

T.C.  
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ÜLKEMİZDEKİ TESCİLLİ NOHUT ÇEŞİTLERİ İLE BAZI  
ULUSLARARASI ISLAH HATLARININ NOHUT YANIKLIK  
ETMENİ *Ascochyta rabiei*'ye KARŞI DAYANIKLILIK  
DURUMUNUN MARKÖR DESTEKLİ SELEKSİYON VE  
KLASİK REAKSİYON TESTLERİ İLE BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HÜSEYİN KABAKCI

BOLU, AĞUSTOS - 2019

T.C.  
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI



ÜLKEMİZDEKİ TESCİLLİ NOHUT ÇEŞİTLERİ İLE BAZI  
ULUSLARARASI ISLAH HATLARININ NOHUT YANIKLIK  
ETMENİ *Ascochyta rabiei*'ye KARŞI DAYANIKLILIK  
DURUMUNUN MARKÖR DESTEKLİ SELEKSİYON VE  
KLASİK REAKSİYON TESTLERİ İLE BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HÜSEYİN KABAKCI

BOLU, AĞUSTOS - 2019

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Hüseyin KABAKCI tarafından hazırlanan “ÜLKEMİZDEKİ TESCİLLİ NOHUT ÇEŞİTLERİ İLE BAZI ULUSLARARASI ISLAH HATLARININ NOHUT YANIKLIK ETMENİ *Ascochyta rabiei*'ye KARŞI DAYANIKLILIK DURUMUNUN MARKÖR DESTEKLİ SELEKSİYON VE KLASİK REAKSİYON TESTLERİ İLE BELİRLENMESİ” adlı tez çalışması Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda 20.08.2019 tarihinde savunularak **Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü** Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

Danışman  
Doç. Dr. Göksel ÖZER  
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye  
Prof. Dr. M. Erhan GÖRE  
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye  
Doç. Dr. Nedim ALTIN  
Düzce Üniversitesi

### İmza

  
.....

  
.....

  
.....

Prof. Dr. Ömer ÖZYURT   
.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



**Eşime,**

## ETİK BEYAN

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Hüseyin KABAKCI



## ÖZET

**ÜLKEMİZDEKİ TESCİLLİ NOHUT ÇEŞİTLERİ İLE BAZI  
ULUSLARARASI ISLAH HATLARININ NOHUT YANIKLIK ETMENİ  
*Ascochyta rabiei*'ye KARŞI DAYANIKLILIK DURUMUNUN MARKÖR  
DESTEKLİ SELEKSİYON VE KLASİK REAKSİYON TESTLERİ İLE  
BELİRLENMESİ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
HÜSEYİN KABAKCI  
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI  
(TEZ DANIŞMANI: DOÇ.DR. GÖKSEL ÖZER)**

**BOLU, AĞUSTOS - 2019**

*Ascochyta* yanıklığı dünyada ve ülkemizde nohutun en önemli hastalıklarından birisidir. Hastalık patojeni *Ascochyta rabiei* belirli çeşitlerde gösterdiği reaksiyona göre birbirlerinden ayrılabilen dört patotipe sahiptir. Bu patojene karşı farklı dayanıklılık kaynakları mevcuttur. Bu dayanıklılık kaynakları ile ilişkilendirilmiş SCAE19, SCY17, SCK13 SCAR markörleri, CaETR Fw-Rev 1, CaETR Fw-Rev 1-Rev 2 allel spesifik markörler, GAA47 ve TA146 STMS markörleri dayanıklı nohut ıslahı çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Gerçekleştirilen bu çalışmada ülkesel olarak yaygın yetiştirilen nohut çeşitleri ve dünya genelinde patojen izolatlarının fenotipik karakterizasyonu için kullanılan ayırıcı çeşit genotiplerinin patojen patotiplerine olan dayanıklılık durumları belirlenmiştir. Ayrıca çeşit ve genotiplerin dayanıklılık durumları belirtilen markörler ile karakterize edilmiştir. Testlemeler sonucunda çeşit ve genotipler içerisinde patotip I, II, III ve IV'e dayanıklı birey sayıları sırasıyla 35, 19, 5 ve 2 olarak gerçekleşmiştir. ARDA çeşidinin ve ICC 3996 genotipinin 4 patotipin hepsine birden dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Korelasyon analizi sonucu patotip I ve patotip IV'e karşı fenotipik dayanıklılıkla ilgili tek başına bir markör korelasyonu bulunamamıştır. Bununla birlikte GAA47 STMS markörünün SCAE19, SCY17 ve SCK13 markörü ile değerlendirilmesinin sonucu elde edilen verinin patotip I'e karşı dayanıklılıkla  $p \leq 0,05$  seviyesinde önemli bir korelasyon bulunduğunu göstermiştir. Patotip II'ye karşı dayanıklılıkla SCY17, SCAE19, SCK13 ve TA146 markörleri arasında  $p \leq 0,01$  düzeyinde önemli bir korelasyon bulunmuştur. Patotip III' e karşı fenotipik dayanıklılıkla SCY17 dışındaki markörler arasında  $p \leq 0,05$  seviyesinde bir önemli korelasyon bulunmuştur. Tüm patotiplere karşı dayanıklılıkla ilişkili bir markör tespit edilmemiştir. Patotip III ve IV izolatlarının gittikçe yaygınlaşması nedeni ile bu patotiplerle dayanıklılıkla ilişkili markör belirleme çalışmaları kritik öneme sahiptir.

**ANAHTAR KELİMELER:** Nohut, *Ascochyta rabiei*, Dayanıklılık, Moleküler markörler, Patotip

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF THE RESISTANCE TO CHICKPEA BLIGHT CAUSED BY *Ascochyta rabiei* IN NATIONAL REGISTERED CHICKPEA GENOTYPES AND SOME INTERNATIONAL BREEDING LINES BY MARKER-ASSISTED SELECTION AND CLASSICAL REACTION TESTS

MSC THESIS

HÜSEYİN KABAKCI

BOLU ABANT IZZET BAYSAL UNIVERSITY GRADUATE SCHOOL OF  
NATURAL AND APPLIED SCIENCES  
DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION  
(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. GÖKSEL ÖZER )

BOLU, AUGUST 2019

*Ascochyta* blight is one of the most important diseases of chickpea in the world and in our country. The pathogen, *Ascochyta rabiei*, has four pathotypes that can be separated from each other according to their reaction to certain varieties. There are different sources of resistance to this pathogen. The SCARE19, SCY17, SCK13 SCAR markers, CaETR Fw-Rev 1, CaETR Fw-Rev 1-Rev 2 allele specific markers, GAA47 and TA146 STMS markers associated with these resistance sources are frequently used in resistant chickpea breeding studies. In this study, the resistance characteristics of the chickpea varieties commonly grown in Turkey and genotypes widely used for phenotypic characterization of pathogen isolates were determined with molecular markers and pathogenicity assays. In addition, the resistance status of the varieties and genotypes was characterized by the markers. As a result of the tests, the numbers of individuals resistant to pathotypes I, II, III and IV were 35, 19, 5 and 2, respectively. ARDA variety and ICC 3996 genotype were found to be resistant to all 4 pathotypes. Correlation analysis revealed no marker correlation for phenotypic resistance to pathotype I and IV. However, the data obtained as a result of the evaluation of the GAA47 STMS marker combining with the SCARE19, SCY17 and SCK13 marker showed a significant correlation with the resistance to pathotype I at  $p \leq 0.05$ . Significant correlations were found between resistance to pathotype II and markers SCY17, SCARE19, SCK13 and TA146 at  $p \leq 0.01$  and between phenotypic resistance to pathotype III and the markers except from SCY17 at  $p \leq 0.05$ . No marker associated with resistance to all pathotypes has been identified. Because of the increasing prevalence of pathotypes III and IV, marker identification studies related to resistance to these pathotypes are critical.

**KEYWORDS:** Chickpea, *Ascochyta rabiei*, Resistance, Molecular markers, Pathotyping

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

ÖZET .....	VI
ABSTRACT .....	VII
İÇİNDEKİLER.....	VIII
ŞEKİL LİSTESİ .....	IX
ÇİZELGE LİSTESİ .....	X
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ.....	XI
TEŞEKKÜR.....	XII
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. KURUMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLER.....</b>	<b>5</b>
2.1 <i>Ascochyta rabiei</i> .....	5
2.2 <i>Ascochyta rabiei</i> patojenisite ve patotip ayrımı ile ilgili çalışmalar .....	9
2.3 Nohutta <i>Ascochyta rabiei</i> 'ye karşı dayanıklılıkla ilgili gerçekleştirilen moleküler markör çalışmaları .....	12
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>20</b>
3.1 Materyal .....	20
3.1.1 Test bitkilerinin temini .....	20
3.1.2 <i>Ascochyta rabiei</i> izolatlarının temini.....	22
3.1.3 İzolatların geliştirilmesinde kullanılan besi ortamları .....	22
3.1.4 DNA izolasyonlarında kullanılan fresh buffer .....	22
3.2 Yöntem .....	23
3.2.1 Nohut bitkilerinin yetiştirilmesi .....	23
3.2.2 <i>Ascochyta rabiei</i> izolatlarının geliştirilmesi .....	25
3.2.3 <i>Ascochyta rabiei</i> izolatlarından spor süspansiyonu hazırlanması ....	27
3.2.4 Klasik patojenisite testleri .....	27
3.2.5 Markör destekli seleksiyon için yetiştirilen bitkilerden DNA izolasyonu yapılması.....	27
3.2.6 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR = Polymerase Chain Reaction).....	28
3.2.7 Agaroz Jel Elektroforez .....	31
3.2.8 Jellerin görüntülenmesi .....	32
3.2.9 Genotipik karakterizasyon değerlendirmesi .....	33
3.2.10 Fenotipik karakterizasyon değerlendirmesi .....	33
3.2.11 İstatistiksel analizler .....	34
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>35</b>
4.1 Genotipik karakterizasyon.....	36
4.2 Fenotipik karakterizasyon (Klasik reaksiyon testleri) .....	49
4.3 İstatistiksel analizler .....	55
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>59</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>61</b>
<b>7. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>67</b>



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

<b>Şekil 1.1.</b>	Ülkemizde yıllara göre nohut üretimi.....	2
<b>Şekil 2.1.</b>	Nohutta <i>Ascochyta</i> yanıklığının oluşum döngüsü.....	8
<b>Şekil 3.1.</b>	Denemelerde kullanılan desi tipi ve kabuli tipi nohut tohumlarından örnekler.....	20
<b>Şekil 3.2.</b>	Nohut tohumlarına yüzey sterilizasyonu uygulaması.....	24
<b>Şekil 3.3.</b>	Nohut tohumlarının ekim aşamaları.....	25
<b>Şekil 3.4.</b>	<i>Ascochyta rabiei</i> 'nin farklı ortamlarda ve farklı ekiliş yöntemlerinde gelişimi.....	26
<b>Şekil 3.5.</b>	Bantların görünür hale getirilmesi ve görüntülenmesi.....	32
<b>Şekil 4.1.</b>	Spektrofotometre ölçüm örneği.....	36
<b>Şekil 4.2.</b>	SCAE19 primeri ile yapılan PCR sonucu ortaya çıkan bantların jel elektroforez görüntüsü.....	39
<b>Şekil 4.3.</b>	SCY17 primeri ile yapılan PCR sonucu ortaya çıkan bantların jel elektroforez görüntüsü.....	40
<b>Şekil 4.4.</b>	SCK13 primeri ile yapılan PCR sonucu ortaya çıkan bantların jel elektroforez görüntüsü.....	41
<b>Şekil 4.5.</b>	CaETR Fw+Rev 1 primeri ile yapılan PCR sonucu ortaya çıkan bantların jel elektroforez görüntüsü.....	42
<b>Şekil 4.6.</b>	CaETR Fw+Rev 1+Rev 2 primeri ile yapılan PCR sonucu ortaya çıkan bantların jel elektroforez görüntüsü.....	43
<b>Şekil 4.7.</b>	GAA47 primeri ile yapılan PCR sonucu ortaya çıkan bantların jel elektroforez görüntüsü.....	44
<b>Şekil 4.8.</b>	TA146 primeri ile yapılan PCR sonucu ortaya çıkan bantların jel elektroforez görüntüsü.....	45
<b>Şekil 4.9.</b>	Türk çeşitlerinin patotip reaksiyonları.....	51
<b>Şekil 4.10.</b>	Uluslararası nohut hatlarının patotip reaksiyonları.....	52

## ÇİZELGE LİSTESİ

### Sayfa

Çizelge 1.1. Ülkelerin nohut üretimi .....	2
Çizelge 2.1. Ascochyta yanıklığı direnci için yapılan çalışmalarda kullanılan QTL'ler ve haritanın bağlantı gruplarını atanmasını sağlayan markörler .....	6
Çizelge 3.1. Denemelerde kullanılan tescilli nohut çeşitleri .....	21
Çizelge 3.2. Denemelerde kullanılan uluslararası ayırıcı set çeşit/genotipleri .....	22
Çizelge 3.3. Kullanılan besiyerleri ve içerikleri .....	23
Çizelge 3.4. DNA izolasyonlarında kullanılan fresh buffer içeriği .....	23
Çizelge 3.5. Primerlara ait bazı bilgiler .....	29
Çizelge 3.6. PCR'a konulacak mix malzemeleri ve miktarları.....	30
Çizelge 3.7. Çalışmamızda kullanılan primerlerin amplifikasyon koşulları.....	31
Çizelge 3.8. Agaroz jel.....	31
Çizelge 3.9. Hastalık şiddeti değerlendirme skalası .....	33
Çizelge 4.1. Örneklerin spektrofotometre ölçüm verileri .....	37
Çizelge 4.2. Araştırmamızda kullanılan nohut çeşit ve genotiplerinin elektroforez jel görüntülerindeki sıralaması .....	38
Çizelge 4.3. Markörlerin skor değerleri.....	46
Çizelge 4.4. Klasik reaksiyon testleri patotip I ve patotip II sonuç verileri.....	49
Çizelge 4.5. Klasik reaksiyon testleri patotip III ve patotip IV sonuç verileri .....	50
Çizelge 4.6. Patojenisite sonuçları patotip I ve patotip II .....	56
Çizelge 4.7. Patojenisite sonuçları patotip III ve patotip IV .....	57
Çizelge 4.8. Patotiplere karşı fenotipik dayanıklılık ile markörler arasındaki korelasyon .....	58
Çizelge 4.9. Patotip I'e karşı fenotipik dayanıklılık ile GAA47 markörünün diğer markörlerle olan "veya" kombinasyonunun korelasyonu .....	58

## KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

<b>CTAB</b>	: Setrimonyum bromür
<b>CSMDA</b>	: Chickpea Seed Meal Dekstroz Agar (Nohut-Unu-Dekstroz-Agar)
<b>EDTA</b>	: Etilendiamin tetra asetik asit
<b>HCl</b>	: Hidroklorik asit
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	: Potasyum dihidrojen fosfat
<b>NaCl</b>	: Sodyum klorür
<b>MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O</b>	: Magnezyum sülfat hepta hidrat
<b>ISSR</b>	: Inter Simple Sequence Repeats (Basit Sekans Tekrarları Arası Polimorfizm)
<b>LG</b>	: Linked Group (Bağlantı grubu)
<b>LSD</b>	: Least Significant Differences (En küçük anlamlı farklar testi)
<b>MAS</b>	: Marker-Assisted Selection (Markör Destekli Seleksiyon)
<b>MAT</b>	: Mating type (Eşleşme tipi)
<b>NaCl</b>	: Sodyum klorür
<b>NaOCl</b>	: Sodyum hipoklorit
<b>QTL</b>	: Quantitative Trait Loci (Kantitatif Özellik Lokusu)
<b>PVP40</b>	: Polivinilpirolidon
<b>PC</b>	: Pearson korelasyon
<b>RAPD</b>	: Random Amplified Polymorphic DNA (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA)
<b>RGA</b>	: Resistant Gene-Analog (Dayanıklılık Geni Analog)
<b>RIL</b>	: Recombinant Inbred Line (Rekombinant Doğal Hat)
<b>SCAR</b>	: Sequence-Characterized Amplified Region (Sekanslarla Karakterize Edilen Büyütülmüş Bölge)
<b>SSR</b>	: Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları)
<b>STMS</b>	: Sequence-Tagged Microsatellite Site (Sekans Etiketli Mikrosatellit Bölge)

## TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında bilgi ve tecrübesini esirgemeyen, yakın ilgi ve büyük desteğini gördüğüm, mesleğimde ilerlememi sağlayan saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Göksel ÖZER'e bana kattığı tüm değerler için sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tezimin her aşamasında ve her konuda desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Mehmet Erhan GÖRE'ye teşekkürlerimi sunarım. Tezimin her aşamasında ihtiyaç duyduğum her anda yardımlarını esirgemeyen ve içtenlikle yardımına koşan değerli arkadaşlarım Tolga YAMAN ve Mehtap ALKAN'a ve tezimin düzenlenmesinde özveriyle yardımcı olan Arş. Gör. Emrah GÜLER'e teşekkür ederim.

Uluslararası ıslah hatlarının temininde yardımcı olan Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı Tarımsal Araştırma Servisine (USDA-ARS) ve araştırmamızdaki *Ascochyta rabiei* izolatlarını bizlere sağlayan Prof. Dr. Canan CAN'a (Gaziantep Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı) teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında ve tezim boyunca gösterdiği anlayış, destek ve yardımları için sevgili eşim Dr. Sümeyye KABAKCI'ya, ayrıca hayatımın her aşamasındaki destekleri, sevgi ve güvenleri için anneme, babama ve kardeşime çok teşekkür ederim.

# 1. GİRİŞ

Nohut (*Cicer arietinum* L.  $2n = 2x = 16$ ) kendi kendine döllen, tek yıllık yemeklik tane baklagillerden birisi olup (Millan vd., 2006); kuru fasulyeden sonra en çok yetiştirilen yemeklik tane baklagil çeşididir (Varshney vd., 2012). Botanik, genetik ve arkeolojik kanıtlar, nohutun anavatanı olarak Türkiye'yi işaret etmektedir (Lev-Yadun vd., 2000). Bununla birlikte günümüzde asya kıtası başta olmak üzere dünyada 6 kıta ve 54 ülkede yetiştiriciliği gerçekleştirilmekte olup; üretimin %80'ini geliştirmekte olan ülkeler sağlamaktadır (Gaur vd., 2012).

Nohut önemli bir protein (%19.9-27.3), yağ (%4.2-6.3), lif (%2.0-4.2), nişasta (%48-58) ve mineral (magnezyum, fosfor, kalsiyum, çinko ve demir) içeriğine sahip olup; insan beslenmesinde ve hayvan yemi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Jood vd., 1998; İbrikci vd., 2003). Ayrıca; köklerindeki mutualistik olarak gelişen bakteriler sayesinde toprağa önemli miktarda azot bağladığı için ekim nöbetlerinde kendisinden sonra gelecek kültür bitkileri için daha iyi toprak koşulları sağlamaktadır (Elkoca vd., 2007).

Nohut, tohum rengi ve boyutuna göre dayandırılarak iki gruba ayrılmaktadır ve bu tiplerin dünya üzerindeki coğrafik dağılımı değişkenlik göstermektedir (Bampidisa ve Christodoulou, 2011). Tohumları kahverengi, siyah veya yeşil renkte ve genellikle küçük boyutlu olan grup "Desi" olarak adlandırılmakta (Iliadis, 2001) ve çoğunlukla Hindistan ve Afrika'da yetiştirilmektedir (Frimpong vd., 2009). Beyazdan krem rengine kadar değişen renklere sahip olan ve "Kabuli" olarak isimlendirilen diğer grup ise, daha iri tanelere sahiptir ve ekilişi büyük ölçüde Batı Asya, Kuzey Afrika, Kuzey Amerika ve Avrupa'da yaygınlık göstermektedir (Jukanti vd., 2012).

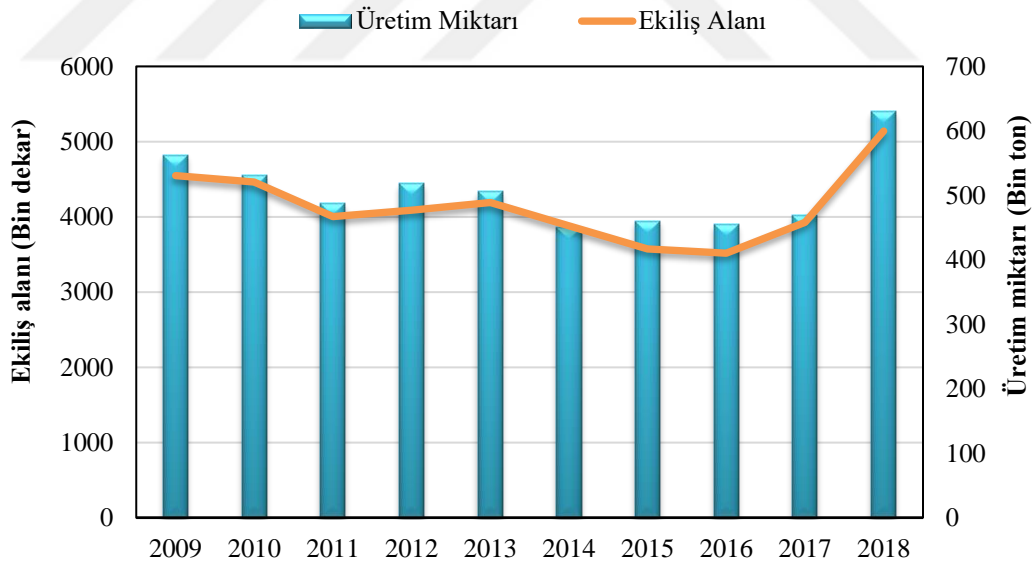
2017 verilerine göre, Dünya'da yaklaşık 146 milyon dekar alanda nohut üretimi gerçekleştirilirken; üretim ve verim değerleri yaklaşık olarak sırasıyla 14.8 milyon ton ve 101.5 kg/da olarak gerçekleşmiştir. Bu üretimin %73.5'i Asya'da gerçekleştirilirken; Avrupa sadece bu üretimin %3.8'ini karşılamaktadır. 2017 yılı verilerine göre, dünya nohut üretiminde %61.41'lik üretim pay ile Hindistan dünya üretiminde birinci sırada yer almaktadır. Nohut üretiminde Hindistan'ı, sırasıyla,

Avustralya (%13.56), Myanmar (%3.56) ve Etiyopya (%3.2) takip etmektedir. Ülkemiz ise, %3.18'lik payla dünya üretiminde 5. sırada yer almaktadır (Çizelge 1.1) (FAOSTAT, 2019).

**Çizelge 1.1.** 2017 yılı önemli miktarda nohut üreten ülkeler

Ülke	Üretim (ton)	Ülke	Üretim (ton)
1 Hindistan	9.075.000	6 Rusya	418.646
2 Avustralya	2.004.000	7 Pakistan	330.000
3 Myanmar	526.772	8 Amerika	313.210
4 Etiyopya	473.570	9 İran	271.487
5 Türkiye	470.000	10 Meksika	188.939

Ülkemizde son 10 yılda üretim istatistikleri yıllara göre önemli miktarda değişim göstermekle birlikte, 2018 yılında ortalama olarak, 5.141 bin dekar alanda 123kg/da verim ile 630 bin ton nohut üretimi gerçekleşmiştir (Şekil 1.1). Nohut üretiminin en fazla olduğu ilk beş il ise, sırasıyla, Kırşehir (%10.4), Ankara (%9.4), Yozgat (%8.1), Konya (%6.8) ve Kırıkkale (%6.8)'dir (TÜİK, 2018).



**Şekil 1.1.** Ülkemizde yıllara göre nohut üretimi.

Günümüzde nohut üretimi dünya genelinde potansiyelinin altındaki bir verimle (101.5 kg/da) gerçekleşmektedir (Reddy ve Singh, 1984; Singh vd., 1994). Nohut bitkisi, diğer kültür bitkileri gibi gelişimini ve büyümesini engelleyen, üretimini sınırlandıran ve genetik olarak potansiyel verim değerlerine ulaşmasını engelleyen

stres faktörlerinin tehdidi altındadır. Bunlar, biyotik ve abiyotik faktörler olmak üzere iki ana başlık altında toplanmaktadır. Nohut bitkisi tüm gelişme dönemlerinde abiyotik faktörler olarak kuraklık, aşırı sıcaklık ve soğukluk, tuzluluk gibi olumsuz çevresel faktörlere maruz kalabilmektedir (Ahmad vd., 2005; Millan vd., 2006). Fungal, bakteriyel ve viral hastalık etmenleri, böcekler ve bitki paraziti nematodlar gibi biyotik faktörler ise, neden oldukları ekonomik kayıplardan dolayı, nohut üreticisi ülkeler tarafından mücadele programları düzenlenmesi zorunlu olan unsurlar olarak ortaya çıkmaktadır (Basandrai vd., 2011).

Günümüze kadar nohut tarımını tehdit eden ve değişik düzeylerde verimi etkileyen 70’den fazla patojen türü rapor edilmiş olmakla birlikte, günümüzde bunlardan sadece birkaçı nohut üretiminde önemli kayıplara neden olmaktadır (Pande vd., 2010). Başlıca hastalıklar arasında toprak ve tohum kökenli bir etmen olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* Matuo & K. Sato neden olduğu Fusarium solgunluğu gelmektedir. Bu etmen özellikle kuru tarım yapılan yerlerde, ılıman ve sıcak mevsimlerde %10 ile %40 arasında değişen ürün kayıplarına neden olurken; çevre şartlarının uygun seyretmesi durumunda bu kayıplar %100’e ulaşabilmektedir (Sharma vd., 2014; Li vd., 2015). Bununla birlikte bütün dünyada, özellikle serin ve nemli bölgelerde, uygun koşullar oluştuğunda ürünü tamamıyla tahrip eden *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. [teleomorph: *Didymella rabiei* (Kovatsch.) Arx] fungusunun neden olduğu Ascochyta yanıklığı diğer bir önemli hastalık olarak ortaya çıkmaktadır (Pande vd., 2005; Nene vd., 2012; Sharma ve Ghosh, 2016). Patojen, bitkinin toprak üstündeki tüm kısımlarına saldırmakta; yaprak ve bakla üzerinde dairesel, yaprak sapları ve gövdelerde uzayan nekrotik lezyonlar oluşturmakta ve bu lekeler, sap ve gövdeleri sardıklarında kırılmalara yol açmaktadırlar (Nene vd., 2012). Etmen heterothallic bir fungus olması nedeniyle hayat çemberinde eşeyli döneme geçebilmesi için uyumlu iki uyuşma tipine (mating type = MAT-1 ve MAT-2) ihtiyaç duymaktadır. Gerçekleştirilen birçok çalışma önemli miktarda üretime sahip ülkelerde her iki uyuşma tipinin varlığını doğrulamıştır (Trapero-Casas ve Kaiser, 1992; Kaiser ve Küsmenoğlu, 1997; Bayraktar vd., 2007).

