

HAZİRAN 2020

Doktora Tezi - Biyoloji

HATİCE KOCALAR

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE'DE NOHUT YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN
BÖLGELERDE SOLGUNLUK VE SARARMAYA NEDEN OLAN
Fusarium oxysporum f. sp. *ciceris*'İN PATOJENİK
KARAKTERİZASYONU VE VEJETATİF UYUM
GRUPLARI'NIN BELİRLENMESİ

BİYOLOJİ
DOKTORA TEZİ

HATİCE KOCALAR
HAZİRAN 2020

**TÜRKİYE’DE NOHUT YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN BÖLGELERDE
SOLGUNLUK VE SARARMAYA NEDEN OLAN *Fusarium oxysporum* f. sp.
ciceris’İN PATOJENİK KARAKTERİZASYONU VE VEJETATİF UYUM
GRUPLARI’NIN BELİRLENMESİ**

**Gaziantep Üniversitesi
Biyoloji
Doktora Tezi**

Danışman

Prof. Dr. Canan CAN

Hatice KOCALAR

Haziran 2020



©2020 [Hatice KOCALAR]

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilmek suretiyle tezde yer aldığını beyan ederim.

Hatice KOCALAR

ABSTRACT

DETERMINATION OF PATHOGENIC CHARACTERIZATION AND VEGETATIVE COMPATIBILITY GROUPS OF *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* CAUSING WILTING AND YELLOWING IN CHICKPEA GROWING REGIONS OF TURKEY

KOCALAR, Hatice

Ph.D. in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Canan CAN

June 2020

243 pages

For the pathogenic characterization of chickpea wilting and yellowing agent, *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC), surveys were conducted in 37 chickpea growing provinces, in 2015 and 2016. The mean disease severity, incidence, and prevalence were 3.24%, 4.04%, and 53.90%, respectively. During the surveys, wilting symptoms were observed in Mersin, Isparta, Aksaray, and Eskişehir provinces and yellowing symptoms were observed in other provinces. In the yellowing type, there was a negative correlation between disease severity and relative humidity ($r=-0.25$; $p<0.01$) and number of rainy days ($r=-0.23$; $p<0.01$). Temperature was positively correlated ($r=0.383$; $p<0.01$). No statistically significant relationship was found in the wilting type ($p>0.05$). Although the virulence levels of wilting and yellowing isolates were different, symptoms were similar in pathogenicity tests. The wilting isolates (49.43% DSI) were more virulent than yellowing isolates (29.39% DSI). This is the first report of FOC and non-pathogenic *F. oxysporum* isolates are present in a single VCG from Turkey. Results of this study explain the complex structure of the FOC and emphasize the urgent need for the development of this destructive pathogen-resistant/tolerant chickpea varieties.

Key Words: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, Chickpea, Disease Severity, Epidemiological Parameters, Pathogenicity, Vegetative Compatibility Grouping (VCG)

ÖZET

TÜRKİYE'DE NOHUT YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN BÖLGELERDE SOLGUNLUK VE SARARMAYA NEDEN OLAN *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*'İN PATOJENİK KARAKTERİZASYONU VE VEJETATİF UYUM GRUPLARI'NIN BELİRLENMESİ

KOCALAR, Hatice

Doktora Tezi, Biyoloji

Danışman: Prof. Dr. Canan CAN

Haziran 2020

243 sayfa

Nohutun solgunluk ve sararma hastalığı ajanı olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*'in (FOC) patojenik karakterizasyonu amacıyla 2015 ve 2016 yıllarında nohut yetiştirilen 37 ilde survey çalışmaları yapılmıştır. Ortalama hastalık şiddeti, insidansı ve yaygınlığı sırasıyla %3,24, %4,04 ve %53,90 olarak belirlenmiştir. Survey çalışmaları sırasında Mersin, Isparta, Aksaray ve Eskişehir illerinde solgunluk ve diğer illerde ise sararma semptomları gözlemlenmiştir. Sararma tipinde hastalık şiddeti ile bağıl nem ($r=-0,25$; $p<0,01$) ve yağışlı günler sayısı ($r=-0,23$; $p<0,01$) arasında negatif korelasyon; sıcaklık arasında pozitif korelasyon saptanmıştır ($r=0,383$; $p<0,01$). Solgunluk tipinde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). Patojenisite testlerinde solgunluk ve sararma izolatlarının virülenslik seviyeleri farklı olmasına rağmen hastalık semptomları benzer olmuştur. Solgunluk izolatları (%49,43 DSI) sararma izolatlarına göre (%29,39 DSI) daha virülenttir. FOC ve patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatlarının tek VCG'de bulunduğu Türkiye'den ilk kez rapor edilmektedir. Bu çalışma, FOC'in kompleks yapısını açıklamakta ve bu yıkıcı patojene karşı dayanıklı/tolerant nohut çeşitlerinin geliştirilmesine acil bir ihtiyaç olduğunu vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, Nohut, Hastalık Şiddeti, Epidemiyolojik Parametreler, Patojenisite, Vejetatif Uyumluluk Gruplaması (VCG)



“Canum aileme”

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde değerli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak yol gösteren, her türlü konuda desteğini benden esirgemeyen, tüm çalışma imkânlarını bana sunan, gelecekteki meslek hayatımda bana verdiği bilgilerden faydalanacağım ve danışman hoca statüsünü hakkıyla yerine getiren Gaziantep Üniversitesi öğretim üyelerinden danışman hocam Prof. Dr. Canan CAN'a sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Manevi desteklerinden ve yönlendirici fikirlerinden dolayı doktora tez jüri üyelerinden Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden Prof. Dr. Abuzer ÇELEKLİ'ye ve Erciyes Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü'nden Doç. Dr. Hacer Handan ALTINOK'a,

Bu çalışmada maddi destek sağlayan Gaziantep Üniversitesi BAP Yönetim Birimi'ne (FEF.DT.17.04 no'lu proje),

Doktora eğitimim boyunca bana maddi destek sağlayan TÜBİTAK 2211 Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı'na,

Kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla dinleyen ve yol gösteren, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Feyza Nur KAFADAR'a,

Lisansüstü eğitim hayatımda ihtiyaç duyduğumda bilgi ve donanımı ile bana yardımcı olan, her türlü motivasyon ve desteğini bana sunan ve gelecekteki hayatında çok daha başarılı olacağına inandığım Arş. Gör. Derya İŞLER CEYHAN'a,

Doktora tez çalışmamın istatistiki analizlerinde bana yardımcı olan Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü'nden Dr. Öğr. Üyesi Ali ÖZKAN'a ve Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu'ndan Dr. Öğr. Üyesi Recep BİNDİAK'a

Lisans eğitimimden bu yana bilimsel anlamda gelişimime katkı sağlayan Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerine,

Tezimin survey çalışmalarında ve örneklerin toplanmasında desteklerini benden esirgemeyen sayın Necip NALÇACI'ya ve Mersin Zirai Karantina Müdürlüğü'nden sayın Ayşe ANAY'a,

Laboratuvar çalışmalarım boyunca yardımlarını benden esirgemeyerek destek olan arkadaşlarım Özge DEMİREL'e, Oğuz AKVEÇ'e, Selçuk BAŞBUĞA'ya, Talap TALAPOV'a ve tüm mikoloji ekibine,

Beni bu günlere büyük bir emek ve azimle taşıyan tüm eğitim hayatım süresince beni hep destekleyen ve güvenen annem ve babam Semira-Fayat POLATBİLEK'e, varlığıyla hep yanımda olan ve destekleyen sevgili eşim Mustafa Özgür KOCALAR'a ve biricik oğlum Kerim KOCALAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ABSTRACT	v
ÖZET	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	x
TABLolar LİSTESİ	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiv
SEMBOLLER LİSTESİ	xvi
KISALTMALAR LİSTESİ	xvii
BÖLÜM I: GİRİŞ	1
1.1. Nohutun (<i>Cicer arietinum</i> L.) Genel Özellikleri	1
1.2. Nohutta Hastalıklara Neden Olan Bazı Abiyotik ve Biyotik Stres Faktörleri ..	10
1.3. Nohutta <i>Fusarium</i> Solgunluk ve Sararma Hastalığı	16
1.3.1. Epidemiyolojisi	19
1.3.2. Sınıflandırılması	21
1.3.3. Biyolojisi	22
1.3.4. Hastalık Döngüsü	26
1.3.5. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> 'in ve Irklarının Karakterizasyonunda	
Kullanılan Moleküler Yöntemler	30
1.4. Vejetatif Uyum Grupları (VCG-Vegetative Compatibility Groups)	34
BÖLÜM II: KAYNAK ÖZETLERİ	46
2.1. Nohut Bitkisinde Görülen Fungal Hastalıklar	46
2.2. Nohutta <i>Fusarium</i> Solgunluk Hastalığının Patojenik Karakterizasyonu, ...	51
2.3. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> 'in Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları	58
2.4. Vejetatif Uyum Grupları (VCG) Üzerine Çalışmalar	65
BÖLÜM III: MATERİYAL VE METODLAR	70
3.1. Materyal	70
3.1.1. Bitki ve Patojen Materyali	70

3.1.2. Patojen İzolasyonunda Kullanılan Besiyerleri, Kimyasallar ve Cihazlar	70
3.1.3. Patojenisite Testlerinde Kullanılan Ekipman, Kimyasallar ve Cihazlar	71
3.1.4. İzolatların Muha fazasında Kullanılan Ekipman, Kimyasallar ve Cihazlar ..	71
3.1.5. DNA Analizlerinde Kullanılan Ekipman, Kimyasallar ve Cihazlar	71
3.1.6. VCG Analizlerinde Kullanılan Ekipman, Kimyasallar ve Cihazlar	72
3.2. Yöntem.....	72
3.2.1. Survey Çalışmaları ve Enfekte Bitki Örneklerinin Alınması.....	72
3.2.2. <i>Fusarium oxysporum</i> İzolasyonları, Tanı ve Muha fazası.....	75
3.2.3. Patojenisite Testleri.....	77
3.2.4. Vejetatif Uyum Grubu (VCG) Analizleri.....	82
3.2.5. PCR Temelli Moleküler Çalışmalar.....	84
3.2.6. İstatistik Analizler.....	86
BÖLÜM IV: BULGULAR	87
4.1. <i>Fusarium</i> Solgunluk ve Sararma Hastalığı Tarla Gözlemleri ve Patojen	87
4.2. Patojenisite Testleri	101
4.3. Vejetatif Uyum Grubu (VCG) Analizleri	108
4.4. PCR Temelli Moleküler Çalışmalar	117
BÖLÜM V: TARTIŞMA.....	124
BÖLÜM VI: SONUÇ VE ÖNERİLER	160
KAYNAKLAR.....	165
EKLER	236
ÖZGEÇMİŞ (CV)	240

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1 Dünya’da 2014–2017 yılları arasında nohut üretimi.....	9
Tablo 1.2 Dünya’da 2014–2017 yılları arasında nohut ekim alanları.....	9
Tablo 1.3 Türkiye’de nohutun ekim alanı, üretimi ve verimliliği	9
Tablo 1.4 Nohut üretimi yapılan iller ve ortalama üretim miktarları	10
Tablo 1.5 Irkların belirlenmesinde kullanılan nohut genotipleri ve reaksiyonları ...	20
Tablo 1.6 <i>Fusarium oxysporum</i> ’un <i>nit</i> mutantları arasındaki eşleşme reaksiyonları	41
Tablo 3.1 Türkiye’de 2015 ve 2016 yıllarında survey yapılan illerin tarla bilgileri	73
Tablo 3.2 <i>Fusarium oxysporum</i> ’un <i>nit</i> mutantlarının farklı nitrojen kaynağı içeren besiyerlerinde fenotipik tanımlanması	83
Tablo 3.3 <i>Fusarium oxysporum</i> ’a spesifik primerin sekansı ve ampikon büyüklüğü .	85
Tablo 3.4 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> ’e spesifik primerlerin sekansı ve ampikon büyüklüğü	85
Tablo 3.5 Uni primer setinin sekansı ve ampikon büyüklüğü.....	86
Tablo 4.1 Türkiye’nin nohut yetiştirilen illerinde <i>Fusarium</i> solgunluk ve sararma hastalığının yaygınlığı, insidansı ve şiddeti.....	88
Tablo 4.2 <i>Fusarium</i> spp. izolatlarının bölgelere göre dağılımı ve yüzde oranları ...	89
Tablo 4.3 Hastalık şiddeti ile sararma fenotipinin coğrafi parametreleri arasındaki Pearson korelasyon test sonucu.....	94
Tablo 4.4 Hastalık şiddeti ile solgunluk fenotipinin coğrafi parametreleri arasındaki Pearson korelasyon test sonucu.....	94
Tablo 4.5 Sararma fenotipinin hastalık şiddeti ve bitkiye ait parametreleri arasındaki Pearson korelasyon test sonucu.....	96
Tablo 4.6 Solgunluk fenotipinin hastalık şiddeti ve bitkiye ait parametreleri arasındaki Pearson korelasyon test sonucu.....	96
Tablo 4.7 Her bileşenin faktör yükleri.....	100
Tablo 4.8 Bölge ve il düzeyinde patojenisite çalışmalarına ait izolat bilgileri.....	102
Tablo 4.9 Patojenisite çalışmasında değerlendirilen illerin %DSI gruplaması	105

Tablo 4.10	Solgunluk izolatlarına ait <i>nit</i> mutantlarının PDAC ve FMMC besiyerlerindeki fenotiplerinin illere göre dağılımı	109
Tablo 4.11	Sararma izolatlarına ait <i>nit</i> mutantlarının PDAC ve FMMC besiyerlerindeki fenotiplerinin illere göre dağılımı	109
Tablo 4.12	Solgunluk ile test izolatları arasında yapılan VCG tiplemesi	112
Tablo 4.13	Sararma ile test izolatları arasında yapılan VCG tiplemesi.....	114
Tablo 4.14	<i>Fusarium oxysporum</i> izolatlarının illere göre dağılımı ve yüzde oranları.....	118
Tablo 4.15	<i>Fusarium oxysporum</i> izolatlarının bölgelere göre dağılımı	119

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 Nohut köklerindeki nodülasyon.....	7
Şekil 1.2 <i>Fusarium</i> spp.'nin konidiyo for, konidi ve klamidospor yapıları.....	22
Şekil 1.3 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> 'in hastalık döngüsü	27
Şekil 1.4 <i>Aspergillus nidulans</i> ve <i>Neurospora crassa</i> 'da nitrat kullanım yolağı	40
Şekil 3.1 Türkiye'de 2015 ve 2016 yıllarında survey çalışması yapılan nohut tarlalarının coğrafi dağılımı	72
Şekil 3.2 Nohut bitkisinden fungal patojen izolasyonu aşamaları	76
Şekil 3.3 Nohut bitkisinden izole edilen <i>Fusarium oxysporum</i> 'un PDA'daki saf kültürleri, makrokonidi ve mikrokonidi şekilleri	76
Şekil 3.4 Fungal izolatların muhafazası.....	77
Şekil 3.5 Patojenisite çalışmalarında kullanılan fungal inokulumun hazırlanması ..	77
Şekil 3.6 İnokülasyon amacıyla kullanılan ILC482 nohut çeşidi	78
Şekil 3.7 Patojenisite çalışmalarında bitki inokülasyonları	79
Şekil 3.9 Hastalık değerlendirmelerinde kullanılan 0-4 skala değerleri.....	80
Şekil 3.10 Koch postulatları.....	81
Şekil 3.11 VCG çalışmalarında kullanılan <i>nit</i> mutantlarının geliştirilmesi	82
Şekil 4.1 Solgunluk ve sararma semptomlarına sahip nohut bitkilerinin karşılaştırılması	89
Şekil 4.2 Sararma ve solgunluk semptomları gösteren nohut bitkileri	90
Şekil 4.3 Tarladaki hastalıklı ve sağlıklı nohut bitkileri	90
Şekil 4.4 Nohut bitkisinde kök çürüklüğü	91
Şekil 4.5 Hastalık şiddetinin bölgelere göre gruplandırılması.....	92
Şekil 4.6 Türkiye'nin nohut yetiştirilen bölgelerinde <i>Fusarium</i> solgunluk ve sararma hastalığının yaygınlığı ve insidansı.....	93
Şekil 4.7 Tarla gözlemlerinin yapıldığı coğrafi bölgelerin iklimsel parametreleri ile hastalık şiddeti değerleri.....	95
Şekil 4.8 Farklı yükseltilerde yetiştirilen nohut bitkisinde görülen <i>Fusarium</i> solgunluk ve sararma hastalığı şiddeti	97

Şekil 4.9 Farklı yükseltelerde yetiştirilen nohut bitkisinde görülen iki farklı sempomatik tipin hastalık şiddeti	97
Şekil 4.10 Tarla gözlemlerinin yapıldığı coğrafi bölgelerin nohut tarlalarındaki ortalama yabancı ot sayısı ile hastalık şiddeti değerleri	98
Şekil 4.11 Sağlıklı ve hastalıklı bitkilerin ortalama nodül sayısı ile hastalık şiddeti değerleri	98
Şekil 4.12 Sağlıklı ve hastalıklı bitki köklerindeki nodülasyon durumu	99
Şekil 4.13 Sağlıklı ve hastalıklı bitkilerin bitki boyu ile hastalık şiddeti değerleri ..	99
Şekil 4.14 Faktörlerin solgunluk ve sararma tiplerinin dağılımına etkisi	101
Şekil 4.15 İnokülasyondan sonraki 21. günde bitkilerdeki hastalık gelişimi	103
Şekil 4.16 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> 'in AUDPC ve hastalık şiddeti değerlerinin coğrafi bölgelere göre kıyaslanması.....	104
Şekil 4.17 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> 'in günlere göre hastalık değişimi ...	106
Şekil 4.18 Coğrafi bölgelerin hastalık şiddetinin gruplandırılması	107
Şekil 4.19 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> inokülasyonu sonrasında nohutta hastalık gelişimi	107
Şekil 4.20 PDAC ve FMMC besiyerlerindeki <i>nit</i> mutant sınıflarının oranları.....	111
Şekil 4.21 Farklı klorat oranlarına sahip PDAC ve FMMC besiyerlerindeki <i>nit</i> mutant sayısı ve oranları.....	112
Şekil 4.22 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> 'in <i>nit</i> mutantları arasındaki eşleşme desenleri.....	116
Şekil 4.23 uni ve FOF/FOR primerleri ile yapılan PCR analizi sonucu oluşan bantların agaroz jel elektroforezi görüntüsü	117
Şekil 4.24 <i>Fusarium oxysporum</i> izolatlarının coğrafi bölgelere göre dağılımı	119
Şekil 4.25 FOCP1 primer seti ile yapılan PCR analizi sonucu oluşan bantların agaroz jel elektroforezi görüntüsü	120
Şekil 4.26 FOCP1 primer seti ile yapılan 3 farklı PCR analizi sonucu oluşan bantların agaroz jel elektroforezi görüntüsü	121
Şekil 4.27 FOCP1 primeri ile 50°C bağlanma sıcaklığında 35 döngüde yapılan PCR analizi sonucu oluşan bantların agaroz jel elektroforezi görüntüsü ..	122
Şekil 4.28 FOCP1 primer seti ile yapılan PCR analizi sonucu oluşan bantların agaroz jel elektroforezi görüntüsü	123

SEMBOLLER LİSTESİ

°C	Santigrat Derece
%	Yüzde
&	Ve
α	Alfa
β	Beta



KISALTMALAR LİSTESİ

ICRISAT	Yarı Kurak Bölgeler İçin Uluslararası Bitki Araştırma Enstitüsü
ICARDA	Uluslararası Kurak Alanlarda Tarımsal Araştırma Merkezi
AUDPC	Hastalık Gelişim Eğrisinin Altında Kalan Alan
f. sp.	Formae speciales
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
bp	Baz Çifti
RPM	Dakikadaki Devir Sayısı
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDA	Patates Dektroz Agar
PDB	Patates Dektroz Broth
FMM	Fusarium Minimal Media
SNA	Sentetik Nutrient Agar
HX	Hipoksantin
HSC	Heterokaryon Kendisiyle Uyumlu
HSI	Heterokaryon Kendisiyle Uyumsuz
VCG	Vejetatif Uyum Grubu
TAE	Tris Asetat EDTA
TE	Tris-EDTA
UV	Ultraviyole
ng	Nanogram
µg	Mikrogram
ha	Hektar
da	Dekar
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
µm	Mikrometre
mM	Milimolar
µM	Mikromolar

BÖLÜM I

GİRİŞ

1.1. Nohutun (*Cicer arietinum* L.) Genel Özellikleri

Akdeniz Havzası'nda ve Dünya çapında yetiştiriciliği yapılan nohut (*Cicer arietinum* L.) (Saxena, 1990), kültüre alınan ilk baklagil familyası (Fabaceae) üyelerinden biridir (Van der Maesen, 1972; Singh, 1997). Günümüzden 10-12 bin yıl önce Yakın Doğu'daki Bereketli Hilal topraklarında tarımın başlangıcında insanlar çeşitli bitki türlerini kültüre almaya başlamıştır. İlk kültüre alınan ürün bitkilerinin *Triticum monococcum* L., *Triticum turgidum* L., *Hordeum vulgare* L., *Pisum sativum* L. *Lens culinaris*, *Cicer arietinum* L., *Vicia ervilia* (L.) Willd. ve *Linum usitatissimum* L. olduğu bilinmektedir (Lev-Yadun vd., 2000; Zohary ve Hopf, 2000). Baklagiller ise tahıllar ile beraber evcilleştirilmiştir (Vavilov, 1951; Smartt, 1990; Zohary ve Hopf, 2000; Abbo vd., 2012). Böylece Fabaceae familyası, fazla sayıda evcilleştirme yapılan bir takson haline gelmiştir (Smýkal vd., 2015).

Nohut tarımı ile ilgili birçok rapor sunulmuş ancak M.Ö. 8 binli yıllara dayanan ve en eski otantik kayıt olan Tell el-Kerkh'de (Suriye) hem nohut hem de öncülü *Cicer reticulatum* Ladiz. bitkisinin tohum örnekleri bulunmuştur (Tanno ve Willcox, 2006). Ayrıca Suriye'nin Tell Abu Hureyra (Hillman, 1975) bölgesi ile Türkiye'den Diyarbakır yakınlarındaki Çayönü (Van Zeist ve Bottema, 1972) ve Burdur yakınlarındaki Hacılar (Van der Maesen, 1984) höyüklerindeki buluntular da nohutun antik bir tarihe sahip olduğunu göstermektedir (Van Rheenen, 1991). Bu kayıtlar, Bereketli Hilal ile sınırlanan erken Neolitik nohutların modern Anadolu ve Doğu Akdeniz'de dağılımını desteklemektedir (Redden ve Berger, 2007). Ayrıca kömürleşmiş (karbonize olmuş) nohut tohumları Çayönü'nde (Türkiye) ve Tell Abu Hureyra'da (Suriye) bulunmuştur (Zohary ve Hopf, 1993; Ladizinsky, 1995). 9-10 bin yıllık geçmişe sahip olan her iki lokasyondaki tohumlar çok küçük olup kültüre alınan materyali temsil edebilmektedir (Hawtin vd., 1980).

Evcilleştirilen bitkilerden elde edilen büyük tohumların en eski kalıntılarının İsrail ve Ürdün'de bulunan Jericho ve Bab edh-Dhra'daki Bronz Çağı kazılarına ait olduğu saptanmıştır. Nohutun muhtemelen tarımı yapılan ilk taneli ürün bitkileriyle birlikte Avrupa'ya gittiği tahmin edilmektedir. Çünkü tohumlar günümüzden 8 bin yıl önce Yunanistan'da ve 5 bin yıl önce de Güney Fransa'da bulunmuştur. Bu tohumların yaklaşık 4 bin yıl önce Hindistan'a ve yaklaşık 3 bin yıl önce Akdeniz'den Etiyopya'ya getirilmiş olduğu belirlenmiştir (Hawtin vd., 1980).

Neolitik dönemde evcilleştirilen diğer bitkilerin aksine, nohut ayrı bir evrimsel yol izlemiştir. Güneydoğu Anadolu kışlık ekimi yapılan tek yıllık (*C. reticulatum*) Güney Asya ve ilkbahar ekimi yapılan Akdeniz ürününe doğru bir dizi darboğazdan geçmiştir. Genetik çeşitliliğin kaybı tarımsal ürünler arasında evrensel bir fenomen olup (Tanksley ve McCouch, 1997), nohuta özgü bir dizi darboğaz nedeniyle bu üründe büyük ölçüde genetik çeşitlilik kaybı gerçekleşmiştir. Bu tür darboğazların nedeninin öncül *C. reticulatum*'un kısıtlı dağılımı, Ascochyta yanıklığından kaçmak için kış ilkbahar ekiminden gelişme mevsimine kayma ve lokal olarak mevcut arazi ırklarının ıslahçılar tarafından evrimleşen elit modern çeşitler ile değiştirilmesi olarak bildirilmiştir (Abbo vd., 2003). Ancak hastalığa duyarlılığı ve ilk çiftçiler tarafından tecrübe edilen gelişme mevsimi manipülasyonu gibi problemlere rağmen nohut yetiştiriciliğinin sağladığı bazı avantajlar nedeniyle bu ürünün yetiştirilmesinin gerekli olduğu belirtilmiştir (Abbo vd., 2005; Kerem vd., 2007). Daha sonra nohut muhtemelen yabancı ataları gibi tek yıllık kışlık ekilen bir ürün olarak Doğu Akdeniz'e doğru ve Akdeniz Havzası boyunca Yunanlar, Romalılar ve Fenikeliler tarafından yayılmıştır (Redden ve Berger, 2007; Berger, 2013). Bu evrimsel yörüngenin nohut soyunun biyotik ve abiyotik streslerle başa çıkma kapasitesi üzerinde önemli etkileri olduğu öngörülmektedir (Smýkal vd., 2015).

Yabancı *Cicer* türlerinin yaklaşık dörtte biri Türkiye'de yayılış göstermektedir (Davis, 1973; Van der Maesen, 1987) ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi nohutun orijin merkezlerinden biridir (Van der Maesen, 1987; Singh, 1997). Bu dar coğrafi alana rağmen, bölge çeşitli toprak substratlarına ve bin metre üzerinde uzanan önemli bir gradyan eğimine sahip olup farklı lokal adaptasyonlara yol açan iklim koşullarında farklılıklar göstermektedir (Von Wettberg vd., 2018). Birçok taksonomik gruplarda olduğu gibi, Türkiye *Cicer* cinsi için de önemli bir çeşitliliğe sahiptir (Davis, 1973).

Türkiye’de bulunan *C. bijugum* Rech.f., *C. echinospermum* P.H.Davis, *C. judaicum* Boiss., *C. pinnatifidum* Jaub. & Spach ve *C. reticulatum* Ladiz. tek yıllık; *C. montbretii* Jaub. & Spach, *C. isauricum* P.H.Davis, *C. anatolicum* Alef., *C. floribundum* Fenzl ve *C. incisum* (Willd.) K. Maly çok yıllıktır (Davis, 1973; Van der Maesen, 1987).

C. pinnatifidum tek yıllık bir bitki olup Ermenistan’dan Doğu Akdeniz’e kadar uzanarak en geniş dağılıma sahipken diğer yabancı türler daha küçük alanlarda sınırlı olarak kalmıştır. Örneğin, *C. judiacum* sadece İsrail-Filistin’de, *C. cuneatum* Etiyopya, Mısır ve Suudi Arabistan’ın orta yükseklikteki bölgelerinde ve *C. yamashitae* ise Afganistan’da bulunmaktadır (Van der Maesen vd., 2007). *C. reticulatum*, *C. echinospermum* ve *C. bijugum* kültüre alınmış nohutun orijin bölgesi olan Türkiye’nin doğusuna özgü türlerdir. Bu üç tür çeşitli büyüklükte tohum taşımaya rağmen (yaklaşık 100-120 mg/tohum), bunlardan sadece *C. reticulatum* kültüre alınmıştır (Singh vd., 1998). Dolayısıyla *C. echinospermum* ve *C. reticulatum*, kültür nohutunun (*C. arietinum*) birincil gen havuzunda yer almaktadır (Ladizinsky, 1975; Muehlbauer vd., 1993).

C. arietinum ile birincil gen havuzundaki yabancı *Cicer* türleri arasındaki çaprazlamalar tamamen (*C. reticulatum*) veya kısmen (*C. echinospermum*) fertil olabilmektedir (Muehlbauer vd., 1993). Çok yıllık yabancı akrabalar kayalık yamaçlardan ormanlara uzanan arazilerde yetişmektedir. *C. anatolicum*, *C. incisum*, *C. microphyllum* ve *C. montbretii* Balkanlar’dan, Doğu Akdeniz Bölgesi’ne ve Asya’nın doğusuna kadar geniş bir yelpazede yayılmıştır (Abbo vd., 2007; Van der Maesen vd., 2007). Nohutun yabancı atası olarak tanımlanan *C. reticulatum*’un Güneydoğu Anadolu’da kültüre alınmasından sonra, nohutun günümüzde de geniş alanlarda ekimi yapılmaktadır (Robertson vd., 1997; Lev-Yadun vd., 2000; Iruela vd., 2002; Abbo vd., 2003; Nguyen vd., 2004; Sudupak vd., 2004).

Evcilleştirme sürecinde, tohumların büyüklüğü 3,5-6 mm arasında çarpıcı bir şekilde artarak bakla ve tohumlarını tutan bitki tipleri seçilmiştir. Tohum kabuğu da daha pürüzsüz ve daha ince hale getirilmiştir. Ürünler coğrafi olarak yayıldıkça iki ana morfolojik tip ortaya çıkmıştır (Hawtin vd., 1980) veya iki farklı nohut tipi tohum boyutuna göre mikrosperma ve makrosperma olarak sınıflandırılmıştır (Cubero, 1987):

Pürüzlü yüzeyi ile küçük köşeli koyu kahverengi tohumları, pembe veya mor çiçekleri, gövdeleri üzerinde antosiyanin pigmentleri ile “Desi” tipi ve pürüzsüz yüzeyi ile büyük koçbaşı tohumları, beyaz renkli çiçekleri ve antosiyanin pigmentasyonu bulundurmaması ile “Kabuli” tipi. Bu iki tipin farklı çeşitlilik merkezleri bulunmaktadır: Kabuli tipi çoğunlukla Akdeniz Bölgesi’nde, Orta ve Batı Asya’da; Desi tipi Hint Yarımadası ve Etiyopya’da yetiştirilmektedir (Van der Maesen, 1972; Berger ve Turner, 2007). Kabuli tipleri genellikle Desi tiplerinden daha evrimleşmiş olarak kabul edilmektedir (Hawtin ve Singh, 1980; Salimath vd., 1984; Gil ve Cubero, 1993). Ara tip veya “bezelye şekilli” olarak adlandırılan üçüncü bir nohut tipi ise küçük ila orta yuvarlak bezelye biçimli tohum şekli ile tanımlanmıştır (Sharma vd., 2013).

Cicer cinsi 9 tür tek yıllık ve 34 tür çok yıllık bitki içermektedir (Van der Maesen, 1972; Muehlbauer, 1993). Nohut bitkisinin gövde kısmı dallanmış, dik veya yayılmış, bazen çok dallı, 0,2-1 m boyunda, glandüler tüylü, zeytin, koyu yeşil veya mavimsi yeşil renkli olarak tanımlanmıştır. Kök sistemi sağlam olup 2 m derinliğe kadar ulaşabilmekte ancak kökün ana kısmı 60 cm’ye kadar olan bölgeyi içermektedir. Yapraklar imparipinnat, 3-8 çift yaprakçık ile tepe yaprakçığı salgı tüyüne sahip olup 0,6-2,0 cm uzunluğundadır ve 0,3-1,4 cm genişliğindeki yaprakçıklar oval-eliptik şeklindedir. Kapsül eşkenar dörtgen-elipsoid şeklinde olup içinde 1-2 tohum barındırmakta ve yüzeyinde salgı tüyü bulunmaktadır. Tohum rengi sarı, kahverengi, siyah veya yeşil, yuvarlak-köşeli olup tohum kabuğu ise düz veya kırışık olarak karakterize edilmiştir (Cubero, 1987; Van der Maesen, 1987).

Nohut bitkisinin sistematikteki yeri şu şekildedir (CABI, 2019):

Üst Âlem : Eukaryota
Âlem : Plantae
Şube : Spermatophyta
Alt Şube : Angiospermae
Sınıf : Dicotyledonae
Takım : Fabales
Familya : Fabaceae
Cins : *Cicer*
Tür : *Cicer arietinum* L.

Nohut, yaklaşık 740 Mbp genom büyüklüğünde, kendi kendine tozlanan diploid ($2n=16$) bir bitki olup tek yıllık yemelik tane baklagiller grubunda bulunmaktadır (Arumuganathan ve Earle, 1991). Çapraz tozlaşmanın %0-1 oranında olduğu ve nadiren gerçekleştiği bildirilmiştir (Smithson vd., 1985; Singh, 1987). Dünya çapında nohut en iyi muson sonrası serin mevsim ürünü olarak ve yarı kurak bölgelerde kuru iklim ürünü olarak yetiştirilmektedir. Olgunlaşması 80-170 gün sürmektedir. Bitkinin vejetatif gelişiminin erken dönemlerinde optimum sıcaklık isteğinin gece 21-24°C, gündüz 29-32°C, çiçeklenme döneminde ise gece 18-21°C, gündüz 26-29°C olduğu tespit edilmiştir (Van der Maesen, 1972). Nohut bitkisi 3-5°C'de çimlenebilmekte ve -12°C soğuğa dayanabilmektedir (Üstün, 1994). Genellikle ağır siyah veya kırmızı topraklarda yetiştirilmektedir (pH 5.5-8.6). Don, dolu taneleri ve aşırı yağmurlar ürüne zarar verebilmektedir. Soğuğa hassas olmasına rağmen, bazı çeşitler erken aşamalarda veya kar örtüsü altında -9,5°C'ye kadar olan düşük sıcaklıklara tolerans gösterebilmektedir. Tohum bağlaması için %21-41 bağıl nemin en uygun nem aralığı olduğu tespit edilmiştir. Nohutun bakır kumlu toprakların veya ilk dikim için daha ağır toprakların verimliliğini %10-62 artırdığı rapor edilmiştir (Duke, 1981).

Sürdürülebilirlik hususlarına göre atmosferik nitrojeni (N_2) bitkide kullanılabilir bir forma dönüştüren biyolojik azot fiksasyonu azotlu gübrelere alternatif olarak görülmektedir (Beck vd., 1991). Nohut, *Rhizobium* bakterileri ile kurduğu simbiyotik ilişki sayesinde atmosferik nitrojeni fikse edip toprağa kazandırmaktadır (Auld ve Lee, 1981; Croser vd., 2003). Nohut, bitkisel verimlilik için son derece önemli olan nitrojeni fikse ettiği için toprağa ve çevreye katkısından dolayı tercih edilmektedir ve tarımsal ürünlerin azotlu gübreye olan bağımlılığını azaltmaktadır. Azotlu gübreyi üretmek için gereken yüksek miktarda enerji dikkate alındığında, uygulanan gübre miktarını azaltmanın karbon ayak izimizi küçülteceği bildirilmiştir (Gan vd., 2014).

Bazı tarımsal alanlarda sürekli aynı tarımsal ürünlerin ekilmesi toprakta organik karbonun ve nitrojeni tükettiğinden son yıllarda tahıl ürününde verimin ve tahıl tanesindeki protein konsantrasyonunun düşmesine neden olarak çiftçilerin ürünleri için maksimum verim elde etmelerini engellemiştir (Beck vd., 1991; Pala vd., 1994; Lopez-Bellido vd., 1996). Simbiyotik azot fiksasyonu yapan nohut, toprak verimliliğini artırarak tarım sistemlerinin sürdürülebilirliğini sağlamaktadır (Smykal vd., 2015).

Azot fiksasyonu yapmasına rağmen bezelye ve mercimekle kıyaslandığında nohutun ürün rotasyonunun zayıf olduğu görülmüştür. Nohutun bu yönde etkili performans gösterememesi bu baklagilin toprağı kurutma etkisine atfedilmiştir. Bezelye ve mercimeğe göre daha fazla biyokütleyle sahip olan nohut, sonraki ürünün büyümesini olumsuz yönde etkileyebilecek kaynaklara ihtiyaç duymaktadır (Miller vd., 2003).

Baklagillerde azot fiksasyonu açısından önemli olan *Rhizobium* türleri sideroforlar (Persmark vd., 1993) ve rizobitoksin (Chakraborty ve Purkayastha, 1984) gibi metabolitler üreterek köklerin patojenlerin saldırılarına karşı korunmasında ve indol asetik asit üretimi ile bitki büyümesini arttırılmasında (Hartman vd., 1983) rol oynamaktadır (Suman ve Yadav, 2015). Ayrıca *Rhizobium* bakterilerinin baklagillerde nodülasyonu indüklediğı ve konukçu bitki büyümesinde ve gelişiminde artışa neden olduğu bilinmektedir (Biswas vd., 2000).

Mesorhizobium ciceri ve *M. mediterraneum* türleri nohutun rizobiyal gereksinimi için spesifik türler olarak bilinmektedir (Nour vd., 1995). *Rhizobium* türleri, toprak mikrobiyal popülasyonunun normal bileşenleri olarak yaşayan fakültatif mikrosimbiyontlar olarak tanımlanmaktadır (Somasegaran ve Hopen, 1994). Tanımlanmış konukçu-bitki aralığına sahip olan nodülasyon sürecinin her bir *Rhizobium* için konukçusuna spesifik olduğu bilinmektedir. Normalde toprakta bulunan *Rhizobium* türleri, rizosferde popülasyon seviyelerini arttırmakta ve kök yüzeyine yapışmaktadır. Uyumlu bir etkileşim gerçekleştiğinde yani uygun bir simbiyont uygun bir konukçu ile bir araya geldiğinde bakteriler kök kılcallarına bağlanarak bitkinin salgıladığı sekonder bitki metaboliti olan flavonoid sinyallerini tanımaktadır (Stacey, 2007).

Nodülasyon süreci rizosferin *Rhizobium* bakterileri tarafından kolonizasyonu, *Rhizobium* türlerinin köklere adsorpsiyonu, kök kılcallarının belirgin bir şekilde kıvrılması ve enfeksiyon ipliklerinin oluşumunu takiben nodül oluşum basamaklarından oluşmaktadır (Pueppke, 1986) (Şekil 1.1). Her bir *Rhizobium* türü uyumlu konukçu tarafından salgılanan spesifik flavonoid karışımını tanımak üzere birlikte evrimleşmiştir. Bu sinyalin tanınması, simbiyonttaki nodülasyon (*nod*) genlerinin transkripsiyonuna yol açmaktadır. Bu *nod* genleri sırayla sinyal molekülünü sentezleyen enzimleri, bakteriden salınan ve konukçu tarafından tanınan Nod sinyalinin kodlamaktadır (Stacey, 2007).



Şekil 1.1 Nohut köklerindeki nodülasyon
(Ok nodülü göstermektedir.)

Baklagiller, hayvan ve insan tüketimi için hububattan sonra dünya çapında en önemli ürünler arasında bulunmaktadır (Graham ve Vance, 2003) ve tarım sistemlerinde ve insan beslenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Baklagiller yoksulluğu azaltmak, insan sağlığını ve beslenmesini geliştirmek ve ekosistem direncini arttırmak için ideal ürünler olarak bilinmektedir (Akibode ve Maredia, 2011).

İyi bir protein ve enerji kaynağı olan nohutun gıda ile ilgili sağlık sorunlarını hafifletilmesinde kalabalık nüfuslar için önemli bir besin kaynağı olduğu bildirilmiştir (Millan vd., 2006). Türkiye Ulusal Gıda Kompozisyon Veritabanı'nın verilerine göre (2019), 100 gr nohutta 334 kcal enerji, 18,6 gr protein, 41,4 gr karbonhidrat ve 5,3 gr total yağ bulunmaktadır (Türkomp, 2019). Ayrıca hayvansal protein kaynaklarının pahalı ve yetersiz olduğu ülkelerde dengeli ve sağlıklı beslenme açısından da baklagiller içerisinde önemli bir kaynak olarak görülmektedir (Akçin, 1988). Nohut mineraller bakımından zengin olup iyi bir kalsiyum, magnezyum, potasyum, fosfor, demir, çinko ve manganez kaynağıdır (Ibricki vd., 2003; Wood ve Grusak, 2007). Bununla birlikte genetik yapısı değiştirilerek pirince kazandırılmış β -karoten gibi yüksek miktarlarda karotenoidleri içermektedir (Abbo vd., 2005). Nohut tohumlarında mineral, lif, doymamış yağ asiti yoğun miktarda bulunmakta ve insan diyetine olumsuz hiçbir etkisi bulunmamaktadır (Jukanti vd., 2012).

Diğer baklagillere kıyasla, nohutta beslenme önleyici faktörler (Antinutritional factors, ANFs) bulunmamaktadır (Muzquiz ve Wood, 2007). Bu faktörler, besin kullanımını veya alımını azaltan insan veya hayvan gıdalarındaki biyolojik bileşikler olup gastrointestinal sistemin ve metabolik performansın bozulmasına neden olmaktadır (Dunlop, 2004). Nohut, hastalıkların tedavisinde kullanılmak üzere tıbbi yararı bulunan fonksiyonel bir gıda maddesi olarak amacına çok iyi hizmet etmektedir (McIntosh ve Topping, 2000; Charles vd., 2002; Jukanti vd., 2012). Nohutun en hipokolesteremik ajan olduğu ve çimlenmiş nohutun farelerde kolesterol seviyesini kontrol etmede etkili olduğu bildirilmiştir (Geervani, 1991). Bronşit, kolera, konstipasyon, diyare, dispepsi, şişkinlik, yılan ısırığı ve güneş çarpmasında nohut bitkisi tıbbi olarak kullanılabilir (Duke, 1981). Nohutun yüksek besin değeri göz önüne alındığında, önemli bir protein kaynağı olarak vejetaryenler için en besleyici gıdalardan biri olduğu belirlenmiştir (Smykal vd., 2015). Verimsiz mevsimlerde besin açısından zengin bir gıda takviyesi sağlayan nohut, hayvanlar için de ana besin maddesi olarak tüketilmektedir. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerdeki insanlar için nohut, yüksek kaliteli bir protein kaynağı sağlamaktadır (Deb ve Khaleque, 2009).

Nohut, *Cicer* cinsi içinde kültürü yapılan tek tür olup önemli bir yemeklik tane baklagil olarak yetiştirilen ikinci en önemli ürün bitkisidir. 2014-2017 yılları arasında ortalama olarak toplam dünya üretiminin üçte ikisi Hindistan'da yapılmıştır ve diğer büyük üretici ülkelerin ise sırasıyla Avustralya, Myanmar, Etiyopya, Türkiye, Pakistan, İran ve Rusya olduğu belirlenmiştir (Tablo 1.1). Dünya çapında yemeklik tane baklagiller içerisinde nohut, ekim alanı açısından fasulyeden sonra ikinci, üretim açısından ise fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) ve bezelyeden (*Pisum sativum* L.) sonra üçüncü sırada bulunmaktadır (FAOSTAT, 2019).

2014-2017 yılları arasında ortalama olarak Türkiye, dünyadaki diğer nohut üreticileri ile kıyaslandığında ortalama 372,5 bin ha ekim alanı ile altıncı ve 459 bin t ortalama üretim ile beşinci sırada bulunmaktadır (FAOSTAT, 2019) (Tablo 1.1 ve 1.2). Türkiye'de nohut, kuru baklagiller arasında ekim alanı (da) ve üretim (t) açısından birinci sıradadır. Tablo 1.3'te ekim alanı ve üretim bakımından İç Anadolu Bölgesi'nin birinci sırada bulunduğu; Tablo 1.4'te ise bu bölgenin illerinin nohut üretiminde önemli bir paya sahip olduğu görülmektedir (TÜİK, 2019).

Tablo 1.1 Dünya’da 2014–2017 yılları arasında nohut üretimi (t) (FAOSTAT, 2019)

Ülkeler	2014	2015	2016	2017
Hindistan	9.530.000	7.332.000	7.058.000	9.075.000
Avustralya	629.400	555.400	874.593	2.004.000
Myanmar	570.700	571.500	559.390	526.772
Etiyopya	458.682	520.965	444.146	473.570
Türkiye	450.000	460.000	455.000	470.000
Pakistan	399.030	379.192	286.000	330.000
İran	268.734	193.105	271.575	271.487
Meksika	171.665	137.809	121.567	188.939
ABD	127.369	114.440	247.070	313.210
Kanada	123.000	83.500	75.200	95.600
Rusya	81.467	110.000	319.908	418.646
Toplam	12.810.047	10.457.911	10.712.449	14.167.224

Tablo 1.2 Dünya’da 2014–2017 yılları arasında nohut ekim alanları (ha) (FAOSTAT, 2019)

Ülkeler	2014	2015	2016	2017
Hindistan	9.927.000	8.251.000	8.399.000	9.539.000
Pakistan	949.513	942.673	940.000	971.000
Avustralya	507.800	424.800	677.444	1.069.000
İran	528.506	462.788	500.189	565.654
Myanmar	377.977	372.311	363.870	375.620
Türkiye	388.169	357.222	351.687	392.673
Rusya	80.987	100.000	357.945	457.051
Etiyopya	239.755	258.486	225.608	232.341
ABD	85.834	82.190	129.500	242.530
Tanzanya	121.971	115.925	117.217	116.338
Meksika	106.434	80.386	66.316	98.501
Malavi	90.077	61.675	45.642	2.218
Toplam	13.404.023	11.509.456	12.174.418	14.061.926

Tablo 1.3 Türkiye’de nohutun ekim alanı, üretimi ve verimliliği (TÜİK, 2019)

Bölgeler	Ekim Alanı (ha)	Üretim (t)	Verim (t/ha)
İç Anadolu Bölgesi	153.402	185	15,2
Akdeniz Bölgesi	85.120	105	11,9
Ege Bölgesi	68.161	72	8,4
Güneydoğu Anadolu Bölgesi	34.560	51	12,4
Karadeniz Bölgesi	14.843	18	12,4
Marmara Bölgesi	12.768	19	15,0
Doğu Anadolu Bölgesi	6.657	8	13,6

Tablo 1.4 Nohut üretimi yapılan iller ve ortalama üretim miktarları (TÜİK, 2019)

İller	Üretim (t)
Antalya	32.698
Kırşehir	31.494
Konya	31.391
Uşak	30.842
Mersin	28.846
Karaman	27.835
Ankara	25.594
Yozgat	23.976
Kütahya	19.964
Adıyaman	16.836
Isparta	16.611
Balıkesir	12.846
Diyarbakır	11.393
Gaziantep	10.586
Kırıkkale	10.405
Kahramanmaraş	10.271

1.2. Nohutta Hastalıklara Neden Olan Bazı Abiyotik ve Biyotik Stres Faktörleri

Dünyada ekim alanı ve üretim açısından diğer baklagillerle birlikte büyük bir paya sahip olan nohutun verim düzeyinin düşük olduğu saptanmıştır. Nohut, 2014-2017 yılları arasında dünya genelinde diğer baklagillere göre sırasıyla soya fasulyesi, bakla, bezelye, fiğ, acı bakla ve mercimekten sonra ortalama 0,95 t/ha verimlilik ile yedinci sırada bulunmaktadır. Türkiye’de ise ortalama 1,2 t/ha verimlilik ile sırasıyla soya fasulyesi, bezelye, fasulye, bakla ve kırmızı mercimekten sonra altıncı sırada yer almaktadır (FAOSTAT, 2019; TÜİK, 2019). Aynı yıllarda 55 ülkede 13 milyon hektar alanda 12,5 milyon ton nohut üretimi gerçekleştirilmiştir (FAOSTAT, 2019). Bu değerli tarımsal ürünün verimini ve verim stabilitesini azaltan biyotik ve abiyotik stres koşulları, nohut verimliliğindeki ilerlemelerin az olmasına neden olmuştur (Millan vd., 2006).

