşitleri ve yabani nohut ekotiplerinin petiyol ve gövde kısımlarında tipik Ascochyta yanıklık belirtileri gelişmiştir. Farklı orijinli “patojen izolat-konukçu” ilişkilerinde hastalık belirtilerinin morfolojisi açısından bir farklılık gözlenmemiştir.

Ülke ve konukçu bazında her bir örnekleme orijininin rasgele seçilen iki izolatın (Tablo 3.2) RAUDPC verilerinin t-test analizleri yapılmıştır ve testlenen aynı orijinli izolatların saldırganlıkları arasında, istatistiksel olarak, fark olmadığı bulunmuştur. Yani; Cp1.05 ve Cp2.06 ($P=0,11$); Myp3.2 ve Ak4.7 ($P=0,71$); YW15 ve Fahm5 ($P=0,08$); Bakoa ve Natif ($P=0,60$) izolatları arasında saldırganlık açısından istatistiksel olarak bir fark yoktur. Böylece, analizlerde her bir orijin kaynağından örneklenen iki izolatın ortalama değerleri kullanılarak analizler yapılmıştır.

Hastalık belirtileri, inokulasyonu takiben, kültür nohudu çeşitlerinde 4-5 gün sonra, yabani *Cicer* türlerinde ise 5-15 gün sonra ortaya çıkmıştır (Tablo 4.11a). Deneme sonunda, hastalık şiddeti kültür nohudu bitkilerinde % 37,5-95 arasında bulunurken, yabani *Cicer* bitkilerinde bu oran % 9,5-92 arasında bulunmuştur (Tablo 4.11b). RAUDPC değerleri kültür nohudu konukçuları için % 13,5 ile % 54,5; yabani nohut konukçuları için ise % 2,5 ile % 43 arasında olmuştur (Tablo 4.11c).

Tablo 4.11. Türkiye ve İsrail orijinli kültür ve yabancı nohut konukçuları üzerinde testlenen *D. rabiei* izolatlarının saldırganlık özelliklerinin [(a) İnkübasyon periyodu, (b) Final Hastalık Şiddeti ve (c) RAUDPC] ölçümleri

(a) İnkübasyon Periyodu (günler)		Konukçu ^b							
		Türkiye				İsrail			
		Kültür		Yabancı		Kültür		Yabancı	
Patojen ^a		Çağatay	Gökçe	Cp2	Cp18	Spanish White	Yarden	Cj12	Cj64
Türkiye	Kültür	5,2	5,2	5,7	5,8	4,3	5,2	11,2	14,0
	Yabancı	5,3	5,2	5,2	4,5	4,2	5,0	10,6	9,5
İsrail	Kültür	4,3	4,3	5,0	5,0	4,0	4,3	15,2	11,2
	Yabancı	5,7	5,3	5,7	5,0	5,0	5,2	5,6	5,5

(b) Final Hastalık Şiddeti (%)*		Konukçu ^b							
		Türkiye				İsrail			
		Kültür		Yabancı		Kültür		Yabancı	
Patojen ^a		Çağatay	Gökçe	Cp2	Cp18	Spanish White	Yarden	Cj12	Cj64
Türkiye	Kültür	48,3	44,2	20,8	65,0	90,0	43,3	17,0	33,5
	Yabancı	55,0	37,5	80,8	90,0	85,0	47,5	8,8	17,0
İsrail	Kültür	77,5	45,0	50,0	91,7	94,8	72,5	9,5	15,8
	Yabancı	70,8	63,3	70,0	91,7	94,2	43,3	81,6	90,0

(c) RAUDPC (%)		Konukçu ^b							
		Türkiye				İsrail			
		Kültür		Yabancı		Kültür		Yabancı	
Patojen ^a		Çağatay	Gökçe	Cp2	Cp18	Spanish White	Yarden	Cj12	Cj64
Türkiye	Kültür	18,0	13,5	7,5	21,0	42,0	16,0	4,0	4,0
	Yabancı	24,0	14,5	39,5	41,5	33,0	18,5	2,5	3,5
İsrail	Kültür	34,5	19,5	13,0	30,5	54,5	25,5	4,5	4,5
	Yabancı	31,0	23,0	16,0	40,5	41,7	16,0	25,0	43,0

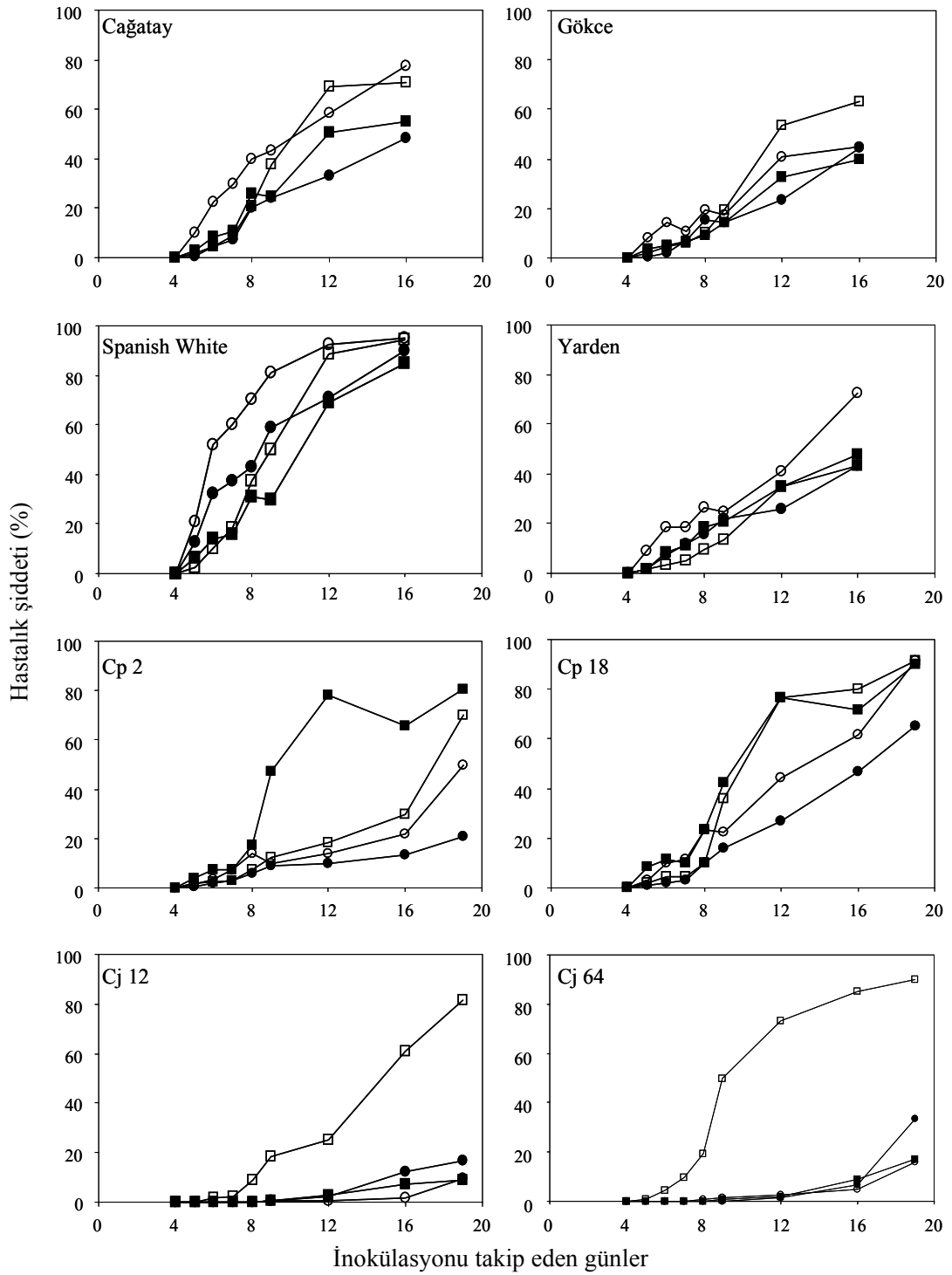
^aHer bir patojen orijininden iki izolat testlenmiş ve ortalama değerleri gösterilmiştir.

^bÇağatay, Gökçe Spanish white, Yarden kültür nohodu çeşitleri; Cj12 ve Cj64, *C. judaicum* ekotipleri; Cp2 ve Cp18, *C. pinnaatifidum* ekotipleri.

*Kültür nohodu bitkileri için (% 16. gün), yabancı nohut bitkileri için (% 19. gün).

Deneme süresince, her bir konukçu için hastalık gelişim grafikleri Şekil 4.19'de gösterilmiştir. Her bir patojen orijini için iki izolat örneklenmiş olup bunların ortalama değerleri alınmıştır ve dolayısıyla, grafikteki (Şekil 4.19) her bir işaret noktası bir patojen orijini (Türkiye kültür nohodu orijinli izolatlar, İsrail kültür nohodu orijinli izolatlar, *C. pinnaatifidum* orijinli izolatlar, *C. judaicum* orijinli

izolatlar) için altı izolatin ortalamasıdır. Hastalık şiddeti değerlendirmeleri inokulasyonu takiben 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 16 ve 19 gün sonunda yapılmıştır.



Şekil 4.19. Farklı orijinli *D. rabiei* izolatlarının yabancı ve kültür konukçuları üzerindeki hastalık şiddeti değerlendirmeleri*

*Türkiye kültür nohudu çeşitleri Çağatay ve Gökçe; İsrail kültür nohudu çeşitleri Spanish White ve Yarden, Türkiye *C. pinnatifidum* ekotipleri Cp2 ve Cp18, İsrail *C. judaicum* ekotipleri Cj12 ve Cj64; □-, *C. judaicum* orijinli izolatlar; ■-, *C. pinnatifidum* orijinli izolatlar; ○-, İsrail kültür nohudu orijinli izolatlar; ●-, Türkiye kültür nohudu orijinli izolatlar

Saldırganlık değerlendirmeleri ile ilgili yapılan analizler, konukçu-patojen orijinine bağlı olarak önemli farklılıklar göstermiştir. Bu bakımdan, farklı orijinli izolatların saldırganlık özellikleri ayrı ayrı her bir konukçu orijini (Türkiye kültür nohudu, İsrail kültür nohudu, *C. pinnatifidum* ve *C. judaicum*) üzerinde değerlendirilerek sunulmuştur.

4.6.1. Testlenen *D. rabiei* izolatlarının Türkiye kültür nohudu çeşitleri üzerindeki saldırganlık durumu

Türkiye kültür nohudu çeşitleri üzerinde ilk hastalık belirtileri inokulasyondan 4-5 gün sonra ortaya çıkmıştır (Tablo 4.11a). ANOVA modeli inkübasyon periyodu için anlamlı bulunmuştur ($P=0.04$) ve varyasyonun % 30'unu açıklamıştır (Tablo 4.12). Sadece “patojen konukçu orijini” ve “patojen izolatın ülkesi \times patojen konukçu orijini” etkileşimi istatistiksel açıdan anlamlı etkilere sahip olmuştur (Tablo 4.12). İsrail kültür nohudu orijinli izolatların inkübasyon periyodu, Türkiye kültür nohudu orijinli ve yabancı nohut orijinli izolatlardan daha kısa olmuştur (Tablo 4.11a ve 4.13).

Tablo 4.12. Farklı orijinli *D. rabiei* izolatlarının Türkiye kültür nohudu konukçusundaki saldırganlık ölçümleriyle ilgili istatistik veriler

	İnkübasyon Periyodu	Final Hastalık Şiddeti	RAUDPC
ANOVA			
Model (P değeri)	0,039*	0,032	0,002
R^2	0,293	0,303	0,410
P değerleri			
Patojen izolatın ülkesi (M_i)	0,192	0,007	0,0007
Patojen konukçu orijini (C_k)	0,007	0,696	0,435
Konukçu çeşidi (F_j)	0,572	0,002	0,015
$M_i \times C_k$	0,018	0,657	0,511
$M_i \times F_j$	0,850	0,433	0,614
$C_k \times F_j$	0,572	0,643	0,219
$M_i \times C_k \times F_j$	0,850	0,129	0,029

*İstatistiksel açıdan anlamlı bulunan değerler ($P<0,05$) koyu yazılmıştır.

Tablo 4.13. Türkiye kültür nohodu konukçusunda “patojen izolatin ülkesi × patojen konukçu orijini” etkileşimi için inkübasyon periyodu

Patojen Orijini		İnkübasyon Periyodu (gün)
Türkiye	Kültür	5,2 a*
	Yabani	5,2 a
İsrail	Kültür	4,3 b
	Yabani	5,5 a

*Aynı harfle gösterilen değerler, Tukey-Kramer testine ($\alpha=0,05$) göre istatistiksel açıdan farklı değildir.

Final hastalık şiddeti için model anlamlı bulunmuştur ($P=0,03$) ve varyasyonun % 30'unu açıklamıştır (Tablo 4.12). Deneme sonlandırıldığında, hastalık şiddeti Çağatay çeşidi için % 48 ile % 78 arasında, Gökçe çeşidi için % 38 ile % 63 arasında olmuştur (Tablo 4.11b; Şekil 4.19).

Tüm izolatlara Türkiye kültür nohodu çeşitleri üzerinde testlendiğinde, ANOVA modeli RAUDPC için oldukça anlamlı bulunmuştur ($P=0,002$) ve varyasyonun 41%'ini açıklamıştır. “Patojen izolatin ülkesi” ve “konukçu çeşidi” faktörleri ile “patojen izolatin ülkesi × patojen konukçu orijini × konukçu çeşidi” etkileşiminin etkileri RAUDPC üzerinde oldukça anlamlı olmuştur (Tablo 4.12). Testlenen izolatlara karşı ‘Çağatay’ daha hassas çeşit (ortalama RAUDPC =% 26,8) ve ‘Gökçe’ daha az hassas çeşit (ortalama RAUDPC=% 17,6) olarak bulunmuştur. Türkiye nohut çeşitleri üzerinde, İsrail orijinli izolatlara Türkiye orijinli izolatlara kıyasla daha yüksek hastalık şiddetine neden olduğu tespit edilmiştir (Sırasıyla, ortalama RAUDPC=% 27 ve % 17,5). Tukey-Kramer testine göre ($\alpha=0,05$), en şiddetli hastalık durumunu sonuçlayan ilişki İsrail kültür nohodu orijinli izolatlara Çağatay çeşidi arasında (ortalama RAUDPC=% 34,5) saptanırken, en düşük hastalık düzeyinin saptandığı ilişki Türkiye izolatlara (hem kültür hem de yabancı nohut orijinli) ve Gökçe çeşidi arasında (ortalama RAUDPC= % 14) olmuştur.

4.6.2. Testlenen *D. rabiei* izolatlarının İsrail kültür nohodu çeşitleri üzerindeki saldırganlık durumu

İsrail kültür nohodu bitkilerindeki ilk hastalık belirtileri inokulasyondan 4 veya 5 gün sonra ortaya çıkmıştır (Tablo 4.11a). ANOVA modeli inkübasyon periyodu için istatistiksel açıdan oldukça anlamlı bulunmuştur ($P<0,0001$) ve varyasyonun %

65'ini açıklamıştır. “Patojen konukçu orijini” ve “konukçu çeşidi” faktörleri ile “patojen izolatin ülkesi × patojen konukçu orijini” ve “patojen izolatin ülkesi × konukçu çeşidi” etkileşimleri anlamlı etkilere (Tablo 4.14) sahip olmuştur. Testlenen tüm izolatlara için, inkübasyon periyodu Spanish White çeşidi üzerinde Yarden çeşidine göre daha kısa olmuştur. Tukey-Kramer testine göre ($\alpha=0,05$), yabancı nohut orijinli İsrail izolatlara en uzun inkübasyon periyodunu gösterirken (ortalama=5,1 gün), kültür nohudu orijinli İsrail izolatlara en kısa inkübasyon süresini (ortalama=4,2 gün) göstermiştir (Tablo 4.15). Kültür ve yabancı nohut orijinli Türkiye izolatlara ise bu sıralamada ara seviyede yer almıştır (Sırasıyla, ortalama =4,7 ve 4,6 gün) (Tablo 4.15).

Tablo 4.14. Farklı orijinli *D. rabiei* izolatlara İsrail kültür nohudu konukçusundaki saldırganlık ölçümleriyle ilgili istatistik veriler

	İnkübasyon Periyodu	Final Hastalık Şiddeti	RAUDPC
ANOVA			
Model (<i>P</i> değeri)	<0,0001*	<0,0001	<0,0001
R ²	0,655	0,711	0,788
<i>P</i> değerleri			
Patojen izolatin ülkesi (<i>M_i</i>)	0,690	0,014	0,004
Patojen konukçu orijini (<i>C_k</i>)	0,0008	0,024	0,002
Konukçu çeşidi (<i>F_j</i>)	<0,0001	<0,0001	<0,0001
<i>M_i×C_k</i>	<0,0001	0,123	0,039
<i>M_i×F_j</i>	0,007	0,900	0,183
<i>C_k×F_j</i>	0,690	0,789	0,201
<i>M_i×C_k×F_j</i>	0,690	0,079	0,243

*İstatistiksel açıdan anlamlı bulunan değerler ($P<0,05$) koyu yazılmıştır.

Tablo 4.15. İsrail kültür nohudu konukçusunda “patojen izolatin ülkesi × patojen konukçu orijini” etkileşimi için inkübasyon periyodu ve RAUDPC

Patojen orijini		İnkübasyon Periyodu (gün)	RAUDPC (%)
Türkiye	Kültür	4,7 ab*	29,0 b
	Yabancı	4,6 b	25,7 b
İsrail	Kültür	4,2 c	40 a
	Yabancı	5,1 a	28,8 b

*Aynı harfle gösterilen değerler, Tukey-Kramer testine ($\alpha=0,05$) göre istatistiksel açıdan farklı değildir.

Final hastalık şiddeti için model oldukça anlamlı bulunmuştur ($P<0,0001$) ve varyasyonun % 71'ini açıklamıştır (Tablo 4.14). Denemenin sonlanmasıyla, hastalık

şiddeti Spanish White çeşidi için % 85 ile % 95 arasında, Yarden çeşidi için ise % 43,3 ile % 72,5 arasında kaydedilmiştir (Tablo 4.11b, Şekil 4.19).

ANOVA modeli RAUDPC için oldukça anlamlı bulunmuştur ($P<0,0001$) ve varyasyonun % 79'unu açıklamıştır. “Patojen izolatın ülkesi” ve “patojen konukçu orijini” faktörleri ile “patojen izolatın ülkesi × patojen konukçu orijini” etkileşimi anlamlı etkilere (Tablo 4.14) sahip olmuştur. “Konukçu çeşidi” faktörü de istatistiksel açıdan oldukça anlamlı bir etki ($P<0,0001$) olarak bulunmuştur. Testlenen tüm izolatlara karşı, ‘Spanish White’ oldukça duyarlı bir çeşit (ortalama RAUDPC=% 42,8) ve ‘Yarden’ ılımlı tolerant bir çeşit (ortalama RAUDPC=% 19) olmuştur. Tukey-Kramer testine göre ($\alpha=0,05$), kültür nohudu orijinli İsrail izolatları, İsrail kültür nohudu çeşitleri üzerinde en şiddetli hastalık durumuna yol açarken (ortalama RAUDPC=% 40), Türkiye kültür nohudu orijinli izolatlar ile İsrail ve Türkiye yabancı konukçu orijinli izolatlar aynı seviyede hastalık düzeyini sergilemişlerdir (Sırasıyla, ortalama RAUDPC=% 29, % 28,8, % 25,7) (Tablo 4.15).

4.6.3. Testlenen *D. rabiei* izolatlarının yabancı nohut *C. pinnatifidum* üzerindeki saldırganlık durumu

C. pinnatifidum bitkilerinde ilk hastalık belirtileri inokulasyondan 4,5-5 gün sonra ortaya çıkmıştır (Table 4.11a). *C. pinnatifidum* bitkileri üzerinde izolatların inkübasyon periyodu için ANOVA modeli istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P=0,09$) (Tablo 4.16).

Tablo 4.16. Farklı orijinli *D. rabiei* izolatlarının *C. pinnatifidum* konukçusundaki saldırganlık ölçümleriyle ilgili istatistik veriler

	İnkübasyon Periyodu	Final Hastalık Şiddeti	RAUDPC
ANOVA			
Model (P değeri)	0,093	<0,0001*	<0,0001
R^2	0,250	0,670	0,753
P değerleri			
Patojen izolatın ülkesi (M_i)	0,593	0,035	0,567
Patojen konukçu orijini (C_k)	0,216	<0,0001	<0,0001
Konukçu ekotipi (F_j)	0,216	<0,0001	<0,0001
$M_i \times C_k$	0,010	0,001	0,0001
$M_i \times F_j$	0,860	0,445	0,009
$C_k \times F_j$	0,114	0,025	0,310
$M_i \times C_k \times F_j$	0,860	0,894	0,039

*İstatistiksel açıdan anlamlı bulunan değerler ($P<0,05$) koyu yazılmıştır.

Final hastalık şiddeti için model oldukça anlamlı bulunmuştur ($P<0,0001$) ve varyasyonun % 67'sini açıklamıştır (Tablo 4.16). Deneme sonlandırıldığında, hastalık şiddeti Cp2 ekotipi için % 21 ile % 81 arasında, Cp18 için % 65 ile % 92 arasında kaydedilmiştir. (Tablo 4.11b, Şekil 4.19). Tukey-Kramer testine ($\alpha=0,05$) göre, final hastalık şiddeti değerlendirmelerinde Türkiye kültür nohodu orijinli izolatlara, diğer patojen izolat orijinlerine kıyasla, düşük düzeyde yer almıştır (Tablo 4.17).

Tablo 4.17. *C. pinnatifidum* konukçusunda “patojen izolatın ülkesi × patojen konukçu orijini” etkileşimi için final hastalık şiddeti ve RAUDPC

Patojen orijini		Final Hastalık Şiddeti (%)	RAUDPC (%)
Türkiye	Kültür	42,9 b*	14,2 c*
	Yabani	85,4 a	40,5 a
İsrail	Kültür	70,9 a	21,7 bc
	Yabani	80,9 a	28,2 b

*Aynı harfle gösterilen değerler, Tukey-Kramer testine ($\alpha=0,05$) göre istatistiksel açıdan farklı değildir.

ANOVA modeli RAUDPC için istatistiksel açıdan oldukça anlamlı bulunmuştur ($P<0,0001$) ve varyasyonun % 75'ini açıklamıştır. Temel faktörlerden “patojen orijini” ve “ekotip” oldukça anlamlı ($P<0,0001$) etkiler olmuştur. “Patojen izolatın ülkesi × patojen konukçu orijini”, “patojen izolatın ülkesi × ekotip” ve “patojen izolatın ülkesi × patojen konukçu orijini × ekotip” etkileşimlerinin etkileri de anlamlı bulunmuştur (Tablo 4.16). *C. pinnatifidum* ekotipleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmıştır (Tablo 4.16); testlenen tüm izolatlara karşı Cp18 ekotipinin Cp2 ekotipinden daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. Testlenen tüm izolatlarda *C. pinnatifidum* orijinli izolatlara, asıl konukçuları üzerinde en şiddetli hastalık düzeyini sonuçlamışlardır (ortalama RAUDPC=% 40,5) (Tablo 4.11c). *C. judaicum* orijinli izolatlarda *C. pinnatifidum* bitkileri üzerinde oldukça saldırgan olarak bulunmuştur (ortalama RAUDPC=% 28,2) (Tablo 4.17). Kültür nohodu orijinli izolatlara ise en düşük hastalık durumuna yol açmışlardır. Bununla beraber kültür nohodu orijinli izolatlara kıyaslandığında, *C. pinnatifidum* üzerinde İsrail izolatlara Türkiye izolatlara kıyasla daha yüksek oranda hastalık durumuna yol açtığı tespit edilmiştir (Sırasıyla, ortalama RAUDPC=% 21,7 ve % 14,2) (Tablo 4.17).