*A. rabiei* izolatları arasında patojenik değişkenlik ilk defa Hindistan’da rapor edilmiş ve izolatlar arasındaki bu fenotipik varyasyonlar dünyada ekilişi gerçekleştirilen her alanda bildirilmiştir (Vir ve Grewal, 1974). Etmen izolatları belirli

bir set çeşit üzerinde gösterdikleri patojenik reaksiyona göre uzun seneler boyunca patotip I, II ve III olmak üzere 3 gruba ayrılmaktaydı (Udupa vd., 1998). Bununla birlikte son zamanlarda gerçekleştirilen bir çalışmada bu üç patotipten daha agresif olmak üzere dördüncü bir patotip grubun (patotip IV) ortaya çıktığı anlaşılmıştır (Imtiaz vd., 2011).

Dayanıklı çeşitlerin kullanımı bu hastalık ile mücadelede en pratik ve çevresel yöntem olması nedeni ile dayanıklı çeşit geliştirilmesi dünya çapında ıslah programlarının en önemli hedeflerinden birisi haline gelmiştir (Muehlbauer ve Singh, 1987; Reddy ve Singh, 1990). Islah çalışmaları sırasında elde edilen hatların dayanıklılık durumlarının belirlenmesi genellikle klasik patojenisite yöntemi ile gerçekleştirilmektedir. Bununla birlikte klasik olarak fenotipi belirleme çalışmaları oldukça zaman alıcı ve çevresel faktörlerden fazlası ile etkilenmektedir. Markör destekli seleksiyon (Marker-assisted selection = MAS), hem genotiplerdeki dayanıklılığı hızlı ve kolay bir şekilde belirlemesi hem de ıslah hatlarındaki dayanıklılığı çeşit geliştirme aşamasında izlenmesine olanak sağlamasından dolayı son zamanlarda oldukça yaygın bir kullanım alanı bulmaktadır. Bu amaçla, nohut genomundaki dayanıklılık lokusları ile ilişkilendirilmiş birçok markör geliştirilmiştir.

Gerçekleştirilen bu çalışma ile (I) ülkemizde yaygın olarak ekilişi gerçekleştirilen tescilli çeşitler ile virülenslik çalışmalarında dünyada yaygın şekilde kullanılmakta olan uluslararası ayırıcı setlere ait genotiplerin dayanıklılık durumları MAS markörleri ile karakterize edilmiş, (II) bu çeşit/genotiplerin dayanıklılık durumları, dört patotip grubuna ait referans izolatlar kullanılarak klasik patojenisite testleri ile ortaya konulmuş ve (III) MAS markörlerinin bu patotiplere karşı fenotipik dayanıklılıkla ilişkisi incelenmiştir.



## 2. KURUMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLER

### 2.1 *Ascochyta rabiei*

Nohutun en önemli patojenlerinden birisi olan *Ascochyta rabiei*, dünyada nohut ekilişi gerçekleştirilen her alanda yaygın olarak bulunmaktadır. Etmenin oluşturduğu yanıklık hastalığı küçük nekrotik lekelerle başlamakta ve uygun koşullarda lekeler birleşerek yaprak, dal ve bakla içinde fruktifikasyon organı olan piknitlerin yer aldığı büyük lezyonlar meydana getirmektedir. Şiddetli enfeksiyonlarda dal ve gövdede kırılmalar ile ani ölümler meydana getiren etmen ekonomik olarak önemli kayıplara yol açmaktadır. Mücadelede dayanıklı çeşit kullanımının öneminden dolayı konukçu-patojen ilişkisi de dikkate alınarak etmen izolatlarının fenotipik ayrımı ve dayanıklı çeşit ıslahına yönelik ülkemizde ve dünyada pek çok çalışma gerçekleştirilmiştir.

*A. rabiei* neden olduğu *Ascochyta* yanıklığı, nohutta görülen yıkıcı ve yaygın bir hastalıktır. Fenotipik tarama sonuçlarının farklı lokasyonlarda ve yıllarda yapılması nedeniyle, yanıklığa karşı direnç genetiği üzerine yapılan çalışmalarda tutarsız sonuçlara ortaya çıkmaktadır. Önceki çalışmaların çoğunda ırk ayrımı analizleri, F2 veya melezleme popülasyonlarına dayandırılmıştır. Bununla birlikte katılım şekillerinin zaman ve mekanlardaki tekrarlanabilirliğinin olmamasından dolayı doğrulanması zor olmuştur.

Gerek ölçümlerin zaman alıcı olması ve gerekse hastalık gelişimini etkileyen çevresel faktörlere bağlı olması nedenleriyle, *Ascochyta* yanıklığının geleneksel fenotipik seçim (Phenotypic Selection) ile ele alınması zor ve zaman alıcıdır. Çeşit geliştirilmesi sırasında yanıklık hastalığına karşı olan dayanıklılığı başarıyla aktarmak için, yetiştiriciler hem etkili hem de verimli ıslah yöntemlerine ihtiyaç duymaktadırlar. Markör destekli seleksiyon (MAS), dayanıklılık çalışmalarında seçimi kolaylaştırmak için ideal ve güvenilir bir araçtır. MAS'ın başarılı bir şekilde kullanılması için direnç özelliklerine bağlı olan markörler gerekmektedir. *Ascochyta* yanıklığı direnci için kantitatif özellik lokusları (Quantitative Trait Loci = QTL), farklı haritalama popülasyonları kullanılarak, 4 bağlantılı grup (Linkage grup = LG) nohut haritası [(LG4) (QTL<sub>AR1</sub> ve QTL<sub>AR2</sub>), LG2 (QTL<sub>AR3</sub>) ve LG3'ünde (QTL<sub>AR4</sub>)] üzerinde tespit edilmiş ve doğrulanmıştır (Çizelge 2.1).

**Çizelge 2.1.** Ascochyta yanıklığı direnci için yapılan çalışmalarda kullanılan QTL'ler ve haritanın bağlantı gruplarının atanmasını sağlayan markörler

Patotip	QTL Adı	İndikatör Markörler	LG	Kaynak*
te**	1	GAA47	4	Tekeoğlu vd. (2002)
te	2	TA72, GA2	4	
te	1	TS12b		Flandez-Galvez vd. (2003)
	2/3	TA3a/TA3b		
	4/5/6	TA30/TA146/TR20		
te	ar2	SC/OPK13	4	Millan vd. (2003)
		SC/OPM02		Iruela vd. (2006)
		TA72, TA146		
te	I	STMS11, GA2,	4	Rakshit vd. (2003)
		GAA47, TR20		
I	ar1	GA16	2	Udupa ve Baum (2003)
II	ar2a	GA16	2	
II	ar2b	TA130, TA72, TS72	4	
I	ar1a	GA20, GA16	2B-6B	Cho vd. (2004)
II	ar1b	TA37, TA200	2B	
II	ar2a	GA24, GAA47	4A	
te	1	STMS 11, GA2, TR20	4	Collard vd. (2001)
te	2	XLRRb <sub>280</sub>	4	
te	4.1	H3C041, TA2	4	Lichtenzweig vd. (2006)
	4.2	H1A12/H1H13, H1G20	4	
	8	H1C092, TA3/H3C11a	8	
II	1	TA64, TS19	3	Taran vd. (2007)
	2	TA2, TA146	4	
	3	TA80, TA22	6	
II	3	TA34, TA142	3	Aryamanesh (2007)
	4	STMS11, TAA170	4	
	4	H3D09, H1A12	4	
III	1	TA125, TA34	3	Kanouni vd. (2009)
	2	TA2, TA72	4	
	3	GA26, TA80	6	

\*Kanouni vd. (2011)

\*\*te: Tespit edilmemiş

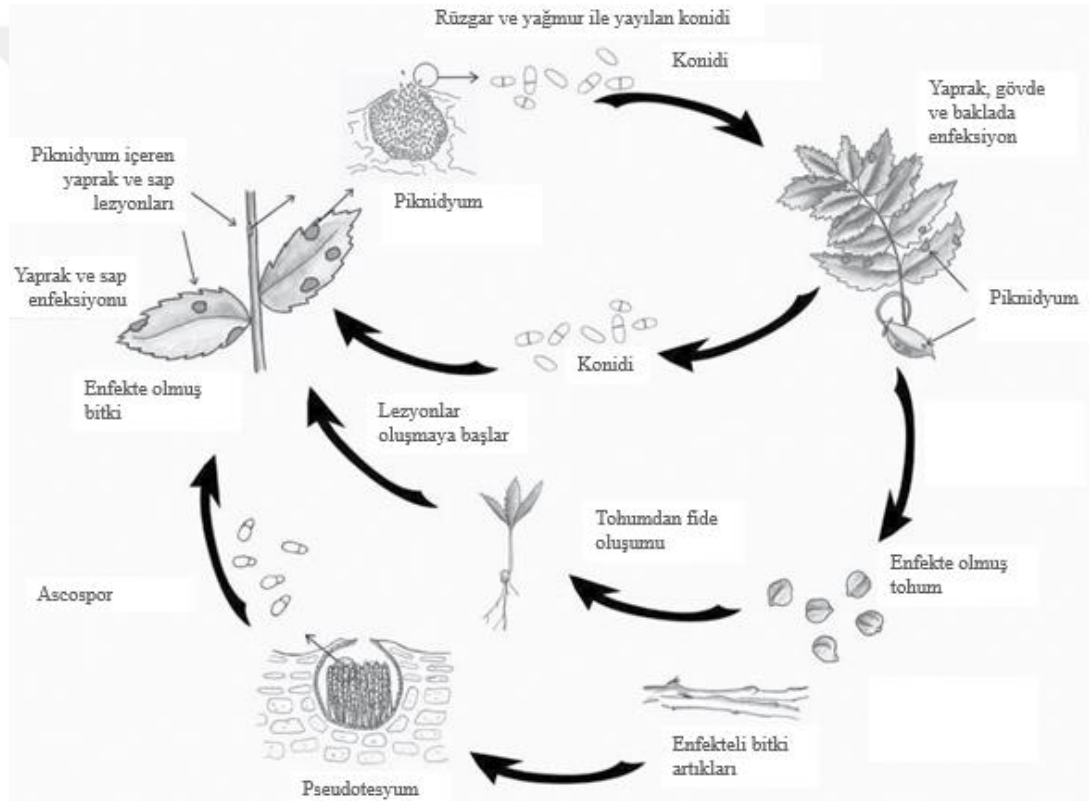
Bu gelişmeler, MAS'ın Ascochyta yanıklığına karşı direnç çalışmalarında kullanılmasının, nohut yetiştiriciliğinde üretimi büyük ölçüde hızlandıracağını ortaya koymaktadır. MAS kullanılarak dayanıklı çeşitlerin tespit edilmesi ve buna göre bir üretim planının yapılması sonucunda üretimde kayıplar azaltılabilir potansiyeli anlaşılmaktadır. MAS'ın bu amaçla kullanımını giderek artmaktadır. Ön deneme amaçlı

yapılan bazı çalışmalarda, ıslah programlarında MAS'ın potansiyel rolü incelenmiş ve bazı durumlarda MAS'ın kullanımının fenotipik seçim alternatiflerine göre, seçim verimliliğini arttırdığı ortaya konmuştur (Hospital vd., 1997; Knapp, 1998; Charmet vd., 1999; Moreau vd., 2000). MAS kullanımı, genetik yapının iyileştirilmesinin yanı sıra, ıslah sürecini hızlandırması, ıslah programının maliyetlerini, gerekli olan yıl sayısını ve ıslah için kullanılan popülasyon büyüklüğünü azaltması gibi avantajlara sahiptir (Yousef ve Juvik, 2001; Thomas, 2003).

Verim, bazı hastalık ve zararlılara karşı direnç, kalite, gibi birçok karakter kantitatif özellik lokusları tarafından kantitatif olarak kontrol edilmektedir. Uygun bir popülasyonda QTL analizi olarak bilinen yöntem ile, moleküler markörler kullanılarak belirli kromozom bölgesindeki ilgili genlerin yerleri saptanabilmekte, etkilerinin büyüklüğü tahmin edilebilmekte, gen etkisinin eklemeli veya baskın olup olmadığı belirlenebilmektedir. Bu genlerin genom içerisinde nerede olduklarını bilmek bitki ıslahı çalışmaları açısından oldukça önem taşımaktadır. Bu nedenle, üstün çeşitleri elde etmek için ıslah programlarındaki genlerin düzenlenmesi, gelecekteki genetik manipülasyonlara ve organizmalar arasında gen transferlerine olanak sağlayacaktır (Asins, 2002).

QTL'leri tespit etmek ve konumlandırmak, markör genotipleri ve bireylerin veya hatların fenotipik değerlerinin ortak analiziyle mümkündür. Bu lokusların ayrımı için kullanılabilir verilerin azlığı ile birlikte her bir genin fenotipik etkisinin karmaşık ve nispeten etkinliğinin az olmasından dolayı tanımlanması zordur. QTL analizi, bir veya daha fazla kantitatif özellikte farklılık gösteren ana hatların seçilmesi ve kantitatif özellik lokuslarının, bilinen DNA markörleriyle analiz edilmesini içermektedir. Örneğin, bu bilgi bir üreticinin dolaylı seçim yaparak üretim aşamasında avantaj sağlamasında kullanılabilir. Bahsedilen seçim (kısmen), moleküler markörlerin uygulanması yoluyla elde edilen genetik bilgiye dayandığında buna markör destekli seleksiyon denmektedir. Bu seleksiyon, bitki ıslahı çalışmalarını geliştirmek ve kaliteli ürün eldesini hızlandırmak için kullanılabilir. Ayrıca; maskelenmiş ve ilginç yabancı allellerin tespit edilmesini ve genetik materyalin, ilişkili ve ilişkisiz olduğu yabancı türlerden genlerin germplazm artırma ve ön yetiştirme gibi geleneksel yöntemlerin dezavantajları olmadan daha kolay bir şekilde kullanılmasını sağlamaktadır (Asins, 2002).

*Cicer arietinum* ve diğer *Cicer* türlerinde patojen olan *A. rabiei*'nin (Millan ve ark., 2003), heterotallik olduğu ve eşeyli döneme geçebilmesi için MAT-1 ve MAT-2 olmak üzere iki uyumlu eşleşme tipinin gerekli olduğu bildirilmiştir (Kaiser, 1997; Talei vd., 2008). Bu iki eşleşme tipinin varlığının seksüel rekombinasyonu sağladıklarını ve genetik çeşitliliğe yol açtığını belirtmişlerdir. Anamorf (aseksüel) evre, koyu kahverengi renkte küresel armut biçimli piknit varlığı ile; teleomorf (seksüel) evre ise, kışın nohut artıklarının üstündeki kahverengi-siyah pseudothecia ile tanımlanmaktadır. Ascus; silindirik, uç kısmı yuvarlak ve hafif kavisli bir yapıdadır (Kanouni vd., 2011). *A. rabiei*'nin nohutta Ascochyta yanıklığını oluşturma döngüsü Şekil 2.1'de verildiği gibi gerçekleşmektedir.



Şekil 2.1. Nohutta Ascochyta yanıklığının oluşum döngüsü (Cropro, 2019).

## 2.2 *Ascochyta rabiei* patojenisite ve patotip ayrımı ile ilgili çalışmalar

Chen vd. (2004), önceki çalışmalarda kullanılmış olan 22'si ayırıcı sette olmak üzere 48 nohut genotipi ile *A. rabiei*'nin patojenik varyasyon gösteren altı izolatu kullanılarak patojenisite çalışması gerçekleştirmiş ve altı izolatu önceden tanımlanmış sekiz ırkla kıyaslamışlardır. Ayırıcı çeşitlerin tanımlanmış ırklar ve izolatlar ile enfeksiyonu sonucunda birçoğunun benzer reaksiyon verdiği tespit edilmiş, araştırmacılar izolatlar arasındaki ırk/patotip tanımlanmasında gerekli olan ayırıcı setteki çeşit sayısının önemli derecede azaltılabileceğini önermişlerdir. Amerikan izolatları arasındaki patojenik varyasyonun izolatları iki patotip içerisinde gruplandırmaya elverişli olduğunu bildirmişlerdir. Patojenik tepkideki belirgin farklılık, nohut bitkilerinin dayanıklılık mekanizmalarının farklı genetik kaynaklara dayandığına işaret etmişlerdir. PI 559361, PI 559363 ve W622589 nohut hatlarının her iki patotipe karşı oldukça yüksek dayanıklılık gösterdiğini ve nohut ıslah programlarında dayanıklılık kaynağı olarak kullanılması gerekliliği belirtilmiştir.

Cho vd. (2004) nohut bitkilerinde *A. rabiei*'nin patotiplerine bağlı dayanıklılığın genetik mekanizmasını incelemek için PI 359075 (hassas) × FLIP84-92C(2) (dayanıklı) melezlemesinden elde edilmiş olan F7 RIL'ları patotip I ve patotip II ile enfekte etmişlerdir. Ayrıca; aynı RIL'ları ile 53 Sekans Etiketli Mikrosatellit Bölge (Sequence-Tagged Microsatellite Site = STMS) markörü kullanarak türler arası genetik bağlantı haritası oluşturulmuştur. Patotip II'ye dayanıklılıkla ilgili bağlı grup (Linkage Group = LG) 4A üzerinde bir QTL ve patotip I'e dayanıklılıkla ilgili LG2+6 üzerinde iki QTL tespit edilmiştir. Patotip I'e karşı kantitatif direncin büyük bir çoğunluğu ar19 (veya ar21d) olarak adlandırılan bir gen ile açıklanabileceğini ifade etmişlerdir. Ayrıca; ar19 geninin *A. rabiei*'nin her iki prototipine karşı direnç için, LG4A'da patotip II'ye karşı dayanıklılıkla ilişkili olan QTL ile birlikte olması gerektiği sonucuna varmışlardır.

Düzdemir ve Yanar (2007) Tokat (3 lokasyon) ve Amasya (1 lokasyon)'da 11'i tescilli olmak üzere 15 nohut çeşidinin *Ascochyta* yanıklığına karşı dayanıklılık ve verim durumlarını incelemişlerdir. Lokasyonlar arasında dayanıklılık farklılığı olduğu gözlemlenmiş, lokasyonun birinde hastalık şiddetinin yüksek olduğu görülen bir çeşidin diğer lokasyonda hastalık şiddetinin düşük olduğu tespit edilmiştir. Dört

lokasyonun hepsinde birden dayanıklılık özelliği gösteren bir çeşit bulunamamış ancak 1-9 skalasına göre yapılan hastalık şiddeti değerlendirmesi ile tane verimi dikkate alınarak ortak bir değerlendirme yapılmış ve Er 99, Gökçe, ve Akçin 91 tescilli çeşitlerinin *Ascochyta* yanıklığına toleranslı olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Türkkan ve Dolar (2009) tarafından yapılan çalışmada Türkiye’de farklı ekim alanlarında yetiştirilmiş nohut bitkilerinden 64 *A. rabiei* izolatu elde edilmiş ve bu izolatların 7 nohut genotipi (ICC 1903, ILC 1929, F8, ILC 3279, ILC 482, ICC 3996 ve ILC 249) üzerine etkisi incelenmiştir. İzolatların hem patotip ayrımı hemde ırk ayrımı gerçekleştirilmiş olup; tüm izolatlar 6 ırk ve 3 patotip içerisinde sınıflandırılmıştır. Böylelikle tespit edilmiş olan bütün patotip ve ırkların Türkiye’deki varlığı teyit edilmiştir. Bu izolatların 38’i patotip I, 3’ü patotip II ve 23’ü ise, patotip III olarak belirlenmiştir. Virülensliği en yüksek olan izolatların patotip 3 ve ırk 5 ile ırk 6 grubuna dahil olduğu bildirilmiştir. İzolatlar içerisinde virülensliği en yüksek bulunanlar Irk-5 ve Irk-6 ile patotip III grubuna dahil olduğu anlaşılmıştır.

Imtiaz vd. (2011), Uluslararası Kurak Alanlarda Tarımsal Araştırma Merkezi (International Center for Agricultural Research in the Dry Areas = ICARDA) tarafından elde edilen izolatlar ile yürüttükleri çalışmada Udupa vd. (2003)’nin belirlediği 3 patotipe ek olarak popülasyonlarda yeni ve oldukça virulent bir patotipin oluştuğunu belirleyerek patotip IV olarak isimlendirmişlerdir. Patotiplerin ayırımı ayırıcı set olarak ILC 1929, ILC 482, ILC 3279 ve ICC 12004 genotipleri belirlemişler ve patotip IV’ün tüm genotipleri oldukça şiddetli derecede hastalandırıldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar patotip IV’ü kontrol etmek için yabancı gen havuzlarının daha fazla araştırılmasına ek olarak, ıslah programlarına patotip IV’e ait izolatlarında eklenmesi gerekliliğinden bahsetmişlerdir.

Akalın vd. (2011) Menemen 92, Canitez 87, Gökçe nohut çeşitleri ile 47 nohut genotipini *Ascochyta* yanıklığına karşı incelemişlerdir. 2004-2005 yıllarında gerçekleştirilen çalışmalarda 2004 yılında *Ascochyta* yanıklığı gözlemlenmemiş, ancak; 2005 yılında yoğun bir enfeksiyon gerçekleşmiştir. Hastalık reaksiyonları bakımından ciddi farklılıkların ortaya çıktığı bildirilen çalışmada Gökçe, Menemen 92 ve Canitez 87 tescilli nohut çeşitlerinin çok hassas olduğu tespit edilmiş olup; Canitez 87 çeşidinde %100 ürün kaybı meydana geldiği aktarılmıştır. F95-51C, F98-228C, F94-90C genotipleri başta olmak üzere toplamda 10 genotipin hastalık şiddeti

değerleri, 1-9 değerlendirme skalasında, 1-2 arasında değişen değerler olarak en dayanıklı grubu oluşturmuştur. 24 genotip 2-5,3 arasında, 4 genotip 6-8.1 arasında değerler almış 7 genotip ve 3 çeşit ise, 9 değeri olarak çok hassas olarak değerlendirilmiştir.

Atik vd. (2013) Basit Dizi Tekrarları (Simple Sequence Repeats = SSR) markörü ve mating type markörleri kullanarak Suriye'nin 9 şehrinden elde edilmiş olan 133 *A. rabiei* izolatu arasındaki genetik farklılığı incelemiştir. Ayrıca; 5 nohut genotipi kullanarak farklı grupları temsilen 56 izolatu fenotipik olarak karakterize etmişlerdir. Oluşan genetik farklılığın %87'si popülasyonlar içi genetik farklılıktan meydana gelmiş iken %17'sinin ise popülasyonlar arası genetik farklılıktan kaynaklandığı anlaşılmıştır. Temel bileşen analizi (Principal Component Analysis) sonucu, Aleppo, Idlib, Hama, Homs ve Hassakeh illerinden elde edilmiş izolatları aynı grupta yer alırken; Daraa ve Tartous illerinden elde edilen izolatlar ayrı bir grup oluşturmuştur. Lattakia ve Suweida illerinden elde edilen izolatlar ise, diğer ikisinden oldukça uzak bir grup meydana getirmiştir. Fenotipik incelemeleri gerçekleştirilen 56 izolat ayırıcı stetteki genotiplerde oluşturduğu farklı derecelerdeki hastalandırma kabiliyetlerine göre dört patotipik grup içerisinde sınıflandırılmış ve bunlar patotip I (12 izolat), patotip II (13 izolat), patotip III (5 izolat) ve patotip IV (26 izolat) olarak isimlendirilmiştir. Araştırmacılar zamanla Suriye izolatlarının agresiflik seviyelerinde artış olduğuna dair bulgular elde etmişlerdir. Oluşan ve daha agresif patotipler olarak ortaya çıkan yeni izolatların ıslah çalışmalarına dahil edilmesine yönelik tavsiyede bulunmuşlardır.

Hamwieh vd. (2013) uluslararası 43 farklı nohut genotipinin kontrollü koşullarda *A. rabiei*'ye karşı dayanıklılık durumlarını belirlemişlerdir. Çalışmalarında patotip I, II ve III'ü kullanmışlardır. Ayrıca; nohut genotiplerinin 14 mikrosatellite markörü kullanarak karakterize edilmiş ve dayanıklılıkla ilgili QTL'ler çalışma kapsamında incelenmiştir. Fenotipik değerlendirmeler sonucunda 27 genotipin patotip I'e karşı, 14'ünün patotip II'ye karşı ve 5'inin ise, patotip III'e karşı dayanıklı olduğu bulunmuştur. Genetik çalışmalarda markör başına 4.8 olmak üzere 14 mikrostallite markörüne karşılık 67 allel çoğaltılmıştır. Bu lokusların analizleri sonucu genotipler 4 farklı grup (A, B, C ve D) altında sınıflandırılmıştır. Buna rağmen spesifik bir patotipe dayanıklı bireyler bir grup içerisinde ayrılmamıştır.

Şahin (2015) İç Anadolu Bölgesi'nde nohut yetiştiriciliği yapılan 10 ilden topladığı hastalıklı nohut örneklerinde *A. rabiei*'nin hangi patotiplerinin yetiştirme alanlarında bulunduğunu ve meydana getirdiği hastalık şiddetlerini araştırmıştır. Hastalık şiddetinin en yüksek olduğu ilin Eskişehir ve en düşük olduğu ilin ise Çankırı olduğunu tespit etmiştir. *A. rabiei*'nin patotiplerinin belirlenmesi için 62 izolat değerlendirilmiş; bunlardan 17'sinin patotip I, 15'inin patotip III, 13'ünün patotip IV ve 6'sının patotip II grubuna dahil olduğu bildirilmiştir. Bütün patotiplerin varlığının tespit edildiği il Ankara olur iken tek bir patotipin (patotip I) tespit edildiği il ise Kırıkkale olmuştur. Çalışmada patotip tanımlamasının yanısıra eşleşme tipi varlığı da incelenmiş, örnek toplanan 10 ilde de iki eşleşme tipinde varlığı tespit edilmiştir.

### **2.3 Nohutta *Ascochyta rabiei*'ye karşı dayanıklılıkla ilgili gerçekleştirilen moleküler markör çalışmaları**

Tekeoğlu vd. (2000) tarafından yapılan çalışmada, rekombinant doğal hat (recombinant inbred line, RIL) popülasyonları kullanarak, nohuttaki *Ascochyta* yanıklığına karşı direnç kalıtımı belirlenmiştir. Rekombinant doğal hatlar, 2 tür içi (PI 359075 (1) × FLIP 84-92C (2), "Blanco Lechoso" x "Dwelley) ve 1 tür dışı [FLIP 84-92C (3) × *C. reticulatum* Lad. (PI 599072)] çaprazlama olmak üzere 3 çaprazlamadan elde edilmiştir. Dayanıklı ebeveynler (FLIP 84-92C ve Dwelley) ILC-72'den elde edilen ortak bir direnç kaynağına sahiptir. Ebeveynlerin ve rekombinant yerleşik hatların hastalık reaksiyonları, 1'den 9'a kadar bir ölçek ve hastalık ilerleme eğrisi altındaki alanı (The Area Under the Disease Progress Curve = AUDPC) kullanılarak puanlanmıştır. Rekombinant doğal hatlar arasındaki ırk ayrımı, birkaç değiştiriciye sahip üç resesif ve tamamlayıcı ana genin, *Ascochyta* yanıklığı direnci sağladığını göstermiştir. Değiştiricilerin varlığı direnç derecesini belirlerken ana genlerden bir veya ikisinin yokluğu duyarlılık kazandırmaktadır.