Biyotik ve abiyotik stres şartları, dünyanın birçok yerinde tarımsal ürün verimliliğini sınırladığından farklı tarımsal alanlarda verim bakımından önemli farklılıklar gözlemlenebilmektedir. Bu bitki, çoğunlukla yağmur ve sulama suyu eksikliği görülen kurak ve yarı kurak bölgelerde küçük çiftçiler tarafından yetiştirilmektedir (Bejiga ve Anbessa, 1994).

Abiyotik stres koşulları arasında bulunan kuraklık ve sıcaklık stresi, üründe verim kayıplarının yaklaşık %50'sini oluşturmaktadır. Nohut ağırlıklı olarak bir önceki yağmur mevsimi boyunca depolanan su sayesinde toprak nemini kullanarak büyüme mevsimi boyunca çok az yağışlı ya da hiç yağmur almayan bir ürün olarak yetiştirilmektedir. Toprak nemi daha derin toprak katmanlarında bulunduğundan kapsül doldurma ve tohum geliştirmenin kritik aşamasında ürün terminal kuraklık olarak adlandırılan nem eksikliğini yaşamaktadır (Gaur vd., 2008). Bakla doldurma aşamasında oluşan terminal kuraklık stresi nohutta yaygın olarak verimi düşürmekte (Leport vd., 2006) ve üretim yapılan alanların %80'inden fazlasında üretimi büyük oranda kısıtlamaktadır (Gaur vd., 2014).

30°C'nin üzerindeki sıcaklıklar nohutta çiçeklenme başlangıcını ve tane verimini düzenlemektedir (Summerfield vd., 1984). Reprodüktif aşamadaki sıcaklık stresi (>35°C), ekim yoğunluğuna bağlı olarak nohut ekim alanının artmasından ve iklim değişikliği nedeniyle sıcaklıklardaki genel artıştan dolayı nohut verimliliğine etki eden ciddi bir sorun haline gelmektedir (Wang vd., 2006; Gaur vd., 2012). Ayrıca yüksek sıcaklık kök nodülasyonunu ve azot fiksasyonunu etkileyebilmektedir (Saxena vd., 1988).

Soğukluk stresi ile ilişkili olarak bitkinin geç vejetatif aşamasında fide aşamasına göre soğuğa karşı daha fazla hassasiyet gösterdiği belirlenmiştir (Singh vd., 1984). Nohut bitkileri çimlenmeden çiçeklenmeye doğru soğuğa karşı daha az tolerans göstermektedir (Wery, 1990). Ayrıca kışın ekilen nohutun geleneksel olarak ekilen bahar nohutuna göre bazı avantajları olduğundan soğuğa karşı dayanıklı nohut çeşitlerinin gerekliliği ortaya çıkmaktadır (Singh vd., 1994). Diğer baklagillerle karşılaştırıldığında, nohut ısıya ve kuraklığa karşı daha dayanıklı olup dünyanın dört bir yanındaki kurak ve yarı kurak bölgelerdeki ürün yetiştirme sistemlerinde düşük girdili bir ürün olarak kabul edilmektedir (Saxena ve Singh, 1987).

Tarım ürünlerinin maruz kaldığı hava ve toprak kökenli bazı hastalıklar ciddi epidemilere neden olabilmektedir. Küresel nohut üretimi abiyotik stres koşullarının yanı sıra fungal, bakteriyel ve viral hastalıklardan, nematodlardan, böcek zararlılarından ve parazit yabancı otlardan olumsuz etkilenmektedir (Nene, 1985). Yaklaşık 172 fitopatojen nohut bitkisinde hastalık meydana getirmekte ve tane üretimini sınırlamaktadır (Jiménez-Díaz vd., 2015).

Nohuttaki en önemli fungal hastalıkların *Ascochyta* yanıklığı, *Fusarium* solgunluğu, *Botrytis* gri küf hastalığı, *Phytophthora* kök çürüklüğü, kuru kök çürüklüğü, *Sclerotinia* gövde çürüklüğü ve pas olduğu bildirilmiştir (Singh vd., 2003 a, b; Ahmad vd., 2005; Knights vd., 2008; Jiménez-Díaz vd., 2015). Toprak kökenli patojenler çökerten hastalığı/kök çürüklüğü, vasküler solgunluk ve gövde solgunluğu olarak 3 ana başlıkta değerlendirilmektedir (Infantino vd., 2006). Bu hastalıkların baklagil üretimindeki etkisi büyük ölçüde çevresel koşullara bağlı olmaktadır. *Aphanomyces euteiches*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* spp. ve *Verticillium* spp. Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika enlemlerinde olduğu gibi nemli ve daha serin iklimlerde etkili olmaktadır (Kraft ve Pflieger, 2001; Vandemark vd., 2006; Chen vd., 2011).

Aksine, *Fusarium* spp. ve *Macrophomina phaseolina* genellikle ılık ve kuru şartlarda hastalığa neden olmaktadır (Chaudhary vd., 2006; Afouda vd., 2009). Bu hastalığın görülme sıklığı su sıkıntısı bulunan ve sıkıştırılmış topraklarda artmaktadır (Chaudhary vd., 2006). Bu hastalıkların yoğunluğunu artıracak iklim değişiklikleri nedeniyle toprak kaynaklı patojenlerin olumsuz etkisinin yakın gelecekte artması beklenmektedir (Rubiales vd., 2015). Nohutta verimliliği ve bitki kalitesini düşüren bu hastalıklardan dolayı birçok ülkede nohut üretimi talep edilen miktarın altında kalmaktadır (Mazur vd., 2004).

Akdeniz Bölgesi'nde, geleneksel olarak ilkbaharda ekilen nohut, büyüme periyodu kurak yaz mevsiminde olduğundan yağışların azlığından dolayı ürünün biyokütlesi düşmektedir (Kanouni vd., 2011). Vejetatif büyüme periyodunu uzatan kışlık ekim ise tohum verimini yaklaşık 2 t/ha arttırmaktadır (Singh ve Reddy, 1996). Kışın düşük sıcaklık nohutun fide büyümesini sınırlamasına rağmen ilkbaharda sıcaklıklar arttığında fideler de hızlı bir büyüme aşamasına girmektedir (Siddique vd., 1999; O'Toole vd., 2001). Uygun iklimsel koşullar altında yaprak alanının hızlı gelişimi bitkiye daha fazla fotosentez olanağı sağladığından tohum veriminde artış sağlanabilmektedir (Leport vd., 1999). Bitki boyu, bitki başına düşen dal ve baklaların artması ile artan biyokütle veriminin tohum verimi ile pozitif yönde ilişkili olduğu belirlenmiştir (Singh vd., 1990). Dolayısıyla bu ürünün ülkemizin güney illerinde kışlık olarak; iç ile kuzey kesimlerinde ise erken ilkbaharda ekilmesinin uygun olduğu belirlenmiştir (Üstün ve Gülümser, 2003).

Nohutta *Fusarium* solgunluğu için optimum sıcaklık derecesi 20-30°C olduğundan (Sugha vd., 1994b; Landa vd., 2001) bu mevsimde solgunluk da görülebilmektedir. Sıcaklık, hastalığın başlangıç zamanının esas belirleyicisi olarak görülmekte olup hastalık sıcaklık arttıkça ve yağış azaldıkça daha hızlı ilerlemektedir. Hastalık gelişmeye başladığında ise yağışın hastalığın ilerlemesini artıran en önemli faktör olduğu belirlenmiştir (Landa vd., 2004b). Hindistan (Gupta vd., 1987), Kaliforniya (Westerlund vd., 1974) ve İspanya'da (Landa vd., 2004b) *Fusarium* solgunluğunun şiddetindeki yıllık değişim sıcaklık ve toprak nemindeki farklılıklara bağlanmaktadır. Laboratuvar çalışmaları artan toprak sıcaklığının ve patojenin inokulum yoğunluğunun *Fusarium* solgunluk şiddeti ile pozitif olarak ilişkili olduğunu göstermiştir (Bhatti ve Kraft, 1992a; Navas-Cortés vd., 2000a; Landa vd., 2001).

Akdeniz kışlarının serin ve yağışlı geçmesi fungal hastalıkların meydana gelmesine neden olduğu için kışlık ekim çiftçiler tarafından pek benimsenmemektedir. *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. (Teleomorph, *Didymella rabiei* Kov. v. Arx.) fungal patojeninin neden olduğu *Ascochyta* yanıklık hastalığı, Cezayir ve diğer Akdeniz ülkelerindeki nohut tarlalarını etkileyen en önemli hastalık olarak bilinmektedir (Singh ve Reddy, 1990). *A. rabiei* patojeni bitkinin toprak üstü kısımlarını enfekte etmekte ve semptomlar ürün oluştuktan sonra herhangi bir zamanda da görülebilmektedir. *Ascochyta* yanıklık hastalığı ilk olarak koyu kenarlı kahverengi lezyonlara dönüşen yapraklar, gövdeler veya baklaların üzerinde gri alanlar olarak görünmektedir. Hastalık ilerledikçe, lezyonların merkezinde küçük, dairesel, kahverengi-siyah piknidya gelişmektedir. Konsantrik piknidya halkası hastalığın tanısında en karakteristik bulgu olarak bilinmektedir (Markell vd., 2008).

Soğuk ve nemli koşullar (15-25°C sıcaklık, %65-100 bağıl nem) normal olarak hastalık gelişimini desteklemekte ve hastalığın yayılmasını sağlamaktadır. Hastalık, tohum kalitesini önemli ölçüde düşürebilmektedir ve ağır enfeksiyon altında ciddi verim kayıpları kaydedilmiştir (Pande vd., 2005). Nohutta fungal hastalıklar içerisinde *Ascochyta* yanıklığının ve *Fusarium* solgunluğunun en çok tahrip oluşturan iki önemli hastalık olduğu belirlenmiştir (Hamid vd., 2001).

Botrytis cinerea Pers. patojeninin neden olduğu *Botrytis* gri küf hastalığı da nohutta ciddi hasarlara neden olan önemli bir hastalık olarak bildirilmiştir (Pande vd., 2006 a, b).

Botrytis gri küf, bitki gelişiminin herhangi bir aşamasında nohut bitkisinde enfeksiyona neden olabilmektedir (Hawthorne vd., 2012). Ancak hastalık genellikle gölgelikli, havanın sıcak ve nemli olduğu zamanlarda ve çiçeklenme aşamasında görülmektedir (20-30°C sıcaklık, %70-100 bağıl nem). Çiçekler bitkinin diğer kısımlarına göre daha kolay enfekte olmaktadır (Grewal vd., 1992; Haware ve McDonald, 1992; Haware, 1998; Bakr vd., 2002; Pande vd., 2006 a, b). Bitki baklalarını da enfekte eden patojen, enfekte tohumla bir sonraki sezona taşınabilmektedir (Nene vd., 2012; Matthews vd., 2014). Bağıl nemin, yaprak ıslaklığının ve sıcaklığın hastalık gelişiminde önemli faktörler olduğu bildirilmiştir (Tripathi ve Rathi, 1992; Butler, 1993; Pande vd., 2002, 2006 a, b).

Güçlü fide büyümesi, erken gölge oluşumu ve erken çiçeklenmeye sahip nohut genotiplerinin diğer çeşitlere göre *Botrytis gri* küfü geliştirmeye daha yatkın olduğu görülmüştür (Nene vd., 2012; Matthews vd., 2014). Uygun koşullar altında, *Botrytis gri* küf hızla gelişerek yayılabilmekte ve ciddi verim kayıplarına neden olabilmektedir (Reddy vd., 1988; Pande vd., 2002).

Uromyces ciceris-arietini (Grogon) Jacz. & Boyer patojeninin neden olduğu nohut pası her yıl ciddi hasarlara neden olmaktadır. Bu hastalık Akdeniz Bölgesi, Güney Afrika, Meksika, Avustralya, İtalya ve ABD’de nohut üretimini olumsuz yönde etkilemektedir (Ragazzi, 1982; Jones, 1983; Díaz-Franco ve Pérez-García, 1995; Sillero vd., 2006; Rubiales vd., 2011).

Serin ve nemli hava koşulları pas oluşumunu desteklemektedir. Semptomlar ilk önce yapraklarda küçük, yuvarlak veya oval, kahverengi, tozlu gibi püstüller olarak görülmektedir. Bazen, hem yaprak yüzeylerinde hem de daha sıklıkla alt tarafta bulunan daha büyük püstüllerin etrafında bir küçük püstül halkası görülebilmektedir. Ürün ciddi şekilde enfekte ise gövde üzerinde püstüller görülebilmekte ve bitkiler erken kurumaktadır (Li vd., 2015).

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) De Bary fungal patojeninin neden olduğu *Sclerotinia* gövde çürüklüğü, Avustralya (Bretag ve Mebalds, 1987; Fuhlbohm vd., 2003), Kanada (Hilton, 2000), Şili, Hindistan, İran, Fas, Suriye (Haware, 1990), ABD’de (Matheron ve Porchas, 2000; Chen vd., 2006) ve başka tarımsal alanlarda nohutta önemli bir hastalık olarak kaydedilmiştir (Haware, 1990; Boland ve Hall, 1994).

Sclerotinia minor ve *S. trifoliorum* Avustralya (Bretag ve Mebalds, 1987; Fuhlbohm vd., 2003) ve ABD'den (Matheron ve Porchas, 2000; Njambere vd., 2008) rapor edilmiştir. Aşırı vejetatif büyüme, yüksek toprak nemi ve serin hava (20°C) hastalığı desteklemektedir. Tarladaki hastalık semptomları bitkinin dallarında ve gövde içinde beyazımsı veya kahverengimsi miselyal zincirlerin bulunması şeklinde görülmektedir (Nene vd., 2012). Bitkinin dalları yeşilken sararmakta veya dökülmekte ve daha sonra kuruyarak saman rengine dönmektedir. Enfeksiyonlar tipik olarak tarlada uniform olmayıp klorotik veya kurumuş dallar şeklinde olmakta ya da tüm bitkiler dağılmış halde bulunmaktadır (Li vd., 2015).

Oomiset bir patojen olan *Phytophthora medicaginis*'in neden olduğu Phytophthora kök çürüklüğü (Irwin ve Dale, 1982) ABD'de yoncadan sonra sıkça nohut bitkilerinde görülmüştür. Bu hastalık Avustralya'da özellikle çatlamış killi topraklarda yaygın olarak bulunmaktadır. Hastalık bitkinin herhangi bir büyüme aşamasında gerçekleştiğinden tohum çürümesine, tohum oluşumu öncesi ve sonrası çökerten hastalığına, alt yaprakların dökülmesine ve sararmasına, solgunluğa ve yaşlı bitkilerin ölümüne neden olmaktadır (Moore vd., 2011). Düşük sıcaklıklar ve nemli toprak koşulları Phytophthora kök çürüklüğü semptomlarını bazen geciktirebilmesine rağmen elverişli ortamlarda ve hassas çeşitlerde *P. medicaginis* üründe yaklaşık %85'lik verim kaybına neden olabilmektedir (Moore vd., 2015).

Rhizoctonia bataticola Taub (Butler) patojeninin neden olduğu nohutta kuru kök çürüklüğü sıcak ve kurak iklim koşullarında, özellikle Etiyopya'nın yarı kurak tropiklerinde ve Hindistan'daki nohut yetiştirilen alanların çoğunda ciddi bir hastalık olarak görülmektedir (Ali ve Kumar, 2001; Chen, 2011). Hastalık genellikle çiçeklenme ve kapsül oluşum aşamasında gözlemlenmesine rağmen (Li vd., 2015) bazen bitkinin herhangi bir gelişim aşamasında da etkili olabilmektedir (Aghakhani ve Dubey, 2009). Kuru kök çürüklüğünün ilk semptomları sararma ve bitkilerin ani kuruması şeklinde olup petiyollerin ve yaprakçıkların dökülmesi bitkinin üst kısmı ile sınırlı olmaktadır. Bazen bitkinin geri kalanı kuruduğunda, yapraklar klorotik olarak görülmektedir. Kazık kökler kuru toprakta koyu kahverengi bir renge dönüşmekte ve oldukça kırılgan bir hale gelmektedir, daha sonra bitkide yanal köklerin kaybıyla sonuçlanan geniş çürüme gözlemlenmektedir. Kazık kökün alt kısmı, bitki sökülürken genellikle toprakta kalmaktadır (Li vd., 2015).

Rhizoctonia, bitki kalıntıları üzerinde, miselyum ve sklerotya olarak toprakta yaşamaktadır. Çiçeklenme ve kapsüllenme aşamasında yüksek gündüz sıcaklıkları (25-30°C) ve kuru toprak koşulları hastalığın şiddetini artırmaktadır (Gurha vd., 2003).

Pythium ultimum ve *Rhizoctonia solani* çiçeklenme öncesi ve sonrasında fide çökerten hastalığına ve küçük köklerin ölmesine neden olmaktadır. Su rejiminin stres oluşturduğu alanlarda yetiştirilen nohut bitkisinde *Macrophomina phaseolina* farklı kök lezyonlarının oluşumunu sağlamaktadır (Westerlund vd., 1974).

1.3. Nohutta Fusarium Solgunluk ve Sararma Hastalığı

Fusarium türleri doğada yaygın olarak bulunmakta ve birçok kültür bitkisinin hastalık etiolojisinde önemli bir rol oynamaktadır (Parađiković vd., 2000; Ćosić vd., 2004). Booth (1971), *Fusarium oxysporum*'u kozmopolit, toprak kaynaklı filamentli bir fungus olarak tanımlamıştır. Konukçusu tarımsal ürünler ve süs bitkileri olan bu fungal patojenin geniş bir yelpazede, bitki türlerinde solgunluk hastalıklarına neden olan çeşitli patojenik izolatları içeren anamorfik bir tür olduğu belirlenmiştir. Bu tür, bitki rizosferindeki fungal toplulukların bir parçası olarak kabul edilmektedir (Gordon ve Martyn, 1997). Çoğu *F. oxysporum* türü saprofitik olup toprakta ve birçok bitki türünün rizosferindeki organik madde üzerinde uzun süre hayatta kalabilmektedir (Garrett, 1970). Bazıları farklı bitki türlerine patojenik olup köklere nüfuz edip vasküler sistemi istila ederek kök çürüklüğüne neden olmaktadır. Birçoğu vasküler sistemi istila etmeden veya hastalığa neden olmadan köklerde bulunabilmektedir (Olivain ve Alabouvette, 1997). Pek çok *F. oxysporum* türü patojenik veya endofitik olup biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilmektedir (Fravel vd., 2003; Alabouvette vd., 2009; Aimé vd., 2013). Bu nedenle patojenik ve patojenik olmayan izolatlar arasındaki ayrımın çok önemli olduğu belirtilmektedir (Wang vd., 2013). *F. oxysporum* formae speciales ve ırklarının ayrımı, emek ve zaman isteyen patojenisite tabanlı testlerle rutin olarak gerçekleştirilmektedir (Recorbet vd., 2003; Lievens vd., 2007; Covey vd., 2014). Bu nedenle daha hızlı tanı sağlayan moleküler tespit yöntemlerinin kullanılması gerekmektedir. Ayrıca tüm genom sekanslamasının gelecekte daha kolay markır tasarımı ve karşılaştırması sağlayacağı belirtilmiştir (Van Dam vd., 2018).

Patojenik olan *Fusarium* türleri bitkilerde ya doğrudan köklere etki ederek ya da penetrasyon ve enfeksiyon için bitki dokusundaki yaralardan giriş yapıp kortikal dokuları enfekte ederek kök çürüklüğü ve bazal çürüklük hastalıklarına yol açmaktadır (MacHardy ve Beckmann, 1981; Nelson, 1981; Summerell ve Rugg, 1992; Fravel vd., 2003; Agrios, 2005). Patojenisite ve semptom indüksiyon mekanizmaları çok az anlaşılmış olan bu fungusun genel hastalık semptomlarının vasküler kahverengileşme, yaprak epinastisi, bodurlaşma, aşamalı solgunluk, yaprak dökümü ve bitki ölümleri olduğu belirlenmiştir (Agrios, 2005). Ayrıca *Fusarium* cinsi morfolojik, fizyolojik ve ekolojik özelliklere göre biyoçeşitlilik sergilediğinden dünyada geniş bir ekolojik alanda bulunmaktadır. Yüksek düzeydeki bu biyoçeşitlilik, bu taksonun stabil taksonomik değerlendirilmesini zorlaştırmıştır (Burgess vd., 1996).

F. oxysporum'un genetik çeşitliliği bir kuşaktan diğerine aktarılan mutasyon birikiminden kaynaklanmaktadır (Jiménez-Gasco vd., 2004a). Genellikle konukçusuna spesifik olan *F. oxysporum* türü, formae speciales içinde alt bölümlerine ayrılmıştır (Snyder ve Hansen, 1940). Örneğin, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* domateste ve *F. oxysporum* f. sp. *cubense* muzda hastalık oluşturmaktadır. *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* gibi bazı formae speciales'lerde gen bakımından virülensliklerine göre belirli çeşit konukçuya spesifik olan patojenik ırkların mevcut olduğu belirlenmiştir (Armstrong ve Armstrong, 1981; Fravel vd., 2003). *F. oxysporum*, konukçu türüne göre sınıflandırılan 150'ye yakın farklı formae speciales içermektedir (Baayen vd., 2000). Bu formae speciales'lerin semptomatoloji, epidemiyoloji ve çeşit duyarlılığı farklı olup uygun konukçu üzerinde patojenisite testi gerçekleştirilerek ayrımı yapılabilmektedir (Vakalounakis ve Fragkiadakis, 1999). Bazı formae speciales'ler aynı konukçu bitkiyi paylaşarak enfeksiyonlar meydana getirmektedir (Nomura, 1992). Sırasıyla salatalık ve domateste, *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* ve *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* farklı bitki familyalarının konukçuları üzerinde kök ve gövde çürüklüğü neden olmaktadır. Bu olgular, her formae speciales'te genetik çeşitlilik olduğunu, konukçu bitkilerin genetik açıdan yakından ilişkili olduğunu ve patojenisite ile benzer özellikleri paylaştığını göstermektedir (Kim vd., 1993). Bazı formae speciales'ler bir ırka evrimleşmiştir (monofiletik) (Baayen vd., 2000), diğerleri ise çoklu ve bağımsız ırklara dönüşmüştür (polifiletik) (O'Donnell vd., 1998).

Pamukta solgunluk hastalığına neden olan *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'un polifiletik ırklara sahip olduğu belirlenmiştir (Skovgaard vd., 2001). *F. oxysporum* formae speciales'lerin çoğunun polifiletik olmasının aksine (Baayen vd., 2000; O'Donnell vd., 1998), *Fusarium* solgunluk etmeni patojeninin geniş patotipik değişkenliğine rağmen translasyon uzama faktörü 1- α (TEF1- α) geninin dizilerini kullanarak *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in filogenetik analizi bu formae speciales'lerin monofiletik olduğunu göstermiştir (Jiménez-Gasco vd., 2002; Demers vd., 2014).

Fusarium oxysporum f. sp. *ciceris* (Padwick) Synd. & Hans fitopatogeninin neden olduğu *Fusarium* solgunluğu dünyanın birçok nohut yetiştirme alanlarında ürünün verimliliğini ciddi bir şekilde sınırlamaktadır. Bu hastalık ilk olarak Hindistan'dan rapor edilmiştir ve daha sonra Burma, Kaliforniya (ABD), Etiyopya, Malavi, Meksika, Pakistan, Peru, Tunus, Türkiye ve Rusya'dan da bildirilmiştir (Jiménez-Díaz vd., 2015). Nohutta *Fusarium* solgunluğu ilk kez Butler (1918) tarafından Hindistan'dan bildirilmiştir (Chand ve Khirbat, 2009). McKerrall (1923) bu *Fusarium* hastalığın toprak kaynaklı olduğunu öne sürmüştür. Narasimhan (1929), McRae (1932) ve Prasad ve Padwick (1939) de bu hastalığın *Fusarium* türlerinden kaynaklandığını bildirmiştir. Dastur (1935), *Rhizoctonia bataticola* fungusunun bitkilerde solgunluğa neden olduğunu gözlemlemiş ve hastalığa "Rhizoctonia solgunluğu" adını vermiştir. Prasad ve Padwick (1939) solgunluk semptomlarına sahip nohut bitkilerinden hastalık etmeninin patojen izolasyonunu gerçekleştirmiş ve patojenisite testleri yapmıştır. İzole edilen *Fusarium* türlerini *Elegans* bölümünde ve *Orthoceras* alt bölümünde sınıflandırmıştır. Padwick (1940), patojeni önce *Fusarium orthoceras* Appel & Wollenw. var. *ciceri* olarak adlandırmıştır. Erwin ve Snyder (1958) *F. lateritium* f. sp. *ciceri*'yi solgunluk etmeni olarak bildirmiş ve patojen için *F. orthoceras* var. *ciceri* adını sorgulamıştır. Son olarak nohutta (*Cicer arietinum* L.) solgunluğa ve sararmaya neden olan patojen *Fusarium oxysporum* Schlecht. emend. Snyd. and Hans. f. sp. *ciceri* (Padwick) olarak Snyder ve Hansen (1940) ve Chattopadhyay ve Sen Gupta (1967) tarafından yeniden adlandırılmıştır ve böylece hastalık ilk kez rapor edilmiştir. Bu değişiklik Booth (1971) tarafından kabul edilmiştir.

1.3.1. Epidemiyolojisi

Fusarium solgunluğu, *Ascochyta* yanıklık hastalığından sonra nohutta verimliliği kısıtlayan önemli fungal hastalıklardan biri olarak bilinmektedir (Haware vd., 1978; Nene ve Reddy, 1987; Castro vd., 2010). *Fusarium* solgunluğundan dolayı nohutta yıllık verim kayıpları %10-15 arasında değişmektedir (Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz, 1985; Jalali ve Chand, 1992; Dubey vd., 2007). Kuzey Hindistan ve Pakistan'da solgunluktan kaynaklanan kayıplar bazı yıllarda %70'e kadar çıktığı bildirilmiştir (Gopalakrishnan ve Strange, 2005).

Tunus'ta nohutta *Fusarium* solgunluğuna dayalı ciddi verim kayıpları bildirilmiştir (Halila ve Strange, 1996). Türkiye'de de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in nohutta *Fusarium* solgunluğuna neden olduğu (Soran, 1977; Şehirali vd., 1995; Dolar, 1995; Demirci vd., 1998, 1999; Bayraktar ve Dolar, 2009) ve bu fungal hastalık etmeninin farklı virülenslik seviyelerine sahip olduğu bildirilmiştir (Bayraktar vd., 2008; Bayraktar ve Dolar, 2012).

Fungisidal ve kültürel uygulamalar ile konukçu-bitki dayanıklılığının kullanımı ile hastalık kontrol edilebilmektedir (Singh ve Reddy, 1991). Tohum ve toprak kökenli olan *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, hassas konukçunun yokluğunda fakültatif saprofit olarak bitki kalıntılarında 6 yıldan fazla canlılığını sürdürmektedir (Haware vd., 1992; Stevenson vd., 1995). Fungus alkali topraklarda 5 yıldan fazla yaşayabilmektedir (Saxena ve Singh, 1987). Bu gibi patojenler için kimyasal kontrol ekonomik olmamakta ve kimyasallar yeraltı suyu kirliliğine, hedef dışı faydalı flora kaybına ve gelişen fungisidal direnç varyantlarına neden olabilmektedir (Sen, 2000).

Sararma veya solgunluğa neden olup olmama durumlarına göre *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatları ikiye ayrılmaktadır. Vasküler enfeksiyonun bir sonucu olarak meydana gelen her iki hastalıktan sorumlu iki patotip, farklı nohut hatlarında farklı patojenisite dereceleri göstermektedir (Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz, 1985; Jiménez-Díaz vd., 1989b). Irk ayırıcı 10 farklı nohut genotipi kullanılarak gerçekleştirilen patojenisite çalışmaları ile bugüne kadar sekiz ırk (ırk 0, 1A, 1B/C, 2, 3, 4, 5 ve 6) tanımlanmıştır (Haware ve Nene, 1982b; Jiménez-Gasco ve Jiménez-Díaz, 2003) (Tablo 1.5). *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in bu patojenik ırkları farklı coğrafi dağılım göstermektedir (Haware ve Nene, 1982a).

İrk 0 Türkiye, Tunus, Etiyopya, İspanya, Kaliforniya, Meksika, Suriye, Lübnan, İsrail ve Irak'tan; ırk 1A Hindistan, İspanya, Kaliforniya, İsrail ve Fas'dan; ırk 1B/C Türkiye, Kaliforniya, Meksika, Suriye, Tunus ve Irak'tan; ırk 2 ve 3 Türkiye, Etiyopya ve Hindistan'dan; ırk 4 Hindistan, Etiyopya ve Irak'tan; ırk 5 Kaliforniya, İspanya, Meksika, Fas ve Irak'tan; ırk 6 Kaliforniya, İspanya, Meksika, İsrail ve Fas'dan rapor edilmiştir (Haware ve Nene, 1982a; Phillips, 1988; Cabrera vd., 1989; Jiménez-Díaz vd., 1989b, 1993; Halila ve Strange, 1996; Dolar, 1997; Rahman vd., 1998; Jiménez-Gasco vd., 2001; Shehabu vd., 2008; Arvayo-Ortiz vd., 2011; Bayraktar ve Dolar, 2012; Al-Taae vd., 2013).

Tablo 1.5 Irkların belirlenmesinde kullanılan nohut genotipleri ve reaksiyonları
(Haware ve Nene, 1982a; Jiménez-Gasco ve Jiménez-Díaz, 2003)

Genotipler	Patojenik Irklar							
	0	1A	1B/C	2	3	4	5	6
JG-62	D	H	H	H	H	H	H	H
C-104	O	O	D/O	H	H	H	H	O
JG-74	D	D	D	H	D	D	O	D
CPS-1	D	D	D	H	O	O	O	D
BG-212	D	D	D	H	O	O	D	D
WR-315	D	D	D	D	H	D	D	D
ANNIGERI	-	D	-	H	H	H	-	D
CHAFA	-	H	-	H	O	H	-	D
L-550	-	H	-	H	O	H	-	H/O
850-3/27	-	-	-	O	O	O	-	D

(D: Dayanıklı [0.0-1.0], O: Orta derecede dayanıklı [1.1-3.0] ve H: Hassas [3.1-4.0])

Buddenhagen vd. (1988) aynı bölgeden izole edilen *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının en az iki patojenik gruba ayrılabilceği ve bunların ırklar yerine patojenisite gruplarına bölünebileceği sonucuna varmıştır. Belirli bir ırk olarak tanımlanabilen izolatlar arasında bazı fenotipik farklılıklar ortaya çıktığından, izolatların patojenisite veya ırk gruplarına ayrılmalarının gerekli olduğu belirlenmiştir (Jiménez-Díaz vd., 1993). Daha sonra Güney İspanya'dan izole edilen *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarında sararma ve solgunluk semptomlarını indükleyen iki grubun olduğu görülmüştür *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, vasküler enfeksiyonları indükleyerek nohut hatlarında farklı patojenisite dereceleri sergilemektedir (Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz, 1985; Jiménez-Díaz vd., 1989b).

Solgunluğa neden olan ırklar (1A, 2, 3, 4, 5 ve 6) inokülasyondan sonra 20 gün içinde vasküler solgunluk ile şiddetli klorozisi ve gevşekliği takiben bitki ölümüne neden olmaktadır. Sararmaya neden olan ırklar (0 ve 1B/C) inokülasyondan sonra 40 gün içinde vasküler solgunluk ile ilerleyen yaprak klorozisini takiben bitki ölümüne neden olmaktadır (Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz, 1985).

İrk 0'nın Akdeniz Havzası'nda geniş bir yayılım gösterdiği, yaprakta sararma semptomlarına neden olduğu ve virülensliğinin ise diğer ırklara göre daha düşük olduğu belirlenerek kabuli çeşidinde sınırlı bir patojenisitesi olduğu saptanmıştır (Jiménez-Díaz ve Trapero-Casas, 1990). İrk-spesifik olduğu düşünülen sararma ve solgunluk sendromları ile ilişkili olarak her iki semptom türünün tek bir ırktan kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Sararma sendromuna neden olduğu düşünülen ırk 0, belirgin bir yaprak sararmasına neden olmadan inokülasyondan sonraki 30 gün içinde *C. reticulatum* bitkilerinde solgunluğa neden olmuştur (Tekeoglu vd., 2000). İrklarla ilişkili olarak genomun büyük bir kısmının duplikasyona uğraması, patojenisite ve virülenslikle ilişkili genlerin olası kopyalarının oluşmasına ve bu ırkların virülensliklerinin artmasına neden olabilmektedir (Demers vd., 2014) ve ırk 2, 3, ve 4'ün en virulent ırklar olarak bilinmektedir (Jiménez-Gasco vd., 2004b). Türkiye'nin ise 8 ilinden ırk 0, 2 ve 3 rapor edilmiştir (Bayraktar ve Dolar, 2012).

1.3.2. Sınıflandırılması

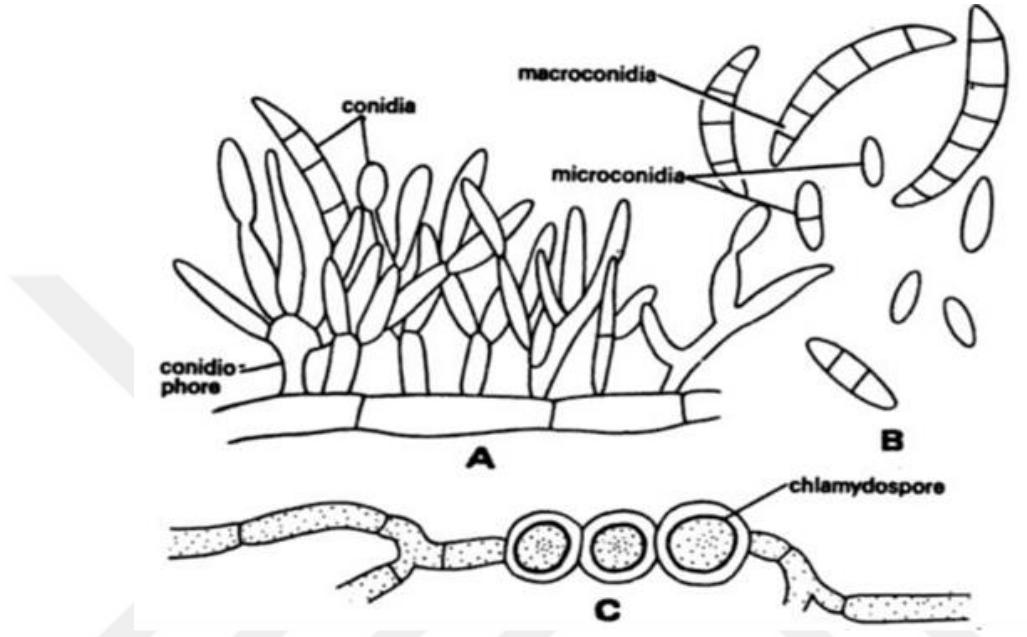
MycoBank'a göre *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*'in sınıflandırılması şu şekildedir (Mycobank, 2020):

Âlem: Fungi
Şube: Ascomycota
Alt Sınıf: Ascomycetes
Sınıf: Sordariomycetidae
Takım: Hypocreales
Familiya: Nectriaceae
Cins: *Fusarium*
Tür: *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr.

Formae speciales: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* Matuo & K. Sato

1.3.3. Biyolojisi

Fusarium türlerinin taksonomisi, makrokonidilerin şekli ve büyüklüğü, klamidosporların varlığı/yokluğu, koloni rengi ve konidiyofor yapısı gibi anamorfun morfolojik özelliklerine göre yapılandırılmıştır (Windels, 1992) (Şekil 1.2).



Şekil 1.2 *Fusarium* spp., (A) konidiyofor, (B) mikrokonidiler ve makrokonidiler, (C) klamidospor (Sharma, 2004)

F. oxysporum PDA besiyerinde renk bakımından değişkenlik göstermektedir (Groenewald vd., 2006); kültürde gelişirken başlangıçta renksiz-soluk sarı miselyum üretmekte ve bu miselyum daha sonra pembe veya mor renklere dönüşmektedir (Di Pietro vd., 2003). Fungal koloniler PDA besiyerinde beyaz-açık turuncu renklere ve tamamen havai miselyumla kaplı sporodoşya üretmektedir (Singh ve Gangwar, 2017). Havai miselyum beyaz olup izolata bağlı olarak menekşe renginden koyu mor renklerine kadar çeşitli renklere olabilmektedir. Besiyeri, ışık ve sıcaklık gibi koşullar pigment üretimine neden olabilmektedir (Rodrigues ve Menezes, 2005). Fungusun miselyal büyümesi için sıcaklık aralığının 7,5-35°C ve pH aralığının 4,0-9,4 ve optimal sıcaklık ve pH koşullarının ise sırasıyla 25-27,5°C ve 5,1-5,9 olduğu belirlenmiştir. Sporulasyon için optimum pH aralığının 7,1-7,9 olduğu belirlenmiştir. Verilen sıcaklık değerleri *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in sararma izolatlarında solgunluğa göre daha yüksek bir oranda gerçekleşmektedir (Duro Almazan, 2000).

F. oxysporum'un aseksüel sporları mikrokonidiler, makrokonidiler ve klamidosporlardır. Genellikle dallanmış konidiyoforlar üzerinde bulunan ve kültürde havai miselyumda üretilen makrokonidiler kalın duvarlı ve orak şeklinde olup genellikle 2-5 septalıdır. Mikrokonidiler böbrek şeklinde olup bir septuma sahiptir veya semptom bulunmamaktadır. Mikrokonidilerin ve makrokonidilerin konidiyogenezisi fiyalidiktir. Bazipetal bölünme ile fiyalidler mikrokonidileri oluşturmaktadır. Klamidosporlar, sferikal (küre şeklinde) olup yaklaşık 7-16 mikron çapına ulaşmaktadır. Klamidospor yapıları konidilerde ve hiflerde terminal veya interkalar biçimde şekillenmektedir. Kalın duvarlı klamidosporlar, hiflerde ya da konidilerde üretilmekte ve bitkideki solgunluğun son aşamalarında ölü konukçu dokusunda ve eski kültürlerde oluşmaktadır (Nelson, 1981; Smith, 2007). Ovoid mikrokonidi ve iğ şeklindeki makrokonidileri olan *F. oxysporum*'un bazen tek veya iki hücreli klamidosporları terminal veya interkalar pozisyonunda oluşmaktadır (Van der Maesen, 1972). *Fusarium* türlerinin hücre duvarı α -1, 3-glukan, β -1, 3-glukan, glikoprotein tabakaları ve kitin içermektedir (Schoffelmeyer vd., 1999; Grün, 2003).

Fungus klamidospor formunda tohum ekseninde ve enfekte tohumunun kotiledonlarının hilum bölgesinde bulunmaktadır (Haware ve Nene, 1980; Haware, 1982). Bitkide ağır semptomlar geliştikçe ve bitki yaşlandıkça enfekte dokularda bol miktarda klamidospor oluşmaktadır. Sonra bu klamidosporlar toprağa salınmaktadır. Organik kalıntı ve kök salgıları nedeniyle fungusun sınırlı saprofitik büyümesi, klamidosporları yenilenme siklusuna dahil edebilmektedir (Haware, 1982). Besiyerinde su azaldığında *F. oxysporum*'un klamidospor sayısının artması klamidosporun dayanıklı spor işlevine işaret etmektedir (Martinez vd., 1996).

Kısa ömürlü fungal konidilerin aksine klamidosporlar bir sonraki sezona kadar canlı kalabilmektedir. Bitkinin köklerinde ve gövdesinde hayatta kalabilen patojen, fungal inokulum barındıran hastalıklı bitkiler arasında yetişen sağlıklı görünen bitkilerde varlığını devam ettirmektedir (Padwick, 1941). Klamidosporlar 15 cm toprak derinliğinde dahi enfekte nohut köklerinde yüksek sıcaklıkta yaşayabilmektedir. Fungus toprak yüzeyindeki köklerde yaşayamamaktadır (Sharma ve Gupta, 1987).

Toprak kökenli fitopatojenlerin neden olduğu hastalıkların oluşumunu yönlendiren kök salgıları (Haichar vd., 2014), konukçu bitkinin varlığında miselyum büyümesine ve klamidosporların çimlenmesine izin vermektedir (Mendgen vd., 1995).

Fungus konukçu bitkinin yokluğunda kladidospor formunda kışlamaktadır (Agrios, 2005). Tarla bitkilerindeki kladidosporların *F. oxysporum*'un esas olarak hayatta kalma yapıları olduğu bilinmektedir (Akhter vd., 2016). Keten bitkisinde *F. oxysporum* f. sp. *lini*, fasulyede *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* ve domateste *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* patojenlerinin mikrokonidilerine kıyasla kladidosporlarının daha şiddetli hastalık geliştirdiği rapor edilmiştir (Couteaudier ve Alabouvette, 1990; Silva-Muniz vd., 1991; De-Cal vd., 1997). Sadece bu patojenlerde değil diğer ürün bitkilerinde de kladidosporların daha enfeksiyöz olduğu belirtilmektedir (Akhter vd., 2016).

Ayrıca fungusun olumsuz sıcaklık ve pH koşullarında hayatta kalabildiği görülmüştür. Toprak pH değişiklikleri, alkalik eksprese edilmiş genlerin aktivasyonunu ve asit eksprese edilmiş genlerin inhibasyonunu sağlayarak fungal büyüme, gelişme ve patojeniteyi etkilemektedir. Bitki köklerinden salgılanan fitoaleksinler ve flavonoidler, fungal sporların çimlenmesini engelleyebilmektedir (Agrios, 2005).

Fusarium toprakta az miktarda miselyum parçalarıyla yayılmaktadır. Sporlar ve sklerotyumlar toprak suyuyla, tarım ekipmanlarıyla, bitki transplantasyonlarıyla, yumrularla, bazı konukçu tohumlarıyla, enfekte bitki parçaları ile ve bazen de rüzgârda dağılan sporlar ve sklerotyumlarla taşınabilmektedir (Smith, 2007). Sporlar sıçrama şeklinde dağılabilir, yağmur suyu sıçramaları ve hareketli su, kladidosporları ve konidileri çevredeki bitkilere ve bitişik tarlalara kısa mesafede taşıyabilmektedir. Patojen enfekte olmuş tohumlarla ve kontamine hasat ekipmanlarında büyük mesafelere taşınabilmekte ve enfekte olmuş yeni tohumlarda dış semptomlar görülmeyebilmektedir. Rüzgârla savrulan bitki kalıntıları hasadı takiben patojeni yakın mesafelere yayabilmektedir (Pande vd., 2007).

F. oxysporum f. sp. *ciceris*'in sadece *Cicer* türlerinde hastalık meydana getirdiği (Nene ve Haware, 1980) ve sadece *Cicer* türlerinde patojenik özellik gösterdiği bilinmektedir (Haware ve Nene, 1982b). Fakat bezelye (*Pisum sativum* L.), güvercin bezelyesi (*Cajanus cajan* (L.) Huth) ve mercimeğin (*Lens culinaris* Medik.) köklerinde de kolonize olabilmektedir. Bu üç ürün grubu, patojenin semptomsuz taşıyıcıları olarak tanımlanmıştır (Haware ve Nene, 1982b; Gupta, 1991).

Ayrıca maş fasulyesi (*Vigna radiata* (L.) Wilczek ve *V. mungo* L.) türleri de hastalığın semptomsuz taşıyıcıları olarak bildirilmiştir. Patojen ayrıca *Amaranthus viridis* L. (yeşil horozibiği), *Hibiscus panduriformis* Burm. f., *Phyllanthus niruri* L. (amla), *Cyperus rotundus* L. (topalak), *Tribulus terrestris* L. (demir diken), *Convolvulus arvensis* L. (tarla sarmaşığı) ve *Cardiospermum halicacabum* L. (balon otu) gibi bazı yabancı otlarda da bulunabilmektedir (Nene, 1979).

Fusarium solgunluğu, nohutun yetiştiği daha yüksek enlemlere (30-40°N) göre büyüme mevsimi nispeten daha kuru ve daha sıcak olan düşük enlemlerde (0-30°N) daha yaygın olarak bulunmaktadır. Vejetatif ve reproduktif aşamada meydana gelen hastalık, ürün veriminde ciddi kayıplara neden olmaktadır (Haware, 1990; Halila ve Strange, 1996; Navas-Cortés vd., 2000b). Toprakta bitki köklerinde enfeksiyon yapan fungusların epidemiyolojisinin oldukça kompleks olduğu bildirilmiştir. İnokulum yoğunluğu, patotip, bitki yaşı, konukçu dayanıklılığı gibi faktörler ve genetik potansiyeli, hava ve toprak sıcaklığı, toprak nemi, toprak besin maddeleri ve bitki yoğunluğu solgunluk gelişimini etkileyebilmektedir (Haware vd., 1990). Hastalık yoğunluğunun da pH değerinin düşmesiyle birlikte arttığı bildirilmiştir (Gupta vd., 1986). Ayrıca, 15-35°C’de gerçekleştirilen saksı denemeleri 25°C’de maksimum hastalık insidansını ortaya çıkarmıştır (Barve, 2003). Nohut tarlalarındaki solgunluk insidansı her yıl önemli ölçüde artmaktadır ve şiddet derecesinin doğrudan topraktaki patojen inokulumunun artan yoğunluğu ile ilgili olduğu tespit edilmiştir (Bhatti ve Kraft, 1992a; Sugha vd., 1994a; Zote vd., 1996). Ayrıca ekim amacıyla kullanılan sağlıklı tohumlar ile karıştırılan enfekte tohumlar toprakta patojen yoğunluğunun artmasına neden olmaktadır (Pande vd., 2007). Birçok fungusun saprofitik olarak besin elde etmek yerine canlı bitkilere saldırabilme yeteneği geliştirdiği saptanmıştır. Fungal invazyon konukçu bitkinin immün sistemi ile etkileşime giren efektör moleküller tarafından kolaylaştırılmaktadır (Kamoun, 2007; Stergiopoulos ve De Wit, 2009).

Fusarium da dâhil bazı fungal cinslerde efektör moleküllerin üretimini kodlayan genler saprofitik büyüme için gerekli olmayan kromozomal bölgeler üzerinde bulunmaktadır. Bu genler nesiller boyunca korunan “kor” kromozomların aksine, “şartlı olarak dağılabilir kromozomlar” (CDC’ler, B kromozomlar veya mini kromozomlar) olarak bilinmektedir (Ma vd., 2010; Mehrabi vd., 2011).