4.6.4. Testlenen *D. rabiei* izolatlarının yabancı nohut *C. judaicum* üzerindeki saldırganlık durumu

C. judaicum bitkilerinde ilk hastalık belirtileri yabancı konukçu orijinli İsrail izolatları ile inokule edilen bitkilerde 5,5 gün sonra, diğer orijinli izolatlarla inokule edilen bitkilerde ise 9,5-15 gün sonra ortaya çıkmıştır (Tablo 4.11a). İnkübasyon periyodu için ANOVA modeli oldukça anlamlı bulunmuştur ($P<0,0001$) ve varyasyonun % 56'sini açıklamıştır (Tablo 4.18). “Patojen konukçu orijini” ve “patojen izolatın ülkesi” faktörlerinin etkileri anlamlı bulunmuştur (Tablo 4.18). “Patojen izolatın ülkesi × patojen konukçu orijini” ve “patojen izolatın ülkesi × patojen konukçu orijini × ekotip” etkileşimlerinin etkileri de anlamlı olmuştur (Tablo 4.18). Testlenen tüm izolatlar içinde *C. judaicum* orijinli İsrail izolatları asıl konukçuları üzerinde en kısa inkübasyon periyoduna sahip olmuştur (ortalama=5,6 gün) (Tablo 4.19). Yabancı ve kültür nohudu orijinli Türkiye izolatlarının inkübasyon periyodu, İsrail kültür nohudu izolatlarından daha kısa olmuştur (Sırasıyla, ortalama =10,1, 12,7 ve 13,2 gün) (Tablo 4.19).

Tablo 4.18. Farklı orijinli *D. rabiei* izolatlarının *C. judaicum* konukçusundaki saldırganlık ölçümleriyle ilgili istatistik veriler

	İnkübasyon Periyodu	Final Hastalık Şiddeti	RAUDPC
ANOVA			
Model (<i>P</i> değeri)	<0,0001*	<0,0001	<0,0001
R ²	0,557	0,710	0,846
<i>P</i> değerleri			
Patojen izolatın ülkesi (<i>M_i</i>)	0,035	0,0008	<0,0001
Patojen konukçu orijini (<i>C_k</i>)	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Konukçu ekotipi (<i>F_j</i>)	0,470	0,007	0,013
<i>M_i</i> × <i>C_k</i>	0,009	<0,0001	<0,0001
<i>M_i</i> × <i>F_j</i>	0,129	0,361	0,167
<i>C_k</i> × <i>F_j</i>	1,000	0,233	0,088
<i>M_i</i> × <i>C_k</i> × <i>F_j</i>	0,043	0,245	0,112

*İstatistiksel açıdan anlamlı bulunan değerler ($P<0,05$) koyu yazılmıştır.

Tablo 4.19. *C. judaicum* konukçusundaki “patojen izolatin ülkesi × patojen konukçu orijini” etkileşimi için inkübasyon periyodu, final hastalık şiddeti ve RAUDPC

Patojen		İnkübasyon Periyodu (gün)	Final Hastalık Şiddeti (%)	RAUDPC (%)
Türkiye	Kültür	12,7 a*	50,5 b	4,0 b
	Yabani	10,1 a	12,9 b	3,0 b
İsrail	Kültür	13,2 a	12,7 b	4,5 b
	Yabani	5,6 b	85,8 a	34 a

*Aynı harfle gösterilen değerler, Tukey-Kramer testine ($\alpha=0,05$) göre istatistiksel açıdan farklı değildir.

Final hastalık şiddeti için model oldukça anlamlı bulunmuştur ($P<0,0001$) ve varyasyonun % 71’ini açıklamıştır (Tablo 4.18). Denemenin sonlandırıldığında, hastalık şiddeti Cj12 ekotipi için % 9 ile % 82 arasında, Cj64 için % 33,5 ile % 90 arasında kaydedilmiştir (Tablo 4.11b, Şekil 4.19). Tukey-Kramer testine ($\alpha=0,05$) göre, final hastalık şiddetinin en yüksek düzeyi *C. judaicum* orijinli izolatlar için kaydedilirken, diğer orijinli patojen izolatlar daha düşük seviyede yer almıştır (Tablo 4.19).

ANOVA modeli RAUDPC için oldukça anlamlı bulunmuştur ($P<0,0001$) ve varyasyonun %84’ünü açıklamıştır. Temel faktörlerden “patojen izolatin ülkesi”, “patojen konukçu orijini” ve “patojen izolatin ülkesi × patojen konukçu orijini” etkileşiminin etkileri istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($P<0,0001$) (Tablo 4.18). *C. judaicum* ekotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ($P=0,013$) farklılık tespit edilmiştir; testlenen tüm izolatlar karşı Cj64 ekotipi Cj12 ekotipinden daha duyarlı olmuştur. Tukey-Kramer testine göre ($\alpha=0,05$), *C. judaicum* orijinli izolatlar, testlenen tüm izolatlar arasında, asıl konukçuları üzerinde en yüksek hastalık durumunu sergilemiştir (ortalama RAUDPC=% 34) (Tablo 4.19). *C. judaicum* bitkileri üzerinde kültür nohudu orijinli İsrail ve Türkiye izolatları ile *C. pinnatifidum* orijinli izolatlar ise aynı seviyede hastalık durumunu sonuçlamıştır (Sırasıyla, ortalama RAUDPC=% 4,5, % 4 ve % 3) (Tablo 4.19).

BÖLÜM 5 TARTIŞMA ve SONUÇ

Güneydoğu Anadolu Bölgesi, *C. reticulatum*, *C. pinnatifidum*, *C. echinospermum* ve *C. bijugum* (Ladizinsky ve Adler, 1976b; Berger vd., 2003; van der Maesen, 2005) gibi yabancı *Cicer* türlerinin doğal yayılım alanı olması açısından, hem *Cicer* cinsi hem de patojeni *D. rabiei* için önemli bir çeşitlilik ve gen merkezidir. Tarımsal faaliyetlerin başladığı yaklaşık 10000-12000 yıl öncesinden günümüze kadar, Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve İsrail'i de kapsayan Levant Bölgesi'nde, nohut tarımı yoğun bir şekilde yapılmaktadır (Lev-Yadun vd., 2000). Dolayısıyla, bu bölgelerdeki *D. rabiei* patojen popülasyonlarının yüksek genetik çeşitliliğe sahip olması beklenmektedir.

Türkiye ve İsrail'e ait kültür ve yabancı nohut orijinli üç *D. rabiei* popülasyonu içinde en yüksek genetik çeşitlilik, Türkiye kültür nohodu orijinli patojen popülasyonda tespit edilmiştir ($H=0,69$; Tablo 4.3). Ayrıca, STMS markırlar kullanılarak farklı ülkelerdeki kültür nohodu orijinli *D. rabiei* popülasyonları için bildirilen genetik çeşitlilik değeriyle kıyaslama yapıldığında da, Türkiye kültür nohodu orijinli *D. rabiei* popülasyonunun en yüksek genetik çeşitlilik değerine sahip olduğu görülmüştür. Tez çalışması kapsamında araştırılan aynı altı STMS lokusunu ve aynı metodu kullanan Rhaiem vd. (2008) tarafından, Tunus'taki *D. rabiei* popülasyonlarında saptanan genetik çeşitlilik değeri $H=0,56$ olarak bildirilmiştir. Peever vd. (2004) tarafından, bu çalışma kapsamında araştırılan altı STMS markırından dördü (ArH05T, ArA06T, ArR12D, ArH02T) ile Amerika Birleşik Devletleri'ndeki dört alt-popülasyonda saptanan genetik çeşitlilik değerleri $H=0,345-0,604$ arasında olmuştur. Phan vd. (2003) tarafından 20 STMS markırı ile Avustralya'daki *D. rabiei* popülasyonlarında saptanan genetik çeşitlilik değeri ise oldukça düşük ($H=0,02$) bulunmuştur. Bu kıyaslamalarda İsrail kültür nohodu orijinli *D. rabiei* popülasyonunun genetik çeşitlilik değerinin ($H=0,57$; Tablo 4.3) de yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Patojenlerin orijin alanlarındaki popülasyonlarının, patojenin yakın zamanda giriş yapmış olduğu alanlardaki popülasyonlarına kıyasla, daha yüksek genetik çeşitliliğe

sahip olduğu bilinmektedir (Phan vd., 2003; Stukenbrock vd., 2006; Rhaiem vd., 2008).

Cicer spp.-*D. rabiei* patosisteminde, patojenin coğrafik orijininin konukçusuyla aynı olması beklenmektedir. Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve bölgeye komşu illerden örneklenmiş kültür nohudu orijinli *D. rabiei* popülasyonunda en yüksek genetik çeşitliliğin belirlenmesi, bu hipotezi destekleyen ilk moleküler veri olmuştur. Benzer şekilde, kültür patatesi (*Solanum tuberosum*) ve yabani *Solanum* türlerinde patates mildiyösü etmeni fungal patojen *Phytophthora infestans*'ın orijininin Meksika/Tolucay Vadisi olduğu hipotezi, diğer coğrafik bölgelerle kıyaslandığında, *P. infestans* popülasyonlarının bu bölgede en yüksek genetik çeşitliliği göstermesi, sadece bu bölgede 1:1 oranındaki eşey tipi dağılımı ve bölgede doğal yayılım gösteren yabani *Solanum* türlerindeki direnç çeşitliliğinin keşfi ile desteklemiştir (Tooley vd., 1985; Fry ve Spielman, 1991; Goodwin vd., 1992; Fry vd., 1993; Grundwald vd., 2001; Flier vd., 2003; Garry vd., 2005). Ayrıca Özkılınç (2006) tarafından, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde *D. rabiei*'nin her iki eşey tipinin de bulunduğu, ancak patojenin eşey tipi dağılımlarının yörelere göre farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Böylece, bazı patosistemlerde gösterildiği gibi (*Magnaporthe oryzae*-pirinç ve *Mycosphaerella graminicola*-buğday gibi) (Stukenbrock ve McDonald, 2008), *Cicer* spp.-*D. rabiei* patosistemi de, konukçu-patojen birlikte evrimleşmesi hipotezini destekleyen bir örnek teşkil etmektedir. Bununla beraber, *Cicer* spp.-*D. rabiei* patosisteminde, konukçu-patojen birlikte evrimleşmesi hipotezini daha kuvvetli kanıtlarla desteklemek için, orijin alanlarındaki yabani *Cicer* türlerinden ve özellikle *C. reticulatum*'dan yeterli sayıda izolatin elde edilmesi gerekmektedir. Ayrıca, patojenin filocoğrafik tarihini anlamak üzere, *Ustilago maydis* (Munkacsi vd., 2007) ve *M. graminicola*'da (Stukenbrock vd., 2007) olduğu gibi, *D. rabiei*'nin orijin alanlarında ilk ortaya çıkış ve popülasyon ayırım zamanları da tahmin edilmelidir.

Fungal patojenlerde, teorik olarak, daha yüksek genetik çeşitliliğe sahip olan patojen popülasyonların kontrolünün daha güç olacağı; çünkü bu popülasyonlarda, fungusit, dirençli çeşit gibi mücadele yöntemlerine karşı daha hızlı cevap gelişeceği düşünülmektedir (McDonald ve Linde, 2002). Yüksek genetik varyasyona sahip popülasyonların çevresel değişimlere adaptasyon kabiliyetinin de yüksek olması

beklenmektedir (Zhan vd., 2005). Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki *D. rabiei* popülasyonlarında saptanan yüksek genetik çeşitlilik ile saldırganlık özellikleri arasında bir ilişki olup olmadığı bilinmemektedir. Ama yine de, yürütülen ıslah çalışmalarında bölgedeki popülasyon yapısının dikkate alınması önemlidir. Diğer taraftan, patojenin yüksek genetik çeşitlilik gösterdiği alanların, konukçu direnç gen kaynakları için önemli alanlar olduğu da bildirilmiştir (Leppik, 1970). Özellikle, araştırma sürecinde *D. rabiei* patojenin elde edilemediği *C. reticulatum* ve *C. echinospermum*, kültür nohudunun birincil (*C. reticulatum*) ve ikincil (*C. echinospermum*) gen havuzunu oluşturmaktadır (Ladizinsky ve Adler, 1976b). Bu yabani akrabalar, ürün bitkisinin ıslah çalışmalarında kullanılmak üzere önemli direnç kaynakları olabilir.

Tarımsal ekosistemlere kıyasla, doğal ekosistemlerdeki şartlar daha zorlayıcı ve daha çeşitlidir (Burdon vd., 2006; Stukenbrock ve McDonald, 2008; Burdon ve Thrall, 2008). Ekolojik şartlardaki çeşitliliğin, patojen popülasyon yapısında da çeşitliliğe yol açabileceği düşünüldüğünden, yabani nohut (*C. judaicum*) orijinli *D. rabiei* popülasyonun, kültür nohudu orijinli popülasyonlara kıyasla daha yüksek genetik çeşitlilik sunması beklenmekteydi. Ancak, *C. judaicum* orijinli patojen popülasyondaki genetik çeşitlilik değeri ($H=0,55$), kültür nohudu orijinli Türkiye ve İsrail popülasyonlarında saptanan genetik çeşitlilikten (sırasıyla, $H=0,69$ ve $0,57$) daha düşük bulunmuştur. Bununla beraber, bu yöndeki hipotezi testlemek için diğer yabani nohut türleri de dahil olmak üzere daha fazla kültür ve yabani konukçu orijinli *D. rabiei* izolatının çalışılması gerekmektedir. Kültür nohudu orijinli popülasyonlarla kıyaslandığında, *C. judaicum* orijinli patojen popülasyonda daha düşük genetik çeşitlik görülmesine rağmen, bu popülasyonu oluşturan değişik lokasyonlardan toplanmış olan izolat grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı moleküler varyasyon olduğu saptanmıştır (%28 total moleküler varyasyon; $\Phi_{PT}=0,281$, $P=0,003$). Yabani konukçu orijinli patojen grupları arasındaki bu yüksek çeşitlilik, konukçularının habitatlarında doğal olarak meydana gelen çok çeşitli çevresel faktörlerin etkisi (Ben-David vd., 2006) ile uyumlu bir sonuçtur. Benzer şekilde, yabani ve kültür konukçularından (*Solanum* spp.) örneklenmiş *P. infestans* için de RFLP, AFLP markırları ve allozim analizlerinden alınan sonuçlara göre en yüksek genetik çeşitlilik tarım alanlarından örneklenen kültür popülasyonlarında; en düşük genetik çeşitlilik ise, yabani konukçu orijinli popülasyonlarında bulunmuştur

(Gründwald vd., 2001; Flier vd., 2003; Garry vd., 2005). Yine bu patosistemde (*Solanum* spp.-*P. infestans*), patojen alt-popülasyonları arasında en fazla çeşitlilik yabani popülasyonlarda görülmüştür (Flier vd., 2003; Garry vd., 2005). Tarımsal ekosistemlerdeki patojen popülasyonlarda daha yüksek genetik çeşitliliğin varlığı, konukçu ürün bitkilerinin geniş alanlardaki yoğun kültür faaliyetlerinden dolayı, patojen popülasyonlarının da daha büyük olması ve çeşitlilik göstermesi ile ilişkilendirilebilir. Benzer sonuç, atasal bir popülasyondan orijinlenen ve tarımsal ekosisteme uyum sağlayarak buğdayı enfekte etmeye başlayan *M. graminicola* popülasyonları için de gösterilmiştir (Stukenbrock vd., 2007). Konukçularının geniş alanlarda kültüre alınması, tarımsal ekosistemlerdeki *M. graminicola* patojen popülasyonlarında daha fazla büyüme ve çeşitlenmeye yol açmıştır (Stukenbrock vd., 2007).

Diğer taraftan, yabani *C. judaicum*'da, kültür patojen popülasyonlarına kıyasla daha düşük genetik çeşitliliğin saptanması, doğal ve tarımsal ekosistemlerin birbiri için patojen inokulum kaynağı olma potansiyeline farklı bir bakış açısı getirmektedir. Gründwald vd. (2001), *P. infestans*'ın yabani popülasyonlarında kültür popülasyonlarına kıyasla daha düşük genetik çeşitliliğin saptanmasını, yabani *Solanum*'daki patojen popülasyonların, tarım alanlarında kültürü yapılan patatesten kaynaklandığı şeklinde açıklamışlardır. 1950'lerde, patatesin ilk kez geniş alanlarda tarımı yapılmaya başlandığında, patojen kaynağının yabani konukçular olduğu düşünülüyordu. 20. yüzyılın sonlarında ise durumun değiştiği, yabani konukçulardaki ve tüm bölgedeki *P. infestans* patojen popülasyonlarının kaynağının, patates tarım alanları olduğu belirtilmiştir (Gründwald vd., 2001). Yabani konukçu orijinli patojen popülasyondaki düşük genetik çeşitlilik ve doğadaki zayıf epidemiler dikkate alındığında, *D. rabiei* için de aynı durum söz konusu olabilir. İlk nohut tarımının başladığı dönemlerde, yabani akrabalar kültür konukçusundaki epidemilerin kaynağı olmuş olabilir. Ancak, günümüzdeki doğal ve tarımsal ekosistemlerin birbiri için patojen inokulum kaynağı olma potansiyeli tartışmalı bir konudur. *D. rabiei*'de birincil inokulum kaynağı askosporlar olduğundan (Wilson ve Kaiser, 1995; Kaiser ve Küsmenoğlu, 1997), doğal ve tarımsal ekosistemlerdeki eşeyli üreme frekansı da bu noktada önemlidir. Fungal üreme çevresel şartlardan ciddi bir şekilde etkilendiğinden (Trapero-Casas ve Kaiser, 1992), doğal ve tarımsal ekosistemlerdeki eşeyli ve eşeysiz üreme dengesinin farklı olması beklenebilir. Genel olarak, düşük

stres şartları (gübreleme ve sulama dolayısıyla yüksek nemlilik vs.) patojende eşeysiz çoğalmayı ve daha kısa generasyon zamanını destekler (Stukenbrock ve McDonald, 2008). Yüksek stres şartları (yaprakların senesensi, besin azlığı/tükenmesi, düşük nemlilik vs.) ise eşeyli üremeyi ve daha uzun generasyon süresini destekler (Stukenbrock ve McDonald, 2008). Örneğin, *P. infestans* ve *Magnaporthe oryzae*'nin tarımsal ekosistemlerdeki popülasyonlarının çoğunlukla klonal olduğu (Zeigler, 1998; Gomez-Alpizar vd., 2007), ancak bu patojenlerin yabani sistemlerdeki popülasyonlarında düzenli eşeyli üreme döngülerinin devam ettiği (Tooley vd., 1985; Kumar vd., 1999) bildirilmiştir. Bu açıdan bakıldığında yabani patojen popülasyonlar tarafından üretilen askosporlar epidemi kaynağı olma potansiyeline sahiptir. Ancak patojenin teleomorfu Türkiye (Kaiser ve Küsmenoğlu, 1997) ve İsrail'deki (Shtienberg vd., 1998) nohut tarlalarında saptanmıştır. Dolayısıyla, askosporların göçü tarladan doğaya doğru da olabilir. Bu konuyu aydınlatmak üzere diğer yabani *Cicer* türlerinden örneklenecek daha fazla sayıda *D. rabiei* izolatının kıyaslamalı analizlerine, yabani konukçularda patojenin teleomorfunun keşfine ve patojen genotiplerin takibine ihtiyaç vardır.

AMOVA sonuçlarına göre, gözlenen mikrosatellit genetik çeşitliliğinin büyük kısmı popülasyon içi/gruplar içi çeşitlikten kaynaklanmıştır. Bu durum, grup içinde eşeysel üreme veya mutasyon yoluyla gerçekleşen çeşitlenme sonrasında, gruplar arası patojen göçünden kaynaklanıyor olabilir. Nötral evrimsel teoriye göre, moleküler markır lokuslarındaki popülasyon içi genetik varyasyon, kantitatif özelliklerdeki popülasyon içi eklemeli genetik varyasyonla doğru orantılıdır (Falconer ve Mackay, 1996). Dolayısıyla, popülasyonlardaki genetik çeşitlilik, fungusit direnci, koloni büyüklüğü veya çeşitli fungal saldırganlık özellikleriyle ilgili karakterlerdeki varyasyonu da yansıtıyor olabilir (Zhan vd., 2005).

Nei'nin genetik benzerlik (*I*) analizleri, Türkiye ve İsrail kültür nohodu orijinli *D. rabiei* popülasyonları arasındaki yüksek benzerliği göstermiştir. $I=0,91$ değeri, Türkiye ve İsrail patojen popülasyonlarından rasgele seçilen iki örnekte (izolatta), çalışılan lokusların herhangi biri için aynı aleli saptama şansının %91 olduğunu ifade etmektedir.

Hem AMOVA sonuçları hem de Nei'nin genetik benzerlik/uzaklık analizleri, yabani *C. judaicum* orijinli izolatların, kültür nohodu orijinli izolatlara genetik olarak uzak

olduğunu ortaya çıkarmıştır. Böylece, patojen popülasyonlar arasındaki genetik benzerliğin, popülasyonların coğrafik yakınlığı ile ilgili olmadığı ve ekolojik farklılıkların seçilimine bağlı olarak şekillendiği anlaşılmaktadır. Bu sonuçlar, tarımsal ve doğal ekosistemlerdeki *D. rabiei* popülasyonları arasındaki moleküler farklılaşmanın bir göstergesidir. Yabani ve doğal ekosistemlerdeki patojen popülasyonların genetik farklılaşması *P. infestans* ve *M. graminicola* için de gösterilmiştir (Flier vd., 2003; Stukenbrock vd., 2007). Kültür patatesi ve yabani konukçularından (*S. demissum* ve *S. xedinense*) izole edilen *P. infestans* patojen popülasyonların AFLP markırlara göre anlamlı derecede popülasyon genetik farklılaşması gösterdiği bildirilmiştir (Flier vd., 2003). *M. graminicola* için yapılan çalışmalarda da, popülasyonların kültür ve yabani konukçularındaki simpatrik ayrımının güçlü bir şekilde genetik farklılaşmaya yol açtığı bildirilmiştir (Stukenbrock vd., 2007).

Farklı konukçu ve ülke orijinli izolat gruplarının genetik uzaklıklarına göre oluşturulmuş dendogram, kültür ve yabani konukçu orijinli izolatlar için iki büyük küme ortaya çıkarmıştır (Şekil 4.13). İki farklı ekosistemde özelleşme gösteren patojen grupların kuvvetli bir şekilde ayrıldığı görülmüştür. Yabani ve kültür konukçusu orijinli yeni izolatların eklenmesiyle de bu iki büyük kümelenmenin korunacağı düşünülmektedir. Bununla beraber, *C. reticulatum*'dan *D. rabiei* izolasyonları yapılabilirse, nohudun atası olan bu türün izolatlarının, yabani ve kültür nohudu orijinli popülasyonların iki ayrı kümesinin arasında yer alması beklenebilir.

Bayes algoritması çalışılan tüm izolatları üç popülasyona ait olarak gruplandırmıştır (Şekil 4.14) Ancak bu durum, Yakın-bağlantı ağacında gösterilen iki büyük kümelenme ile çatışan bir sonuç değildir. Zira, Türkiye ve İsrail kültür nohudu orijinli izolatlar, oldukça benzer alelik kompozisyonlarından dolayı yüksek sıklıkta birbirlerinin grubuna (popülasyon 1 veya 3) dahil olmuşlardır ve büyük bir karışım içinde oldukları görülebilmektedir (Şekil 4.14). Yabani *Cicer* spp. orijinli izolatlar ise güçlü bir şekilde ayrı bir grupta (popülasyon 2) yer almışlardır.