Santra vd. (2000) tarafından yapılan çalışmada, hastalığa dirençli olarak FLIP84-92C (*Cicer arietinum*) ve hassas olarak PI 599072 (*Cicer reticulatum*) genotiplerini kullanarak gerçekleştirdikleri melezleme çalışmaları sonucu 142 rekombinant doğal hat elde etmişlerdir. Bu hatlar hastalık reaksiyon testleri ile Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (Random Amplified Polymorphic DNA =



RAPD) ve Basit Sekans Tekrarları Arası Polimorfizm (Inter Simple Sequence Repeats = ISSR) DNA markör analizleri kullanılarak fenotipik ve genotipik olarak karakterize edilmişlerdir. Bu sonuçlar kullanılarak hastalığa dayanıklılıkla ilgili iki kantitatif karakter lokusu belirlenmiştir. İki RAPD primeri QTL 1 ilişkili bulunurken; bir ISSR primeri ise, QTL 2 ile ilişkilendirilmiştir.

Tekeoğlu vd. (2002) de, 50 STMS markörü ve Dayanıklılık Geni Analog (Resistant Gene-Analog = RGA) polimorfizm markörünü *C. arietinum* × *C. reticulatum* melezlemesinden elde edilmiş F6 düzeyindeki 142 rekombinant doğal hat ile entegre ederek incelenmiştir. STMS markörleri önceden tespit edilen ve dayanıklılık ile ilgili olan QTL 1 ve QTL 2 ile ilişkili oldukları bulunmuştur. Beş STMS markörü (TA72s, TA2, TS54, TA146 ve GA2) LG IV üzerindeki yerleşik QTL 2 de haritalanmıştır.

Rakshit vd. (2003) dayanıklı bir nohut hattı ve yakın bir akrabası olan *Cicer reticulatum*'un hassas bir genotip kullanılarak üretilmiş olan toplamda 94 rekombinant doğal hat QTL 1'e yakından ilişkili bir markör tanımlamak için incelemiştir. 312 adet 10 bp'lik oligonükleotidinden 3'ü, ebeveynler ve nesilleri arasında beş polimorfik bant üretmiştir. Bunlardan ikisi, popülasyona aktarılmış ve 4 no'lu bağlantı grubuyla eşleştirilmiştir. Bu OPS06-1 ve OPS03-1 markörler 5 üzerindeki the logarithm of the odds ratio (LOD) skorları ile *Ascochyta* yanıklığına direnç ile ilişkili olan UBC733B ve UBC181A ile bağlanmıştır. OPS06-1, UBC733B [mesafe 4.1 centimorgan (cm)] ve UBC181A (9.6 cm mesafesi) arasında QTL ile eşlenirken; OPS03-1, direnç lokusunun diğer yan tarafındaki UBC733B marköründen 25.1 cm uzakta haritalanmıştır. Bu bağlantı grubu üzerinde lokalize olan STMS markörleri, popülasyonlarda *Ascochyta* yanıklığına direnç ile ilişkili dağılım göstermiştir. Bu STMS belirteçlerin dayanıklılığın ana kaynağı olan QTL 1 lokusu ile ilişkili bulunması farklı *A. rabiei* patotiplerine karşı karmaşık direncin aydınlatılmasına yardımcı olacağı varsayılmıştır.

Udupa ve Baum (2003) nohut genotiplerin patotiplere karşı reaksiyonların genetik kaynağını incelemiştir. Bu amaçla patojenin patotip I ve II'sine dayanıklı olduğu bilinen ILC 3279 hattı kullanılmıştır. Üründeki patotip-spesifik dayanıklılığın kalıtımının anlaşılması için bu dayanıklı hattı hassas olan ILC 1272 hattı mezlemlenmiştir. Elde edilen RIL'lerin dayanıklılık durumları belirlenmiş ve

mikrosatellite markörlerle türler arası genetik haritalama gerçekleştirilmiştir. Mendel kurallarına ve QTL analizleri gerçekleştirerek LG2 üzerinde ar2a ve patotip II'e karşı; dayanıklılıkla ilgili LG4 üzerinde ise, ar2b olmak üzere bağımsız-resesif lokusları tanımlamışlardır.

Cingilli vd. (2005) önceki çalışmalarda daha düşük polimorfizme sahip olduğu düşünülen mikrosatellite markörlerin farklı nohut popülasyonları arasındaki genetik farklılığını incelemek amaçla oldukça etkin olduklarını tespit etmişlerdir. Çalışmada materyal olarak Türkiye'de yaygın olarak bulunan tek ve çok yıllık 43 yabancı genotip ve 2 kültür çeşiti kullanılmıştır. 10 farklı STMS (GA2, TA130, TA13, TA72, GAA47, TA146, GA24, TS54, TA46 ve TS72) markörü ile *C. reticulatum*, *C. bijugum*, *C. anatolicum*, *C. echinospermum*, *C. pinnatifidum* ve *C. arietinum* türleri birbirleri ile kıyaslanmıştır. Amplifikasyonların incelenmesi sonucu STMS lokusları için, spesifik markörler olarak kullanılacak sadece üç STMS/tür kombinasyonu başarılı kabul edilmiştir (GAA47, TS54 ve TA72). Kültüre alınmış nohut çeşitlerinin incelenmesi maksadı ile üretilmiş olan markörlerin yabancı nohut türlerinin genetik yapılarını incelemek içinde kullanılabilmesi kanısına varılmıştır.

*A. rabiei*'nin neden olduğu yanıklık hastalığına dayanıklı olan *Cicer arietinum* (ILC72) ile hassas *Cicer reticulatum* (Cr5-10) arasındaki spesifik bir melezlemeden elde edilen rekombinant doğal hat (RIL) popülasyonundaki bir bağlantı haritalaması RAPD, ISSR, STMS, izozim (Pdf6) ve çiçek rengi (pembe/beyaz) markörleri kullanılarak elde edilmiştir. Popülasyondaki hastalığa dayanıklılıkla ilgili varyasyonun %28'ini açıklayan bir QTL, bağlantı grubu 2'ye (LG2) yerleşik olduğu tespit edilmiştir. Bu bağlantı grubundaki beş RAPD markörü, (OPX04<sub>372</sub>, UBC881<sub>621</sub>, OPAI09<sub>746</sub>, OPAI09<sub>352</sub> ve OPAC12<sub>700</sub>) dayanıklılıkla önemli derecede ilişkili olarak bulunmuştur. Diğer çalışmaların aksine, 4. bağlantı grubu (LG4) ile hastalığa dayanıklılık arasında bir ilişki bulunamamıştır. Bu nedenle araştırmacılar bu çalışmada elde edilen *Ascochyta* yanıklığına karşı dayanıklılık QTL'nin diğer belirli spesifik melezlemelerde rapor edilen ve dayanıklılıkla ilgili QTL'lerden farklı olduğunu, belki *Fusarium oxysporum* f.sp., *ciceri* ırklarına direnç için genlerin bulunduğu intraspesifik çaprazlarda bağlantı grubu 2'de bildirilen QTL ile aynı olabileceğini bildirmişlerdir (Cobos vd., 2006).

*A. rabiei*'nin neden olduğu *Ascochyta* yanıklığına karşı direnç ile ilişkili iki kantitatif özellik lokusu (QTLs) ( $QTL_{AR1}$  ve  $QTL_{AR2}$ ), kabuli x desi nohutunun bir çaprazından türetilmiş bir rekombinant doğal hat popülasyonunda tanımlanmıştır. Popülasyon, tarla koşullarında ürün yetiştirme mevsiminde değerlendirilmiş ve QTL'lerin iki farklı bağlantı grubunda (LG4a ve LG4b) yer aldığı bulunmuştur. LG4b, RAPD markörleri ile doyurulmuş ve dayanıklılıkla ilişki bu markörlerden dördü,  $QTL_{AR2}$  ile ayrılmış sekanslarla karakterize edilen büyütülmüş bölgeleri (Sequence Characterized Amplified Region = SCAR) verecek şekilde sekanslanmıştır. Bu QTL, toplam fenotipik varyasyonun %21'ini açıklamıştır. Bununla birlikte, LG4a'da bulunan  $QTL_{AR1}$ , ikinci ürün yetiştirme sezonunda skorlandığında, *Ascochyta* yanıklığına karşı kuvvet olarak toplam fenotipik varyasyonun yaklaşık % 34'ünü açıklamıştır. Bu LG4a bölgesi, çiçek rengi lokusu (B/b), STMS GAA47, bir RAPD markörü ve bir SSR olmak üzere sadece birkaç markörü içermekte ve önceden bildirilmiş bir QTL'e tekabül etmektedir.  $QTL_{AR2}$ 'ye etiketlenen dört SCAR'dan SCY17<sub>590</sub> kodominant, diğer üçü ise dominanttır. Tüm SCAR'lar 1:1 (var:yok) oranında; puanlama ise, kendi RAPD markörleri ile birlikte ayrıştırılmıştır. LG4b üzerindeki  $QTL_{AR2}$ , dokuz markör kümesi (üç SCAR, iki STMS ve dört RAPD) ile 0.8 cM genetik mesafesini kapsayan yüksek oranda doymuş bir genomik bölgede haritalanmıştır. Dört SCAR'dan ikisi, diğer türlerde hastalık direnci ile ilgili genler veya proteinlerle önemli bir uyuma göstermiş ve bunlardan biri (SCK13<sub>603</sub>),  $QTL_{AR2}$ 'ye bağlı yüksek oranda doymuş bölgeye yerleştirilmiştir. LG4b'de bulunan STMS TA72 ve TA146, önceki haritalarda yanıklık direnci için QTL'in tanımlandığı yerler olup; bu yerler hem tür dışı hem de tür içi çaprazlamalarla bölgesel hale getirilmiştir. Bu bulgular,  $QTL_{AR2}$  için moleküler melezleme kesinliğini artırabilir, çünkü bu artış ile herhangi bir popülasyonda mümkün olduğunca fazla polimorfizm seçimine izin verilecek ve nohutta *Ascochyta* yanıklık direncinde, yeni bir dirençli gen bulmak için başlangıç noktası olabileceği ortaya konulmuştur (Iruela vd., 2006).

ICCV96029 ve CDC Frontier nohut genotiplerinin melezlenmesi sonucu elde edilen F1 ve F2 bitkilerinin kontrollü koşullarda *Ascochyta* yanıklığına karşı reaksiyon sonuçları incelendiğinde, dayanıklılığın dominant karaktere sahip olduğu tespit edilmiştir. *Ascochyta* yanıklılığı ile her bir linkage grupta birer QTL olmak üzere 3 lokus tespit edilmiş olup, bunların LG3, LG4 ve LG6 için tahmin edilen ilişki düzeyi sırasıyla %13, %29 ve %12 olarak hesaplanmıştır. Dayanıklılık ile ilgili fenotipik

farklılığın kontrolünde bu üç lokus toplam olarak %56 bir etkinliğe sahiptir. Ayrıca çalışmada LG4 ve LG6 üzerindeki QTL'lerin önceki bir çok çalışmada da hastalıkla ilgili olarak tespit edilmiş olmasına rağmen LG3 üzerindeki QTL in sadece çalışma popülasyonunda tespit edildiği sonucuna ulaşılmıştır (Tar'an vd., 2007).

Dört farklı orta derecede dirençli CDC Frontier, CDC Luna, CDC Corinne ve Amit çeşitlerin her biri oldukça duyarlı bir genotip olan ICCV 96029 ile melezlenmiştir. Ebeveynler, F1 ve F2 nesillerin *Ascochyta* yanıklığına karşı reaksiyonları kontrollü koşullar altında değerlendirilmiştir. Toplam 144 SSR markörü ilk olarak CDC Frontier × ICCV 96029 popülasyonu için sekiz bağlantı grubuyla eşleştirilmiştir. Daha sonra bu popülasyondan elde edilen kanıtlara dayanarak 76, 61 ve 42 SSR markörleri, sırasıyla CDC Luna, CDC Corinne ve Amit popülasyonları için seçilmiş ve haritalama için kullanılmıştır. *Ascochyta* yanıklığına derecesinin F2 nesillerindeki frekans dağılımları dört popülasyon arasında değişiklik göstermiştir. Haritalamaların bileşik analizlerinde LG2, 3, 4, 6 ve 8'de olmak üzere, her biri dayanıklılıktan sorumlu olan beş farklı QTL (QTL 1-5) tespit edilmiştir. CDC Frontier, aynı anda fenotipik varyasyonların %56'sını oluşturan QTL 2, 3 ve 4'ü içermekte iken CDC Luna, QTL 1 ve 3'ü içermektedir. CDC Corinne, QTL 3 ve 5'i ihtiva ederken, Amit'te ise sadece QTL 2 tanımlanmıştır. Çalışma sonuçları bu QTL'lerin hastalığa direnci arttırmak için tek bir genotipte kombine edilebileceğini göstermiştir (Anbessa vd., 2009).

Nohut rekombinant doğal hat popülasyonlarındaki *Ascochyta* yanıklığına direnci ile bağlantılı olan ve bir SCAR markörü olan SCK13<sub>603</sub>, genomdaki dayanıklılığı izlemek için kullanıldığı markör uzunlukları 530 ila 2.871 bp arasında değişen beş bant üretmiştir. Ürünlerin sekansı sonucu üç açık okuma çerçevesi (Open Reading Frame = ORF) tanımlanmıştır. ORF1 ve ORF2'nin varsayılan proteinleri retrotranspozon proteinleri ile yüksek homolojisi ve genellikle retrotranspozon proteinlerinde bulunan korunan alanların varlığına sahip olduğu anlaşılmış olup SCK13<sub>603</sub> markörü retrotranspozon varsayılan bölgeye bağlandığı kanısına varılmıştır (Iruela vd., 2009).

*Ascochyta* yanıklığına dayanıklı bir genotip olan ICCV 04516 ve hastalığa hassas duyarlı ICC 4991 (Pb 7) arasındaki bir melezlemeden türetilen F2 popülasyonu kullanılarak bir bağlantı haritası çalışması gerçekleştirilmiştir. Sonuç harita 10

bağlantı grubunu kapsayan 82 SSR markörü ve 2 eksprese edilmiş sekans etiketi (Expressed Sequence Tag = EST) markörü içermekte olup; 8.6 cm başına ortalama 1 markör yoğunluğu ile 724.4 cm mesafesini kapsamıştır. Fide ve yetişkin bitki reaksiyonuna dayanarak bir Hindistan *A. rabiei* izolatına dayanıklılıkla ilgili bulunan üç kantitatif özellik lokusu (QTL'ler) tanımlanmıştır. QTL 1, TR58 markörüne bağlı LG3 ile eşleştirildi ve yetişkin bitki aşamasında dayanıklılık için fenotipik varyansın %18.6'sını ifade etmekte iken; QTL 2 ve QTL 3'ün her ikisi de dört SSR işaretleyicisine yakın LG4 ile eşleştirilmiş ve fide aşamasında dayanıklılıktaki toplam fenotipik varyansın, sırasıyla, %7.7 ve %9.3'ünü oluşturmuştur. QTL 2'ye bağlı olan TA146 ve TR20 işaretleyicilerinin, fide aşamasında dayanıklılık ile önemli ölçüde ilişkili olduğu gösterilmiştir (Kottopalli vd., 2009).

Atasagun (2009) tarafından yapılan çalışmada, Konya'da 9 ilçeden nohut üretimi yapılan alanlardan rastgele seçimle örneklemeler yapılarak *A. rabiei*'nin buralardaki durumu incelenmiştir. İl genelinde *A. rabiei* ile bulaşık nohut tarlası oranı %61.94 olarak tespit edilmiştir. Hastalık çıkışı ve şiddetinin de incelendiği çalışmada 10 nohut çeşidi [Canitez-87, Meksika, İspanyol, Sarı 98, Uzunlu-99, Küsmen-99, Akçin-91, Er-99, Gökçe, Yerel (kara nohut)] incelenmiş ve hastalık şiddeti en az olan nohut çeşidinin kara nohut (% 25.10) olduğu bildirilmiştir. İkinci sırayı Gökçe (% 36.40) alırken; üçüncü sırayı Er-99 (% 46.06) almıştır. En yüksek hastalık şiddeti ise, % 82.4 ile Canitez-87 çeşidinde gözlemlenmiştir.

Madrid vd. (2013), *A. rabiei*'ye dayanıklılıkla ilişkili olan QTL 1 (QTL<sub>AR1</sub>) ile ilişkili yeni bir ko-dominant markör olan ve allelik olarak polimorfik olan CaETR'i geliştirerek bu markörün dayanıklılıkla ilişkisini ortaya koymuşlardır. Bu markör fenotipik olarak dayanıklı ve hassas bireyleri ayırmakla birlikte dayanıklılık heterozigotluk durumunda ortaya koymaktadır. CaETR markörünün bir diğer dayanıklılıkla ilişkili QTL<sub>AR2</sub> ye bağlı olan ko-dominant SCAR markörü ile (SCY17<sub>590</sub>) kombinasyonu hatlar ve çeşitlerin bulunduğu grup içerisinde dayanıklı bireyleri belirlemede %90 doğrulukla başarılı olmuştur. PCR temelli ko-dominant markörlerin kullanımı ıslah çalışmalarında dayanıklı genotiplerin ayırımına olanak sağlayan etkili bir araç olarak ortaya çıkmaktadır.

Tunus nohut ıslah programı bünyesinde elde edilen ileri ıslah hatları ve 23 nohut çeşidi Ascochyta yanıklığına karşı reaksiyonları iki lokasyonda kontrollü

koşullarda incelenmiştir. Bu çalışmada kapsamında ayrıca her ikisi de hastalığa dirençle ilişkili iki kodominant markör kullanılmıştır. QTL<sub>AR1</sub> ile yüksek ilişkili CaETR markörü ve QTL<sub>AR2</sub>'ye bağlı SCAR SCY17<sub>590</sub> markörlerinin birlikte dirençli ve duyarlı nohut genotipleri arasında ayırım yapılmasında faydalılığı incelenmiştir. Bu iki markör, Ascochyta yanıklığına karşı dayanıklılığı sağlamak için daha iyi alel kombinasyonları içeren yeni nohut çeşitlerinin seçiminde etkili bir şekilde katkıda bulunmaktadır. İleri seviye hat olan ve tarla koşullarında hastalığa orta dayanıklı-dayanıklı bulunan V10, CaETR ile dayanıklılık alleli tespit edilmişken SCAR17<sub>590</sub> için heterozigot bir karakter ortaya koymuştur. Bu markörlerin kullanımını nohut ıslah programlarına fayda sağlayacağı rapor edilmiştir (Bouhadida vd., 2015).

Nohut ıslah programlarında hangi markörün ne düzeyde kullanıldığı belirsizliğini korumaktadır. Bununla birlikte markörlerin etkinliğini ortaya koymak adına Castro vd. (2015) gerçekleştirdikleri çalışmada fenotipik ve markör destekli seleksiyon yöntemlerinin etkinliğini karşılaştırarak, yanıklığa dirençli genotiplerin seçimi için kullanılabilirliklerini araştırmışlardır. Fenotipik değerlendirme sonuçları, kullanılan materyaller için hastalığa direncin resesif olabileceğini göstermiştir. Bununla birlikte, dördüncü bağlantı grubunda (LG4) tespit edilen duyarlı ebeveyne karşı yüksek çarpık ayrışma, ayrıca direnç fenotip dağılımını da açıklayabileceğini ifade etmiştir. F2:4 ve F2:5 kuşaklarında fenotipik seçimin, CaETR ve GAA47 markörlerinin hastalığa direnç ile bağlantılı allellerinin sıklığında bir artışa neden olduğu ve bu markörlerin MAS için yararlı olduğunu göstermiştir. TA72 ve SCY17 markörleri, her ne kadar MAS için de faydalı görülse de, bu markörlerin bulunduğu bölgedeki hassas ebeveyne yönelik yüksek sapma oranları, bu markörlerin etkinliklerini oldukça düşürmektedir. Fenotipik seçim ve MAS'ın maliyetlerinin hesaplandığı çalışmada üç seçim döngüsü sırasında Ascochyta yanıklığına karşı direncin incelenmesinde MAS'ın fenotipik seçimden daha pahalı olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, markörlerin kullanılması dirençli hatların seçimi için harcanan zamanı azaltmıştır. Bu çalışmada analiz edilen markörler, nohut ıslah programlarında yanıklığa karşı tolerantlı genotipleri seçmek, farklı patotiplerle ilişkili genlerin veya kantitatif özellik lokuslarının seçilmesine yardımcı olmak için kullanışlı bulunmuştur. MAS'ın analiz edilen dört QTL için erken nesil nohut yetiştirme programlarında kullanılması önerilmektedir.

Toplam 46 nohut hattının 9 STMS markörü yardımı ile genetik varyasyonun incelendiği çalışmada TA72 markörü en az polimorfizm sağlamışken TA8 eşit miktarda dağılmış çeşitli aleller ile oldukça yüksek polimorfizm sağlamıştır. TA8 markörü maksimum ayırma gücüne sahip olduğundan farklı nohut çeşit ve genotiplerin fenotipik farklılıklar ile ilişkindirmede yararlı olacağı ifade edilmiştir (Paliwal, 2016).

Aydın vd. (2016) 2015-2016 yıllarında yapmış oldukları çalışmada, Diyarbakır'da 17 tescilli (Aziziye, Gökçe, Diyar 95, Akçin 91, Çakır, Canitez, Damla, Çağatay, Uzunlu, Arda, Cevdet bey, Zuhul, ILC 482, Işık 05, Sarı 98, Azkan, Yaşa 05) ve 1 köy çeşidi olmak üzere 18 nohut çeşidi, Siirt'de 13 tescilli (Çakır, Zübeyir, Yaşar 05, İnci, Hasan bey, Seçkin, ILC 482, Azkan, Gökçe, Akçin, Hisar, Arda, Işık 05) ve 1 köy çeşidi olmak üzere 14 nohut çeşidi, Mardin'de ise, 2 tescilli (Arda ve Azkan) nohut çeşidini kullanarak *A. rabiei*'ye karşı bu çeşitlerin tarla koşullarında dayanıklılık durumlarını araştırmışlardır. Araştırma sonucunda *Ascochyta* yanıklığına dayanıklılık açısından önemli bir istatistiki farkın olduğu tespit edilmiş ancak çok dayanıklı-dayanıklı kategorisine giren nohut çeşidi bulunamamıştır. Diyar-95, Arda ve Azkan orta derecede dayanıklı çeşitler olarak belirlenmiş, bütün lokasyonlardaki denemeler dikkate alındığında ise, Arda ve Azkan nohut çeşitlerinin en tolerant çeşitler olduğu tespit edilmiştir.

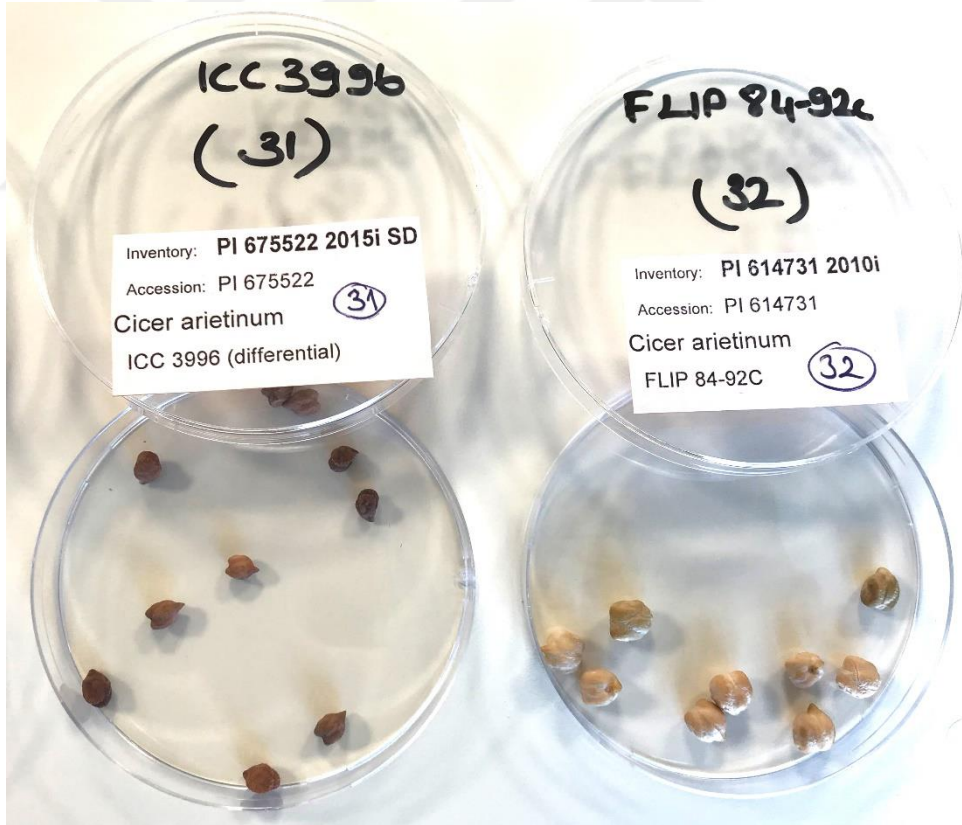
Tabanlı (2016) ISSR, RAPD ve STMS markörlerini kullanarak 34 tescilli nohut çeşidinin *Ascochyta* yanıklığına karşı dayanıklılık-hassaslık durumunu moleküler olarak incelemiştir. ISSR ve RAPD yönteminde kullanılan primerler hastalığı ayırt edememiş veya güvenilir sonuçlar verememiştir. STMS yönteminde ise kullanılan TA2, TA146 ve TS54 dayanıklılık tespitinde kayda değer sonuçlar vermiştir. Özellikle TA146'dan elde edilen sonuçların nohutların tescil zamanlarındaki hastalığa dayanıklılıkla yüksek oranda benzerlik göstermesi umut vadeden bir sonuç olarak değerlendirilmiştir. Nohut çeşitlerinin, TA2 ile yapılan analizlerde 17'si dayanıklı, 17'si hassas, TS54 ile yapılan analizlerde 26'sı dayanıklı 8'i hassas, TA146 ile yapılan analizlerde ise 23'i dayanıklı 11'i hassas olarak bulunmuştur. Işık-05, Hasanbey, Akçin-91, Azkan, İzmir-92, Aydın, Aksu, Yaşa-05, Menemen-92 ve İnci tescilli nohut çeşitleri 3 STMS markörüyle dayanıklı olarak tespit edilmiştir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Test bitkilerinin temini

Çalışmalarda ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen 29 tescilli çeşit ve virulenslik çalışmalarında en çok kullanılan uluslararası ayırıcı setlerden 18 nohut genotipi olmak üzere 47 nohut çeşit/genotipi kullanılmıştır (Çizelge 3.1–3.2). Yerli çeşitler Tohumluk Tescil Sertifikasyon Merkezi'nden, uluslararası ayırıcı set çeşitleri Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı Tarımsal Araştırma Servisi (USDA-ARS)'nden temin edilmiştir. Denemelerde kullanılan örnek nohut tohumları, Şekil 3.1'de verilmiştir.