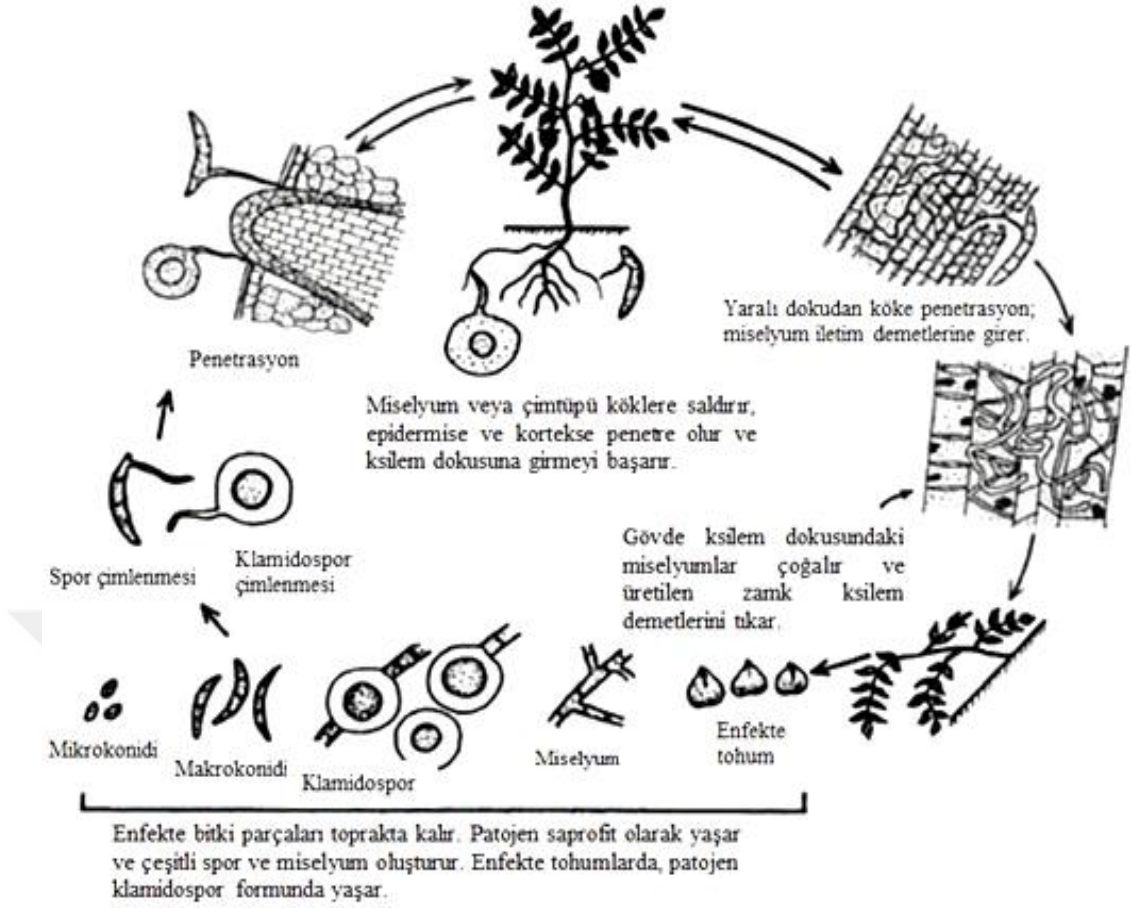
Patojenisite ve konukçu spesifitesinde rol oynayan genleri kodlayan dağılabilir genomik bölgeler *Fusarium* izolatlarında tanımlanmıştır (Miao vd., 1991; Covert vd., 1996; Coleman vd., 2009; Ma vd., 2010; Schmidt vd., 2015). CDC'lerin patojenisite ile konukçu aralığı tanımlamasında önemli roller oynadığı bulunmuştur (Balesdent vd., 2013). Diğer funguslarda olduğu gibi, *Fusarium* da bitki ve hayvanlara göre küçük kromozomlara sahiptir ve ışık mikroskopisi kromozom sayısının kesin olarak belirlenmesinde veya karyotiplleme için yeterli olmamaktadır (Taga vd., 1998).

1.3.4. Hastalık Döngüsü

Çoğu *Fusarium* türü saprotrofik yaşam döngüsüne sahiptir. Aseksüel bir tür olan *F. oxysporum* Deuteromycotina alt bölümünde sınıflandırılmaktadır (Nelson vd., 1983). *F. oxysporum*'un telemorfu veya seksüel üreme aşaması bilinmemektedir (Leslie ve Summerell, 2006). Bazı *Fusarium* türleri için seksüel üreme (telemorflar) aşaması tanımlanmış ve bilinen tüm *Fusarium* telemorfları, Ascomycota Hypocreales takımına (Samuels vd., 2001) dahil edilmiştir, bu telemorflar birkaç farklı cinse ayrılmıştır (örneğin, *Gibberella* ve *Nectria*) (Puhalla, 1981; Samuels vd., 2001).

F. oxysporum f. sp. *ciceris* bitki gelişiminin ilk evrelerinde, fide, çiçeklenme ve bakla oluşturma aşamalarında enfeksiyon oluşturmaktadır (Grewal, 1969). Eğer nohut ani sıcaklık artışına ve su stresine maruz kalırsa hastalık çiçeklenme ve bakla aşamasında daha sık görülmektedir (Chaudhry vd., 2007). Tarlada hassas çeşitlerde ekimden sonra 25 gün içinde solgunluk semptomları gözlemlenebilmektedir (Haware, 1990; Hamid vd., 2001; Chavan vd., 2009).

Bitkinin rizosfer mikroflorasında bulunan (Fravel vd., 2003) *F. oxysporum* patojeni, bitkinin kök kısmından giriş yapıp gövde içerisinde yukarı doğru ilerleyerek bitkide gevşeklik ve yaprak sararması gibi genel hastalık semptomlarını oluşumunu sağlamaktadır (Westerlund vd., 1974; Nene, 1980). Şekil 1.3'te görüldüğü gibi klamidospor ve konidyal yapılar primer enfeksiyonu gerçekleştirmektedir (Haware, 1990). Patojen ile enfeksiyonun primer bölgesi olan yeni kök uçları, kök büyüdükçe sürekli olarak geliştiğinden hastalıklar için koşullar uygun olduğunda başarılı enfeksiyonların olasılığını artırmaktadır (Schroth ve Becker, 1990; Landa vd., 2001).



Şekil 1.3 *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*'in hastalık döngüsü (Jalali ve Chand, 1992)

Bir solgunluk hastalığında semptomların gelişmesi için iki koşulun gerekli olduğu görülmüştür: Fungusun ilk önce konukçu bitkinin vasküler sistemine girmesi ve vasküler sistemde kolonize olmaya yoğun bir şekilde devam etmesi gerekmektedir (Talboys, 1964). Bitkinin vasküler sistemine kök yoluyla giren fungus (Haware vd., 1986; Brayford, 1998; Leslie ve Summerell, 2006), bitkiye ya doğrudan ya da nematod veya böcek larvaları tarafından oluşturulan yaralardan dolayı giriş yapabilmektedir (Sambamurty, 2013). Rizosferde bulunan fungus epidermise doğru ilerleyebilmek için kök sistemine saldırmakta ve sonunda daha ileriye yayılmasını sağlayacak ksilem dokusuna giriş yapmaktadır (Murumkar ve Chavan, 1985). En yaygın penetrasyon bölgesi kök ucu veya kök ucuna yakın kısımlardır. Ancak nohutta esas olarak kotiledonlar vasıtasıyla gerçekleşen penetrasyon daha az oranda uzama ve olgunlaşma bölgesinde meydana gelmektedir (Jiménez-Díaz vd., 1989a). İnvazyon çoğunlukla kotiledonların kavşak noktasında veya yakınında ve epikotil hipokotil bölgelerinde daha az ölçüde ise kök uzama ve olgunlaşma bölgesinde meydana gelmektedir (Jiménez-Díaz vd., 1989a; Stevenson vd., 1997).

Hidroponik kültürlerde yapılan çalışmalar, 0 ve 5 ırklarının hassas ve dayanıklı çeşitlerde patojenin kazık ve yan köklerin yüzeyinde kolonize olduğunu ve tercihen kök apeksinin meristematik hücrelerine nüfuz ettiğini göstermiştir (Jiménez-Fernández vd., 2013). Korteks içinden hücreler arası bir yol izleyen miselyum ksilem damarlarına girerek su ve minerallerin ilerlemesini engellemekte ve solgunluk tüm bitkiye yayılmaktadır (Murumkar ve Chavan, 1985). Hifler sünger doku, ksilem ve kortekste hücre içinde ve hücreler arasında bulunmaktadır. Epidermisin parçalanması sonucu kortikal ve sünger doku hücrelerinde hipertrofi gerçekleşmektedir (Kunwar vd., 1989). Patojen, önce miselyumun dallandığı ve mikrokonidi ürettiği ksilem damarlarıyla sınırlı kalmaktadır (Haware vd., 1992). Mikrokonidiler vasküler sistemde yukarı doğru taşınarak bu noktada çimlenmektedir ve miselyum komşu damarın duvarına giriş yapmaktadır (Backman ve Turner, 1989). *F. oxysporum*, kök tüylerinin veya epidermal hücrelerin kök ucunun hemen arkasında veya uzama bölgesi içine nüfuz ederek hücreler arasına ve hücre içine doğru ilerlemektedir (MacHardy ve Beckmann, 1981). Endodermal ve perisiklik dokulara penetre olduktan sonra, ksilem dokusunda kolonize olmakta ve patojen buradan yukarıya doğru ilerlemeye devam etmektedir (Nelson, 1981).

F. oxysporum'un neden olduğu solgunlukta ya miselyum yoluyla su kanallarının (ksilem) mekanik olarak tıkanması şeklinde ya da hidrolitik enzimler içeren solgunluk toksinleri aracılığıyla hastalık ilerlemektedir (Singh vd., 2017). Hücreler arasında gelişen fungus, enfekte olmuş dokuların maserasyonuna ve kahverengileşmesine neden olan enzimleri salgılamaktadır (Agrios, 2005). Patojen tarafından üretilen hücre duvarı parçalayıcı enzimlerin oluşturduğu bitki taşıma sistemlerini bloke eden ve solmaya neden olan jeller konukçu hücre duvarlarını parçalamaktadır (Şekil 1.3). Pektik enzimler, solgunluk hastalıklarının patogeneğinde sıklıkla yer aldığından (Collmer ve Keen, 1986) bu enzimlerin üretiminin solgunluk patojenlerinin virülensliği ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Artès ve Tena, 1990).

Konukçu hücrelerin vasküler sisteminde koyu melanin pigment birikimi fenolik, polifenoloksidaz ve diğer enzim aktivitelerinde artışın bir göstergesi olarak görülmüştür (Green, 1981). Solgunluk durumu bitkide su sıkıntısı ve hormonal dengesizliklerden kaynaklanan bir durum gibi görülmektedir. Ancak bu su kıtlığı, dokuların yaralanmasına tepki olarak meydana gelmektedir (Beckman, 1987).

İç dokulardaki renk değişikliği köklerden bitkinin toprak üstü kısımlarına doğru ilerlemekte, yapraklarda solgunluk ve sararma ve nekroz oluşmaktadır (Brayford, 1998; Leslie ve Summerell, 2006). İlk olarak bitkinin alt kısmındaki yaşlı yapraklarda oluşan kloroz, üst kısımdaki genç yapraklara doğru ilerlemektedir (Haware vd., 1986; Brayford, 1998; Leslie ve Summerell, 2006). Daha sonra petiyol ve eksenler dökülmekte, tabandan yukarı doğru yapraklarda sararma, epinasti ve ardından da kuruma gerçekleşmektedir. Patojenin ksilem dokusuna yayılması sonucu vasküler demetlerin kahverengileşmesi, yanal köklerin kuruyup kaybolması, bitkinin genelinde biçimsiz dallanma ve solgunluk görülmektedir (Haware, 1990; Hamid vd., 2001; Chavan vd., 2009). *Fusarium* solgunluk hastalığından etkilenmiş nohut fideleri çökmekte ve donuk yeşil bir renk alarak zemine yığılmaktadırlar (Nene vd., 1991). Solgunluk hastalığından dolayı ölen bitkiler eğer dikkatli incelenmezse kök çürüklüğünden ölen bitkiler ile karıştırılabilmektedir. Etmen penetrasyonu takiben inkübasyon sürecinde iken veya sonrasında sağlıklı görülen bitkilerin kökleri aşağı doğru gövde bölgesinden enine kesildiğinde, iç dokularda kahverengi renk değişikliği görülmektedir (Haware, 1990). Dolayısıyla hastalık, sararan petiyol ve yaprakların dökülmesiyle ve gövde enine kesildiğinde ksilemde fungal hiflerin kolonizasyonu sonucu meydana gelen kahverengi renk değişikliğiyle teşhis edilmektedir (Kumar vd., 1995).

Hastalıklı bitkilerden elde edilen tohumlar normal görünmektedir. Fakat sağlıklı bitkilerden elde edilen tohumlar ile kıyaslandığında genellikle daha küçük, ağırlıkça hafif, pürüzlü-buruşuk bir yüzeye sahip olup mat renkli bir görünüme sahiptir. Hastalıklı bitkilerden toplanan normal görünümlü bir tohum da patojeni barındırabilmektedir. Hastalıklı ve sağlıklı tohumlar karıştırıldığında etmen yeni alanlara taşınabilmekte ve toprakta hastalık oluşumunun temellerini atmaktadır. Böylece hastalısız alanlara doğru hastalık yaygınlaşmaktadır (Pande vd., 2007). İnfekte olmuş tohumlardan geliştirilen bitkiler sağlıklı tohumlardan geliştirilen bitkilere göre daha hızlı solgunluk semptomları göstermekte ve bu bitkilerde hastalık daha hızlı gelişmektedir. Dolayısıyla eğer toprakta yeterli inokulum mevcutsa 6 yıldan fazla ürün rotasyonu dışında hastalığı kontrol etmenin ve patojeni elimine etmenin zor olduğu bildirilmiştir (Haware ve Nene, 1982b; Gupta, 1991). Çünkü patojenin yaşam döngüsünde parazitik ve saprofitik faz bulunmaktadır (Backman ve Turner, 1989).

1.3.5. *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*'in ve Irklarının Karakterizasyonunda Kullanılan Moleküler Yöntemler

Bazı *Fusarium* türleri, konukçu-bitki spesifitesi gibi farklı fizyolojik karakterlere sahip izolatlardan oluşan türlere göre tanımlanmıştır (Suga ve Hyakumachi, 2004). Snyder ve Hansen (1940, 1941, 1945), tek bir tür içindeki konukçu özgülüğü çeşitliliğini “formae speciales” (f. sp.) sistemine entegre etmiştir; yani bir türdeki her formae speciales, belirli bir konukçu bitki türü veya tür grubu üzerinde virulent olmaktadır (Di Pietro vd., 2003). Yüksek seviyede konukçu özgünlüğü gösteren *F. oxysporum*'un (Armstrong ve Armstrong, 1981) formae speciales'lerini ve patojenik ırklarını patojenisite ve moleküler teknikler teşhis edebilmektedir (Lievens vd., 2012).

Formae speciales fungusun çeşitli bitki türlerinde; ırk ise tek bir bitki türünün çeşitlerinde patojenisite testi ile belirlenebilmektedir. Patojenisite analizlerinin kısmen yetersiz kaldığı bazı izolat koleksiyonlarının patojenik türlerini ve ırklarını moleküler araçlar tanımlayabilmektedir (Milgroom ve Fry, 1997). *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ırklarındaki DNA temelli çalışmalar çoğunlukla RAPD-PCR, mtDNA-RFLP (Kelly vd., 1994; Pérez-Artés vd., 1995; Jiménez-Gasco vd., 2001) ve mikrosatellit markırların kullanımı üzerinde odaklanmıştır (Barve vd., 2001). Patojenin ırklarının tespitini sağlayan RAPD markırları hastalığın epidemiyolojisi ve yönetiminde pratik uygulamalara sahiptir. RAPD verilerinin küme analizine göre sararma izolatları, ırk 0 ve 1B/C'ye karşılık gelen iki ayrı kümeye; solgunluk izolatları ise ırk 1A, 2, 3, 4, 5 ve 6'ya karşılık gelen tek bir kümeye yerleştirilmiştir. Patojenisite testlerinde aynı semptomu (sararma) indükleyen 0 ve 1B/C ırkları RAPD markerleri ile ayrılabilir (Jiménez-Gasco vd., 2001). RAPD tekniği (Welsh ve McClelland, 1990; Williams vd., 1990) kullanılarak gerçekleştirilen analizler diğer formae speciales'lerin ırk ayırımında kullanılmıştır (Grajal-Martín vd., 1993; Assigbetse vd., 1994; Bentley vd., 1994; Manulis vd., 1994; Migheli vd., 1998; Amaral vd., 2013). Amplifikasyonun varlığı veya yokluğu bantlar skor edilerek tanımlanmakta ve popülasyon genetik analiz programı ile değerlendirilerek, oluşturulan dendrogramda türlerin genetik yakınlıkları belirlenebilmektedir (Yeh vd., 1999; Açık, 2002).

İrklar arasındaki varyasyonları saptayan mikrosatellit markırlar ile ırk 1, 2, 3 ve 4'ün ayrımını yapılabilmektedir İrk 1 ve 4 genetik olarak ırk 2'den ziyade birbirine benzemekte olup ırk 3'ün ise farklı olduğu belirlenmiştir (Barve vd., 2001). Gen-spesifik markırlar özellikle ırk 4'ü başarılı bir şekilde tanımlamıştır (Gurjar vd., 2009). ITS-RFLP ve ITS dizilimi *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatları arasında yüksek derecede bir genetik değişkenlik göstermektedir (Dubey vd., 2010b).

Bazı patosistemlerde, örneğin *F. oxysporum*'un formae speciales türlerini belirlemeye yönelik patojenisite testleri ile ırkların belirlenmesi çalışmaları pahalı ve zaman alıcı (en az 40 gün) bir yöntem olup aynı zamanda yoğun laboratuvar iş gücü gerektirmektedir (Alcala-Jiménez vd., 1992; Recorbet vd., 2003).

Bazı *Fusarium* türlerini uzun süre kültüre almak patojenisite kaybına neden olabilmektedir (Nelson vd., 1983). Örneğin, tekrarlayan patojenisite testleri ve başlangıçta RAPD markırlarının bulunmamasından dolayı ırk 0 izolatu başlangıçta yanlış sınıflandırılmıştır (Kelly vd., 1994). Eşeysiz üreme ile çoğalan patojenlerde ırkları belirleyen genetik markırlar, patojenisite çalışmalarına göre daha bilgilendirici olmaktadır (Milgroom ve Fry, 1997). Bu nedenle moleküler yaklaşımlara dayanan, daha hızlı ve etkin yöntemler geliştirilmiştir (Baayen vd., 2000). *Fusarium* türlerinin genetik çeşitlilik ve filogeni çalışmalarında DNA temelli teknikler kullanılmaktadır (Baixia vd., 2009; Zhang vd., 2010). TEF-1 α sekansının ve mitokondrial küçük altbirim (mtSSU) ribozomal RNA genlerinin, türlerin ayrımında ve *F. oxysporum*'un orjininin belirlenmesinde (Baayen vd., 2000) ve *F. oxysporum* kompleksinin ayrımında β -tubulin bölgesinin sekansı etkili bir şekilde kullanılmaktadır (O'Donnell vd., 2004). *F. oxysporum*'un genetik çeşitliliği RFLP, RAPD, DNA parmak izi (Namiki vd., 1994; Benthly vd., 1998) ve rDNA sekansı (Zhang vd., 2013) gibi bir takım genetik markırlar kullanılarak belirlenebilmektedir. Bu prosedürler arasında, çeşitli polimorfizmlerin DNA seviyesinde taranmasında RFLP ve RAPD analizlerinin potansiyel olarak büyük bir avantaja sahip olduğu bilinmektedir (Lubeck ve Poulsen, 2001; Yli-Mattila vd., 2004).

AFLP paternleri (Sivaramakrishnan vd., 2002; Gurjar vd., 2009), transpozon bazlı tekrarlayan DNA bölgeleri (Jiménez-Gasco vd., 2004b) ve RAPD markırları (Kelly vd., 1994; Jiménez-Gasco vd., 2001) gibi polimorfik markırlar ile ırklar arasındaki farklılıklar gözlemlenmiştir (Jiménez-Gasco vd., 2004b).

F. oxysporum f. sp. *ciceris*'te patojenik ırkların nasıl geliştiğini anlamak için, sınırlı sayıda genomik DNA'nın çeşitli transpoze edilebilir elementlerle hibridizasyonu ile üretilen DNA parmak izlerinden bir filogeni çıkarılmıştır. Irkların virülensliğinin nohut ayırıcı çeşitlerine çıkarılan filogeniye haritalanması ırkların kademeli bir şekilde evrimleştiğini, her ırk diğerinden evrimleştiğini ve daha önce dayanıklı bir nohut çeşidinde hastalığa neden olma yeteneğini kazandığını göstermektedir (Jiménez-Gasco vd., 2004b). Bu hipotez kullanılan üç transpoze edilebilir elementin tüm *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ırklarında eşit olarak aktif olduğu varsayımıyla transpozonlara dayanan bir filogeniden oluşturulmuştur (Demers vd., 2014).

F. oxysporum'da en yaygın ve başarılı şekilde kullanılan sekans bazlı markırlar TEF geni (Baayen vd., 2000; Geiser vd., 2004; O'Donnell vd., 2009) ve IGS (O'Donnell vd., 2009; Balmas vd., 2010) gibi housekeeping genlerini içermektedir. Bununla birlikte ırk 0, 1A, 1B/C, 4, 5 ve 6'nın daha önce TEF, β -tubulin, histon 3, aktin ve kalmodulini kodlayan genler için aynı sekanslara sahip oldukları bulunmuştur (Jiménez-Gasco vd., 2002). Funguslarda tür ve popülasyon düzeyinde yaygın olarak kullanılan diğer markırlar mtDNA'ya dayanan markırların yanı sıra (Kistler vd., 1987; Jacobson ve Gordon, 1990; Cunnington, 2006) ribozomal ITS bölgesini içermektedir (Bruns vd., 1991). Bununla birlikte, ITS bölgesi, bazı izolatlarda hatalı çıkarımlara yol açabilecek ITS2 bölgesinin ortolog olmayan kopyalarının bulunması nedeniyle *F. oxysporum*'daki filogenetik çalışmalar için kullanılmaz olduğu bildirilmiştir (O'Donnell ve Cigelnik, 1997). ITS veya rDNA'nın intergenik boşluk bölgeleri ve TEF-1 α genleri gibi farklı genetik markırlar, *Fusarium* türlerinde evrimsel ilişkileri çözmek ve *Fusarium*'un tür düzeyinde farklılaşmasını incelemek için PCR-RFLP analizleri geliştirilmesini sağlamıştır (Gurjar vd., 2009). TEF-1 α geni (Stengleina vd., 2010) ve β -tubulin gen dizileri funguslarda filogenetik analiz için kullanılmıştır (Thon ve Royse, 1999).

Çeşitli *Fusarium* türlerinin değişkenliği ve tanımlanması için TEF-1 α gen bölgesi kullanılmıştır (Yli-Mattila vd., 2011). β -tubulin genlerinin filoğrafisi incelemelerde ve tür düzeyindeki karakterizasyonlarda potansiyel olarak faydalı olduğu belirlenmiştir (O'Donnell ve Cigelnik, 1997; Chung vd., 2008). β -tubulin sekanslarının filogenetik analizi, patojenin monofiletik orijine sahip olduğunu göstermiştir (Jiménez-Gasco vd., 2002).

F. oxysporum f. sp. *ciceris* ırkları arasında hücre duvarı degrade edici enzimler arasındaki aktivitenin değişmesi ile (Pérez-Artés ve Tena, 1990; Jorge vd., 2006) bu enzimleri kodlayan genler, *F. oxysporum*'un housekeeping genlerinden daha fazla polimorfizm gösterebilmektedir. Tekrarlanmayan sekanslardan daha hızlı oranda mutasyona uğrayan mikrosatellitler, daha yüksek çözünürlük sağlayabildiklerinden genetik markır olarak türler arası çeşitliliği incelenmesini sağlayabilmektedir (Henderson ve Petes, 1992). Ayrıca FOF1 ve FOR1 spesifik primerler kullanılarak *F. oxysporum* izolatlarının ayrımı sağlanabilmektedir (Zhang vd., 2013).

F. oxysporum f. sp. *ciceris* ırklarının tür içi filogenisine göre patojenin sekiz ırkı monofiletik bir soy oluşturmaktadır. ırklar kademeli evrimleşmiş ve virülenslik iki senaryoya göre kazanılmıştır (Jiménez-Gasco vd., 2004b). Birincisi, evrimsel açıdan solgunluğun atasının ırk 0 olduğu (sararma ırkı) ve ırk 1B/C'nin ırk 0'nın en yakın ırkı olması durumu olarak açıklanmaktadır. Tüm ırklar içinde en yüksek moleküler çeşitliliğe sahip olan ırk 0, Akdeniz Bölgesi'nin en yaygın ırkı olup ayırıcı ırk setiyle testlendiğinde patojenik etki göstermektedir. ırk 1A'nın tüm ırkların ortak atası olduğu hipotezi virülensliğin diğer bir kazanımını ifade etmektedir (Jiménez-Díaz ve Jiménez-Gasco, 2011).

F. oxysporum f. sp. *ciceris*'in ırkları arasında önemli fenotipik farklılıklar olmasına rağmen ırkların genetik çeşitliliğinin düşük olduğu belirlenmiştir (Demers vd., 2014). *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*'de olduğu gibi (Takken ve Rep, 2010) *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'te de virülenslik gen için gen sistemi tarafından yönetilmektedir (Ma vd., 2010).

Sonuç olarak, genomik araştırmalar birçok patojenin tespitinde etkin olarak kullanılabilmektedir. Yüksek verimli teknolojilerle *F. oxysporum*'u tarayan sistemlere fazla sayıda izolatın entegrasyonu mümkün olduğundan patojenlerin tanımlanmasının daha kolay bir iş haline geleceği varsayılmaktadır (Hannachi vd., 2016). Ancak, ürün bilgisi ile farklı formae speciales'lerin biyolojisinin anlaşılması ve bu teknolojinin hastalıkların ekolojisi ile birlikte kullanılması gerekmektedir. Solgunluk hastalığının önemli ürün bitkileri üzerindeki etkisini azaltmak için alınacak tedbire, ulusal kampanyalara veya özel hizmetlere ihtiyaç duyulmaktadır (Hannachi vd., 2016).

1.4. Vejetatif Uyum Grupları (VCG-Vegetative Compatibility Groups)

F. oxysporum patojenik ve patojenik olmayan izolatlara sahip olan kozmopolit bir toprak fungusudur (Gordon ve Martyn, 1997). İzolatları arasında geniş genetik çeşitliliğe sahip olan bu fungal tür, konukçu bitkilerinde solgunluk, sararma ve kök çürüklüğü gibi vasküler hastalıklara neden olduğundan ekonomik anlamda en önemli *Fusarium* türü olarak kabul edilmektedir. Ancak genel olarak dar bir konukçu aralığına sahip olan bu fitopatojen, konukçusu olduğu bitki üzerindeki spesifik patojenisitesi baz alınarak formae speciales içinde sınıflandırılmıştır (Armstrong ve Armstrong, 1981; Fourie vd., 2011). Patojenik ve patojenik olmayan izolatları birbirinden ayırmak için patojenisite testleri kullanılabilmektedir, hastalığa sebep oldukları bitki türlerine yani konukçu özgülüğüne göre formae speciales'lerine ve bazı bitki çeşidi setlerine göre ise ırklarına ayrılmaktadır (Fourie vd., 2011).

DNA sekans analizleri *F. oxysporum*'un farklı orijinler ihtiva ettiğini göstermiş ve 150'ye yakın formae speciales tanımlanmıştır (Baayen vd., 2000). *F. oxysporum*'un bu çeşitliliğinin çoğalma stratejisiyle ilgili olduğu belirlenmiştir. Çünkü doğal seleksiyonun üreme avantajı olan genotipleri tercih ettiği genel bir kanı olarak kabul edilmektedir (Ilić vd., 2013).

F. oxysporum formae speciales'leri semptomatoloji, epidemiyoloji ve çeşit hassasiyetine göre farklılıklar göstermekte ve uygun konukçularda patojenisite testleri ile ayırt edilebilmektedir. Ancak bu testler uzun sürmekte ve bazen yetersiz kalmaktadır (Vakalounakis ve Fragkiadakis, 1999).

Patojen popülasyonlarının genetik kompozisyonu hakkında bilgi sağlayan VCG analizleri ve AFLP markırları *F. oxysporum* izolatlarının ayırt edilmesinde kullanılabilmektedir (Puhalla, 1985; Leslie, 1993; McDonald, 1997; Vakalounakis ve Fragkiadakis, 1999; Martinez vd., 2004; Vakalounakis vd., 2004).

Formae speciales'lerin artması ile Puhalla (1985) tarafından açıklanan yaklaşım ve prosedür izlenerek gerçekleştirilen vejetatif uyumluluk gruplaması (VCG), *F. oxysporum* karakterizasyonunda oldukça önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir (Puhalla, 1985).

Heterokaryon uyumluluğu (vejetatif uyumluluk) genetik ve mikolojik çalışmalarda uzun bir geçmişe sahiptir (Leslie, 1993) ve *F. oxysporum* (Correll vd., 1986b) *F. moniliforme* (Puhalla ve Spieth, 1983), *F. graminearum* (Adams vd., 1987; Bowden ve Leslie, 1992), *F. poae* (Liu ve Sundheim, 1996), *F. proliferatum*, *F. subglutinans* ve *F. sporotrichioides* (Cullen vd., 1983) dahil birçok *Fusarium* türünde yaygın olarak bulunmaktadır (Satyaprasad vd., 2000; Gagkaeva vd., 2002). Bazı formae speciales'ler tek bir VCG'ye karşılık gelirken, diğerleri birkaç VCG içermektedir (Kistler vd., 1998). Katan (1999), 38 formae speciales için 59 VCG tanımlamıştır.

Vejetatif uyumluluk çalışmaları *F. oxysporum*'un patojenik (Leslie, 1993; Katan, 1999) ve patojenik olmayan izolatlarında etkin bir popülasyon taraması yapmaktadır (Correll vd., 1986b; Elias vd., 1991; Gordon ve Okamoto, 1991, 1992 a, b; Katan vd., 1994; Larkin vd., 1996; Steinberg vd., 1997). Vejetatif uyumluluk testleri aynı konukçu türünde patojenik ve patojenik olmayan popülasyonların ayrımında kullanılmıştır (Lori vd., 2007). Ayrıca vejetatif uyumluluk/uyumsuzluğun değerlendirilmesi sistemi kolay, hızlı ve ucuz olup eşleşme testlerinde makroskobik gözlemlerden yararlanılmaktadır (Krnjaja vd., 2013).

Aseksüel ve klonal olduğu düşünülen çoğu fungal türün rekombinant olduğu belirlenmiştir (Taylor vd., 1999b). Eşeyssel çoğalma gerçekleştirilmeyen birçok fungusun vejetatif hifleri haploid formda bulunmaktadır. Vejetatif aşamalarında bu funguslar paraseksüel döngü olarak bilinen hifsel füzyon, karyogami ve mitotik rekombinasyon ile çoğalmaktadırlar. Eşeyssel eşleşme sürecinde olduğu gibi mitotik rekombinasyonda da uygun bir partner bulmak paraseksüel döngü için önemlidir (Pál vd., 2007). Aseksüel bir tür olan *F. oxysporum*'un mutasyonlar yoluyla ve paraseksüel rekombinasyon süreci boyunca gelişmektedir (Kuhn vd., 1995) ve heterokaryon oluşumu ve paraseksüel çoğalma eşeyssel rekombinasyona kanıt olarak sunulmaktadır (Taylor vd., 1999b).

Eşeyssel uyumluluk, genellikle bir veya birkaç allel ile bir veya birkaç lokus tarafından kontrol edilmektedir. Vejetatif uyumluluk ise vejetatif uyumsuzluk lokusu (*vic* ya da *het* lokusu) olarak adlandırılan çoklu lokuslar ile ilişkili olup (Puhalla ve Spieth, 1985; Anagnostakis, 1987; Leslie, 1993) bu lokuslar genom boyunca yayılmıştır (Leslie, 1993). Genetik çeşitliliği bu lokuslar kontrol etmektedir (Anagnostakis, 1982).

Fusarium'un da ait olduğu telemorfik bir aşamayı temsil eden ve genetik sistemleri iyi karakterize edilen Ascomycetes sınıfında, vejetatif uyumluluk sistemi alellerin farklı lokuslarındaki etkilerinin bir sonucu olarak ortaya çıktığından bu çalışmalar önem arz etmektedir (Leslie, 1993). *Fusarium* türlerindeki eşleşme tipi (MAT1-1 ve MAT1-2) lokuslarının *vic* genleri ile ilişkisi bulunmadığından fungusun seksüel gelişiminin vejetatif uyumsuzluğun ifadesiyle ilişkili olmadığı saptanmıştır (Klein ve Correll, 2001). Aynı VCG'de bulunan izolatlar tüm *vic* lokuslarında aynı alleli taşımaktadırlar (Leslie, 1993; Klein ve Correll, 2001). Tek bir *vic* lokusundaki farklılık, stabil bir heterokaryon oluşumunu engelleyebilmektedir (Leslie vd., 1992).

Fusarium'da bilinen tüm *vic* genleri allelik formdadır (Gordon ve Okamoto, 1992b). *het* lokusundaki tek bir allelik ve allelik olmayan farklılık uyumsuzluk reaksiyonunu belirlemektedir (Leslie, 1993). *vic1*'deki alleller diğer *vic1* allelleri ile *vic2*'deki alleller diğer *vic2* allelleri ile etkileşime girmektedir. *vic1* ve *vic2* allelleri birbirleriyle etkileşmemektedir. İki hif başlangıç heterokaryotik hücreyi oluşturmak için füzyon yaptığında diğer nukleustaki *vic* alellerinin her bir nukleusu tarafından karşılıklı bir değerlendirme yapılmaktadır. Her iki nukleus da aynı *vic* allel kümelerine sahipse, heterokaryon stabil olmaktadır. *vic* lokusunun birindeki veya daha fazlasındaki alleller farklıysa heterokaryon geçici ve kararsız olduğundan başlangıçta oluşan heterokaryotik hücre ölmektedir (apoptoz) (Gordon ve Okamoto, 1992b). Apoptoz sürecinin iyi bir şekilde çalışılmamış veya henüz heterokaryon oluşum süreciyle tam olarak bağlantısı bulunmayan *vic* lokusları dışındaki birçok gene bağlı olabildiği vurgulanmaktadır (Leslie ve Summerell, 2006).

F. oxysporum'un vejetatif uyumluluk gruplaması patojenik ırklar (Ahn vd., 1998) ve genetik benzerlik ile ilişkilendirilmiştir (Jacobson ve Gordon, 1988; Elias ve Schneider, 1991). Yani VCG içindeki izolatların genetik olarak benzer olduğu (Correll vd., 1987b) ve ortak biyolojik, fizyolojik ve patolojik özellikleri paylaştığı bilinmektedir (Puhalla, 1985). Çünkü heterokaryon oluşumunu yönlendiren *het* ve *vic* lokuslarında aynı alelleri paylaşan *F. oxysporum* izolatlarında nuklear materyal değişimi sağlandığından bu izolatlar aynı uyum grubuna dahil olmaktadır (Puhalla, 1985; Correll, 1991; Leslie, 1993). Böylece her VCG, genetik olarak izole edilmiş bir popülasyonu temsil etmektedir (Di Primo vd., 2002).

Aynı VCG'deki *F. oxysporum*'un patojen izolatları daima TEF-1 α geni ve mtSSUrDNA genomları için benzer sekansı paylaşmaktadır (Baayen vd., 2000). IGS veya mtDNA analizleri, *F. oxysporum*'un VCG'lerinde yüksek genetik benzerlik olduğunu göstermiştir (Gordon ve Martyn, 1997). Vejetatif olarak uyumlu olan bir izolatın koloni büyüklüğü, antibiyotik üretimi, bitkiler tarafından üretilen toksik bir polisiklik amonyum iyonu olan sanguinarin duyarlılığı, virülenslik ve izozim desenleri gibi özelliklerinin benzer olduğu bildirilmiştir (Bosland ve Williams, 1987; Correll vd., 1987b). Örneğin, *F. oxysporum* f. sp. *albedinis* bir VCG'ye tekabül eden tek bir klonal soydan oluşmaktadır (Kistler, 1997) ve mtDNA haplotipi veya ana nükleer rDNA tekrarında RFLP bulunmamaktadır (Fernandez vd., 1995).

Puhalla (1985), *F. oxysporum* izolatları ile potasyum kloratlı (KClO₃) bir besiyerinde üretilen nitrat (NO₃) kullanmayan *nit* mutantları kullanarak uyumluluğu belirleyen etkili bir teknik geliştirmiştir. Vejetatif uyumluluk iki farklı izolattaki fungal hiflerin anastomoz yapması ve bu hiflerin stabil bir heterokaryon oluşumu için birleşmesi durumunu ifade etmekte ve uyumluluk grupları oksotrofik besinsel mutantlar arasında yapılan eşleşme deneyleriyle belirlenebilmektedir (Correll vd., 1986a; Leslie, 1993; Leslie ve Summerell, 2006).

nit mutantları tarafından stabil bir heterokaryonu oluşturan bu iki izolat vejetatif olarak uyumlu olmakta ve aynı vejetatif uyum grubunda bulunmaktadır. Böyle bir heterokaryon oluşumunu sağlayamayanlar vejetatif olarak uyumsuzdur ve farklı bir grupta bulunmaktadır (Leslie, 1993).

nit mutantları, kereviz köklerinde kolonize olan *F. oxysporum* f. sp. *apii* ırk 2'yi tanımlamak (Correll vd., 1986a), *F. oxysporum* f. sp. *pisi* ırklarını ayırt etmek (Correll vd., 1985) ve Crucifer'lerin patojenik *F. oxysporum* izolatlarını ayırt etmek için (Bosland ve Williams, 1987) VCG testlerinde kullanılmıştır. Böylece, bu testlerin *F. oxysporum*'un genetik çeşitliliğinin çalışılmasında güçlü bir araç olduğu kanıtlanmıştır (Correll vd., 1987b). *nit* mutantları *F. moniliformae* (Puhalla ve Spieth, 1983; Klittich vd., 1986), *F. udum* (Kiprop vd., 2002), *F. gramineum* (Chen vd., 2007), *A. flavus* (Papa, 1986), *Colletotrichum kahawae* (Gichuru vd., 2000), *Serpula lacrymas* (Kausrud, 2004) ve *Verticillium dahliae* (Dervis vd., 2009) gibi bazı fungal izolatlardan da elde edilebilmektedir.

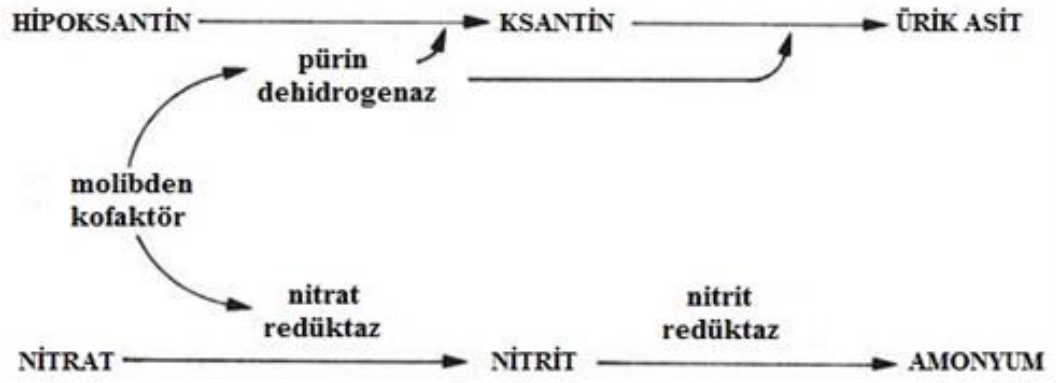
Tüm canlı organizmalar esas element olarak azot içeren makro moleküllerden oluşmaktadır. Büyüme ve gelişimde azotun katabolik yolları içeren metabolik makinede hücresel yatırım yapılmaktadır (Marzluf, 1981). Yaşam için gerekli bir molekül olan azot, nükleik asitlerin ve proteinlerin yapısında bulunmaktadır. Element formundaki azot (N_2) atmosferdeki en bol gaz olmasına rağmen sulu çözeltilerde amonyum iyonları (NH_4^+) olarak bulunmakta ve amonyağa (NH_3) indirgendikten sonra organizmalar tarafından kullanılabilir. Azotun indirgenmesi, Proteobakteri türleri (*Rhizobium* spp., *Azomonas* spp. ve *Azotobacter* spp.), Siyanobakteriler ve Aktinobakteriler (*Frankia* spp.) tarafından üretilen nitrojenaz enzimi tarafından katalizlenmektedir. Funguslar hücre zarındaki belirli bir transport sistemleri ile elde ettiği amonyumu aminoasit ve nükleik asit biyosentezinde kullanmaktadır. Bazı Proteobakteri türleri (*Nitrosomonas* spp. ve *Nitrobacter* spp.) tarafından amonyumdan oluşturulabilen nitrat bileşiği (NO_3^-), bir başka inorganik azot kaynağı olarak bilinmektedir. Funguslar çevresel ortamdan hifleri içine taşıdığı nitratı, nitrat redüktaz ve nitrit redüktaz enzimleri ile amonyuma indirgemektedir (Radford, 2004). Azot metabolizması ve regülasyonu *Neurospora crassa*, *Aspergillus nidulans* ve *Saccharomyces cerevisiae* fungusları üzerinde çalışılmıştır (Marzluf, 1981). Nitrat redüktaz, *nit1* tarafından kodlanan tek polipeptid holoenziminin oktameri olarak tanımlanmıştır. *nit1*'de mutasyon taşıyan izolatlar azot kaynağı olarak nitratı kullanamamakta yerine diğer nitrojenli bileşiklerini kullanabilmektedirler (Leslie ve Summerell, 2006). Basidiomycetes, Saprolegniaceae ve Blastocladales'lerde olduğu gibi bazı funguslar, nitrat redüktaz sentezlemeden nitratı kullanabilmektedir (Leslie, 1993).

Nitrat analogu olan kloratın (ClO_3^-) bakterilerde, alglerde, bitkilerde ve funguslarda nitrat asimilasyon çalışılmasında kullanışlı olduğu belirlenmiştir (Dunn-Coleman vd., 1984). Nitrat redüktaz ile kloratın (ClO_3^-) klorite (ClO_2^-) indirgenmesi bazı organizmalarda klorit toksisitesine yol açmaktadır. Klorata hassas izolatlar nitratı (NO_3^-) nitrite (NO_2^-) indirgeyebilmekte ancak klorata dayanıklı olanlarda (*nit* mutantları) nitrat redüktaz enziminin redüktazından sorumlu gen lokuslarında mutasyonlar gerçekleştiğinden bu reaksiyonu gerçekleştirememektedirler (Correll vd., 1987b; Liu ve Sundheim, 1996).

Klorat içeren FMM ve PDA besiyerinde kültüre alınan izolatlardan başlangıçta sınırlı büyüyen koloniden hızlı büyüyen ve şeffaf bir görünüme sahip olan sektörler görülmektedir. Sektörlerin FMM besiyerine transferini takiben inkübasyon sürecinden sonra yoğun miselyuma sahip olmayan ince ve yayılmış koloniler *nit* mutantları olarak belirlenmektedir (Puhalla, 1985; Correll vd., 1987b).

N. crassa ve *A. nidulans* funguslarının nitrat kullanım yolağı iyi karakterize edilmiştir (Şekil 1.4). Bu iki fungus nitrati amonyuma indirmek için nitrati nitrite dönüştüren nitrat redüktaza ve nitriti amonyuma indirgeyen nitrit redüktaza ihtiyaç duymaktadır. Nitrat asimilasyon sürecini kontrol eden *A. nidulans*'taki 11 genin ve *N. crassa*'daki 8 genin regülasyonunun oldukça kompleks olduğu bildirilmiştir (Cove, 1979; Marzluf vd., 1985). Bu funguslarda nitrat redüktaz ve nitrit redüktaz yapısal polipeptitleri tek bir gen tarafından kodlandığından nitrat asimilasyonu için gerekli olan genlerin aynı fonksiyona sahip olduğu görülmüştür. Her iki fungus da nitrat redüktaz kompleksinin bir parçası olan molibden içeren kofaktörün sentezi için birkaç gene ihtiyaç duymaktadır. Bu kofaktör pürin dehidrogenaz için de oldukça önemli olup (Leslie ve Summerell, 2006) pürin katabolizması yolağında, pürin dehidrogenazı hipoksantine hidroksiller. *A. nidulans* ve *N. crassa*'da bilinen iki düzenleyici lokus, nitrat asimilasyon yolağına özgü düzenleyici lokusun ürünü nitrat redüktaz ve nitrit redüktazın indüksiyonu kontrol etmektedir. Ortamda amonyum veya glutamin gibi nitrojen kaynağı mevcut olduğunda ikinci lokus olan majör nitrojen düzenleyici lokus, hem nitrat redüktaz hem de nitrit redüktazın sentezini baskılamaktadır (Cove, 1979; Marzluf vd., 1985).

Sektör oluşumuna gen ekspresyonunda değişime neden olan transpozonlar neden olmaktadır (Deacon, 2006). Funguslar klorat içeren besiyerlerinde geliştirildiğinde izolatlar arasında gerçekleşen yüksek frekanstaki spontan mutasyon sıklığı farklı transpozisyon hareketini yansıtmaktadır. Çoğu sektör nitrat metabolizmasında veya ilgili yollarda yapısal/düzenleyici lokuslarda genetik lezyonlar içeren mutantlar üretebilmektedir ve oluşan sektörlerin yabani tip ebeveynlerden morfolojik, virülenslik ve diğer özellikler bakımından farklı olduğu kanıtlanmış koloniler olduğu bilinmektedir (Marzluf, 1981; Klittich ve Leslie, 1988).



Şekil 1.4 *Aspergillus nidulans* ve *Neurospora crassa*'da nitrat kullanım yolu (Correll vd., 1987b)

F. oxysporum'dan elde edilen *nit* mutantları sodyum nitrat (NaNO_3), sodyum nitrit (NaNO_2), hipoksantin (HX), amonyum (NH_4) ve ürik asit ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$) gibi farklı nitrojen kaynağı içeren ayırıcı besiyerlerindeki fenotipine göre *nit1*, *nit3* ve NitM olarak üç fenotipik sınıfa ayrılmaktadır. Bu sınıflar nitrat redüktaz yapısal lokusundaki (*nit1*), nitrat asimilasyonu yoluna spesifik düzenleyici lokustaki (*nit3*), nitrat redüktaz aktivitesi için gerekli molibden içeren kofaktörün montajını etkileyen en az beş lokustaki (NitM) bir mutasyonu temsil etmektedir (Correll vd., 1987b). *Fusarium*'da nitrat redüktaz enziminin bir parçasını oluşturan molibden içeren kofaktörün bir parçasını kodlayan beş lokus (*nit2*, *nit4*, *nit5*, *nit6* ve *nit7*) bulunmaktadır. Bu beş lokusun tamamı aynı fenotipi gösterdiğinden NitM mutantları olarak adlandırılmaktadır. Bu kofaktör ayrıca pürin dehidrogenazının bir parçası olarak da işlev görmektedir. Eğer kofaktörün parçalarından biri değiştirilmişse, nitrat redüktaz veya pürin dehidrogenaz işlevini yerine getirememektedir. NitM mutantları, nitrat veya hipoksantini nitrojen kaynağı olarak kullanamadığından başka azotlu bileşikleri kullanmaktadır (Leslie ve Summerell, 2006).