Yabani ve kültür konukçusu orijinli izolatlar arasındaki moleküler ayrıma rağmen, farklı orijinli popülasyonlar arasında bir karışım olduğu hem Bayes algoritması hem de PCoA sonuçlarında görülmüştür. Popülasyonlar arası gen/genotip akışıyla ilgili hesaplamalar da bu durumu doğrulamıştır. Nötral lokuslardaki ortak aleller

gen/genotip akışının indirekt ölçümleri için kullanılabilir (McDermott ve McDonald, 1993). Çalışmada konukçu ve ülke orijini açısından farklı üç popülasyon kaynağı arasındaki gen/genotip akış değerleri gösterilmiştir (Tablo 4.7 ve 4.9). Gen/genotip akışının en yüksek değeri, kültür nohodu orijinli Türkiye ve İsrail *D. rabiei* popülasyonları arasında, en düşük değeri ise yabancı ve kültür nohodu orijinli simpatrik İsrail *D. rabiei* popülasyonları arasında bulunmuştur. Bununla beraber, farklı popülasyonlardaki aynı haplotipler veya multilokus genotipleri de popülasyonlar arasındaki genotip akışı veya patojen göçünün diğer bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Teorik olarak, yüksek alel kompozisyonun benzerliğinden dolayı Türkiye ve İsrail kültür nohodu orijinli patojen popülasyonlar arasında yüksek bir gen/genotip akışının görülmesi beklenen bir sonuçtur. Ancak pratikte, bu durumun patojen göçü ile ilgili olup olmadığı sorgulanabilir. Bu durumun bir açıklaması patojenin evrimsel süreç içerisindeki “kurucu etkisi” (Ladizinsky, 1985; Abbo vd., 2003b) ile ilgisi olabilir. Nohudun ilk kez Güneydoğu Anadolu Bögesi’nde evcilleştirilmesi ve kültüre alınmasından yaklaşık bir milenyum sonra, nohut tarımı İsrail’i de içeren Güney Levant Bölgesi’nde başlamıştır (Gopher vd., 2001). İlk kültür alanlarında konukçusuyla birlikte tarımsal ekosisteme adapte olan *D. rabiei* patojen izolatları da konukçusu ile birlikte bu bölgeye ulaşmıştır. Böylece günümüz popülasyonları, yaklaşık 10000-12000 yıl öncesindeki tarımsal ekosisteme uyum sağlamış atasal popülasyonun devamıdır. Bu açıdan, coğrafik açıdan uzak olsa bile, Türkiye ve İsrail patojen popülasyonları arasındaki benzerlik, evrimsel süreçte konukçusuyla beraber gerçekleşen ilk göçle gelen kurucu popülasyondan kaynaklanıyor olabilir. Hatta, *C. judaicum* ve Türkiye kültür nohodu orijinli patojen popülasyonlar arasında, simpatirik İsrail popülasyonlarına kıyasla, daha yüksek gen/genotip akış değerinin hesaplanmış olması da bu hipotezle ilgili olabilir. Bu hipotezi testlemek amacıyla *Phytophthora infestans* (Fry vd., 1992) ve *M. graminicola* (Banke vd., 2004) patojenlerinde gösterildiği gibi orijin alanlarından itibaren patojen göç şablonlarının çıkarılması ve patojenin filocoğrafyasının çalışılması gerekmektedir.

Yabancı ve kültür ekosistemlerinden örneklenen *D. rabiei* popülasyonları arasında gen/genotip akışının varlığı ve az sayıdaki izolat genotiplerinin farklı orijinli popülasyonlarda tespit edilmesi, ekolojik özelleşme gösteren patojen popülasyonların henüz simpatrik türleşme yolunda olmadığını göstermektedir.

Doğal ve tarımsal ekosistemlerdeki konukçularını istila eden *D. rabiei* popülasyonları arasındaki “farklılaşma süreci” boyunca, simpatrik popülasyonlar arasında askosporlar aracılığıyla gen/genotip akışının devam ettiği/edeceği beklenebilir. İsrail’deki simpatrik yabancı ve kültür konukçularındaki patojen popülasyonlar arasında gen/genotip akışı teorikte gösterildiği gibi pratikte de olasıdır. Frenkel vd. (2010), laboratuvar koşullarında yabancı ve kültür nohudu orijinli İsrail *D. rabiei* izolatları arasında eşeyli üremenin gerçekleştiğini ve yaşayabilir hibrit nesil oluşturduklarını göstermiştir. Bununla beraber, iki farklı ekosistemden örneklenen bu izolatların laboratuvar çaprazlamalarından oluşan neslin patojenik uyumunda, ebeveynlerine göre, ciddi bir azalma olduğu da rapor edilmiştir (Frenkel vd., 2010). Patojen uyumunu olumsuz etkileyen bu durumdan dolayı kültür ve yabancı konukçuda “özelleşmekte” olan *D. rabiei* izolatları arasında eşeyssel üremenin desteklenmemesi veya olası bir üremeden meydana gelen hibrit neslin doğal seçimde elemine edilmesi beklenebilir. Bu da, kültür ve yabancı konukçuda “özelleşmekte” olan *D. rabiei* popülasyonları arasındaki düşük karışımı açıklayabilir.

Patojen popülasyonlar arasındaki gen/genotip akışlarına rağmen, her bir popülasyonda, testlenen altı STMS lokusu için, farklı lokuslarda özel aleller belirlenmiştir. Özel alellerin oranı, kültür nohudu orijinli Türkiye popülasyonunda %37,5 ve İsrail popülasyonunda ise %15 olarak hesaplanmıştır. *C. judaicum* orijinli popülasyonda ise özel alel oranı %32 olmuştur. Oldukça az sayıda olmasına rağmen *C. pinnatifidum*’dan örneklenen izolatların da tüm izolatlar içinde iki özel alele (146 bç/ArA06T lokusu ve 149 bç/ArH06T lokusu) sahip olduğu saptanmıştır. İsrail’deki simpatrik kültür nohudu ve *C. judaicum* orijinli patojen popülasyonlardaki özel alel oranları kıyaslandığında yabancı konukçu orijinli popülasyondaki oran oldukça yüksektir. Doğal ekosistem şartlarına bağlı olarak maruz kalınan çok çeşitli çevresel faktörler, eşeyssel üremeyi kolaylaştıran şartlar ve yüksek mutasyon olasılıkları gibi sebepler, yabancı konukçudan örneklenen izolatlarda yüksek oranda özel alellerin tespitiyle uyumludur.

Çok yıllık yabancı *Cicer* türleri ve kültür nohudu orijinli izolatlar için *CHSI*, *ITS*, *G3PD* ve *EF1- α* gen bölgeleri ile yapılan baz dizilim sonuçlarının benzerliğine dayanarak Peever vd. (2007) tarafından kültür nohudundaki epidemilerin kaynağının çok yıllık yabancı nohut türleri olabileceği hipotezi ileri sürülmüştür. Tek yıllık

yabani *Cicer* spp. (*C. judaicum* ve *C. pinnatifidum*) ve kültür nohudu (*C. arietinum*)’dan örneklenen *D. rabiei* izolatlarının, bu dört gen bölgesinin baz dizilim analizleri de, *CHS1*, *ITS* ve *G3PD* için %100 ve *EF1- α* için %98 oranında homoloji olduğunu göstermiştir. Bu durumda, tek yıllık yabani nohut türlerinin, hem çok yıllık yabani akrabaları hem de kültür formu için epidemi kaynağı olabilmesi muhtemeldir. Bu soruya cevap bulmak için hem tek yıllık hem de çok yıllık yabani nohut türlerinden daha fazla *D. rabiei* örnekleme yapılarak kıyaslamalı olarak analiz edilmesi gerekmektedir. Ayrıca, yabani ve kültür konukçusu orijinli *D. rabiei* izolatları arasında *EF1- α* baz dizilim sonuçları dört nükleotid polimorfizmiyle farklılık göstermiştir. Bu sonuç da doğal ve tarımsal ekosistemde özelleşen patojen izolatlar arasındaki moleküler ayrımın bir başka işareti olarak kabul edilebilir.

Yabani ve kültür konukçusundan örneklenen *D. rabiei* popülasyonlarının, 25 °C ve 15 °C’deki *in vitro* koloni büyüklükleri ile ilgili sonuçlar, evrimsel süreç içerisinde nohut ürün ekim rejiminde yapılan sezonsal değişikliğin, *D. rabiei* patojeni üzerindeki evrimsel ve ekolojik etkileri ile ilgili hipotezi desteklemiştir. Kültür nohudu orijinli Türkiye ve İsrail popülasyonları 25 °C’ye daha yüksek adaptasyon göstermiştir. Nohut ekiminin kıştan ilkbahara alınmasıyla, tarımsal ekosistemde özelleşen patojen popülasyonlarda daha sıcak koşullara adaptasyon gelişmiştir. *C. judaicum* orijinli patojen popülasyon ise her iki sıcaklığı da aynı adaptasyonu gösterirken, kıyaslamalarda, 25 °C’de en küçük, 15 °C’de ise en büyük koloni çaplarına sahip olmuştur (Şekil 4.17). Böylece, doğal ekosistemlerde özelleşen patojen popülasyonların 25 °C’deki sıcaklık adaptasyonlarının, tarımsal ekosistemlerdeki patojen popülasyonlarındaki kadar yüksek olmadığı anlaşılmaktadır. Ayrıca, Frenkel vd. (2008) tarafından, İsrail’deki yabani (*C. judaicum*) ve kültür nohudundan örneklenen patojen izolatların koloni hifsel gelişiminde farklı sıcaklık adaptasyonlarına sahip oldukları gösterilmiştir. Yabani ve kültür konukçusundan örneklenen *D. rabiei* patojeni arasındaki ekolojik isteklerinin farklılığının sebebi olarak, konukçularının farklı sezonsal yetiştirme döngüleri olduğu önerilmiştir. (Frenkel vd., 2008). Tez çalışması kapsamında, Frenkel vd. (2008) tarafından ileri sürülen bu hipotezin sadece İsrail’de değil, konukçu/patojenin orijin bölgesinde de geçerli olduğu gösterilmiştir. Sonuçta, kültür nohudu orijinli hem Türkiye hem de İsrail izolatlarının, daha sıcak ilkbahar koşullarına olan adaptasyonu işaret eden 25 °C’deki daha yüksek koloni gelişimleri saptanmıştır.

Türkiye ve İsrail, nohut yetiştirme periyodu boyunca farklı sezonsal sıcaklık profillerine sahiptir (Ek 5). Sıcaklık faktörü, ekosistemler ve popülasyonlar üzerinde etkili önemli bir ekolojik belirleyici olduğundan, patojen popülasyonların da sıcaklık faktörüne karşı hissel gelişim cevaplarının bu sezonsal farklılığı yansıtması beklenir. Sıcaklık faktörüne karşı hissel gelişim cevapları testlenen üç patojen popülasyon içerisinde en düşük koloni büyüklükleri 15 °C’de Türkiye kültür nohudu patojen popülasyonu için bulunmuştur. Bu durum iki ülkedeki farklı nohut ekim rutininden kaynaklanıyor olabilir. Kırk yıldan fazla bir zamandır İsrail’de kışlık nohut ekimi yapılırken (Shtienberg vd., 2000), Türkiye’de yaygın olarak ilkbahar nohut ekimi yapılmaktadır. Türkiye’de epidemiler Nisan-Haziran boyunca meydana gelirken, İsrail’de epidemiler Ocak-Nisan dönemlerinde görülmektedir. Böylece, Türkiye kültür nohudu izolatları ılık, sıcak ve kurak erken yaz sıcaklıklarına maruz kalmaktadır. Bu durumda, Türkiye izolatlarının yüksek sıcaklığa adapte olarak 25 °C’de daha büyük kolonilere sahip olması beklenirken, her iki sıcaklıkta da Türkiye kültür nohudu izolatları, İsrail kültür nohudu izolatlarından daha küçük koloni çaplarına sahip olmuştur. İlginç olarak, Türkiye izolatları kendi aralarında çoğunlukla sıcaklık faktörüne karşı benzer koloni büyüklükleri ile saçılım çizitinde bir arada toplanmış olarak yer alırken (iki izolat hariç), İsrail kültür nohudu izolatları farklı koloni büyüklüğüne sahip izolatları ile oldukça çeşitlilik göstermiştir (Şekil 4.18). Sıcaklık faktörü etkisinde fungal koloni gelişimi kantitatif bir özellik olup, birden fazla gen (eklemeli genetik varyans) ve çevrelerinin etkileşiminden dolayı farklı derecelerde fenotipik varyasyonlar gösterebilmektedir (Holland vd., 2003; Zhan vd., 2005; Frenkel vd., 2010).

Yabancı ve kültür konukçusu orijinli izolatların *in vitro*’da saptanan sıcaklık-koloni gelişim cevapları ve adaptasyonları, sıcaklık-koloni gelişim fenotipinin kalıtım dereceleri ile de uyumlu olmuştur. Dar duyarlı kalıtım derecelerinin hesaplanmasıyla bu fenotipin genetik bileşeni gösterilmiştir. Kültür nohudu orijinli hem Türkiye hem de İsrail izolatlarının sıcaklık-koloni gelişim cevabının 25 °C’deki kalıtım derecesi, 15 °C’dekinden daha yüksek bulunmuştur. Yabancı *Cicer* spp. orijinli izolatlar için ise tam tersi olarak, sıcaklık gelişim cevabının 15 °C’deki kalıtım derecesi 25 °C’dekinden daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, iki farklı habitattaki patojen popülasyonların ekolojik adaptasyonlarının genetik açıdan korunumunu yansıtmaktadır.

Koloni hifsel gelişim ve sıcaklık ilişkisinin çalışılması, kültüre alınma süreci içerisinde konukçu yetiştirme periyodunda yapılan değişikliğin ve farklı ekolojik koşulların, patojen popülasyonların ekolojik isteklerini ve adaptasyonlarını farklı şekillendirdiğini göstermiştir. Böylece *D. rabiei* popülasyonlarının doğal ve tarımsal ekosistemlerdeki özelleşme ve ayırım sürecinde, farklı ekolojik adaptasyonlarının da etkili olduğu anlaşılmaktadır.

Tarımsal ekosistemler, doğal ekosistemlere kıyasla konukçularıyla birlikte patojenleri için de farklı bir seçim baskısı uygulamıştır (Stukenborck ve McDonald, 2008). *D. rabiei* popülasyonları için de farklı seçim baskısının, genetik farklılaşmayı ve ekolojik bir çeşitlenmeyi sonuçladığı anlaşılmaktadır. Tarımsal ekosistemlerdeki *D. rabiei* için “kültür izolatları/popülasyonları” ve doğal ekosistemlerdeki *D. rabiei* için ise “yabani izolatlar/popülasyonlar” ifadelerinin kullanımı uygun görülmektedir.

Farklı orijinli izolatların konukçu-patojen ilişkilerinin değerlendirilmesinde patojenle ilgili “patojenisite”, “uyum” ve “virülenslik” ilişkilerini de kapsayan “saldırganlık” değerlendirmeleri yapılmıştır (Pariaud vd., 2009). Bu çalışmada, saldırganlık kavramı içinde, inkübasyon periyodu, hastalık şiddeti (RAUDPC), final hastalık şiddeti ölçümleri incelenmiştir. Kültür ve yabani sistemlerden örneklenmiş az sayıda konukçu bitki ve izolat kullanılarak *Cicer spp.-D.rabiei* interaksyonları ve konukçu adaptasyonlarını anlama yolunda bir örnek olay modeli çalışılmıştır.

Doğal ekosistemlerdeki konukçu-patojen interaksyonlarının çalışılması, tarımsal ekosistemlerdeki hastalık yönetimleriyle ilgili yaklaşımlarda ve özellikle ürün geliştirme stratejilerinde oldukça önemlidir. Ayrıca, yabani konukçular direnç kaynağı olarak kullanıldığından, patojenin konukçu adaptasyonu, ıslah programları açısından da önemlidir. *Cicer spp./D. rabiei* ilişkisi, hem doğal hem de tarımsal ekosistemlerdeki konukçu-patojen ilişkileriyle ilgili çalışmalar için ideal bir model sistemdir.

Genel olarak, daha kısa inkübasyon süresine sahip olan izolatlar, daha yüksek RAUDPC değerlerine sahip olmuştur (Tablo 4.11). Bu durum, konukçu üzerinde daha hızlı yerleşim gösteren patojenin, daha fazla hastalık şiddetine yol açabildiği sonucuna ulaştırmaktadır.

Testlenen tüm izolatlarda, seçilen tüm konukçu bitkileri enfekte etmiştir. Beklendiği gibi, farklı orijinli izolatlarda saldırganlıkları, konukçu orijinine bağlı olarak önemli farklılıklar göstermiştir. Benzer durum, Garry vd. (2005) tarafından, konukçu türüne özelleşme durumu araştırılan *P. infestans* için de gösterilmiştir. Yabancı konukçu *Solanum caripense* ve kültür patatesi (*S. tuberosum*) orijinli izolatlarda kendi konukçu orijinlerinde daha saldırgan olduğu bildirilmiştir (Garry vd., 2005). Farklı orijinli izolatlarda, orijinal konukçuları üzerinde daha saldırgan bulunmuştur (Tablo 4.11). Ancak, Türkiye kültür nohudu ve kültür izolatlarda bu genellemenin dışında kalmıştır.

Hem kültür hem de yabancı İsrail izolatlarda, Türkiye kültür nohudu çeşitleri üzerinde, daha yüksek RAUDPC değerleri ve daha kısa inkübasyon periyoduyla, daha saldırgan bulunmuştur (Tablo 4.11 ve 4.13). Türkiye kültür izolatlardaki orijinal konukçuları üzerinde, İsrail izolatlara kıyasla daha az saldırgan bulunması, patojen izolatlarda lokal konukçuları üzerinde daha yüksek adaptasyon gösterdiği şeklindeki genel kabulü de reddetmiştir. Bununla beraber, patojen popülasyon düzeyinde yapılabilecek bir araştırma, hem patojen saldırganlık özellikleri ve hem de konukçu cevabı açısından daha farklı cevaplar sunabilir.

Türkiye *D. rabiei* popülasyonunda saptanan yüksek genetik çeşitlilik değeri ile, testlenen izolatlarda saptanan nispeten düşük saldırganlık düzeyleri arasında bir ilişki olması beklenmemiştir. *D. rabiei*'de RAPD veya mikrosatellitler gibi çeşitli markır sistemlerine dayalı olarak saptanan genetik çeşitlilik ve DNA parmakizi profilleri ile izolatlarda saldırganlık durumları arasında ilişki bulunmadığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Navas-Cortés vd., 1998; Hamza vd., 2000; Santra vd., 2001; Chang vd., 2008). Diğer taraftan bazı araştırmacılar DNA parmakizi profili ile saldırganlık özellikleri arasında ilişki olabildiğini bildirmişlerdir. Örneğin; Weising vd. (1991), 4 mikrosatellit probu ve 4 restriksiyon enzimi ile 6 *D. rabiei* izolatının parmak izi sonuçlarının düşük ve yüksek saldırganlık gösteren izolat gruplarında benzerlik gösterdiğini bildirmiştir. Udupa vd. (1998), 53 Suriye izolatında 14 RAPD markırı ve bir mikrosatellit primerini (GATA)₄ testleyerek farklı patotip grupları içinde ve gruplar arasında DNA markırların ayırt edici çeşitlilik gösterdiğini rapor etmiştir. En saldırgan patotipin, diğer patotiplere kıyasla, en az genetik çeşitlilik gösterdiğini bildirmiştir (Udupa vd., 1998). Kullanılan markır tipleri ve sayısı, moleküler ve

patojenik karakterler arasındaki ilişki durumunu etkilemektedir. Şu ana kadar yapılan çalışmalara ve bu tez çalışması kapsamında sunulan verilere dayalı olarak, genetik ve patojenik çeşitlilik arasındaki ilişki hakkında bir genelleme yapmanın doğru olmayacağı anlaşılmaktadır. Saldırganlık çok genli kontrol altındadır (Thrall vd., 2005) ve nötral markırlardaki genetik çeşitliliğe bakılarak saldırganlık düzeyleri arasında ilişki kurulamayabilir. Genetik rekombinasyon, patojendeki genetik çeşitliliğin artmasına katkıda bulunmaktadır ve popülasyonlardaki patojenite ve nötral genetik markırlar arasında bir korelasyon olmayışının muhtemel nedeni de budur (Chen vd., 2004). Virülenslikle ilgili veriler, tek başına genetik çeşitlilik veya patojenin evrimsel tarihi hakkında bilgilendirici olmayabilir (Chang vd., 2008). Ortak konukçu setleri tarafından uygulanan aynı seçilim baskısından dolayı, genetik olarak farklı izolatlar aynı veya benzer virülenslik düzeylerini gösterebilir (Zhang vd., 2003). Patotip ve genotip çeşitliliği arasında bir korelasyon olmadığı *Pisum sativum-Myco-sphaerella pinodes* gibi başka patosistemlerde de gösterilmiştir (Zhang vd., 2003; Su vd., 2006).

İsrail kültür izolatlarının, Türkiye kültür izolatlarından daha yüksek saldırganlık göstermesi, *in vitro*'da gösterdikleri daha hızlı koloni hifsel gelişim özellikleri ile ilgili olabilir. *In vitro* koloni hifsel gelişim-sıcaklık ilişkileriyle ilgili denemelerde, hem 25 °C hem de 15 °C'de, İsrail kültür izolatlarının ortalama koloni çapları, Türkiye kültür izolatlarının ortalama koloni çaplarından daha büyük olmuştur (Şekil 4.17). Bu sonuçlara dayalı olarak, fungal patojenlerde hifsel gelişim hızı ve saldırganlık arasında pozitif bir ilişki olduğu önerilebilir. Nitekim, *in vitro* koloni gelişimi ve patojenisite arasındaki pozitif ilişki, Karaağaç ölüm hastalık etmeni *Ophiostoma ulmi*'de de gösterilmiştir (Braiser ve Webber, 1987). Daha hızlı gelişen izolatların, konukçu içerisinde daha hızlı yayılım göstermesi beklenir. Bu da, konukçuda daha fazla hastalık yayılımına yol açar. Bununla beraber, *in vitro* hifsel gelişim hızı ve patojenisite arasında her zaman pozitif bir ilişki olduğunu genellemek doğru olmayabilir. Thrall vd. (2005) *Cakile maritima-Alternaria brassicola* konukçu-patojen ilişkilerinde hızlı ve yavaş gelişen izolatlar arasında yaptığı kıyaslamalarda, *in vitro* büyüme hızı ile hem hastalık şiddeti hem de lezyon gelişimi arasında güçlü bir bağlantı olmadığı sonucuna ulaşmışlardır. Ayrıca koloni hifsel büyüme ve spor üretimi arasında da ters bir orantı olduğu ve daha hızlı gelişen izolatlarda daha az spor üretimi olduğu bildirilmiştir (Thrall vd., 2005). Frenkel vd.

(2010), yabani ve kültür *D. rabiei* izolatlarının çaprazlanmasıyla elde edilen hibrit izolatlarla yapmış oldukları çalışmada, *in vitro* sıcaklık adaptasyonu ile *in vivo* patojenik uyum arasında kuvvetli bir ilişki bulamadıklarını rapor etmişlerdir. Dolayısıyla saldırganlık, hifsel gelişim dışında, birçok farklı patojen uyum bileşenleriyle ilgilidir. Hifsel gelişim, saldırganlığı etkileyen faktörlerden biri olarak görülmektedir ancak, tek başına saldırganlık karakterleriyle ilgili kuvvetli bir belirleyici değildir.

Yabani izolatlar, ülke orijinine bağlı olmaksızın, hem yabani hem de kültür bitkilerinde ciddi hastalık oluşumuna yol açmışlardır. Bu durum, *Cicer spp.-D. rabiei* evrimsel hikayesinin başlangıcında, yabani *Cicer* türlerinin kültür nohudundaki *Ascochyta* yanıklığından sorumlu olduğu hipotezi ile uyumludur. Hatta, deneme sonuçları, konukçu-patojenin orijin alanlarında halen bu hipotezin geçerliliğini desteklemektedir. Zira, Türkiye kültür nohudu üzerinde, Türkiye yabani izolatları, kültür izolatlarıyla kıyaslandığında, RAUDPC değerlerine göre daha şiddetli hastalık oluşumuna yol açmıştır. Günümüzde de, yabani izolatların, nohut tarlalarını enfekte etme potansiyeli söz konusudur. Ancak, İsrail için, kültür izolatlarıyla kıyaslandığında, yabani izolatların, kültür nohudunda saldırganlığı daha düşüktür. Saldırganlık bileşenleri sıklıkla patojenik uyumla ilişkili olduğundan (Thrall vd., 2005; Pariaud vd., 2009), kültür izolatlarının, kendi habitatlarında, daha iyi kolonize olması ve rekabette ön planda yer alması beklenir.