**Şekil 3.1.** Denemelerde kullanılan desi tipi (sağdaki) ve kabuli tipi (soldaki) nohut tohumlarından örnekler



**Çizelge 3.1.** Denemelerde kullanılan tescilli nohut çeşitleri

No	Çeşit Adı	Tescil Ettiren Kuruluş
1.	ARAS	Olgunlar Tur. Tar. Enerji Ürt. Tic. Paz. Ltd. Şti/2018
2.	GÖKSU	Olgunlar Tur. Tar. Enerji Ürt. Tic. Paz. Ltd. Şti/2019
3.	HASANBEY	Doğu Akdeniz Tarımsal Arş. Ens. Müd./2011
4.	HİSAR	Geçit Kuşağı Tarımsal Arş. Ens. Müd./2008
5.	ÇAKIR	Geçit Kuşağı Tarımsal Arş. Ens. Müd./2012
6.	UZUNLU 99	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Ens. Müd./1999
7.	GÜLÜMSER	Karadeniz Tarımsal Arş. Ens. Müd./2001
8.	OMPAR 3	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fak./TDÖ Deneme Süreci
9.	AKSU	Doğu Akdeniz Geçit Kuşağı Tar. Arş. Ens. Müd./2009
10.	SEÇKİN	Doğu Akdeniz Tarımsal Arş. Ens. Müd./2011
11.	DİYAR 95	GAP Uluslararası Tar. Arş. ve Eğitim Merk. Müd./1995
12.	ILGAZ	Mersin Ticaret Borsası Toh. Arş. San. ve Tic. A.Ş./2012
13.	ARDA	GAP Uluslararası Tar. Arş. ve Eğitim Merk. Müd./2013
14.	ZUHAL	Karadeniz Tarımsal Arş. Ens. Müd./2012
15.	AKÇA	Geçit Kuşağı Tarımsal Arş. Ens. Müd./2013
16.	İNCİ	Doğu Akdeniz Tarımsal Arş. Ens. Müd./2003
17.	YAŞA-05	Geçit Kuşağı Tarımsal Arş. Ens. Müd./2005
18.	AZKAN	Geçit Kuşağı Tarımsal Arş. Ens. Müd./2009
19.	CANITEZ-87	Geçit Kuşağı Tarımsal Arş. Ens. Müd./1987
20.	AKÇİN - 91	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Ens. Müd./1991
21.	GÖKÇE	Tarla Bitkileri Merkez Arş. Ens. Müd./1997
22.	IŞIK-05	Geçit Kuşağı Tarımsal Arş. Ens. Müd./2005
23.	ÇAĞATAY	Karadeniz Tarımsal Arş. Ens. Müd./2012
24.	ILC-482	GAP Uluslararası Tar. Arş. ve Eğitim Merk. Müd./1991
25.	SARI 98	Ege Tarımsal Arş. Ens. Müd./1998
26.	YAZICI	Doğu Anadolu Tarımsal Arş. Ens. Müd./2014
27.	AĞSAKALLI	Doğu Anadolu Tarımsal Arş. Ens. Müd./2014
28.	SEZENBEY	Karadeniz Tarımsal Arş. Ens. Müd./2012
29.	TAEK-SAĞEL	Ankomer Toh. ve Zir. San. ve Tic. Ltd. Şti/2006

**Çizelge 3.2.** Denemelerde kullanılan uluslararası ayırıcı set çeşit/genotipleri

No	Genotip Adı	No	Genotip Adı
1.	W6 2909/ILC 1272	11.	W6 22575/ILC 72
2.	PI 675522/ICC 3996	12.	PI 559361/ICC 4475
3.	PI 614731/FLIP 84-92C	13.	W6 22587/ILC 1903
4.	PI 598079/DWELLEY	14.	W6 22582/ILC 482
5.	PI 559363/ICC 12004	15.	W6 22579/ILC 200
6.	PI 564775/ILC 195	16.	W6 22591/ILC 4935
7.	PI 359075/RPIP 12-069-00103	17.	PI 451270/RPIP 12-071-03976
8.	W6 22585/ICC 3279	18.	PI 315816/ILC 247
9.	W6 22584/ILC 1929		
10.	W6 22581/ILC 249		

### **3.1.2 *Ascochyta rabiei* izolatlarının temini**

Çalışmalarda kullanılan *Ascochyta rabiei* patotipleri (patotip I, patotip II, patotip III ve patotip IV) Prof. Dr. Canan CAN (Gaziantep Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı)'dan temin edilmiştir.

### **3.1.3 İzolatların geliştirilmesinde kullanılan besi ortamları**

*A. rabiei* izolatlarının geliştirilmesi için Mathur'un besiyeri ve Nohut–Unu–Dekstroz–Agar (CSMDA: Chickpea Seed Meal Dekstroz Agar) kullanılmıştır. Kullanılan ortamların içerikleri, Çizelge 3.3'te verilmiştir.

### **3.1.4 DNA izolasyonlarında kullanılan fresh buffer**

DNA izolasyonlarında kullanılan fresh bufferın içeriği, Çizelge 3.4'te verilmiştir.

**Çizelge 3.3.** Kullanılan besiyerleri ve içerikleri

Mathur'un Besi Ortamı <sup>1</sup>	Nohut–Unu–Dekstroz–Agar (CSMDA: Chickpea Seed Meal Dekstroz Agar) <sup>2</sup>
8 g dekstroz	20 g dekstroz
16 g agar	20 g agar
2.7 g KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	40 g nohut unu
2.5 g MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1 L destile su
2.4 g neopeptone	
2 g yeast ekstrakt	
1 L destile su	

<sup>1</sup> Balardin vd.(1997)

<sup>2</sup> Khan vd. (1999), Bayraktar vd. (2007)

**Çizelge 3.4.** DNA izolasyonlarında kullanılan fresh buffer içeriği

Fresh Buffer <sup>1</sup>	50 mL
Tris-HCl pH/8.0	6.25 mL
5 M NaCl	8.33 mL
CTAB (Setrimonyum bromür)	0.42 g
Sarkosyl	0.42 g
PVP40 (Polivinilpirolidon)	1.00 g
Sodyum disülfid	0.25 g
EDTA pH/8.0	2.29 mL
Sorbitol	1.33 g
Steril bi-destile saf su	Toplam hacim 50 mL olana kadar

<sup>1</sup>DART DNA ekstraksiyon protokolü

## 3.2 Yöntem

### 3.2.1 Nohut bitkilerinin yetiştirilmesi

Temin edilen tohumlar öncelikle yüzey dezenfeksiyonu amacıyla %1'lik NaOCl'de 2 dakika bekletilmiş ve ardından 3 seri steril saf su ile durulanmıştır (Şekil 3.2).



**Şekil 3.2.** Nohut tohumlarına yüzey sterilizasyonu uygulaması.

Sonrasında steril petri kaplarına aktarılmış ve ön çimlendirme amacıyla üzerlerine 20 mL steril saf su eklenerek inkubatörde 72 saat  $18\pm 1^\circ\text{C}$ 'de bekletilmiştir. Ekim için hazır hale gelen tohumlar, torf:perlit (3:1) karışımı içeren 5 no.lu (16 cm çapında) saksılara her birine 10 tohum olacak şekilde, 3 tekerrürlü olarak ekilmiştir. Ekim işleminden sonra saksılara can suyu verilerek 12 saat aydınlık (Işık intensitesi  $260 \mu\text{mole sec}^{-1} \text{m}^{-2}$ ) 12 saat karanlık ortamda,  $18\pm 1^\circ\text{C}$ 'de nohutların çıkışı için 1 hafta süreyle bekletilmiştir. Bir hafta sonunda her bir saksıda 5 adet bitki kalacak şekilde seyreltme işlemi gerçekleştirilmiş ve daha sonra oda sıcaklığı  $22^\circ\text{C}$ 'ye

ıkarılarak 1 hafta daha gelişim sürecine devam edilmiştir. Nohut tohumu ekim aşamaları Şekil 3.3'te verilmiştir.



Şekil 3.3. Nohut tohumlarının ekim aşamaları.

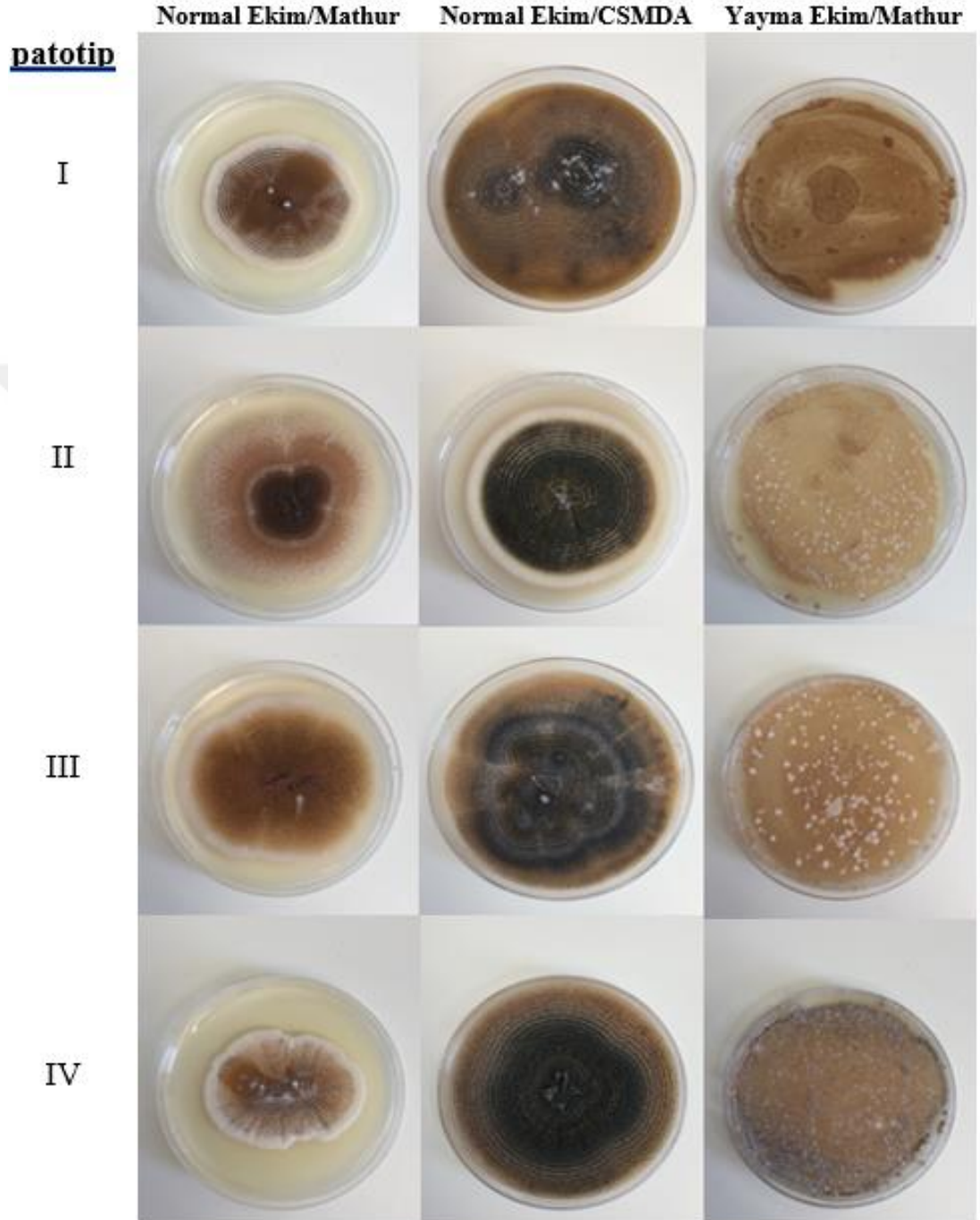
### 3.2.2 *Ascochyta rabiei* izolatlarının geliştirilmesi

*A. rabiei* izolatlarının gelişimi için, içerikleri “3.1.3 İzolatların geliştirilmesinde kullanılan besi ortamları” bölümünde belirtilen Mathur’un besiyeri ve CSMDA olmak üzere 2 farklı ortam kullanılmıştır.

Hazırlanan Mathur’un besiyerine ve CSDMA’ya *A. rabiei* patotip I, patotip II, patotip III ve patotip IV izolatlarının aşılması yapılmış ve  $22\pm 1$  °C’ye ayarlanmış olan iklim odasına konarak, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık koşullarda iki hafta süreyle izolatların gelişimi sağlanmıştır. İzolatların spor miktarını arttırmak amacıyla,



aşılama işlemi tek nokta aşılamamanın yanı sıra yayma yöntemiyle de gerçekleştirilmiştir. *A. rabiei*'nin farklı ortamlarda ve farklı ekiliş yöntemlerindeki gelişimi, Şekil 3.4'te verilmiştir.



**Şekil 3.4.** *Ascochyta rabiei*'nin farklı ortamlarda ve farklı ekiliş yöntemlerinde gelişimi.

### 3.2.3 *Ascochyta rabiei* izolatlarından spor süspansiyonu hazırlanması

Geliştirilen *A. rabiei* izolatlarının bulunduğu petrilere bir miktar steril saf su ilave edilmiş, daha sonra steril bistüri ile petriden kazıma işlemi yapılmıştır. Petrilerdeki bu süspansiyon steril filtre kağıdından geçirilmiş, daha sonra üzerine steril saf su eklenerek mikroskopta hemositometre ile spor sayımı yapılmıştır. Spor miktarı  $2 \times 10^5$  spor/mL olacak şekilde ayarlama yapılmıştır.

### 3.2.4 Klasik patojenisite testleri

Hazırlanan spor süspansiyonlarının, patojenisite testleri için yetiştirilen nohut bitkilerine inoküle edilmesi amacıyla mekanik 1 litrelik ilaçlama pompaları kullanılmıştır. İlaçlama pompaları önce %5'lik NaOCl çözeltisinde bekletilmiş, daha sonra steril saf su ile yıkanmış ve steril hale getirilmiştir. Hazırlanan spor süspansiyonları her bir patotip farklı bir ilaçlama pompasına konarak inokülasyon işlemine geçilmiştir.

Spor süspansiyonları, her bir patotip için 47 çeşit ve 3 tekerrür şeklinde yetiştirilen nohutlara, tüm yapraklar ve gövde ıslanacak şekilde püskürtülmüştür. İnokülasyondan sonra saksılar iklim odasında patotiplere göre ayrı raflara yerleştirilmiştir. Nem oranını %100'e çıkarmak amacıyla, saksıların etrafı sera poşetiyle kapatılmıştır. Sera poşetleri 48 saatin sonunda açılmıştır. Bitkiler iklim odasında ilk 12 saat karanlık ortamda tutulmuş daha sonra bitkiler, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyoda alınarak, 14 gün  $22 \pm 1$  °C'de inkübasyona bırakılmıştır. 14 günlük inkübasyon süresinin sonunda değerlendirme aşamasına geçilmiştir.

### 3.2.5 Markör destekli seleksiyon için yetiştirilen bitkilerden DNA izolasyonu yapılması

Her bir çeşitten 3'er tane tohum, "3.2.1 Nohut bitkilerinin yetiştirilmesi" bölümünde belirtilen teknikler kullanılarak ekimi yapılmış ve 15. günün sonunda nohut bitkilerinden alınan yapraklardan DNA izolasyonu işlemi gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonu işlemleri şu sırayla gerçekleştirilmiştir:

Hazırlanan fresh bufferdan 750 µL alınarak 2 mL'lik steril Eppendorf tüplere konulmuştur. Her bir çeşidin örneği ayrı Eppendorf tüplere konulacak şekilde 48 Eppendorf tüp ısıtıcı bloğa konularak, 65 °C'de 15 dakika boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonucunda tüplerdeki örnek homojenizatör yardımıyla izolasyon tampon içerisinde homojen hale getirilmiştir. Tekrardan kuru blok ısıtıcıya konulan 65 °C'de 1 saat inkübe edilmiş ve bu süreçte örnekler her 15 dakikada bir hafifçe alt üst edilerek karışması sağlanmıştır.

Inkübasyon sonucunda kuru blok ısıtıcıdan alınan tüpler oda sıcaklığına kadar soğutulmuş 750 µL kloroform/izoamil alkol (24/1) konulmuş ve 10 dakika boyunca tüpler hafifçe ters düz edilerek karıştırılmıştır.

Tüpler 13000 x g' de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Tüplerde meydana gelen faz ayrımında üst kısımda biriken sıvı başka bir Eppendorf tüpe aktararak, üzerine 600 µL soğuk izopropanol eklenmiştir.

Tüpler 13000 x g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden alınan tüplerin üst kısmındaki sıvı boşaltılarak dip kısmında kalan DNA pelleti 100 µL etil alkolle yıkanarak, ortam sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan tüplere 200 µL steril bi-destile su ilave edilerek, -20 °C'ye kaldırılmıştır.

Bir gece -20 °C'de bekletilen DNA örneklerinin konsantrasyonları ve kalitelerinin belirlenmesi için, örnekler -20 °C'den oda sıcaklığına çıkarılmış, çözümleri beklendikten sonra spektrofotometrede (DeNovix DS-11 FX) ölçümleri yapılmıştır.

### **3.2.6 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR = Polymerase Chain Reaction)**

Elde edilen DNA örneklerinin Çizelge 3.5'te özellikleri verilen SCAR, Allel spesifik ve STMS primerleri ile PCR işlemleri şu sıraya göre gerçekleştirilmiştir:



Çizelge 3.5. Primerlere ait bazı bilgiler

Primer	Özellikleri					
	Markör Tipi	Primer Dizisi (5'-3')			Boyut (bp)	
		Forward	Reverse	F	R	
SCAE19	SCAR	GACAGTCCCTCCATTATCTAAAC	GACAGTCCCTATGTGTGAGAAT	23	22	
SCY17		GACGTGGTGACTATCTAGC	GACGTGGTGAAATAGATAACC	19	20	
SCK13		GGTTGTACCCCATCCTCCCG	GGTTGTACCCTTGTGCCACTA	20	21	
CaETR Fw-Rev 1	Allel spesifik	CAGGAAGTTCAATGGCCCTA	TAAGTTGTGACAAAAGACTCAATCG	20	25	
CaETR Fw-Rev 1- Rev2		CAGGAAGTTCAATGGCCCTA	TAAGTTGTGACAAAAGACTCAATCG* TGTGGCACAGTGGACCCCATCT**	20	22	
GAA47	STMS	CACTCCTCATGCCAACTCCT	AAAATGGAATAGTCGTATGGGG	20	22	
TA146		CTAAGTTTAATATGTTAGTCCTTAAATTAT	ACGAACGCAACATTAATTTTATATT	30	25	

\* CaETR Reverse 1

\*\* CaETR Reverse 2

Her bir primer için Çizelge 3.6’da verilen miktarlarda DNA, primer (forward+reverse), *Taq* DNA polimerase (DreamTaq, Fermentas), 10X *Taq* buffer, dNTPs içeren toplam toplam hacimi 15 µL’ye tamamlayacak şekilde steril ultra saf su eklenerek karışım tamamlanmıştır.

**Çizelge 3.6.** PCR’a konulacak mix malzemeleri ve miktarları

Primer	Mix miktarları (µL)*					
	Primer (Fw+Rev) (10 pmol)	Taq DNA Polimeraz (0,5 Unite/ µl)	DNA (20 ng)	dNTPs (2 µmol)	10X Buffer	Steril Su
<b>SCAE19</b>	1,5+1,5	0,2	1,6	2	2	6,2
<b>SCY17</b>	1,5+1,5	0,2	1,6	2	2	6,2
<b>SCK13</b>	1,5+1,5	0,2	1,6	2	2	6,2
<b>CaETR Fw- Rev 1</b>	1+1	0,3	2	1	1,5	8,2
<b>CaETR Fw- Rev 1-Rev2</b>	1+1	0,3	2	1	1,5	8,2
<b>GAA47</b>	2+2	0,25	1,5	1,5	2	5,75
<b>TA146</b>	1,2+1,2	0,3	2,5	2	1,75	6,05

\* Toplam mix miktarları 15 µl’dir.

Hazırlanan karışımı içeren 0,2 mL’lik tüpler bir T100 thermal cyler (Bio-Rad, CA, ABD) cihazına aktarılmış ve kullanılan primere göre amplifikasyon koşullarının verildiği Çizelge 3.7’deki sıcaklık ve sürelerde PCR protokolü girilerek cihaz çalıştırılmıştır. İşlem sonucunda DNA örneklerinin ilgili kısımları çoğaltıldığı varsayılarak, amplifikasyon ürünlerinin görülebilir hale gelmesi için agaroz jel elektroforez aşamasına geçilmiştir.

**Çizelge 3.7.** Çalışmamızda kullanılan primerlerin amplifikasyon koşulları

Primer	Amplifikasyon koşulları					
	95 °C	95 °C	48-62 °C	60-72 °C	Döngü sayısı	72 °C
<b>SCAE19</b>	3 dk.	20 sn.	50 °C, 30 sn.	60 °C, 50 sn.	35	5 dk.
<b>SCY17</b>	3 dk.	20 sn.	48 °C, 30 sn.	60 °C, 50 sn.	35	5 dk.
<b>SCK13</b>	15 dk.*	40 sn.	44 °C, 50 sn.	72 °C, 50 sn.	35	5 dk.
<b>CaETR Fw-Rev 1</b>	3 dk.	1 dk.	62 °C, 30 sn.	72 °C, 20 sn.	35	5 dk.
<b>CaETR Fw-Rev 1-Rev 2</b>	3 dk.	1 dk.	62 °C, 30 sn.	72 °C, 50 sn.	35	5 dk.
<b>GAA47</b>	3 dk.	40 sn.	55 °C, 50 sn. (-0,3°C touchdown)	72 °C, 50 sn.	35	5 dk.
<b>TA146</b>	15 dk.*	40 sn.	52 °C, 50 sn.	72 °C, 50 sn.	35	5 dk.

\* Hot Start Taq kullanılmıştır.

### 3.2.7 Agaroz Jel Elektroforez

Bir erlene Çizelge 3.8’de verilen miktarlarda agaroz ve 1X TAE konularak çalkalanmış ve %2’lik agaroz tam olarak çözünene kadar 1–3 dakika arasında mikrodalga fırında ısıtılmıştır. Mikrodalga fırından alınan karışımın ortam sıcaklığında 55-60 °C’ye kadar soğuması beklenmiştir. İdeal sıcaklığa gelen karışım su terazisi ile dengesi sağlanmış jel tankına dökülmüştür. Örnek sayısına göre ihtiyaç duyulan tarak da jel tankına sabitlendikten sonra jelin soğuması ve katılaşması beklenmiştir. Katılaştıktan sonra tarak çıkarılmış ve jel, içerisinde 1X TAE tampon çözeltisi bulunan elektroforez tankına aktarılmıştır.

**Çizelge 3.8.** Agaroz jel

Malzemeler	Miktar
Toz Agaroz	2,4 g
1X TAE*	120 mL

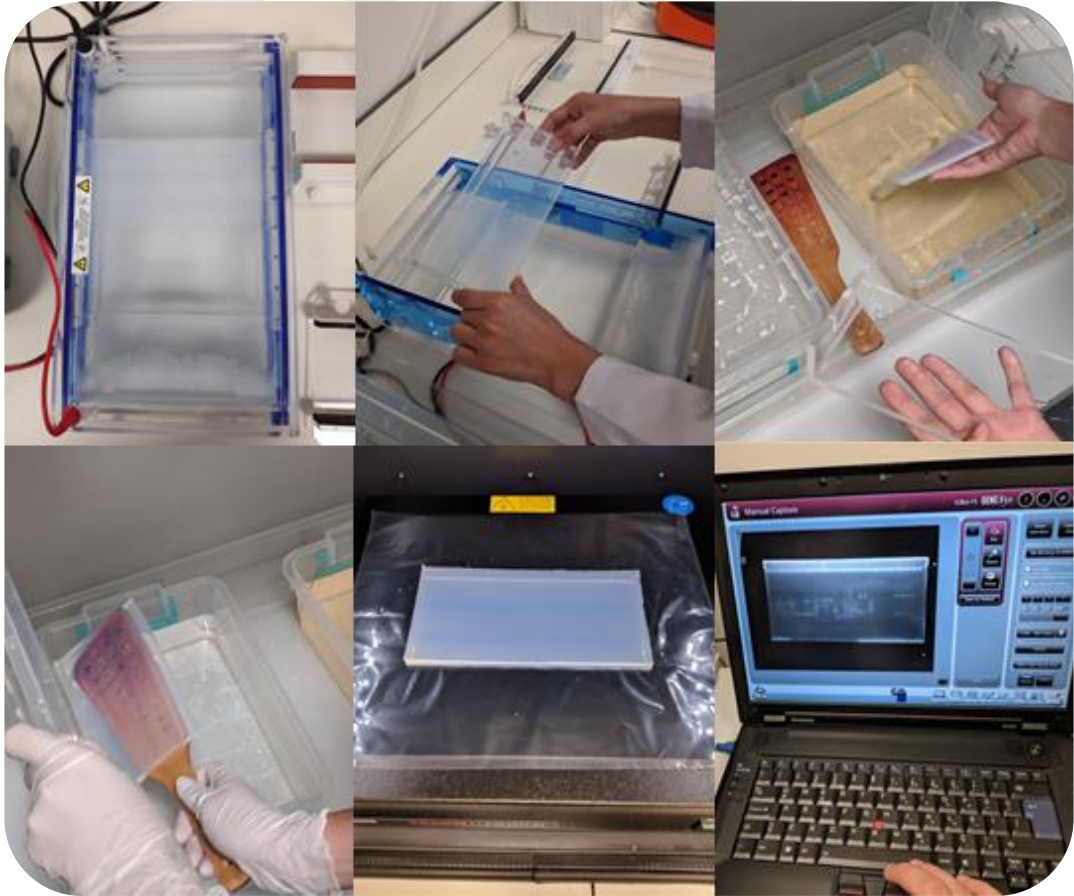
\*50X TAE’den seyreltilerek hazırlanmıştır.

İlk sıradaki kuyucuğa gen ruler (Thermo Scientific GeneRuler 100 bp DNA Ladder) diğer kuyucuklara ise boya ilave edilmiş PCR ürünleri yüklenmiştir. Elektroforez tankı güç kaynağına bağlanarak PCR ürünleri 120 V'da 90 dakika koşturulmuştur.

### 3.2.8 Jellerin görüntülenmesi

Agaroz jel elektroforezi aşaması tamamlandıktan sonra elde edilen bantların görünür hale getirilebilmesi için jel etidyum bromür solüsyonuna bırakılmış ve 20–30 dakika bu solüsyonda bekletilmiştir.

Jel solüsyondan alınıp UV transillimünatöre konularak 400 nm dalga boyunda görünür hale gelen DNA bantları fotoğraflanmıştır (Şekil 3.5). Elde edilen bantların kaç bp'de olduğu dikkate alınarak analizleri yapılmıştır.



Şekil 3.5. Bantların görünür hale getirilmesi ve görüntülenmesi.

### 3.2.9 Genotipik karakterizasyon değerlendirmesi

Genotipik karakterizasyon için yapılan PCR alışmaları sonucu elde edilen elektroforez jel görüntülerinde bantların istenen base pair seviyesinde varlığı kontrol edilerek skorlama tabloları oluşturulmuştur. Oluşan bu bant profillerinden elde edilen skorlama tabloları kullanılarak genetik karakterizasyon için değerlendirme işlemi yapılmıştır.

### 3.2.10 Fenotipik karakterizasyon değerlendirmesi

Yapılan klasik reaksiyon testleri (patojenisite) sonuçlarının değerlendirilmesi için Reddy ve Singh (1984) tarafından geliştirilmiş ve Chen vd. (2004) tarafından modifiye edilmiş olan 1–9 skala sistemi kullanılmıştır (izelge 3.9).