Fusarium'da nitrat kullanımını etkileyen iki düzenleyici lokus bulunmaktadır. Birincisi, *Neurospora* ve *Aspergillus*'taki *nnu* lokusu global bir nitrojen regülatörü olarak tanımlanmıştır (Dickman ve Leslie, 1992). Bu regülatörü kodlayan gendeki mutasyonlar sonucu oluşan mutantlar potasyum klorat içeren besiyerinde geliştikten sonra klorata dirençli sektörler olarak geri kazanılmamaktadır. Bu regülatördeki proteinleri kodlayan genleri aktive eden pozitif düzenleyici proteinler birçok sekonder nitrojen kaynağını katabolizasyonunda ve asimilasyonunda kullanılmaktadır (Fu ve Marzluf, 1990; Wilson ve Arst, 1998).

nit3 lokusu tarafından kodlanan ikinci bir düzenleyici protein sadece nitrat kullanım yolağını etkileyen yolağa-spesifik bir regülatör olarak işlev görmektedir. *nit3* mutantları potasyum klorat içeren minimal besiyerlerinde geri kazanılabilmektedir. Bu mutantlar nitrat redüktaz ve nitrit redüktazı sentezlememekte ve nitrojen kaynakları olarak nitrat veya nitrit kullanmamaktadırlar. Klorata hassas olarak bilinen yabani tip izolatlar tüm azot kaynaklarını kullanabilmektedir. *nit1* mutantları nitrojen kaynağı olarak nitrat içeren besiyeri haricinde tüm besiyerlerinde; *nit3* mutantları nitrojen kaynağı olarak nitrat veya nitrit içerenler haricinde tüm besiyerlerinde; NitM mutantları, nitrojen kaynağı olarak nitrit veya amonyum içeren besiyerlerinde büyüebilmektedirler. Tablo 1.6’da verildiği gibi fenotipleri belirlenen bu mutantların eşleştirilmesi ile anastomoz oluşup oluşmama durumuna göre kendi aralarında vejetatif olarak uyumluluğu ya da uyumsuzluğu belirlenmektedir (Leslie ve Summerell, 2006). Bu işlemde aynı izolattan elde edilen tüm *nit* mutantları bu izolattan en az bir *nit1*, bir *nit3* ve bir NitM mutantları ile eşleştirilmektedir. *F. oxysporum* izolatlarının eşleşme testlerinde en güvenilir *nit* mutanı olan bir NitM mutantının test izolatı olarak muhafaza edilmesi ve diğer karakterize edilmemiş izolatların eşleştirilmesinde kullanılması gerekmektedir. Böylece *F. oxysporum* izolatlarında vejetatif uyumluluğun belirlenmesinde *nit* mutantlarını kullanan araştırmacıların her farklı grup için NitM test izolatı belirlemeleri gerektiği bildirilmiştir. Ayrıca aynı fenotipe ait bazı NitM mutantlarının da eşleştirilmesi gerekmektedir (Correll vd., 1987b). İzolatların bir VCG içinde belirlenmesinde farklı *nit* mutantlarının eşleştirilmesi ile işlem sona ermektedir (Leslie, 1993). Karakterize edilmemiş izolatın *nit* mutanı bilinen bir VCG’den elde edilen bir NitM mutant test izolatı ile eşleşme yaparsa bu izolat bilinen VCG’ye atanabilmektedir (Correll vd., 1987b).

Tablo 1.6 *Fusarium oxysporum*’un *nit* mutantları arasındaki eşleşme reaksiyonları
(Correll vd., 1987b)

Mutantlar	<i>nit1</i>	<i>nit3</i>	NitM
<i>nit1</i>	-/±	±/-	+
<i>nit3</i>	±/-	-	+
NitM	+	+	+/-
- = Eşleşme yok, + = Hızlı eşleşme, ± = Zayıf ve(ya) yavaş eşleşme			

nitA ve *nitB* mutantları (Correll vd., 1986a, 1986b; Puhalla, 1985) *F. oxysporum*'un test mutanı olarak kullanılmıştır. VCG testlemelerinde *nit* mutanı olduğu bilinen test mutantlarının kullanımında bazı problemler yaşanmıştır. Örneğin, alışılan *F. oxysporum* f. sp. *apii* ırk 2'nin *nit* mutantları, standart *F. oxysporum* f. sp. *apii* ırk 2 izolatından elde edilen *nitA* (*nit1*) ve *nitB* (*nit3*) test izolatlarıyla eşleşme sağlamamıştır (Correll vd., 1986a). *nitC* (NitM) olarak dizayn edilen üçüncü *nit* mutanı, *nitA* (*nit1*) ve *nitB* (*nit3*) ile kolaylıkla eşleşmiştir. Bir test izolatı NitM değilse yanıtıcı sonuçlar elde edilebilmektedir. *nit1* mutantları arasındaki eşleşme genellikle yavaş ve zayıf gerçekleşmekte NitM mutantlarında ise eşleşme reaksiyonları hızlı ve güçlü olup yoğun miselyum gelişmektedir (Correll vd., 1987b).

Eřleřme sürecinde farklı genotiplere ait iki haploid miselyum birleştiğinde iki haploid izolat ortak sitoplazma içinde mitotik olarak bir arada bulunmaktadır. Ortak sitoplazmalarında genetik olarak farklı çekirdekler içeren böyle bir hücre dizisine heterokaryon denilmektedir. Mitotik bölünme ile diploid çekirdeklerdeki homolog kromozomlar arasında rekombinasyon oluşabilmektedir. Bu nedenle paraseksüel sistem, genetik rekombinasyonun mayozdan farklı bir şekilde gerçekleştiği bir sistemdir (Muntanola-Cvetković, 1990). Mitotik rekombinasyon ilk olarak *A. nidulans*, *A. niger* ve *Penicillium chrysogenum* türlerinde tespit edilmiş (Muntanola-Cvetković, 1990) ve aseksüel funguslar arasında gerçekleştiği bildirilmiştir (Teřić ve Todorović, 1988). Heterokaryonların devamlılığı *het* veya *vic* lokusundaki genetik yapıya bağlı olmaktadır (Glass vd., 2000). Funguslardaki heterokaryon oluşumu somatik hücrelerin füzyonunun bir sonucu olarak gerçekleşmekte ve oksotrofik mutasyonların tamamlayıcılığı ile ortaya çıkmaktadır (Leslie ve Yamashiro, 1997).

F. oxysporum'da aynı izolatından elde edilen *nit* mutantlarından stabil heterokaryon oluşturamayanlar bir veya daha fazla *het* lokusunda farklı allelleri taşıdığından HSI (Heterokaryon Self Incompatibility, Heterokaryon Kendisiyle Uyumsuz); stabil heterokaryon oluşturabilenler ise HSC (Heterokaryon Self Compatibility, Heterokaryon Kendisiyle Uyumlu) olarak tanımlanmaktadır (Leslie, 1993). Eşleşme olmaması durumu bazı *nit* mutantlarında çift mutasyonun olmasından (Papa, 1986) veya izolatın anastomoz yapabilme yetersizliğinden kaynaklanmaktadır. *F. moniliforme*'de kalıtsal bir özellik olan HSI, tek bir nukleus geni tarafından kontrol edilmektedir (Correll vd., 1987a).

VCG testlemesindeki son adım farklı izolatların *nit* mutantlarını eşleştirmektir. Tüm mutantlar bu analizler sırasında aynı performansı gösteremediğinden uyumluluğu belirlemek için her izolatın iki veya daha fazla *nit* mutantı gerekmektedir. Bu amaçla farklı *nit* sınıflarındaki mutantlar eşleştirilmektedir. Kolonilerin besiyeri yüzeyinde bulunduğu yoğun miselyal büyüme hattı eşleşme olduğunu göstermektedir (Leslie ve Summerell, 2006).

Bir *formae speciales*'teki çoklu VCG'ler ve ırklar, mutasyon veya transpozisyon yoluyla bir kereden fazla gelişen virülenslik durumu ile veya paraseksüellik ya da yatay gen transferi yoluyla diğer izolatlara yayılma ile birden fazla bağımsız kökene sahip olabilmektedir (Baayen vd., 2000).

F. oxysporum'un *formae speciales*'lerinin ve fizyolojik ırkların filogenetik çalışmalarına göre (Fourie vd., 2009), tek bir ırk birden fazla VCG ile ilişkilendirilebilmekte veya bir VCG daha fazla ırk kapsayabilmektedir (Katan vd., 1993; Gordon ve Martyn, 1997). Bu nedenle bazı *formae speciales*'ler tek bir VCG (Katan vd., 1996; Tantaoui vd., 1996; Baayen vd., 1998; Chiocchetti vd., 1999) barındırırken, çoğu 10 veya daha fazla VCG içermektedir (Baayen vd., 2000). *F. oxysporum* f. sp. *niveum* (Larkin vd., 1990), *apii* (Correll vd., 1986b), *conglutinance* (Bosland ve Williams, 1987) ve *vasinfectum* (Katan ve Katan, 1988) az sayıda VCG'ye sahip olup doğrudan ırkla ilişki içindeyken *asparagi* (Elmer ve Stephens, 1989), *cubense* (Somrith vd., 2011) ve *melonis* (Elena ve Pappas, 2006) çoklu VCG'lere sahiptir (Larkin vd., 1990). *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*'de çoklu VCG'ler tek bir ırka tekabül etmektedir (Katan ve Katan, 1999). *F. oxysporum* f. sp. *pisi*'nin ırk 1 ve 6 izolatları aynı VCG'de bulunurken ırk 2 izolatları farklı iki VCG'ye dâhil edilmiştir (Correll vd., 1985).

F. oxysporum f. sp. *ciceris*'te farklı ırklara ait izolatlar aynı VCG'de bulunmaktadır ve sistematik numaralandırmaya göre (Katan, 1999) kod numarasının 0280 olması gerektiği önerilmiştir (Nogales-Moncada vd., 2009; Saabale ve Dubey, 2014). Ayrıca patojenik çeşitliliğine ve coğrafi dağılımına rağmen etmenin mtDNA ve IGS bölgesi için aynı RFLP modelini paylaştığı (Pérez-Artés vd., 1995; Jiménez-Fernández vd., 2011a) ve TEF, β -tubulin, histon 3, aktin ve kalmodulin kodlayan genler için aynı dizilere sahip olduğu bildirilmiştir (Jiménez-Gasco vd., 2002).

Popülasyondaki *vic* lokusunun genetik çeşitliliği, fungal popülasyonların analizini sağlayan VCG stratejisini yönlendirmektedir. Popülasyonlardaki genetik modifikasyon ve rekombinasyon sayesinde bu analiz, fungal türlerin çeşitliliğinin araştırılmasını sağlamaktadır (Krnjaja vd., 2013).

F. oxysporum gibi birçok fungal popülasyon için VCG yaklaşımı ile bir türün orijini anlaşılabilir (Correll vd., 1987b; Ploetz ve Shepard, 1989) ve moleküler markır taşıyan bu popülasyondaki genetik çeşitlilik değerlendirilebilir (Burgess vd., 2009). En az yedi lokusu etkileyen mutasyonlar üç ayrı fenotiple sonuçlandığından (*nit1* için *nit1*; *nit3* için *nit3* ve NitM için *nit2*, *nit4*, *nit5*, *nit6* ve *nit7* lokusları) *nit* mutantları, heterokaryonların oluşumunu sağlayan fenotipik markırlar olarak kullanılabilir (Correll vd., 1987b). VCG'ler arasındaki genetik ilişkilerin farklı yöntemlerle değerlendirilmesi gerekmektedir (Fourie vd., 2011).

Bazı izolatların *nit* mutant karakterizasyonundaki zorluklar, *nit* mutantları arasındaki zayıf heterokaryon reaksiyonları (Gordon ve Okamoto, 1991), bazı izolatlar ile farklı VCG'ler arasındaki çapraz uyumluluk reaksiyonları (Ploetz, 1990) ve HSI izolatların varlığı *nit* mutant analizinde görülen problemlerden bazılarıdır (Jacobson ve Gordon, 1988; Correll vd., 1989). Farklı VCG'deki izolatlar benzer konukçu reaksiyonu gösterdiğinden bu teknik virülensliği belirleyememektedir (Venuto vd., 1995).

Türkiye'nin nohutta solgunluk ve sararma hastalığını temsil eden geniş bir *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* popülasyonunun patojenik karakterizasyonuna yönelik güncel çalışmalar ve hastalık yaygınlığı, insidansı ve hastalık şiddetinin epidemiyolojik parametrelerle ilişkisi üzerine yapılan çalışmalar bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında survey çalışmaları ile Türkiye'nin nohut yetiştiriciliği yapılan illerinde hastalık şiddetinin ekolojik parametreler ile ilişkilerinin araştırılması ve Türkiye'deki solgunluk ve sararma fenotiplerinin coğrafi dağılımının belirlenmesi amaçlanmıştır. Böylece çeşitli virülenslik düzeylerine sahip *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının dağılımının bilinmesi ile patojene dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesine katkı sağlayacağı umulmaktadır. Dolayısıyla bu çalışma, Türkiye'de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* popülasyonunun patojenik çeşitliliğine dair güncel ve kapsamlı bir araştırmanın gerçekleştirilmesi amacıyla yapılmıştır.

Fusarium solgunluk ve sararma hastalığı etiyolojisi ile ilişkili olan bağıl nem, sıcaklık, rüzgâr hızı, yağış, yağışlı günler sayısı gibi iklimsel parametrelerin hastalık şiddeti ile ilişkisi araştırılmıştır. Ayrıca bitkinin gelişimi ve stres tepkilerini etkileyen çevresel koşulların *Fusarium* solgunluk ve sararma hastalığının en etkili kontrol yöntemi olan dayanıklı çeşitlerin başarısı üzerinde de etkili olduğu düşünülmektedir. Böylece bu parametreler ile bağlantılı olan çevresel koşulların hastalık epidemilerini nasıl etkilediğine dair önemli veriler elde edilmiş olacaktır.

Türkiye'nin nohut yetiştiriciliği yapılan birçok ilinde *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in VCG yönünden popülasyon yapısı bilinmemektedir. Oysa farklı illerdeki nohut tarlalarında patojenin daha virulent popülasyonları ortaya çıkmış ve yayılmış olabilir. Çünkü düzenli rekombinasyonu engelleyen *F. oxysporum*'un aseksüel çoğalma mekanizması (Kuhn vd., 1995), dayanıklılık genlerinin üstesinden gelebilecek ırkların gelişmesini sağlayabilir. Patojenik etmenin popülasyon yapısının virülenslik derecesinin ve vejetatif uyumluluk bakımından tespit edilmesi gelecekte uygulanabilecek hastalık yönetim stratejilerinin etkin bir şekilde çalışması için önem arz etmektedir. Bu bağlamda, bu tez çalışmasında nohut bitkisinden izole edilen *F. oxysporum* izolatlarının miselyal uyumluluk veya uyumsuzluk reaksiyonları doğrultusunda vejetatif uyum gruplarının belirlenmesi ve etmenin popülasyon yapısının incelenmesi amaçlanmıştır.

BÖLÜM II

KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Nohut Bitkisinde Görülen Fungal Hastalıklar

Westerlund vd. (1974), *F. oxysporum* f. sp. *ciceri*, *F. solani* f. sp. *pisi*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* ve *Macrophomina phaseoli* funguslarının Kaliforniya’da nohutta kök çürüklüğüne ve solgunluğa neden olduğunu tespit etmişlerdir. *F. solani* f. sp. *pisi* (FSP) ve *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* (FOC) sürgünlerde benzer sararma ve solgunluk semptomları göstermesine rağmen FSP belirgin siyah kök lezyonlarına ve FOC sürgünün tepesine uzanan vasküler renk değişikliğine neden olmuştur. Solgunluktan etkilenen bitkilerin %6’sında FOC; %47’sinde ise FSP bulunmuştur. Bu çalışma, FSP’nin Kaliforniya’da önemli bir nohut patojeni olduğunu gösteren ilk rapor olarak sunulmuştur.

Haware ve Nene (1981), Hindistan’ın kuzeyindeki Keşmir eyaletinde sezon dışı nohut tarlalarında *Phoma medicaginis* patojeninin neden olduğu yanıklık hastalığını gözlemlemişlerdir. *P. medicaginis* enfekte edilmiş yapraklardan, gövdeden ve tohumlardan fungal izolasyon yapılmış ve daha sonra patojenisite testleri gerçekleştirilmiştir. Ascochyta yanıklığına benzer şekilde düzensiz ve açık kahverengi koyu renkli kenarlara sahip lezyonlar yapraklarda, gövdede ve baklalarda gözlemlenmiştir. Koyu renkli, küçük, gömülü piknidyanın enfekte olmuş dokulara düzensiz bir şekilde dağıldığı belirlenmiştir. İnfekte baklalardan elde edilen tohumların renksiz ve büzük bir görünüme sahip olduğu tespit edilmiştir.

Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz (1985), nohutta vasküler solgunluk veya sararma, vasküler olmayan sararma, kök ve gövde çürüklüğü veya kortikal gövde ve kök nekrozları ve yellow stunt semptomlarını incelemişlerdir. *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*’in neden olduğu vasküler solgunluk ve sararmanın nohutta yaygın semptomlar olduğu görülmüştür.

F. oxysporum, *F. solani*, *F. eumartii* ve *M. phaseolina* funguslarının solgunluk ve kök çürüklüğü ile ilişkili oldukları belirlenmiştir. *M. phaseolina* nohutta kuru kök ve gövde çürüklüğüne neden olmaktadır. Ascochyta yanıklığı ve pas hastalığı nadir olarak görülmüş ve hastalık insidansının düşük olduğu tespit edilmiştir (Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz, 1985).

Maden (1987), *Ascochyta rabiei* (%56,42), *F. oxysporum* (%50) ve *F. solani* (%14,28) gibi bitki patojenlerinin Türkiye'nin önemli nohut üretim alanlarından elde edilen nohut tohumlarında mevcut olduğunu rapor etmiştir.

Yücel ve Güncü (1991), Türkiye'nin 5 ilindeki nohut tarlalarında fungal hastalıklar yönünden survey çalışmaları gerçekleştirmişlerdir. Nohutun çiçek ve bakla döneminde kök ve kökboğazı enfeksiyon oranı Gaziantep için %19,43, Kahramanmaraş için %50,13, Adana için %68,2, Mersin için %72,22 ve Antalya için %93,1 olarak hesaplanmıştır. Ascochyta yanıklık hastalığının enfeksiyon oranının Gaziantep'te %1,54, Kahramanmaraş'ta %8,02 ve Adana'da ise %13,0 olduğu belirlenmiştir. Nohutta kök çürüklüğü ve solgunluk hastalıklarında baskın fungal türlerin *F. solani*, *F. oxysporum* ve *F. acuminatum* olduğu tespit edilmiştir. *M. phaseoli* fungusunun da nohutta kök çürüklüğüne neden olduğu saptanmıştır.

Dolar (1995), altı nohut çeşidi (Canitez 87, yerel çeşit, 65C830 X ICP114, Eser 87, ILC 482 ve ILC 195) kullanarak *A. rabiei*, *F. oxysporum* ve *F. solani*'nin hastalık reaksiyonlarını belirlemiştir. Canitez 87 ve yerel çeşit *A. rabiei*'ye karşı hassas reaksiyon göstermiştir. Testlenen tüm çeşitlerin *F. oxysporum* ve *F. solani*'ye karşı hassas olduğu belirlenmiştir.

Wilson ve Kaiser (1995), bitkinin gelişiminin herhangi bir aşamasında bitkinin toprak üstü kısımlarında nekrotik lezyonların oluşması ile karakterize edilen Ascochyta yanıklık hastalığının şiddetli durumlarda bitkide yanıklara ve nihayetinde ölümüne neden olabildiğini bildirilmiştir.

Kış mevsiminde önceki mevsimden kalan ürünlerin kalıntılarındaki psödotekyanın ve piknidyanın yeni üründe enfeksiyon yapmak için ilkbaharda primer inokulum ürettiği belirlenmiştir. Piknidy daha sonra nekrotik doku üzerinde çok sayıda oluşmakta ve uygun ıslak koşullar oluştuğunda sekonder enfeksiyonlar için konidi üretmektedir (Wilson ve Kaiser, 1995).

Demirci vd. (1999), Türkiye’de Doğu Anadolu Bölgesi’nde yaygın bir şekilde ekimi yapılan nohut çeşidi Aziziye-94’ün solgunluk ve kök çürüklüğü patojenlerine karşı hassasiyetini belirlemişlerdir. Aziziye-94’ün bitkilerinden ve tohumlarından izole edilen izolatların patojenisite testleri yapılmıştır. *F. solani* f. sp. *pisi* ve *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*’in *F. acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. equiseti*, *F. proliferatum*, *M. phaseolina* ve *R. solani*’den daha yaygın olarak bulunduğu belirlenmiştir. *F. solani* f. sp. *pisi* ve *R. solani* tek başına veya diğer türlerle birlikte enfeksiyon yaptığı fide oluşumunda, bitki kuru ağırlığında ve boyunda önemli düşüşlere neden olmuşlardır. Toprak ve tohum kökenli solgunluk ve kök çürüklüğü patojenlerinin bölgede bu çeşit için sorunlara yol açabileceği bildirilmiştir.

Mazur vd. (2002), Polonya’nın güney bölgesinde yetiştirilen nohut bitkisindeki fungal hastalıkları araştırmışlardır. Vejetasyon mevsimi boyunca bitkiler için en önemli hastalıkların köklerden izole edilen *Fusarium* cinsi funguslar ve *R. solani* olduğu görülmüştür. *Botrytis cinerea*, *Fusarium avenaceum* ve *Alternaria* sp. en fazla bakla ve tohumları olumsuz yönde etkilemektedir.

Güllü (2003), Gaziantep il ve ilçelerinde kültüre alınan nohutta en zararlı fungal hastalığın *Ascochyta* yanıklığı olduğu saptanmıştır. Ayrıca *Macrophomina* sp. *Alternaria* sp., *F. solani* ve *R. solani* gibi etmenlerin de nohut verimini kısıtladığı görülmüştür.

Trapero-Casas ve Kaiser (2007), *Didymella rabiei*’nin askosporlarının ve konidilerinin çim tüpü uzaması ve çimlenmesi üzerine sıcaklık ile nemin etkileşimlerini belirlemişlerdir. Ayrıca farklı sıcaklıklarda ve yaprak ıslanma dönemlerinde askosporların ve konidilerin nohut üzerindeki enfeksiyon kabiliyetini karşılaştırmışlardır. 15-25°C’de askosporlar ve konidilerin çimlenmesi 2 saat içerisinde başlamış ve 6-7 saat sonra %95’i çimlenmiştir.

Aynı çevresel koşullarda askosporlar konidilerden daha hızlı çimlenmiştir ve çim tüpü gelişimi askosporlarda daha hızlı olarak kaydedilmiştir. Çeşitli çevresel faktörlerin *Ascochyta* yanıklığının epidemiyolojisi üzerindeki etkilerine ilişkin verilerin yetiştiricilere hastalık kontrolü için yaprak fungusit uygulamalarında yardımcı olacak güvenilir bir hastalık tahmin programı geliştirilmesinde gerekli olduğu bildirilmiştir (Trapero-Casas ve Kaiser, 2007).

Trapero-Casas ve Kaiser (2009), Ascochyta yanıklık semptomlarının bulunduğu nohut tarlalarında *D. rabiei*'nin enfekte ettiği bitki türlerini araştırmışlardır. Nohutta Ascochyta yanıklık hastalığına neden olan *D. rabiei* patojenini ticari ürünlerde yaygın olarak bulunan 16 asemptomatik bitki türünden izole etmişlerdir. Bu izolatlar nohut için patojenik olup kültürel ve morfolojik özellikler bakımından nohuttan izole edilen *D. rabiei* izolatlarından ayırt edilememiştir.

Khan vd. (2012), Hindistan'ın Jammu ve Keşmir eyaletlerindeki *Rhizoctonia bataticola* fungusunun neden olduğu nohutta kuru kök çürüklüğü hastalığının prevalansını ve biyokontrol ajanları ile fungusitler yoluyla hastalığın yönetimini belirlemeye çalışmışlardır. Bir gün içinde yaprakların sararması hastalığın ilk semptomlarını teşkil etmiş ve bir hafta sonra tamamen kurumuştur. Bitki incelendiğinde bazal gövde ve hastalıklı bitkinin ana kök sisteminin tahrip olduğu ve yanal köklerde aşırı köklenme olduğu görülmüştür.

Nene vd. (2012), Akdeniz Bölgesi'nde de yaygın olarak bulunan nohuttaki pas hastalığı etmeni *Uromyces ciceris-arietini* için ılık havanın hastalık gelişimini kolaylaştırdığını bildirmişlerdir. Ağır derecede enfekte olmuş bitkilerin yaprakları paslı püstüller ve üredinosporlar ile kaplı olduğundan paslanmış bir görüntüye sahip olduğu görülmüştür. Ciddi derecede enfekte olmuş bitkilerin erken kuruduğu ve nemli havanın pas oluşumunu kolaylaştırdığı gözlemlenmiştir.

Sillero vd. (2012), nohut pas epidemileri sezon sonunda başladığından verim bileşenlerinin genellikle enfeksiyondan çok az etkilendiği belirlemişlerdir. Ancak enfeksiyon erken gerçekleştiğinde verimde kayıplar olabileceği bildirilmiştir. Nohut pasının yazlık ekilen nohutlarda kışlık ekilenlere göre daha şiddetli gerçekleşmesini hastalığın ısıl gereklilikleri ile açıklamışlardır.

Çünkü hastalık söz konusu olduğunda kışlık ekilen bitkilerin çoğu tamamen olgunlaşmışken, yazlık ekilen bitkilerin yetişkin olma aşamasında olduğundan pas gelişimi için elverişli çevresel koşullardan sorumlu olduğu öngörülmüştür. Kullanılan çeşitlerin kışlık ekimlerinde Ascochyta yanıklığına karşı dayanıklı olması şartıyla pas enfeksiyonundan kaçmak için kışın hassas çeşitlerin yetiştirilmesini önermişlerdir (Sillero vd., 2012).

Zaidi ve Pathak (2013), farklı kategorilerdeki nohut tohumlarıyla ilişkili patojenik fungusların tanımlandığı çalışmalarında *Alternaria alternata*, *Chaetomium* spp., *Penicillium citrinum*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Rhizopus nigricans* ve *F. oxysporum* izole etmişlerdir. Tohumdaki fungal flora varlığının tohum kalitesini ve besin değerini düşürdüğü bildirilmiştir.

Ahmed vd. (2014), nohutta *Botrytis* gri küf hastalığına neden olan *Botrytis cinerea*'nın kültürel ve morfolojik özelliklerini incelemişlerdir. Patojen gelişimi en iyi malt-ekstrakt agar (MEA) ve nohut dekstroza agar (CDA) besiyeri üzerinde olmuştur. En kısa inkübasyon döneminde maksimum hastalık $2,5 \times 10^4$ inokulum konsantrasyonunda gerçekleşmiştir. Konidyal çimlenme için optimum sıcaklığın 20°C ve inkübasyon süresinin de 24 saat olduğu gözlemlenmiştir. Konidi çimlenmesi için %90'dan fazla nemin gerekli olduğu belirlenmiştir. *B. cinerea* sklerotyumlarının 9 aya kadar toprakta hayatta kaldığı bulunmuştur. 3 yıl depolandıktan sonra patojen aynı patojenite düzeyinde 4°C'de kumda canlı kalmaya devam etmiştir. Patojenin kültürel ve morfolojik karakterizasyonunun hastalık epidemisinin kontrol edilmesinde ve nohut verim kaybını azaltılmasında yararlı olabileceği rapor edilmiştir.

Can vd. (2015), nohutta *Ascochyta* yanıklık hastalığına neden olan *D. rabiei*'nin virülenslik seviyesindeki varyasyonları Türkiye'nin yedi farklı coğrafi bölgesinde araştırmışlardır. En yüksek hastalık insidansı Marmara Bölgesi'nden bildirilmiş olup bu bölgeleri sırasıyla Karadeniz, Ege, İç Anadolu, Akdeniz, Güneydoğu ve Doğu Anadolu Bölgeleri takip etmiştir. *Ascochyta* yanıklığının, Türkiye'de nohut yetiştiriciliği yapılan illerde *Fusarium* solgunluğu üzerinde baskın olduğu tespit edilmiştir. Ancak *Fusarium* solgunluğunun da Ege, Akdeniz ve Marmara Bölgeleri'nde ortaya çıktığı belirlenmiştir.

Chougule vd. (2015), nohutun tohum kökenli mikroflorasını inceledikleri çalışmalarında 15 fungal tür kaydetmişlerdir. Bunlardan en yaygın olanları sırasıyla *A. niger*, *F. solani*, *A. flavus*, *A. alternata* ve *A. nidulans* olarak belirlenmiştir. Testlenen tüm tohumları arasında yaralanmış nohut tohumlarında tohum mikoflorası maksimum düzeyde gözlemlenmiştir ve bu tohumların hastalıkları iletmek için ana vektör görevi gördüğü belirlenmiştir.

Can vd. (2016), Ascochyta yanıklığı hastalığı etmeni *D. rabiei*'nin hastalık şiddetinin ortalama yağışa göre Türkiye'nin coğrafi bölgelerinde yıllar arasında farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir. Hastalık çiçeklenme ve kapsül doldurma evrelerinde sık görülmüştür. Ancak çiçeklenme öncesi dönemde meydana gelen epidemiler Ege, Akdeniz ve Marmara Bölgeleri'ndeki nohut tarlalarını ciddi şekilde etkilemiştir.

Trivedi vd. (2017), Hindistan'ın Uttar Pradesh eyaletinde nohut yetiştiriciliği yapılan alanlarındaki toprak kaynaklı patojenlerin mevcut durumunu araştırmışlardır. Uttar Pradesh'in üç tarımsal iklim bölgesinde *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phytophthora* sp., *Pythium* sp., *Colletotrichum* sp., *A. rabiei*, *Alternaria* sp., *Pestalotiopsis* sp. en önemli hastalık ajanları olarak ve *T. viride* ve *T. harzianum* gibi biyokontrol ajanlarını tanımlamışlardır. Ayrıca biyolojik ajanların bulunduğu alanlarda solgunluk ve kök çürüklüğü hastalığı az görülmüştür.

Yimer vd. (2018), Etiyopya'nın nohut yetiştirilen bölgelerindeki solgunluk ve kök çürüklüğü kompleksi ile ilişkili patojenleri tanımlamak amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmalarında hastalık insidansı ve şiddetinin Desi nohutu, toprak tipi, ekim tarihleri ve yabancı otların temizlenmesi uygulamaları ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Yüksek hastalık insidansı ve şiddeti endeksinin yabancı ot istilası ve nohutun ağır siyah topraklara ekilmesi ile korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir.

2.2. Nohutta Fusarium Solgunluk Hastalığının Patojenik Karakterizasyonu, Epidemiyolojisi ve Semptomatolojisi

Padwick (1940), nohut solgunluk patojeninin *Fusarium orthoceros* var. *ciceris* olduğunu belirlemiştir. Erwin ve Snyder (1958), bu fungusun *Fusarium lateriti* f. sp. *ciceris* olduğu sonucuna varmıştır. Semptomlar *F. orthoceros* tarafından üretilen bazı toksinlerin üretilmesine işaret etmektedir (Chauhan, 1961).

Chauhan (1962), nohutta solgunluğa neden olan *Fusarium orthoceras* App. Wr. var. *ciceris*'in fizyolojik varyasyonunu araştırmıştır. Patojen enfeksiyonu nedeniyle yapraktaki damarların boşaldığını ve mezofil hücrelerinde kloroplast ve nişasta oluşumunda azalma olduğunu gözlemleyerek hastalığın ilk semptomlarını bildirmiştir. Testlenen 22 izolatta miselyum tipi, koloni rengi, toksin üretimi ve patojenisite açısından varyasyon olduğunu tespit etmiştir.

Nene (1979), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'ten etkilenmiş alanlardaki farklı yabancı bitki türlerinin köklerinde *Fusarium* taraması yapmış ve etmenin non-patojenik olarak testlenen yirmi beş bitki türünün yedisinde mevcut olduğunu tespit etmiştir.

Jiménez-Díaz vd. (1989a), hassas ve dayanıklı nohut çeşitlerinin bulunduğu tarlalarda *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in 0 ve 5 nolu ırklarının bitkideki kolonizasyon süreçleri ve histolojik modifikasyonlarını araştırmışlardır. Ekimden sonra bu ırklar yaralanma olmadan tüm fidelere girmiştir. Kök boyunca yayılan patojen, kökte ve gövdenin alt kısmındaki internodlarda ksilem damarlarında yoğun olduğunda iki ırk için semptomlar gelişmiştir. Irk 0'a göre daha virulent olan ırk 5, P-2245 nohut çeşidinde kökteki ve gövdedeki ksilem damarlarında daha hızlı ve daha geniş çapta kolonize olmuştur.

Jiménez-Díaz vd. (1989b), İspanya'da *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in 61 izolatının 6'sının solgunluk 55'inin ise sararma semptomlarını indüklediğini saptamışlardır. Irk 0, 5 ve 6 rapor edilmiştir. Irk 0'ın en az virülensliğe sahip ırk olduğu saptanmıştır.

Gupta (1991), enfekte alanda yetiştirilen *Vigna radiatae*, *V. mungo* (maş fasulyesi), *Cajanus cajan* (güvercin bezelyesi), *Pisum sativum* (bezelye) ve *Lens culinaris* (mercimek) köklerinden *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'i izole etmiştir. Bu fitopatojenin büyük bir bitki popülasyonu tarafından barındırıldığı rapor edilmiştir.

Bhatti ve Kraft (1992a), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ve bazı solgunluk ve kök çürüklüğü patojenlerinin kabulü (Burpee 5043) ve desi nohutunda (JG62) farklı sıcaklık ve inokulum yoğunluklarındaki etkinliğini değerlendirmişlerdir. Fungal etmenin her iki nohut çeşidinde patojenik olduğunu ve solgunluk şiddetinin yaklaşık 10^4 veya 10^5 mikrokonidi ve makrokonidi/ml inokulum seviyelerinde olduğu bildirmişlerdir. Fakat solgunluk semptomları yüksek sıcaklıkta (25 ve 30°C) düşük sıcaklıkta (10, 15 ve 20°C) olduğundan daha şiddetli görülmüştür.

Bhatti ve Kraft (1992b), nohutta solgunluk ve kök çürüklüğü üzerinde toprak neminin etkilerini araştırmışlardır. Toprak neminin az olması patojenlerin tek başına veya kombinasyon halinde olmasına bakılmaksızın hem bitki büyümesine hem de patojen aktivitesine zarar vermiştir. Yani solgunluk ve kök çürüklüğü patojenlerinin rizosferdeki popülasyonları toprak su içeriğinin artmasıyla artmıştır. *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in rizosfer popülasyonunun diğerlerinden fazla olduğu belirlenmiştir.

Jiménez-Díaz vd. (1993), Cezayir, Kaliforniya, İtalya, Fas ve İspanya'dan elde edilen *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının patojenik karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Patojen olmayan izolatların PDA'da somon renginde (semptom göstermeksizin vasküler enfeksiyonu indükleyen izolatlar) veya kırmızımsı renkte kolonilere sahip olduğu gözlemlenmiştir. Kaliforniya'dan 10 ve İspanya'dan 14 izolat ayırıcı nohut hatları kullanarak 0, 1, 5 ve 6 ırk grubunda sınıflandırılmıştır.

Kelly vd. (1994), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in farklı patotipteki izolatlarının ve farklı ırklarının ayırımı gerçekleştirmek amacıyla RAPD tekniğinin kullanımını araştırmışlardır. KS, P2 ve P6 olarak adlandırılan PCR temelli primerler kullanılarak 63 fungal izolatın iki gruba ayrıldığı ve bu bantların tekrarlanabilir olduğu saptanmıştır. RAPD analizlerinin nohutta *F. solani*, *F. eumartii* ve *F. oxysporum* patojenlerinin ayırımında etkin olduğu vurgulanmıştır.

Shakir ve Mirza (1994), Pakistan'dan toplanan nohut tohumlarında fungusların kotiledon ve eksene göre tohum kabuğu ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. *A. rabiei* sadece kotiledonlardan, *F. oxysporum* kotiledonlar ve eksenlerden ve *A. alternata* tohum kabuğu ve kotiledonlardan izole edilmiştir.

Sugha vd. (1994a), nohutta *Fusarium solgunluk* hastalığında hastalık gelişimi üzerinde bitki fidesi yaşının, toprak sıcaklığı ile neminin, ekim derinliklerinin ve inokulum yükünün rolünü incelediklerinde, tohumların sık ekiminin ve genç fidanların hastalık gelişimini desteklediğini; daha derin ekilen tohumların ve daha yaşlı fideelerde solgunluk semptomlarının az görüldüğünü bildirmişlerdir. 24,8-28,5°C toprak sıcaklığı solgunluğa elverişli olup bu aralığın üstündeki ve altındaki sıcaklık seviyeleri solgunluğun ilerlemesini yavaşlatmıştır.

Haware vd. (1996), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in toprakta yeterli inokulum mevcut olduğunda en az 6 yıl boyunca bitki kalıntıları ile örtülü toprakta yaşayabildiğini bildirmişlerdir. Patojeni taşıyan enfekte dokuların ve yağmur suyunun diğer alanları kontamine edebilmesinden dolayı bu fitopatojenin daha uzak mesafelere taşınabildiğini belirtmişlerdir.

Dolar (1997), 10 ayırıcı nohut çeşidini kullanarak daha önce rapor edilen yedi fungal ırktan üçünü (ırk 0, 2 ve 3) Ankara ilinden bildirmiştir. Irk 2'nin ise en patojenik ırk olduğu saptanmıştır.

WR-315 ve 850-3/27 çeşitleri hariç diğer sekiz çeşidin ırk 2'ye karşı hassas olduğu belirlenmiştir. Irk 2 ve 3 ile kıyaslandığında ırk 0 Ankara'da nohut yetiştiriciliği yapılan alanlarda daha yaygın bulunmuştur (Dolar, 1997).

Navas-Cortés vd. (1998), epidemi gelişimini ekim tarihiyle ilişkilendirmiştir. Böylece İspanya'daki nohut ekim tarihini ilkbahardan kışa iletirmek epidemi gelişimini azaltabilmekte ve epidemi başlangıcını geciktirebilmektedir. 15-20 cm aralıklarla ekilen bitkilerde sıg kök sisteminin bitkileri nem stresine soktuğundan dolayı 7,5 cm aralıklı ekilenlere göre daha fazla hastalık insidansı görülmüştür. Tohumların 10-12 cm derine ekilmesi hastalık insidansını azaltabilmektedir.

Navas-Cortés vd. (2000a), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in ırklarının çeşit hassasiyeti ve inokulum yoğunluğunun *Fusarium* solgunluğunun gelişimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. P-2245 nohut çeşidindeki hastalık gelişimi için ırk 5'te az inokulum yoğunluğu gerektiğinden hassas nohut çeşitlerine karşı ırk 5'in ırk 0'dan daha virulent olduğu belirlenmiştir. Fungusun inokulum yoğunluğu eşığının patojenik ırkın virülensliğine ve nohut çeşidinin duyarlılığına bağlı olduğu saptanmıştır. P-2245 çeşidi/ırk 5 kombinasyonunda ırk 5'in en düşük inokulum yoğunluğu olan 6 klamidospor g⁻¹ ve ırk 0 için ise 20.000 klamidospor g⁻¹ toprak ile en yüksek düzeyde hastalık sağlanmıştır.

Honnareddy ve Dubey (2006), Hindistan'ın farklı bölgelerinden toplanan 25 farklı *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatının uluslararası ayırıcı set üzerindeki virülenslik çalışması ile Hindistan'dan ırk 5, 6 ve 7'yi tanımlamışlardır. Ayrıca araştırmacılar değişen patojen popülasyondan dolayı 1982'de geliştirilen uluslararası ayırıcı nohut setinden daha net ayırıcı reaksiyonlar elde edilmesi için yeni çeşitlerle standartlaştırılması gerektiğini önermişlerdir.

Pande vd. (2007), solgunluk semptomları gösteren bitkilerden toplanan ve tohum olarak kullanılan nohut tohumları aracılığıyla *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in yeni ve sağlıklı topraklardaki aktivitesini ölçmüşlerdir. Enfekte K850 ve JG62 nohut çeşitlerinin tohumları kullanılarak yapılan saksı deneyleri, topraktaki hastalığı üç sezon içinde ekonomik eşik seviyelerine getirebileceğini göstermiştir. *Fusarium* solgunluğunun tohum kökenli olduğu ve sağlıklı tohumlarla karıştırıldığında enfekte tohumların patojeni yeni alanlara taşıyabileceği rapor edilmiştir.

Mina ve Dubey (2010), çevresel parametrelerin Pusa212 ve BGD1005 nohut çeşitlerinde *Fusarium solgunluk* hastalığı üzerindeki etkisini değerlendirerek nohut çeşidi ve çevresel değişkenler arasındaki korelasyon ilişkisini incelemişlerdir. Pusa 212 çeşidinde maksimum çevre ve toprak sıcaklığının; BGD1005 çeşidinde ortalama ortam sıcaklığı ve toprak neminin hastalık ile pozitif ve anlamlı bir şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur. Erken ekimin her iki çeşitte solgunluğu en aza indirdiği saptanmıştır.

Arvayo-Ortiz vd. (2011), Meksika kökenli *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in fenotipik ve genetik karakterizasyonunu ve etmenin gelişimine izin veren abiyotik faktörleri tespit etmişlerdir. Toplam 355 izolattan 161'inin Jiménez-Gasco ve Jiménez-Díaz (2003) tarafından dizayn edilen primer setleri kullanılarak *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* olduğu belirlenmiştir. Irk-spesifik primerler ile 91 izolatin %41'i ırk0, %15'i ırk 1B/C, %14'ü ırk 5 ve %28'i ırk 6 olarak belirlenmiştir. Bu çalışma Meksika için ırk tanımlanması açısından ilk rapor niteliği taşımaktadır.

Bayraktar ve Dolar (2012), Türkiye'nin 8 ilinden (Amasya, Tokat, Uşak, Kütahya, Denizli, Burdur, Kahramanmaraş, Diyarbakır) elde edilen 19 *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatının patojenik karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Ayrıcı nohut seti kullanılarak izolatların virülenslik açısından yüksek derecede çeşitlilik gösterdiği görülmüştür ve Türkiye için 3 ırk tanımlanmıştır (ırk 0, 2 ve 3). Irk 0, C104 çeşidine karşı orta derecede virulent olmuş, fakat diğer çeşitlere karşı patojenik etki göstermemiştir. Irk 2, WR315 ve 850-3/27 hariç tüm çeşitlere karşı patojenik; ırk 3 diğer ırklara dayanıklı olan WR315 çeşidine karşı patojenik etki sergilemiştir. Karadeniz, Ege ve Akdeniz Bölgeleri'nden ırk 0 ve 2; Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nden ırk 0 ve 3 rapor edilmiştir.

Datta ve Lal (2012), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ve *F. udum* izolatlarındaki genetik çeşitliliği karakterize etmişlerdir. *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarında 24 RAPD primerinin ürettiği 247 banttan 210'unun (%85) polimorfik olduğu ve *F. udum*'da, primer başına ortalama 9,4 bant ile toplam 226 bant ürettiği belirlenmiştir. Çeşitli markırlar kullanılarak yapılan küme analizi, *Fusarium* izolatlarının coğrafi orijinlerine göre değil kültürel özelliklerine ve patojenisite derecelerine göre gruplandığını göstermiştir.

Al-Taae vd. (2013), Irak kökenli *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarındaki patojenik varyasyonun değerlendirmişlerdir. İzolatlar 12 ayrıcı nohut çeşidinde solgunluk şiddeti açısından oldukça önemli farklılıklar göstermiştir. Bu çeşitlerde indüklenen reaksiyon türlerine göre izolatlar dört gruba ayrılmıştır. İzolatlar arasındaki genetik benzerlik yüzdesinin %42-100 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu durumun fungusun dört ırkının (ırk 0, 1B/C, 4 ve 5) varlığına işaret ettiği bildirilmiştir. Bu çalışmada Irak'tan *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in ırklarının ilk kaydı sunulmuştur.

Jiménez-Fernández vd. (2013), konfokal lazer tarama mikroskobu kullanılarak ZsGreen floresan proteini ile etiketlenmiş *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ırklarının (ırk 0 ve 5) P-2245, JG-62 ve WR-315 çeşitleri üzerinde enfeksiyon paternlerini ve kolonizasyonunu değerlendirerek uyumlu ve uyumsuz etkileşimlerini karakterize etmişlerdir. Uyumlu etkileşimlerde patojen, kök korteksinde hücreler arasında gelişerek ksileme ulaşmış ve kök ksileminde yukarı doğru ilerlemiştir. Uyumsuz etkileşimlerde ırk 0, WR-315 hariç JG-62'nin kök ve gövde ksilem damarlarına yayılarak kolonize olmuştur, ksileme ulaşamayan kök korteksin hücre içi boşluklarında kalmıştır. Irk 5 ise hipokotile kadar ilerlemiştir. Ancak tüm uyumsuz etkileşimlerin asemptomatik olduğu görülmüştür. Nohut çeşitlerinin ırklar ile kolonileşmesinin farklı paternlerinin çoklu dayanıklılık mekanizmalarının çalışması ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir.

Mehmood vd. (2013), güneş ışığı dışında tüm çevresel değişkenlerin solgunluk gelişiminde; tüm toprak değişkenlerinin ise hastalık insidansı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır. Hastalık insidansı ile hassas çeşit/germplazm üzerindeki toprak/çevresel faktörler arasındaki ilişki hastalık insidansı ile maksimum/minimum hava sıcaklığı (°C), toprak sıcaklığı (°C) ve toprak nemi (kPa) arasında anlamlı bir korelasyon olduğunu göstermiştir.

Islam (2015), tarımsal alanlardan izole edilen *Fusarium* spp. izolatlarının farklı besiyerlerinde büyümesi ve sporulasyonu üzerine etkilerini incelemiştir. Tüm besiyerlerinde test edilen *Fusarium* izolatları çeşitli derecelerde büyüme sergilemiştir. İzolatlar PCA ve CDA besiyerlerinde maksimum misel büyümesi göstermiştir, ancak genel bir fungus besiyeri olan PDA, misel büyümesini aynı ölçüde desteklememiştir.

PDA, *Fusarium* SF2-5'te sporulasyonu önemli ölçüde artırmıştır. SF-6 dışındaki tüm *Fusarium* izolatları için CDA ve PCA besiyerleri iyi sporulasyonu iyi sağlamıştır. Araştırmacı şaşırtıcı bir şekilde, PDA besiyerinde yavaş büyüyen izolatların bulunduğunu tespit etmiştir. Oysa Imran Khan vd. (2011), besiyerinin *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* üzerindeki etkisini incelemişler ve PDA'nın farklı izolatların büyümesi için en iyi besiyeri olduğunu bildirmişlerdir (Islam, 2015).

Patil vd. (2015), Hindistan Merkez Bölgesi'nden toplanan *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarında besiyerinin, pH ve sıcaklık seviyelerinin fungusun miselyal gelişimi ve sporulasyonu üzerine etkisini incelemek amacıyla laboratuvar çalışmaları yapmışlardır. Test edilen altı besiyeri (PDA, Richard's agar, CDA, Asthana & Hawker's, Martins Rose Bengal ve Ashby's agar medium) arasında, CDA ve PDA besiyerlerinin fitopatojenin büyümesi için diğerlerinden daha elverişli olduğu belirlenmiştir. İzolatların büyümesi için en uygun sıcaklığın 25°C ve 30°C olduğu; en uygun pH seviyesinin ise pH 6.0 ve 6.5 olduğu saptanmıştır. Bu optimum değerlerde tüm izolatların kolonilerinde maksimum radyal büyüme görülmüştür.

Trivedi ve Rathi (2015), enfekte nohut bitkilerinden alınan tohumlardan tohum mikroflorasının belirlenmesi amacıyla yürüttükleri çalışmalarında yüzey sterilizasyonu yapılmış tüm nohut varyetelerinde *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in mevcut olduğunu tespit etmişlerdir. Bu durum da söz konusu fitopatojenin tohum kökenli olduğunu doğrulamıştır.

Damte ve Ojiewo (2016), Etiyopya'da nohutta solgunluk ve kök çürüklüğü hastalıklarının ülke genelinde yaygın olduğunu belirlemişlerdir. Solgunluktan etkilenmiş nohut bitkilerinin patojen ile enfekte olduklarında bakla üretmeden öldükleri görülmüştür. Böylece, solgunluk ve kök çürüklüğü hastalıkları belirli bir bölgedeki bitki sayısını azaltarak verim kayıplarına neden olmaktadır.

Azevedo vd. (2017), vasküler renk değişimi gösteren nohut bitkisinden elde edilen *Fusarium* spp. izolatlarının EF-1 α bölgesinin filogenetik analizini gerçekleştirmişlerdir. İzolatlar morfolojik markırlar ve patojenisite testleri ile de değerlendirilmiştir. Enfekte olan tüm bitkilerde yapraktan başlayan hızlı bir sararma daha sonra da solgunluk ve bitki ölümü gözlemlenmiştir. *F. solani* ve *F. oxysporum* izolatları benzer semptomlar oluşturmuştur.