Hem *C. pinnatifidum* hem de *C. judaicum* bitkileri de kendi izolatlarına karşı oldukça duyarlı bulunmuştur. Denemelerde, yabani izolatların kendi konukçuları üzerinde yüksek saldırganlığı saptanmış olmasına rağmen, doğada düşük hastalık yoğunluğu ve zayıf epidemiler gözlenmiştir. Doğal ekosistemlerde, konukçu-patojen arasındaki dinamik denge durumunda, hastalık durumu/zararı yoktur veya çok düşük seviyededir (Gilbert, 2002). Fakat bu durum, patojenin potansiyel zarar etkisini ortadan kaldırmaz (Gilbert, 2002). Diğer taraftan, doğadaki zayıf hastalık durumu, yabani konukçu direnci ve ekosistem farklılıklarıyla ilgili olabilir. Tarımsal ekosistemlerle kıyaslandığında, daha fazla çevresel heterojenite, daha fazla tür çeşitliliği ve daha düşük konukçu yoğunluğu, doğal ekosistemlerdeki hastalık tablosunu farklı kılıyor olabilir (Burdon vd., 2006; Stukenbrock ve McDonald, 2008).

Yabani konukçular, özellikle simpatrik sistemlerde, patojen göçü ile tarımsal alanlardaki ürün bitkileri için potansiyel inokulum kaynağı olabilir. Çalışma sonuçlarında sunulduğu üzere, yabani ve kültür nohudu orijinli *D. rabiei* popülasyonları arasında gen/genotip akışının olduğu gösterilmiştir. Konukçu adaptasyonun şekillenmesinde, konukçu ve/veya patojen göç oranları önemli bir rol oynamaktadır (Gandon vd., 1996; Kawacki ve Ebert, 2004). Gen/genotip akışına bağlı olarak patojen uyumunun yol açtığı değişiklikler, göç eden patojen izolatların ve bu izolatlardan meydana gelecek generasyonun performansına bağlıdır (Kawecki ve Ebert, 2004). Örneğin, Frenkel vd. (2010) tarafından, yabani ve kültür nohudu orijinli İsrail izolatlarının laboratuvar çaprazlamalarından elde edilen hibrit nesilde, hem yabani hem de kültür konukçularındaki patojenik uyum gücünde azalma olduğu bildirilmiştir. Bununla beraber farklı ekolojik özelleşme ve hibrit neslin konukçu adaptasyonundaki zayıflamadan dolayı (Frenkel vd., 2010), doğal şartlarda farklı orijinli izolatlar arasında eşeyli üremenin desteklenmeyeceğini de düşündürmektedir. Ekolojik adaptasyonlar, fungal patojenisitede değişikliklere yol açabilir ve zamanla üreme izolasyonunu da teşvik edebilir (Dettman vd., 2008).

Her iki yabani konukçu için de, “patojen izolatın ülkesi × patojen konukçu orijini” etkileşimi, saldırganlık değerlendirmeleriyle ilgili tüm ölçümlerde (inkübasyon periyodu, final hastalık şiddeti ve RAUDPC) istatistiksel olarak oldukça anlamlı bulunmuştur (Tablo 4.16, 4.17, 4.18 ve 4.19). Kültür izolatlarıyla kıyaslandığında, *C. judaicum* orijinli izolatlar, *C. pinnatifidum* üzerinde oldukça saldırgan bulunmuştur (Tablo 4.17). Ancak, *C. pinnatifidum* orijinli izolatların *C. judaicum* üzerindeki saldırganlığı, kültür izolatlarıyla aynı düzeyde olmuştur (Tablo 4.19).

Yabani konukçuların ekotipleri arasında anlamlı derecede farklılık tespit edilmiştir (Tablo 4.16 ve 4.18). Doğal ekosistemlerdeki yüksek niş heterojenitesinden dolayı beklenen bir sonuçtur. Ayrıca, yabani türlerde farklı direnç seviyelerine sahip büyük bir çeşitlilik olması beklenmektedir.

İlginç bir şekilde, *C. judaicum* ekotipleri, *C. judaicum* orijinli dışında diğer tüm farklı orijinli izolatlara karşı oldukça yüksek direnç göstermiştir (Tablo 4.11). *C. judaicum* orijinli izolatlar, diğer orijinli izolatlarla kıyaslandığında, *C. judaicum* üzerinde daha yüksek patojenik uyum (daha kısa inkübasyon süresi, daha yüksek final hastalık şiddeti ve daha büyük RAUDPC değerleri) göstermiştir. Frenkel vd. (2008)

tarafından da, *C. judaicum* orijinli *D. rabiei* izolatlarının, kültür izolatlarına kıyasla, *C. judaicum* bitkilerinde daha yüksek saldırganlık gösterdiğini bildirmiştir. Yalnızca aynı konukçu bitki türünden örneklenen izolatların, *C. judaicum* üzerinde yüksek saldırganlık gösterirken, farklı konukçu orijinli *D. rabiei* izolatlarının çok düşük düzeyde saldırganlık göstermesi, sıkı bir konukçu özelleşmesi ile açıklanabilir. Diğer taraftan, konukçu evrim tarihine bakıldığında, uzunca bir süre, *C. judaicum*, diğer *Cicer* türlerinden ve *D. rabiei* patojeninde coğrafik olarak izole kalmıştır. Balkanlar, Türkiye, Suriye, Lüban, Irak, İran ve Orta Asya'da tek ve çok yıllık yabancı *Cicer* türlerinin bulunduğu bilinmektedir (van der Maesen vd., 2005). Oysa, *C. judaicum* yalnızca İsrail ve Ürdün'de, diğer *Cicer* türleriyle kıyaslandığında, daha sıcak ve kurak bölgelerde yetişmektedir (Berger vd., 2003; Ben-David vd., 2006). *C. judaicum*, diğer yabancı *Cicer* türleriyle allopatrik bir yayılıma sahiptir. Muhtemelen, kültür nohudu *C. arietinum*'la simpatrik yetiştirme durumuna ulaştınca *D. rabiei* patojeni ile tanışmıştır. *C. judaicum*-*D. rabiei* arasındaki özel ilişki belki, bu evrimsel süreç ile ilişkilendirilebilir. Bunun dışında, fitoaleksinler gibi çeşitli bitki savunma bileşenleri veya patojen toksinlerinin konukçu türü bazındaki eşik seviyesi gibi faktörler bitki-patojen interaksyonları arasındaki ilişkiyi etkiliyor olabilir (Tivoli ve Banniza, 2007). Bilinmeyen bileşen/bileşenlerin etkisi, *C. judaicum* ve aynı konukçuda özelleşmiş *D. rabiei* izolatları arasında yüksek hastalık durumunu sonuçlarken, *C. judaicum*'un farklı orijinli *D. rabiei* izolatlarına karşı oldukça dirençli olmasına neden oluyor olabilir. *C. judaicum*-*D. rabiei* sistemini anlamak ve diğer *Cicer* spp.-*D. rabiei* sistemleriyle kıyaslamak üzere, diğer tek ve çok yıllık yabancı *Cicer* türlerinden daha fazla sayıda patojen izolatın elde edilmesi gerekmektedir. Ayrıca, şu ana kadar, *Cicer* spp.-*D. rabiei* ilişkisinde, ne patojendeki saldırganlık fenotipinin ve ne de konukçu cevabının genetik temeli hakkında bilgi mevcuttur (Abbo vd., 2007). Konukçu-patojen birlikte evrimleşmesi ile ilgili interaksyonların daha iyi anlaşılması için, konukçu direnci ve patojen virülensliğinin moleküler temeli ilgili bilgilerin entegre edilmesi gerekmektedir (Burdon and Thrall, 2009).

D. rabiei-*Cicer* spp. ilişkisinde konukçu-patojen özelleşmesi çözümlenememiş bir konudur. Ekolojik ve moleküler ayrımlarına rağmen, hem kültür hem de yabancı *D. rabiei* izolatlarının simpatrik ve allopatrik yabancı ve kültür konukçularında patojenik adaptasyonlarını koruduğu görülmüştür. Ancak *C. judaicum*, kendi izolatları dışında,

farklı orijinli izolatlar karşı oldukça yüksek dayanıklılık göstermiştir. Bu konuda sunulan örnek olay incelemesi, patojenin saldırganlık özelliklerinin, doğal ve tarımsal ekosistemlerdeki konukçu özelleşmesi ile bağlantılı olarak şekillendiğini göstermektedir. Ancak, bu konuda ayrıntılı bir tablo sunmak ve genellemeler yapmak için popülasyon düzeyinde izolatların testlenmesi, daha fazla konukçu varyetesi üzerinde çalışılması ve diğer yabancı *Cicer* türlerinden, özellikle de *C. reticulatum*'dan izolatların elde edilmesi önemli ve gereklidir.

Yabancı ve kültür nohudu orijinli *D. rabiei*'nin coğrafik uzaklıktan bağımsız, konukçu ve ekosisteme bağlı olarak, moleküler farklılaşma göstermesi, ekolojik adaptasyonlarının ve konukçu-patojen ilişkilerinde saldırganlık özelliklerinin değişmesi, farklı ekolojik sistemlerin patojen popülasyon yapılarının şekillenmesinde etkin rol oynadığını göstermektedir. Bu durum, *D. rabiei*'de farklı adaptasyonları destekleyen ekolojik özelleşmeyi sonuçlamaktadır. Ekolojik özelleşme, türleşme yolunda ilk adım olabilir (Kohn, 2005; Sicard vd., 2007).

STMS markırlar, yabancı ve kültür nohudu orijinli *D. rabiei* izolatları arasındaki genetik farklılaşmayı ortaya koymuştur. *In vitro* koloni hifsel gelişimlerinin sıcaklık cevapları da evrimsel süreç içerisinde nohut ürün ekim rejiminde yapılan sezonsal değişikliğin *D. rabiei* patojeni üzerindeki evrimsel ve ekolojik etkileri ile ilgili hipotezi desteklemiştir. Doğal ve tarımsal ekosistemlerdeki ekolojik farklılıklar, patojenin konukçu adaptasyonu ve saldırganlık özellikleri üzerinde de seçici etkiye sahip olmuştur. Evrimsel açıdan patojenin orijin alanlarındaki yabancı konukçusunda ortaya çıktığı ve evcilleştirme sürecinde konukçusuyla birlikte farklı ekosistemlere adapte olarak ekolojik çeşitlenme gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır. *Cicer* spp./*D. rabiei* ilişkisi, hem doğal hem de tarımsal ekosistemlerdeki konukçu-patojen interaksiyonlarıyla ilgili çalışmalar için ideal bir model sistem olarak önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbo, S., Saranga, Y., Peleg, Z., Kerem, Z., Lev-Yadun, S., Gopher, A. (2009). Reconsidering domestication of legumes versus cereals in the ancient Near East. *The Quarterly Review of Biology*, **84**, 29-84.
- Abbo, S., Frenkel, O., Sherman, A., Shtienberg, D. (2007). The sympatric *Ascochyta* pathosystems of near eastern legumes, a key for better understanding of pathogen biology. *European Journal of Plant Pathology*, **119**, 111-118.
- Abbo, S., Lev-Yadun, S., Rubin, B., Gopher, A. (2005). On the origin of Near Eastern founder crops and the "dump-heap hypothesis". *Genetic Resources and Crop Evolution*, **52**, 491-495
- Abbo, S., Shtienberg, D., Lichtenzveig, J., Lev-Yadun, S., Gopher, A. (2003a). The chickpea, summer cropping, and a new model for pulse domestication in the ancient near east. *The Quarterly Review of Biology*, **78**, 435-448.
- Abbo, S., Berger, J., Turner, N.C. (2003b). Evolution of cultivated chickpea: four bottlenecks limit diversity and constrain adaptation. *Fungal Plant Pathology*, **30**, 1081-1087.
- Acikgoz, N. (1983). Chickpea production in Turkey. *Options Mediterraneennes*, **9**, 167-170.
- Acikgoz, N., Karaca, M., Er, C., Meyveci, K. (1994). Chickpea and lentil production in Turkey. In F.J. Muehlbauer and W.J. Kaiser (Eds.), *Expanding the production and use of cool season food legumes* (Pp. 338-398). Kluwer Academic Publishers: The Netherlands.
- Akem, C. (1999). *Ascochyta* blight of chickpea: present status and future priorities. *International Journal of Pest Management*, **45**, 131-137.
- Ambardar, V.K., Singh, S.K. (1996). Identification and elucidation of *Ascochyta rabiei* isolates of chickpea in Jammu. *Indian Journal of Plant Pathology*, **26**, 4-8.

- Armstrong, C.L., Chongo, G., Gossen, B.D., Duczek, L.J. (2001). Mating type distribution and incidence of the teleomorph of *Ascochyta rabiei* (*Didymella rabiei*) in Canada. *Canadian Plant Pathology*, **23**, 110-113.
- Alexander, H.M., Holt, R.D. (1998). The interaction between plant competition and disease. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **1**, 206–20.
- Ali, S.M., Sharma, B., Ambrose, M.J. (1994). Current status and future strategy in breeding pea to improve resistance to biotic and abiotic stresses. *Euphytica*, **73**, 115-126.
- Banke, S., Peschon, A., McDonald, B.A. (2004). Phylogenetic analysis of globally distributed *Mycosphaerella graminicola* populations based on three DNA sequence loci. *Fungal Genetics and Biology*, **41**, 226-238.
- Banke, S. ve McDonald, B.A. (2005). Migration patterns among global populations of the pathogenic fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Molecular Ecology*, **14**, 1881-1896.
- Basandrai, A.K., Kaur, L., Basandrai, D., Pande, S., Malhotra, R.S., Gaur, P.M., Sarker, A. (2009). Management of Ascochyta Blight of Chickpea in India. *Second International Ascochyta Workshop (Disease management session)*, (Pp. 38), Pulman/U.S.A,
- Barve, M.P., Arie, T., Salimath, S.S., Muehlobauer, F.J., Peever, T.L. (2003). Cloning and characterization of the mating type (*MAT*) locus from *Ascochyta rabiei* (teleomorph: *Didymella rabiei*) and a *MAT* phylogeny of legume-associated *Ascochyta* spp. *Fungal Genetics and Biology*, **39**, 151-167.
- Bayaa, B., Erskine, W., Hamdi, A. (1992). Response of wild lentil to *Ascochyta fabae* f.sp. *lentis* from Syria. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **41**, 61-65.
- Bayraktar H., Dolar, F.S., Maden, S. (2007a). Mating type groups of *Ascochyta rabiei* (Teleomorph: *Didymella rabiei*) the causal agent of chickpea blight in central anatolia. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **31**, 41-46.
- Bayraktar H., Dolar, F.S., Tör, M. (2007b). Determination of genetic diversity within *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., the cause of Ascochyta blight of chickpea in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, **89**, 341-347.

- Beerli, P. ve Felsenstein, J. (2001). Maximum likelihood estimation of a migration matrix and effective population sizes in n subpopulations using a coalescent approach. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **98**, 4563-4568
- Berbee, M.L., Pirseyedi, M., Hubbard, S. (1999). *Cochliobolus* phylogenetics and the origin of known, highly virulent pathogens, inferred from ITS and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene sequences. *Mycologia*, **91**, 964-977.
- Ben-David, R. ve Abbo, S. (2005). Phenological variation among Israeli populations of *Cicer judaicum* Boiss. *Australian Journal of Agricultural Research*, **56**, 1219-1225.
- Ben-David, R., Lev-Yadun, S., Can, C., Abbo, S. (2006). Ecogeography and demography of *Cicer judaicum* Boiss., a wild annual relative of domesticated chickpea. *Crop Science*, **46**, 1360-1370.
- Ben Mohamed, L., Cherif, M., Harrabi, M., Galbraith, R.F., Strange, R.N. (2010). Effects of sowing date on severity of blight caused by Ascochyta rabiei and yield components of five chickpea cultivars grown under two climatic conditions in Tunisia. European Journal of Plant Pathology, 126, 293-303.*
- Berger, J., Abbo, S., Turner, N.C. (2003). Ecogeography of annual wild *Cicer* species: the perilous state of the world collection. *Crop Science*, **43**, 1076-1090.
- Braiser, C.M. ve Webber, J.F. (1987). Positive correlations between in vitro growth rate and pathogenesis in *Ophiostoma ulmi*. *Plant Pathology*, **36**, 462-466.
- Bridge, P.D., Spooner, B.M., Roberts, P.J. (2005). The Impact of Molecular Data in Fungal Systematics. *Advances in Botanical Research*, **42**, 33-67.
- Brown, J.K.M. (1996). The choice of molecular marker methods for population genetic studies of plant pathogens. *New Phytologist*, **133**, 183-195.
- Buchwaldt, L., Kishore, G.K, Sharpe, A.G., Sidebottom, C., Booker, H.M., Tar'an, B. (2009). Mapping of Ascochyta blight resistance in chickpea. *Second International Ascochyta Workshop (Host Resistance-Breeding Session)*, (Pp. 29), Pulman/U.S.A.
- Burdon, J.J. (1987). *Diseases and plant population biology*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

- Burdon, J.J. (1993). The structure of pathogen populations in natural plant communities. *Annual Review of Phytopathology*, **3**, 305–323.
- Burdon, J. J., Thrall, P. H., Ericson, L. (2006). The current and future dynamics of disease in plant communities. *Annual Review of Phytopathology*, **44**, 19-39.
- Burdon, J.J. ve Thrall, P.H. (2008). Pathogen evolution across the agro-ecological interface: implications for disease management. *Evolutionary Applications*, **1**, 57-65.
- Burdon, J.J. ve Thrall, P.H. (2009). Co-evolution of plants and their pathogens in natural habitats. *Science*, **8**, 755-756.
- Burt, P.J.A., Rutter, J., Gonzales, H. (1997). Short-distance wind dispersal of the fungal pathogen causing Sigatoka diseases in banana and plantain. *Plant Pathology*, **46**, 451-458.
- Can, C., Ozkilinc, H., Kahraman, A., Ozkan, H. (2007). First report of *Ascochyta rabiei* causing Ascochyta blight of *Cicer pinnatifidum*. *Plant Disease*, **91**, 908.
- Caten, C.E. (1987). The concept of race in plant pathology. In M.S. Wolfe and C.E. Caten (Eds.), *Populations of Plant Pathogens: Their Dynamics and Genetics* (Pp. 21-37). Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Carbone, I. ve Kohn, L.M. (1999). A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia*, **91**, 553–556.
- Chang., K.F., Hwang, S.F., Khadhair, A.H., Ahmed, H.U., Strelkov, S.E., Deyholos, M., Turnbull, G.D., Feng, J. (2008). Molecular diversity of *Ascochyta rabiei* isolates from chickpea in Alberta, Canada. *Plant Pathology Journal*, **7**, 20-26.
- Chaube, H.S. ve Mishra, T.K. (1992). Plant Diseases of International Importance. In U.S. Singh, A.N. Muchopadhyay, J. Kumar, H.S. Chaube (Eds.), *Ascochyta blight of chickpea* (Pp. 455-464). Eaglewood Cliffs, NJ: Prentice Hall.
- Chen W., Coyne C.J., Peever T.L., Muehlbauer F.J. (2004). Characterization of chickpea differentials for pathogenicity assay of *Ascochyta* blight and identification of chickpea accessions resistant to *Didymella rabiei*. *Plant pathology*, **53**, 759-769.
- Cho, S., Chen, W., Muehlbauer, F.J. (2004). Pathotype specific genetic factors in chickpea (*Cicer arietinum* L.) for quantitative resistance to *Ascochyta* blight. *Theoretical and Applied Genetics*, **109**, 733-739.

- Chongo, G, Buchwaldt, L., Anderson, K. Gossen, B. (2000). Sakatchewan chickpea disease survey-1999. *Canadian Plant Disease Survey*, **80**, 86-87.
- Chongo, G, Gossen, B., Buchwaldt, L., Adhikari, T., Rimmer, S.R. (2004). Genetic diversity of *Ascochyta rabiei* in Canada. *Plant Disease*, **88**, 4-10.
- Collard, B.Y.C., Ades, P.K., Pang, E.C.K., Brouwer, J.B., Taylor, P.W.J. (2001). Prospecting for sources of resistance to *Ascochyta* blight in wild *Cicer* species. *Australian Plant Pathology*, **30**, 271-276.
- Collard, B.Y.C., Pang, E.C.K., Taylor, P.W.J. (2003). Selection of wild *Cicer* accessions for the generation of mapping populations segregating for resistance to *Ascochyta* blight. *Euphytica*, **130**, 1-9.
- Corander, J., Waldmann, P., Sillanpaa, M.J. (2003). Bayesian analysis of genetic differentiation between populations. *Genetics*, **163**, 367-374.
- Couch, B.C., Fudal, I., Lebrun, M.H., Tharreau, D., Valent, B., van Kim, P., Notteghem, J.L., Kohn, L.M. (2005). Origins of host-specific populations of the blast pathogen *Magnaporthe oryzae* in crop domestication with subsequent expansion of pandemic clones on rice and weeds of rice. *Genetics*, **170**, 613-630.
- Dawson, K.J. ve Belkhir, K. (2001). A Bayesian approach to the identification of panmictic populations and the assignment of individuals. *Genetical Research*, **78**, 59-77.
- Dettman, J.R., Anderson, J.B. Kohn L.M. (2008). Divergent adaptation promotes reproductive isolation among experimental populations of the filamentous fungus *Neurospora*. *BMC Evolutionary Biology*, **8**, doi:10.1186/1471-2148-8-35.
- Dinoor, A. ve Eshed, N. (1987). The analysis of host and pathogen populations in natural ecosystems. In M.S. Wolfe and C.E. Caten (Eds.), *Populations of Plant Pathogens: Their Dynamics and Genetics* (Pp. 75-88). Blackwell Scientific Publications, Oxford,
- Dinoor, A. ve Eshed, N. (1984). The Role and Importance of Pathogens in Natural Plant Communities. *Annual Review of Phytopathology*, **22**, 443-466.
- Dolar, F.S. ve Gürcan, A. (1992). Pathogenic variability and race appearance of *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. in Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology*, **21**, 61-65.

- Dutech, C., Enjalbert, J., Fournier, E., Delmotte, F., Barres, B., Carlier, J., Tharreau, D., Giraud, T. (2007). Challenges of microsatellite isolation in fungi. *Fungal Genetics and Biology*, **44**, 933–949.
- Dusunçeli, F., Meyveci, K., Cetin, L., Avci, M., Surek, D., Albustan, S., Mert, Z., Akan, K, Karacam, M., Strange, R.N. (2007). Determination of agronomic practices for the management of blight of chickpea caused by *Ascochyta rabiei* in Turkey: 1. Appropriate sowing date. *European Journal of Plant Pathology*, **119**, 449-456.
- Edwards, S.V. ve Beerli, P. (2000). Perspective: gene divergence, population divergence, and the variance in coalescence time in phylogeographic studies. *Evolution*, **54**, 1839-1854.
- Excoffier, L. (2001). Analysis of population subdivision. In D. Balding, M. Bishop, C. Cannings, (Eds.), *Handbook of Statistical Genetics* (Pp. 271-308). Wiley, Chichester: UK.
- Falconer, D.S. ve Mackay, T.F.C. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics* (Pp. 464). Longman, England.
- FAO (2007). <http://faostat.fao.org>
- Fatehi, J., Bridge, P.D., Punithalingam, E. (2003). Molecular relatedness within the "*Ascochyta pinodes*-complex". *Mycopathologia*, **156**, 317-327.
- Felstein J. (1989). PHYLIP-Phylogeny Inference Package, version 3.2. *Cladistics*, **5**, 164-166.
- Fernstrom, M.H. ve Fernstrom, J.D. (1995). Brain tryptophan concentrations and serotonin synthesis remain responsive to food-consumption after the ingestion of sequential meals. *American Journal of Clinical Nutrition*, **61**, 312-319.
- Fischer, C., Porta-Puglia, A., Barz, W. (1995). RAPD analysis of pathogenic variability in *Ascochyta rabiei*. *Journal of Phytopathology*, **143**, 601-607.
- Flandez-Galvez, H., Ades, P.K., Ford, R., Pang, E.C.K., Taylor, P.W.J. (2003). QTL analysis for *Ascochyta* blight resistance in intraspecific population of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, **107**, 1257-1265.
- Flier, W.G., Grünwald, N.J., Kroon, L.P.N.M., Sturbaum, A.K., van den Bosch, T.B.M., Garay-Serrano, E., Lozoya-Saldana, H., Fry, W.E., Turkensteen, L.J. (2003).