**Çizelge 3.9.** Hastalık şiddeti değerlendirme skalası

Skala Değeri	Hastalık Belirti Durumu
1	Enfeksiyon yok, sağlıklı bitki
2	Lezyon başlangıcı var fakat lezyonlar küçük
3	Lezyonlar kolayca görülebiliyor ve bitki çoğunlukla yeşil
4	Kolayca görülebilir büyük lezyonlar
5	Lezyonlar yaprakların çoğunluğuna yayılmış ve gövde lezyonları
6	Bitkide dal uçlarında geriye baston şeklinde ölümler
7	Bitki ölmeye başlıyor ancak 3-5 yaprak mevcut
8	Bitki neredeyse ölü hiçbir yeşil yaprak kalmamış ancak gövde yeşil
9	Ölü bitki

Patojenisite testinin sonuçlarını değerlendirmede 5 ve üzeri skor değeri alan bireyler hassas, 5'in altında skor değeri alan bireyler ise dayanıklı olarak kabul edilmiştir.

Hastalanan bitki oranı, her bir çeşit için 1'den yüksek skor değeri alan bitki sayısının çeşit için denemedeki toplam bitki sayısına bölünmesiyle elde edilmiş ve yüzde olarak belirtilmiştir. Elde edilen hastalık skala değerleri kullanılarak çeşitlerin % hastalık şiddetinde kullanılan formül (% Hastalık şiddeti:  $\frac{\sum(n.v)}{V.N} \times 100$ , n: Skalada belirli bir hastalık derecelerine denk gelen örnek miktarı, v: Skala değeri, V: En yüksek skala değeri, N: Gözlem yapılan toplam örnek sayısı) ile hesaplanmıştır .

### 3.2.11 İstatistiksel analizler

Patojenisite sonucu elde edilen hastalık şiddeti değerleri arasındaki istatistiksel farklılıklar varyans analizi ile incelenmiş ve peşinden  $P = 0,01$ 'da Statistical Analysis System (SAS Version 9.0; SAS Institute Inc.; Cary, NC, ABD) yazılımı yardımı ile Fisher'in en küçük anlamlı farklar testi (Least Significant Differences = LSD) gerçekleştirilmiştir.

Ayrıca markör verileri ile bitkilerdeki fenotipik dayanıklılığına ait veriler XLSTAT 2016 (Addinsoft, New York, USA) istatistik programında Pearson korelasyon (PC) analizine tabi tutulmuştur.



## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

*A. rabiei* nohut yanıklık etmeni olup nohut üretimi yapılan alanlarda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu durum bazı araştırmacılar tarafından da tespit edilmiştir. Atasağın (2009) Konya'nın 9 ilinde nohut yetiştirme alanlarında sörvey çalışmaları yapmış ve *A. rabiei* yaygınlığını, hastalık oranını ve hastalık şiddetini araştırmıştır. Araştırma sonunda Kadınhanı, Sarayönü, Ilgın ve Seydişehir'de sörvey alanlarının hepsinde hastalık görülmüştür. Beyşehir'de hastalık sörvey alanlarının %78'inde, Ereğli'de % 49'unda Güneysınır'da ise %18'inde tespit edilmiştir. Hastalığın Konya ili ortalama hastalık yaygınlığı %60,55 olarak bulunmuştur. Bulğak (2016) Marmara Bölgesinde nohut ekiliş alanlarında yaptığı sörvey çalışmalarında tarlalardaki *Ascochyta* yanıklığı varlığını araştırmış ve Balıkesir ilinde hastalık oranını %31, Tekirdağ'da %70, Çanakkale'de %45, Bursa'da %35 ve Bilecik'de %22 olarak bulmuştur.

*A. rabiei*'nin 4 patotipinin varlığı daha önce yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur. *A. rabiei*'nin patotip I, II ve III'ün varlığından Udupa vd. (1998), patotip IV'ün varlığından ise Imtiaz vd. (2011) tarafından yapılan araştırmalarda bahsedilmiştir. Patotipler arasında agresiflik farklılıklarının olduğu ve farklı nohut çeşitlerinin farklı patotiplere karşı dayanımının olduğundan bahsedilmiştir. Bu patotiplerin Türkiye'deki varlığı farklı araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur.

Türkkan ve Dolar (2009) yapmış oldukları çalışmada Türkiye'nin farklı illerinden elde edilmiş olan 67 *A. rabiei* izolatu ile patotip varlığını ve ırk ayrımını incelemişlerdir. İzolatların %59'unun patotip I, %5'inin patotip II ve %36'sının patotip III olduğunu tespit etmişlerdir.

Bu tez çalışmasında ülkemizde nohut ekiliş alanlarındaki yaygınlığı ve farklı agresiflik seviyelerinde ki patotiplerin varlığı daha önceki çalışmalarda da ortaya konmuş olan *A. rabiei*'ye karşı nohut çeşitlerinin ve uluslararası ıslah hatlarının dayanıklılık durumları araştırılmıştır.

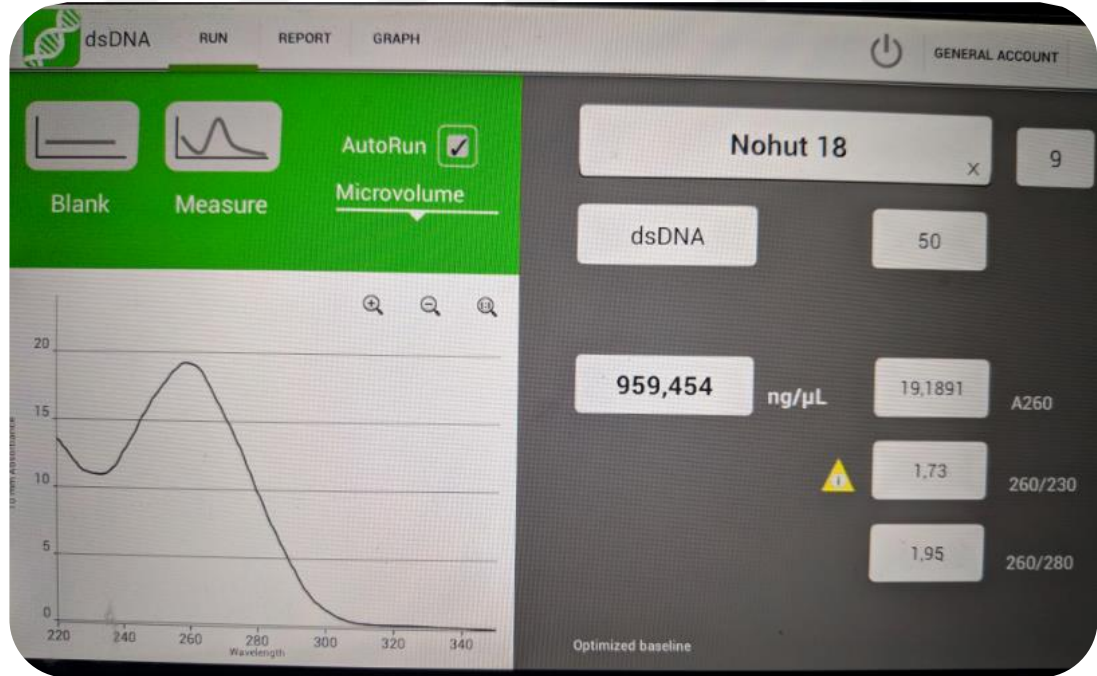
Tez çalışmamız da *A. rabiei* patotip I, II, III ve IV'e karşı nohut çeşit ve genotiplerinin dayanıklılıkları klasik reaksiyon testleri ile belirlenmiştir. Klasik

reaksiyon testlerine göre farklı patotiplere karşı farklı dayanıklılık seviyelerinin olduğu tespit edilmiştir.

Nohut çeşit/genotiplerinin *A. rabiei*'ye karşı dayanıklılık durumlarının moleküler karakterizasyonu için SCAR (SCY17, SCAE19, SCK13), Allel spesifik (CaETR fw+rev1, CaETR fw+rev1+rev2) ve STMS (GAA47, TA146) markörleriyle MAS çalışması yapılmıştır.

#### 4.1 Genotipik karakterizasyon

Genotipik karakterizasyon için gerçekleştirilen DNA izolasyon çalışmalarında DarT DNA izolasyon yönteminin oldukça başarılı olduğu görülmüştür. Nohut genotip ve çeşitlerinden elde edilen DNA'ların bir DS-11 FX+ spektrofotometre ölçümleri sonucu çalışmanın sağlıklı bir şekilde yürütülebilmesi için gerekli temizlik ve miktarda DNA sağladığı tespit edilmiştir (Şekil 4.1). Tüm DNA'ların spektrofotometre ölçümleri Çizelge 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Spektrofotometre ölçüm örneği



**Çizelge 4.1.** Örneklerin spektrofotometre ölçüm verileri

Çeşit	Konsantrasyon (ng/µL)	260/280	500 µL (10ng/µL)	Eklenecek* Su (µL)
ARAS	359,14	2,13	13,9	486,1
GÖKSU	218,88	2,11	22,8	477,2
HASANBEY	1181,75	2,14	4,2	495,8
HİSAR	730,13	2,12	6,8	493,2
ÇAKIR	904,06	2,12	5,5	494,5
UZUNLU 99	814,08	2,12	6,1	493,9
GÜLÜMSER	1076,84	2,17	4,6	495,4
OMPAR 3	763,47	2,12	6,5	493,5
AKSU	1034,23	2,15	4,8	495,2
SEÇKİN	1243,70	2,02	4,0	496,0
DİYAR 95	1781,61	2,06	2,8	497,2
ILGAZ	924,80	2,16	5,4	494,6
ARDA	1277,69	2,08	3,9	496,1
ZUHAL	1085,15	2,17	4,6	495,4
AKCA	738,71	2,10	6,8	493,2
İNÇİ	1060,46	2,16	4,7	495,3
YAŞA 05	1837,60	2,06	2,7	497,3
AZKAN	959,45	1,95	5,2	494,8
CANITEZ 87	1259,92	2,02	4,0	496,0
AKÇİN 91	983,79	2,15	5,1	494,9
GÖKÇE	684,42	2,12	7,3	492,7
IŞIK 05	1226,36	2,08	4,1	495,9
ÇAĞATAY	1590,67	2,09	3,1	496,9
ILC 482	1453,05	2,10	3,4	496,6
SARI 98	1756,54	2,10	2,8	497,2
YAZICI	1784,56	2,12	2,8	497,2
AĞSAKALLI	1433,92	2,06	3,5	496,5
SEZENBEY	1773,66	2,13	2,8	497,2
SAĞEL	1194,96	2,17	4,2	495,8
ILC 1272	1605,86	2,12	3,1	496,9
ICC 3996	1516,09	2,08	3,3	496,7
FLIP 84-92C	1142,80	2,16	4,4	495,6
DWELLEY	2115,34	2,11	2,4	497,6
ICC 12004	1430,04	2,14	3,5	496,5
ILC 195	1271,91	2,15	3,9	496,1
RPIP 12-069-00103	1478,65	2,16	3,4	496,6
ICC 3279	1008,71	2,09	5,0	495,0
ILC 1929	1385,29	2,06	3,6	496,4
ILC 249	1598,45	2,10	3,1	496,9
ILC 72	1203,57	2,12	4,2	495,8
ICC 4475	1982,76	2,10	2,5	497,5
ILC 1903	1119,14	2,14	4,5	495,5
ILC 482	2521,66	2,09	2,0	498,0
ILC 200	2160,56	2,05	2,3	497,7
ILC 4935	2199,01	2,07	2,3	497,7
RPIP 12-071-03976	771,67	2,11	6,5	493,5
ILC 247	1669,35	2,11	3,0	497,0

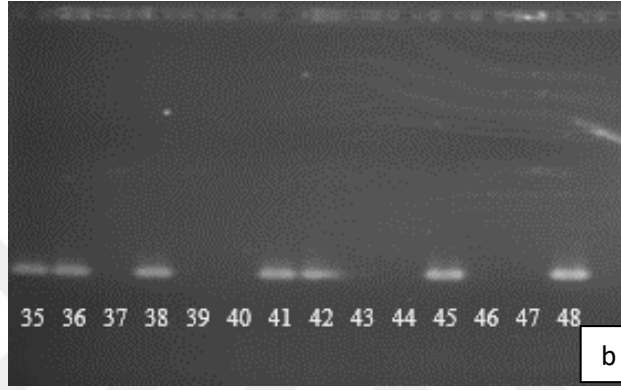
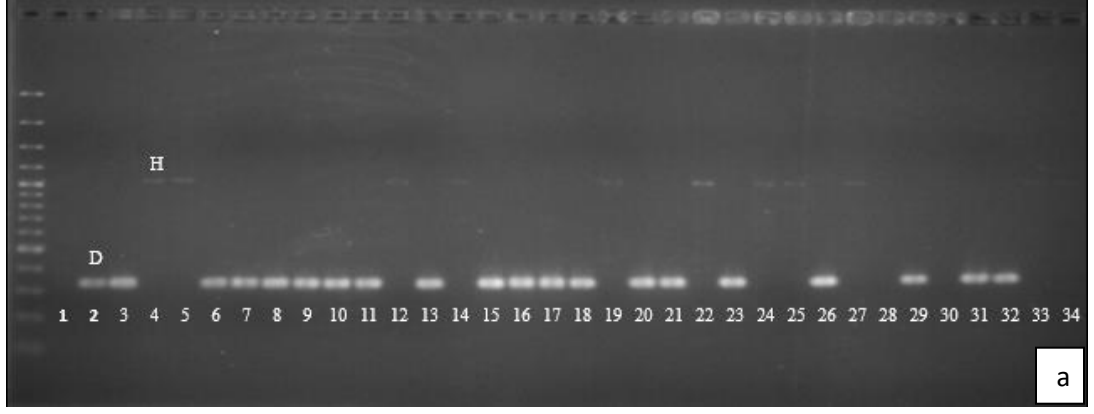
\*Örneklerde 500 µL hacimde 10ng/µL DNA konsantrasyonu olması için eklenmesi gereken su miktarı

Çizelge 4.2’de kullanılan nohut çeşit/genotiplerinin elektroforez jel görüntülerindeki sıralaması ifade edilmiştir. Bu nohut çeşit ve genotiplerinden elde edilen DNA’larla yapılan PCR çalışmalarının sonucu elde edilen bant profilleri Şekil 4.2–4.8’de verilmiştir. Bu profillere dayanarak oluşturulan skorlamalar Çizelge 4.3’de verilmiştir. Skorlamalarda “0” hassaslık, “1” ise dayanıklılığı ifade etmektedir. 34. sıradaki PI 559363 CSI/ICC 12004 genotipi bu ve diğer markör çalışmalarında tohumların yeterince çimlenmemesinden dolayı değerlendirilmeden çıkarılmıştır.

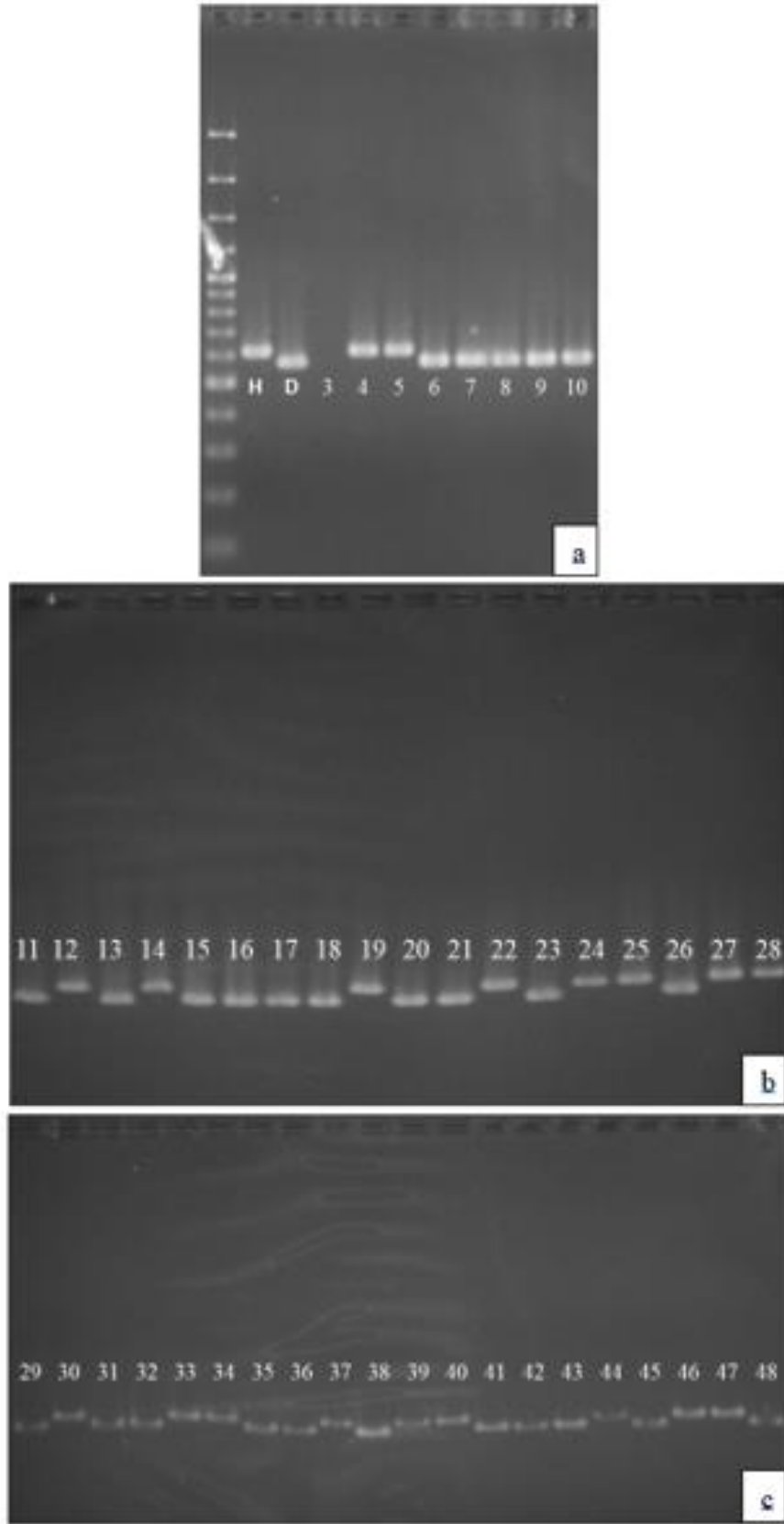
**Çizelge 4.2.** Araştırmamızda kullanılan nohut çeşit ve genotiplerinin elektroforez jel görüntülerindeki sıralaması

No	Çeşit/Genotip Adı	No	Çeşit/Genotip Adı
1.	ARAS	25.	SARI 98
2.	GÖKSU	26.	YAZICI
3.	HASANBEY	27.	AĞSAKALLI
4.	HİSAR	28.	SEZENBEY
5.	ÇAKIR	29.	TAEK-SAĞEL
6.	UZUNLU 99	30.	W6 2909/ILC 1272
7.	GÜLÜMSER	31.	PI 675522/ICC 3996
8.	OMPAR 3	32.	PI 614731/FLIP 84-92C
9.	AKSU	33.	PI 598079/DWELLEY
10.	SEÇKİN	34.	PI 559363 CSI/ICC 12004*
11.	DİYAR 95	35.	PI 559363/ICC 12004
12.	ILGAZ	36.	PI 564775/ILC 195
13.	ARDA	37.	PI 359075/RPIP 12-069-00103
14.	ZUHAL	38.	W6 22585/ICC 3279
15.	AKÇA	39.	W6 22584/ILC 1929
16.	İNCİ	40.	W6 22581/ILC 249
17.	YAŞA-05	41.	W6 22575/ILC 72
18.	AZKAN	42.	PI 559361/ICC 4475
19.	CANITEZ-87	43.	W6 22587/ILC 1903
20.	AKÇİN - 91	44.	W6 22582/ILC 482
21.	GÖKÇE	45.	W6 22579/ILC 200
22.	IŞIK-05	46.	W6 22591/ILC 4935
23.	ÇAĞATAY	47.	PI 451270/RPIP 12-071-03976
24.	ILC-482	48.	PI 315816/ILC 247

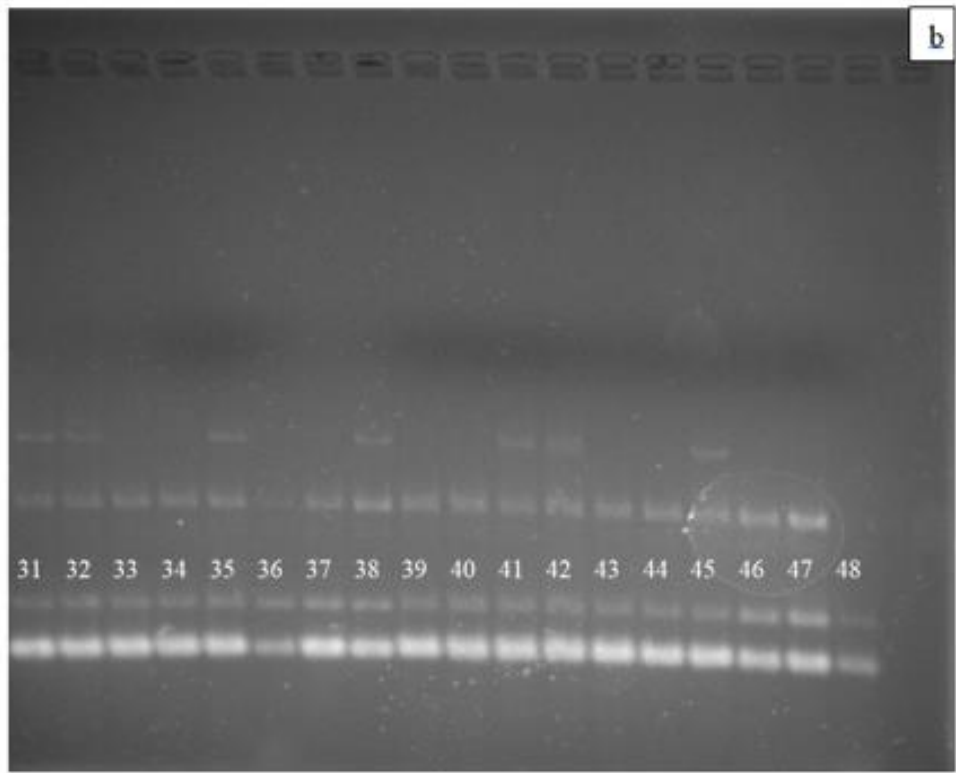
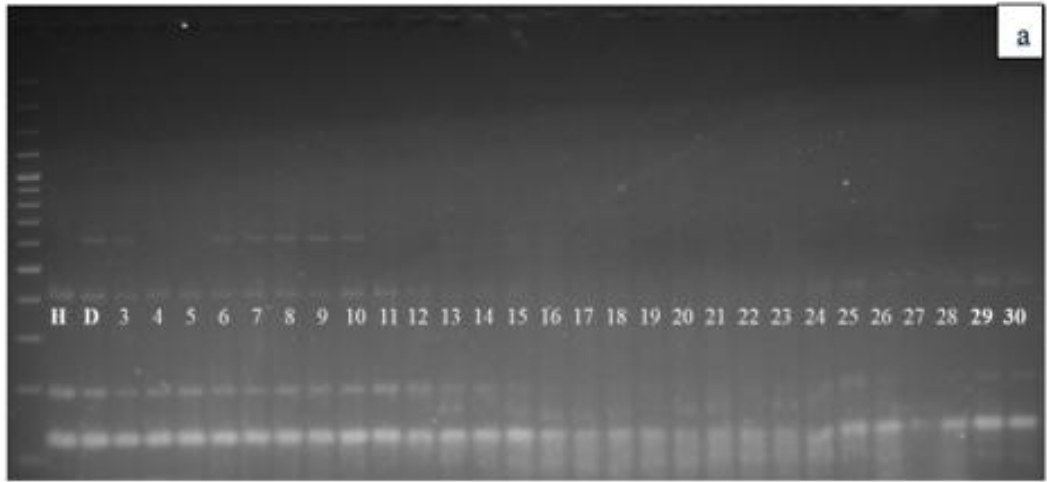
\*Tohumların çimlenmemesi nedeni ile tez çalışmalarından çıkarılmıştır.



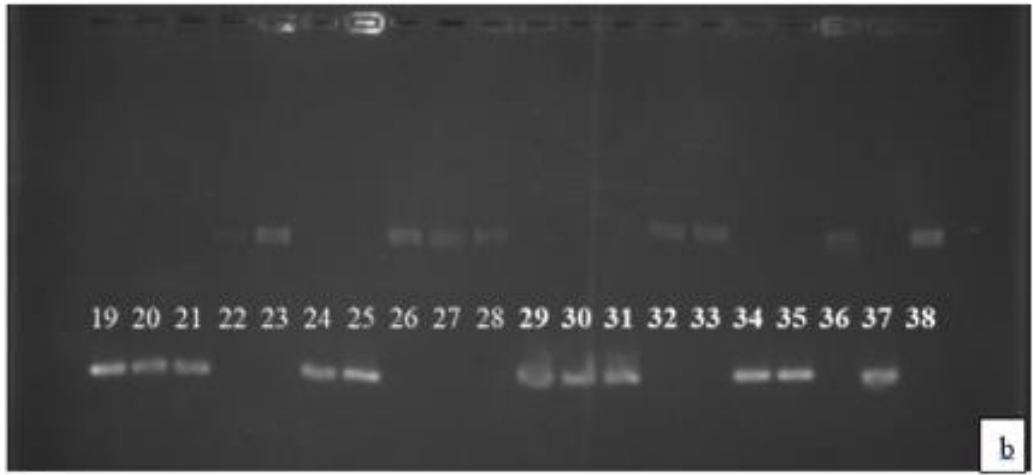
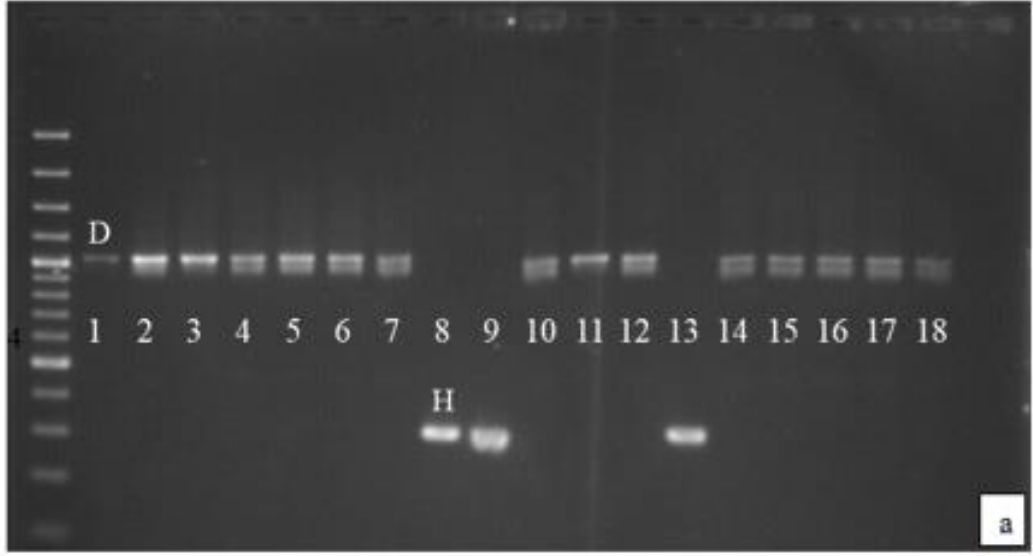
**Şekil 4.2.** SCAE19 primeri ile yapılan PCR sonucu ortaya çıkan bantların jel elektroforez görüntüsü a) Örnek 1-34 b) Örnek 35-48. 34. sıradaki PI 559363 CSI/ICC 12004 genotipi bu ve diğer markörlerde değerlendirilmeden çıkarılmıştır.