F. oxysporum ile enfekte olmuş bazı bitkilerin vasküler dokularındaki kararma genellikle kök çürüklüğü ile ilişkili olmuştur. *F. solani* ile enfekte olan bitkilerde vasküler dokularda kararma görülmemiştir. İzolatların agresiflikleri neden oldukları hastalık semptomlarının hızına göre değişmiştir. *F. oxysporum* izolatlarının, *F. solani* izolatlarına göre daha agresif olduğu belirlenmiştir (Azevedo vd., 2017).

Maitlo vd. (2017), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in vejetatif gelişimi ve sporulasyonunu etkileyen fizyolojik faktörleri araştırmışlardır. Richards's agar ve PDA besiyerlerinin fungal miselyal gelişimi, konidial büyüklüğü ve makrokonidi ve mikrokonidilerin sayısı için ideal olduğu belirlenmiştir. Fungal gelişim için dekstrozu ve sükrözün en iyi karbon kaynağı olduğu ve nitrat ve peptonun ise en iyi nitrojen kaynağı olduğu saptanmıştır.

Nath vd. (2017), Bangladeş'in *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in morfolojik ve fizyolojik varyasyonunu belirlemişlerdir. Fungusun miselyal radyal büyümesi ve sporulasyonu inokülasyondan yedi gün sonra 25°C'de maksimum seviyede iken >15°C'de ve <35°C'de azalmış, 5°C'de ise durmuştur. Fungal büyüme ve sporulasyonda en uygun pH seviyesi pH 6.0 olarak saptanmıştır. Fungus en iyi yulaf unlu agar besiyerinde büyüme göstermiştir. En fazla makrokonidi ($3,27 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$) ve mikrokonidi ($4,06 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$) PDA'da üretilmiştir.

Chaithra vd. (2019), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının JG62, Annigeri-1, Chaffa, CPS-1, K850, L550 ve DCP92-3 genotipleri kullanılarak patojenik çeşitliliği belirlenmiştir. En yüksek ve en düşük hastalık insidansı sırasıyla JG62 ve Annigeri-1 ile L550'de tespit edilmiştir. Toprak inokülasyon tekniğiyle yapılan patojenisite testlerinde izolatlar farklı virülenslik seviyeleri göstermiş ve ekimden sonraki 20. günde solgunluk semptomları görülmüştür.

2.3. *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*'in Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları

Pérez-Artés vd. (1995), Hindistan'dan ırk 1, 2, 3 ve 4'ü ve İspanya'dan ırk 0, 5 ve 6'yı temsil eden *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in yedi izolatının mtDNA'sında RFLP analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Toplam fungal DNA'nın mtDNA fraksiyonları saflaştırılmış ve *Bam*HI, *Bgl*II, *Eco*RI, *Kpn*I, *Sac*I, *Sal*I, *Sma*I ve *Xho*I restriksiyon endonükleazları ile enzimatik kesim yapılmıştır.

Patojenin yedi ırkının mtDNA'da hiçbir RFLP tespit edilmemesi mtDNA'nın gen kompozisyonunda geniş bir koruma olduğunu göstermiştir. Bu durum patojenin mtDNA'sının patojenik çeşitlilikten sorumlu olmayabileceğini göstermiştir (Pérez-Artés vd., 1995).

García-Pedrajas vd. (1999), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in tespiti için doğal ve yapay topraklarda hızlı ve basit bir PCR yöntemini geliştirmişlerdir. WiltNF-1/WiltNR-1 ve WiltNF-2/WiltNR-2 primerleri kullanılarak yapılan PCR analizleri sonucunda 605 bp büyüklüğündeki fragmentin toprak örneklerindeki patojenin belirlenmesini sağlamıştır.

Barve vd. (2001), Hindistan'da baskın olan dört *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ırkını (1A, 2, 3 ve 4) ayırt etmek ve DNA parmak izi için potansiyellerini değerlendirmek amacıyla basit sekans tekrarlarını kullanmışlardır. Genomdaki mikrosatellit tekrarlarının dağılımı, benzerlik endeks değeri %67,3 olan ırk 2'ye göre %76,6 olan ırk 1 ve 4'ün birbiri ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir; ırk 3 ise %26,7'lik bir endeks değeri ile diğerlerinden ayrılmıştır. Bu çalışmada *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ırklarının DNA parmak izi analizinde mikrosatellit markırları ilk kez kullanılmıştır.

Jiménez-Gasco vd. (2001), altmış *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatu ve 40 RAPD primeri kullanarak 0, 1B/C, 5 ve 6 ırklarını tespit etmişlerdir. RAPD veri setinin küme analizine göre sararma izolatları 0 ve 1B/C ırklarına karşılık gelen iki farklı grupta yer almıştır. Solgunluk izolatları ise 1A, 2, 3, 4, 5 ve 6 ırklarını içeren üçüncü bir kümeyi oluşturmuştur. Bu sonuçların patojenin ırklarının dağılımını incelenmesinde, tanımlanan ırk veya ırkların erken tespitinin sağlanmasında ve konukçu dayanıklılığının etkin bir şekilde kullanılmasında faydalı olabileceği bildirilmiştir.

Jiménez-Gasco vd. (2002), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in monofiletik bir evrimsel kökene sahip olup olmadığını araştırmışlardır. Patojenin iki patotipini ve altı ırkını (ırk 0, 1B/C, 1A, 4, 5 ve 6) temsil eden altı izolatu TEF1 α , β -tübülün, histon 3, aktin ve kalmodulin için genlerin intronlarında aynı sekansa sahip olduğunu göstermişlerdir. Coğrafi orijin, semptom türü ve çeşide spesifik patojenisitedeki çeşitliliğe rağmen, altı farklı ırkı temsil eden izolatların beş genin intronlarında aynı dizilere sahip olduğu belirlenmiştir.

Sivaramakrishnan vd. (2002), Hindistan'ın *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının genetik değişkenliğini RAPD ve AFLP teknikleri kullanılarak değerlendirmişlerdir. Irk 1 ve 2 iki kümede; ırk 3 ve 4 bir kümede gruplanmıştır. RAPD'lerdeki dördüncü kümenin patojenin dört ırkından hiçbirleriyle uyuşmadığı görülmüştür. Moleküler markırlar, ırk1 ile ırk 2'nin farklılığını; ırk 3 ile ırk 4'ün benzerliğini tespit etmiştir.

Jiménez-Gasco vd. (2004b), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'te ırkların kademeli evrimleşme durumunu analiz etmişlerdir. Tekrarlayan diziler ile DNA parmak izi analizlerine göre bu fungusdaki ırkların tür içi filogenisi sekiz ırkın her birinde monofiletik bir soy oluşturmuştur.

Singh vd. (2006), rizosfer toprağından elde edilen otuz *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatını analiz etmişlerdir. Genetik varyasyon miktarı RAPD ve IGS analizi ile değerlendirilmiştir. İzolatların her biri arasındaki genetik benzerlik hesaplanmış ve sonuçlar farklı lokasyonlardan toplanan izolatlar arasında çok az genetik varyasyon olduğunu göstermiştir.

Bayraktar vd. (2008), Türkiye'deki 13 ilden elde edilen *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in genetik karakterizasyonunu ve popülasyon yapısını 30 rastgele oligomer primeri ve 20 ISSR primeri kullanılarak değerlendirmişlerdir. İzolatlar 3 gruba ayrılmış ve yüksek düzeyde değişkenlik göstermiştir. Dendrogramlarında kümelenme ile coğrafi orijin ve virülslik arasında ilişki bulunamamıştır. İzolatların ILC482 nohut çeşidinde orta derecede virulent olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma Türkiye'de nohuttaki *F. oxysporum* izolatlarının genetik çeşitliliği ve popülasyon yapısı hakkında ilk rapor olarak sunulmuştur.

Bayraktar ve Dolar (2009), nohutta solgunluk ve kök çürüklüğü etmeni fitopatojenler arasındaki polimorfizmleri RAPD ve ISSR primerleri ile incelemiş ve önemli derecede genetik çeşitlilik gözlemlemişlerdir. İzolatlar hassas nohut çeşidi üzerindeki etkilerine göre 3 gruba ayrılmıştır. *F. solani*, Türkiye'de nohut bitkilerinde *Fusarium* kompleksi içinde en sık izole edilen ikinci fungus olarak belirlenmiştir.

Gurjar vd. (2009), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ırklarının ayırımında gen-spesifik markırları, ITS-RFLP, ISSR ve AFLP kullanmışlardır. 80 ISSR primerinden 10 primer ırk 1A ve 4 arasında ve 4 primer ise ırk 1A ve 2 arasında polimorfik profiller üretmiştir. Patojenin ırk 3'ü *F. proliferatum* olarak yeniden sınıflandırılmıştır.

Martin ve Dolar (2009), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in 4 ırkına (ırk 0, 2, 3 ve 5) karşı tescilli nohut hatlarının reaksiyonlarını değerlendirmişlerdir. Küsmen ve Uzunlu-99 çeşitleri ırk 0'a karşı hassas; Gökçe çeşidi ırk 2'ye dayanıklı reaksiyon göstermiştir. Uzunlu-99 ve ILC482'nin en hassas nohut çeşitleri olduğu belirlenmiştir.

Dubey vd. (2010b), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in genetik çeşitliliğini ITS-RFLP ile belirlemişlerdir. İzolatların ITS1+5.8s+ITS2 bölgeleri, bir dizi primer ITS1 ve ITS4 ile amplifiye edilmiştir. Amplikonların *AluI*, *MboI*, *RsaI*, *MseI* restriksiyon enzimi ile kesiminden altı farklı ITS-RFLP modeli elde edilmiştir. ITS bölgesinin nükleotit sekans homolojisi, izolatları 5 kategoride gruplandırmıştır. Taksonomik çalışmalarda kullanılan rRNA genlerinden olan ve Hindistan'a özgü olduğu belirtilen FOCF2 ve FOGR2 primerleri, 292 bp amplikon sağlayarak *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'i tespit etmiştir.

Jiménez-Fernández vd. (2011a), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* DNA'sının toprakta olduğu kadar bitki kökünde ve gövdesinde de 1 pg'a kadar ölçülmesini sağlayan kantitatif PCR (q-PCR) protokolünü geliştirmişlerdir. q-PCR protokolü yapay olarak kontamine edilmiş toprakta ekinden sonra 15 günde patojene karşı dayanıklı nohut reaksiyonlarındaki hassasiyetin ve iki patojenik ırk arasındaki virülenslik derecesinin ayrımını sağlamıştır. Aynı tarlada patojenin çeşitli ırkları tarafından enfekte edilmiş nohut çeşitlerinde, dayanıklılık düzeylerindeki farklılıklar saptanmıştır.

Dubey vd. (2012), Hindistan kökenli *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının virülensliklerini ve genetik çeşitliliklerini analiz etmişlerdir. İzolatlar C104, JG74, CPS1, BG212, WR315, KWR108, GPF2, DCP92-3, Chaffa ve JG62 ırk ayırıcı set üzerinde yüksek seviyede varyasyon göstermiştir. Yeni bir nohut ayırıcı set standartlaştırılmış ve yeni sekiz ırk tanımlanmıştır (ırk 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8). RAPD, evrensel ırk primerleri, SSR ve ISSR moleküler markırları ile gerçekleştirilen moleküler karakterizasyon %100 polimorfizm ile sonuçlanmıştır.

Gurjar vd. (2012), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* enfeksiyonu sırasında nohut köklerinin gen ekspresyon analizini yapmışlardır. Dayanıklı ve hassas çeşitlerin enfeksiyonu sırasında toplam mRNA'dan elde edilen cDNA'lar rastgele oligonükleotitler kullanılarak çoğaltılmıştır.

Diferansiyel olarak eksprese edilen transkriptlerin sekans karakterizasyonu ile çeşitli metabolik fonksiyonlar için gerekli bitki genleriyle transkriptlerin homolojileri belirlenmiştir. Belirli aday gen transkriptlerinin ekspresyon desenleri, enfeksiyonun 6. gününde, inokülasyon yapılan ve yapılmayan dayanıklı ve hassas çeşitlerde analiz edilmiştir. Bu çeşitlerin savunma ile ilişkili genlerinin yarı kantitatif RT-PCR analizi, gen spesifik oligonükleotitler kullanılarak yapılmıştır ve nohut köklerinin fungal invazyonu esnasında transpozaz geninin ekspresyonu görülmüştür. *Fow1* ve *Fgb1* genlerinin enfeksiyon sırasında etmenin virülensliği için temel genler olduğu bildirilmiştir (Gurjar vd., 2012).

Demers vd. (2014), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ırkları arasındaki çeşitliliği ve evrimsel ilişkileri araştırmak için 11 polimorfik mikrosatellit markır tanımlamıştır. Irklar arasındaki önemli fenotipik farklılıklar bulunmasına rağmen yine de küçük bir genetik çeşitliliğin olduğu bildirilmiştir. Etmenin geniş patotipik değişkenliklerine rağmen TEF gen sekanslarının kullanılması ile gerçekleştirilen fungal izolatlarının filogenetik analizi, bu formae speciales'in monofiletik olduğunu göstermiştir. Ayrıca *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in ırkları arasındaki çeşitliliğin az olduğu belirlenmiştir. *F. proliferatum* olarak yeniden tanımlanan etmenin ırk 3'ünün (Gurjar vd., 2009) *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* olduğu belirlenmiştir.

Katkar vd. (2015), toplam 30 RAPD ve 16 ISSR primerini dört *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ırkına karşı taramışlardır. 23 RAPD primeri primer başına ortalama 7 bant olmak üzere %96,12 polimorfizm seviyesi ile ölçülebilir bantlar üretmiştir. 16 ISSR primerinde %92,47 polimorfizm saptanmıştır. RAPD ve ISSR analizinin benzerlik katsayısı ırk 3'ün patojenin diğer üç ırkından farklı olduğunu göstermiştir. 23 RAPD ve 15 ISSR primerleri patojenin 4 ırkının genetik çeşitliliğinin kombine analizinde daha yüksek polimorfizm düzeyi sergilemiştir. Bu çalışmada ırklar arasındaki moleküler çeşitliliğin bilinmesinin ırka spesifik çeşitlerin ıslahında faydalı olabileceği öngörülmüştür.

Mohamed vd. (2015), Sudan, Suriye ve Lübnan'dan elde edilen *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının dört RAPD, üç SSR, beş SCAR primerleri ve üç *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'e spesifik primerler kullanarak genetik karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Benzerlik katsayısına göre izolatlar 2 ana gruba ve 7 alt gruba ayrılmıştır. Sudan izolatları ırk 0, 2 ve bilinmeyen ırk olarak 3 gruba ayrılmıştır.

Tanımlanamayan ırkın diğer ırklara göre daha agresif bir yapı sergilediği tespit edilmiştir. Suriye ve Lübnan kaynaklı izolatlar, sırasıyla ırk 1B/C ve ırk 6 olarak tanımlanmıştır. ırk 0 ve tanımlanamayan ırk bir kümede; ırk 2, 6 ve 1B/C ise diğer kümede yer almıştır. ırk 0 %66 oranla en yaygın ırk olarak bulunmuştur (Mohamed vd., 2015).

Mohammadi vd. (2015), *Fusarium solgunluğuna* farklı tepki gösteren dayanıklı ve hassas yedi nohut çeşidinin enfeksiyonu sırasında gerçekleşen DNA metilasyonundaki değişikliklerin gen ekspresyonunda yer alıp almadığını araştırmışlardır. *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ile inoküle edilen ve kontrol bitkilerinin yapraklarında, köklerinde ve gövdelerinde genomik DNA'nın metilasyon durumunu analiz etmek için metilasyona duyarlı amplifiye polimorfizm (MSAP) kullanılmıştır. İnfektif genotiplerde hipermetilasyon ve demetilasyonun yanı sıra metilasyon tiplerinin potansiyel dönüşümünü içeren kapsamlı sitozin metilasyon değişiklikleri bulunmuştur. Dayanıklı ve hassas genotipler arasında sitozin metilasyonunda önemli farklılıklar saptanmıştır. Belirli genlerin hipermetilasyonunun veya hipometilasyonunun *Fusarium solgunluğuna* karşı dayanıklılıkta rol oynayabileceği bildirilmiştir.

Rakhonde vd. (2015), Hindistan'ın sekiz tarımsal iklim bölgesini temsil eden on sekiz *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatının genetik ve patojenik değişkenliğini analiz etmiştir. Tüm izolatların hassas bir çeşit JG62'ye karşı patojen olduğu kanıtlanmıştır. Rastgele seçilmiş 10-mer 49 primerin polimorfik olduğu ve polimorfizm düzeyinin ise %96,62 olduğu görülmüştür. RAPD verilerinden elde edilen benzerlik endeksinin küme analizi izolatlar arasında en yüksek moleküler çeşitlilik olduğunu ve fungal izolatların dört ana kümede gruplandığını göstermiştir.

Kashyap vd. (2016), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının rDNA'da ITS'in nükleotit sekans analizleri ile etmenin moleküler çeşitliliği ve popülasyon yapılarını karakterize etmişlerdir. MAT idiomorfları, RAPD, ERIC BOX elementleri ve mikrosatellitler için spesifik primerlerle PCR ile üretilen DNA parmak izlerinin de analizini yapmışlardır. Genetik çeşitlilik, virülenslik, ırk kompozisyonları veya izolatların coğrafi orijinleri arasında bir ilişki bulunamamıştır. İzolatların %30'unun oldukça virulent olduğu, %70'inin ise orta derecede virulent veya daha az virulent olduğu görülmüştür.

Mohamed vd. (2016), nohutta kök çürüklüğü ve fide çökerten hastalığına neden olan *F. oxysporum*, *F. solani* ve *F. moniliforme* izolatları üzerinde patojenisite testleri ve RAPD-PCR tekniğiyle bu fungusların genetik çeşitliliğini araştırmışlardır. Farklı virülenslik düzeylerine sahip *F. oxysporum* izolatları arasında %73 genetik benzerlik tespit edilmiştir. Sonuçlar evrimsel çizginin *F. moniliforme*'den *F. oxysporum*'a doğru kaydığını doğrulamıştır. Ayrıca RAPD-PCR tekniğinin *Fusarium* türlerinin ayırımında yararlı bir araç olduğu vurgulanmıştır.

Poornima vd. (2017), altı farklı *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ırkının moleküler karakterizasyonunda gen spesifik ITS, SCAR ve CAPS gibi farklı markır teknikleri kullanmışlardır. FDP9 ve FDP14 ITS primerleri sırasıyla ırk 2 ve 4'ü ayırmıştır. FocR0-M15f/R ve FocR5-L10f/R SCAR primerleri ırk 2 ve 5 için 900 bp büyüklüğünde bant üretmiştir. Tüm ırklarda FDP25 ITS primeri ile elde edilen farklılaşan alellerin restriksiyon analizi ırk 4'te CAPS markırı olarak kullanılabilecek 500 bp'lik bir grubu betimlemiştir. Birden fazla lokusa dayanan parmak izi multipleks-PCR kullanılarak ırkların ayırımını yapan bir dizi primer dizayn edilmiştir.

Tekeoğlu vd. (2017), Türkiye'de 10 ilden elde edilen *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ve *F. redolens* türlerine spesifik PCR primerleri ve TEF-1 α gen bölgesinin sekanslanması ile tür seviyesinde tanımlamalar yapılmıştır. Böylece sekiz izolatın *F. redolens* ve on bir izolatın ise *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ırk 0 olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada, Türkiye'de nohuttan *F. redolens* ilk kez tanımlanmış ve rapor edilmiştir.

Bhar vd. (2018), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ırk 1'in (Focl) invazyonundan sonra salisilik asit (SA) duyarlı bazı transkriptlerin ekspresyon analizlerini yapmışlardır. SA biyosentetik genlerinin qRT-PCR bazlı ekspresyon çalışması, Focl'e karşı aktif bir savunma sağlamak için diğer SA duyarlı genleri ve transkripsiyon faktörlerini aktive eden fenilalanin amonyak liyaz aktivitesi ile SA biyogenezi gerçekleştirdiğini göstermiştir.

Montakhabi vd. (2018), İran orijinli *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarını yüksek polimorfizm gösteren ve izolatların genetik çeşitliliğini ortaya çıkaran ISSR markırları ile 6 grupta ve DAMD-PCR markırları ile 5 farklı grupta sınıflandırmıştır. Bu gruplandırmada coğrafi orijin ile düşük korelasyon göstermiştir.

Alloosh vd. (2019), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in RAPD, SSR ve SCAR markırları ile genetik çeşitliliğini araştırmışlardır. Popülasyonlar içinde yüksek genetik çeşitlilik gözlemlenmiştir. Bazı izolatlar ve ırklar farklı iklim bölgelerine adapte olmuştur. ırk 0, kışlık ve yazlık ekilen nohutta; ırk 6 kışlık nohutta rastlanmıştır.

2.4. Vejetatif Uyum Grupları (VCG) Üzerine Çalışmalar

F. oxysporum'un birçok formae speciales'i vejetatif uyumluluk bakımından araştırılmıştır: *F. oxysporum* f. sp. *apii* (Correll vd., 1986a), *F. oxysporum* f. sp. *asparagi* (Elmer ve Stephens, 1989), *F. oxysporum* f. sp. *cepa* (Swift vd., 2002; Bayraktar vd., 2010), *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Ploetz ve Correll, 1988; Somrith vd., 2011), *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* (Katan vd., 1989), *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* (Roebroek ve Mes, 1992; Di Primo vd., 2002), *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* (Pasquali vd., 2004), *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Elias ve Schneider, 1991), *F. oxysporum* f. sp. *melonis* (Jacobson ve Gordon, 1990), *F. oxysporum* f. sp. *melongenae* (Altinok ve Can, 2010), *F. oxysporum* f. sp. *melonis* (Ahn ve Lee, 2000).

Anagnostakis (1982), vejetatif uyumluluk sisteminin *vic* veya *het* lokusları tarafından kontrol edilen genetik bir özellik olduğunu ve her lokustaki aynı alellerin, anastomoz oluşmadan önce iki uyumlu hifte bulunması gerektiğini bildirmiştir.

Puhalla (1985), Cove (1976) tarafından tanımlanan bir tekniği modifiye ederek, mutajen kullanmadan *F. oxysporum*'un 21 izolatından nitrati kullanmayan (*nit*) mutantları keşfetmiştir. Bu mutantlar minimal besiyerinde şeffaf fakat geniş bir büyüme göstermektedir. Her bir izolattan elde edilen tamamlayıcı *nit* mutantları *nitA* ve *nitB* olarak belirlenmiştir.

Karakterize edilmemiş iki komplementer *nit* mutantını heterokaryon oluşumunu ve vejetatif uyumluluğu değerlendirmek için kullanmıştır. *nit* mutantları eşleşme yaparken anastomoz yapmış ve iki fungal hifin birleşme noktasında yabani tipte gelişim görülmüştür. Ayrıca VCG ve formae speciales arasında bir ilişkinin bulunduğunu yani aynı vejetatif uyum grubu üyelerinin aynı formae speciales'e ait olduğunu bildirmiştir (Puhalla, 1985).

Puhalla (1985), VCG'lerin 3 basamaklı sayısal kodlar kullanılarak formae speciales ile ilişkilendirilmesini kapsayan bir numaralandırma sistemi önermiştir. Ancak, etkili bir iş birliği olmadığında yanlış VCG numaralandırılmasını içeren sorunların ortaya çıktığı görülmüştür. Yeni VCG'ler için kod numaralarına göre uygulanan prosedür yayınlanmadan önce "VCG numaralandırma koordinatörü" tarafından belirlenmiştir (Kistler vd., 1998). Bu formae speciales'lerin 23'ünde daha önce verilen sayısal kodlar muhafaza edilmiştir (Katan, 1999).

Klittich vd. (1986), *F. moniliforme*'den elde edilen *nit* mutantlarının genetik analizlerinde, spesifik *nit* lokuslarını haritalamıştır; *nit1* ve *nit3* mutantlarının her biri tek lokusta bulunmaktadır, oysa beş *nit* lokusunun molibden içeren kofaktörün sentezini etkilediği bilinmektedir. Genetik analizlerin yapılabilmesi için *F. oxysporum*'un telemorfu bilinmediğinden gözlemlenen mutasyonların *F. moniliforme*'de bulunanlara benzediği tahmin edilmektedir ve bu mutasyonlar *F. oxysporum*'daki üç fenotipik sınıfın oluşmasına neden olmuştur. Bu nedenle aynı *nit* mutant gen ismi ve *F. moniliforme* ile kullanılan sayı dizaynı tercih edilmiştir. *F. oxysporum*'daki NitM mutantları genetik olarak birbirinden ayrılmadığı için bu mutantlar genotip dizaynı ile verilmiştir. Eşleşme reaksiyonlarına göre bu mutantlar birden fazla lokustaki mutasyonlarla temsil edilmektedir.

Correll vd. (1987b), *F. oxysporum*'dan elde edilen *nit* mutantlarının sıklığı ve fizyolojik fenotipini belirlenmişlerdir. Daha sonra farklı fenotipik sınıflardaki *nit* mutantlarının vejetatif uyumluluk testlerinde kullanımı değerlendirmişlerdir. İzolatlar klorat içeren FMM veya PDA'da kültüre alındığında *F. oxysporum*'un yedi izolatından klorata dayanıklı sektörler kolaylıkla elde edilmiştir. Bu sektörler klorat içeren PDA'da koloni başına 0,92 ile 1,65 sektör arasında ve FMM'de koloni başına 0,33 ile 0,96 sektör arasındaki ortalama bir sıklıkta elde edilmiştir. Klorata dayanıklı sektörler *nit* mutantı olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada heterokaryon kendine uyumsuz izolat T62 hariç, belirli bir *F. oxysporum* izolatından elde edilen bütün NitM mutantları, aynı izolattan gelen *nit1* ve *nit3* mutantlarının tamamıyla eşleşmiştir. Bazı NitM mutantları da birbiriyle eşleşmiştir.

Jacobson ve Gordon (1988), *F. oxysporum* f. sp. *melonis* izolatlarında 5 VCG tanımlamışlardır. Irk, VCG ve coğrafi dağılımlar arasında karmaşık bir ilişki olduğunu ve ırkların bir veya birden fazla VCG içerdiğini bildirmişlerdir.

Tek bir VCG içinde çoklu fizyolojik ırkların varlığının ise seksüel çoğalan fungusların vejetatif uyumlu olma çabaları ile ilişkilendirmişlerdir (Jacobson ve Gordon, 1988).

Khan vd. (2002), Pakistan'daki *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının vejetatif uyumluluğu üzerine yaptıkları çalışmalarında iki farklı VCG belirlemişler ve Pakistan'da yalnızca solgunluk grubunun VCG'sinin yaygın olduğunu rapor etmişlerdir. Virüent izolatların solgunluk izolatlarıyla (ırk 5 ve 1A) uyumlu olduğunu ve uyumluluk grubunun VCG0280 olabileceğini bildirmişlerdir. Sararma izolatları (ırk 0) solgunluk veya yerel virüent izolatlar ile uyumlu olmadığından başka bir VCG'ye atanmıştır. Az virüent veya patojenik olmayan izolatlar birbirleriyle ve virüent izolatlar ile uyumlu bulunmamıştır. Irk ve VCG arasında bir ilişki bulunmayıp solgunluk izolatlarının aynı VCG'ye ait olduğundan semptomlar ile VCG arasında bir ilişki bulunmuştur.

Zamani vd. (2004), İran'da *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarında miselyal uyumluluk, virülenslik ve RAPD analizleri gerçekleştirmişlerdir. İzolatları VCG1, VCG2 ve VCG3 olmak üzere 3 VCG'ye ayırmışlardır. *F. oxysporum* izolatları arasında yüksek varyasyonu belirleyen RAPD analizleri ile VCG arasında herhangi bir ilişki bulunmadığı saptanmıştır.

Nogales-Moncada vd. (2009), Kaliforniya, Hindistan, Tunus ve İspanya'dan elde edilen *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ve Cezayir, İtalya, Fas, Pakistan ve İspanya'da nohuttan izole edilen patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatlarının VCG testlemelerini yapmışlardır ve tek VCG bulunmuştur. Bazı izolatlar bu VCG'de bir veya daha fazla izolatla eşleşmemiştir. Patojenik olmayan izolatlar arasında çok üyeli üç VCG bulunmuştur. Patojenik olmayan izolatların çoğu sararma tipi düşük virüent izolat ile uyumlu olmuştur. Bu nedenle patojenik ve patojenik olmayan popülasyonlar arasında geçiş izolatlarının var olabileceği öngörülmüştür. Tek VCG'nin varlığı fungusun monofiletik orijini ile ilişkilendirilmiştir.

Tok (2010), Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nden *F. oxysporum* f. sp. *melonis* ve *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*'un patojenik karakterizasyonunu ve VCG analizlerini yapmıştır. *F. oxysporum* f. sp. *melonis* izolatları 3 VCG'ye ve *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* izolatları ise 2 VCG'ye atanmıştır.

Ahmad (2010), Pakistan kökenli *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının patojenik karakterizasyon ve VCG çalışmalarını gerçekleştirmiştir. 26 izolat ile yapılan VCG çalışmasında testlenen 350 kombinasyonun %26'sının uyumlu ve %74'ünün uyumsuz olduğu belirlenmiştir.

Güneş (2012), Türkiye'de 6 ilden (Adana, Kahramanmaraş, Şanlıurfa, Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin) elde edilen *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarında VCG testleri yapmıştır. Kahramanmaraş, Adana ve Adıyaman izolatlarında tek bir VCG; Diyarbakır ve Mardin izolatlarında 2 VCG belirlenmiştir. Şanlıurfa'da net bir VCG bulunmamıştır. Çoklu VCG'lerden dolayı izolatların polifiletik olabileceği bildirilmiştir.

Ilić vd. (2013), asemptomatik yabancı otlardan (*Abutilon theophrasti*, *Xanthium stramonium*, *Chenopodium album*, *Matricaria perforata*., *Ambrosia artemisiifolia*, *Polygonum lapathifolium*, *Sonchus arvensis*, *Amaranthus blitoides*, *Amaranthus retroflexus*, *Datura stramonium*, *Sorghum halepense* ve *Hibiscus trionum*) izole edilen *F. oxysporum*'un VCG'sini belirlemişlerdir. Eşleşme testleri sonucunda 2 VCG belirlenmiştir. İzolatların moleküler yöntemlerle de değerlendirilmesi ve olası filogenetik ilişkileri iyice belirlemek için kurulan VCG'lerle karşılaştırılması gerektiği vurgulanmıştır.

Saabale (2013), Hindistan'ın farklı tarımsal bölgelerinden elde edilen 39 *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatını VCG çalışmasında kullanmıştır. 379 *nit* mutantının %73,3'ü *nit1*, %15,6'sı *nit3* ve %9,5'i NitM olarak sınıflandırılmıştır. İzolatların %50'den fazlasında heterokaryon kendine uyumsuzluk (HSI) görülmüştür. Testlenen izolatların VCG0280'e ait olabileceği bildirilmiştir. Virülenslikteki değişkenliğe rağmen patojenin popülasyonunun sadece bir VCG'ye sahip olduğu saptanmıştır.

Fallahi vd. (2014), farklı konukçulardan (patates, bakla, nohut, kavun, karpuz ve salatalık) elde edilen *F. solani* izolatlarının VCG'lerini belirlemişlerdir. VCG temsilcilerinin konukçu özgülüğünü incelemek için seradaki patates bitkileri ve laboratuardaki patates yumruları üzerindeki patojenisitelerini karşılaştırmışlardır. Aynı zamanda VCG'yi rep-PCR (tekrarlayan dizi bazlı polimeraz zincir reaksiyonu) ile kıyaslamışlardır. Her konukçunun izolatları farklı VCG'lerde sınıflandırılmıştır. Rep-PCR verileri kullanılarak oluşturulan dendrogram, izolatlar arasında yüksek düzeyde bir genetik çeşitlilik olduğunu göstermiştir. DNA parmak izi grupları ile izolatların konukçu veya coğrafi orijinleri arasında bir ilişki bulunmamıştır.

Saabale ve Dubey (2014), Hindistan'ın farklı yerlerinden toplanan ve patojenin sekiz ırkını temsil eden *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının virülenslik ve VCG analizlerini yapmışlardır. Solgunluk insidansı hassas bir çeşit JG62'de %24-100 arasında değişkenlik göstermiştir. İzolatlardaki heterokaryon oluşumu belirlemek için komplementer *nit* mutantları tüm olası kombinasyonlarda eşleştirilmiştir ve bu izolatların çoğunun kendi kendine uyumlu olduğunu görülmüştür. İzolatların patojenisinde yüksek varyasyon saptanmasına rağmen *nit* mutantların eşleşmesi sonucu tek bir VCG belirlenmiştir.

Pintore vd. (2017), Avrupa'da gözlenen son epidemilerin genetik değişkenlik seviyesini değerlendirmek ve marulda solgunluk etmeni olan *F. oxysporum* f. sp. *lactucae*'ın VCG durumunu güncellemek amacıyla bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Komplementasyon analizlerine göre, test edilen tüm İtalyan izolatları VCG 0300'e dahil olmuştur. Irk 2 ve ırk 3'e ait izolatlar sırasıyla VCG 0301 ve 0302'e ve Hollanda izolatları 0303 numaralı yeni bir VCG'ye ait olmuştur.

BÖLÜM III

MATERYAL VE METODLAR

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki ve Patojen Materyali

Bu çalışmada Türkiye’de nohut yetiştiriciliği yapılan illerde 2015 ve 2016 yılları arasında Mayıs ve Haziran aylarında sistematik tarla çalışmaları yapılmıştır. Survey çalışmaları, tarla gözlemleri ve izolat temin etmek için gerçekleştirilmiştir. İncelenen tarlalarda solgunluk ve sararma semptomları gösteren bitkiler toplanmıştır. Patojenisite testleri lokasyonlara göre homojen bir şekilde seçilen 442 *Fusarium oxysporum* izolatı üzerinde ILC482 nohut çeşidi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Vejetatif uyumluluk gruplaması (VCG) çalışmaları, 121 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatı ve patojenik olmayan 6 adet *F. oxysporum* izolatı ile yapılmıştır. Fungal patojen izolasyonları ve VCG çalışmaları Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü laboratuvarlarında; patojenisite çalışmaları Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü’nde bulunan iklimlendirme odasında gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Patojen İzolasyonunda Kullanılan Besiyerleri, Kimyasallar ve Cihazlar

Fungus kültürlerinin hazırlanması, geliştirilmesi ve muhafazası işlemlerinde steril kabin (Esco Airstream®, Singapur), otoklav (Hirayama, Japonya), hassas terazi (Ohaus, ABD), mikrodalga fırın (Vestel, Türkiye), inkübatör (Nüve, Türkiye), buzdolabı (Vestel, Türkiye), derin dondurucu (Uğur, Türkiye), ışık mikroskobu (Zeiss Primo Star, Almanya), pens, steril özeler, bistüri, mezür, beher, erlen, PDA (Merck, Almanya), PDB (Acumedia, ABD), NaOCI ve Tween 20 (0,5 ml/L, Sigma, Fransa) kullanılmıştır. Besiyeri içerikleri Ek 1’de verilmiştir.

3.1.3. Patojenisite Testlerinde Kullanılan Ekipman, Kimyasallar ve Cihazlar

Denemede kullanılacak spor süspansiyonlarının hazırlanması için manyetik karıştırıcı (Heidolph MR Hei Standard, Almanya), beher, manyetik balıklar, Thoma lamı (Isolab, Almanya), lam ve lamel, viyoller (13 x 8) ve saksılar (14 cm) kullanılmıştır.

3.1.4. İzolatların Muhafazasında Kullanılan Ekipman, Kimyasallar ve Cihazlar

PDA, 2 ml'lik ependorf tüp, pens, bistüri, Whatman kağıdı (no. 4, Sigma, Almanya), zarf, gliserol (Sigma, Almanya), NaCl (Sigma, Danimarka), silikajel (Tekkim, Türkiye), otoklav (Hirayama, Japonya), derin dondurucu (-20°C Uğur, Türkiye ve -80°C Hettich, Almanya).

3.1.5. DNA Analizlerinde Kullanılan Ekipman, Kimyasallar ve Cihazlar

Moleküler DNA analizlerinde kullanılmak üzere fungal patojenin genomik DNA izolasyonu manuel olarak gerçekleştirilmiştir. Moleküler analizlerde derin dondurucu (-20°C Uğur, Türkiye ve -80°C Hettich, Almanya), orbital çalkalayıcı (Gerhardt, Almanya), havan ve havan eli, sıvı nitrojen, soğutmalı santrifüj (Hettich, Almanya), vorteks (Heidolph, Almanya), pH metre (Isolab, Tayvan) Tris Base (Sigma, ABD), HCl (Sigma, ABD), NaCl (Merck, Almanya), EDTA (Sigma, ABD), NaOH (Merck, Almanya) kloroform (Sigma, Almanya), izoamil alkol (Merck, Almanya), etanol (%70 ve %95) (Sigma, Almanya), glasiyel asetik asit (Sigma, Almanya), DNA konsantrasyon cihazı (Nanodrop, Maestrogen, ABD), PCR cihazı (Applied Biosystems, Proflex, ABD), agaroz (Sigma, ABD), agaroz jel elektroforezi (Cleaver, İngiltere), jel görüntüleme cihazı (Vilber Lourmat, Fransa), ependorf ve PCR tüpleri (Isolab, Almanya), 1.000 µl, 100 µl ve 10 µl'lik pipetörler (Axygen, Polonya) ve mikropipet uçları (Axygen, Polonya), 10XTaq PCR buffer (Thermo Fisher Scientific, ABD), 25 mM MgCl₂ (Thermo Fisher Scientific, ABD), Taq DNA Polimeraz (Invitrogen, ABD), dNTP (100 mM, 25 µmol, dGTP, dATP, dCTP, dTTP) (Sigma, ABD), Primer (3'-5'), 6X Loading dye (Thermo Fisher Scientific, ABD), EtBr (Sigma, İsviçre) ve 1 kb ve 100 bp DNA Ladder (Geneaid, Tayvan) kullanılmıştır.

3.1.6. VCG Analizlerinde Kullanılan Ekipman, Kimyasallar ve Cihazlar

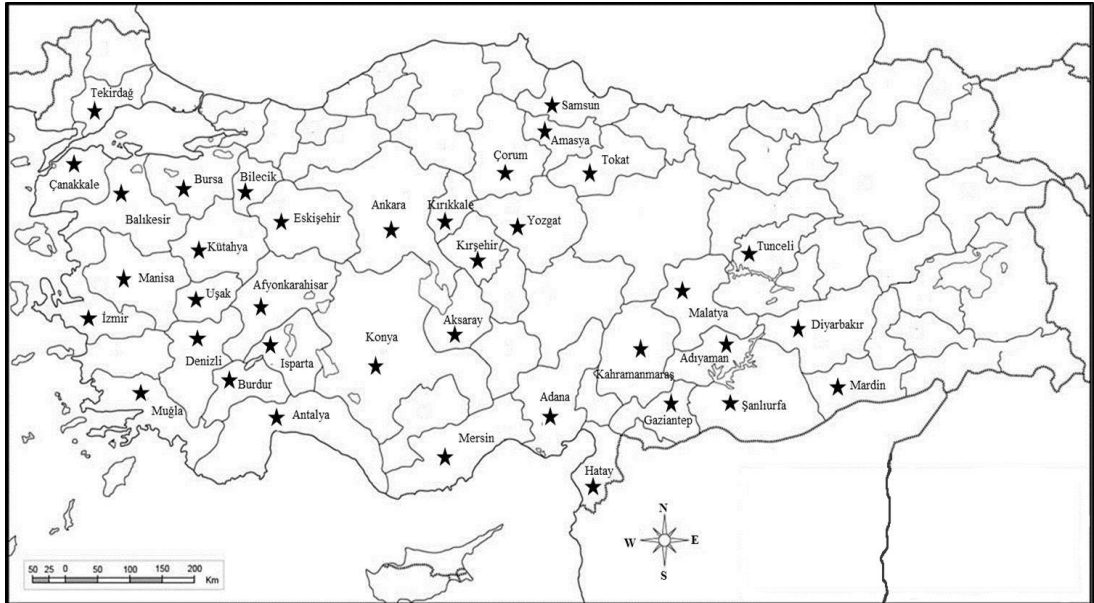
VCG analizinde *nit* mutantlarının belirlenmesinde NaNO_3 içeren ve içermeyen FMM (Fusarium Minimal Media) besiyerleri ile FMMC (KClO_3 içeren FMM) ve PDAC (KClO_3 içeren PDA) besiyerleri kullanılmıştır. Besiyeri içerikleri Ek 2’de verilmiştir.

Fungal kültürlerin hazırlanması ve geliştirilmesi işlemlerinde steril kabin (Esco Airstream®, Singapur), otoklav (Hirayama HV-50L, Japonya), hassas terazi (Ohaus AX224, ABD), mikrodalga fırın (Vestel MW20-MW, Türkiye), inkübatör (Nüve ES 252, Türkiye), bistüri, mezür ve beher kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Survey Çalışmaları ve Enfekte Bitki Örneklerinin Alınması

Türkiye’nin survey çalışmalarının gerçekleştirildiği iller Şekil 3.1’te; bu illerdeki tarla sayısı ve tarla büyüklüğü Tablo 3.1’de verilmiştir. Her bir tarlanın büyüklüğü (da), hastalık şiddeti (%), lokasyonu (il, ilçe ve köy) ve yabancı ot sayısı (m^2) kaydedilmiştir. Ayrıca her bir tarladaki nohut bitkilerinin vejetatif durumu, bitki boyu (cm) ve nodül sayısı kaydedilmiştir. Tarlaların koordinat ve rakım değerleri Global Positioning System (GPS) kullanılarak alınmış ve kaydedilmiştir.



Şekil 3.1 Türkiye’de 2015 ve 2016 yıllarında survey çalışması yapılan nohut tarlalarının coğrafi dağılımı (İller yıldız ile işaretlenmiştir).

Tablo 3.1 Türkiye’de 2015 ve 2016 yıllarında survey yapılan illerin tarla bilgileri

Bölgeler	İller/İlçeler	İncelenen tarla sayısı	İncelenen tarla büyüklüğü (da)
Güneydoğu Anadolu Bölgesi	Adıyaman/Merkez, Besni, Kâhta, Samsat, Gölbaşı	20	1.423
	Mardin/Dargeçit, Midyat, Savur	5	20
	Diyarbakır/Ergani, Çermik	6	25
	Şanlıurfa/Merkez, Birecik, Bozova, Siverek	6	222
	Gaziantep/Yavuzeli, Oğuzeli, Şehitkâmil, Şahinbey, Araban, Nizip	37	1.489
Doğu Anadolu Bölgesi	Malatya/Doğanşehir, Akçadağ, Darende	7	214
	Tunceli/Ovacık	5	167
	Antalya/Döşemealtı, Elmalı, Korkuteli	15	201
Akdeniz Bölgesi	Burdur/Bucak	6	41
	Hatay/Belen, Antakya	4	65
	Kahramanmaraş/Merkez, Pazarcık, Afşin	10	555
	Adana/Kozan, Sarıçam, Yüreğir	8	151
	Mersin/Çamlıyayla, Tarsus, Silifke, Gülnar, Mut	41	457
	Isparta/Keçiborlu, Gelendost, Yalvaç, Şarkikaraağaç	15	162
	Denizli/Karahayıt, Serinhisar, Tavas	9	135
Ege Bölgesi	Muğla/Fethiye	5	47
	Uşak/Merkez, Eşme, Ulubey, Karahallı, Banaz	19	1.265
	Manisa/Demirci, Selendi, Kula	12	80
	Kütahya/Merkez, Altıntaş, Aslanapa, Çavdarhisar, Gediz	19	166
	Afyonkarahisar/Sinanpaşa, Şuhut, Dinar	7	85
	İzmir/Menemen	1	*
	Balıkesir/Gönen, Bandırma	7	93
Marmara Bölgesi	Bilecik/Bozüyük	6	52
	Bursa/Nilüfer	1	2
	Çanakkale/Ezine, Bayramiç, Biga	12	98
	Tekirdağ/Malkara, Şarköy	7	34

Tablo 3.1 Devamı

Bölgeler	İller/İlçeler	İncelenen tarla sayısı	İncelenen tarla büyüklüğü (da)
İç Anadolu Bölgesi	Aksaray/Merkez, Güzelyurt	11	121
	Kırşehir/Central, Kaman, Akpınar	21	1.018
	Yozgat/Merkez, Yerköy, Saraykent, Sorgun	21	663
	Ankara/Sincan, Ayaş, Güdül, Beypazarı, Gölbaşı	13	221
	Konya/Akören, Kadınhanı, Hüyük, Beyşehir, Ilgın, Derbent	22	732
	Eskişehir/Merkez, Sivrihisar, Seyitgazi, Odunpazarı	10	350
	Kırıkkale/Balıoğlu	4	270
	TOPLAM	37/106	423
Karadeniz Bölgesi	Amasya/Merkez, Taşova	8	26
	Samsun/Havza	4	13
	Çorum/Merkez, Alaca	13	147
	Tokat/Merkez	6	27
TOPLAM		37/106	423
		423	10.837

*Hastalıklı bitki örnekleri Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden (İzmir) elde edilmiştir.

Survey çalışmalarında kullanılan sistematik örnekleme yöntemine göre (Nutter ve Gaunt, 1996) tarlanın en az %5'lik kısmı hastalık açısından değerlendirilmiştir. Survey yapılacak güzergâhlarda, her 10-20 km'de bir durularak, sağ ve sol taraftaki nohut tarlaları incelenmiştir. Tarlaların köşegenleri doğrultusunda ilerleyerek 10 dekar kadar en az 5; 10-100 dekar olanlardan en az 8; 100 dekardan büyük olanlardan en az 10 farklı noktada bitkilerin enfeksiyon durumları değerlendirilmiş ve örnekleme yapılmıştır. Fungal enfeksiyon, akropetal sararma ve nekrozun esas alındığı 0-4 skalasına göre değerlendirilmiştir (Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz, 1985). Bu skalaya göre; 0: %0 (Gözle görülebilir hastalık semptomu yok), 1: %1-33 (Solgunluk başlangıcı, alt yapraklarda ve ince damarlarda renk açılması), 2: %34-66 (Bitkide gelişme geriliği, kloroz ve nekroz), 3: %67-100 (Genel solgunluk, yapraklarda kuruma, dökülme ve uçlardan geriye doğru ölüm) ve 4: Ölü bitki.