The population structure of *Phytophthora infestans* from the Toluca valley in central Mexico suggests genetic differentiation between populations from cultivated potato and wild *Solanum* species. *Phytopathology*, **93**, 382-90.

Frenkel, O., Shtienberg, D., Abbo, S., Sherman, A. (2007). The sympatric *Ascochyta* complex of wild *Cicer judaicum* and domesticated chickpea. *Plant Pathology*, **56**, 464-471.

Frenkel, O., Sherman, A., Abbo, S., Shtienberg, D. (2008). Differential aggressiveness among *Didymella rabiei* isolates from domesticated chickpea and its sympatric wild relative *Cicer judaicum*. *Phytopathology*, **98**, 600-608.

Frenkel O, 2008. *Ecological, epidemiological and genetic characterization of fungi causing Ascochyta blight in wild and domesticated Cicer spp.* Rehovot, Israel: Hebrew University of Jerusalem, PhD thesis.

Frenkel, O., Peever, T. L., Chilvers, M., Ozkilinc, H., Can, C., Abbo, S., Shtienberg, D., Sherman A. (2010). Ecological genetic divergence of the fungal pathogen *Didymella rabiei* on sympatric wild and domesticated *Cicer* spp (Chickpea). *Applied and Environmental Microbiology*, **76**, 30-39.

Fry, W.E. ve Spielman, L.J. (1991). Population biology. In D.S. Ingram and P.H. Williams (Eds.), *Phytophthora infestans, The Cause of Late Blight of Potato* (Pp. 171–92). Academic Press: New York.

Fry, W.E., Goodwin, S.B., Matuszak, J.M., Spielman, L.J., Milgroom, M.G., Drenth, A. (1992). Population genetics and intercontinental migrations of *Phytophthora infestans*. *Annual Review of Phytopathology*, **30**, 107-130.

Fry, W.E., Goodwin, S.B., Dyer, A.T., Matuszak, J.M., Drenth, A., Tooley, P.W., Sujkowski, L.S., Koh, Y.J., Cohen, B.A., Spielman, L.J., Deahl, K.L., Inglis, D.A., Sandlan, K.P. (1993). Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*: chronology, pathways, and implications. *Plant Disease*, **77**, 653–61.

Galloway, J. ve MacLeod, W.J. (2003). *Didymella rabiei*, the teleomorph of *Ascochyta rabiei*, found on chickpea stubble in Western Australia. *Australasian Plant Pathology*, **32**, 127-128.

Gan, Y.T., Siddique, K.H.M., MacLeod, W.J., Jayakumar, P. (2006). Management options for minimizing the damage by *Ascochyta* blight (*Ascochyta rabiei*) in

- chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Field Crops Research*, **97**, 121-134.
- Gandon, S., Capowiez, Y., Dubois, Y., Michalakis, Y., Oliveri, I. (1996). Local adaptation and gene-for-gene coevolution in a metapopulation model. *Proceedings: Biological Sciences*, **263**, 1003–1009.
- Gandon, S., Ebert, D., Olivieri, I., Michalakis, Y. (1998). Differential adaptation in spatially heterogeneous environments and host-parasite coevolution. In S. Mopper, S.Y. Strauss (Eds.), *Genetic Structure and Local Adaptation in Natural Insect Population* (Pp. 325-342). Chapman and Hall, New York.
- Gandon, S. ve Michalakis, Y. (2002). Local adaptation, evolutionary potential and host-parasite coevolution: interactions between migration, mutation, population size and generation time. *Journal of Evolutionary Biology*, **15**, 451-462.
- Garry, G., Forbes, G.A., Salas, A., Santa Cruz, M., Perezand, W.G., Nelson, R.J. (2005). Genetic diversity and host differentiation among isolates of *Phytophthora infestans* from cultivated potato and wild solanaceous hosts in Peru. *Plant Pathology*, **54**, 740-748.
- Geistlinger, J., Weising, W., Kaiser, W.J. and Kahl, G. (1997). Allelic variation at a hypervariable compound microsatellite locus in the ascomycete *Ascochyta rabiei*. *Molecular and General Genetics*, **256**, 298-305.
- Geistlinger, J., Weising, K., Winter, P., Kahl, G. (2000). Locus-specific microsatellite markers for the fungal chickpea pathogen *Didymella rabiei* (anamorph) *Ascochyta rabiei*. *Molecular Ecology*, **9**, 1939–1941.
- Gilbert, G.S. (2002). Evolutionary ecology of plant diseases in natural ecosystems. *Annual Review of Phytopathology*, **40**, 13-43.
- Gomez-Alpizar, L., Carbone, I., Ristaino, J.B. (2007). An Andean origin of *Phytophthora infestans* inferred from mitochondrial and nuclear gene genealogies. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*, **91**, 11591-11595.
- Goodwin, S.B., Drenth, A., Fry, W.E. (1992). Cloning and genetic analyses of two highly polymorphic, moderately repetitive nuclear DNAs from *Phytophthora infestans*. *Current Genetics*, **22**, 107–15.

Goodwin, S.B, Dunkle, L.D., Zismann, V.L. (2001). Phylogenetic analysis of *Cercospora* and *Mycosphaerella* based on the internal transcribed spacer region of ribosomal DNA. *Phytopathology*, **91**, 648-658.

Gopher, A., Abbo, S., Lev-Yadun, S. (2001). The ‘when’, the ‘where’ and the ‘why’ of the Neolithic revolution in the Levant. *Documenta Praehistorica*, **28**, 49-62.

Gossen, B.D., Sheard, J.W., Beauchamp, C.J., Morrall, R.A.A. (1986). *Ascochyta lentis* renamed *Ascochyta fabae* f.sp. *lentis*. *Canadian journal of plant pathology*, **8**, 154-160.

Gossen, B.D. ve Moral, R.A.A. (1983). Effect of *Ascochyta* blight on seed yield and quality of lentils. *Canadian journal of plant pathology*, **5**, 168-173.

Grünwald, N.J., Flier, W.G., Sturbaum, A.K., Garay-Serrano, E., van den Bosch, T.B.M., Smart, C.D., Matuszak, J.M., Lozoya-Saldana, H., Turkensteen, L.J., Fry, W.E. (2001). Population structure of *Phytophthora infestans* in the Toluca valley region of Central Mexico. *Phytopathology*, **91**, 882–90.

Hamza, S., Samir, S., Rebai, A., Salah, R., Kahl, G., Moncef, H. (2000). Pathotype variation of the representative genotypes of *Ascochyta rabiei* in the Beja region. *Journal of Plant Pathology*, **82**, 23–8.

Harlan, J.R. (1976). Disease as a factor in plant evolution. *Annual Review of Phytopathology*, **14**, 35-51.

Harware, M.P., Varayana, R.J., Pundir, R.P.S. (1992). Evaluation of wild *Cicer* species for resistance to four chickpea disease. *International Chickpea Newsletter*, **27**, 16-18.

Hemati, R., Javan-Nikkhah, M., Linde, C.C. (2009). Population genetic structure of *Sclerotinia sclerotiorum* on canola in Iran. *European Journal of Plant Pathology*, **125**, 617-628.

Hernandez-Bello, M.A. Chilvers, M.I., Akamatsu, H., Peever, T.L. (2006). Host specificity of *Ascochyta* spp. infecting legumes of the *Vicieae* and *Cicereae* tribes and pathogenicity of an interspecific hybrid. *Phytopathology*, **96**, 1148-1156.

<http://www.mycobank.org>

<http://www.itouchmap.com/latlong.html>

- Holland, J.B., Nyquist, W.E., Cervantes-Martinez, C.T. (2003). Estimating and interpreting heritability for plant breeding : an update. In J. Janick (Ed.), *Plant Breeding Reviews* (Pp. 9-108). John Wiley and Sons, New Jersey.
- Holsinger, K.E. (1999). Analysis of genetic diversity in geographically structured populations: a Bayesian perspective. *Hereditas*, **130**, 245-255.
- Höhl, B., Pfautsch, M., Barz, W. (1990). Histology of diseases development in resistant and susceptible cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L.) inoculated with spores of *Ascochyta rabiei*. *Journal of Phytopathology*, **129**, 31-45.
- Hutchinson, G.E. (1959). Homage to Santa Rosalia or why are there so many kinds of animals? *American Naturalist*, **93**, 145–159.
- Iqbal, S.M., Ghafoor, A., Ayub, N., Ahmad, Z. (2004). Pathogenic diversity in *Ascochyta rabiei* isolates collected from Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, **36**, 429–37.
- Imtiaz, M., Malhotra, R.S., Ahmed, S., Khalifeh, A., van Ginkel, M., Kabbabeh, S. (2009). Phenotypic and molecular characterization of chickpeas for sources of resistance to *Ascochyta* blight. *Second International Ascochyta Workshop (Host Resistance session)* (Pp., 51), Pulman/U.S.A.
- Isenegger, D.A., Macleod, W.J., Ford, R., Taylor, P.W.J. (2008). Genotypic diversity and migration of clonal lineages of *Botrytis cinerea* from chickpea fields of Bangladesh inferred by microsatellite markers. *Plant Pathology*, **57**, 967-973.
- İlarslan, H. ve Dolar, F.S. (2002). Histological and ultrastructural changes in leaves and stems of resistant and susceptible chickpea cultivars to *Ascochyta rabiei*. *Journal of Phytopathology*, **150**, 340-348.
- Jamil, F.F., Sarwar, N., Sarwar, M., Khan, J.A., Geistlinger, J., Kahl, G. (2000). Genetics and pathological diversity within *Ascochyta rabiei* (Pass.) laboratory populations in Pakistan causing blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **57**, 243-54.
- Jan, H. ve Wiese, M.V. (1991). Virulence forms of *Ascochyta rabiei* affecting chickpea in the Palouse. *Plant Disease*, **75**, 904–6.
- Jarne, P. ve Lagoda, P.J.L. (1996). Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecoogy and. Evoution*, **11**, 424–429.

- Kaiser, W.J. (1973). Factors affecting growth, sporulation, pathogenicity and survival of *Ascochyta rabiei*. *Mycologia*, **65**, 444-457.
- Kaiser, W.J. (1981). Workshop on Ascochyta Blight and the Winter Sowing of Chickpeas. In M.C. Saxena and K.B. Sing (Eds.), *Control of ascochyta blight of chickpea through clean seed* (Pp. 117-122). Nijhoff-Junk: Aleppo, Syria.
- Kaiser, W.J. (1987). Testing and production of healthy plant germplasm. *Technical Bulletin of the Institute of Seed Pathology for Developing Countries, Copenhagen*, **2**, 30.
- Kaiser, W.J. ve Hannan, R.M. (1988). Seed transmission of *Ascochyta rabiei* in chickpea and its control by seed treatment fungicides. *Seed Science and Technology*, **16**, 625-637.
- Kaiser, W.J. (1991). Host ranges studies with the Ascochyta blight pathogen of chickpea. *International Chickpea Newsletter*, **25**, 25-27.
- Kaiser, W.J. (1997). Inter and intranational spread of Ascochyta pathogens of chickpea, faba bean and lentil. *Canadian Journal of Plant Pathology*. **19**, 215-224.
- Kaiser, W.J., Wang, B.C., Rogers, J.D. (1997). *Ascochyta fabae* and *A. lentis*: Host specificity, teleomorphs (*Didymella*), hybrid analysis and taxonomic status. *Plant Disease*, **81**, 809-816.
- Kaiser, W.J. ve Kusmenoglu, I. (1997). Distribution of mating types and the teleomorph of *Ascochyta rabiei* on chickpea in Turkey. *Plant Disease*, **81**, 1284–1287.
- Kaiser, W.J., Hannan, R.M., Muehlbauer, F.J. (1998). First report of Ascochyta blight of *Cicer monbretii*, a wild perennial chickpea in Bulgaria. *Plant Disease*, **82**, 830.
- Kaltz, O. ve Shykoff, J.A. (1998). Local adaptation in host-parasite systems. *Heredity*, **81**, 361-370.
- Kawecki, T.J. ve Ebert, D. (2004). Conceptual issues in local adaptation. *Ecological Letters*, **7**, 1225-41.
- Kerem, Z., Lev-Yadun, S., Gopher, A., Weingberg, P., Abbo, S. (2007). Chickpea domestication in the Neolithic Levant through the nutritional perspective. *Journal of*

Archaeological Science, **34**, 1289-1293.

Khan, M.S.A., Ramsey, M.D., Scott, E.S. (1999a). Host range studies with an Australian isolate of *Ascochyta rabiei*. *Australian Phytopathology*, **28**, 170-173.

Khan, M.S.A., Ramsey, M.D., Corbiere, R., Infantino, A., Porta-Puglia, A., Bouznad, Z., Scoot, E.S. (1999b). Ascochyta blight of chickpea in Australia: Identification, pathogenicity and mating type: *Plant Pathology*, **48**, 230-234.

Khune, N.N. ve Kapoor, J.N. (1980). *Ascochyta rabiei* synonymous with *Phoma rabiei*. *Indian Phytopathology*, **33**, 119-120.

Kılıçoğlu, M.Ç. ve Özkoç, İ. (2008). Fungal Sistematikte Moleküler Gelişmeler. *OMU Ziraat Fakültesi Dergisi*, **23**, 65-72.

Kitada, S., Hayashi T., Kishino, H. (2000). Empirical Bayes procedure for estimating genetic distance between populations and effective population size. *Genetics*, **156**, 2063-2079.

Kohn, L. (2005). Mechanisms of Fungal Speciation. *Annual Review of Phytopathology*, **43**, 279-308.

Kolmer, J.A. ve Leonard, K.J. (1986). Genetic selection and adaptation of *Cochliobolus heterostrophus* to corn hosts with partial resistance. *Phytopathology*, **76**, 774-7.

Kovachevski, I.C. (1936). The blight of chickpea (*Cicer arietinum*), *Mycosphaerella rabiei* f.sp. *Review of Applied Mycology*, **15**, 700.

Köhler, G., Linkert, C., Barz, W. (1995). Infection studies of *Cicer arietinum* (L.) with gus (*E. coli* beta-glucuronidase) transformed *Ascochyta rabiei* strains. *Journal of Phytopathology*, **143**, 589-595.

Kubisak, T.L., Roberds, J.H., Spaine, P.C., Doudrick, R.L. (2004). Microsatellite DNA suggest regional structure in the fusiform rust fungus *Cronartium quercuum* f. sp. *fusiforme*. *Heredity*, **92**, 41-50.

Kumar, J., Nelson R.J., Zeigler R.S. (1999). Population structure and dynamics of *Magnaporthe grisea* in the Indian Himalayas. *Genetics*, **152**, 971-84.

Labrousse, F. (1931). Anthracnose of chickpea. *Review of Pathology and Vegetable Entomology Agriculture and Farming*. **18**, 226-231.

- Ladizinsky, G. (1975). A new *Cicer* from Turkey. *Notes of the Royal Botanic Garden Edinburgh*, **34**, 201-202.
- Ladizinsky, G., ve Adler, A. (1976a). The origin of chickpea *Cicer arietinum* L. *Euphytica*, **25**, 211-217
- Ladizinsky, G. ve Adler, A. (1976b). Genetic relationships among the annual species of *Cicer* L. *Theoretical and Applied Genetics*, **48**, 197-203.
- Ladizinsky, G. (1985). Founder effect in crop-plant evolution. *Economic Botany*, **39**, 191–199.
- Ladizinsky, G. (1995). Chickpea. In J. Smart and N.W. Simmonds (Eds). *Evolution of Crop Plants* (Pp. 258-261). Longman, London/UK.
- Laine, A.L. (2005). Spatial scale of adaptation in a plant-pathogen metapopulation. *Journal of Evolutionary Biology*, **18**, 930-38.
- Laine A.L. (2008). Temperature-mediated patterns of local adaptation in a natural plant-pathogen metapopulation. *Ecology Letters*, **11**, 327-337.
- Lehman, J.S. ve Shaner, G. (2007). Heritability of latent period estimated from wild-type and selected populations of *Puccinia triticina*. *Phytopathology*, **97**, 1022-1029.
- Lehman, J.S. ve Oudemans, P.V. (2000). Variation and heritability of phenology in the fungus *Monilinia vaccinii-corymbosi* on blueberry. *Phytopathology*, **90**, 390-385.
- Leppik, E.E. (1970). Gene centers of plants as sources of disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*, **8**, 323-344.
- Lev-Yadun, S., Gopher, A., Abbo, S. (2000). The cradle of agriculture. *Science*, **288**, 1602-1603.
- Lichtenzveig, J., Winter, P., Abbo, S., Shtienberg, D., Kaiser, W.J., Kahl, G. (2002). Towards the first linkage map of the *Didymella rabiei* genome. *Phytoparasitica*, **30**, 467-472.
- Lichtenzveig, J., Gamliel, E., Frenkel, O., Michaelido, S., Abbo, S., Sherman, A., Shtienberg, D. (2005). Distribution of mating types and diversity in virulence of *Didymella rabiei* in Israel. *European Journal of Plant Pathology*, **113**, 15–24.

- Lichtenzveig, J., Bonfil, D.J., Zhang, H.B., Shtienberg, D., Abbo, S. (2006). Mapping quantitative trait loci affecting time to flowering and response to *Ascochyta* blight in chickpea. *Theoretical and Applied Genetics*, **113**, 1357-1369.
- Liu, K. ve Muse, S.V. (2005). PowerMarker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, **21**, 2128-2129.
- Maden, S., Singh, D., Mathur, S.B., Neergard, P. (1975). Detection and location of seedborne inoculum of *Ascochyta rabiei* and its transmission in Chickpea (*Cicer arietinum*). *Seed Science and Technology*, **3**, 667–681.
- Matsuoka, Y., Vigouroux, Y., Goodman, M.M., Sanchez, G.J., Buckler, E., Doebley, J. (2002). A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**, 6080-6084.
- McDermott, J.M. ve McDonald, B.A. (1993). Gene Flow in Plant Pathosystems. *Annual Review of Phytopathology*, **31**, 353-373.
- McDonald, B.A. (1997). The population genetics of fungi: tools and techniques. *Phytopathology*, **87**, 448-453.
- McDonald, B.A. ve Linde, C. (2002). Pathogen population genetics, evolutionary potential and durable resistance. *Annual review of phytopathology*, **40**, 349-79.
- McDonald, B.A. (2004). Population genetics of plant pathogens. *The Plant Health Instructor*, Education Center of APSnet, DOI:10.1094/PHI-A-2004-0524-01.
- Michalakis, Y. ve Excoffier, L. (1996). A generic estimation of population subdivision using distances between alleles with special references for microsatellite loci. *Genetics*, **142**, 1061-1064.
- Milgroom, M.G. (1996). Recombination and the multilocus structure of fungal populations. *Annual Review of Phytopathology*, **34**, 475-477.
- Milgroom, M.G. ve Fry, W.E. (1997). Contributions of population genetics to plant disease epidemiology and management. *Advances in Botanical Research*, **24**, 1-30.
- Milgroom, M.G. ve Peever, T.L. (2002). Population biology of plant pathogens. *Plant Disease*, **87**, 608-617.

- Morall, R.A.A. (1997). Evolution of lentil diseases over 25 years in western Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*, **19**, 197-207.
- Morjane, H., Geistlinger, J., Harrabi, M., Weising, K., Kahl, G. (1994). Oligonucleotide fingerprinting detects genetic diversity among *Ascochyta rabiei* isolates from a single chickpea field in Tunisia. *Current Genetics*, **26**, 191-197.
- Muehlbauer, F.J. ve Singh K.B. (1987). The chickpea. In M.C. Saxena, K.B. Singh (Eds.), *Genetics of chickpea* (Pp. 99–125). CAB International, Oxfordshire.
- Muehlbauer, F.J. ve Kaiser, W.J. (1994). Using host plant resistance to manage biotic stresses in cool season grain legumes. *Euphytica*, **73**, 1-10.
- Muehlbauer, F.J. ve Chen W. (2007). Resistance to ascochyta blights of cool season food legumes. *European Journal of Plant Pathology*, **119**, 135-141.
- Muller, E. ve von Arx, J.A. (1962). Kryptogamenfl. *Die gattungen der didymosporen Pyrenomyceten*. *Bietr. Schweiz*. **11**, 1-922.
- Mundt, C.C., Nieva, L.P., Vera Cruz, C.M. (2002). Variation for aggressiveness within and between lineages of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plant Pathology*, **51**, 163–8.
- Munkacsi, A.B., Stoxen, S., May, G. (2007). Domestication of maize, sorghum, and sugarcane did not drive the divergence of their smut pathogens. *Evolution*, **61**, 388-403.
- Munkacsi, A.B., Stoxen, S., May, G. (2008). *Ustilago maydis* populations tracked maize through domestication and cultivation in the Americas. *Proceeding the Royal Society of British*, **275**, 1037-1046.
- Navas-Cortes, J.A., Perez-Artes, E., Jimenez-Diaz, R.M., Llobell, A., Bainbridge, B.W., Heale, J.B. (1998). Mating type, pathotype and RAPDs analysis in *Didymella rabiei*, the agent of ascochyta blight of chickpea. *Phytoparasitica*, **26**, 199-212.
- Nei M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*, **70**, 3321-3.
- Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**, 583-90.
- Nene, Y.L. (1981). A review of Ascochyta blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.).

In M.C. Saxena and K.B. Singh (Eds.). *Ascochyta blight and Winter Sowing of Chickpeas*. (Pp. 17-32). Nijhoff and Junk Publishers, The Netherlands.

Nene, Y.L. (1984). The chickpea. In M.C. Saxena and K.B. Singh (Eds.), *A review of ascochyta blight of chickpea (Cicer arietinum L.)* (Pp. 223-270). CAB International, Oxfordshire.

Nene, Y.L. ve Reddy, M. (1987). The chickpea. In M.C. Saxena, K.B. Singh (Eds.), *Chickpea diseases and their control* (Pp. 233-270). CAB International, Oxfordshire.

Nene, Y.L., Hanounik, S.B., Qureshi, S.H., Sen, B. (1988). Fungal and bacterial foliar diseases of pea, lentil, faba bean and chickpea. In R.J. Summerfield (Ed.), *World crops: Cool Season food legumes* (Pp. 577-579). Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Netherlands.

Özkılınç, H. (2006). *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. izolatlarının moleküler karakterizasyonları. Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi, Gaziantep.

Page RDM. (1996). TreeView: an application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences*, **12**, 357–358.

Pande, S., Siddique, K.H.M., Kishore, G.K., Bayaa, B., Gaur, P.M., Gowda. C.L.L., Bretag, T., Crouch, J.H. (2005). *Ascochyta blight of chickpea biology, pathogenicity, disease management*. *Australian Journal of Agricultural Research*, **56**, 317-322.

Pande, S., Sharma, M., Kaur, L., Basandrai, A.K., Gaur, P.M., Khan, T., Siddique, K.H.M., Gowda, C.L.L. (2009). Development of screening techniques and identification of new sources of resistance to *Ascochyta blight* disease of chickpea. *Second International Ascochyta Workshop (Epidemiology Session)*, (Pp. 61), Pulman/U.S.A.

Pariaud, B., Ravigne, V., Halkett, F., Goyeau, H., Carlier, J., Lannou, C. (2009). Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens. *Plant Pathology*, **58**, 409-424.

Peakall, R., Smouse, P.E. (2006). GENEALEX 6: genetic analysis in Excell. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, **6**, 288-295.

Peever, T.L. (2007). Role of host specificity in the speciation of *Ascochyta* pathogen of cool season food legumes. *European Journal of Plant Pathology*, **119**, 119-126.