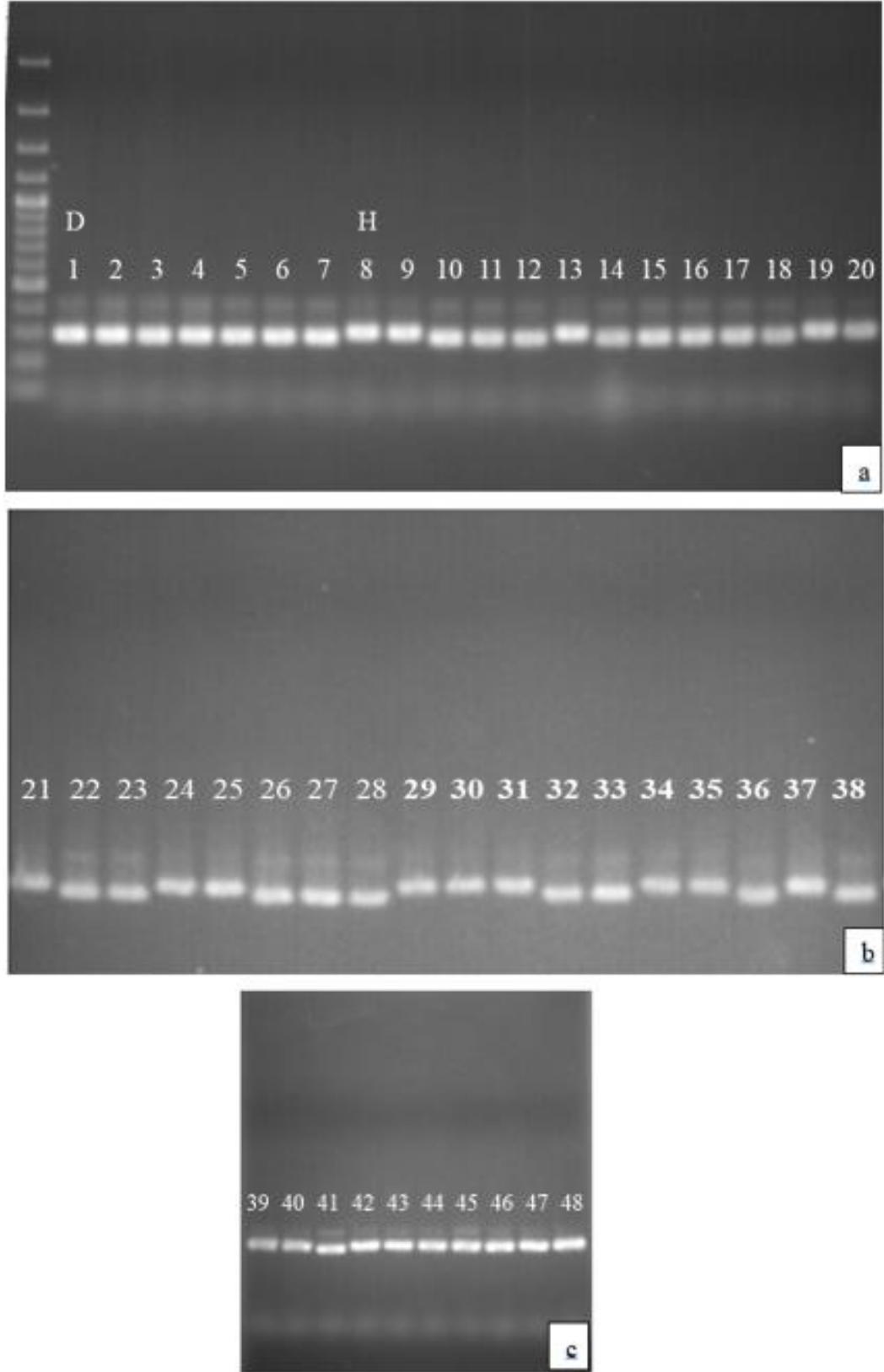
**Şekil 4.3.** SCY17 primeri ile yapılan PCR sonucu ortaya çıkan bantların jel elektroforez görüntüsü a) Örnek 1-10 b) Örnek 11-28 c) Örnek 29-48



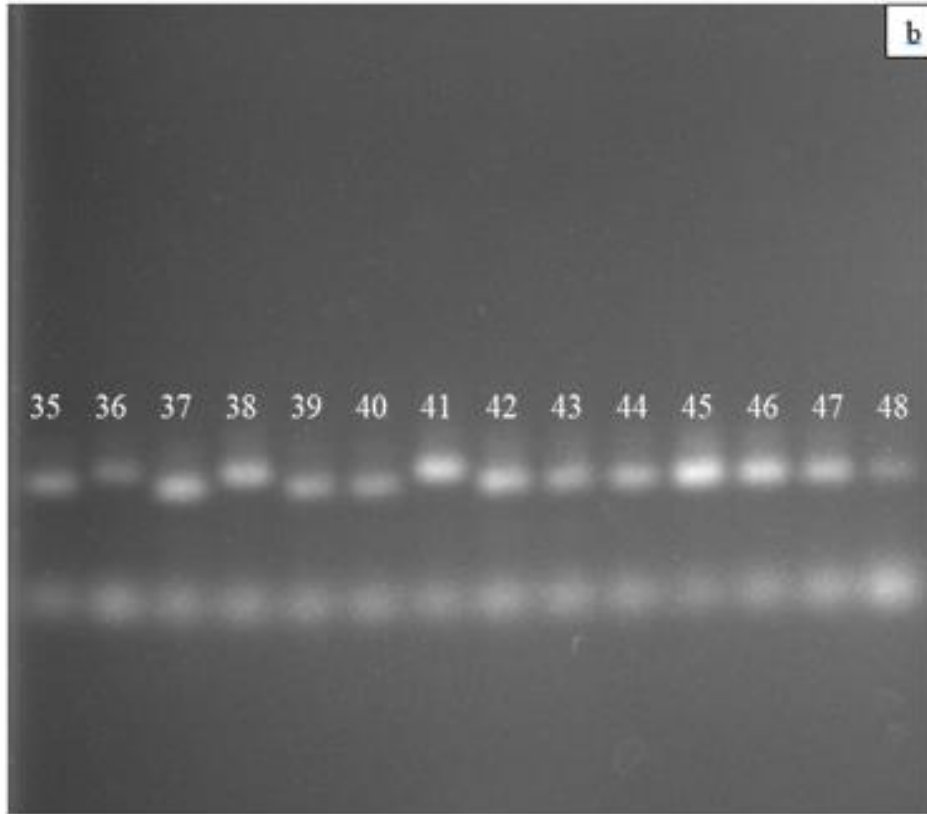
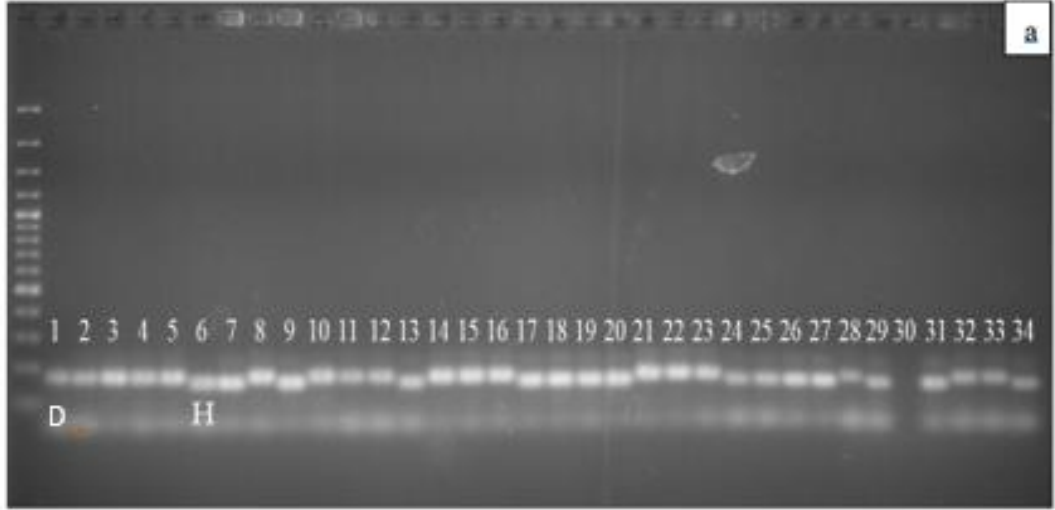
**Şekil 4.4.** SCK13 primeri ile yapılan PCR sonucu ortaya çıkan bantların jel elektroforez görüntüsü a) Örnek 1-30 b) Örnek 31-48.



**Şekil 4.5.** CaETR Fw+Rev 1 primeri ile yapılan PCR sonucu ortaya çıkan bantların jel elektroforez görüntüsü a) Örnek 1-18 b) Örnek 19-38 c) Örnek 39-48.

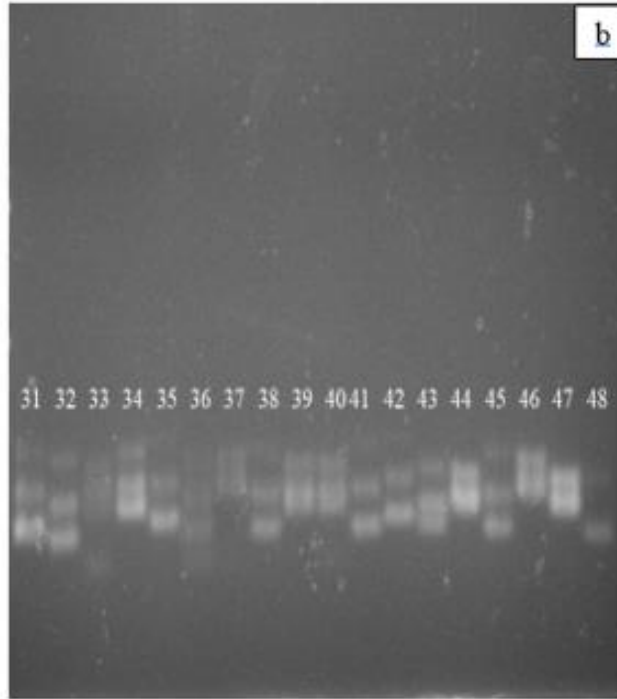
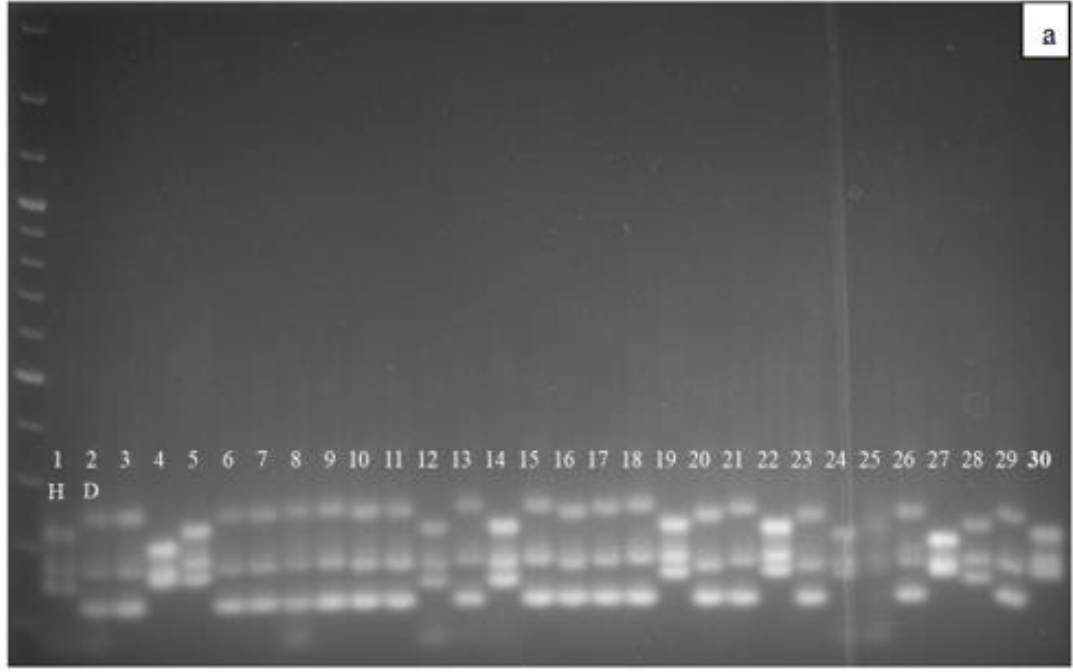


**Şekil 4.6.** CaETR Fw+Rev 1+Rev 2 primeri ile yapılan PCR sonucu ortaya çıkan bantların jel elektroforez görüntüsü a) Örnek 1-20 b) Örnek 21-38 c) Örnek 39-48.



**Şekil 4.7.** GAA47 primeri ile yapılan PCR sonucu ortaya çıkan bantların jel elektroforez görüntüsü a) Örnek 1-34 b) Örnek 35-48.





**Şekil 4.8.** TA146 primeri ile yapılan PCR sonucu ortaya çıkan bantların jel elektroforez görüntüsü a) Örnek 1-30 b) Örnek 31-48.

**Çizelge 4.3.** Markörlerin skor değerleri

No:	Çeşit/Genotip	SCY17	SCAE19	SCK13	TA146	GAA47	CaETR <sup>1*</sup>	CaETR <sup>2</sup>
1	ARAS	0	0	0	0	1	1	1
2	GÖKSU	1	1	1	1	1	1	1
3	HASANBEY	1	1	1	1	1	1	1
4	HISAR	0	0	0	0	1	1	1
5	ÇAKIR	0	0	0	0	1	1	1
6	UZUNLU 99	1	1	1	1	0	1	1
7	GÜLÜMSER	1	1	1	1	0	1	1
8	OMPAR 3	1	1	1	1	1	0	0
9	AKSU	1	1	1	1	0	0	0
10	SEÇKİN	1	1	1	1	1	1	1
11	DİYAR 95	1	1	1	1	1	1	1
12	ILGAZ	0	0	0	0	1	1	1
13	ARDA	1	1	1	1	0	0	0
14	ZUHAL	0	0	0	0	1	1	1
15	AKCA	1	1	1	1	1	1	1
16	İNCİ	1	1	1	1	1	1	1
17	YAŞA 05	1	1	1	1	0	1	1
18	AZKAN	1	1	1	1	0	1	1
19	CANITEZ 87	0	0	0	0	0	0	0
20	AKÇİN 91	1	1	1	1	0	0	0
21	GÖKÇE	1	1	1	1	1	0	0
22	IŞIK 05	0	0	0	0	1	1	1
23	ÇAĞATAY	1	1	1	1	1	1	1
24	ILC 482	0	0	0	0	0	0	0
25	SARI 98	0	0	0	0	0	0	0
26	YAZICI	1	1	1	1	0	1	1
27	AĞSAKALLI	0	0	0	0	0	1	1
28	SEZENBEY	0	0	0	0	1	1	1
29	SAĞEL	1	1	1	1	0	0	0
30	ILC 1272	0	0	0	0	0	0	0
31	ICC 3996	1	1	1	1	0	0	0
32	FLIP 84-92C	1	1	1	1	1	1	1
33	DWELLEY	0	0	0	0	1	1	1
34	ICC 12004	1	1	1	1	0	0	0
35	ILC 195	1	1	1	0	1	1	1
36	RPIP 12-069-00103	0	0	0	0	0	0	0
37	ICC 3279	1	1	1	1	1	1	1
38	ILC 1929	0	0	0	0	0	0	0
39	ILC 249	0	0	0	0	0	0	0
40	ILC 72	1	1	1	1	1	1	1
41	ICC 4475	1	1	1	1	0	0	0
42	ILC 1903	1	0	0	0	0	0	0
43	ILC 482	0	0	0	0	0	0	0
44	ILC 200	1	1	1	1	0	0	0
45	ILC 4935	0	0	0	0	0	0	0
46	RPIP 12-071-03976	0	0	0	0	0	0	0
47	ILC 247	1	1	1	1	0	0	0

\*CaETR<sup>1</sup> forward+reverse 1

CaETR<sup>2</sup> forward+reverse 1 + reverse 2 markörü sonuçlarına göre tüm çeşit/genotiplerin homozigot olduğu tespit edilmiştir. Heterozigot olması için gerekli olan çift bant gözlenmemiştir.

*A.rabiei*'ye dayanıklılığın belirlenmesi için yapılan ve 47 nohut çeşit/genotipinin kullanıldığı çalışmamızda markör destekli seleksiyon sonuçlarına göre CaETR ve GAA17 markörlerinin vermiş olduğu bant profilleri ile SCAR(SCAE19-SCY17-SCK13) markörleriyle STMS markörü olan TA146'nın vermiş olduğu bant profilleri birbirlerine yüksek oranda benzer bulunmuştur. CaETR ile GAA17'nin vermiş oldukları bant profillerinin 37'si, SCAR markörleriyle TA146 markörünün vermiş olduğu bant profillerinin ise 45'inin aynı olduğu belirlenmiştir. Çalışmamıza benzer olarak Castro vd. (2015) de CaETR ve GAA47'nin LG4 üzerindeki QTL<sub>AR1</sub> ile bağlantılı olduğunu dolayısıyla bu iki markörün birbirine yakın sonuçlar verebileceğini tespit etmişlerdir. Tekeoğlu vd. (2002) TA146'nın LG4b üzerindeki QTL<sub>AR2</sub> ile bağlantılı olduğunu ortaya koymuşlardır. Iruela vd. (2006) ise SCAR markörleri olan SCY17, SCAE19 ve SCK13'ün LG4b üzerindeki QTL<sub>AR2</sub> ile bağlantılı olduğunu bulmuşlardır.

CaETR markörünün ortaya koyduğu verilere göre 25 dayanıklı, 22 hassas GAA17 markörüne göre ise 21 dayanıklı, 26 hassas birey tespit edilmiştir. SCY17 markörü sonuçlarına göre 28 dayanıklı, 19 hassas SCAE19'a göre 27 dayanıklı, 20 hassas SCK13'e göre 27 dayanıklı, 20 hassas TA146'ya göre ise 26 dayanıklı, 20 hassas birey tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Markörlerin temsil ettikleri QTL bölgelerini esas alarak GAA47(QTL<sub>AR1</sub>) ve SCY17, SCAE19, SCK13(QTL<sub>AR2</sub>) markörlerinin verilerini birlikte değerlendirdiğimizde ise sırasıyla 36 dayanıklı, 11 hassas; 35 dayanıklı, 12 hassas; 35 dayanıklı, 12 hassas birey tespit edilmiştir.

Yıldırım (2007) yaptıkları çalışmada TA146 dahil bir dizi markör kullanarak nohut genomunda QTL analizleri gerçekleştirmişlerdir. TA146 marköründen elde ettikleri sonuçlara göre Hasanbey, Aksu, Seçkin, Diyar 95, Arda, İnci, Yaşa 05, Azkan, Akçin 91, Gökçe, TAEK-Sağel çeşitlerini dayanıklı Zuhul, Canitez 87, Sarı 98 ve Sezenbey çeşitlerini ise hassas olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler Yıldırım (2007)'in çalışmasındaki veriler ile benzer bulunmuştur.

Tar'an vd. (2007) GAA47 dahil bir dizi markörle Ascochyta yanıklığına karşı dayanıklılık tespiti için QTL bölgelerini taramış ve GAA47 markörüne göre ICC 12004, ICC 3996 ve ICC 4475'i bir grupta FLIP 84-92C, ICC 3279 ve ILC 72 ise farklı bir grupta tanımlamıştır. Sonuçlarımız Tar'an vd. (2007) ile uyuşmakta olup

GAA47 markörüyle yaptığımız çalışmada ICC 12004, ICC 3996 ve ICC 4475 “0” skorunu alarak hassas grupta, FLIP 84-92C, ICC 3279 ve ILC 72 ise “1” skorunu alarak dayanıklı grupta tanımlanmıştır.

Imtiaz vd. (2008) 21 SSR ve 2 SCAR (SCAE19-SCY17) markörüyle yaptıkları çalışmada Avustralya nohut çeşitlerinde ve yabancı akrabalarında genetik çeşitlilik ve Ascochyta yanıklığına karşı direnç durumunu araştırmışlar ve SCAE19 ile SCY17 SCAR markörlerinden elde ettiklere sonuçlara göre ICC 3996, ICC 12004, ILC 72 ve ILC 3279’u dayanıklı olarak tespit etmişlerdir. Çalışmamızda kullandığımız SCAR markörleri olan SCAE19, SCY17 ve SCK13 ile yaptığımız taramalarda Imtiaz vd. (2008) ile aynı doğrultuda ICC 3996, ICC 12004, ILC 72 ve ILC 3279 tarafımızca dayanıklı bulunmuştur.

Madrid vd. (2013)  $QTL_{AR1}$  ile ilişkili olan CaETR Allel spesifik markörünün ve  $QTL_{AR2}$  ile ilişkili olan SCY17 SCAR markörünün 51 nohut çeşit/genotip ve hatlarında Ascochyta yanıklığına karşı dayanıklılık ile ilişkisini incelemiştir. CaETR markörünün dayanıklılık, hassaslık durumunun yanında heterozigotluk durumunda tespit ettiğini bulan araştırmacılar CaETR ile SCY17’nin birlikte kullanılmak suretiyle grup içerisindeki dayanıklılık durumunu %90 doğrulukla tespit ettiğini ortaya koymuştur CaETR ve SCY17’yi birlikte değerlendiren araştırmacılar ILC 1929 ve PI 359075/RPIP 12-069-00103 hassas ILC 200, ILC 72, ILC 3279, ICC 3996, ICC 12004, ICC 4475, FLIP 84-92C ve Dwelley’i dayanıklı olarak bulmuşlardır. Araştırmacıların ve çalışmamızın ortak bireyleri olan ILC 482, ILC 1929, PI 359075/RPIP 12-069-00103, ILC 200, ILC 72, ILC 3279, ICC 3996, ICC 12004, ICC 4475, FLIP 84-92C ve Dwelley’in CaETR+SCY17 markörleriyle taranmasından elde edilen bütün veriler örtüşmektedir. Hatta araştırmacılar Cordoba Üniversitesi’nde yetiştirme programı verilerinde ILC 482’nin dayanıklı olarak belirlendiğini ancak CaETR+SCY17 markör taramasında hassas olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir. Aynı durum bizim araştırmamızda da ortaya çıkmış ve patotip I’e dayanıklı olarak tespit ettiğimiz ILC 482 CaETR+SCY17 markör taramasında hassas olarak tespit edilmiştir.

## 4.2 Fenotipik karakterizyon (Klasik reaksiyon testleri)

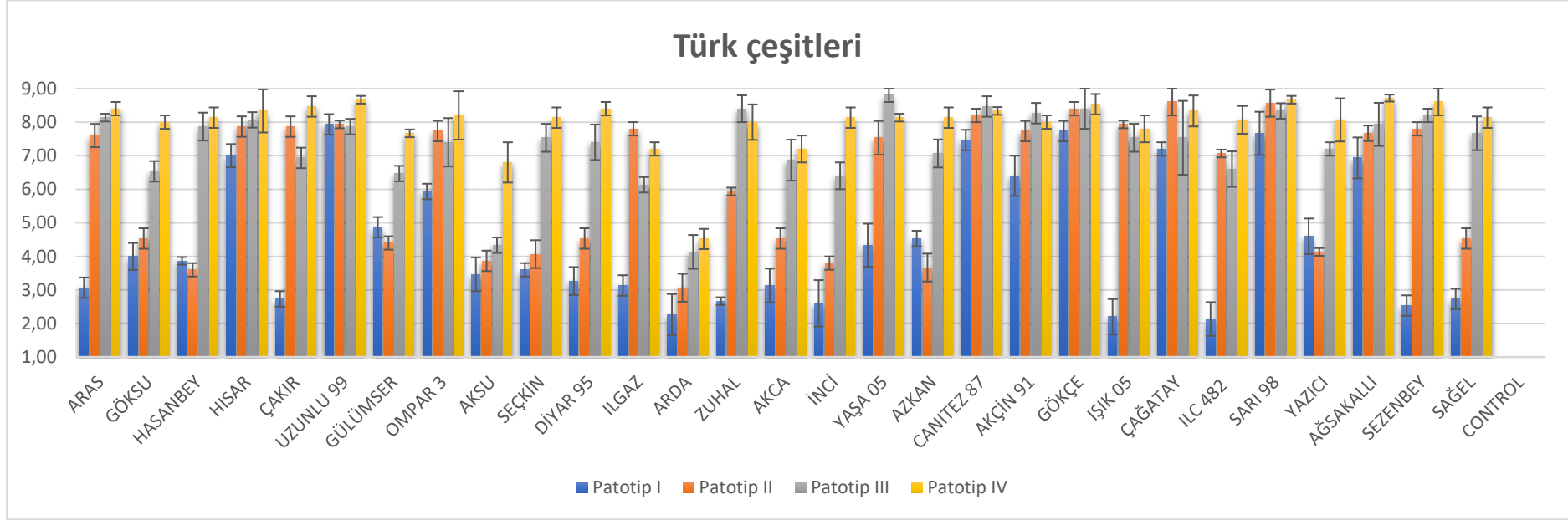
Klasik reaksiyon testleri sonucunda 1-9 skala sistemine göre değerlendirilen bitkilerin patotiplere göre aldıkları skorlar Şekil 4.9–4.10’da hastalık şiddeti oranı, standart sapma ve hastalıklı bitki oranları da Çizelge 4.4–4.5’de verilmiştir.