Bitki örnekleri kese kâğıtlarına konulup etiketlenerek patojen izolasyonu amacıyla laboratuvara getirilmiş ve izolasyonlar yapılana kadar +4°C'de muhafaza edilmiştir. Her bir tarla için hastalık şiddeti hesaplamaları skala değerleri üzerinden, Townsend ve Heuberger (1943) formülü kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

$$\% \text{ Hastalık şiddeti} = \sum \frac{\text{Skala değeri} \times \text{Bitki sayısı}}{\text{Toplam bitki sayısı} \times \text{En yüksek skala değeri}} \times 100$$

Ayrıca hastalık insidansı (hastalıklı bitkilerin oranı) ve hastalık yaygınlığı (hastalıklı tarlaların oranı) aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır:

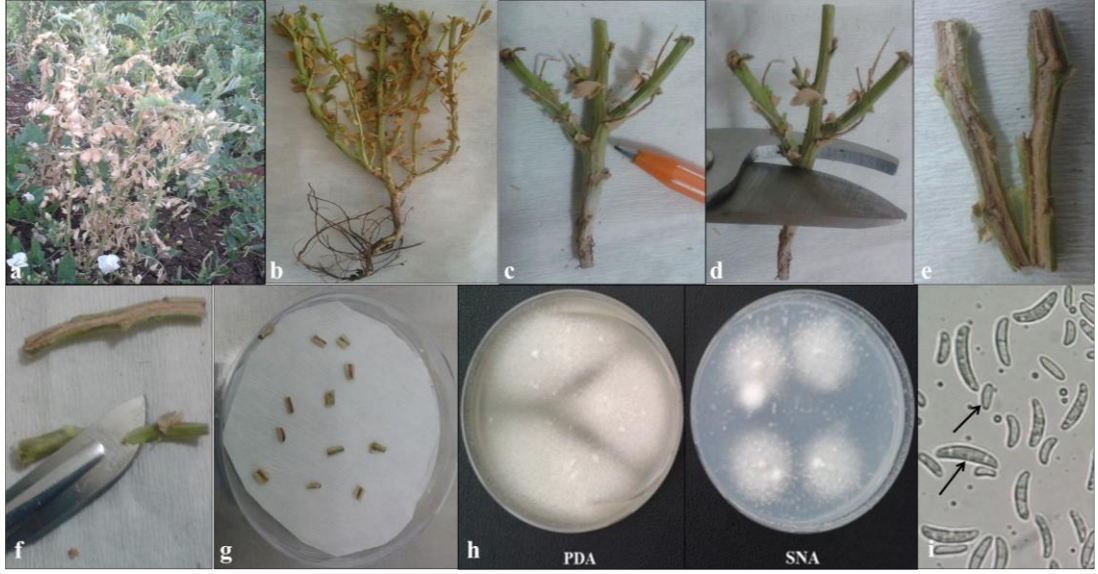
$$\% \text{ Hastalık insidansı} = \sum \frac{\text{Hastalıklı bitkilerin sayısı}}{\text{Toplam bitki sayısı}} \times 100$$

$$\% \text{ Hastalık yaygınlığı} = \sum \frac{\text{Hastalıklı tarlaların sayısı}}{\text{Toplam tarla sayısı}} \times 100$$

Her bir tarla için hastalık şiddeti, hastalıklı bitki sayısı toplamı yüzdeye (%) dönüştürülerek hesaplanmış ve hastalık şiddeti oranı, her bir tarladaki hastalıklı nohut bitkisinin ortalama şiddetini temsil etmektedir (Tadesse vd., 2017).

3.2.2. *Fusarium oxysporum* İzolasyonları, Tanı ve Muhafazası

Fusarium solgunluk ve sararma semptomları gösteren nohut bitkilerinin patojen izolasyonunda, kök boğazının 1-2 cm yukarısından steril makas ile yaklaşık 20 cm'lik parçalar halinde kesilen bitkilerin vasküler sistemindeki renk değişikliği incelenmiştir (Şekil 3.2 d-e). Kesilen örneklerin dış dokusu bistüri ile temizlenmiştir (Şekil 3.2 f). Her bitki bir izolat kabul edilerek, lezyonlu bölgeyi içine alacak şekilde 1-2 cm büyüklüğünde parçalara ayrılmıştır. Çeşme suyunda yıkananan bitki materyalleri %1'lik NaOCI (sodyum hipoklorit, 0,5 ml/L, Tween 20 eklenmiş) çözeltisinde 2-3 dakika bekletilerek yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuş ve sterilantı uzaklaştırmak için 2-3 defa sdH₂O (steril distile su) ile yıkanmıştır. Yıkanan materyaller, nemi alınmak üzere steril kurutma kâğıtları arasında bekletilmiştir (Şekil 3.2 g). Kuruyan bitki materyalleri streptomycin (100 g/ml) içeren PDA (Patates Dekstrozu Agar) ve SNA (Sentetik Nutrient Agar) besiyerlerine ekilmiş ve 24±2°C'de 3-5 gün inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.2 h) (Altınok ve Can, 2010). Gelişen fungal kültürler makroskobik ve mikroskobik olarak incelenmiştir (Şekil 3.2 h ve i). Bu amaçla koloni rengi, makrokonidi, mikrokonidi, konidiyofor ve fiyalid yapıları incelenerek *F. oxysporum* izolatları belirlenmiştir (Leslie ve Summerell, 2006). Yapılacak analizlerin hassasiyetinden dolayı sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere fungal kültürlerin tek spor izolasyonları yapılarak saf kültürler elde edilmiştir (Şekil 3.3).



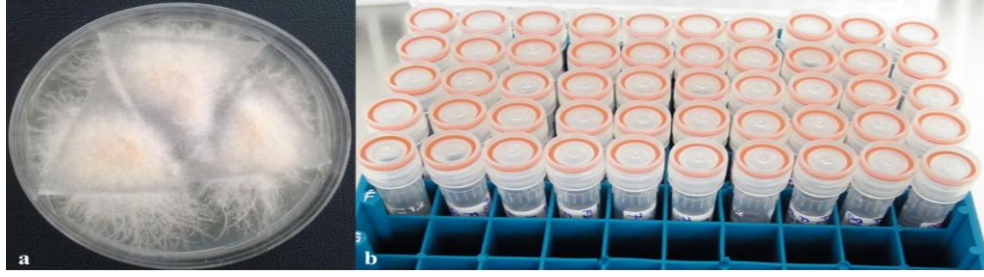
Şekil 3.2 Nohut bitkisinden fungal patojen izolasyonu aşamaları

(a-c) hastalıklı nohut bitkisi, (d-f) bitkinin patojen izolasyonuna hazırlanması, (g) yüzey sterilizasyonu uygulanmış bitki materyalleri, (h) inkübasyondan sonra *Fusarium oxysporum* kolonileri ve (i) makrokonidileri ve mikrokonidileri



Şekil 3.3 (a-b) Nohut bitkisinden izole edilen *Fusarium oxysporum*'un PDA'daki saf kültürleri, (c) makrokonidi ve mikrokonidi şekilleri (Bar 20 µm)

Fungal izolatların muhafazasında 2 farklı yöntem uygulanmıştır. Fungal kolonilerden steril bistüri ile 8-10 adet küçük parçalar alınarak %20'lik Gliserol stok solüsyonu (20 ml/100 cc Gliserol, 0,25 g/100 cc NaCl) bulunan 2 ml'lik ependorf tüplere konulmuş ve -80°C'de saklanmıştır. PDA besiyerindeki steril Whatman kâğıdı (no. 4) üzerine fungal kolonilerinden steril bistüri ile küçük bir parça konulmuş ve 7-10 gün süreyle 24±2°C'de inkübe edilmiştir. Whatman kâğıdı üzerinde yeterli gelişim olduğunda bu kağıtlar steril pens ile çıkarılarak kurutulmuş ve içerisinde silikajel olan polietilen saklama kaplarında -20°C'de muhafazaya alınmıştır (Şekil 3.4).



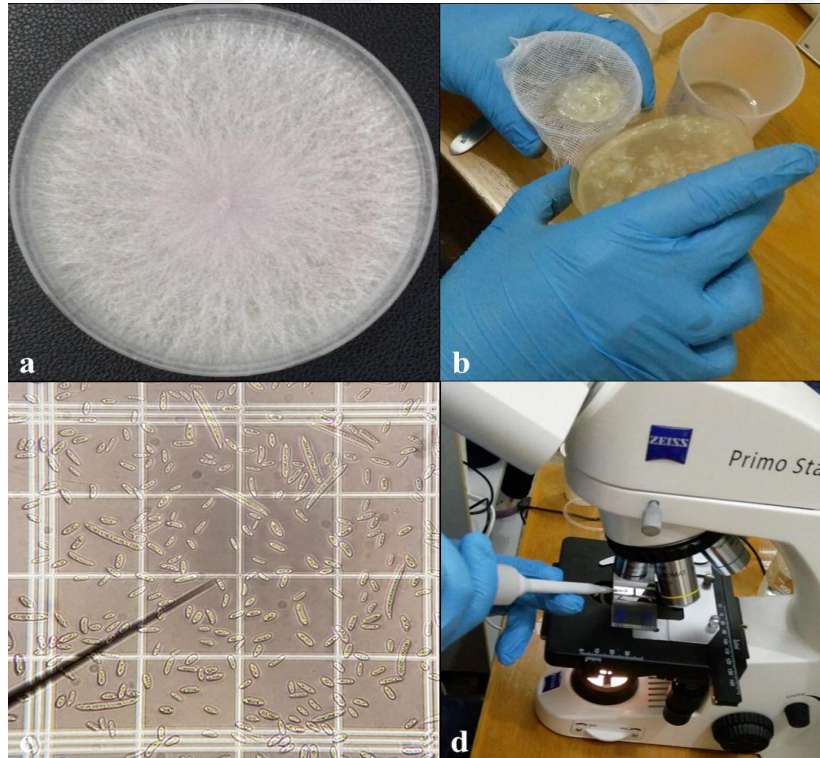
Şekil 3.4 Fungal izolatların muhafazası

(a) Whatman kâğıdında ve (b) Gliserol stok solüsyonunda

3.2.3. Patojenisite Testleri

3.2.3.1. İzolatların ve Spor Süspansiyonlarının Hazırlanması

Spor süspansiyonlarının (inokulum) hazırlanmasında PDA besiyerinde $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 10-14 gün süreyle inkübe edilmiş *F. oxysporum* izolatları kullanılmıştır. Fungal kültürlerin üzerine 50 ml sdH₂O dökülerek kazınmıştır. Sporların suya geçmesi sağlanmış ve steril tülbent ile inokulumdan misel ve agar kalıntıları uzaklaştırılmıştır. Thoma lamında (hemocytometer) sayılan inokulum konsantrasyonu 1×10^6 konidi/ml'ye ayarlanmıştır (Altınok ve Can, 2010) (Şekil 3.5).



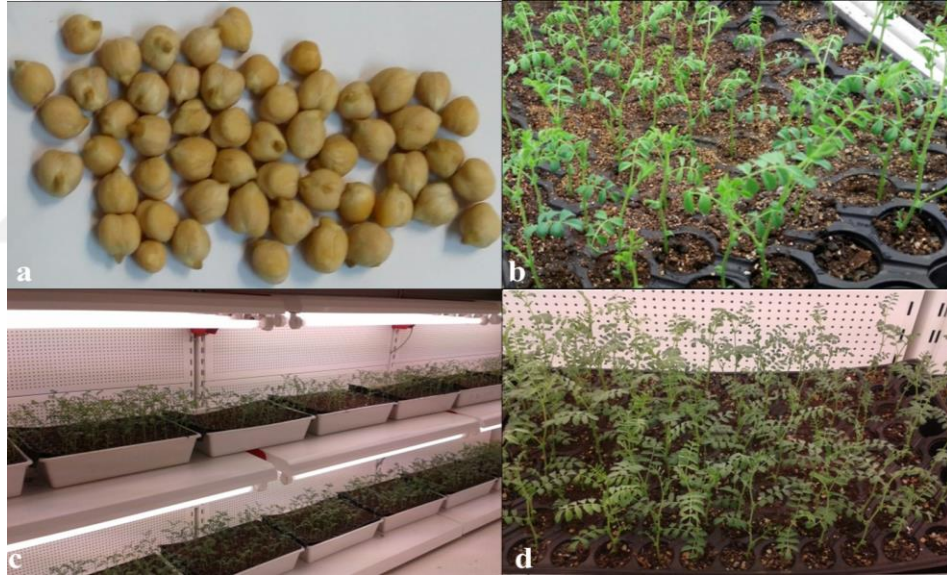
Şekil 3.5 Patojenisite çalışmalarında kullanılan fungal inokulumun hazırlanması

(a) fungal kültür, (b) inokulumun süzülmesi ve (c-d) Thoma lamında sayım

3.2.3.2 Bitki İnokulasyonları ve Değerlendirmeler

F. oxysporum f. sp. *ciceris* popülasyonunun ve patojenik izolatların virülenslik seviyelerinin belirlenmesi amacıyla patojenisite çalışmaları yapılmıştır. *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'e karşı hassas bir çeşit olan ILC482 nohut çeşidi patojenisite çalışmalarında kullanılmıştır. Toprak:torf:vermikulit (1:1:3, v/v/v) içeren toprak karışımı 13 x 8'lik viyollere doldurulmuş ve ILC482 nohut tohumlarının ekimi yapılmıştır. Viyoller 12 saatlik fotoperiyotta (11.000 lüks), 25±2°C sıcaklığa ve %50-70 neme ayarlı iklim kontrollü kabinde tutulmuştur (Dolar, 1995) (Şekil 3.6).

Bitkiler gerekli görüldükçe sulanmıştır. Çimlenmeden yaklaşık iki hafta sonra, bitkiler 4-5 adet yan dala sahip olduğunda kök daldırma yöntemine göre patojenisite testi uygulanmıştır (Biles ve Martyn, 1989).



Şekil 3.6 İnokulasyon amacıyla kullanılan ILC482 nohut çeşidi

(a) ILC482 nohut tohumları, (b-d) viyollerde geliştirilen bitkiler

Viyollerinden köklerine zarar vermeden çıkarılan nohut fidelerinin üzerindeki toprak çeşme suyunda yıkanarak arındırılmış ve fidelerin kök uçları steril makas ile 2-3 cm kesilmiştir (Şekil 3.7 a-d). Hazırlanan fungal inokulumda kökler 5 dakika bekletilmiştir. Kontrol bitkilerine inokulum yerine sdH₂O uygulanmıştır (Şekil 3.7 e) (Altınok ve Can, 2010). İnokulasyondan sonra fideler, toprak:torf:vermikulit (1:1:3, v/v/v) karışımını içeren 14 cm çapındaki saksılara her bir saksıya 4'er tane olacak şekilde dikilmiş ve deneme 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.7 f ve g).



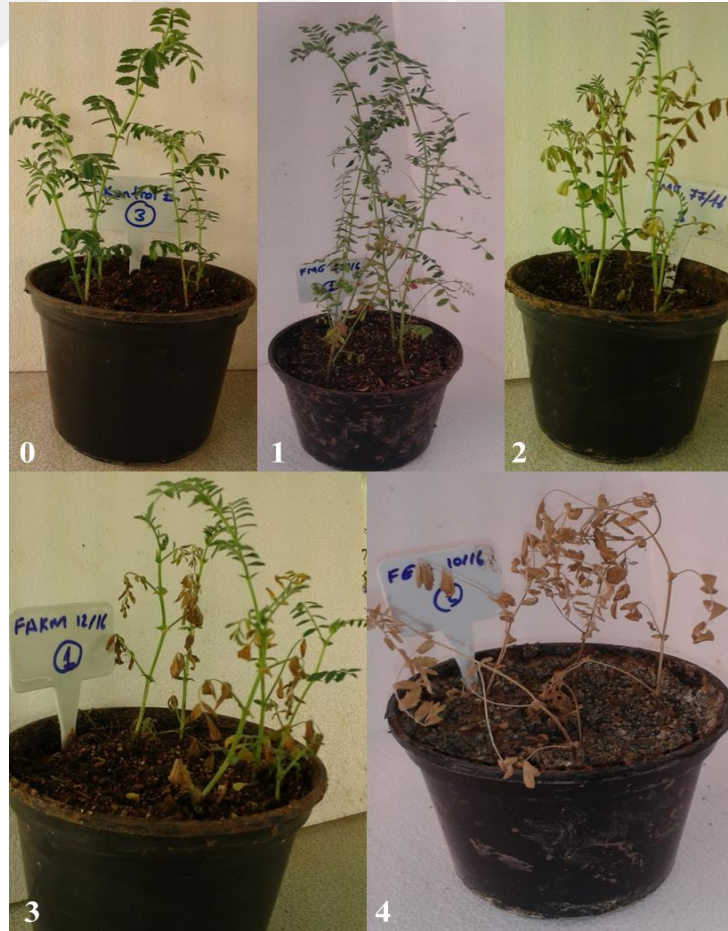
Şekil 3.7 Patojenisite çalışmalarında bitki inokülasyonları

(a-b) bitkilerin viyolden çıkarılması, (c-d) köklerin temizlenmesi ve uç kısımlarının kesilmesi, (e) bitkinin inokulumda bekletilmesi, (f-g) inokulum uygulaması yapılan bitkilerin saksılara yerleştirilmesi

Deneme; 14 saat aydınlık (12.000-15.000 lüks), 10 saat karanlık fotoperiyotta, gündüz %50-90 bağıl neme ve 22-28°C sıcaklığa, gece %60-100 bağıl neme ve 18-24°C sıcaklığa ayarlı iklim kontrollü kabinde gerçekleştirilmiştir (Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz, 1985) (Şekil 3.8). İnokülasyondan sonra bitkiler günlük olarak sulanmış ve kontrol edilmiştir. Hastalık reaksiyonları, her bir bitki için 0-4 skalasına göre ilk semptomların görüldüğü günden itibaren bitkilerde ölüm görünümlerinin başladığı süreye kadar 28 gün boyunca 7 gün aralıklarla değerlendirilmiştir (Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz, 1985). Bu skalaya göre 0: Gözle görülebilir hastalık semptomu yok (%0); 1: Solgunluk başlangıcı, alt yapraklarda ince damarlarda renk açılması (%1-33); 2: Bitkide gelişme geriliği, kloroz ve nekroz (%34-66); 3: Genel solgunluk, yapraklarda kuruma, dökülme ve uçlardan geriye doğru ölüm (%67-100); 4: Kuruma ve ölüm (Ölü Bitki) (Şekil 3.9). Hastalık şiddeti (%), Townsend ve Heuberger (1943) formülüne göre hesaplanmıştır (Nutter ve Gaunt, 1996).



Şekil 3.8 İnokulum uygulanmış ILC482 nohut çeşidi



Şekil 3.9 Hastalık değerlendirmelerinde kullanılan 0-4 skala değerleri

Patojenisite testlerinden elde edilen veriler aşğıdaki AUDPC (The Area Under The Disease Progress Curve-Hastalık İlerleme Eğrisi) formülüne göre hesaplanmıştır (Simko ve Piepho, 2012):

$$AUDPC = \sum[(x_i + x_{i+1}) / 2] (t_{i+1} - t_i)$$

x_i , i günündeki değeriendirilmede kaydedilen hastalık şiddeti; $(t_{i+1} - t_i)$, ardışık iki ölçüm arasındaki zaman.

3.2.3.3 Koch Postulatları

İnokulasyondan 28 gün sonra, *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* olarak belirlenen izolatların nohutta vasküler enfeksiyonu sağlayıp sağlamadığını belirlemek amacıyla inokulum uygulanmış bitkilere ve kontrol bitkilerine Koch postulatı uygulanmıştır. Bu uygulamada patojen izolasyonundaki prosedürler gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonunda gelişen fungal kültürler, makroskopik ve mikroskopik olarak incelenip değeriendirilmiştir (Şekil 3.10).



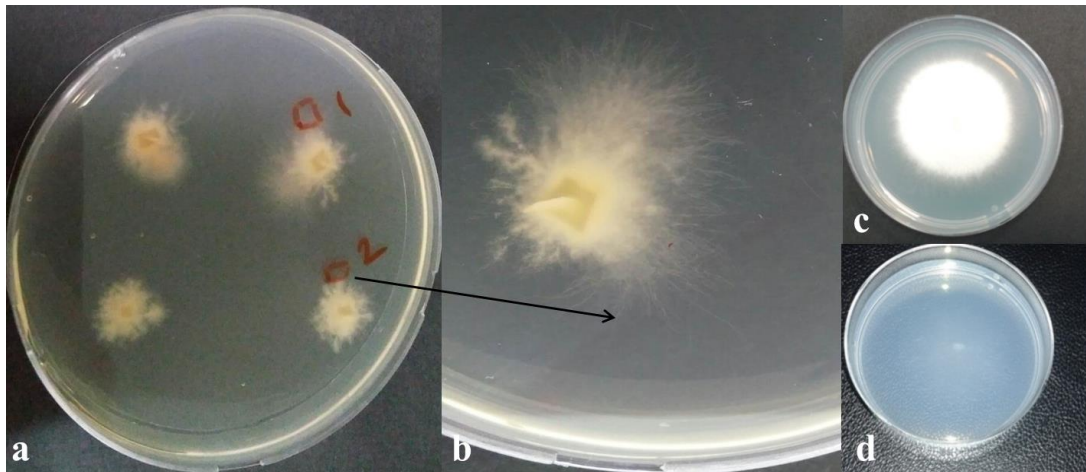
Şekil 3.10 Koch postulatları

(a-b) inokulum uygulanmış bitkiler, (c) re-izolasyon sonrası gelişen fungal kültür

3.2.4. Vejetatif Uyum Grubu (VCG) Analizleri

3.2.4.1. *nit* Mutantlarının Belirlenmesi ve Karakterizasyonu

VCG değerlendirmesine tabi tutulan patojenik olmayan *F. oxysporum* ve *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatları PDA besiyerinde yeniden kültüre alınarak $26\pm 2^\circ\text{C}$ 'de 4-5 gün boyunca inkübe edilmiştir. Öncelikle 15 g/L KClO_3 ile 1,6 g/L asparajin içeren FMM (FMMC-15) ve 15 g/L KClO_3 içeren PDA (PDAC-15) besiyerleri hazırlanmıştır. Daha sonra *nit* mutanı elde edilemeyen izolatlar için ise 20 g/L KClO_3 ile 1,6 g/L asparajin içeren FMM (FMMC-20) ve 20 g/L KClO_3 içeren PDA (PDAC-20) besiyerleri hazırlanmıştır. PDA'da kültüre alınan izolatların kolonilerinin uç kısımlarından 4 küçük parça alınarak eşit aralıklarla PDAC ve FMMC besiyerlerine ekimi yapılmıştır. $26\pm 2^\circ\text{C}$ 'de 8-10 günlük inkübasyon sonunda bazı kolonilerin uç kısımlarında ince ve şeffaf miseller (sektör) gelişmiştir (Şekil 3.11 a). Sektör uçlarından steril bistüri yardımıyla alınan küçük parçalar NaNO_3 içeren FMM besiyerinde $26\pm 2^\circ\text{C}$ 'de 3-5 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süreci sonunda havai misel gelişimi olmadan ince ve şeffaf gelişim gösteren izolatların *nit* mutanı olduğu tespit edilmiştir (Puhalla, 1985; Correll vd., 1987b) (Şekil 3.11 b). Yoğun miselyal gelişim gösteren sektörler ise yabani tip olup eşleşme çalışmalarında kullanılmamıştır (Şekil 3.11 c).



Şekil 3.11 VCG çalışmalarında kullanılan *nit* mutantlarının geliştirilmesi

(a-b) klorat içeren besiyerinde sektörlerin gelişimi, (c) yabani tip koloni, (d) *nit* mutant kolonisi

3.2.4.2 *nit* Mutantlarının Fenotipleme Çalışmaları

nit mutanı olarak belirlenen izolatların fenotipleme çalışmaları için 0,5 g/L NaNO₂ ve 0,2 g/L hipoksantin içeren 2 farklı besiyeri kullanılmıştır. Her bir *nit* mutantından uç kısımlarından steril bistüri ile alınan küçük miselyal parçalar bu besiyerlerine aktararak 26±2°C’de 7-10 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süreci sonunda gelişen mutantlar Tablo 3.2’deki gibi koloni morfolojilerine göre *nit1*, *nit3* veya NitM olarak fenotipik sınıflandırılması yapılmıştır. NaNO₂ içeren besiyerinde yabani tip gelişip hipoksantinli besiyerinde mutant gelişen koloniler NitM, NaNO₂ içeren besiyerinde mutant gelişip hipoksantinli besiyerinde yabani tip gelişen koloniler *nit3*, her iki besiyerinde de yabani tip gelişen koloniler ise *nit1* olarak fenotiplenmiştir (Correll vd., 1987b).

Tablo 3.2 *Fusarium oxysporum*’un *nit* mutantlarının farklı nitrojen kaynağı içeren besiyerlerinde fenotipik tanımlanması (Correll vd., 1987b)

Fenotip	FMM	NaNO ₂	HX
<i>nit1</i>	MT	WT	WT
<i>nit3</i>	MT	MT	WT
NitM	MT	WT	MT

(MT: Mutant Tip, WT: Yabani Tip)

3.2.4.3 *nit* Mutantlarının Eşleştirilmesi

Kendisiyle uyumlu veya uyumsuz izolatların belirlenmesi amacıyla fenotipleri belirlenen *nit* mutantları ile eşleştirme testleri kurulmuştur. FMM besiyeri içeren petrilerin ortasına NitM ve etrafına da *nit1* fenotipli mutantlardan birer tane miselyal parçalar yerleştirilmiştir. Eşleştirilen mutantlar 26±2°C’de 7-10 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra kolonilerin birbirine temasta bulundukları noktalarda misellerin birleştiği görülmüştür (anastomoz). Hifsel anastomoz yapan bu izolatların birbiriyle uyumlu olduğu; diğer izolatların ise birbiriyle uyumsuz olduğu kaydedilmiştir. Eşleşme gerçekleştiren aynı izolatlar ise heterokaryon kendisiyle uyumlu olarak belirlenmiştir (Puhalla, 1985; Correll vd., 1987b) (Şekil 4.22).

3.2.5. PCR Temelli Moleküler Çalışmalar

Moleküler çalışmalara kontrol amacıyla Dr. Öğr. Üyesi Mücella Tekeoğlu'ndan (Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi) *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ile Doç. Dr. Hacer Handan Altınok'tan (Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü) *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL), *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL) izolatları dâhil edilmiştir.

3.2.5.1. Miselyum Üretimi ve Fungal Genomik DNA İzolasyonu

Miselyum üretimi için PDB (Potato Dextrose Broth) sıvı besiyeri kullanılmıştır. Fungal miseller 50 ml PDB içeren şişelere konulmuş ve karanlıkta ve $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 60 rpm'de (Round Per Minute) 7 gün süreyle orbital çalkalayıcı üzerinde inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra gelişen fungal kültür sdH_2O ile yıkanarak PDB ortamdan uzaklaştırılmış ve DNA ekstraksiyonu yapılncaya kadar -80°C 'de muhafaza edilmiştir. Sıvı nitrojen içerisinde porselen havanlarda ezilerek toz haline getirilen fungal materyal, 2 ml'lik ependorf tüplere yaklaşık 100 μg olacak şekilde eklenmiştir. İzolatların total DNA izolasyonu manuel olarak Peever vd. (1999)'a göre CTAB metodu modifiye edilerek gerçekleştirilmiş ve DNA konsantrasyonu Nanodrop konsantrasyon cihazında ölçülerek yaklaşık 40 ng/ μl 'ye ayarlanmıştır.

3.2.5.2 FOF/FOR-PCR Metodu ve Amplifikasyonu

445 izolatın *Fusarium oxysporum*'a spesifik primer (FOF/FOR) ile PCR analizleri yapılmıştır (Tablo 3.3). FOF/FOR PCR reaksiyonu 40 ng/ μl şablon DNA, 2 mM dNTP, 10 μM primerler, reaksiyon tampon (10X), 25 μM MgCl_2 , Taq DNA polimeraz (5U μl^{-1}) içeren 20 μl içerisinde gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonları 94°C 1 dk denatürasyonu (1 döngü) takiben, 94°C 1 dk, 58°C 'de 30 sn, 72°C 'de 1 dk olmak üzere (25 döngü), 72°C 'de 7 dk (1 döngü) olacak şekilde ayarlanmıştır. PCR ürünlerinin analizi için %1,5'luk agaroz, 1X TAE çözeltisinde (Tris-base, glasiyel asetik asit ve 0,5 M EDTA) eritilerek hazırlanmıştır. Bromofenol blue boyası ile boyanmış örneklerin elektroforezi işlemi 90 V/cm'de 2 saat süreyle yapılmıştır. Bantların varlığına ve yokluğuna göre değerlendirme yapılmış ve bilgisayarlı görüntüleme sistemiyle fotoğraflar alınmıştır.

Tablo 3.3 *Fusarium oxysporum*'a spesifik primerin sekansı ve ampikon büyüklüğü (Zhang vd., 2013)

Primer	Sekans (5'-3')	Ampikon Büyüklüğü
FOF1	5'-ACATACCACTTGTTGCCTCG-3'	340 kb
FOR1	5'-CGCCAATCAATTTGAGGAACG-3'	

3.2.5.3 FOCP1F/FOCP1R-PCR Metodu ve Amplifikasyonu

41 adet *F. oxysporum* izolatu, *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'e spesifik primer ile testlenmiştir (Tablo 3.4). PCR reaksiyonu 40 ng/μl şablon DNA, 200 μM dNTP, 0,35 μM primerler, reaksiyon tampon (10X), 1,5 mM MgCl₂, Taq DNA polimeraz (5U μl⁻¹) içeren 20 μl içerisinde gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonları 94°C 1 dk denatürasyonu (1 döngü) takiben, 94°C 30 sn, 55°C'de 30 sn, 72°C'de 30 sn olmak üzere (25 döngü), 72°C'de 5 dk (1 döngü) olacak şekilde ayarlanmıştır. PCR ürünlerinin analizi için %1,5'luk agaroz, 1X TAE çözeltisinde (Tris-base, glasiyel asetik asit ve 0,5 M EDTA) eritilerek hazırlanmıştır. Bromofenol blue boyası ile boyanmış örneklerin elektroforezi işlemi 85 V/cm'de 2 saat süreyle yapılmıştır. Bantların varlığına ve yokluğuna göre değerlendirme yapılmış ve bilgisayarlı görüntüleme sistemiyle fotoğraflar alınmıştır.

Tablo 3.4 *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*'e spesifik primerlerin sekansı ve ampikon büyüklüğü (Jiménez-Fernández vd., 2011a)

Primer	Sekans (5'-3')	Ampikon Büyüklüğü
FOCP1-F	5'-TACGGTACCAGATCATGGCGT-3'	160 bp
FOCP1-R	5'-CGCTTTCGATCGTGGCTATG-3'	

3.2.5.4 Uni Primer Setinin PCR Metodu ve Amplifikasyonu

Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin 24 izolatu ve Akdeniz Bölgesi'nin 11 izolatu uni primer seti ile çalışılmıştır (Tablo 3.5). PCR reaksiyonu 25-40 ng/μl şablon DNA, 2 mM dNTP, 10 μM primerler, reaksiyon tampon (10X), 30 mM MgCl₂, Taq DNA polimeraz (5U μl⁻¹) içeren 20 μl içerisinde gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonları 94°C 2 dk denatürasyonu (1 döngü) takiben, 93°C 30 sn, 58°C'de 2 dk, 72°C'de 2 dk olmak üzere (30 döngü), 72°C'de 10 dk (1 döngü) olacak şekilde ayarlanmıştır.

PCR ürünlerinin analizi için %1,5'luk agaroz, 1X TAE çözeltisinde (Tris-base, glasiyel asetik asit ve 0,5 M EDTA) eritilerek hazırlanmıştır. Bromofenol blue boyası ile boyanmış örneklerin elektroforezi işlemi 100 V/cm'de 1,5 saat süreyle yapılmıştır. Bantların varlığına ve yokluğuna göre değerlendirme yapılmış ve bilgisayarlı görüntüleme sistemiyle fotoğraflar alınmıştır.

Tablo 3.5 Uni primer setinin sekansı ve ampikon büyüklüğü (Hirano ve Arie, 2006)

Primer	Sekans (5'-3')	Ampikon Büyüklüğü
Uni f	5'-ATCATCTTGTGCCAACTTCAG-3'	670-672 bp
Uni r	5'-GTTTGTGATCTTTGAGTTGCCA-3'	

3.2.6. İstatistik Analizler

Survey çalışmaları ve patojenisite testi sonucu elde edilen veriler SPSS 16.0 paket programı ile analiz edilmiştir. Survey çalışmalarından elde edilen sonuçların arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon analizi ile değerlendirilmiştir. Survey çalışmaları sırasında her bir tarla için kaydedilen parametreler tanımlayıcı analiz yardımı ile Ortalama±Standart Hata biçiminde ifade edilmiştir. Hastalık şiddeti (%) ortalamaları karşılaştırılırken Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) kullanılmıştır. ANOVA'da grup ortalamaları arasında fark olduğunda farkın kaynağı için Duncan Çoklu Karşılaştırma (post-hoc) sonucu dikkate alınmış, istatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak alınmıştır.

Ayrıca ekolojik parametrelerin solgunluk ve sararma semptomları gelişimindeki ilişkisini değerlendirmek için Temel Bileşen Analizi (Principal Component Analysis-PCA) kullanılmıştır. Patojenisite testi sonuçlarının değerlendirilmesiyle elde edilen hastalık şiddeti (%) ortalamaları karşılaştırılırken iki kategorili değişkenler için bağımsız gruplar t testi ve ikiden fazla kategorili değişkenler için Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) kullanılmıştır.

BÖLÜM IV

BULGULAR

4.1. *Fusarium* Solgunluk ve Sararma Hastalığı Tarla Gözlemleri ve Patojen İzolasyonları

Nohutta *Fusarium* solgunluk ve sararma hastalığının yaygınlığını, insidansını ve şiddetini belirlemek ve izolat temin etmek amacıyla Türkiye'nin başlıca nohut yetiştiriciliği yapılan alanlarında survey çalışmaları yapılmıştır. 37 ili kapsayan bu tez çalışmasında incelenen 423 tarladan 228'inin (%53,90) *Fusarium* solgunluk ve sararma hastalığı ile enfekte olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.1). Solgunluk ve sararma semptomları gösteren nohut bitkilerinin %57,37'sinden (880 adet) *Fusarium* spp. izolatı elde edilmiştir (Tablo 4.2).

Bu çalışma kapsamında, 2015 yılında Güneydoğu Anadolu, Akdeniz, Ege, Marmara ve Doğu Anadolu Bölgeleri'nde toplam 16 ilden (96 tarla) 369 izolat ve 2016 yılında Güneydoğu Anadolu, Akdeniz, Ege, İç Anadolu ve Karadeniz Bölgeleri'nde toplam 24 ilden (327 tarla) 511 izolat elde edilmiştir.

2015 yılındaki survey çalışmalarında Şanlıurfa, Adıyaman ve Hatay illerinde yeterli tarla gözlemi yapılamamış ve yeterli izolat sayısına ulaşamamıştır. Bu amaçla yapılacak istatistik analizlerin doğruluğunu ve izolat sayısını artırmak için 2016 yılında bu illere bir kez daha survey çalışması gerçekleştirilmiştir. Şanlıurfa iline iki kez gidilmesine rağmen bu ilde yeterli nohut tarlası bulunamamış ve 6 tarladan da izolat elde edilememiştir.

Tablo 4.1 Türkiye'nin nohut yetiştirilen illerinde Fusarium solgunluk ve sararma hastalığının yaygınlığı, insidansı ve şiddeti

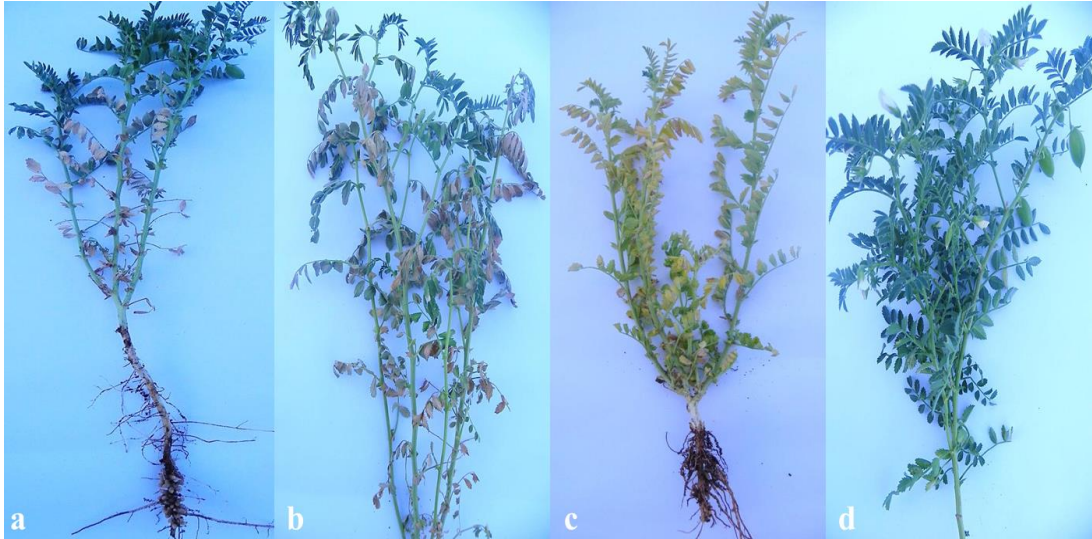
İller	Enfekte tarla sayısı	Toplam tarla sayısı	Hastalık		
			Yaygınlığı (%)	İnsidansı (%)	Şiddeti (%) [*]
Mardin	5	5	100	36,49	23,37±5,86 ^a
Diyarbakır	6	6	100	30,13	19,71±4,92 ^{ab}
Tunceli	2	5	40	40	16,90±10,64 ^b
Balıkesir	5	7	71,43	16,53	12,61±4,24 ^c
Antalya	13	15	86,67	6,46	3,89±1,06 ^d
Denizli	9	9	100	5,36	3,52±1,04 ^d
Burdur	4	6	66,67	5,47	3,02±1,34 ^d
Amasya	6	8	75	5,63	2,43±0,96 ^d
Tekirdağ	5	7	71,43	3,61	2,38±1,91 ^d
Malatya	2	7	28,57	8,46	2,30±1,82 ^d
Mersin**	22	41	53,66	4,83	2,23±0,89 ^d
Muğla	4	5	80	3,71	2,00±0,57 ^d
Eskişehir**	10	10	100	4,8	1,91±1,05 ^d
Adana	6	8	75	5,17	1,84±0,75 ^d
Hatay	4	4	100	4,27	1,71±0,78 ^d
Isparta**	13	15	86,67	4,01	1,60±0,36 ^d
Afyonkarahisar	6	7	85,71	3,29	1,37±0,46 ^d
Aksaray**	2	11	18,18	3,12	1,34±1,07 ^d
Şanlıurfa	1	6	16,67	2,47	1,23±1,23 ^d
Gaziantep	5	37	13,51	0,56	1,16±0,09 ^d
Çanakkale	7	12	58,33	1,69	1,12±0,37 ^d
Adıyaman	11	20	55	2,75	0,95±0,32 ^d
Bilecik	2	6	33,33	1,5	0,81±0,53 ^d
Manisa	8	12	66,67	1,83	0,68±0,31 ^d
Uşak	9	19	47,37	2,07	0,68±0,27 ^d
Çorum	11	13	84,62	1,7	0,67±0,25 ^d
Tokat	3	6	50	1,91	0,60±0,40 ^d
Ankara	10	13	76,92	1,61	0,45±0,12 ^d
Kütahya	9	19	47,37	1,26	0,35±0,12 ^d
Konya	14	22	63,64	1,07	0,32±0,09 ^d
Kahramanmaraş	2	10	20	0,58	0,17±0,11 ^d
Yozgat	5	21	23,81	0,23	0,06±0,03 ^d
Kırşehir	5	21	23,81	0,16	0,05±0,03 ^d
Kırıkkale	0	4	0	0	0,00±0,00 ^d
Samsun	0	4	0	0	0,00±0,00 ^d
İzmir	1	1	100		***
Bursa	1	1	100		***
37 il	228	423	53,90	4,04	3,24

*Aynı harfle ifade edilen ortalama±standart hata, Duncan testine göre önemli ölçüde farklı değildir (p<0,05). **Solgunluk grubu illeri ***Tek tarla

Tablo 4.2 *Fusarium* spp. izolatlarının bölgelere göre dağılımı ve yüzde (%) oranları

Bölgeler	Toplanan Bitki Sayısı	<i>Fusarium</i> spp.	% Oran
Güneydoğu Anadolu Bölgesi	251	74	29,48
Doğu Anadolu Bölgesi	80	14	17,50
Akdeniz Bölgesi	479	316	65,97
Ege Bölgesi	309	202	65,37
Marmara Bölgesi	191	137	71,73
İç Anadolu Bölgesi	114	75	65,79
Karadeniz Bölgesi	110	62	56,36
Toplam	1.534	880	57,37

2015 yılındaki tarla gözlemleri sırasında 16 ilde sararma semptomları; 2016 yılında 4 ilde solgunluk (Mersin, Isparta, Aksaray ve Eskişehir) ve 18 ilde sararma semptomları gözlemlenmiştir (Şekil 4.1 ve 4.2). Kırıkkale ve Samsun illerinde ise hastalık saptanmamıştır. Şanlıurfa, Afyonkarahisar, Yozgat, Kırıkkale, Samsun ve Çorum illerindeki tarlalarda semptomatik nohut bitkilerinden izolat elde edilememiştir. 615 izolat (%52,65) sararma ve 265 izolat (%72,40) solgunluk grubundan elde edilmiştir.



Şekil 4.1 Solgunluk ve sararma semptomlarına sahip nohut bitkilerinin karşılaştırılması
(a-b) solgunluk semptomu gösteren bitkiler (Mersin/Silifke), (c) farklı bir lokasyondan sararma semptomu taşıyan bitki, (d) sağlıklı bitki



Şekil 4.2 Sararma (Uşak) ve solgunluk (Eskişehir) semptomları gösteren nohut bitkileri

2016 yılında 37 tarlada gözlem yapılan Gaziantep ilinde kuraklık stresinin etkili olduğu görülmüş ve yaklaşık %41 oranında *Fusarium* spp. izolasyonu yapılmıştır. (Şekil 4.3). Doğu Anadolu Bölgesi'nden toplanan sararma semptomu gösteren nohut bitkilerinde kök çürüklüğü görülmüş (Şekil 4.4) ve bu enfekte bitkiler patojen izolasyonuna tabi tutulmamıştır. Ancak bu farklı semptomatik durumun görüldüğü enfekte bitkilerin sararma ve solgunluk etmeninden mi yoksa kök çürüklüğü etmeninden mi etkilendiğini saptamak için bazıları patojen izolasyonu çalışmasında kullanılmıştır ve %17,50 oranında *Fusarium* spp. izolatu elde edilmiştir (Tablo 4.2).



Şekil 4.3 Tarladaki hastalıklı ve sağlıklı nohut bitkileri

(a) sararma semptomuna sahip nohut bitkileri (Denizli/Serinhisar), (b) sağlıklı nohut bitkileri (Gaziantep/Araban)



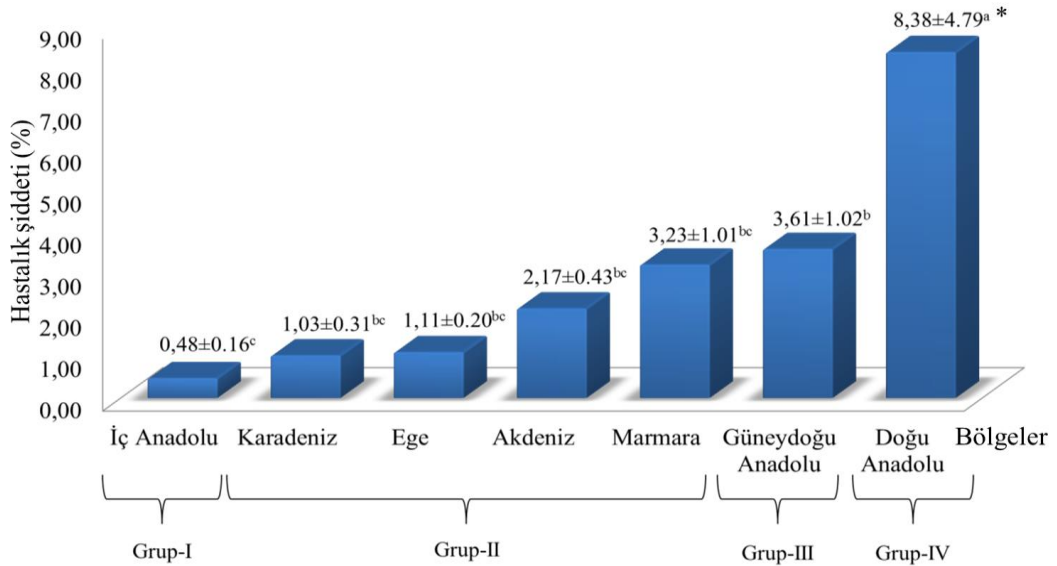
Şekil 4.4 Nohut bitkisinde kök çürüklüğü

Hastalık yaygınlığı %0,00-100,00 arasında değişmektedir (Tablo 4.1). En yüksek hastalık yaygınlığının Mardin, Diyarbakır, Hatay, Denizli, İzmir, Bursa ve Eskişehir illerinde olduğu belirlenmiştir. Kırıkkale ve Samsun illeri ise %0,00 ile en düşük hastalık yaygınlığına, insidansına ve şiddetine sahip iller olarak saptanmıştır. Hastalık insidansı %0,00-40,00 arasında değişkenlik göstermektedir. En yüksek hastalık insidans değeri Tunceli ilinde hesaplanmış olup %40,00 olarak belirlenmiştir. Survey çalışması yapılan illerin ortalama hastalık yaygınlığı ve insidansı sırasıyla %53,90 ve %4,04 olarak hesaplanmıştır. Solgunluk ve sararma tiplerinin yaygınlığı ise sırasıyla %61,04 ve %52,31 olarak belirlenmiştir.

Survey çalışması yapılan tüm illerin, sararma ve solgunluk grubu illerinin Duncan analizi ayrı ayrı yapılmıştır. Buna göre tüm illerin ve sararma grubu illerinin hastalık şiddeti %0,00-23,37 arasında değişmektedir. Genel hastalık şiddeti ortalamasının %3,24 ve sararma grubunun hastalık şiddeti ortalamasının ise %3,43 olduğu belirlenmiştir. Mardin (%23,37), Diyarbakır (%19,70), Tunceli (%16,90) ve Balıkesir (%12,61) illerinin hastalık şiddeti ortalama değerin üzerindedir. Bu iller istatistiksel olarak 3 grupta sınıflandırılmıştır. İstatistiksel olarak hastalık şiddeti bakımından Mardin, Tunceli ve Balıkesir illeri ayrı birer grup oluşturmuştur. Diyarbakır ili, Tunceli ve Mardin illeri arasında ayrı bir grupta yer almıştır. Diğer iller ise istatistiksel olarak kendi içinde yakın ortalamalara sahip olduğundan tek bir grup oluşturmuştur (Tablo 4.1).

Solgunluk grubunda en yüksek hastalık şiddeti ilk solgunluk semptomlarının görüldüğü Mersin ilinde (%2,23) görülmüştür. Diğer illerin ise hastalık şiddeti değerleri birbirine oldukça yakın olup sırasıyla Eskişehir, Isparta ve Aksaray illerinde %1,91, %1,60 ve %1,34 olarak hesaplanmıştır. Solgunluk grubundaki iller de istatistiksel olarak kendi içinde yakın ortalamalara sahip olduğundan tek bir grup oluşturmuştur (Tablo 4.1).

En düşük hastalık şiddetine sahip olan İç Anadolu Bölgesi Grup-I'de; Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu Bölgeleri en yüksek hastalık şiddeti seviyeleri sırasıyla Grup-III ve Grup-IV'te yer almıştır. Grup-II'de bulunan Karadeniz, Ege, Akdeniz ve Marmara Bölgeleri'nin hastalık şiddeti değerleri %1,03-3,23 arasında değişmektedir (Şekil 4.5). Duncan testine göre Doğu Anadolu Bölgesi'nde hastalık şiddeti en yüksek ortalama değere sahip olup diğer tüm bölge ortalamalarından anlamlı düzeyde daha yüksektir ($p<0,05$). Doğu Anadolu Bölgesi'ni takip eden Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin hastalık şiddeti ortalaması İç Anadolu Bölgesi'nden anlamlı düzeyde daha yüksektir ($p<0,05$). Hastalık şiddeti bakımından istatistiksel olarak Grup-II'deki bölgeler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). İç Anadolu Bölgesi'nde hastalık şiddeti en düşük seviyede tespit edilmiş olup istatistiksel olarak diğer bölgelerin ortalamalarından farklıdır (Şekil 4.5).