- Peever, T.L., Barve, M.P., Stone, L.J., Kaiser, W.J. (2007). Evolutionary relationships among *Ascochyta* species infecting wild and cultivated hosts in the legume tribes *Cicereae* and *Vicieae*. *Mycologia*, **99**, 59-77.
- Peever, T.L., Salimath, S.S., Su, G., Kaiser, W.J., Muehlbauer, F.J. (2004). Historical and contemporary multilocus population structure of *Ascochyta rabiei* (teleomorph: *Didymella rabiei*) in the Pacific Northwest of the United States. *Molecular Ecology*, **13**, 291-309.
- Peever, T.L., Canihos, Y., Olsen, Y., Ibanez, A., Liu, Y.C., Timmer, L.W. (1999). Population Genetic Structure and Host Specificity of *Alternaria* spp. Causing Brown Spot of Mineola and Rough Lemon in Florida. *Phytopathology*, **89**, 851-860.
- Phan, H.T.T., Ford, R., Taylor, P.J.W. (2003). Population structure of *Ascochyta rabiei* in Australia based on STMS fingerprints. *Fungal Diversity*, **13**, 111-129.
- Porta-Puglia, A., Crino, P., Mosconi, C. (1996). Variability in virulence to chickpea of an Italian population of *Ascochyta rabiei*. *Plant Disease*, **80**, 39-41.
- Prichard, J.K., Stephans, M., Donnelly P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155**, 945-959.
- Reddy, M.V. ve Sing, K.B. (1984). Evaluation of a world collection of chickpea germplasm accessions for resistance to *Ascochyta* blight. *Plant Disease*, **65**, 586-587.
- Reddy, M.V. ve Kabbabeh, S. (1985). Pathogenic variability in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab. in Syria and Lebanon. *Phytopathologica Mediterranea*, **24**, 265-266.
- Reddy, M.V. ve Sing, K.B. (1990). Relationship between *ascochyta* blight severity and yield lossing chickpea and identification of resistant lines. *Phytopathology Mediterrean*, **29**, 32-38.
- Redman, C.L. (1978). *The Rise of Civilization: Early Farmers To Early Urban Society In The Ancient Near East*. Freeman, San Fransisco.
- Rehner, S. A. ve Buckley, E. (2005). A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- α sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia*, **97**, 84-98.

- Rhaim, A., Cherif, M., Peever, T.L., Dyer, P.S. (2008). Population structure and mating system of *Ascochyta rabiei* in Tunisia: Evidence for the recent introduction of mating type 2. *Plant Pathology*, **57**, 540-51.
- Roger, A.J., Sandblom, O., Doolittle, W.F., Philippe, H. (1999). An evaluation of Elongation Factor 1- α as a phylogenetic marker for eukaryotes. *Molecular Biology and Evolution*, **16**, 218-233.
- Salamini, F., Ozkan, H., Brandolini, A., Schafer-Pregl, R., Martin, W. (2002). Genetics and geography of wild cereal domestication in the Near East. *Nature Reviews of Genetics*, **3**, 429-441.
- Santra, D.K., Tekeoglu, M., Ratnaparkhe, M., Kaiser, W.J., Muehlbauer, F. J. (2000). Identification and mapping of QTLs conferring resistance to ascochyta blight in chickpea. *Crop Science*, **40**, 1606-1612.
- Santra, D.K., Singh, G., Kaiser, W.J., Gupta, V.S., Ranjekar, P.K., Muehlbauer, F.J. (2001). Molecular analysis of *Ascochyta rabiei* (Pass) Labr., the pathogen of ascochyta blight in chickpea. *Theoretical Applied Genetics*, **102**, 676-682.
- Saxena, M.C. (1984). Agronomic studies on winter chickpeas. In M.C. Saxena, K.B. Singh (Eds.). *Ascochyta blight and Winter Sowing of Chickpeas* (Pp. 123-137). Nijhoff and Junk Publishers: The Netherlands.
- Schuelke, M. (2000). An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology*, **16**, 233-234.
- Shah, T.M., Mirza, J.I., Manzoor Atta, B.R., Ali, H., Sarwar Alam, S., Ahsanul Haq, M. (2009). Induced mutations for *Ascochyta* blight resistance in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Second International Ascochyta Workshop (Molecular Biology Session)*, (Pp. 44). Pulman/U.S.A.
- Sharma, P.D. (2004). *Principals of Plant Pathology* (Pp. 1-39). Rastogi Publicsitons, New Delhi, India.
- Shtienberg, D., Vintal, H., Nitzani, Y., Brener, S., Retig, B. (1998). The perfect stage of *Ascochyta* blight (*Didymella rabiei*): a new threat to chickpea production in Israel? *Phytoparasitica*, **26**, 157.

- Shtienberg D., Vintal, H., Brener, S., Retig, B. (2000). Rational management of *Didymella rabiei* in chickpea by integration of genotype resistance and postinfection application of fungicides. *Phytopathology* **90**, 834-42.
- Sicard, D., Pennings, P.S, Grandclement, C., Acosta, J., Kaltz, O., Shykoff, S.J. (2007). Specialization and local adaptation of a fungal parasite on two host plant species as revealed by two fitness traits. *Evolution*, **61**, 27-41.
- Singh, G., (1990). Identification and designation of physiologic races of *Ascochyta rabiei* in India. *Indian Phytopathology*, **43**, 48–52.
- Singh, K.B. ve Reddy, M.V. (1993). Resistance to six races of *Ascochyta rabiei* in the world germplasm collection of chickpea. *Crop Science*, **33**, 186-189.
- Singh, R. ve Pal, M. (1993). Pathogenic variability in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. causing chickpea blight. *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology*, **23**, 51–7.
- Singh, K.B. ve Reddy, M.V. (1994). Registration of 8 *Ascochyta* blight-resistant, early-maturing, large-seeded chickpea germplasms. *Crop Science*, **34**, 1416–1417.
- Singh, K.B., Malhotra, R.S., Halia, M.H., Knights, E.J., Verma, M.M. (1994). Current status and future strategy in breeding chickpea for resistance to biotic and abiotic stresses. *Euphytica*, **73**, 137-149.
- Singh, K.B., Malhotra, R.S., Saxena, M.C., Bejiga, G. (1997a). Superiority of winter sowing over traditional spring sowing of chickpea in the mediterranean region. *Agronomy Journal*, **89**, 112-118.
- Singh, P.J., Pal, M., Prakash, N. (1997b). Ultrastructural studies of conidiogenesis of *Ascochyta rabiei*, the casual organism of chickpea blight. *Phytoparasitica*, **25**, 291-304.
- Slatkin, M. ve Barton, N.H. (1989). A comparison of three indirect methods for estimating average level of gene flow. *Evolution* **43**, 1349-68.
- Smith, B. D. (1995). *The Emergence of Agriculture*. New York: Scientific American Library.
- Sprague, R. (1930), Notes on *Phyllosticta rabiei* on chickpea. *Phytopathology*, **20**, 591-593.

- Stukenbrock, E.H., Banke, S., McDonald, B.A. (2006). Global migration patterns in the fungal wheat pathogen *Phaeosporaria nodorum*. *Molecular Ecology*, **15**, 2895-904.
- Stukenbrock, E.H., Banke, S., Javan-Nikkhah, M., McDonald, B.A. (2007). Origin and domestication of the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* via sympatric speciation. *Molecular Biology and Evolution*, **24**, 398-411.
- Stukenbrock, E.H. ve McDonald, B.A. (2008). The origins of plant pathogens in agro-ecosystems. *Annual Review of Phytopathology*, **46**, 75-100.
- Su, H., Hwang, S.F., Chang, R.L., Conner, R.J., Howard, R.J., Turnbull, G.D. (2006). Variation in virulence and genome of *Mycosphaerella pinodes* from field peas in central Alberta, Canada. *Journal of Plant Diseases and Protection*, **113**, 53-60.
- Tanno, K. ve Willcox, G. (2006). The origins of cultivation of *Cicer arietinum* L. and *Vicia faba* L.: early finds from Tell el-Kerkh, north-west Syria, late 10th millennium B. P. *Vegetation History and Archaeobotany*, **15**, 197-204.
- Tekeoglu, M., Santra, D.K., Kaiser, W.J., Muehlbauer, F.J. (2000). Ascochyta blight resistance in three chickpea recombinant inbred line populations. *Crop Science*, **40**, 1251-1256.
- Tenzer, I., degli Ivanissevich, S., Morgante, M., Gessler, C. (1999). Identification of microsatellite markers and their application to population genetics of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*, **89**, 748-753.
- Thrall, P.H., Burdon, J.J., Bever, J.D. (2002). Local adaptation in the *Linum marginale*-*Melampsora lini* host-pathogen interaction. *Evolution*, **56**, 1340-1351.
- Thrall, P.H., Baret, G., Burdon, J.J., Alexander, H.M. (2005). Variation in pathogen aggressiveness within a metapopulation of the *Cakile maritima*-*Alternaria brassicola* host-pathogen association. *Plant Pathology*, **54**, 265-274.
- Tivoli, B., Baranger, A., Avila, C. M., Banniza, S., Barbetti, M., Chen, W., Davidson, J., Lindeck, K., Kharrat, M., Rubiales, D., Sadiki, M., Sillero, J. C., Sweetingham, M., & Muehlbauer, F. J. (2006). Screening techniques and sources of resistance to foliar diseases caused by major necrotrophic fungi in grain legumes.

Euphytica Special Issue: Resistance to Biotic and Abiotic Stresses in Legumes, **147**, 223–253.

Tivoli, B. ve Banniza, S. (2007). Comparison of the epidemiology of ascochyta blights on grain legumes. *European Journal of Plant Pathology*, **119**, 59-76.

Tivoli, B., Beasse, C., Lemarchand, E., Masson, E. (1996). Effect of Ascochyta blight (*Mycosphaerella pinodes*) on yield components of single pea (*Pisum sativum*) plants under field conditions. *Annals of Applied Biology*, **29**, 207-216.

Toker, C. ve Canci, H. (2003). Selection of chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes for resistance to Ascochyta blight (*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.), yield and yield criteria. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **27**, 277–283.

Tooley, P.W., Fry, W.E., Villareal-Gonzalez, M.J. (1985). Isozyme characterization of sexual and asexual *Phytophthora infestans* populations. *Journal of Heredity*, **76**, 431–35.

Trapero-Casas, A., Navas-Cortes, J.A., Jimenez-Diaz, R.M. (1996). Airborne ascospores of *Didymella rabiei* as a major primary inoculum for ascochyta blight epidemics in chickpea crops in southern Spain. *European Journal of Plant Pathology*, **102**, 237-45.

Trapero-Casas, A. ve Kaiser, W.J. (1992). Influence of temperature, wetness, period, plant age, and inoculum concentration on infection and development of ascochyta blight of chickpea. *Phytopathology*, **82**, 589-96.

Türkkan, M. ve Dolar, F.S. (2009). Determination of pathogenic variability of *Didymella rabiei*, the agent of Ascochyta blight of chickpea in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **33**, 585-591.

Udupa, S.M., Sharma, A., Sharma, R.P., Pai, R.A. (1993). Narrow genetic variability in *Cicer arietinum* L. as revealed by RFLP analyses. *Journal of Biochemistry and Biotechnology*, **2**, 83-86.

Udupa, S.M., Weigand, F., Saxena, M.C., Kahl, G. (1998). Genotyping with RAPD and microsatellite markers resolves pathotype diversity in the ascochyta blight of chickpea. *Theoretical Applied Genetics*, **97**, 299-307.

- Vail S. ve Banniza, S. (2008). Structure and pathogenic variability in *Ascochyta rabiei* populations on chickpea in the Canadian prairies. *Plant Pathology*, **57**, 665-673.
- van der Maesen, L.J.G. (1987). *Cicer* L. Origin, history and taxonomy of chickpea. In M.C. Saxena, and K.B. Singh (Eds.), *The Chickpea* (Pp. 11-34). C.A.B. International Cambrian News Ltd, Aberystwyth, UK.
- van der Maesen, L.J.G., Maxted, N., Javadi, F., Coles, S., Davies, A.M.R. (2005). Taxonomy of the genus *Cicer* revisited. In S.S. Yadav, R. Redden, W. Chen, B. Sharma (Eds.), *Chickpea Breeding and Management* (Pp. 14-46). CAB International, Wallingford, UK.
- Van der Plank, JE. (1963). *Plants Diseases: Epidemics and Control*. New York, USA:Academic Press.
- Vaughan, D.A., Morishima, H., Kadowaki, K. (2003). Diversity in the *Oryza* genus. *Current opinion in Plant Pathology*, **6**, 139-146.
- Vir, S. ve Grewal, J.S. (1974). Physiological specialization in *Ascochyta rabiei*, the causal organism of gram blight. *Indian Phytopathology*, **27**, 265–6.
- White, D. ve Chen, W. (2007). Towards identifying pathogenic determinants of the chickpea pathogen *Ascochyta rabiei*. *European Journal of Plant Pathology*, **119**, 3-12.
- White, D. ve Chen, W. (2009). Identifying pathogenicity determinants of *Ascochyta rabiei* via genetic complementation. *Second International Ascochyta Workshop* (Pp. 69). Pulman/U.S.A.
- White, T.J., Burns, T., Lee, S., Taylor, J. (1990). Amplication and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, T.J. White (Eds.) *PCR Protocols, a Guide to Methods and Applications* (Pp. 315-322). Academic Press, San Diego, USA.
- Wilson, D.A. ve Kaiser, W.J. (1995). Cytology and genetics of sexual incompatibility in *Didymella rabiei*, *Mycologia*, **87**, 795-804.
- Weir, B.S. (1996). *Genetic data analysis 2: Methods for Discrete Population Genetic Data*. Sinauer Associates, Sunderland.

- Weising, K., Kaemmer, D., Epplen, J., Wiegand, F., Saxena, F. and Kahl, G. (1991). DNA fingerprinting of *Ascochyta rabiei* with synthetic oligodeoxynucleotides. *Current Genetics*, **19**, 483-489.
- Wright, S. (1951). The genetical structure of populations. *Annals of Eugenetics*, **15**, 323-354.
- Wright, S. (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. *Evolution*, **19**, 395-420.
- Yang, R.C. (1998). Estimating hierarchical F-statistics. *Evolution*, **52**, 950-956.
- Zeigler, R.S. (1998). Recombination in *Magnaporthe grisea*. *Annual Review of Phytopathology*, **36**, 249-275.
- Zhan, J., Linde, C.C., Jürgens, T., Merz, U., Steinebrunner, McDonald, B.A. (2005). Variation for neutral markers is correlated with variation for quantitative traits in the plant pathogenic fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Molecular Ecology*, **14**, 2683-2693.
- Zhang, J.X., Fernando, W.G.D., Xue, A.G. (2003). Virulence and genetic variability among isolates of *Mycosphaerella pinodes*. *Plant Disease*, **87**, 1376-1383.
- Zhao, Y., Grout, B.W., Xu, X. (2006). Effects of temperature on germination and hyphal growth from conidia of *Ramularia rhei* and *Ascochyta rhei*, causing spot diseases of rhubarb (*Rheum rhaponticum*). *Plant Pathology*, **55**, 664-670.
- Zohary, D. ve Hopf, M. (2000). *Domestication of plants in the Old World*. (3rd ed.) Oxford, UK: Oxford University Press.

EKLER

Ek 1: Fungal Besi Ortam İçerikleri

CMA (Chickpea Meal Agar) (gr/lt)

30 gr Nohut Unu

20 gr Glukoz

15 gr Agar

(dH₂O ile 1 l'lik ortam hazırlanır)

PDA (Patates Dekstroz Agar) (gr/lt)

39 gr Patato Dekstroz Agar

12 gr Agar

(dH₂O ile 1 l'lik ortam hazırlanır)

2-YEG (gr/lt)

10 gr Glukoz

2 gr Yeast Extract

(dH₂O ile 1 l'lik ortam hazırlanır)

Ek 2 (a) Arazi araştırmalarının yapıldığı Türkiye’deki yörelere ait aylık ‘‘Ortalama Sıcaklık’’ (°C) verileri *

İSTASYON ADI/NO: ADANA / 17351												
Yıl/Ay	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2006	8,8	10,5	14,0	18,5	22,4	25,9	27,8	29,1	26,1	21,4	13,2	9,3
2007	8,6	11,2	14,1	16,5	23,4	26,6	29,6	29,5	26,6	23,0	15,4	10,2
2008	7,0	9,6	16,2	19,4	21,4	26,7	29,0	29,8	26,7	22,1	16,4	9,5
2009	9,3	10,5	12,5	17,4	22,1	27,2	28,3	29,2				

İSTASYON ADI/NO: KAHRAMANMARAS / 17255												
Yıl/Ay	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2006	3,8	6,8	11,7	17,0	21,8	27,3	28,5	30,2	26,2	19,2	10,3	6,8
2007	4,8	7,7	11,4	13,2	23,3	27,4	30,8	29,6	26,7	20,6	11,9	6,5
2008	3,2	5,5	14,3	18,0	20,1	27,2	29,9	30,1	25,0	19,3	13,2	6,0
2009	4,5	7,2	9,4	15,1	20,4	26,8	28,4	28,7				

İSTASYON ADI/NO: GAZİANTEP / 17261												
Yıl/Ay	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2006	2,4	5,3	9,7	14,4	19,6	26,1	26,9	29,2	23,0	17,1	9,1	4,8
2007	1,7	5,4	9,0	10,8	21,6	25,7	29,6	29,1	24,6	18,3	10,3	4,8
2008	1,7	4,8	12,4	17,3	18,8	25,7	28,8	29,6	23,5	17,0	11,2	4,7
2009	3,2	5,5	7,5	12,9	18,4	25,0	27,5	27,3				

İSTASYON ADI/NO: ADIYAMAN / 17265												
Yıl/Ay	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2006	3,6	6,6	10,8	16,6	21,8	29,1	31,0	32,5	25,5	19,4	10,3	6,5
2007	3,9	6,4	10,4	12,4	23,5	28,4	32,2	31,8	26,6	20,2	11,0	5,7
2008	2,5	5,1	13,5	18,4	20,2	27,6	31,5	32,4	25,1	19,0	12,7	5,7
2009	4,6	6,8	9,1	14,8	20,8	27,7	30,3	29,1				

İSTASYON ADI/NO: ŞANLIURFA / 17270												
Yıl/Ay	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2006	4,5	7,9	12,2	17,7	23,8	30,8	32,1	33,3	27,1	20,6	11,4	6,8
2007	4,8	7,7	11,5	13,1	25,3	30,4	33,9	32,1	28,3	21,5	12,5	6,8
2008	3,7	6,6	14,7	20,4	22,1	29,8	32,7	32,9	25,9	20,4	14,0	7,0
2009	5,7	8,0	10,0	15,8	22,7	29,6	32,0	30,6				

İSTASYON ADI/NO: DİYARBAKIR / 17280												
Yıl/Ay	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2006	0,4	4,2	9,1	14,5	19,4	28,4	31,3	32,6	25,0	17,6	7,8	0,7
2007	-5,3	2,9	8,8	10,3	20,6	27,2	31,8	31,4	25,1	18,1	8,6	2,3
2008	-2,0	1,6	11,5	16,8	18,6	27,3	31,7	31,9	24,0	16,8	10,1	2,1
2009	0,4	4,2	9,1	14,5	19,4	28,4	31,3	32,6	25,0	17,6	7,8	0,7

İSTASYON ADI/NO: MARDİN / 17275												
Yıl/Ay	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2006	2,0	5,2	9,9	14,8	20,8	28,5	29,5	32,2	25,1	18,1	8,8	4,6
2007	2,9	5,2	8,5	10,3	22,1	26,7	30,3	29,9	26,4	20,2	10,3	4,9
2008	1,4	3,6	13,4	18,5	19,1	26,6	30,9	31,1	24,7	18,6	11,7	5,0
2009	4,0	6,0	7,5	12,9	20,1	26,7	28,9	28,4				

*(Devlet Meteoroloji genel Müdürlüğü/ İstatistik Verileri, 2009)

Ek 2 (b) Arazi araştırmalarının yapıldığı Türkiye’deki yörelere ait aylık “Ortalama Yağış” (mm) verileri

İSTASYON ADI/NO: ADANA / 17351												
Yıl/Ay	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2006	36,3	131,6	46,2	9,3	19,8	4,5	41,3	-	37,4	156,3	91,5	
2007	34,1	127,0	75,7	115,4	32,0	24,8	1,2	-	0,5	18,2	83,0	125,4
2008	32,2	55,1	25,6	18,5	19,2	4,8	-	9,6	16,8	31,5	45,3	58,2
2009	145,7	130,1	135,5	34,3	28,7	-	22,7	-	-	-	-	-

İSTASYON ADI/NO: KAHRAMANMARAS / 17255												
Yıl/Ay	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2006	102,0	232,7	96,8	36,6	14,1	-	0,1	-	5,3	87,6	77,0	1,1
2007	63,1	133,6	99,9	87,8	58,9	0,7	0,1	-	-	19,1	101,7	125,6
2008	78,6	121,5	69,5	54,7	23,7	-	-	2,3	23,6	13,8	105,9	96,2
2009	107,5	221,2	158,0	82,5	43,4	3,7	6,9	0,6	-	-	-	-

İSTASYON ADI/NO: GAZİANTEP / 17261												
Yıl/Ay	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2006	93,7	162,5	77,5	60,3	2,0	-	46,0	2,1	10,3	112,8	89,5	14,5
2007	99,9	83,1	31,9	63,7	63,2	1,5	5,1	1,9		21,9	45,5	91,6
2008	84,5	44,0	22,5	3,4	17,4	-	-	1,8	54,7	19,3	33,4	57,8
2009	50,4	107,4	72,5	49,7	17,2	4,4	3,0	-	-	-	-	-

İSTASYON ADI/NO: ADIYAMAN / 17265												
Yıl/Ay	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2006	124,3	213,3	62,3	64,9	33,9	0,1	0,0	0,1	0,3	82,8	90,7	5,3
2007	97,7	98,2	88,1	63,7	14,5	4,7	0,2	0,0	0,0	40,5	54,2	137,9
2008	130,6	73,2	38,3	3,9	29,0	1,0	-	0,0	44,7	28,2	69,2	80,7
2009	89,8	172,0	130,0	22,4	17,7	1,4	3,9	3,0	-	-	-	-

İSTASYON ADI/NO: şANLIURFA / 17270												
Yıl/Ay	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2006	99,4	58,5	6,2	81,1	17,4	0,3	0,3	0,0	-	42,5	26,2	23,3
2007	57,5	93,2	56,6	49,2	8,8	0,8	8,0	3,2	-	25,9	15,4	45,6
2008	57,1	28,3	12,4	1,8	26,7	8,6	-	0,5	83,2	22,5	35,3	37,7
2009	29,8	54,5	55,3	48,8	4,7	9,2	3,2	-	-	-	-	-

İSTASYON ADI/NO: DİYARBAKIR / 17280												
Yıl/Ay	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2006	121,3	121,0	26,6	77,9	38,4	-	6,1	-	3,5	104,5	67,3	25,9
2007	44,5	79,8	55,5	88,2	45,5	19,5	0,0	0,2	-	4,7	15,7	43,5
2008	25,0	40,8	17,3	19,0	34,9	2,2	-	2,0	68,2	59,2	50,5	52,2
2009	121,3	121,0	26,6	77,9	38,4	-	6,1	-	3,5	104,5	67,3	25,9

İSTASYON ADI/NO: MARDİN / 17275												
Yıl/Ay	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2006	215,0	161,6	39,9	102,5	61,8	-	1,6	-	-	114,8	46,3	19,7
2007	42,9	80,3	104,4	114,5	45,4	2,4	31,0	-	0,0	10,3	16,8	20,9
2008	35,5	40,8	31,4	16,1	18,2	0,3	-	6,3	15,5	24,4	15,3	43,8
2009	11,9	61,8	58,7	31,6	1,3	10,4	1,7	-	-	-	-	-

*(Devlet Meteoroloji genel Müdürlüğü/ İstatistik Verileri, 2009)

Ek 3: *D. rabiei* izolatlarının *EF1- α* , *G3PD*, *CHS* ve *ITS* gen bölgelerinin kısmi baz dizimleri