**Çizelge 4.4.** Klasik reaksiyon testleri patotip I ve patotip II sonuç verileri

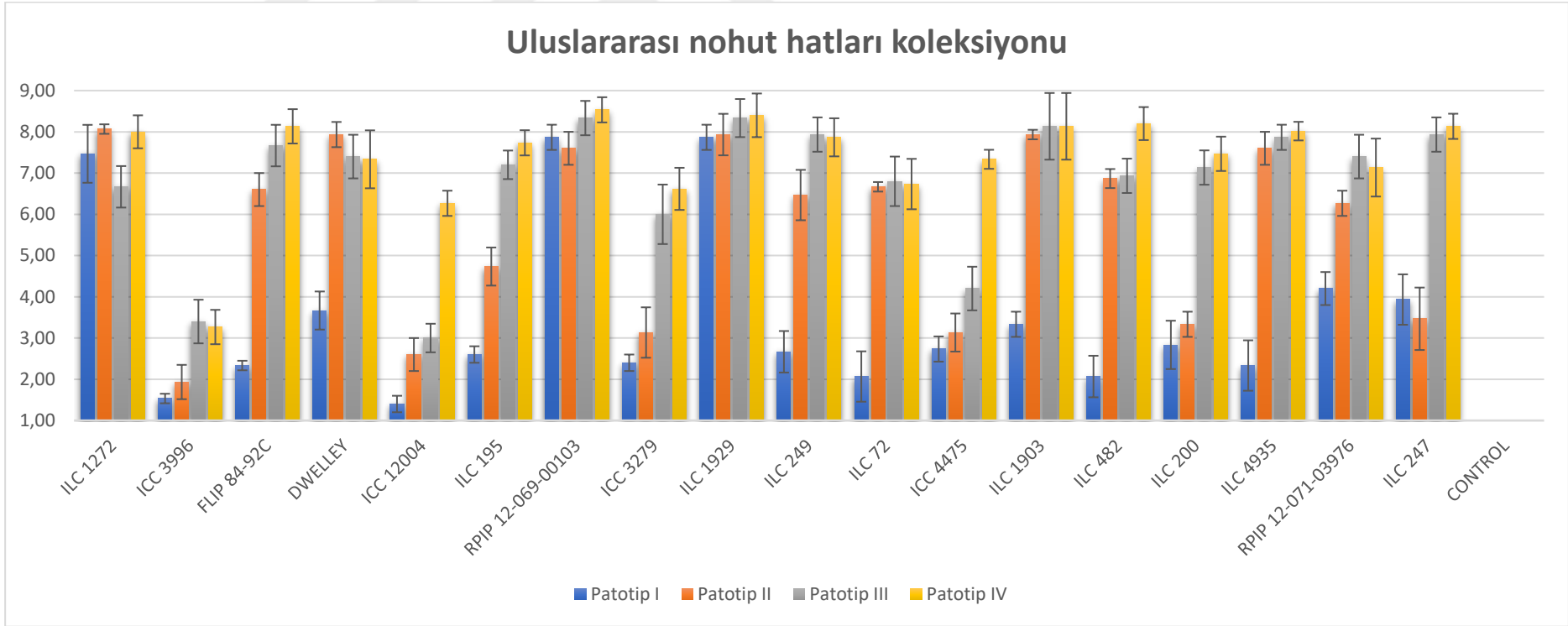
No	Çeşit Adı	Patotip I			Patotip II		
		Hastalık Şiddeti	Standart Sapma	Hastalıklı Bitki Oranı	Hastalık Şiddeti	Standart Sapma	Hastalıklı Bitki Oranı
1.	ARAS	34,07	3,39	100	84,44	3,85	100
2.	GÖKSU	44,44	4,44	100	50,37	3,39	100
3.	HASANBEY	42,96	1,28	100	40,00	2,22	100
4.	HİSAR	77,78	3,85	100	87,41	3,39	100
5.	ÇAKIR	30,37	2,57	100	87,41	3,39	100
6.	UZUNLU 99	88,15	3,39	100	88,15	1,28	100
7.	GÜLÜMSER	54,07	3,39	100	48,89	2,22	100
8.	OMPAR 3	65,93	2,57	100	85,93	3,39	100
9.	AKSU	38,52	5,59	100	42,96	3,39	100
10.	SECKİN	40,00	2,22	100	45,19	4,63	100
11.	DİYAR 95	36,30	4,63	100	50,37	3,39	100
12.	ILGAZ	34,81	3,39	100	86,67	2,22	100
13.	ARDA	25,19	6,79	100	34,07	4,63	100
14.	ZUHAL	29,63	1,28	100	65,93	1,28	100
15.	ZKÇA	34,81	5,59	100	50,37	3,39	100
16.	İNÇİ	28,89	7,70	100	42,22	2,22	100
17.	YASA 05	48,15	7,14	100	83,70	5,59	100
18.	AZKAN	50,37	2,57	100	40,74	4,63	100
19.	CANITEZ 87	82,96	3,39	100	91,11	2,22	100
20.	AKÇİN 91	71,11	6,67	100	85,93	3,39	100
21.	GÖKCE	85,93	3,39	100	93,33	2,22	100
22.	IŞIK 05	24,44	5,88	100	88,15	1,28	100
23.	ÇAĞATAY	80,00	2,22	100	95,56	4,44	100
24.	ILC 482	23,70	5,59	80	78,52	1,28	100
25.	SARI 98	85,19	7,14	100	95,19	4,49	100
26.	YAZICI	51,11	5,88	100	45,93	1,28	100
27.	AĞSAKALLI	77,04	6,79	100	85,19	2,57	100
28.	SEZENBEY	28,15	3,39	100	86,67	2,22	100
29.	TAEK SAĞEL	30,37	3,39	100	50,37	3,39	100
30.	ILC 1272	82,96	7,80	100	89,63	1,28	100
31.	ICC 3996	17,04	1,28	53,33	21,48	4,63	80
32.	FLIP 84-92C	25,93	1,28	93,33	73,33	4,44	100
33.	DWELLEY	40,74	5,13	100	88,15	3,39	100
34.	ICC 12004	15,56	2,22	40	28,89	4,44	100
35.	ILC 195	28,89	2,22	100	52,59	5,13	100
36.	RPIP 12-069-	87,41	3,39	100	84,44	4,44	100
37.	ICC 3279	26,67	2,22	93,33	34,81	6,79	100
38.	ILC 1929	87,41	3,39	100	88,15	5,59	100
39.	ILC 249	29,63	5,59	100	71,85	6,79	100
40.	ILC 72	22,96	6,79	80	74,07	1,28	100
41.	ICC 4475	30,37	3,39	93,33	34,81	5,13	100
42.	ILC 1903	37,04	3,39	100	88,15	1,28	100
43.	ILC 482	22,96	5,59	80	76,30	2,57	100
44.	ILC 200	31,48	6,51	100	37,04	3,39	100
45.	ILC 4935	25,93	6,79	80	84,44	4,44	100
46.	RPIP 12-071-	46,67	4,44	100	69,63	3,39	100
47.	ILC 247	43,70	6,79	100	38,52	8,41	100

**Çizelge 4.5.** Klasik reaksiyon testleri patotip III ve patotip IV sonuç verileri

No	Çeşit Adı	Patotip III			Patotip IV		
		Hastalık Şiddeti	Standart Sapma	Hastalıklı Bitki Oranı	Hastalık Şiddeti	Standart Sapma	Hastalıklı Bitki Oranı
1.	ARAS	90,37	1,28	100	93,33	2,22	100
2.	GÖKSU	72,59	3,39	100	88,89	2,22	100
3.	HASANBEY	87,41	4,63	100	90,37	3,39	100
4.	HİSAR	89,63	2,57	100	92,59	7,14	100
5.	ÇAKIR	77,04	3,39	100	94,07	3,39	100
6.	UZUNLU 99	87,41	2,57	100	96,30	1,28	100
7.	GÜLÜMSER	71,85	2,57	100	85,19	1,28	100
8.	OMPAR 3	82,22	8,01	100	91,11	8,01	100
9.	AKSU	48,15	2,57	100	75,56	6,67	100
10.	SECKİN	83,70	4,63	100	90,37	3,39	100
11.	DİYAR 95	82,22	5,88	100	93,33	2,22	100
12.	ILGAZ	68,15	2,57	100	80,00	2,22	100
13.	ARDA	45,93	5,59	100	48,89	3,85	100
14.	ZUHAL	93,33	4,44	100	88,89	5,88	100
15.	AKÇA	76,30	6,79	100	80,00	4,44	100
16.	İNCİ	71,11	4,44	100	90,37	3,39	100
17.	YASA 05	97,78	2,22	100	90,37	1,28	100
18.	AZKAN	78,52	4,63	100	90,37	3,39	100
19.	CANİTEZ 87	94,07	3,39	100	92,59	1,28	100
20.	AKCİN 91	91,85	3,39	100	88,89	2,22	100
21.	GÖKCE	93,33	6,67	100	94,81	3,39	100
22.	İŞİK 05	83,70	4,63	100	86,67	4,44	100
23.	ÇAĞATAY	83,70	12,24	100	92,59	5,13	100
24.	ILC 482	73,33	5,88	100	89,63	4,63	100
25.	SARI 98	92,59	2,57	100	96,30	1,28	100
26.	YAZICI	80,00	2,22	100	89,63	7,14	100
27.	AĞSAKALLI	88,15	7,14	100	96,85	1,16	100
28.	SEZENBEY	91,11	2,22	100	95,56	4,44	100
29.	TAEK SAĞEL	85,19	5,59	100	90,37	3,39	100
30.	ILC 1272	74,07	5,59	100	88,89	4,44	100
31.	ICC 3996	37,78	5,88	100	36,30	4,63	100
32.	FLIP 84-92C	85,19	5,59	100	90,37	4,63	100
33.	DWELLEY	82,22	5,88	100	81,48	7,80	100
34.	ICC 12004	33,33	3,85	100	69,63	3,39	100
35.	ILC 195	80,00	3,85	100	85,93	3,39	100
36.	RPIP 12-069-	92,59	4,63	100	94,81	3,39	100
37.	ICC 3279	66,67	8,01	100	73,52	5,67	100
38.	ILC 1929	92,59	5,13	100	93,33	5,88	100
39.	ILC 249	88,15	4,63	100	87,41	5,13	100
40.	ILC 72	75,56	6,67	100	74,81	6,79	100
41.	ICC 4475	46,67	5,88	100	81,48	2,57	100
42.	ILC 1903	90,37	8,98	100	90,37	8,98	100
43.	ILC 482	77,04	4,63	100	91,11	4,44	100
44.	ILC 200	79,26	4,63	100	82,96	4,63	100
45.	ILC 4935	87,41	3,39	100	89,07	2,51	100
46.	RPIP 12-071-	82,22	5,88	100	79,26	7,80	100
47.	ILC 247	88,15	4,63	100	90,37	3,39	100



**Şekil 4.9.** Türk çeşitlerinin patotip reaksiyonları



**Şekil 4.10.** Uluslararası nohut hatlarının patotip reaksiyonları



*A.rabiei*'ye dayanıklılığın belirlenmesi için yapılan ve 47 nohut çeşit/genotipinin kullanıldığı çalışmamızda fenotipik karakterizasyon amacıyla gerçekleştirdiğimiz patojenisite testi sonuçlarına göre patotip I'e dayanıklı 35, patotip II'ye dayanıklı 19, patotip III'e dayanıklı 5, patotip IV'e dayanıklı 2 çeşit/genotip tespit edilmiştir (Çizelge 4.4-Çizelge 4.5).

Bu sonuçlar neticesinde en yüksek agresiflik seviyesinin gözlemlendiği grubun patotip IV olduğu en düşük agresiflik seviyesine sahip grubun ise patotip I olduğu tespit edilmiştir. Imtiaz vd. (2011) yaptıkları çalışmada patotip IV'ü ilk kez tespit etmişler ve sonuçlarımıza benzer olarak bu patotipin diğer üç patotipte daha agresif olduğunu doğrulamışlardır. Ayrıca yaptıkları moleküler taramalarda patotip IV'e dayanıklılıkla alakalı bazı yabancı nohut hatlarını taramışlar ancak dayanıklılıkla ilişkili bir tespitte bulunamamışlardır.

Hamwiah vd. (2013) 43 nohut genotipi ile yaptıkları çalışmada 27'sinin patotip I'e karşı, 14'ünün patotip II'ye karşı ve 5'inin ise, patotip III'e karşı dayanıklı olduğunu bulmuşlardır. Araştırmacıların çalışmalarında kullandığı ve bizim çalışmamızda da bulunan ILC 482, ICC 12004, ICC 3996, ILC 195, ILC 200, ILC 3279 ve ILC 72'nin patotip I-II ve III'e karşı dayanıklılık ve hassaslık durumları benzer olup ILC 3996 ve ILC 12004 üç patotipe karşıda dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Chen vd. (2004) çalışmamızda kullandığımız 13 nohut çeşit/genotipinin ortak olduğu toplamda ise 48 nohut çeşit/genotipi ile yapmış oldukları çalışmada bu nohut çeşit/genotiplerinin patotip I ve patotip II'ye karşı dayanıklılık durumlarını incelemişler ve sonuçlarımıza benzer olarak ICC 12004, ICC 4475 ve ILC 200'ü patotip I ve II'ye karşı dayanıklı olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar ICC 3279'u patotip II'ye karşı hassas bulurken bizim sonuçlarımıza göre ICC 3279 dayanıklı olarak bulunmuştur. Ancak Imtiaz vd. (2011) ve Hamwiah vd. (2013)'de bizim sonuçlarımızla aynı doğrultuda ICC 3279'u hassas olarak tespit etmişlerdir.

Ülkemizde daha önce nohutta *A. rabiei*'nin patotiplerine (I-II-III-IV) karşı dayanıklılık durumunun tespiti gerçekleştirilmediği için yapılan çalışmaların büyük bölümünde verilen sonuçların hangi patotip kaynaklı olduğu bilinmemektedir. Ancak daha önceden yapılan bazı araştırmalarda patotip ayrımı bilinmesede tescilli Türk çeşitleri kullanılan çalışmalarla bizim elde ettiğimiz sonuçlar benzerlik

göstermektedir. Aydın vd. (2016) Siirt'te 14, Diyarbakır'da 18 ve Mardin'de 2 nohut çeşidi ile yaptıkları çalışmalarda *A.rabiei*'ye karşı dayanıklılık durumlarına bakmış ve Arda, Seçkin, Azkan ve Diyar 95 çeşitlerini dayanıklı ve orta dayanıklı Canitez, Gökçe, Akçin 91, Hisar, Çağatay, Uzunlu 99 ve Sarı 98 çeşitlerini ise hassas ve çok hassas olarak değerlendirmiştir. Sonuçlarımıza göre veriler benzer olup Arda tüm patotiplere Seçkin, Azkan ve Diyar 95 ise patotip I ve II'ye karşı dayanıklı olarak tespit edilmiştir. Canitez 87, Gökçe, Akçin 91, Hisar, Çağatay, Uzunlu 99 ve Sarı 98 ise bütün patotiplere hassas olarak bulunmuştur.

Atasagun (2009) Konya'nın 9 ilçesinde gerçekleştirdiği çalışmada Canitez 87, Sarı 98, Uzunlu 99 ve Akçin 91 nohut çeşitlerini *A.rabiei*'ye karşı hassas bulurken yerel (kara nohut), Gökçe ve Er-99'u dayanıklı olarak bulmuştur. Benzer şekilde elde ettiğimiz sonuçlara göre Canitez 87, Sarı 98, Uzunlu 99 ve Akçin 91 tüm patotiplere karşı hassas olarak bulunmuştur. Araştırmacılar Gökçe çeşidini %36.40 hastalık şiddeti değeri ile dayanıklı bulmuşlardır. Ancak araştırmamızda elde ettiğimiz verilere göre Gökçe çeşidi tarafımızca bütün patotiplere hassas olarak tespit edilmiştir. Ancak Akalın vd. (2011) 50 nohut çeşit/genotipi ile gerçekleştirdikleri çalışmada çalışma sonucumuza benzer olarak Menemen 92, Gökçe ve Canitez 87 çeşidini *A.rabiei*'ye karşı çok hassas olarak bulmuşlardır.

Genotipik karakterizasyon ve fenotipik karakterizasyon verilerini karşılaştırdığımızda GAA47+SCY17, GAA47+SCAE19, GAA47+SCK13 ve GAA47+TA146 markör verilerinin sonuçlarına göre dayanıklı çeşit/genotip sayısı sırasıyla 36, 35, 34 ve 35 olarak bulunmuştur. Patotip I için patojenisite sonuçlarına göre ise dayanıklı birey sayısı 35 olarak bulunmuştur. Ancak GAA47+SCY17'yi örnek olarak ele alırsak, genotipik karakterizasyonda dayanıklı bulunan bazı bireyler fenotipik karakterizasyonda hassas bulunmuş veya bunun tam tersi söz konusu olmuştur. Veriler birbirleriyle karşılaştırıldıklarında GAA47+SCY17 ile patotip I'in benzer olan profil sayısı 37 olarak bulunmuş 10 tane bireyin verilerinin ise farklı olduğu gözlenmiştir. Yüzdeler olarak genotipik karakterizasyon ve fenotipik karakterizasyonun benzerlik oranı (benzer profil sayısı/toplam profil sayısı) GAA47+SCY17, GAA47+SCAE19, GAA47+SCK13 ve GAA47+TA146'ya göre sırasıyla %78.7, %74.5, %72.3 ve %74.5 olarak bulunmuştur.

Araştırmamızda kullandığımız SCY17, SCAE19, SCK13 ve TA146 markör sonuçlarını ise patotip II sonuçları ile karşılaştırdığımızda ise benzer profil sayısı sırasıyla 38, 39, 39 ve 38 olarak bulunmuştur. Yüzdeler olarak genotipik karakterizasyon ve fenotipik karakterizasyonun benzerlik oranı SCY17, SCAE19, SCK13 ve TA146 için sırasıyla %81, %83, %83 ve %81 olarak bulunmuştur.

### 4.3 İstatistiksel analizler

Patojenisite sonuçlarına göre skor değeri olarak 5 ve üzeri değer alanlar hassas, 5'in altında değer alanlar dayanıklı olarak kabul edilmiştir. Buna göre denemede ki çeşit ve genotiplerden patotip I'e karşı 35'i dayanıklı bulunurken 12'si hassas bulunmuştur. Patotip II'ye karşı ise 19'u dayanıklı iken 28'i hassas bulunmuştur (Çizelge 4.6). Ayrıca gerçekleştirilen istatistiksel analizler her ne kadar hassas ve dayanıklı iki grup oluşturulmuşsa da bu gruplar içerisinde istatistiksel olarak oldukça önemli farklılıklar içeren grupların varlığını göstermiştir.

Patojenisite çalışmalarında ki çeşit ve genotiplerden patotip III'e karşı 5'i dayanıklı bulunurken 42'si hassas bulunmuştur. Patotip IV'e karşı ise 2'si dayanıklı iken 45'i hassas bulunmuştur (Çizelge 4.7). Yine bu gruplandırmalar içerisinde her ne kadar çeşit ve genotipler hassas ve dayanıklı olarak iki grup içerisinde yerleştirilse de bu gruplar içerisinde istatistiksel olarak oldukça önemli farklılıklar yapılan analizler sonucunda anlaşılmıştır.

Çizelge 4.6. Patojenisite sonuçları patotip I ve patotip II

Patotip I		Patotip II	
Çeşit/genotip	Skor değeri <sup>a,b</sup>	Çeşit/genotip	Skor değeri <sup>a,b</sup>
UZUNLU 99	7.93 A	ÇAĞATAY	8.60 A
ILC 1929	7.87 AB	SARI 98	8.57 A
RPIP 12-069-00103	7.87 AB	GÖKÇE	8.40 AB
GÖKÇE	7.73 ABC	CANITEZ 87	8.20 ABC
SARI 98	7.67 ABC	ILC 1272	8.07 ABC
CANITEZ 87	7.47 ABC	ILC 1903	7.93 ABC
ILC 1272	7.47 ABC	UZUNLU 99	7.93 ABC
ÇAĞATAY	7.20 ABCD	ILC 1929	7.93 ABC
HİSAR	7.00 BCD	IŞIK 05	7.93 ABC
AĞSAKALLI	6.93 CD	DWELLEY	7.93 ABC
AKÇİN 91	6.40 DE	ÇAKIR	7.87 ABC
OMPAR 3	5.93 E	HİSAR	7.87 ABC
GÜLÜMSER	4.87 F	SEZENBEY	7.80 BCD
YAZICI	4.60 FG	ILGAZ	7.80 BCD
AZKAN	4.53 FGH	OMPAR 3	7.73 BCD
YAŞA 05	4.33 FGHI	AKÇİN 91	7.73 BCD
RPIP 12-071-03976	4.20 FGHIJ	AĞSAKALLI	7.67 BCD
GÖKSU	4.00 FGHIJK	ARAS	7.60 CDE
ILC 247	3.93 GHIJKL	ILC 4935	7.60 CDE
HASANBEY	3.87 GHIJKL	RPIP 12-069-00103	7.60 CDE
DWELLEY	3.67 HIJKLM	YAŞA 05	7.53 CDE
SEÇKİN	3.60 IJKLMN	ILC 482	7.07 DEF
AKSU	3.47 IJKLMNO	ILC 482	6.87 EFG
ILC 1903	3.33 JKLMNOP	ILC 72	6.67 FGH
DİYAR 95	3.27 KLMNOPQ	FLIP 84-92C	6.60 FGH
AKÇA	3.13 KLMNOPQR	ILC 249	6.47 FGH
ILGAZ	3.13 KLMNOPQR	RPIP 12-071-03976	6.27 GH
ARAS	3.07 LMNOPQRS	ZUHAL	5.93 H
ILC 200	2.83 MNOPQRST	ILC 195	4.73 I
SAGEL	2.73 NOPQRST	SAGEL	4.53 IJ
ICC 4475	2.73 NOPQRST	DİYAR 95	4.53 IJ
ÇAKIR	2.73 NOPQRST	GÖKSU	4.53 IJ
ILC 249	2.67 OPQRST	AKÇA	4.53 IJ
ZUHAL	2.67 OPQRST	GÜLÜMSER	4.40 IJK
İNÇİ	2.60 OPQRST	YAZICI	4.13 IJKL
ILC 195	2.60 OPQRST	SEÇKİN	4.07 IJKLM
SEZENBEY	2.53 PQRST	AKSU	3.87 JKLMN
ICC 3279	2.40 QRSTU	İNÇİ	3.80 JKLMNO
FLIP 84-92C	2.33 RSTU	AZKAN	3.67 KLMNO
ILC 4935	2.33 RSTU	HASANBEY	3.60 LMNO
ARDA	2.27 RSTUV	ILC 247	3.47 LMNO
IŞIK 05	2.20 STUV	ILC 200	3.33 MNOP
ILC 482	2.13 TUV	ICC 4475	3.13 NOP
ILC 482	2.07 TUV	ICC 3279	3.13 NOP
ILC 72	2.07 TUV	ARDA	3.07 OP
ICC 3996	1.53 UVY	ICC 12004	2.60 PQ
ICC 12004	1.40 VY	ICC 3996	1.93 Q
KONTROL	1.00 Y	KONTROL	1.00 R
<b>LSD<sub>0.01</sub></b>	<b>0.90</b>	<b>LSD<sub>0.01</sub></b>	<b>0.74</b>

<sup>a</sup> 1-9 skalasına dayalı patojenisite testinde elde edilen hastalık şiddeti

<sup>b</sup> Herbir sütun içindeki aynı harf istatistiki olarak önemli bir fark olmayan grupları temsil etmektedir (P = 0.01 Fisher's least significant difference test).

Çizelge 4.7. Patojenisite sonuçları patotip III ve patotip IV

Patotip III		Patotip IV	
Çeşit/genotip	Skor değeri <sup>a,b</sup>	Çeşit/genotip	Skor değeri <sup>a,b</sup>
YAŞA 05	8.80 <sup>A</sup>	AĞSAKALLI	8.72 <sup>A</sup>
CANITEZ 87	8.47 <sup>AB</sup>	SARI 98	8.67 <sup>A</sup>
GÖKÇE	8.40 <sup>AB</sup>	UZUNLU 99	8.67 <sup>A</sup>
ZUHAL	8.40 <sup>AB</sup>	SEZENBEY	8.60 <sup>AB</sup>
ILC 1929	8.33 <sup>ABC</sup>	RPIP 12-069-00103	8.53 <sup>ABC</sup>
RPIP 12-069-00103	8.33 <sup>ABC</sup>	GÖKÇE	8.53 <sup>ABC</sup>
SARI 98	8.33 <sup>ABC</sup>	ÇAKIR	8.47 <sup>ABCD</sup>
AKÇİN 91	8.27 <sup>ABC</sup>	ILC 1929	8.40 <sup>ABCD</sup>
SEZENBEY	8.20 <sup>ABC</sup>	ARAS	8.40 <sup>ABCD</sup>
ILC 1903	8.13 <sup>ABCD</sup>	DİYAR 95	8.40 <sup>ABCD</sup>
ARAS	8.13 <sup>ABCD</sup>	HİSAR	8.33 <sup>ABCD</sup>
HİSAR	8.07 <sup>ABCDE</sup>	ÇAĞATAY	8.33 <sup>ABCD</sup>
AĞSAKALLI	7.93 <sup>ABCDEF</sup>	CANITEZ 87	8.33 <sup>ABCD</sup>
ILC 247	7.93 <sup>ABCDEF</sup>	OMPAR 3	8.20 <sup>ABCDE</sup>
ILC 249	7.93 <sup>ABCDEF</sup>	ILC 482	8.20 <sup>ABCDE</sup>
UZUNLU 99	7.87 <sup>ABCDEFG</sup>	FLIP 84-92C	8.13 <sup>ABCDEF</sup>
HASANBEY	7.87 <sup>ABCDEFG</sup>	İNCİ	8.13 <sup>ABCDEF</sup>
ILC 4935	7.87 <sup>ABCDEFG</sup>	ILC 247	8.13 <sup>ABCDEF</sup>
FLIP 84-92C	7.67 <sup>BCDEFGH</sup>	AZKAN	8.13 <sup>ABCDEF</sup>
SAĞEL	7.67 <sup>BCDEFGH</sup>	ILC 1903	8.13 <sup>ABCDEF</sup>
SEÇKİN	7.53 <sup>BCDEFGHI</sup>	YAŞA 05	8.13 <sup>ABCDEF</sup>
ÇAĞATAY	7.53 <sup>BCDEFGHI</sup>	HASANBEY	8.13 <sup>ABCDEF</sup>
IŞIK 05	7.53 <sup>BCDEFGHI</sup>	SAĞEL	8.13 <sup>ABCDEF</sup>
RPIP 12-071-03976	7.40 <sup>CDEFGHIJ</sup>	SEÇKİN	8.13 <sup>ABCDEF</sup>
DİYAR 95	7.40 <sup>CDEFGHIJ</sup>	ILC 482	8.07 <sup>ABCDEF</sup>
DWELLEY	7.40 <sup>CDEFGHIJ</sup>	YAZICI	8.07 <sup>ABCDEF</sup>
OMPAR 3	7.40 <sup>CDEFGHIJ</sup>	ILC 4935	8.02 <sup>ABCDEFG</sup>
ILC 195	7.20 <sup>DEFGHIJK</sup>	AKÇİN 91	8.00 <sup>ABCDEFG</sup>
YAZICI	7.20 <sup>DEFGHIJK</sup>	GÖKSU	8.00 <sup>ABCDEFG</sup>
ILC 200	7.13 <sup>EFGHIJK</sup>	ZUHAL	8.00 <sup>ABCDEFG</sup>
AZKAN	7.07 <sup>FGHIJKL</sup>	ILC 1272	8.00 <sup>ABCDEFG</sup>
ILC 482	6.93 <sup>GHIJKLM</sup>	ILC 249	7.87 <sup>ABCDEFGH</sup>
ÇAKIR	6.93 <sup>GHIJKLM</sup>	IŞIK 05	7.80 <sup>BCDEFGH</sup>
AKÇA	6.87 <sup>HIJKLM</sup>	ILC 195	7.73 <sup>CDEFGH</sup>
ILC 72	6.80 <sup>HIJKLM</sup>	GÜLÜMSER	7.67 <sup>DEFGH</sup>
ILC 1272	6.67 <sup>IJKLM</sup>	ILC 200	7.47 <sup>EFGHI</sup>
ILC 482	6.60 <sup>IJKLM</sup>	ICC 4475	7.33 <sup>FGHI</sup>
GÖKSU	6.53 <sup>JKLM</sup>	DWELLEY	7.33 <sup>FGHI</sup>
GÜLÜMSER	6.47 <sup>JKLM</sup>	ILGAZ	7.20 <sup>GHI</sup>
İNCİ	6.40 <sup>KLM</sup>	AKÇA	7.20 <sup>GHI</sup>
ILGAZ	6.13 <sup>LM</sup>	RPIP 12-071-03976	7.13 <sup>HI</sup>
ICC 3279	6.00 <sup>M</sup>	AKSU	6.80 <sup>IJ</sup>
AKSU	4.33 <sup>N</sup>	ILC 72	6.73 <sup>IJ</sup>
ICC 4475	4.20 <sup>N</sup>	ICC 3279	6.62 <sup>IJ</sup>
ARDA	4.13 <sup>N</sup>	ICC 12004	6.27 <sup>J</sup>
ICC 3996	3.40 <sup>NO</sup>	ARDA	4.52 <sup>K</sup>
ICC 12004	3.00 <sup>O</sup>	ICC 3996	3.27 <sup>L</sup>
KONTROL	1.00 <sup>P</sup>	CONTROL	1.00 <sup>M</sup>
<b>LSD<sub>0.01</sub></b>	<b>0.99</b>	<b>LSD<sub>0.01</sub></b>	<b>0.85</b>

<sup>a</sup> 1-9 skalasına dayalı patojenisite testinde elde edilen hastalık şiddeti

<sup>b</sup> Herbir sütun içindeki aynı harf istatistiki olarak önemli bir fark olmayan grupları temsil etmektedir (P = 0.01 Fisher's least significant difference test).