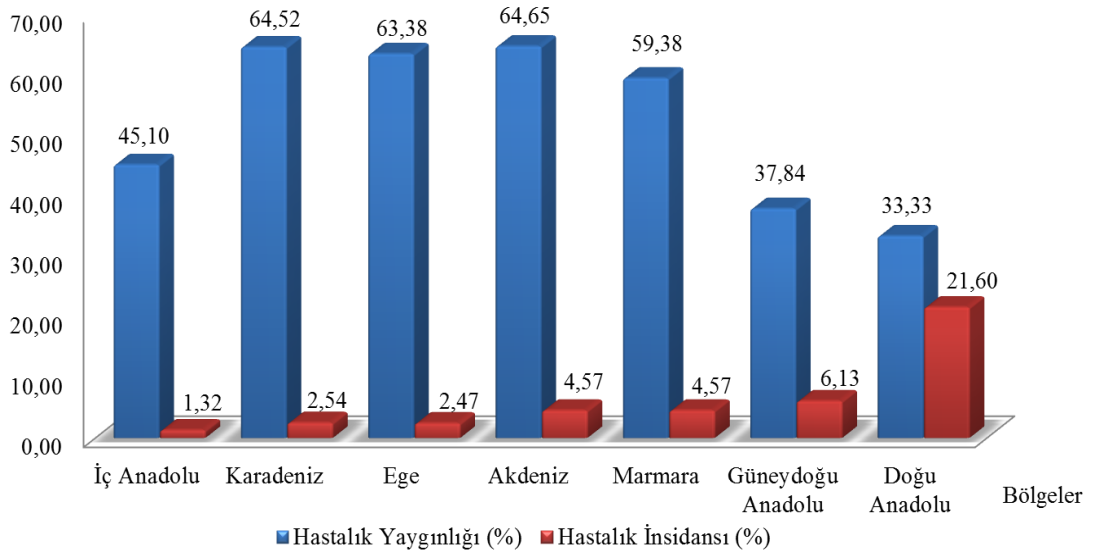


Şekil 4.5 Hastalık şiddetinin bölgelere göre gruplandırılması

*Aynı harfle ifade edilen ortalama±standart hata, Duncan testine göre önemli ölçüde farklı değildir ($p<0,05$).

Survey çalışması gerçekleştirilen coğrafi bölgelerde incelenen tarlaların hastalık yaygınlığı ve insidansı Şekil 4.6'daki grafikte sunulmuştur. Gözlem yapılan 423 tarlanın 228'i enfekte olduğundan genel hastalık yaygınlığı ortalaması %53,90 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.1). Akdeniz Bölgesi'ndeki 99 tarladan 64'ünün enfekte olduğu tespit edilmiş ve bu bölgenin en yüksek hastalık yaygınlığına (%64,65) sahip olduğu belirlenmiştir. Hastalık yaygınlığı bakımından genel ortalamanın üzerinde olan Akdeniz Bölgesi'ni sırasıyla Karadeniz (%64,52) ve Ege (%63,38) Bölgeleri takip etmiştir. En düşük hastalık yaygınlığı %33,33 ile Doğu Anadolu Bölgesi'nde görülmüş ve bu bölgede gözlem yapılan 12 tarladan 4'ünün hastalıktan etkilendiği tespit edilmiştir. Genel ortalamanın altında yer alan Doğu Anadolu Bölgesi'ni sırasıyla ile Güneydoğu Anadolu (%37,84), İç Anadolu (%45,10) ve Marmara (%59,38) Bölgeleri takip etmiştir.

Hastalık şiddeti ile benzer sonuçların görüldüğü hastalık insidansı %1,32-21,60 arasında bulunmaktadır. Genel hastalık insidansı %4,04 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.1). Sırasıyla Doğu Anadolu (%21,60), Güneydoğu Anadolu (%6,13), Marmara ve Akdeniz Bölgeleri'nin (%4,57) yüksek hastalık insidansı değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. En düşük hastalık insidansı İç Anadolu Bölgesi'nde (%1,32) görülmüştür (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 Türkiye'nin nohut yetiştirilen bölgelerinde Fusarium solgunkluk ve sararma hastalığının yaygınlığı ve insidansı

Bağıl nem, sıcaklık, rüzgâr hızı, yağış, yağışlı günler sayısı ve rakım gibi coğrafi parametreler ile ortalama yabancı ot sayısı, sağlıklı ve hastalıklı nodül sayısı ile sağlıklı ve hastalıklı bitki boyu parametrelerinin hastalık şiddeti ile ilişkisi Tablo 4.3-4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.3 Hastalık şiddeti ile sararma fenotipinin coğrafi parametreleri arasındaki Pearson korelasyon test sonucu (N=343)

N=343	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Hastalık şiddeti (%) (1)					
Bağıl nem (%) (2)	,252**				
Sıcaklık (°C) (3)	,383**	,275			
Rüzgâr hızı (m/sec) (4)	,004	,235**	,008		
Yağış (mm) (5)	,077	,429**	,215**	,063	
Yağışlı günler sayısı (6)	,229**	,383**	,434**	0,079	,371**

*p<0,05; **p<0,01.

Tablo 4.4 Hastalık şiddeti ile solgunluk fenotipinin coğrafi parametreleri arasındaki Pearson korelasyon test sonucu (N=77)

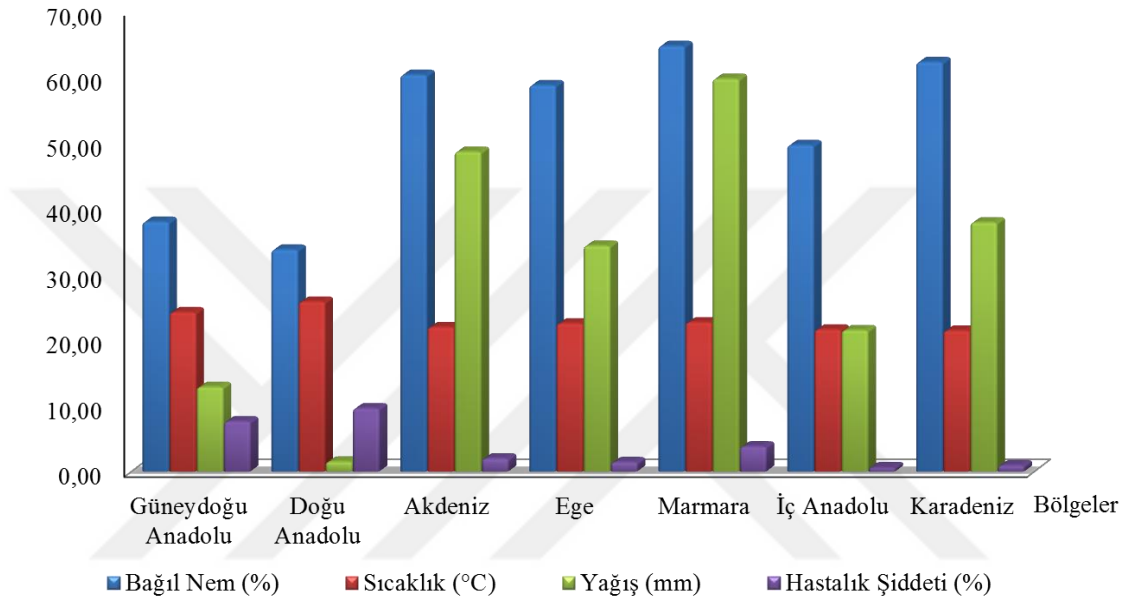
N=77	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Hastalık şiddeti (%) (1)					
Bağıl nem (%) (2)	,077				
Sıcaklık (°C) (3)	,049	,625**			
Rüzgâr hızı (m/sec) (4)	,076	,986**	,619**		
Yağış (mm) (5)	,075	,976**	,760**	,980**	
Yağışlı günler sayısı (6)	,064	,823**	,762**	,733**	,818**

*p<0,05; **p<0,01.

Sararma ve solgunluk gruplarının hastalık şiddeti ile iklimsel parametreler arasındaki ilişkisi Tablo 4.3 ve 4.4'te gösterilmiştir. Sararma grubu için hastalık şiddeti ile yağışlı günler sayısı ve bağıl nem arasında sırasıyla %22,9 ve %25,2 oranında anlamlı ve negatif bir ilişki bulunmuştur ($r=-0,229$; $p<0,01$) ve ($r=-0,252$; $p<0,01$). Hastalık şiddeti yağışlı günler sayısı azaldıkça ve nem oranı düştükçe artış göstermiştir. Hastalık şiddeti ile sıcaklık arasında %38,3 oranında anlamlı ve pozitif bir ilişki bulunması ($r=0,383$; $p<0,01$) sıcaklık arttıkça hastalığın da arttığını göstermiştir. Hastalık şiddeti ile rüzgâr hızı ve yağış arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ($p>0,05$).

Solgunluk grubu için hastalık şiddeti ile coğrafi parametreler arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.4).

Coğrafi bölgeler bazında bağıl nem, sıcaklık ve yağış verileri ile hastalık şiddeti değerleri Şekil 4.7'deki grafikte verilmiştir. Hastalık şiddeti en yüksek olan Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nin yağış rejiminin ve bağıl neminin diğer bölgelere kıyasla oldukça düşük olduğu görülmektedir.



Şekil 4.7 Tarla gözlemlerinin yapıldığı coğrafi bölgelerin iklimsel parametreleri ile hastalık şiddeti değerleri

Sararma ve solgunluk gruplarının hastalık şiddeti ile bitkiye ait parametreler arasındaki istatistiksel ilişkisi belirlenmiştir (Tablo 4.5 ve 4.6). Hastalık şiddeti ile rakım, ortalama yabancı ot sayısı, sağlıklı ve enfekte bitkilerin ortalama nodül sayısı, sağlıklı ve enfekte bitkilerin ortalama bitki boyu arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir ($p>0,05$) Ancak sararma grubunda rakım ile ortalama yabancı ot sayısı, sağlıklı ve enfekte bitkilerin ortalama boyu arasında sırasıyla %14,6, %30,3 ve %46,3 oranında pozitif ve anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p<0,01$). (Tablo 4.5). Rakım arttıkça yabancı ot sayısında, sağlıklı ve enfekte bitkilerin boylarında artış olmuştur. Hem sararma hem de solgunluk grubunda sağlıklı ve enfekte bitkilerin nodül sayısı arasında pozitif ve anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p<0,01$). Ayrıca her iki semptomatik grupta sağlıklı ve enfekte bitkilerin bitki boyu arasında pozitif ve anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p<0,01$) (Tablo 4.5 ve 4.6).

Tablo 4.5 Sararma fenotipinin hastalık şiddeti ve bitkiye ait parametreleri arasındaki Pearson korelasyon test sonucu (N=343)

N=343	(1)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)
Hastalık şiddeti (%) (1)						
Rakım (m) (7)	-,037					
Ortalama yabancı ot sayısı (m ²) (8)	-,044	,146**				
Sağlıklı bitkilerin ortalama nodül sayısı (9)	-,080	-,051	-,069			
Enfekte bitkilerin ortalama nodül sayısı (10)	,102	-,114	,013	,327**		
Sağlıklı bitkilerin ortalama bitki boyu (cm) (11)	-,042	-,303**	-,115*	,005	-,037	
Enfekte bitkilerin ortalama bitki boyu (cm) (12)	-,167	-,463**	-,046	,015	,115	,823**

*p<0,05; **p<0,01.

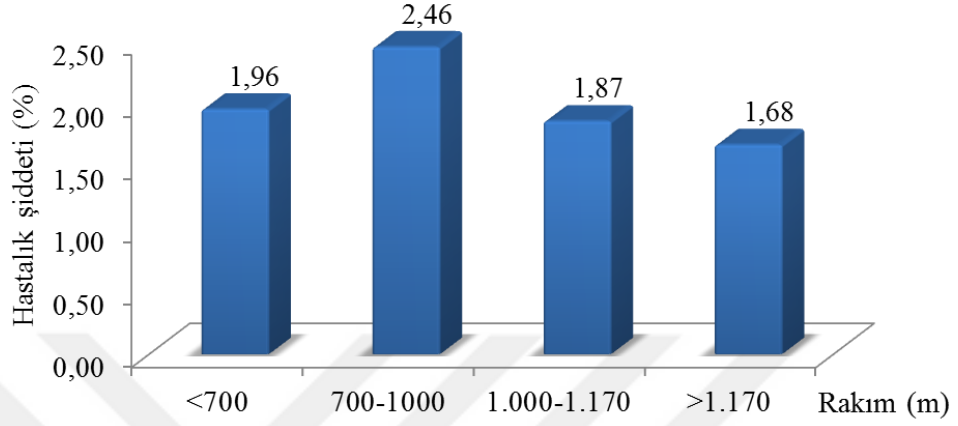
Tablo 4.6 Solgunluk fenotipinin hastalık şiddeti ve bitkiye ait parametreleri arasındaki Pearson korelasyon test sonucu (N=77)

N=77	(1)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)
Hastalık şiddeti (%) (1)						
Rakım (m) (7)	-,177					
Ortalama yabancı ot sayısı (m ²) (8)	,032	-,049				
Sağlıklı bitkilerin ortalama nodül sayısı (9)	,122	,107	,137			
Enfekte bitkilerin ortalama nodül sayısı (10)	,371	,105	-,028	,424**		
Sağlıklı bitkilerin ortalama bitki boyu (cm) (11)	,188	-,059	-,061	,189	-,031	
Enfekte bitkilerin ortalama bitki boyu (cm) (12)	,155	-,068	-,076	,140	,061	,862**

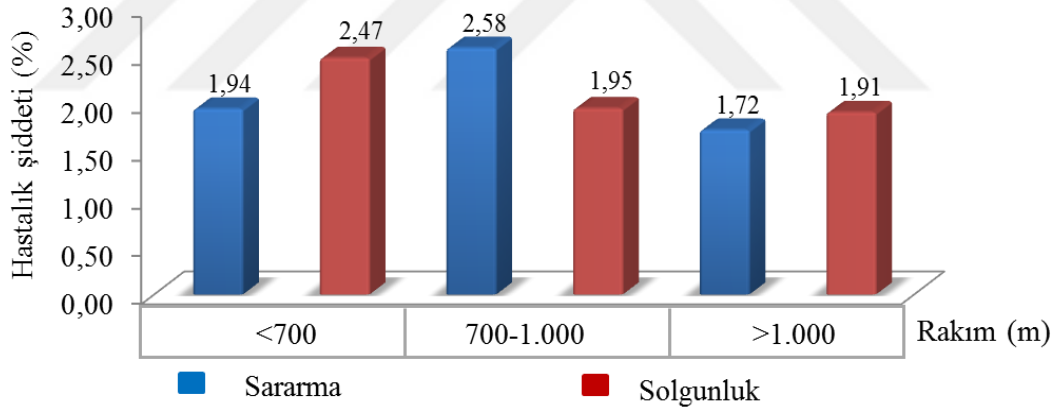
*p<0,05; **p<0,01.

Çeşitli yükseltelerde yetiştirilen nohuttaki Fusarium sararma ve solgunluk hastalığının hastalık şiddeti değerleri Şekil 4.8’de verilmiştir. Ortalama 860 metre olan 700-1.000 metredeki hastalık şiddetinin (%2,46) diğer gruplardan daha yüksek olduğu belirlenmiş ve 1.000 metrenin üzerinde azalma göstermiştir. 700 metrenin altındaki hastalık şiddetinin 1.000 metrenin üzerindeki göre daha fazla olduğu saptanmıştır (Şekil 4.8). En yüksek hastalık şiddeti sararma grubunda (%2,58) 700-1.000 metre arasında; solgunlukta 700 metrenin altında (%2,47) gerçekleşmiştir (Şekil 4.9).

En düşük hastalık şiddeti sararma (%1,72) ve solgunluk grubunda (%1,91) 1.000 metrenin üzerinde gerçekleşmiştir. Sararma grubunda 700 metrenin altında (%1,94) solgunlukta ise 700-1.000 metre arasında (%1,95) birbirine oldukça yakın hastalık şiddeti değerleri görülmüştür (Şekil 4.9).

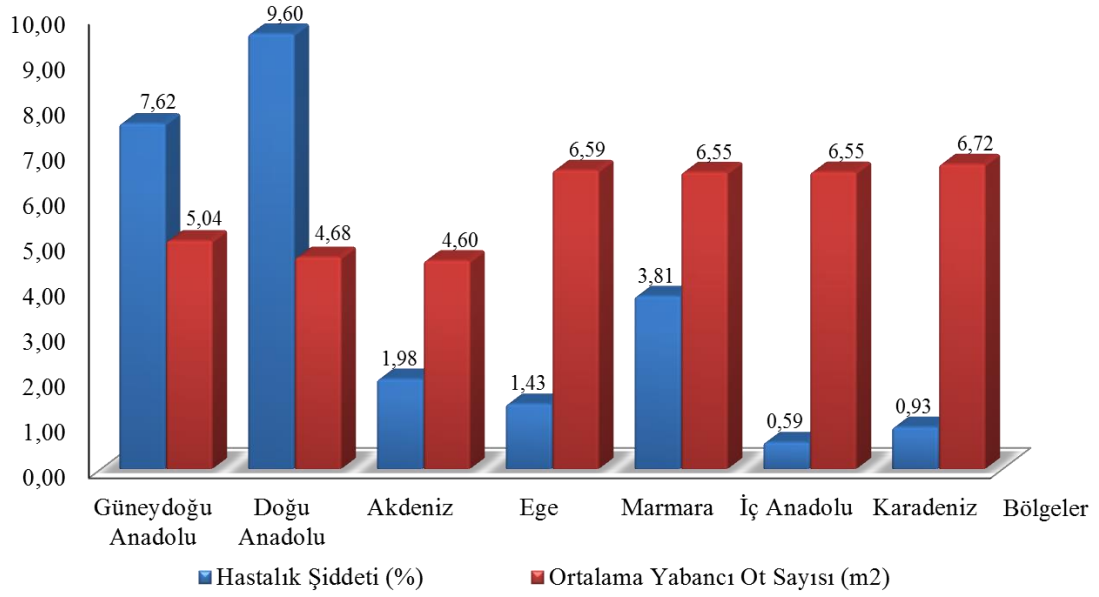


Şekil 4.8 Farklı yükseltilerde yetiştirilen nohut bitkisinde görülen Fusarium solgunluk ve sararma hastalığı şiddeti



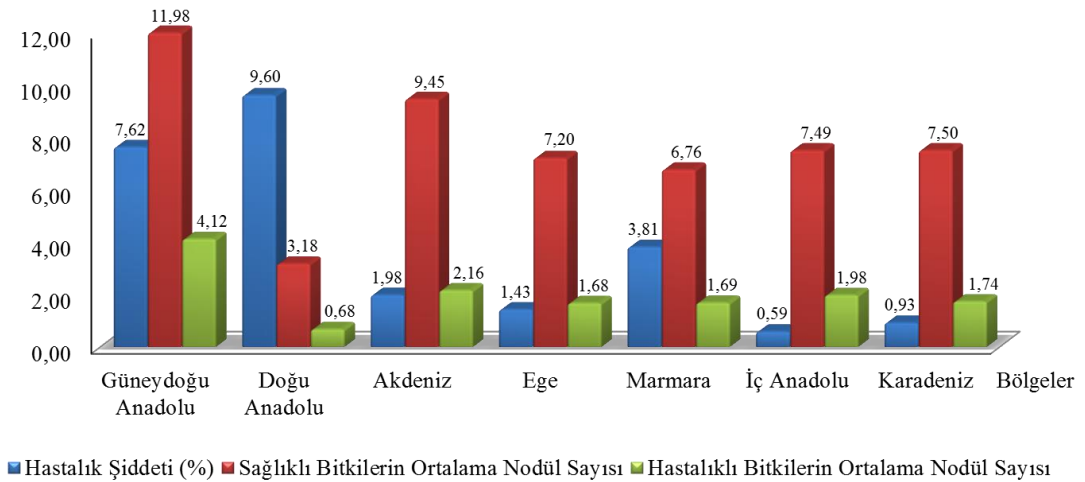
Şekil 4.9 Farklı yükseltilerde yetiştirilen nohut bitkisinde görülen iki farklı semptomatik tipin (sararma ve solgunluk) hastalık şiddeti

Gözlem yapılan nohut tarlalarında, metrekaresindeki yabancı ot sayısı kaydedilmiştir. Karadeniz Bölgesi nohut tarlalarındaki metrekaresindeki yabancı ot sayısı (6,72) diğer bölgelere göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu bölgeyi Ege (6,59), Marmara (6,55) ve İç Anadolu Bölgeleri (6,55) takip etmiştir. Ortalama 4,60 ile metrekaresindeki en az yabancı ot sayısının Akdeniz Bölgesi'nde olduğu saptanmıştır (Şekil 4.10).



Şekil 4.10 Tarla gözlemlerinin yapıldığı coğrafi bölgelerin nohut tarlalarındaki ortalama yabancı ot sayısı ile hastalık şiddeti değerleri

Sağlıklı bitkilerin nodül sayısının (7,65) hastalıklı bitkilerden (2,01) daha fazla olduğu görülmüştür (Şekil 4.11 ve 4.12). En yüksek hastalık şiddetinin görüldüğü Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen nohut bitkilerinde düşük oranda nodülasyon saptanmıştır. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde sağlıklı ve hastalıklı nodül sayısı diğer bölgelere kıyasla daha fazladır (Şekil 4.11).

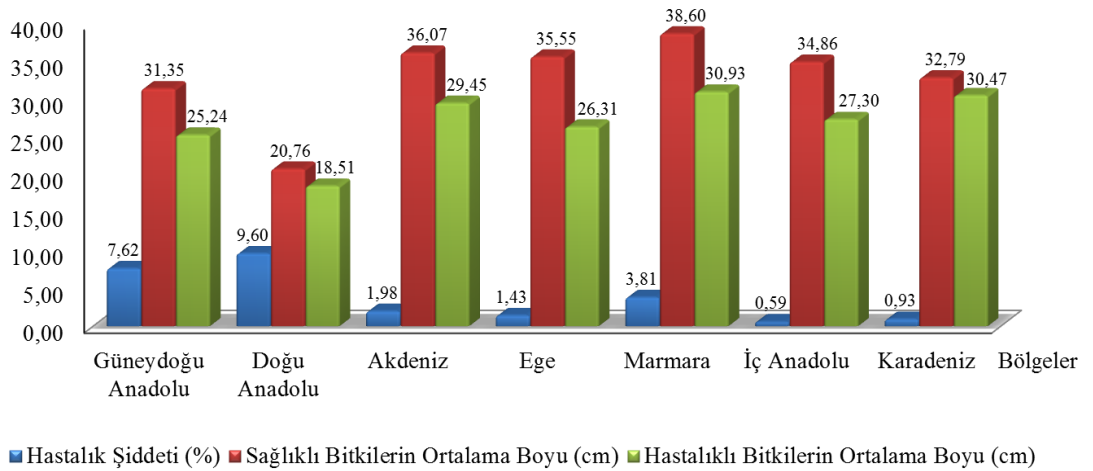


Şekil 4.11 Sağlıklı ve hastalıklı bitkilerin ortalama nodül sayısı ile hastalık şiddeti değerleri



Şekil 4.12 Sağlıklı ve hastalıklı bitki köklerindeki nodülasyon durumu

Gözlem yapılan tarlalarda sağlıklı nohut bitkilerinin boylarının (32,85 cm) hastalıklı olanlardan (26,89 cm) daha uzun olduğu belirlenmiştir. Marmara Bölgesi'nde sağlıklı ve hastalıklı bitki boylarının diğer bölgelerdekine göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Nodül sayısında olduğu gibi Doğu Anadolu Bölgesi'nde sağlıklı ve hastalıklı bitki boyları diğer bölgelere göre en azdır (Şekil 4.13).



Şekil 4.13 Sağlıklı ve hastalıklı bitkilerin bitki boyu ile hastalık şiddeti değerleri

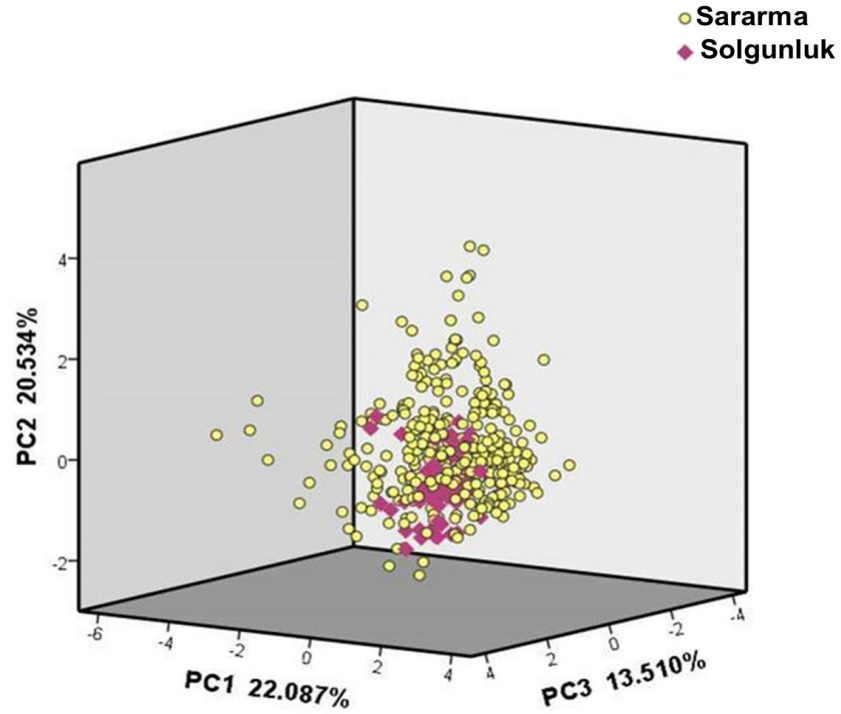
PCA analizi, hastalık şiddeti (solgunluk ve sararma grupları), sıcaklık, yağışlı gün sayısı, bağıl nem, yağış miktarı, rakım, sağlıklı bitkilerde ortalama bitki boyu ile nodül sayısı ve ortalama yabancı ot sayısı parametreleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Tablo 4.17).

PCA aracılığıyla faktör skorlarının solgunluk ve sararma gruplarını ayırma kuvveti, Şekil 4.14'te verilmiştir. PCA için verilerin uygunluğu Kaiser-Meyer-Olkin değeri ile (KMO katsayısı=0,657 Bartlett testi Ki-kare testi=546,585, df=36, p<0,001) doğrulanmıştır. Değişkenler üç bileşene ayrılmıştır. Bileşenler için faktör yükleri hesaplandıktan sonra Varimax dikey dönüş yöntemi uygulanmıştır. Özgün değer 1'den büyük üç faktörü bulunmuştur. Açıklanan toplam varyans oranının %56,131 olduğu belirlenmiştir. Birinci bileşen, sıcaklık, hastalık şiddeti, yağışlı gün sayısı ve bağıl nemin önemli karakterler olarak tanımlandığı toplam varyansın %22,087'sini açıklamıştır. İkinci bileşen, rakımın, yağış miktarının ve sağlıklı bitkilerde ortalama bitki boyunun önemli karakterler olduğu toplam varyansın %20,534'ünü açıklamıştır. Üçüncü bileşen, ortalama yabancı ot sayısı ve sağlıklı bitkilerde ortalama nodül sayılarının anlamlı karakterler olarak tanımlandığı toplam varyansın %13,510'unu açıklamıştır.

Tablo 4.7 Her bileşenin faktör yükleri

Parametreler	Bileşenler*		
	PC1	PC2	PC3
Sıcaklık (°C)	-,815		
Hastalık şiddeti (%)	-,656		
Yağışlı günler sayısı	,649		
Bağıl nem (%)	,547		
Rakım (m)		-,784	
Yağış miktarı (mm)		,731	
Sağlıklı bitkilerin ortalama boyu (cm)		,624	
Ortalama yabancı ot sayısı (m ²)			,686
Sağlıklı bitkilerin ortalama nodül sayısı			-,651
Özgün değer	1,988	1,848	1,216
Açıklanan varyans oranı %	22,087	20,534	13,510

*Ekstraksiyon Yöntemi: Temel Bileşen Analizi. Rotasyon Metodu: Kaiser Normalizasyonlu Varimax Rotasyon 7 yinelemede birleşmiştir.



Şekil 4.14 Faktörlerin solgunluk ve sararma tiplerinin dağılımına etkisi

4.2. Patojenisite Testleri

F. oxysporum f. sp. *ciceris* izolatlarını tespit etmek ve bu izolatların virülenslik seviyesini belirlemek için toplamda 880 izolattan seçilen 442 izolat patojenisite testine tabi tutulmuştur. Kurulacak patojenisite denemesi dizayn edilirken ilk olarak solgunluk semptomları görülen nohut bitkilerinden elde edilen izolatlar kullanılmıştır. Kontrollü iklim koşulları altındaki klima odasında tarladaki gibi solgunluk semptomlarının görülüp görülmeyeceği belirlenmek istenmiştir. Bu amaçla solgunluk grubuna ait 151 izolat ve sararma grubuna ait 291 izolat farklı lokasyonlardan seçilerek patojenisite çalışmasına dâhil edilmiştir.

Patojenisite çalışmasında kullanılan solgunluk grubundan 2 izolat ve sararma grubundan ise 24 izolat dışındaki tüm izolatlar (416 izolat) *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* olarak tanımlanmıştır. Patojen olan 416 izolatın 267'sinin sararma grubundan ve 149'unun ise solgunluk grubundan olduğu saptanmıştır. Patojenik olmayan izotatlardan 3'ü Bilecik ilinin testlenen tüm izolatlarına ait olup geri kalan 23 izolatın 14 ile ait izotatlardan olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.8).

Tablo 4.8 Bölge ve il düzeyinde patojenisite çalışmalarına ait izolat bilgileri

Bölgeler	İller	İzolat sayısı		
		<i>Fusarium</i> spp.	Patojenisitede kullanılan	<i>F oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>
Güneydoğu Anadolu Bölgesi	Adıyaman	46	24	22
	Mardin	14	5	4
	Diyarbakır	7	3	3
	Şanlıurfa	0	0	0
	Gaziantep	7	4	3
Doğu Anadolu Bölgesi	Malatya	3	3	2
	Tunceli	11	5	3
Akdeniz Bölgesi	Antalya	73	34	34
	Burdur	19	10	10
	Hatay	21	10	9
	Kahramanmaraş	1	0	0
	Adana	4	4	3
	Mersin	154	86	84
	Isparta	43	30	30
Ege Bölgesi	Denizli	72	35	32
	Muğla	14	8	8
	Uşak	78	33	33
	Manisa	32	14	14
	Kütahya	2	2	2
	Afyonkarahisar	0	0	0
	İzmir	4	4	3
Marmara Bölgesi	Balıkesir	46	17	16
	Bilecik	6	3	0
	Bursa	16	8	7
	Çanakkale	34	15	13
	Tekirdağ	35	15	15
İç Anadolu Bölgesi	Aksaray	18	13	13
	Kırşehir	1	1	1
	Yozgat	0	0	0
	Ankara	5	4	4
	Konya	2	1	1
	Eskişehir	49	22	22
	Kırıkkale	0	0	0
Karadeniz Bölgesi	Amasya	52	24	21
	Samsun	0	0	0
	Çorum	0	0	0
	Tokat	11	5	4
Toplam	37	880	442	416

İnokülasyondan sonra 28 gün boyunca periyodik olarak 7 gün aralıklarla, her bitki (0-4) skalasına göre değerlendirilmiştir (Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz, 1985). Her izolat için hastalık şiddeti (%) oranı Townsend ve Heuberger (1943) formülüne göre hesaplanmıştır.

İnokülasyondan 7 gün sonra hem sararma hem de solgunluk izolatlarının inoküle edildiği bitkilerin bazal yapraklarının tamamında, üst yaprakların ise marjinlerinde sararma görülmüştür. 14. günde sararan bazal yapraklar kahverengileşerek kuruyup dökülmüştür ve üst yapraklarda sararma birçok yaprağı etkilemiştir. Solgunluk grubunda, sararma grubuna kıyasla 14. günden sonra daha hızlı bir hastalık ilerlemesi gerçekleşmiştir. 21. günde bitkinin bazal yaprakları tamamen dökülmüştür. Ayrıca petiyol ve eksenlerde de sararma ve kuruma başlamıştır. Bazı agresif izolatlar 21. günde bitkinin tepe noktasında da sararma semptomları göstermiş ve daha sonra hızlı bir kuruma süreci başlamıştır. 28. günden sonra yüksek virülent izolatların inoküle edildiği bazı bitkilerde tamamen kuruma ve ölüm gerçekleşmiştir. Sararma ve solgunluk izolatlarında semptomların gelişimi ve ilerlemesinde belirgin bir farklılık görülmemiştir (Şekil 4.15).



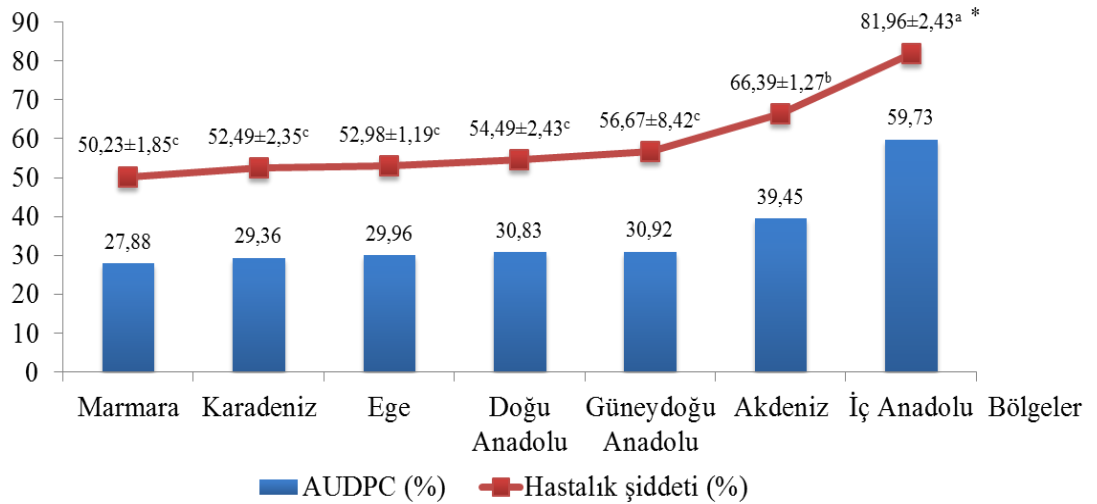
Şekil 4.15 İnokülasyondan sonraki 21. günde bitkilerdeki hastalık gelişim durumu
Sararma Antalya/Döşemealtı izolatı, solgunluk Aksaray/Merkez izolatı

Son skorlama yapıldıktan sonra (28. gün) enfekte bitkilerin vasküler sistemindeki renk değişikliği incelenmiştir. Bu doğrultuda iç dokularında kararma ve kahverengileşme görülen bitkilerin *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* tarafından enfekte edildiği belirlenmiştir. Kontrol bitkileri ve enfekte tüm bitkilere uygulanan Koch postulatlarında başarılı bir şekilde patojen re-izolasyonları yapılmış ve enfekte bitkilerden *F. oxysporum* fungal kolonileri elde edilmiştir. (Şekil 3.10).

Hastalıklı bitkilerin semptom gelişimleri ve izolatların patojenik değişkenliği incelenmiştir. ILC482 nohut çeşidi üzerinde gerçekleştirilen patojenisite testleri, tüm izolatların virülenslik seviyesinde çeşitlilik olduğunu göstermiştir.

%0 patojenik değil (NP); %1-20 zayıf patojenik (WP); %21-50 orta derecede patojenik (MP); %51-70 güçlü patojenik (SP) ve %>70 yüksek patojenik (HP) olmak üzere *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarını beş gruba ayıran Haware ve Nene (1982a), Dubey vd. (2012) ve Rakhonde vd. (2017) değerlendirme sisteminde %AUDPC hesaplanmasına göre izolatlar gruplandırılmıştır. Buna göre il düzeyinde Aksaray (%65,06) ve Eskişehir (%64,11) illeri güçlü patojenik grubunda; Tokat ili (%16,89) zayıf patojenik grupta yer almıştır. Geriye kalan 26 il ise orta derecede patojenik olarak gruplanmıştır ve DSI değeri %22,49-48,67 arasında değişmiştir. En yüksek ve en düşük DSI sırasıyla Aksaray ve Tokat illerinde görülmüştür (Tablo 4.9).

AUDPC değerlendirmesine göre İç Anadolu Bölgesi dışındaki tüm bölgelerin orta derecede patojenik izolatlara sahip olduğu belirlenmiştir. İç Anadolu Bölgesi'nin DSI değeri ise %59,73 olarak hesaplanmış ve güçlü patojenik grupta yer aldığı belirlenmiştir. Diğer coğrafi bölgelerin DSI değerinin %27,88-%39,45 arasında değiştiği görülmüştür (Şekil 4.16).



Şekil 4.16 *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*'in AUDPC ve hastalık şiddeti

değerlerinin coğrafi bölgelere göre kıyaslanması

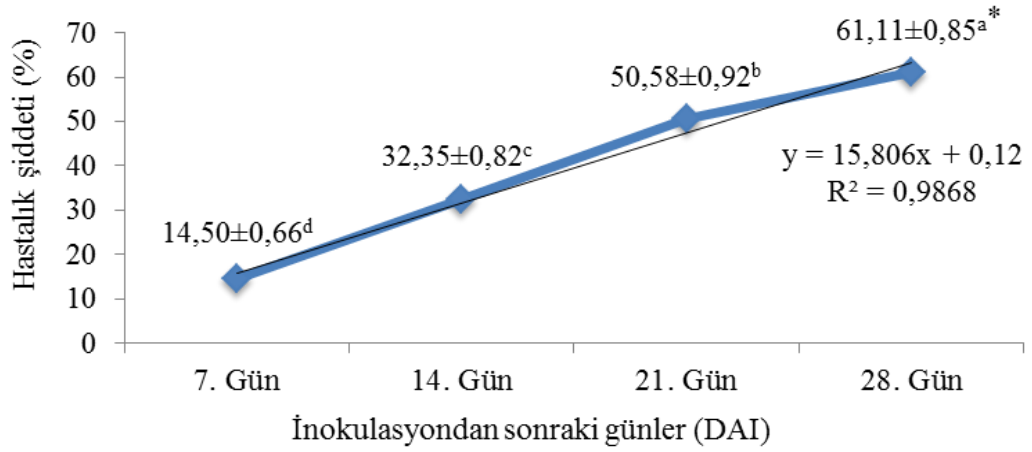
*Aynı harfle ifade edilen ortalama±standart hata, Duncan testine göre önemli ölçüde farklı değildir ($p < 0,05$).

Tablo 4.9 Patojenisite çalışmasında değerlendirilen illerin %DSI gruplaması

Bölgeler	İller	%AUDPC	Gruplandırma
Güneydoğu Anadolu Bölgesi	Adıyaman	32,43	MP
	Diyarbakır	24,50	MP
	Mardin	25,60	MP
	Gaziantep	33,33	MP
Doğu Anadolu Bölgesi	Malatya	25,45	MP
	Tunceli	34,42	MP
Akdeniz Bölgesi	Antalya	29,55	MP
	Burdur	27,14	MP
	Hatay	25,96	MP
	Adana	29,17	MP
	Mersin	43,44	MP
	Isparta	48,67	MP
Ege Bölgesi	Denizli	29,74	MP
	İzmir	22,49	MP
	Muğla	29,09	MP
	Uşak	30,45	MP
	Manisa	30,46	MP
	Kütahya	36,73	MP
Marmara Bölgesi	Balıkesir	32,29	MP
	Bursa	29,42	MP
	Çanakkale	24,19	MP
	Tekirdağ	25,66	MP
İç Anadolu Bölgesi	Kırşehir	25,30	MP
	Ankara	30,46	MP
	Konya	45,84	MP
	Aksaray	65,06	SP
	Eskişehir	64,11	SP
Karadeniz Bölgesi	Amasya	31,73	MP
	Tokat	16,89	WP
Genel Ortalama	29 il	36,57	MP

WP: Zayıf Patojenik, MP: Orta Derecede Patojenik, SP: Güçlü Patojenik

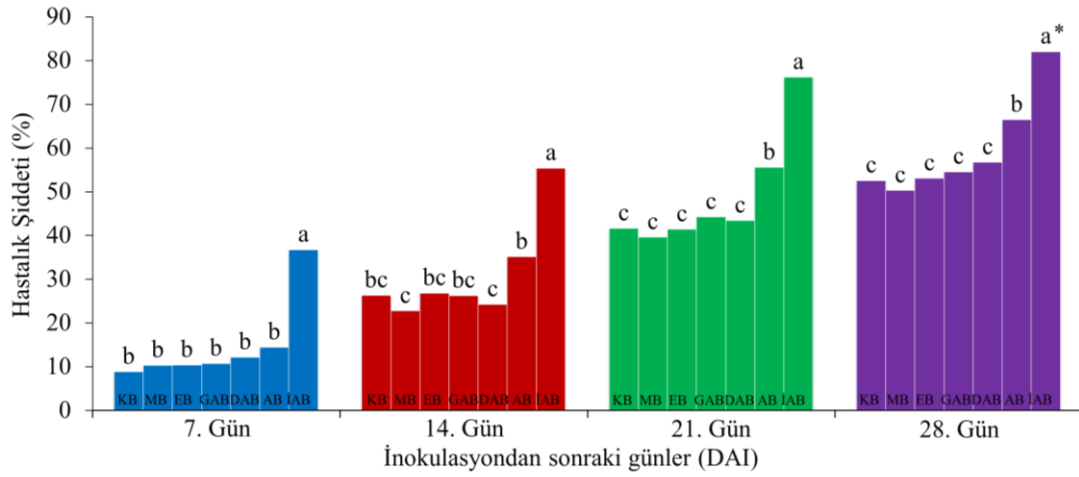
F. oxysporum f. sp. *ciceris* izolatlarının hastalık şiddeti 28 gün boyunca doğrusal olarak artış göstermiştir. İnokülasyondan sonra skorumanın yapıldığı günlerde Duncan analizine göre izolatların hastalık şiddeti değerleri 3 farklı grup oluşturmuştur (Şekil 4.16). Hastalık şiddeti inokülasyondan sonraki 14. gün ile 21. gün arasında daha hızlı artarken 21. gün ile 28. gün arasındaki artış en az olmuştur. Şekil 4.17'deki denkleme göre inokülasyondan sonraki 3. günde hastalık şiddetinin yaklaşık %7 olabileceği ve enfekte bitkilerin inokülasyondan sonra ancak 42. günde %100 hastalık şiddetine ulaşabileceği tahmin edilmektedir.



Şekil 4.17 *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*'in günlere göre hastalık değişimi

*Aynı harfle ifade edilen ortalama±standart hata, Duncan testine göre önemli ölçüde farklı değildir ($p < 0,05$).

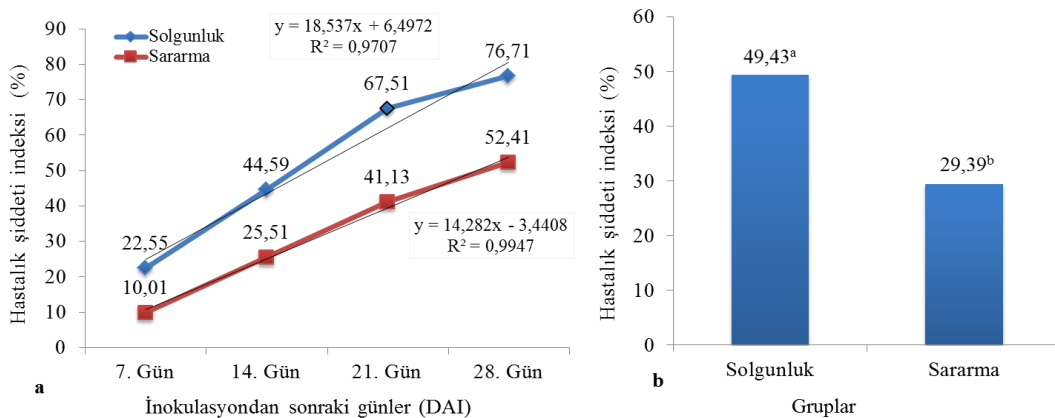
Skorlama yapılan günlerde en yüksek hastalık şiddeti sırasıyla en yüksek İç Anadolu ve Akdeniz Bölgeleri'nde görülmektedir. İç Anadolu Bölgesi 28 gün boyunca en yüksek hastalık şiddeti ile ayrı bir grup oluşturmuştur. Akdeniz Bölgesi 7. gün hariç diğer günlerde hastalık şiddeti bakımından İç Anadolu Bölgesi'nden sonra gelerek ayrı bir grup oluşturmuştur. Hastalık şiddeti bakımından 7. gün Karadeniz Bölgesi en düşük seviyede yer almıştır, ancak diğer günlerde en düşük değerin Marmara Bölgesi'nde olduğu tespit edilmiştir. 7. günde İç Anadolu Bölgesi dışında tüm bölgelerin hastalık şiddeti birbirine yakın olarak hesaplanmış ve bu bölgeler ayrı bir grupta yer alarak iki grup oluşmuştur. 14. günde Karadeniz, Ege ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nin hastalık şiddeti Marmara ve Doğu Anadolu ile Akdeniz Bölgeleri'ne yakın olmasına rağmen ayrı bir grupta yer alarak 14. günde dört grup olduğu görülmüştür. 21. ve 28. günde 7. güne benzer bir durum görülmüştür, ancak Akdeniz Bölgesi tek başına ayrı bir grup meydana getirmiştir. Marmara Bölgesi'nin ise 7. gün hariç genel olarak en düşük hastalık şiddeti seviyesine sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18 Coğrafi bölgelerin hastalık şiddetinin gruplandırılması

*Aynı harfle ifade edilen ortalama±standart hata, Duncan testine göre önemli ölçüde farklı değildir ($p < 0,05$). **KB:** Karadeniz Bölgesi, **MB:** Marmara Bölgesi, **EB:** Ege Bölgesi, **GAB:** Güneydoğu Anadolu Bölgesi, **DAB:** Doğu Anadolu Bölgesi, **AB:** Akdeniz Bölgesi, **İAB:** İç Anadolu Bölgesi

İnokülasyondan sonra 28 boyunca hastalık ilerlemiştir. 14. gün ile 21. gün arasındaki hastalık, diğer günlere göre daha hızlı ilerlemiştir (Şekil 4.19 a). Solgunluk izolatlarının DSI değerinin sararma izolatlarına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla solgunluk grubu, sararma grubuna göre bitki üzerinde daha agresif bir yapı sergilemiştir (Şekil 4.19 b).



Şekil 4.19 *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* inokülasyonu sonrasında nohutta hastalık gelişimi

(a) sararma ve solgunluk tiplerinin DSI (%) ve (b) AUDPC (%) değerleri

4.3. Vejetatif Uyum Grubu (VCG) Analizleri

Nohuttan izole edilen *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının ve patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatlarının vejetatif uyumluluk gruplarını belirlemek amacıyla toplam 127 izolat kullanılmıştır. 416 patojenik izolattan coğrafi dağılım ve hastalık şiddetlerine göre seçilen 67 solgunluk izolatı (20 farklı lokasyon), 54 sararma izolatı (53 farklı lokasyon) ve 6 patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatı (6 farklı lokasyon) kullanılmıştır. Sararma grubundan Adıyaman (FAK7/15), Mardin (FMD13/15-1), Tunceli (FTO16/15), Hatay (FHB1/16), illerine ait 1 ve Bilecik iline ait 2 izolat (FBBZ6/15 ve FBBZ11/15-1) *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* değildir. VCG çalışmasında, en fazla izolat solgunluk grubu illeri olan Mersin (32 izolat), Isparta (16 izolat), Eskişehir (10 izolat) ve Aksaray (9 izolat) illerine aittir. *nit* mutantlarını belirlemek amacıyla bu izolatlar %1,5 ve %2 $KClO_3$ içeren PDA ve FMM besiyerlerinde kültüre alınmıştır. Başlangıçta tüm fungal izolatlar sınırlı bir büyüme göstermiştir. Ancak inkübasyondan yaklaşık 7-10 gün sonra hızlı büyüyen ve şeffaf bir görünüme sahip bazı sektörlerden *nit* mutantları elde edilmiştir.