CP1, CP2 ve CP3: *C. pinnatifidum*'dan elde edilen izolatlar

CJ1, CJ2 ve CJ3: *C. judaicum*'dan elde edilen izolatlar

TR1 ve IS1: Sırasıyla, Türkiye ve İsrail kültür nohudundan elde edilen izolatlar

AR-20: NCBI-veri bankasında kayıtlı izolata ait dizimler

EF1-α

CP1	ATCTGGA	CGCGCTTCCTCGCTTGC	GGGTTATCGTTCATTG	66
CP2	ATTTGGG	CGCGCTTCCTCGCTTGC	GGGTTATCGTTCATTG	41
CP3	CGCCCGCGCTTCCTCGCTTGC	GGGTTATCGTTCATTG	33
TR1	ATCTGGA	CGCGCTTCCTCGCTTGC	GGGTTATCGTTCATTG	52
CJ1	ATTTGGG	CGCGCTTCCTCGCTTGC	GGGTTATCGTTCATTG	53
CJ2	ATCTGGA	CGCGCTTCCTCGCTTGC	GGGTTATCGTTCATTG	55
CJ3	ATTTGGG	CGCGCTTCCTCGCTTGC	GGGTTATCGTTCATTG	55
IS1	ATCTGGA	CGCGCTTCCTCGCTTGC	GGGTTATCGTTCATTG	65
AR-20	ATCTGGA	CGCGCTTCCTCGCTTGC	GGGTTATCGTTCATTG	90
Georgial0	ATTTGGG	CGCGCTTCCTCGCTTGC	GGGTTATCGTTCATTG	90
Consensus	cggcttccctcgcttgcgggtatcggttcattg			
CP1	AGGGGCATTTT	TGGTGGGGTGTGCGAGCTTTT	TCGTGCCG	106
CP2	AGGGGCATTTT	TGGTGGGGTGTGCGAGCTTTT	TCGTGCCG	81
CP3	AGGGGCATTTT	TGGTGGGGTGTGCGAGCTTTT	TCGTGCCG	73
TR1	AGGGGCATTTT	TGGTGGGGTGTGCGAGCTTTT	TCGTGCCG	92
CJ1	AGGGGCATTTT	TGGTGGGGTGTGCGAGCTTTT	TCGTGCCG	93
CJ2	AGGGGCATTTT	TGGTGGGGTGTGCGAGCTTTT	TCGTGCCG	95
CJ3	AGGGGCATTTT	TGGTGGGGTGTGCGAGCTTTT	TCGTGCCG	95
IS1	AGGGGCATTTT	TGGTGGGGTGTGCGAGCTTTT	TCGTGCCG	105
AR-20	AGGGGCATTTT	TGGTGGGGTGTGCGAGCTTTT	TCGTGCCG	130
Georgial0	AGGGGCATTTT	TGGTGGGGTGTGCGAGCTTTT	TCGTGCCG	130
Consensus	aggggcatttttgggtggggtgtgcgagcttttctgctgcc			
CP1	TAGCGCTAGCCC	GCTTCGGGAGCTCGCCAACTCCAACACC		146
CP2	TAGCGCTAGCCC	GCTTCGGGAGCTCGCCAACTCCAACACC		121
CP3	TAGCGCTAGCCC	GCTTCGGGAGCTCGCCAACTCCAACACC		113
TR1	TAGCGCTAGCCC	GCTTCGGGAGCTCGCCAACTCCAACACC		132
CJ1	TAGCGCTAGCCC	GCTTCGGGAGCTCGCCAACTCCAACACC		133
CJ2	TAGCGCTAGCCC	GCTTCGGGAGCTCGCCAACTCCAACACC		135
CJ3	TAGCGCTAGCCC	GCTTCGGGAGCTCGCCAACTCCAACACC		135
IS1	TAGCGCTAGCCC	GCTTCGGGAGCTCGCCAACTCCAACACC		145
AR-20	TAGCGCTAGCCC	GCTTCGGGAGCTCGCCAACTCCAACACC		170
Georgial0	TAGCGCTAGCCC	GCTTCGGGAGCTCGCCAACTCCAACACC		170
Consensus	tagcgtagcccgcttcgggagctcgccaaactccaacacc			
CP1	ATGCCCCACAGC	GCAATTTGCATCGCGAGCTTATGGGCTC		186
CP2	ATGCCCCACAGC	GCAATTTGCATCGCGAGCTTATGGGCTC		161
CP3	ATGCCCCACAGC	GCAATTTGCATCGCGAGCTTATGGGCTC		153
TR1	ATGCCCCACAGC	GCAATTTGCATCGCGAGCTTATGGGCTC		172
CJ1	ATGCCCCACAGC	GCAATTTGCATCGCGAGCTTATGGGCTC		173
CJ2	ATGCCCCACAGC	GCAATTTGCATCGCGAGCTTATGGGCTC		175
CJ3	ATGCCCCACAGC	GCAATTTGCATCGCGAGCTTATGGGCTC		175
IS1	ATGCCCCACAGC	GCAATTTGCATCGCGAGCTTATGGGCTC		185
AR-20	ATGCCCCACAGC	GCAATTTGCATCGCGAGCTTATGGGCTC		210
Georgial0	ATGCCCCACAGC	GCAATTTGCATCGCGAGCTTATGGGCTC		210
Consensus	atggccacagcgcaatttgcatacggagctatgggctc			
CP1	CGGTCCAAGGCT	GCGACATCCTTGCCCACTTAATAACAAGT		226
CP2	CGGTCCAAGGCT	GCGACATCCTTGCCCACTTAATAACAAGT		201
CP3	CGGTCCAAGGCT	GCGACATCCTTGCCCACTTAATAACAAGT		193
TR1	CGGTCCAAGGCT	GCGACATCCTTGCCCACTTAATAACAAGT		212
CJ1	CGGTCCAAGGCT	GCGACATCCTTGCCCACTTAATAACAAGT		213
CJ2	CGGTCCAAGGCT	GCGACATCCTTGCCCACTTAATAACAAGT		215
CJ3	CGGTCCAAGGCT	GCGACATCCTTGCCCACTTAATAACAAGT		215
IS1	CGGTCCAAGGCT	GCGACATCCTTGCCCACTTAATAACAAGT		225
AR-20	CGGTCCAAGGCT	GCGACATCCTTGCCCACTTAATAACAAGT		250
Georgial0	CGGTCCAAGGCT	GCGACATCCTTGCCCACTTAATAACAAGT		250
Consensus	cggccaaggctgcgacatccttgcccaacttaataaagt			
CP1	CCTAACGATGCT	GACAACCACCACAGGAAGCCGCCGA		266
CP2	CCTAACGATGCT	GACAACCACCACAGGAAGCCGCCGA		241
CP3	CCTAACGATGCT	GACAACCACCACAGGAAGCCGCCGA		233
TR1	CCTAACGATGCT	GACAACCACCACAGGAAGCCGCCGA		252
CJ1	CCTAACGATGCT	GACAACCACCACAGGAAGCCGCCGA		253
CJ2	CCTAACGATGCT	GACAACCACCACAGGAAGCCGCCGA		255
CJ3	CCTAACGATGCT	GACAACCACCACAGGAAGCCGCCGA		255
IS1	CCTAACGATGCT	GACAACCACCACAGGAAGCCGCCGA		265
AR-20	CCTAACGATGCT	GACAACCACCACAGGAAGCCGCCGA		290
Georgial0	CCTAACGATGCT	GACAACCACCACAGGAAGCCGCCGA		290
Consensus	cctaacgatgctgacaaccaccacaggaagccgccgaact			
CP1	CGGTAAGGGTTC			278
CP2	CGGTAAGGGTTC			253
CP3	CGGTAAGGGTTC			245
TR1	CGGTAAGGGTTC			264
CJ1	CGGTAAGGGTTC			265
CJ2	CGGTAAGGGTTC			267
CJ3	CGGTAAGGGTTC			267
IS1	CGGTAAGGGTTC			277
AR-20	CGGTAAGGGTTC			302
Georgial0	CGGTAAGGGTTC			302
Consensus	cggtaagggttc			

G3PD

CP1	ATCGTGGTAGCAACAAGCTGACAGCATCCAGCATCGAGC	59
CP2	ATCGTGGTAGCAACAAGCTGACAGCATCCAGCATCGAGC	40
CP3	ATCGTGGTAGCAACAAGCTGACAGCATCCAGCATCGAGC	59
TR1	ATCGTGGTAGCAACAAGCTGACAGCATCCAGCATCGAGC	58
CJ1	ATCGTGGTAGCAACAAGCTGACAGCATCCAGCATCGAGC	83
CJ2	ATCGTGGTAGCAACAAGCTGACAGCATCCAGCATCGAGC	40
CJ3	ATCGTGGTAGCAACAAGCTGACAGCATCCAGCATCGAGC	59
IS1	ATCGTGGTAGCAACAAGCTGACAGCATCCAGCATCGAGC	52
AR-20	ATCGTGGTAGCAACAAGCTGACAGCATCCAGCATCGAGC	82
Consensus	atcgtagtagcaacaagctgacagcatccagcatcgagc	
CP1	ACAACGAGGTTGAGATCGTCCGGTCAACGATCCCTTCAT	99
CP2	ACAACGAGGTTGAGATCGTCCGGTCAACGATCCCTTCAT	80
CP3	ACAACGAGGTTGAGATCGTCCGGTCAACGATCCCTTCAT	99
TR1	ACAACGAGGTTGAGATCGTCCGGTCAACGATCCCTTCAT	98
CJ1	ACAACGAGGTTGAGATCGTCCGGTCAACGATCCCTTCAT	123
CJ2	ACAACGAGGTTGAGATCGTCCGGTCAACGATCCCTTCAT	80
CJ3	ACAACGAGGTTGAGATCGTCCGGTCAACGATCCCTTCAT	99
IS1	ACAACGAGGTTGAGATCGTCCGGTCAACGATCCCTTCAT	92
AR-20	ACAACGAGGTTGAGATCGTCCGGTCAACGATCCCTTCAT	122
Consensus	acaacgaggttgagatcgtccggtcaacgatcccttcata	
CP1	CGAGCCCCTACCGGTAAGCTTCCCCAACACCCAAAG	139
CP2	CGAGCCCCTACCGGTAAGCTTCCCCAACACCCAAAG	120
CP3	CGAGCCCCTACCGGTAAGCTTCCCCAACACCCAAAG	139
TR1	CGAGCCCCTACCGGTAAGCTTCCCCAACACCCAAAG	138
CJ1	CGAGCCCCTACCGGTAAGCTTCCCCAACACCCAAAG	163
CJ2	CGAGCCCCTACCGGTAAGCTTCCCCAACACCCAAAG	120
CJ3	CGAGCCCCTACCGGTAAGCTTCCCCAACACCCAAAG	139
IS1	CGAGCCCCTACCGGTAAGCTTCCCCAACACCCAAAG	132
AR-20	CGAGCCCCTACCGGTAAGCTTCCCCAACACCCAAAG	162
Consensus	cgagcccctacccggttaagcttccccaacacccaaag	
CP1	CCCCGGCTCAGCAGGACACAATGCTTCGCACTCTTATTA	179
CP2	CCCCGGCTCAGCAGGACACAATGCTTCGCACTCTTATTA	160
CP3	CCCCGGCTCAGCAGGACACAATGCTTCGCACTCTTATTA	179
TR1	CCCCGGCTCAGCAGGACACAATGCTTCGCACTCTTATTA	178
CJ1	CCCCGGCTCAGCAGGACACAATGCTTCGCACTCTTATTA	203
CJ2	CCCCGGCTCAGCAGGACACAATGCTTCGCACTCTTATTA	160
CJ3	CCCCGGCTCAGCAGGACACAATGCTTCGCACTCTTATTA	179
IS1	CCCCGGCTCAGCAGGACACAATGCTTCGCACTCTTATTA	172
AR-20	CCCCGGCTCAGCAGGACACAATGCTTCGCACTCTTATTA	202
Consensus	ccccggctcagcaggacacaatgcttcgcaactcttatta	
CP1	AAGAACAGAACACTGACAAAACCTACAGCCCTACATGCTC	219
CP2	AAGAACAGAACACTGACAAAACCTACAGCCCTACATGCTC	200
CP3	AAGAACAGAACACTGACAAAACCTACAGCCCTACATGCTC	219
TR1	AAGAACAGAACACTGACAAAACCTACAGCCCTACATGCTC	218
CJ1	AAGAACAGAACACTGACAAAACCTACAGCCCTACATGCTC	243
CJ2	AAGAACAGAACACTGACAAAACCTACAGCCCTACATGCTC	200
CJ3	AAGAACAGAACACTGACAAAACCTACAGCCCTACATGCTC	219
IS1	AAGAACAGAACACTGACAAAACCTACAGCCCTACATGCTC	212
AR-20	AAGAACAGAACACTGACAAAACCTACAGCCCTACATGCTC	242
Consensus	aagaacagaacctgacaaaacctacagccctacatgctc	
CP1	AAAGTATGACAGCACACCGGCCCTTCAACGGCGAGATCA	259
CP2	AAAGTATGACAGCACACCGGCCCTTCAACGGCGAGATCA	240
CP3	AAAGTATGACAGCACACCGGCCCTTCAACGGCGAGATCA	259
TR1	AAAGTATGACAGCACACCGGCCCTTCAACGGCGAGATCA	258
CJ1	AAAGTATGACAGCACACCGGCCCTTCAACGGCGAGATCA	283
CJ2	AAAGTATGACAGCACACCGGCCCTTCAACGGCGAGATCA	240
CJ3	AAAGTATGACAGCACACCGGCCCTTCAACGGCGAGATCA	259
IS1	AAAGTATGACAGCACACCGGCCCTTCAACGGCGAGATCA	252
AR-20	AAAGTATGACAGCACACCGGCCCTTCAACGGCGAGATCA	282
Consensus	aaagtatgacagcacacccggcccttcaacggcgagatca	
CP1	AGGTCGAGCGCAACAACCTGTCCATCAACGGCAAGCCAT	299
CP2	AGGTCGAGCGCAACAACCTGTCCATCAACGGCAAGCCAT	280
CP3	AGGTCGAGCGCAACAACCTGTCCATCAACGGCAAGCCAT	299
TR1	AGGTCGAGCGCAACAACCTGTCCATCAACGGCAAGCCAT	298
CJ1	AGGTCGAGCGCAACAACCTGTCCATCAACGGCAAGCCAT	323
CJ2	AGGTCGAGCGCAACAACCTGTCCATCAACGGCAAGCCAT	280
CJ3	AGGTCGAGCGCAACAACCTGTCCATCAACGGCAAGCCAT	299
IS1	AGGTCGAGCGCAACAACCTGTCCATCAACGGCAAGCCAT	292
AR-20	AGGTCGAGCGCAACAACCTGTCCATCAACGGCAAGCCAT	322
Consensus	aggctcagcgcaacaacctgtccatcaacggcaagccat	
CP1	CCCGCTTCTACACCGGAGAGGACCCCGCAACATCCCTTGG	339
CP2	CCCGCTTCTACACCGGAGAGGACCCCGCAACATCCCTTGG	320
CP3	CCCGCTTCTACACCGGAGAGGACCCCGCAACATCCCTTGG	339
TR1	CCCGCTTCTACACCGGAGAGGACCCCGCAACATCCCTTGG	338
CJ1	CCCGCTTCTACACCGGAGAGGACCCCGCAACATCCCTTGG	363
CJ2	CCCGCTTCTACACCGGAGAGGACCCCGCAACATCCCTTGG	320
CJ3	CCCGCTTCTACACCGGAGAGGACCCCGCAACATCCCTTGG	339
IS1	CCCGCTTCTACACCGGAGAGGACCCCGCAACATCCCTTGG	332
AR-20	CCCGCTTCTACACCGGAGAGGACCCCGCAACATCCCTTGG	362
Consensus	cccgcttctacacccgagaggaccccgcaacatcccttgg	
CP1	AGCGAGACTGGCGCTTCTACGTCGTCGAGTCCACCGGTG	379
CP2	AGCGAGACTGGCGCTTCTACGTCGTCGAGTCCACCGGTG	360
CP3	AGCGAGACTGGCGCTTCTACGTCGTCGAGTCCACCGGTG	379
TR1	AGCGAGACTGGCGCTTCTACGTCGTCGAGTCCACCGGTG	378
CJ1	AGCGAGACTGGCGCTTCTACGTCGTCGAGTCCACCGGTG	403
CJ2	AGCGAGACTGGCGCTTCTACGTCGTCGAGTCCACCGGTG	360
CJ3	AGCGAGACTGGCGCTTCTACGTCGTCGAGTCCACCGGTG	379
IS1	AGCGAGACTGGCGCTTCTACGTCGTCGAGTCCACCGGTG	372
AR-20	AGCGAGACTGGCGCTTCTACGTCGTCGAGTCCACCGGTG	402
Consensus	agcgagactggcgcttctacgtcgtcgcgagttccacgggtg	
CP1	TCTTCACCACCACCGAGAAGGCTAAGGCTCACTTGAAGGG	419
CP2	TCTTCACCACCACCGAGAAGGCTAAGGCTCACTTGAAGGG	400
CP3	TCTTCACCACCACCGAGAAGGCTAAGGCTCACTTGAAGGG	419
TR1	TCTTCACCACCACCGAGAAGGCTAAGGCTCACTTGAAGGG	418
CJ1	TCTTCACCACCACCGAGAAGGCTAAGGCTCACTTGAAGGG	443
CJ2	TCTTCACCACCACCGAGAAGGCTAAGGCTCACTTGAAGGG	400
CJ3	TCTTCACCACCACCGAGAAGGCTAAGGCTCACTTGAAGGG	419
IS1	TCTTCACCACCACCGAGAAGGCTAAGGCTCACTTGAAGGG	412
AR-20	TCTTCACCACCACCGAGAAGGCTAAGGCTCACTTGAAGGG	442
Consensus	tcttcaccaccacccgagaaggctaaggctcacttgaaggg	
CP1	AGGCCCAAGAAGGTCGTATCTCTGCTCCCTCCGCTGAC	459
CP2	AGGCCCAAGAAGGTCGTATCTCTGCTCCCTCCGCTGAC	440
CP3	AGGCCCAAGAAGGTCGTATCTCTGCTCCCTCCGCTGAC	459
TR1	AGGCCCAAGAAGGTCGTATCTCTGCTCCCTCCGCTGAC	458
CJ1	AGGCCCAAGAAGGTCGTATCTCTGCTCCCTCCGCTGAC	483
CJ2	AGGCCCAAGAAGGTCGTATCTCTGCTCCCTCCGCTGAC	440
CJ3	AGGCCCAAGAAGGTCGTATCTCTGCTCCCTCCGCTGAC	459
IS1	AGGCCCAAGAAGGTCGTATCTCTGCTCCCTCCGCTGAC	452
AR-20	AGGCCCAAGAAGGTCGTATCTCTGCTCCCTCCGCTGAC	482
Consensus	aggcccaagaaggtcgtatctctgctccctccgctgac	
CP1	GCTCCCATGTTGTCATCGGTGTCAACACGAGACCTACA	499
CP2	GCTCCCATGTTGTCATCGGTGTCAACACGAGACCTACA	480
CP3	GCTCCCATGTTGTCATCGGTGTCAACACGAGACCTACA	499
TR1	GCTCCCATGTTGTCATCGGTGTCAACACGAGACCTACA	498
CJ1	GCTCCCATGTTGTCATCGGTGTCAACACGAGACCTACA	523
CJ2	GCTCCCATGTTGTCATCGGTGTCAACACGAGACCTACA	480
CJ3	GCTCCCATGTTGTCATCGGTGTCAACACGAGACCTACA	499
IS1	GCTCCCATGTTGTCATCGGTGTCAACACGAGACCTACA	492
AR-20	GCTCCCATGTTGTCATCGGTGTCAACACGAGACCTACA	522
Consensus	gctcccatgttgcatacgggtgtcaaacacgagacctaca	

CHS

CP1	CAAGAGCCGTGCTAGCAGGTCTTGGTGTGTACCAGGACGG	49
CP2	CAAGAGCCGTGCTAGCAGGTCTTGGTGTGTACCAGGACGG	70
CP3	CAAGAGCCGTGCTAGCAGGTCTTGGTGTGTACCAGGACGG	47
TR1	CAAGAGCCGTGCTAGCAGGTCTTGGTGTGTACCAGGACGG	40
CJ1	CAAGAGCCGTGCTAGCAGGTCTTGGTGTGTACCAGGACGG	49
CJ2	CAAGAGCCGTGCTAGCAGGTCTTGGTGTGTACCAGGACGG	49
CJ3	CAAGAGCCGTGCTAGCAGGTCTTGGTGTGTACCAGGACGG	54
AR-20	CAAGAGCCGTGCTAGCAGGTCTTGGTGTGTACCAGGACGG	100
Consensus	caagagccgtgctagcaggtcttgggtgtgtaccaggacgg	
CP1	CATCGCCAAGCAGCAAGTCAACGGCAAGGATGTAAC TGCG	89
CP2	CATCGCCAAGCAGCAAGTCAACGGCAAGGATGTAAC TGCG	110
CP3	CATCGCCAAGCAGCAAGTCAACGGCAAGGATGTAAC TGCG	87
TR1	CATCGCCAAGCAGCAAGTCAACGGCAAGGATGTAAC TGCG	80
CJ1	CATCGCCAAGCAGCAAGTCAACGGCAAGGATGTAAC TGCG	89
CJ2	CATCGCCAAGCAGCAAGTCAACGGCAAGGATGTAAC TGCG	89
CJ3	CATCGCCAAGCAGCAAGTCAACGGCAAGGATGTAAC TGCG	94
AR-20	CATCGCCAAGCAGCAAGTCAACGGCAAGGATGTAAC TGCG	140
Consensus	catcgccaagcagcaagtcaacggcaaggatgtaactgcg	
CP1	CATATTTACGAGGTACGTGAGGCAGTGTGGCTGTGTTGGG	129
CP2	CATATTTACGAGGTACGTGAGGCAGTGTGGCTGTGTTGGG	150
CP3	CATATTTACGAGGTACGTGAGGCAGTGTGGCTGTGTTGGG	127
TR1	CATATTTACGAGGTACGTGAGGCAGTGTGGCTGTGTTGGG	120
CJ1	CATATTTACGAGGTACGTGAGGCAGTGTGGCTGTGTTGGG	129
CJ2	CATATTTACGAGGTACGTGAGGCAGTGTGGCTGTGTTGGG	129
CJ3	CATATTTACGAGGTACGTGAGGCAGTGTGGCTGTGTTGGG	134
AR-20	CATATTTACGAGGTACGTGAGGCAGTGTGGCTGTGTTGGG	180
Consensus	catatftacgaggtacgtgaggcagtgtggctgtgttggg	
CP1	GGAAATGACTAACCAGATCCACTAGTACACCACACAAATG	169
CP2	GGAAATGACTAACCAGATCCACTAGTACACCACACAAATG	190
CP3	GGAAATGACTAACCAGATCCACTAGTACACCACACAAATG	167
TR1	GGAAATGACTAACCAGATCCACTAGTACACCACACAAATG	160
CJ1	GGAAATGACTAACCAGATCCACTAGTACACCACACAAATG	169
CJ2	GGAAATGACTAACCAGATCCACTAGTACACCACACAAATG	169
CJ3	GGAAATGACTAACCAGATCCACTAGTACACCACACAAATG	174
AR-20	GGAAATGACTAACCAGATCCACTAGTACACCACACAAATG	220
Consensus	gaaatgactaaccagatccactagtacaccacacaaatg	
CP1	ACGCTTGACATCAAGAAGGGTGTAGTCGGCGTCAAGAAGG	209
CP2	ACGCTTGACATCAAGAAGGGTGTAGTCGGCGTCAAGAAGG	230
CP3	ACGCTTGACATCAAGAAGGGTGTAGTCGGCGTCAAGAAGG	207
TR1	ACGCTTGACATCAAGAAGGGTGTAGTCGGCGTCAAGAAGG	200
CJ1	ACGCTTGACATCAAGAAGGGTGTAGTCGGCGTCAAGAAGG	209
CJ2	ACGCTTGACATCAAGAAGGGTGTAGTCGGCGTCAAGAAGG	209
CJ3	ACGCTTGACATCAAGAAGGGTGTAGTCGGCGTCAAGAAGG	214
AR-20	ACGCTTGACATCAAGAAGGGTGTAGTCGGCGTCAAGAAGG	260
Consensus	acgcttgacatcaagaagggtgtagtcggcgcaagaagg	
CP1	GCAACACGGCTGTGCAGATGCTCTTCTGTCTAAAGGAAAA	249
CP2	GCAACACGGCTGTGCAGATGCTCTTCTGTCTAAAGGAAAA	270
CP3	GCAACACGGCTGTGCAGATGCTCTTCTGTCTAAAGGAAAA	247
TR1	GCAACACGGCTGTGCAGATGCTCTTCTGTCTAAAGGAAAA	240
CJ1	GCAACACGGCTGTGCAGATGCTCTTCTGTCTAAAGGAAAA	249
CJ2	GCAACACGGCTGTGCAGATGCTCTTCTGTCTAAAGGAAAA	249
CJ3	GCAACACGGCTGTGCAGATGCTCTTCTGTCTAAAGGAAAA	254
AR-20	GCAACACGGCTGTGCAGATGCTCTTCTGTCTAAAGGAAAA	300
Consensus	gcaacacggctgtgcagatgctcttctgtctaaaggaaaa	
CP1	GAACCAGAAGAAGATCAACTCTCACAGAT	278
CP2	GAACCAGAAGAAGATCAACTCTCACAGAT	299
CP3	GAACCAGAAGAAGATCAACTCTCACAGAT	276
TR1	GAACCAGAAGAAGATCAACTCTCACAGAT	269
CJ1	GAACCAGAAGAAGATCAACTCTCACAGAT	278
CJ2	GAACCAGAAGAAGATCAACTCTCACAGAT	278
CJ3	GAACCAGAAGAAGATCAACTCTCACAGAT	283
AR-20	GAACCAGAAGAAGATCAACTCTCACAGAT	329
Consensus	gaaccagaagaagatcaactctcacagat	