Yapılan istatistiksel analizlerde patotiplere karşı fenotipik dayanıklılık ile markörler arasındaki korelasyon Çizelge 4.8’de verilmiştir. Patotip II ile SCY17, SCAE19, SCK13 ve TA146 arasında %1 anlamlı düzeyinde korelasyon bulunmuştur.

Patotip I’e karşı fenotipik dayanıklılık ile GAA47 markörünün diğer markörlerle olan “veya” kombinasyonu korelasyonu ise Çizelge 4.9’da verilmiştir. Patotip I ile GAA47’nin SCY17, SCAE19, SCK13 ve TA146 ile olan kombinasyonlarından %5 anlamlı düzeyinde korelasyon bulunmuştur.

**Çizelge 4.8.** Patotiplere karşı fenotipik dayanıklılık ile markörler arasındaki korelasyon

	CaETR	GAA47	SCY17	SCAE19	SCK13	TA146
Patotip I	0.233	0.134	0.214	0.187	0.161	0.161
Patotip II	0.078	-0.043	0.679**	0.709**	0.653**	0.653**
Patotip III	-0.368*	-0.31*	0.284	0.297*	0.31*	0.31*
Patotip IV	-0.225	-0.189	0.174	0.181	0.189	0.189

\* %5, \*\* %1 anlamlı

**Çizelge 4.9.** Patotip I’e karşı fenotipik dayanıklılık ile GAA47 markörünün diğer markörlerle olan “veya” kombinasyonunun korelasyonu

	SCY17	SCAE19	GAA47 + SCK13	TA146
Patotip I	0.368*	0.329*	0.329*	0.329*

\* %5 anlamlı

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tescilli nohut çeşitlerimiz ile uluslararası ıslah hatlarımızın nohut yetiştiriciliğinde önemli bir etmen olan *A. rabiei*'nin bilinen 4 patotipine (I-II-III-IV) karşı klasik reaksiyon testleri ve moleküler yöntemlerle (MAS) dayanıklılık durumlarının ortaya konmasını amaçlayan bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar şu şekildedir;

Çalışmamızda nohut yanıklık etmeni olan *A.rabiei*'nin patotiplerinin hastalandırma şiddeti ve hastalandırıldığı bitki oranı tespit edilmiş kullandığımız 47 çeşit/genotipin patotip I, II, III ve IV'e karşı dayanıklı birey sayıları sırasıyla 35, 19, 5 ve 2 olarak bulunmuştur. Patotip I'e karşı hastalık şiddetinin düşük olarak tespit edildiği bazı çeşit/genotipler; ICC 12004 (%15.6), ICC 3996 (%17), ILC 72 (%23), Işık 05 (%24.4), Arda (%25,2) patotip II'e karşı hastalık şiddetinin düşük olarak tespit edildiği bazı çeşit/genotipler; ICC 3996 (%21.48), ICC 12004 (%28.89), Arda (%34.07), ICC 3279 (34.81), Hasanbey (%40) patotip III'e karşı hastalık şiddetinin düşük olarak tespit edildiği bazı çeşit/genotipler; ICC 12004 (%33.33), ICC 3996 (%37.78), Arda (%45.93), Aksu (%48.15) patotip IV'e karşı hastalık şiddetinin düşük olarak tespit edildiği bazı çeşit/genotipler; ICC 3996 (%36.3) ve Arda (%48.89) olarak bulunmuştur.

Patotip I'e karşı en hassas çeşit/genotipler; Uzunlu 99 (%88.5), ILC 1929 (%87.41) ve RPIP 12-069-00103 patotip II'e karşı en hassas çeşit/genotipler; Çağatay (%95.56), Sarı 98 (%95.19) ve Gökçe (%93.33) patotip III'e karşı en hassas çeşit/genotipler; Yaşa 05 (%97.78), Canitez 87 (%94.07) ve Gökçe (%93.33) patotip IV'e karşı en hassas çeşit/genotipler; Ağsakallı (%96.85), Sarı 98 (%96.3) ve Uzunlu 99 (%96.3) olarak tespit edilmiştir.

Tüm patotiplere dayanıklı 2 çeşit/genotipin olduğu, tüm patotiplere hassas 13 çeşit/genotipin olduğu belirlenmiştir. ICC 3996 ve Arda patotip I-II-III ve IV'e karşı dayanıklı olduğu tespit edilen çeşit/genotipler olmuştur. Hisar, Uzunlu 99, Ompar 3, Canitez 87, Akçin 91, Gökçe, Çağatay, Sarı 98, Ağsakallı, TAEK-Sağel, ILC 1272, RPIP 12-069-00103 ve ILC 1929'un patotip I-II-III ve IV'e karşı hassas olduğu tespit edilmiştir.

Genotipik karakterizasyon için MAS yapılmış ve GAA47 ile CaETR'nin sonuçları ikisinin de  $QTL_{AR1}$  ile ilişkili olmasından dolayı benzer çıkmıştır. Aynı şekilde  $QTL_{AR2}$  ile ilişkili olan SCY17, SCAE19, SCK13 ve TA146'nın sonuçları birbirine çok uyumlu çıkmıştır.

GAA47'nin ve CaETR'nin SCY17, SCAE19, SCK13 ve TA146 ile kombinasyonlarının değerlendirilmesiyle patotip I'e dayanıklılık arasında %5 anlamlı seviyesinde korelasyon çıkmıştır.

SCY17, SCAE19, SCK13 ve TA146'nın sonuçları ile patotip II'ye dayanıklılık arasında %1 anlamlı seviyesinde korelasyon çıkmıştır.

Yapılan patojenisite testleri göstermiştir ki patotip I en az agresif, patotip II agresif, patotip III daha agresif, patotip IV ise son derece agresif olarak sınıflandırılabilir.

Yaptığımız bu çalışmada ortaya konan sonuçlara göre patotip I ve patotip II'ye karşı dayanıklılığı belirleme ile ilişkili markörler oldukça yüksek korelasyona sahiptir.

Ancak patotip III ve özellikle de patotip IV'e karşı dayanıklılıkla ilişkili yeterince haritalama çalışması ve markör mevcut değildir.

Patotipler arasında en agresif olan patotip IV'e yönelik yapılmış hem moleküler hem de fenotipik çalışma sayısı oldukça azdır.

Günümüzde patotip III ve patotip IV'ün kendilerinden daha az agresif olan patotip I ve patotip II'ye oranla çok ciddi kayıplar meydana getirebilme potansiyeli ve yaygınlığının giderek artmakta olduğu göz önüne alındığında, bu gruba giren izolatların dayanıklı çeşit geliştirilmesi hedeflenen ıslah çalışmalarına dahil edilmesi önerilmektedir.



## 6. KAYNAKLAR

- Ahmad F, Gaur P and Croser J (2005) Chickpea (*Cicer arietinum* L.). In: Genetic Resources, Chromosome Engineering and Crop Improvement–Grain Legumes (Singh R and Jauhar PP), CRC Press, Boca Raton, Florida. Pp. 187–217.
- Akalın M, Yanar Y ve Akdağ C (2011) “Nohut Yanıklık Etmeni *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.’ya Karşı Bazı Nohut Genotiplerinin Reaksiyonlarının Belirlenmesi”, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2011 (1): 21–26.
- Anbessa Y, Taran B, Warkentin TD, Tullu A and Vandenberg A (2009) “Genetic Analyses and Conservation of QTL for *Ascochyta* Blight Resistance in Chickpea (*Cicer arietinum* L.)”, Theoretical and Applied Genetics, 119 (4): 757–765.
- Aryamanesh N (2007) Chickpea Improvement through Genetic Analysis and Quantitative Trait Locus (QTL) Mapping of *Ascochyta* Blight Resistance using Wild *Cicer* Species, Doktora Tezi, University of Western Australia Faculty of Natural and Agricultural Sciences, Avustralya.
- Asins MJ (2002) “Present and Future of Quantitative Trait Locus Analysis in Plant Breeding”, Plant Breeding, 121(4), 281–291.
- Atasagun (2009) Konya İlin’nde Nohut Antraknozu (*Ascochyta rabiei* (Pass) Labr.)’nun Durumu ve Mücadele Olanakları, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Atik O, Ahmed S, Abang MM, Imtiaz M, Hamwiah A, Baum M, El-Ahmed A, Murad S and Yabrak MM (2013) “Pathogenic and Genetic Diversity of *Didymella rabiei* Affecting Chickpea in Syria, Crop protection, 46: 70–79.
- Aydın H, Oğuz A, Erdemci İ and Karademir Ç (2016) “Control of *Ascochyta* Blight (*Ascochyta rabiei*) in Chickpea in Winter Sowing in Southeastern Anatolia”, The Journal of Turkish Phytopathology, 45 (2–3): 87–98.
- Bampidisa VA and Christodoulou V (2011) “Chickpeas (*Cicer arietinum* L.) in Animal Nutrition: A Review”, Animal Feed Science and Technology, 168: 1–20.
- Basandrai AK, Basandrai D, Duraimurugan P and Srinivasan T (2011) Breeding for Biotic Stress. In: Biology and Breeding of Food Legumes (Pratap A and Kumar J), CAB International, Oxfordshire, UK. Pp. 220–240.
- Bayraktar H, Dolar FS and Maden S (2007) “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.

- Bouhadida M, Benjannet R, Madrid E, Amri M and Kharrat M (2013) “Efficiency of Marker-assisted Selection in Detection of Ascochyta Blight Resistance in Tunisian Chickpea Breeding Lines”, *Phytopathologia Mediterranea*, 52, 202–211.
- Bulğak (2016) Marmara Bölgesi’ nde Nohutta Yanıklık Hastalığına Neden Olan *Didymella rabiei*’nin Genetik Karakterizasyonu ve Patojenisite Analizleri, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.
- Castro P, Rubio J, Madrid E, Fernández-Romero MD, Millán T and Gil J (2015) “Efficiency of Marker-assisted Selection for Ascochyta Blight in Chickpea” *The Journal of Agricultural Science*, 153 (1): 56–67.
- Chen W, Coyne CJ, Peever TL and Muehlbauer, FJ (2004) “Characterization of Chickpea Differentials for Pathogenicity Assay of Ascochyta Blight and Identification of Chickpea Accessions Resistant to *Didymella rabiei*”, *Plant Pathology*, 53 (6): 759-769.
- Cingilli H, Altinkut A and Akçin A (2005) “The Use of Microsatellite Markers in the Annual and Perennial *Cicer* species Growing in Turkey”, *Biology*, 60: 93–98.
- Cho S, Chen W and Muehlbauer FJ (2004) “Patotip-specific Genetic Factors in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) for Quantitative Resistance to Ascochyta Blight”, *Theoretical and Applied Genetics*, 109 (4): 733–739.
- Cobos M, Rubio J, Strange RN, Moreno MT, Gil J and Millan T (2006) “A New QTL for Ascochyta Blight Resistance in an RIL Population Derived from an Interspecific Cross in Chickpea”, *Euphytica*, 149 (1–2): 105–111.
- Collard BCY, Ades PK, Pang ECK, Brouwer JB and Taylor PWJ (2001) “Prospecting for Sources of Resistance to Ascochyta Blight in Wild *Cicer* species”, *Australasian Plant Pathology*, 30(3): 271–276.
- Crop Pro Diagnostic Agronomy for the Southern Region (2019), Ascochyta Blight of Chickpeas, [http://www.croppro.com.au/crop\\_disease\\_manual/ch05s02.php](http://www.croppro.com.au/crop_disease_manual/ch05s02.php), 19 Ağustos 2019.
- Dolar FS, Tenuta A ve Higgins VJ (1994) “Detached leaf assay for screening chickpea for resistance to Ascochyta blight” *Canadian Journal of Plant Pathology*, 16(3): 215-220.
- Düzdemir O ve Yanar CAY (2007) “Bazı Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşitlerinin Farklı Çevrelerde Antraknoz (*Ascochyta rabiei*)’a Dayanımları ve Tane Verimleri Üzerine Bir Araştırma”, *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2007 (2): 87–97.
- Elkoca E, Kantar F and Sahin F (2007) “Influence of Nitrogen Fixing and Phosphorus Solubilizing Bacteria on the Nodulation, Plant Growth, and Yield of Chickpea”, *Journal of Plant Nutrition*, 31(1): 157–171.

- Flandez-Galvez H, Ford R, Pang ECK and Taylor PWJ (2003) “An intraspecific linkage map of the chickpea (*Cicer arietinum* L.) genome based on sequence tagged microsatellite site and resistance gene analog markörs”, *Theoretical and Applied Genetics*, 106 (8): 1447–1456.
- FAOSTAT (2019) FAOSTAT database. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/>, 17 May 2019.
- Frimpong A, Sinha A and Tañan B (2009) “Genotype and Growing Environment Influence Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Seed Composition”, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89: 2052–2063.
- Hamwiah A, Imtiaz M, Hobson K and Ahmed Kemal S (2013) “Genetic Diversity of Microsatellite Alleles Located at Quantitative Resistance Loci for Ascochyta Blight Resistance in a Global Collection of Chickpea Germplasm”, *Phytopathologia Mediterranea*, 52: 183–191
- Ibriki H, Knewton SJB and Grusak MA (2003) “Chickpea Leaves as a Vegetable Green for Humans: Evaluation of Mineral Composition”, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(9): 945–950.
- Iliadis C (2001) “Evaluation of Six Chickpea Varieties for Seed Yield under Autumn and Spring Sowing”, *The Journal of Agricultural Science*, 137: 439–444.
- Imtiaz M, Materne M, Hobson K, Van Ginkel M and Malhotra RS (2008) “Molecular genetic diversity and linked resistance to ascochyta blight in Australian chickpea breeding materials and their wild relatives”, *Australian Journal of Agricultural Research*, 59(6): 554-560.
- Imtiaz M, Abang MM, Malhotra RS, Ahmed S, Bayaa B, Udupa SM and Baum M (2011) “Pathotype IV, a New and Highly Virulent Pathotype of *Didymella rabiei*, Causing Ascochyta Blight in Chickpea in Syria”, *Plant disease*, 95(9): 1192–1192.
- Iruela M, Rubio J, Barro F, Cubero JI, Millán T and Gil J (2006) “Detection of two Quantitative Trait Loci for Resistance to Ascochyta Blight in an Intra-specific Cross of Chickpea (*Cicer arietinum* L.): Development of SCAR Markers Associated with Resistance”, *Theoretical and Applied Genetics*, 112(2): 278–287.
- Iruela M, Pistón F, Cubero JI, Millán T, Barro F and Gil J (2009) “The Marker SCK13 603 Associated with Resistance to Ascochyta Blight in Chickpea is Located in a Region of a Putative Retrotransposon”, *Plant cell reports*, 28 (1): 53–60.
- Jood S, Bishnoi S and Sharma A (1998) “Chemical Analysis and Physico-chemical Properties of Chickpea and Lentil Cultivars”, *Food/Nahrung*, 42: 71–74.

- Jukanti AK, Gaur PM, Gowda CLL and Chibbar RN (2012) “Nutritional Quality and Health Benefits of Chickpea (*Cicer arietinum* L.): A Review”, *British Journal of Nutrition*, 108: 11–26.
- Kaiser WJ and Küsmenoğlu I (1997) “Distribution of Mating Types and the Teleomorph of *Ascochyta rabiei* on Chickpea in Turkey”, *Plant Disease*, 81: 1284–1287.
- Kanouni H, Taleei A, Peyghambari SA, Okhovat SM, Baum M and Abang M (2009) “QTL Analysis for *Ascochyta* Blight Resistance in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) using Microsatellite Markers” *Seed and Plant Improvement Journal*, 1: 109–127.
- Kanouni H, Taleei A and Okhovat M (2011) “*Ascochyta* Blight (*Ascochyta rabiei* (Pass.) Lab.) of Chickpea (*Cicer arietinum* L.): Breeding Strategies for Resistance”, *International Journal of Plant Breeding and Genetics*, 5(1): 1–22.
- Lev-Yadun S, Gopher A and Abbo S (2000) “The Cradle of Agriculture”, *Science*, 288: 1602–1603.
- Lichtenzweig J, Bonfil DJ, Zhang HB, Shtienberg D and Abbo S (2006) “Mapping Quantitative Trait Loci in Chickpea Associated with Time to Flowering and Resistance to *Didymella rabiei* the Causal Agent of *Ascochyta* blight”, *Theoretical and Applied Genetics*, 113 (7), 1357–1369
- Gaur PM, Jukanti AK and Varshney RK (2012) “Impact of Genomic Technologies on Chickpea Breeding Strategies”, *Agronomy*, 2: 199–221.
- Madrid E, Chen W, Rajesh PN, Castro P, Millán T and Gil J (2013) “Allele-specific Amplification for the Detection of *Ascochyta* Blight Resistance in Chickpea”, *Euphytica*: 189 (2): 183–190.
- Millan T, Rubio J, Iruela M, Daly K, Cubero JI and Gil J (2003) “Markers Associated with *Ascochyta* Blight Resistance in Chickpea and Their Potential in Marker-assisted Selection”, *Field Crops Research*, 84 (3): 373–384.
- Millan T, Clarke HJ, Siddique KHM, Bhuriwalla HK, Gaur PM, Kumar J, Gil G, Kahl G and Winter P (2006) “Chickpea Molecular Breeding: New Tools and Concepts”, *Euphytica*, 147: 81–103.
- Muehlbauer FJ and Singh KB (1987) Genetics of chickpea [*Cicer arietinum*]. In: *The Chickpea* (Saxena MC and Singh KB), CAB International, Wallingford, UK, pp. 99–125.
- Nene YL, Reddy MV, Haware MP, Ghanekar AM, Amin KS, Pande S and Sharma, M (2012). *Field Diagnosis of Chickpea Diseases and their Control*, Information Bulletin No. 82, International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, Patancheru, Hindistan.

- Paliwal A (2016) “Effectiveness of STMS Markers for Generating Unique DNA Profiles in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Germplasm”, International Journal of New Technology and Research, 2 (10): 79–83.
- Pande S, Siddique KHM, Kishore GK, Bayaa B, Gaur PM, Gowda CLL, Bretag TW and Crouch JH (2005) “Ascochyta Blight of Chickpea (*Cicer arietinum* L.): A Review of Biology, Pathogenicity and Disease Management”, Australian Journal of Agricultural Research, 56: 317–332
- Pande S, Sharma M, Gaur PM and Gowda CLL (2010) Host Plant Resistance to Ascochyta Blight of Chickpea, Information Bulletin No. 82, International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, Patancheru, Hindistan.
- Rakshit S, Winter P, Tekeoğlu M, Muñoz JJ, Pfaff T, Benko-Iseppon A, Muehlbauer FJ and Kahl G (2003) “DAF Marker Tightly Linked to a Major Locus for Ascochyta Blight Resistance in Chickpea (*Cicer arietinum* L.)”, Euphytica, 132 (1): 23–30.
- Reddy MV and Singh KB (1984) “Evaluation of a World Collection of Chickpea Germ Plasm Accessions for Resistance to Ascochyta Blight”, Plant Disease, 68 (10): 900–901.
- Reddy MV and Singh KB (1990) “Relationship between Ascochyta Blight Severity and Yield Loss in Chickpea and Identification of Resistant Lines”, Phytopathologia Mediterranea, 29: 32–38.
- Santra DK, Tekeoğlu M, Ratnaparkhe M, Kaiser WJ and Muehlbauer FJ (2000). “Identification and Mapping of QTLs Conferring Resistance to Ascochyta Blight in Chickpea”, Crop Science, 40 (6): 1606–1612.
- Sharma M, Nagavardhini A, Thudi M, Ghosh R, Pande S and Varshney RK (2014) “Development of DArT Markers and Assessment of Diversity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, Wilt Pathogen of Chickpea (*Cicer arietinum* L.)”, BMC Genomics, 15: 454.
- Sharma M and Ghosh R (2016) “An Update on Genetic Resistance of Chickpea to Ascochyta Blight”, Agronomy, 6: 18.
- Tabanlı, F (2016) Ülkemizde Geliştirilen Tescilli Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşitlerinde Ascochyta Yanıklığına Karşı Direncin Moleküler Belirteçler (STMS, RAPD, ISSR) ile Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, İstanbul.
- Taleei GR, Meshkat AM and Mousavi SZ (2008) “Antibacterial Activity Native Medicinal Plants Extracts in Lorestan, Iran”, Journal of Gorgan University of Medical Sciences, 10, 31–35.
- Tar’an B, Warkentin TD, Tullu A and Vandenberg A (2007) “Genetic Mapping of Ascochyta Blight Resistance in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) using a Simple Sequence Repeat Linkage Map”, Genome, 50(1): 26–34.

- Tar'an, B, Warkentin TD, Tullu A and Vandenberg A (2007) "Genetic Relationships Among Chickpea (*Cicer Arietinum* L.) Genotypes Based on the SSRs at the Quantitative Trait Loci for Resistance to Ascochyta Blight". *European Journal of Plant Pathology*, 119: 39–51.
- Tekeoğlu M, Santra DK, Kaiser WJ and Muehlbauer FJ (2000) "Ascochyta Blight Resistance Inheritance in Three Chickpea Recombinant Inbred Line Populations", *Crop Science*, 40: 1251–1256.
- Tekeoğlu M, Rajesh P and Muehlbauer F (2002) "Integration of sequence tagged microsatellite sites to the chickpea genetic map", *Theoretical and Applied Genetics*, 105 (6-7), 847–854.
- Trapero-Casas A and Kaiser WJ (1992) "Development of *Didymella rabiei*, the Teleomorph of *Ascochyta rabiei*, on Chickpea Straw", *Phytopathology*, 82: 1261–1266.
- TÜİK (2018), <http://www.tuik.gov.tr>, 17 Mayıs 2019.
- Türkkan M and Dolar FS (2009) "Determination of Pathogenic Variability of *Didymella rabiei*, the Agent of Ascochyta Blight of Chickpea in Turkey", *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 33 (6): 585–591
- Udupa SM, Weigand F, Saxena MC and Kahl G (1998) "Genotyping with RAPD and Microsatellite Markers Resolves Pathotype Diversity in the Ascochyta Blight Pathogen of Chickpea", *Theoretical and Applied Genetics*, 97(1–2): 299–307.
- Udupa SM and Baum M (2003) "Genetic Dissection of Patotip-specific Resistance to Ascochyta Blight Disease in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) using Microsatellite Markers", *Theoretical and Applied Genetics*, 106 (7): 1196–1202.
- Varshney RK, Ribaut JM, Buckler ES, Tuberosa R, Rafalski JA and Langridge P (2012) "Can Genomics Boost Productivity of Orphan Crops", *Nature Biotechnology*, 30, 1172–1176.
- Yıldırım (2007) Nohutta (*Cicer arietinum* L.) Antraknoza (*Ascochyta rabiei*) Dayanıklılığı Kontrol Eden Genlerle İlgili DNA Markörlerinin Nohut Genomunda Haritalanması, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Yousef GG and Juvik JA (2001) "Comparison of Phenotypic and Marker-assisted Selection for Quantitative Traits in Sweet Corn", *Crop Science*, 41(3), 645–655.

## 7. ÖZGEÇMİŞ

- Adı Soyadı** : Hüseyin KABAKCI
- Doğum Yeri ve Tarihi** : Siirt – 12.04.1988
- Lisans** : Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü (2008–2012)
- Elektronik posta** : kabakcihuseyin88@gmail.com
- İletişim Adresi** : Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü
- Yayın Listesi** :

### Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler (SCI)

- Özer G, Bayraktar H, Tsrör L, Yaman T, Kabakçı H, Göre ME (2018). Vegetative compatibility groups in *Colletotrichum coccodes* from Turkey and their aggressiveness to potato, *Plant Pathology*, 67: 1735–1739.

### Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler

- Özer G, Kabakçı H, Palacıoğlu G, Bayraktar H (2017) “Important Fungal Diseases in Cumin Production and Syggestions for the Disease Management”, I. International Congress on Medicinal and Aromaticplants, 10-12 May 2017, Konya, Turkey.
- Alkan M, Göre ME, Palacıoğlu G, Yaman T, Kabakçı H, Bayraktar H, Özer G (2018) “Molecular Characterization of Bipolaris species associated with Common Root Rot on Wheat and Barley using iPBS rRtrotransposon-based Molecular Markers”, International Agriculture Congress, 3-6 May 2018, Gagauzya, Moldova.
- Göre ME, Altın N, Yaman T, Kabakçı H, Alkan M, Özer G (2018) “Incidence of *Colletotrichum coccodes* in Certified Potato Seed Tubers Planted in Turkey”, International Agriculture Congress, 3-6 May 2018, Gagauzya, Moldova.
- Göre ME, Altın N, Yaman T, Kabakçı H, Alkan M, Özer G (2018) “Occurrence of Common Scab Disease in Turkish Potato Production”, International Agriculture Congress, 3-6 May 2018, Gagauzya, Moldova.
- Palacıoğlu G, Göre ME, Yaman T, Kabakçı H, Özer G, Tsrör L, Bayraktar H (2018) “Determination of Vegetative Compatibility Groups in *Colletotrichum coccodes* Isolated from Potato Fields in Turkey”, International Agriculture Congress, 3-6 May 2018, Gagauzya, Moldova.

- Palacıoğlu G, Göre ME, Yaman T, Kabakcı H, zer G, Tsrr L, Bayraktar H (2018) “Pathogenic Variability of *Colletotrichum coccodes* Isolates Associated with Potato Plant in Turkey”, International Agriculture Congress, 3-6 May 2018, Gagauzya, Moldova.
- Yaman T, zer G, Altın N, Alkan M, Kabakcı H, Göre ME (2018) “A Bioassay for *Synchytrium endobioticum* using Microtuber”, 3-6 May 2018, Gagauzya, Moldova.