ITS

CP1	TTGCCCGCTACCTCTTACCCATGTCCTTTGAGTACTTACG	60
CP2	TTGCCCGCTACCTCTTACCCATGTCCTTTGAGTACTTACG	44
CP3	TTGCCCGCTACCTCTTACCCATGTCCTTTGAGTACTTACG	42
TR1	TTGCCCGCTACCTCTTACCCATGTCCTTTGAGTACTTACG	44
AR-20	TTGCCCGCTACCTCTTACCCATGTCCTTTGAGTACTTACG	40
Consensus	ttgcccgctacctcttaccatgtctttgagtacttaccg	
CP1	TTTCCTCGGCGGGTCCGCCCGCCGATTGGACAAAATCAAA	100
CP2	TTTCCTCGGCGGGTCCGCCCGCCGATTGGACAAAATCAAA	84
CP3	TTTCCTCGGCGGGTCCGCCCGCCGATTGGACAAAATCAAA	82
TR1	TTTCCTCGGCGGGTCCGCCCGCCGATTGGACAAAATCAAA	84
AR-20	TTTCCTCGGCGGGTCCGCCCGCCGATTGGACAAAATCAAA	80
Consensus	tttcctcggcgggtccgcccgccgattggacaaaatcaaa	
CP1	CCCTTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAACATAATAGT	140
CP2	CCCTTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAACATAATAGT	124
CP3	CCCTTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAACATAATAGT	122
TR1	CCCTTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAACATAATAGT	124
AR-20	CCCTTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAACATAATAGT	120
Consensus	ccctttgcagttgcaatcagcgtctgaaaaacataatagt	
CP1	TACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCGGCATCGAT	180
CP2	TACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCGGCATCGAT	164
CP3	TACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCGGCATCGAT	162
TR1	TACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCGGCATCGAT	164
AR-20	TACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCGGCATCGAT	160
Consensus	tacaaccttcaacaacggatctcttggttcggcatcgat	
CP1	GAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAG	220
CP2	GAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAG	204
CP3	GAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAG	202
TR1	GAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAG	204
AR-20	GAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAG	200
Consensus	gaagaacgcagcgaatgcgataagtagtgtgaattgcag	
CP1	AATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCC	260
CP2	AATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCC	244
CP3	AATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCC	242
TR1	AATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCC	244
AR-20	AATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCC	240
Consensus	aattcagtgaaatcatcgaatctttgaacgcacattgcgcc	
CP1	CCCTGGTATTCATGGGGCATGCCTGFTCGACCGTCATTT	300
CP2	CCCTGGTATTCATGGGGCATGCCTGFTCGACCGTCATTT	284
CP3	CCCTGGTATTCATGGGGCATGCCTGFTCGACCGTCATTT	282
TR1	CCCTGGTATTCATGGGGCATGCCTGFTCGACCGTCATTT	284
AR-20	CCCTGGTATTCATGGGGCATGCCTGFTCGACCGTCATTT	280
Consensus	ccctggat tccatggggcatgcctgttcgacccgtcattt	
CP1	GTACCTTCAAGCTTTGCTTGGTGTGGGTGTTGTCTCGC	340
CP2	GTACCTTCAAGCTTTGCTTGGTGTGGGTGTTGTCTCGC	324
CP3	GTACCTTCAAGCTTTGCTTGGTGTGGGTGTTGTCTCGC	322
TR1	GTACCTTCAAGCTTTGCTTGGTGTGGGTGTTGTCTCGC	324
AR-20	GTACCTTCAAGCTTTGCTTGGTGTGGGTGTTGTCTCGC	320
Consensus	gtaccttcaagctttgcttgggtgtgggtgttgtctcgc	
CP1	CTCTGCGTGTAGACTCGCCTTAAAACAATTGGCAGCCGGC	380
CP2	CTCTGCGTGTAGACTCGCCTTAAAACAATTGGCAGCCGGC	364
CP3	CTCTGCGTGTAGACTCGCCTTAAAACAATTGGCAGCCGGC	362
TR1	CTCTGCGTGTAGACTCGCCTTAAAACAATTGGCAGCCGGC	364
AR-20	CTCTGCGTGTAGACTCGCCTTAAAACAATTGGCAGCCGGC	360
Consensus	ctctcgtgtagactcgccttaaaacaattggcagccggc	
CP1	GTATTGATTTCCGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACI	420
CP2	GTATTGATTTCCGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACI	404
CP3	GTATTGATTTCCGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACI	402
TR1	GTATTGATTTCCGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACI	404
AR-20	GTATTGATTTCCGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACI	400
Consensus	gtattgatttccgagcgcagtagatctcgcgctttgcact	
CP1	CATAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTACACTCTTGA	460
CP2	CATAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTACACTCTTGA	444
CP3	CATAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTACACTCTTGA	442
TR1	CATAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTACACTCTTGA	444
AR-20	CATAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTACACTCTTGA	440
Consensus	cat aacgacgacgtccaaaagtacattttacactcttga	
CP1	CCTCGG	466
CP2	CCTCGG	450
CP3	CCTCGG	448
TR1	CCTCGG	450
AR-20	CCTCGG	446
Consensus	cctcgg	

Ek 4. Altı STMS Markıra dayalı olarak saptanan haplotipler

Haplotip No	*HN	ArR01D	ArH06T	ArH05T	ArA06T	ArR12D	ArH02T	Haplotipin saptandığı grup/izolat adı
1	1	**156	149	209	146	156	302	<i>C. pinnatifidum</i> /CP1.06
2	1	156	176	222	136	156	335	Kahramanmaraş/MYP3.2
3	1	156	191	200	161	158	296	Adana/AD1.2
4	1	156	200	215	155	158	349	Southern coast/qedma23
5	1	156	215	209	149	154	326	Ramot Menashe/Homa51
6	1	156	224	209	155	156	435	Ramot Menashe/magar2
7	1	156	227	209	155	156	253	Ramot Menashe/Yaar1
8	1	156	230	209	155	156	287	YW forest/Yop506
9	1	156	233	209	155	156	351	YW forest/Yop15
10	1	156	236	209	155	154	450	YW forest/Yop207
11	1	156	245	206	155	154	279	Wadi Ara/Mush4
12	1	156	245	209	155	158	290	Sharon/Einat52
13	1	156	251	209	155	154	290	Wadi Ara/Mush7
14	1	156	271	209	155	158	299	Ramot Menashe/Yaar2
15	3	156	271	209	155	158	349	Wadi Sansan/Sansan31,Sansan42,Sansan7
16	1	156	271	209	155	158	354	Wadi Sansan/Sansan107
17	2	156	271	212	146	154	253	<i>C. pinnatifidum</i> /CP2.06, CP1.05
21	1	156	293	209	155	154	308	Ramot Menashe/Homa55
22	1	156	299	209	155	154	338	Wadi Ara/Mush6
23	1	161	161	194	149	163	279	Diyarbakır/D11
24	1	164	161	194	136	158	265	Adana/AD3.2
25	1	164	161	209	161	158	296	Gaziantep/GA12.1
26	1	164	161	212	161	158	335	Gaziantep/GA6.3
27	1	164	173	203	161	156	332	Northern valleys/Meravya
28	1	164	176	200	136	158	317	Northern valleys/Mizra
29	1	164	176	200	136	158	335	Diyarbakır/D17
30	1	164	176	200	161	158	285	Gaziantep/GA5.1
31	1	164	176	200	161	181	290	Diyarbakır/D19
32	1	164	176	222	136	158	308	Gaziantep/GA9.1
33	1	164	176	231	161	179	296	Adıyaman/AS3.17
34	1	164	179	200	161	173	274	Judean hills/Talshahar
35	1	164	179	206	161	150	287	Adıyaman/AS3.6
36	1	164	182	222	136	158	276	Kahramanmaraş/MYP4.2
37	1	164	182	222	136	158	335	Kahramanmaraş/MYP1.2
38	1	164	185	194	161	185	279	Adıyaman/KN1.19
39	1	164	188	200	136	158	305	Şanlıurfa/Uko
40	1	164	188	200	161	158	287	Diyarbakır/DB2.3
41	1	164	188	212	161	158	332	Adıyaman/KN1.21
42	1	164	191	203	161	158	332	Northern valleys/Teladashim
43	1	164	194	212	149	158	368	Gaziantep/GA10.2
44	1	164	194	215	136	158	351	Judean hills/Nakshon
45	1	164	206	197	136	158	320	Northern valleys/DanA8
46	1	164	206	215	136	137	332	Sharon/Maabarot
47	1	164	209	215	161	158	349	Judean hills/Azeka
48	1	164	271	209	155	158	354	Wadi Sansan/Sansan347
49	1	189	161	194	161	156	346	Kahramanmaraş/MYP2.7
50	1	189	161	194	161	158	293	Kahramanmaraş/MN2.4
51	1	189	161	212	161	160	256	Adıyaman/AK6.7
52	1	189	161	212	161	162	256	Adıyaman/AK6.10
53	1	189	161	222	161	160	332	Adıyaman/AS3.9
54	1	189	164	194	149	162	320	Gaziantep/GA8.2
55	1	189	164	200	161	158	323	Gaziantep/GA7.2
56	1	189	170	215	136	156	359	Sharon/Hadera
57	1	189	176	179	161	158	332	Kahramanmaraş/MN1
58	1	189	176	197	136	158	335	Gaziantep/GA5.3
59	1	189	176	200	136	156	323	Northern valleys/Sirih
60	1	189	176	200	136	156	335	Kahramanmaraş/MYP2.9
61	1	189	176	200	136	158	271	Southern coast/Karmya
62	1	189	176	200	136	158	287	Şanlıurfa/Uak
63	1	189	176	200	136	158	314	Northern valleys/Carmel55
64	6	189	176	200	136	158	332	Wadi Sansan/Eziona; Sharon/Mishmor2; Southern coast/Kfarmenakem; Judean hills/ Bakoa, Melakim5; Kahramanmaraş/MYP2.1
65	5	189	176	200	136	158	335	Şanlıurfa/U30; Diyarbakır/D28; Adana/AD4.3; Southern coast/Betarif; Sharon/Mishmor1
66	2	189	176	200	136	160	262	Şanlıurfa/U14, U1.4

Haplotip No	*HN	ArR01D	ArH06T	ArH05T	ArA06T	ArR12D	ArH02T	Haplotipin saptandığı grup/izolat adı
67	4	189	176	200	161	158	338	Judean hills/Betsheimes, Natif; Southern coast/Beeri; Sharon/Maor
68	1	189	176	200	161	158	343	Southern coast/Negba
69	1	189	176	200	161	158	351	Judean hills/Sdotmika
70	1	189	176	203	136	158	343	Northern valleys/Taanch
71	1	189	176	212	161	160	285	Adıyaman/AK4.7
72	1	189	176	215	136	158	274	Judean hills/Holda
73	1	189	176	215	136	158	338	Judean hills/Mishmardavid
74	1	189	176	222	161	158	335	Diyarbakır/D14
75	1	189	176	225	136	158	287	Diyarbakır/DB1.3
76	1	189	179	191	136	181	349	Diyarbakır/D3.3.13
77	1	189	179	194	149	165	256	Adıyaman/AK6.2
78	1	189	179	200	136	156	332	Adana/AD6.1
79	3	189	179	200	136	158	332	Adana/AD5, AE15, AB12
80	1	189	179	200	136	158	335	Adana/AE16
81	1	189	179	215	136	173	274	Sharon/Maanit
82	1	189	188	200	136	158	332	Gaziantep/GA11.1
83	1	189	188	222	161	158	259	Gaziantep/GA12.2
84	1	189	188	235	136	160	314	Diyarbakır/D3.3.7
85	6	189	191	200	136	160	326	Şanlıurfa/U27, U19, U33, U15, U24; Diyarbakır/D9
86	1	189	191	209	161	179	371	Adıyaman/KN1.16
87	1	189	194	200	136	158	351	Wadi Sansan/iii-1
88	1	189	194	209	155	154	290	YW forest/Yop11
89	2	189	200	200	161	158	296	Adana/A20.1, AD2.2
90	1	189	209	215	136	158	450	Southern coast/qedma2
91	1	189	242	209	155	154	276	Ramot Menashe/Magard47
92	1	189	245	209	155	154	276	Ramot Menashe/Magard41
93	3	189	245	209	155	154	279	Wadi Ara/Mush14, Mush1, Mush13
94	1	189	274	209	155	154	460	YW forest/Yop306
95	1	189	293	209	155	154	320	Ramot Menashe/Yaar32
96	1	189	293	209	155	154	332	Wadi Sansan/Sansan106
97	1	189	308	209	155	160	293	YW forest/Yop22
98	1	189	311	209	155	154	290	Wadi Ara/Fahm5
99	2	189	311	209	155	154	296	Wadi Ara/Mush9, Mush3
100	1	197	188	240	136	158	349	Kahramanmaraş/MP2.5

*Aynı haplotip sayısı

**Her bir lokus için baz çifti olarak saptanan alel büyüklüğü

Ek 5. Epidemik sezon boyunca örnekleme alanlarında görülen ortalama maksimum ve minimum sıcaklıklar (°C)

	Ocak		Şubat		Mart		Nisan		Mayıs		Haziran	
	Min.	Mak	Min.	Mak	Min.	Mak	Min.	Mak	Min.	Mak	Min.	Mak
TÜRKİYE												
Adana	5,5	15	5,9	16,1	8,3	16,4	12,3	23,6	16,1	28,1	20,1	31,7
Gaziantep	-0,3	8,0	0,0	9,5	3,0	14,1	7,5	19,8	12,0	25,6	17,0	31,3
Adiyaman	1,5	8,7	2,1	10,1	5,3	14,6	9,9	20,3	14,3	26,4	19,6	33,0
Kahramanmaraş	1,4	9,1	2,0	10,8	5,4	15,6	9,8	21,0	14,1	26,5	18,6	31,6
Sanliurfa	2,5	10,1	2,9	11,8	6,1	16,5	10,7	22,3	15,7	28,6	20,9	34,5
Diyarbakir	-2,0	6,9	-1,2	9,0	2,4	14,3	7,0	20,3	11,1	26,4	16,8	33,5
İSRAİL												
Northern vallies	5,8	16,7	5,9	17,5	7,6	20	10,7	25,0	14,5	28,6	18,5	31,1
Ramot menashe, YW Forest , Wadi Ara	8,3	15,8	8,2	16,5	9,5	19	12,5	24,2	15,3	27,7	18,4	29,8
Southern coast	8,1	17,2	8	17,5	9,3	19,7	11,9	24,6	14,8	27,4	18,0	29,5
Sharon	9,6	17,5	9,8	17,7	11,5	19,2	14,4	22,8	17,3	24,9	20,6	27,5
Judean Hills	7,2	17,8	7,1	18,1	8,8	20,1	11,5	24,5	14,6	27,0	17,9	29,2
Sansan	7,5	16,0	7,5	17,5	8,0	20,0	11,0	22,0	14,0	26,0	-	-

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİ

Soyadı, Adı: ÖZKILINÇ, HİLAL
Uyruğu: Türkiye (TC)
Doğum Tarihi ve Yeri: 15 Şubat 1982, Edirne
Medeni Hali: Bekar
Telefon: 05068405173
E-mail: hilalozkilinc@hotmail.com

EĞİTİM

Derece	Fakülte/Enstitü	Eğitim Yılı
Yüksek Lisans	Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji A.B.D., Moleküler Biyoloji Bilim Dalı	2004-2006
Lisans	Gaziantep Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü	2000-2004

YER ALDIĞI PROJE

Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştiriciliği yapılan nohutta zararlı antraknoz hastalığı etmeni *Ascochyta rabiei* (Pass) Lab.'nin genetik ve patojenik varyasyonlarının belirlenmesi. (TÜBİTAK-TOVAG, 2004-2007) (Yardımcı Araştırmacı)

YABANCI DİL

İngilizce

KATILDIĞI KURSLAR VE KONGRELER

- 5th International Food Legumes Research Conference (IFLRC V) and 7th European Conference on Grain Legumes (AEP VII), 26-30 April/2010, Antalya/Türkiye (Oral Presentation)
- Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi, (Uluslararası Katılımlı), 15-18 Temmuz/2009, Yüzüncü Yıl Üniversitesi/Van (Sözlü Sunum)
- VIII. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, 20-23 Ekim/2008, Yakın Doğu Üniversitesi, Girne/Kıbrıs (Poster Sunumu)
- Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi, (Uluslararası Katılımlı), 27-29 Ağustos/2007, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta/Türkiye (Sözlü Sunum)
- “Theoretical and Practical Course on “The use of Molecular Tools in Studying Host-Pathogen Interactions” (2-12 April 2007) Organized by ICGEB and AECS. Damascus, Syria.

- VI . Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 18-21 Eylül 2006, Dicle Üniversitesi, Diyarbakır (Poster sunumu)
- 18. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 26-30 Haziran 2006, Adnan Menderes Üniversitesi (sözlü sunum)
- “Practical Bioinformatics Workshop” (31 May 2006) Organized by Harran and Cornell Universities. Şanlıurfa/Türkiye
- “DNA Markörleri ve Bitki Islahında Kullanımı Kursu” (Uluslararası Katılımlı) (19-20 Ocak 2006, Çukurova Üniversitesi)
- 10. Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi (5-9 Ekim, 2003) (sözlü sunum)
- 9. Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi (9-12 Ekim, 2002) (sözlü sunum)

BURSLAR VE ÖDÜLLER

- 2007-2008 akademik yılı, uzun dönem doktora araştırma bursu, Volcani Center /Israel (Undersupervision of Assoc. Prof. Dr. Shahal Abbo, Prof. Dr. Dani Shtienberg and Dr. Amir Sherman in Agricultural Research Organization (Genomics and Plant Pathology Laboratories)
- TUBITAK BAYG, yurt içi doktora bursu (2006-2010)
- TUBITAK BAYG, yurt içi yüksek lisans bursu (2005-2006)
- Gaziantep Üniversitesi, “Üniversite Birinciliği” (2004)
- T.E.V. (Türk Eğitim Vakfı) Üniversite Birinciliği Ödülü (2004)
- T.E.V. (Türk Eğitim Vakfı) Bölüm Birinciliği Ödülü (2003)

YAYINLAR

SCI Kapsamındaki Dergi Yayınları

- Ozkilinc H., Frenkel O., Abbo S., Shtienberg D., Sherman A., Ophir R., Can C (2009) A comparative study of Turkish and Israeli populations of *Didymella rabiei*, the ascochyta pathogen of chickpea. *Plant Pathology*, Doi: 10.1111/j.1365-3059.2009.02226.x
- Frenkel, O., Peever, T. L., Chilvers, M., Ozkilinc, H., Can, C., Abbo, S., Shtienberg, D., Sherman A. (2010). Ecological genetic divergence of the fungal pathogen *Didymella rabiei* on sympatric wild and domesticated *Cicer* spp (Chickpea). *Applied and Environmental Microbiology*, 76:30-39.
- Can C., Ozkilinc H., Kahraman A., and Ozkan H. (2007). First report of *Ascochyta rabiei* causing Ascochyta blight of *Cicer pinnatifidum*. *Plant Disease* 91: 908.

Ulusal ve Uluslararası Kongre Yayınları

- Ozkilinc H., Frenkel O., Abbo S., Shtienberg D., Sherman A., Can C. (2010). *Cicer* spp-*Didymella rabiei* interactions in agricultural and natural ecosystems. 5th International Food Legumes Research Conference (IFLRC V) and 7th European Conference on Grain Legumes (AEP VII), Page, 66.

- Ozkilinc, H., Can C., Frenkel O., Abbo S., Shtienberg D., Sherman A. (2009). Yabani ve kültür nohudunda Ascochyta yanıklık etmeni *Didymella rabiei*'nin (Anamorph: Ascochyta rabiei) Karşılaştırmalı Genetik Analizi. Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi. Sf. 147.
- Ozkilinc H., Frenkel O., Can C., Abbo S., Shtienberg D., Sherman A (2009). Comparative population study of *Didymella rabiei* in Turkey and Israel. Second International Ascochyta Workshop. Pulman/U.S.A. Page, 33.
- Frenkel O., Peever T.L., Chilvers M., Ozkilinc H., Can C., Abbo S., Shtienberg D., Sherman A.(2009). Temperature adaptation and ecological divergence of the fungal pathogen *Didymella rabiei* on sympatric wild and domesticated chickpea. Second International Ascochyta Workshop. Pulman/U.S.A. Page, 19.
- Ozkilinc, H., Can C., Abbo S. (2008). Yeni bir bitki patojen ilişkisi, *Vicia ervilia* (L.) Wild.'da Ascochyta yanıklığı. VIII. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi. Girne/Kıbrıs. Sf.107.
- Can C., Ozkilinc H., Mart D. (2007). Nohut yanıklığı etmeni *Ascochyta rabiei*'nin kültür (*C. arietinum*) ve yabani (*C. pinnatifidum*) nohuttan elde edilen izolatlarının moleküler ve patojenite analizleri. II. Türkiye Bitki Koruma Kongresi. Isparta/Türkiye. Sf.95.
- Can C., Ozkilinc H., Iskender E., Saygideger S. (2006). Bitki genetik kaynaklarımızdan yabani nohut *Cicer pinnatifidum*'un sosyolojisi, önemi ve korunması .VI . Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi. Diyarbakır/Türkiye. Sf.74.
- Can C., Ozkilinc H., Kahraman A. and Ozkan. H. (2006). Characterisation of *A.rabiei* isolates from Turkey. 1st International Ascochyta Workshop on Grain Legumes.Paris,France.
- Ozkilinc, H., Can C., Kahraman A., Peever T. L. (2006). Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki *Ascochyta rabiei* izolatlarını eşeyssel tip dağılımı ve *MAT* lokusunun sekans analizleri ile moleküler evrimine yaklaşım. 18. Ulusal Biyoloji Kongresi. Kuşadası/Aydın. Sf. 47-8
- Can, C., Ozkilinc H., Kahraman, A. and Iskender E. (2005). Population analyses of *Ascochyta rabiei*; the agent of Ascochyta blight of chickpea. International Congress of Physiology, Biochemistry and Ecology of Microorganisms, 2005, Baku, Azerbaijan. Pp. 183-190.