1.040 adet klorata dayanıklı sektör seçilmiştir (izolat başına yaklaşık 8,2) ve 376 *nit* mutantı elde edilmiştir (izolat başına yaklaşık 3 *nit* mutantı). *nit* mutantları ve sektörler açısından izolatlar arasında değişkenlik olduğu gözlemlenmiştir. En fazla sektör FAKM25/16 izolatından (Aksaray/Merkez-31 sektör) elde edilmiş ve bunu sırasıyla FDS4/15 (Denizli/Serinhisar-30 sektör), FMT91/16 (Mersin/Tarsus-26 sektör) ve FEM2/16 (Eskişehir/Merkez-22 sektör) izolatları takip etmiştir. En fazla *nit* mutantı FMS14/16 izolatından (Mersin/Silifke-9 *nit* mutantı) elde edilmiş ve bunu sırasıyla 7 *nit* mutantı ile FEM10/16 (Eskişehir/Merkez), FDS4/15 (Denizli/Serinhisar) ve FAT68/16 (Amasya/Taşova) izolatları takip etmiştir. En fazla sektör (316 sektör) Mersin ilinden; en az sektör (3 sektör) İzmir ilinden seçilmiştir. En fazla *nit* mutantı (99 *nit* mutantı) Mersin ilinden; en az *nit* mutantı (2 *nit* mutantı) ise İzmir, Tunceli, Burdur, Bursa ve Konya ilinden elde edilmiştir. Hem %1,5 hem de %2 $KClO_3$ içeren besiyerlerinde kültüre alınan Malatya, Adana ve Kütahya illerine ait 5 izolattan *nit* mutantı elde edilememiştir.

Solgunluk grubu için %1,5 ve %2 $KClO_3$ içeren besiyerlerinden 607 klorata dayanıklı sektör seçilmiştir (izolat başına yaklaşık 9,1) ve 212 *nit* mutantı elde edilmiştir (izolat başına yaklaşık 3,2) (Tablo 4.10).

Sararma grubu için %1,5 ve %2 KClO₃ içeren besiyerlerinden 433 sektör seçilmiştir (izolat başına yaklaşık 7,2) ve 164 *nit* mutanlığı elde edilmiştir (izolat başına yaklaşık 2,7) (Tablo 4.11). En fazla sektör ve *nit* mutanlığı ise solgunluk grubundaki izolatlardan elde edilmiştir (Tablo 4.10).

Tablo 4.10 Solgunluk izolatlarına ait *nit* mutanlığının PDAC ve FMMC besiyerlerindeki fenotiplerinin illere göre dağılımı

İller	Besiyeri	Sektör sayısı	<i>nit</i> mutanlığı sayısı	<i>nit</i> (%)	<i>nit</i> mutanlık sınıfı		
					<i>nit1</i>	<i>nit3</i>	NitM
Mersin	PDAC	168	49	29,17	28	6	15
	FMMC	148	50	33,78	31	1	18
Isparta	PDAC	54	30	55,56	19	3	8
	FMMC	80	25	31,25	22	1	2
Aksaray	PDAC	32	13	40,63	7	0	6
	FMMC	63	18	28,57	6	0	12
Eskişehir	PDAC	28	17	60,71	10	3	4
	FMMC	34	10	29,41	6	0	4
Toplam	PDAC	282	109	38,65	64	12	33
	FMMC	325	103	31,69	65	2	36
Toplam		607	212	34,93	129	14	69
Ortalama		9,06	3,16		1,93	0,21	1,03

Tablo 4.11 Sararma izolatlarına ait *nit* mutanlığının PDAC ve FMMC besiyerlerindeki fenotiplerinin illere göre dağılımı

İller	Besiyeri	Sektör sayısı	<i>nit</i> mutanlığı sayısı	<i>nit</i> (%)	<i>nit</i> mutanlık sınıfı		
					<i>nit1</i>	<i>nit3</i>	NitM
Adıyaman	PDAC	14	9	64,29	3	1	5
	FMMC	19	5	26,32	1	0	4
Mardin	PDAC	7	2	28,57	1	0	1
	FMMC	12	3	25,00	1	0	2
Diyarbakır	PDAC	4	2	50,00	2	0	0
	FMMC	6	3	50,00	3	0	0
Gaziantep	PDAC	14	4	28,57	4	0	0
	FMMC	8	0	0,00	0	0	0
Tunceli	PDAC	4	2	50,00	1	0	1
	FMMC	0	0	0,00	0	0	0
Antalya	PDAC	8	1	12,50	1	0	0
	FMMC	19	7	36,84	7	0	0
Burdur	PDAC	0	0	0,00	0	0	0
	FMMC	4	2	50,00	2	0	0

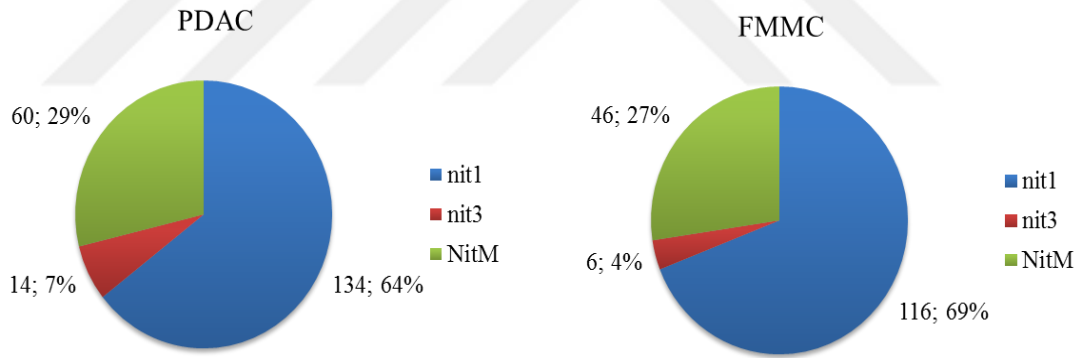
Tablo 4.11 Devamı

İller	Besiyeri	Sektör sayısı	nit mutantı sayısı	nit (%)	nit mutant sınıfı		
					nit1	nit3	NitM
Hatay	PDAC	19	5	26,32	5	0	0
	FMMC	22	4	18,18	3	1	0
Denizli	PDAC	26	10	38,46	6	1	3
	FMMC	20	8	40,00	8	0	0
Muğla	PDAC	8	2	25,00	0	0	2
	FMMC	5	3	60,00	3	0	0
Uşak	PDAC	17	8	47,06	7	0	1
	FMMC	7	3	42,86	3	0	0
Manisa	PDAC	7	4	57,14	2	0	2
	FMMC	2	1	50,00	1	0	0
İzmir	PDAC	3	2	66,67	1	0	1
	FMMC	0	0	0,00	0	0	0
Balıkesir	PDAC	10	5	50,00	5	0	0
	FMMC	8	4	50,00	3	0	1
Bilecik	PDAC	10	7	70,00	7	0	0
	FMMC	10	2	20,00	2	0	0
Bursa	PDAC	8	0	0,00	0	0	0
	FMMC	6	2	33,33	0	2	0
Çanakkale	PDAC	20	10	50,00	5	0	5
	FMMC	20	4	20,00	2	1	1
Tekirdağ	PDAC	15	4	26,67	3	0	1
	FMMC	8	1	12,50	1	0	0
Kırşehir	PDAC	4	2	50,00	0	0	2
	FMMC	2	2	100,00	2	0	0
Ankara	PDAC	5	3	60,00	1	0	2
	FMMC	4	3	75,00	1	0	2
Konya	PDAC	5	2	40,00	2	0	0
	FMMC	3	0	0,00	0	0	0
Amasya	PDAC	14	12	85,71	11	0	1
	FMMC	9	6	66,67	6	0	0
Tokat	PDAC	10	3	30,00	3	0	0
	FMMC	7	2	28,57	2	0	0
Toplam	PDAC	232	99	42,67	70	2	27
	FMMC	201	65	32,34	51	4	10
Toplam		433	164	37,88	121	6	37
Ortalama		7,22	2,73		2,0	0,1	0,62
					2	0	

nit mutantlarının fenotipi farklı nitrojen kaynakları içeren minimal besiyerlerinde koloni morfolojisine göre belirlenmiştir. Sektörler nitrat, nitrit ve hipoksantin içeren FMM besiyerlerinde kültüre alınmıştır.

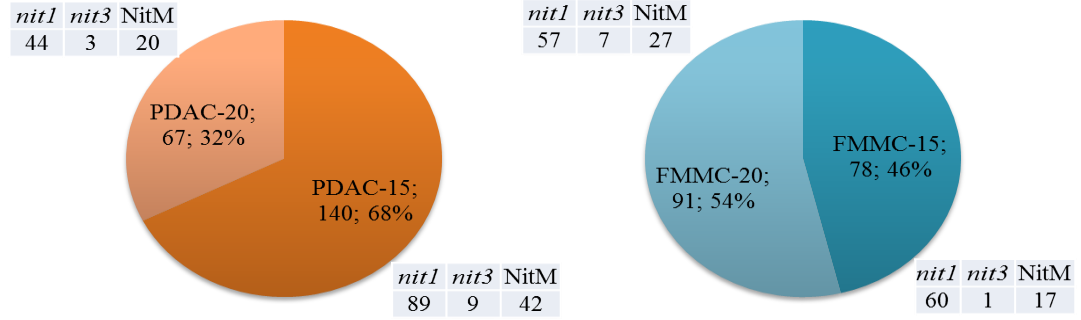
Tablo 3.1'deki gibi sodyum nitrit ve hipoksantin içeren besiyerinin her ikisinde de yabancı gelişim gösteren sektörler *nit1*, sadece hipoksantinde yabancı gelişim gösterenler *nit3* ve sadece NaNO₂'te yabancı gelişim gösterenler NitM olarak fenotiplenmiştir (Correll vd., 1987b).

PDAC besiyerine (514 sektör) kıyasla FMMC'den (526 sektör) daha fazla sektör seçilmesine rağmen en fazla *nit* mutanıtı PDAC'den (208 *nit* mutanıtı-%40,47) elde edilmiştir, FMMC'den ise 168 *nit* mutanıtı (%31,94) elde edilmiştir. Klorata dayanlı 1.040 sektörden 376 *nit* mutanıtı (%36,15) elde edilmiştir. Hem PDAC hem de FMMC besiyerlerinden elde edilen 376 *nit* mutanıtından 250'si *nit1* (%66,49), 20'si *nit3* (%5,32) ve 106'sı NitM (%28,19) olarak belirlenmiştir. *nit3* mutanıtı diğerlerine göre en az orana sahip *nit* mutanıtı olarak tespit edilmiştir. *nit1* %69 oranla en fazla FMMC'den elde edilmesine karşın %7 oranla *nit3* ve %29 oranla NitM en fazla PDAC'den elde edilmiştir (Şekil 4.20). Ayrıca *nit1* mutanıtı 105; *nit3* mutanıtı 15; NitM mutanıtı 65 farklı izolattan elde edilmiştir.



Şekil 4.20 PDAC ve FMMC besiyerlerindeki *nit* mutanıt sınıflarının oranları

Şekil 4.21'de %1,5 ve %2 oranında KClO₃ ile hazırlanan PDA ve FMM besiyerlerinden elde edilen *nit* mutanıt sınıflarının sayıları verilmiştir. En fazla *nit* mutanıtı (*nit1*, *nit3* ve NitM) PDAC-15'ten elde edilmiştir. PDAC-15'ten sonra en fazla *nit1* FMMC-15'ten ve en fazla *nit3* ve NitM ise FMMC-20'den elde edilmiştir. Ayrıca 140 *nit* mutanıtının elde edildiği %1,5 oranında KClO₃ içeren PDA besiyerinin diğerlerine göre daha etkili olduğu görülmüştür. %2 oranında KClO₃ içeren FMM besiyerinin ise %1,5 içeren besiyerlerine göre *nit* mutanıt eldesinde daha başarılı olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.21 Farklı klorat oranlarına sahip PDAC ve FMMC besiyerlerindeki *nit* mutant sayısı ve oranları

F. oxysporum f. sp. *ciceris* izolatlarının vejetatif uyum gruplarını belirlemek üzere izolatların *nit* mutantları arasında eşleşme (komplementasyon) çalışmaları yapılmıştır. Başlangıçta kendine uyumluluk veya uyumsuzluk durumunu (HSC/HSI) kontrol etmek amacıyla her izolatın farklı *nit* fenotipleri eşleştirilmiştir. 67 solgunluk izolatından 27 izolatın kendisiyle uyumlu (HSC) ve 1 izolatın ise (FMS11/16-Mersin/Silifke) kendisi de dâhil hiçbir izolatla uyumlu olmadığı görülmüştür (Tablo 4.12).

Tablo 4.12 Solgunluk ile test izolatları arasında yapılan VCG tiplemesi

İl/İlçe	İzolat no	Test mutanıtı	
		FIY31/16-15	FIŞ13/16-5
Mersin/Tarsus	FMT49/16	+	+
Mersin/Tarsus	FMT52/16	+	+
Mersin/Tarsus	FMT60/16	+	+
Mersin/Tarsus	FMT63/16	+	+
Mersin/Tarsus	FMT73/16	+	+
Mersin/Tarsus	FMT76/16	+	+
Mersin/Tarsus	FMT77/16	+	+
Mersin/Tarsus	FMT81/16	+	+
Mersin/Tarsus	FMT86/16	+	+
Mersin/Tarsus	FMT91/16	+	+
Mersin/Tarsus	FMT94/16	+	+
Mersin/Tarsus	FMT95/16	+	+
Mersin/Tarsus	FMT100/16	+	+
Mersin/Silifke	FMS11/16	-	-
Mersin/Silifke	FMS14/16	+	+
Mersin/Silifke	FMS17/16	+	+
Mersin/Silifke	FMS20/16	+	+
Mersin/Silifke	FMS23/16	+	+

Tablo 4.12 Devamı

İl/İlçe	İzolat no	Test mutanlığı	
		FIY31/16-15	FIŞ13/16-5
Mersin/Silifke	FMS25/16	+	+
Mersin/Silifke	FMS27/16	+	+
Mersin/Silifke	FMS61/16	+	+
Mersin/Silifke	FMS65/16	+	+
Mersin/Silifke	FMS81/16	+	+
Mersin/Gülnar	FMG8/16	+	+
Mersin/Gülnar	FMG20/16	+	+
Mersin/Gülnar	FMG25/16	+	+
Mersin/Gülnar	FMG26/16	+	+
Mersin/Gülnar	FMG41/16	+	+
Mersin/Gülnar	FMG59/16	+	+
Mersin/Gülnar	FMG63/16	+	+
Mersin/Gülnar	FMG65/16	+	+
Mersin/Gülnar	FMG67/16	+	+
Isparta/Yalvaç	FIY4/16	+	+
Isparta/Yalvaç	FIY18/16	+	+
Isparta/Yalvaç	FIY22/16	+	+
Isparta/Yalvaç	FIY24/16	+	+
Isparta/Yalvaç	FIY26/16	+	+
Isparta/Yalvaç	FIY29/16	+	+
Isparta/Yalvaç	FIY31/16	+	+
Isparta/�arkikaraa�a�	FI�1/16	+	+
Isparta/�arkikaraa�a�	FI�3/16	+	+
Isparta/�arkikaraa�a�	FI�13/16	+	+
Isparta/Gelendost	FIG3/16	+	+
Isparta/Gelendost	FIG4/16	+	+
Isparta/Gelendost	FIG5/16	+	+
Isparta/Gelendost	FIG6/16	+	+
Isparta/Gelendost	FIG7/16	+	+
Isparta/Gelendost	FIG9/16	+	+
Aksaray/Merkez	FAKM1/16	+	+
Aksaray/Merkez	FAKM3/16	+	+
Aksaray/Merkez	FAKM5/16	+	+
Aksaray/Merkez	FAKM9/16	+	+
Aksaray/Merkez	FAKM12/16	+	+
Aksaray/Merkez	FAKM16/16	+	+
Aksaray/Merkez	FAKM18/16	+	+
Aksaray/Merkez	FAKM22/16	+	+
Aksaray/Merkez	FAKM25/16	+	+
Eskişehir/Merkez	FEM2/16	+	+
Eskişehir/Merkez	FEM6/16	+	+
Eskişehir/Merkez	FEM10/16	+	+

Tablo 4.12 Devamı

İl/İlçe	İzolot no	Test mutanti	
		FIY31/16-15	FIŞ13/16-5
Eskişehir/Merkez	FEM14/16	+	+
Eskişehir/Merkez	FEM17/16	+	+
Eskişehir/Merkez	FEM20/16	+	+
Eskişehir/Merkez	FEM39/16	+	+
Eskişehir/Merkez	FEM46/16	+	+
Eskişehir/Merkez	FEM48/16	+	+
Eskişehir/Sivrihisar	FES4/16	+	+

60 sararma izolatından 14 izolatın kendisiyle uyumlu (HSC) ve 11 izolatın ise hiçbir izolatla uyumlu olmadığı gözlemlenmiştir (Tablo 4.13). Ancak FHM5/16 (Hatay/Merkez) izolatı, test izolatları da dâhil hiçbir izolatla uyumlu reaksiyon göstermezken sadece kendisiyle uyumlu (HSC) olmuştur. Solgunluk grubundan 39 izolat ve sararma grubundan 36 izolat, tek bir *nit* veya aynı *nit* mutantına (*nit1* veya *nit3*) sahip olduğundan kendisiyle uyumluluk/uyumsuzluk durumu tespit edilememiştir.

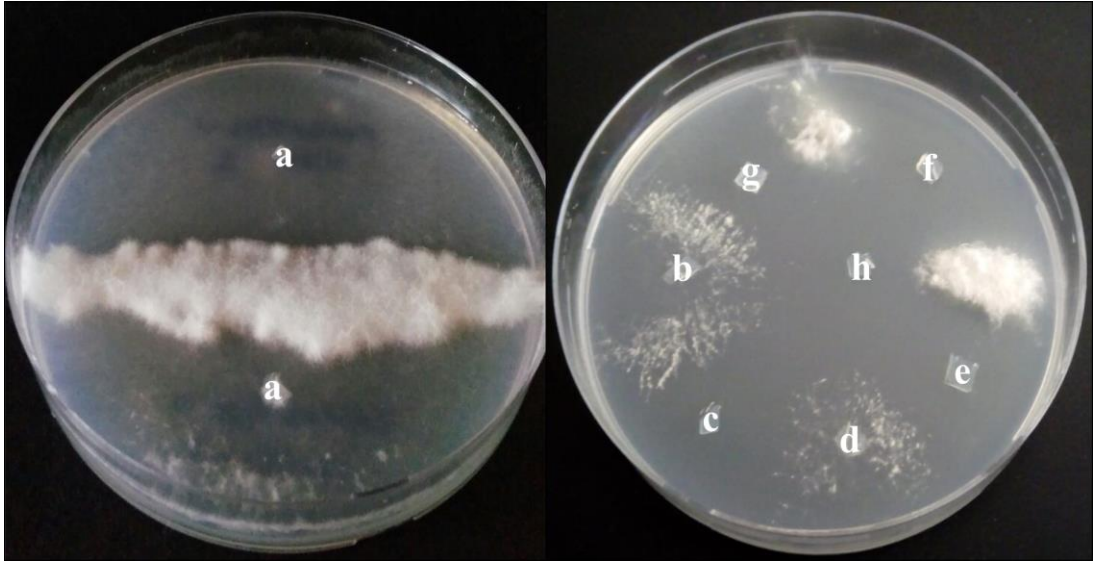
Tablo 4.13 Sararma ile test izolatları arasında yapılan VCG tiplemesi

İl/İlçe	İzolot no	Test mutanti	
		FDT5/15-5	FANB6/16-23
Adıyaman/Kâhta	FAK7/15	+	+
Adıyaman/Merkez	FAM10/15	+	+
Adıyaman/Besni	FAB17/16	+	+
Adıyaman/Besni	FAB29/16-1	-	-
Adıyaman/Merkez	FAM3/16	+	+
Adıyaman/Kâhta	FAK2/16	+	+
Mardin/Dargeçit	FMD13/15-1	+	+
Mardin/Midyat	FMM3/15-1	+	+
Mardin/Savur	FMS23/15-1	-	-
Diyarbakır/Çermik	FDÇ6/15	+	+
Gaziantep/Oğuzeli	FGO05/16	-	-
Gaziantep/Yavuzeli	FGY01/16	+	+
Tunceli/Ovacık	FTO16/15	-	-
Tunceli/Ovacık	FTO37/15	-	-
Antalya/Döşmealtı	FAD2/15	+	+
Antalya/Elmalı	FAE14/15	+	+
Antalya/Elmalı	FAE28/15	+	+
Antalya/Elmalı	FAE37/15	+	+
Antalya/Korkuteli	FANK1/15-2	+	+

Tablo 4.13 Devamı

İl/ilçe	İzolot no	Test mutanti	
		FDT5/15-5	FANB6/16-23
Burdur/Bucak	FBF10/15	+	+
Hatay/Belen	FHB6/15-1	+	+
Hatay/Merkez	FHM5/16	-	-
Hatay/Belen	FHB1/16	+	+
Denizli/Tavas	FDT5/15	+	+
Denizli/Serinhisar	FDS4/15	+	+
Denizli/Serinhisar	FDS48/15	-	-
Denizli/Serinhisar	FDS74/15	+	+
Denizli/Serinhisar	FDS83/15-1	+	+
Muğla/Fethiye	FMF2/15	+	+
Muğla/Fethiye	FMF18/15	+	+
Uşak/Merkez	FUM23/16	+	+
Uşak/Merkez	FUM35/16	+	+
Uşak/Karahallı	FUK3/16	+	+
Manisa/Kula	FMK15/16	-	-
Manisa/Kula	FMK35/16	+	+
İzmir/Menemen	FİM3/16	+	+
Balıkesir/Gönen	FBG3/15	+	+
Balıkesir/Gönen	FBG31/15	+	+
Balıkesir/Gönen	FBG49/15-2	+	+
Bilecik/Bozhüyük	FBZ6/15	-	-
Bilecik/Bozhüyük	FBZ11/15-1	-	-
Bursa/Nilüfer	FBN5/15	+	+
Çanakkale/Ezine	FÇE4/15	+	+
Çanakkale/Bayramiç	FÇBA1/15	+	+
Çanakkale/Bayramiç	FÇBA11/15	+	+
Çanakkale/Bayramiç	FÇBA14/15	+	+
Çanakkale/Biga	FÇB16/15	+	+
Tekirdağ/Malkara	FTM5/15	+	+
Tekirdağ/Şarköy	FTŞ10/15	+	+
Tekirdağ/Şarköy	FTŞ33/15	-	-
Kırşehir/Kaman	FKRK1/16	+	+
Ankara/Beypazarı	FANB6/16	+	+
Ankara/Beypazarı	FANB10/16	+	+
Konya/Akören	FKA3/16	+	+
Amasya/Taşova	FAT2/16	+	+
Amasya/Taşova	FAT39/16	+	+
Amasya/Taşova	FAT68/16	+	+
Amasya/Taşova	FAT85/16-2	+	+
Tokat/Merkez	FTOM19/16	+	+
Tokat/Merkez	FTOM22/16	+	+

Eşleştirme çalışmaları solgunluk ve sararma izolatları birbirinden bağımsız olarak gerçekleştirilmiştir. Tüm NitM mutantları NitM, *nit1* ve *nit3* mutantlarıyla; tüm *nit1* mutantları ise *nit3* mutantları ile eşleştirilmiştir. Vejetatif olarak uyumlu izolatların *nit* mutantları arasında meydana gelen eşleşmelerde mutantların eşleşme noktalarında yabani tip gelişim gerçekleşmiştir. Tüm *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının *nit* mutantlarının eşleştirilmesinde olası tüm kombinasyonlarda değişen derecelerde heterokaryon oluşumu gerçekleşmiştir. İlk aşamada oluşan birkaç grup için güçlü ve stabil heterokaryonlar verebilen test izolatları belirlenmiştir. Solgunluk grubundaki izolatların tek bir VCG oluşturduğu görülmüştür. Aynı şekilde sararma grubu izolatların da tek bir VCG oluşturduğu gözlemlenmiştir. Daha sonra her iki gruptan elde edilen test izolatları eşleştirilmiştir. Solgunluk grubunun test mutantları FIY31/16-15 (Isparta/Yalvaç) ve FIŞ13/16-5 (Isparta/Şarkıkaraağaç) izolatlarından; sararma grubununki ise FDT5/15-5 (Denizli/Tavas) ve FANB6/16-23 (Ankara/Beypazarı) izolatlarının NitM mutantları olarak belirlenmiştir. Sonraki aşamada bu test izolatları eşleştirilmiş ve son olarak da izolatların mutantları arasında gerçekleşen heterokaryon oluşumu tek VCG'nin varlığını göstermiştir.



Şekil 4.22 *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*'in *nit* mutantları arasındaki eşleşme desenleri

*a: FMG65/16 (NitM), b: FMM3/15-1 (NitM), c: FBB10/15 (*nit1*), d: FMD3/15-1 (NitM), e: FAE28/15 (*nit1*), f: FAM10/15 (NitM), g: FAE37/15 (*nit1*), h: FKRK1/16 (NitM)

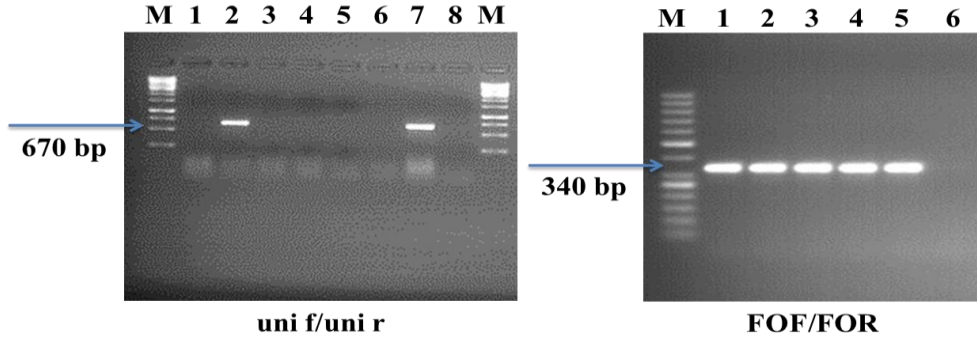
*Harfler izolatları temsil etmektedir.

Olası kombinasyonlar kurularak eşleştirilen *nit* mutantları arasında parçalı ve tam heterokaryonlar gözlemlenmiştir. Mardin ilinden FMM3/15-1 ve FMD3/15-1 izolatları parçalı eşleşme; diğer izolatlar ise tam eşleşme göstermiştir. Kırşehir ilinden FKRK1/16 izolatu ise uyumsuz reaksiyon göstermiştir. Mersin ilinden FMG65/16 izolatu HSC olarak belirlenmiştir (Şekil 4.22).

4.4. PCR Temelli Moleküler Çalışmalar

Fusarium oxysporum ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* popülasyonlarını belirlemek için spesifik primerler ile PCR analizleri gerçekleştirilmiştir. Böylece nohut bitkisinden izole edilen patojenik ve patojenik olmayan *F. oxysporum* popülasyonlarının patojenisite ve PCR sonuçları birlikte değerlendirilebilecektir.

uni primer seti ile testlenen 35 izolattan sadece FDC6/15 (Diyarbakır/Çermik) izolatu amplifikasyon göstermiştir. Testlenen 447 izolattan 334'ünde amplifikasyon sağlayan FOF/FOR primerleri, *F. oxysporum* izolatlarını belirleyebilmektedir (Şekil 4.23). Böylece Kütahya ili hariç 30 ilin *F. oxysporum* popülasyonu belirlenmiştir (Tablo 4.14).



Şekil 4.23 uni primer seti ve FOF/FOR primerleri ile yapılan PCR analizi sonucu oluşan bantların agaroz jel elektroforezi görüntüsü

uni f/uni r: M: 1 kb DNA Markır, (1, 2, 3) Diyarbakır izolatları, (4, 5, 6) Adıyaman izolatları, (7) Pozitif kontrol, (8) Negatif kontrol

FOF/FOR: M: 50 bp DNA Markır, (1,2) referans *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatu, (3) *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* izolatu, (4) *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* izolatu, (5) Diyarbakır izolatu, (6) Mardin izolatu

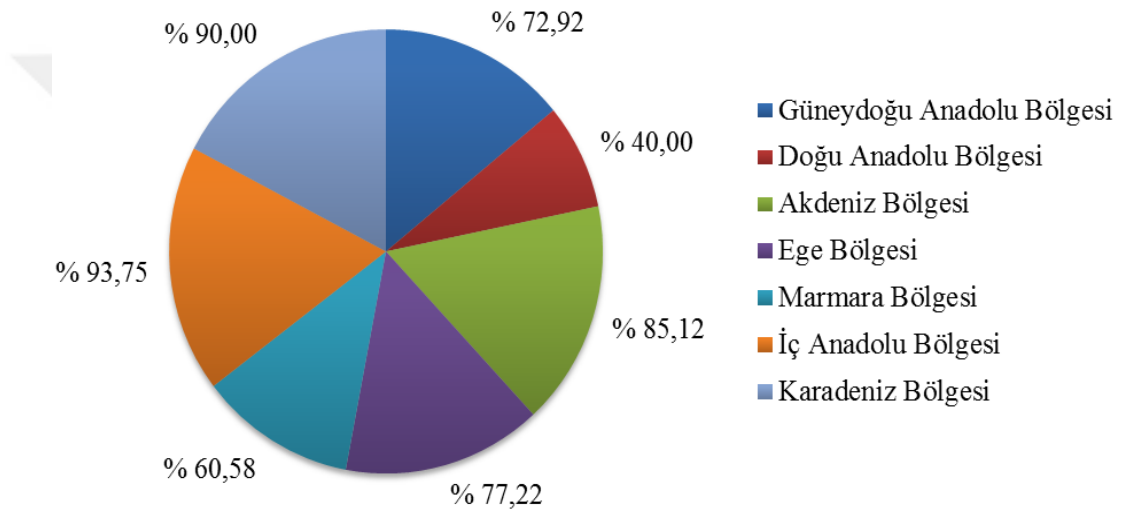
Tablo 4.14 *Fusarium oxysporum* izolatlarının illere göre dağılımı ve yüzde oranları

İller	<i>Fusarium</i> spp.	PCR yapılanlar	<i>Fusarium</i> <i>oxysporum</i>	% Oran
Adıyaman	46	26	25	96,15
Mardin	14	10	6	60,00
Diyarbakır	7	5	1	20,00
Gaziantep	7	7	3	42,86
Malatya	3	3	2	66,67
Tunceli	11	7	2	28,57
Antalya	73	26	19	73,08
Burdur	19	7	4	57,14
Hatay	21	15	12	80,00
Kahramanmaraş	1	1	1	100,00
Adana	4	3	2	66,67
Mersin	154	51	47	92,16
Isparta	43	18	18	100,00
Denizli	72	33	22	66,67
Muğla	14	7	5	71,43
Uşak	78	25	22	88,00
Manisa	32	10	10	100,00
Kütahya	2	2	0	0,00
İzmir	4	2	2	100,00
Balıkesir	46	46	43	93,48
Bilecik	6	6	3	50,00
Bursa	16	16	3	18,75
Çanakkale	34	34	20	58,82
Tekirdağ	35	35	14	40,00
Aksaray	18	9	9	100,00
Kırşehir	1	1	1	100,00
Ankara	5	4	4	100,00
Konya	2	2	1	50,00
Eskişehir	49	16	15	93,75
Amasya	52	16	14	87,50
Tokat	11	4	4	100,00
TOPLAM	880	447	334	74,72

F. oxysporum izolatlarının coğrafi bölgelere göre dağılımı ve yüzde (%) oranları Tablo 4.15'te ve Şekil 4.24'de verilmiştir.

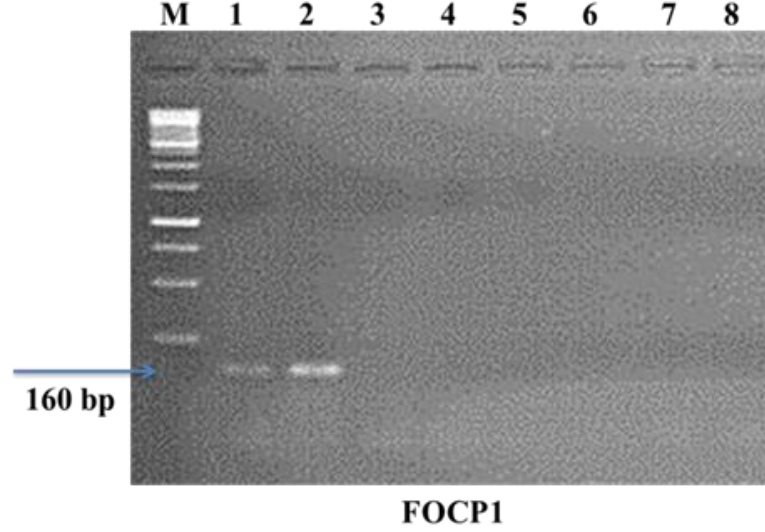
Tablo 4.15 *Fusarium oxysporum* izolatlarının bölgelere göre dağılımı

Bölgeler	PCR yapılan <i>Fusarium</i> spp.	<i>F. oxysporum</i>	% Oran
Güneydoğu Anadolu Bölgesi	48	35	72,92
Doğu Anadolu Bölgesi	10	4	40,00
Akdeniz Bölgesi	121	103	85,12
Ege Bölgesi	79	61	77,22
Marmara Bölgesi	137	83	60,58
İç Anadolu Bölgesi	32	30	93,75
Karadeniz Bölgesi	20	18	90,00
TOPLAM	447	334	74,72



Şekil 4.24 *Fusarium oxysporum* izolatlarının coğrafi bölgelere göre dağılımı

F. oxysporum f. sp. *ciceris* konukçusuna (*Cicer* sp.) özgü olduğundan (Haware ve Nene, 1982b) *F. oxysporum* olarak saptanan izolatlar üzerinde *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarını belirlemek amacıyla spesifik FOCP1F/FOCP1R primerleri ile PCR çalışmaları yapılmıştır. *F. oxysporum* olarak belirlenen 8 izolattan sadece Mardin izolatlarında amplifikasyon gözlemlenmiştir (Şekil 4.25).

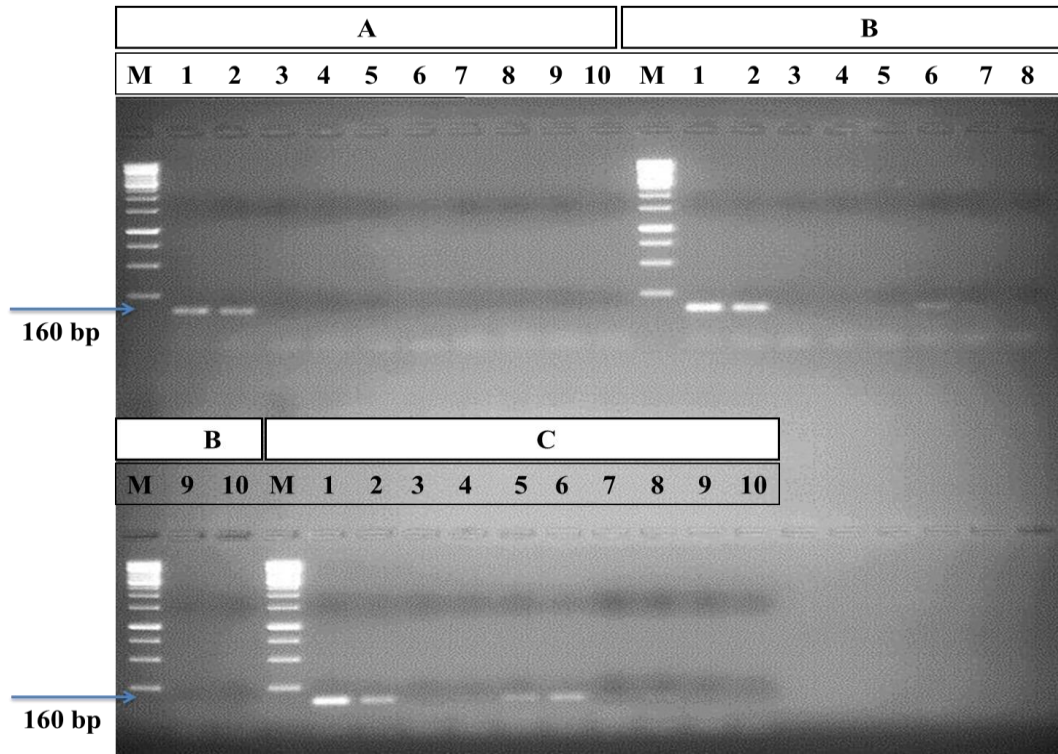


Şekil 4.25 FOCPI primer seti ile yapılan PCR analizi sonucu oluşan bantların agaroz jel elektroforezi görüntüsü

1. FMD13/15-1, 2. FMM1/15, 3. FMS23/15-1, 4. FDE27/15, 5. FDÇ6/15, 6. FAK3/15, 7. FAM10/15, 8. FHB1/15

M: 1 kb DNA Markır, (1-3) Mardin izolatları, (4, 5) Diyarbakır izolatları, (6, 7) Adıyaman izolatları, (8) Hatay izolatu

Şekil 4.26’da verilen çeşitli optimizasyonlara göre “A” koşulunda denatürasyon ve primer bağlanma süresi 1 dakikadan 30 saniyeye düşürülerek döngü sayısı 25’ten 30’a çıkarılmıştır. Ancak herhangi bir değişiklik olmamıştır. “B” koşulunda bağlanma sıcaklığı 55°C’den 52°C’ye düşürülmüştür. Bağlanma ve primer uzama süresi 30 saniyeden 2 dakikaya ve döngü sayısı 25’ten 30’a çıkarılmıştır. Mardin ve Adıyaman izolatlarında amplifikasyon görülmüştür. “C” koşulunda ise bağlanma sıcaklığı 55°C’den 50°C’ye düşürülerek süresi de 30 saniyeden 2 dakikaya çıkarılmıştır. Ayrıca primer uzama süresi 30 saniyeden 2 dakikaya ve döngü sayısı 25’ten 30’a çıkarılmıştır. “C” koşulu ile “B” koşulu aynı sonuçları vermiştir, ancak son koşulda daha net bantların oluştuğu belirlenmiştir. Bununla birlikte “C” koşulunda 8 numaralı Hatay izolatından net olmayan bir bandın meydana geldiği görülmüştür. 3 farklı PCR koşulu denenerek yapılan çalışmada bağlanma sıcaklığı 50°C olan “C” koşulunun daha iyi sonuç verebildiği düşünülmüştür (Şekil 4.26).

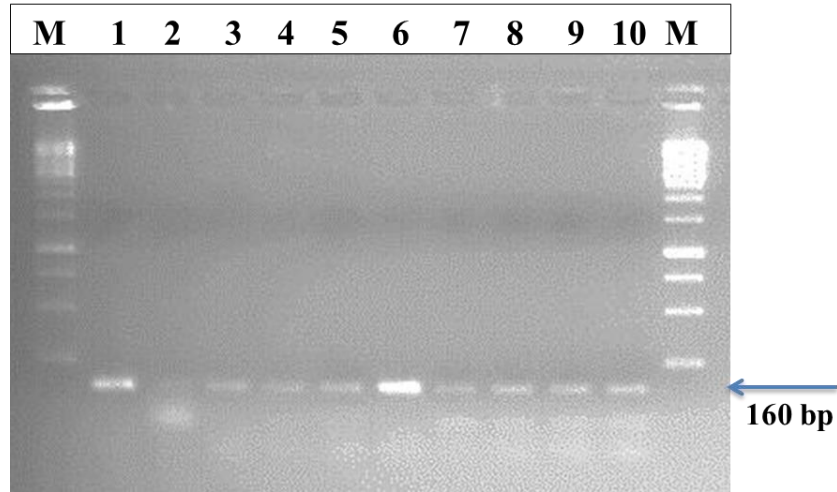


Şekil 4.26 FOCPI primer seti ile yapılan 3 farklı PCR analizi sonucu oluşan bantların agaroz jel elektroforezi görüntüsü

1. FMD13/15-1, 2. FMM1/15, 3. FMS23/15-1, 4. FDE27/15, 5. FDÇ6/15, 6. FAK3/15, 7. FAM10/15, 8. FHB1/15, 9. FHB4/15, 10. FHB12/15

M: 1 kb DNA Markır, (1-3) Mardin izolatları, (4, 5) Diyarbakır izolatları, (6, 7) Adıyaman izolatları, (8-10) Hatay izolatları

Daha sonra aynı izolatlar ile “C” koşulundaki döngü sayısı 35’e çıkarılarak denenen farklı bir PCR reaksiyonunda Şekil 4.27’de görüldüğü gibi spesifik olmayan bağlanmalar sonucu tüm izolatlardan amplifikasyon görülmüştür. FOF/FOR primerleri ile *F. oxysporum* ve patojenisite testi ile *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* olduğu belirlenen 2 nolu izolatta neredeyse yok denecek kadar zayıf bir bant oluşmuştur. Ayrıca patojenisite testi ile *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* olmadığı belirlenen 1 nolu izolat ile FOF/FOR primerleri ile *F. oxysporum* olmayan 4 ve 6 nolu izolatlarda amplifikasyon gerçekleşmesi bu reaksiyonun spesifik olmayan bağlanmalar gerçekleştirdiğini göstermiştir. Bu durumun PCR reaksiyonundaki süreler ve döngü sayısı ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla bu koşulun da ideal optimizasyonu sağlayamadığı görülmüştür.



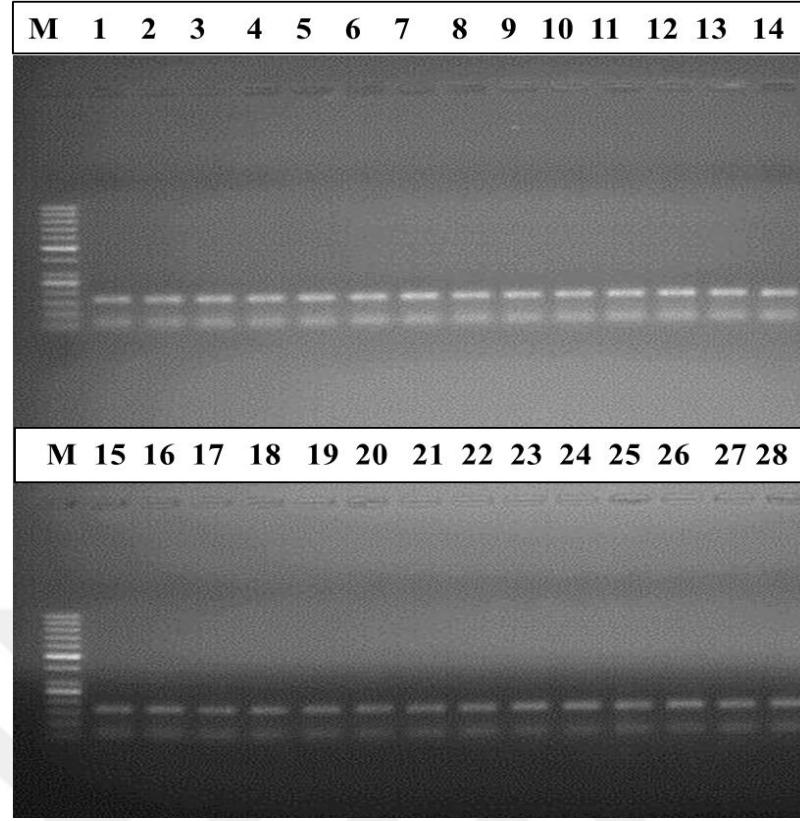
Şekil 4.27 FOCP1 primer seti ile 50°C bağlanma sıcaklığında 35 döngüde yapılan PCR analizi sonucu oluşan bantların agaroz jel elektroforezi görüntüsü

1. FMD13/15-1, 2. FMM1/15, 3. FMS23/15-1, 4. FDE27/15, 5. FDÇ6/15, 6. FAK3/15, 7. FAM10/15, 8. FHB1/15, 9. FHB4/15, 10. FHB12/15

M: 1 kb DNA Markır, (1-3) Mardin izolatları, (4, 5) Diyarbakır izolatları, (6, 7) Adıyaman izolatları, (8-10) Hatay izolatları

Son olarak *Fusarium* spp., *F. oxysporum*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* ve *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* referans izolatları ile FOCP1 primerleri kullanılarak bir önceki denemede verilen PCR koşulunda 30 döngüde amplifikasyon gerçekleştirilmiştir. Ancak spesifik olmayan bağlanmalar gerçekleşmiş olup 100-150 bp büyüklüğünde bantlar meydana gelmiştir. Çalışmaya dâhil edilen tüm örneklerde ve negatif kontrolde agaroz jel elektroforezinde bant oluşumu saptanmıştır (Şekil 4.28).

Sonuç olarak FOCP1 primer seti farklı PCR koşulları denenmesine rağmen etkin bir şekilde çalışmamış olup *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarını doğru bir şekilde belirleyememiştir.



Şekil 4.28 FOCP1 primer seti ile yapılan PCR analizi sonucu oluşan bantların agaroz jel elektroforezi görüntüsü

M: 50 bp DNA Markır, (1-5, 7-20) *Fusarium oxysporum* (Çanakkale) izolatları, (6) *Fusarium* spp. izolatı, (21) *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* referans izolatı, (22) *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* referans izolatı, (23-27) *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* referans izolatları, (28) Negatif kontrol

BÖLÜM V

TARTIŞMA

Popülasyon çalışmalarındaki deneysel araştırmalar, toplanan verilerin kullanılmasıyla popülasyondaki değişikliklerin değerlendirilip analiz edilmesine odaklanmıştır (Vaupel, 2001). Böylece patojen popülasyonların karakterizasyonu ile bitki hastalıklarının mevcut durumu belirlenebilmektedir (Campbell ve Neher, 1994). Nohut ekonomik öneme sahip bir bitki olduğundan, bu tez çalışmasında Türkiye'nin nohut yetiştiriciliği yapılan alanlarından solgunluk ve sararma semptomlarına sahip enfekte bitkilerin toplanmasına, bu alanlardaki mevcut hastalık durumunun değerlendirilmesini kapsayan tarla gözlemlerine ve patojen izolatların patojenik karakterizasyonuna yönelik detaylı bir araştırma yapılmıştır.

Gözlemsel analizler sırasında hastalıklı bitkiler genellikle üzerindeki veya içindeki gözlemlenebilir semptomlardan kolayca fark edilmektedir (Campbell ve Neher, 1994). Ksilem dokusuna yayılarak bitkinin vasküler sistemini enfekte eden *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* patojeni, bitkide sararma ve solgunluk semptomlarının oluşumunu sağlamaktadır (Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz, 1985; Haware, 1990). Toprakta inaktif halde bulunan ve bitki dokularında klamidosporeleri aracılığıyla hayatta kalan bu fungus, aseksüel olarak çoğalmakta ve kökü istila etmektedir (Jiménez-Díaz vd., 2015). Bir bütün halinde bitkiyi olumsuz olarak etkileyen *Fusarium* solgunluk ve sararma hastalığı, dünya çapında nohut yetiştirilen birçok alanda nohut üretimini kısıtlayan ciddi bir hastalık olarak rapor edilmiştir (Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz, 1985; Nene ve Reddy, 1987; Haware, 1990; Yücel ve Güncü, 1991; Yimer vd., 2018). Bu doğrultuda 2015 ve 2016 yıllarında Türkiye'nin nohut yetiştirilen 37 ilinde yürütülen survey çalışmaları tarlaların yarısından fazlasının (%53,90) enfekte olduğunu göstermiştir (Tablo 4.1). Bu durum sadece diğer ülkelerde değil, üretim bakımından beşinci ve ekim alanı bakımından altıncı sırada yer alan Türkiye'de de (FAOSTAT, 2019) (Tablo 1.1 ve 1.2) bu hastalığın nohut üretimini engellediğini göstermektedir.

Bu nedenle *Fusarium* solgunluk ve sararma hastalığı Türkiye’de nohut tarımı yapılan arazilerde verim kaybına neden olan önemli bir fungal hastalık olarak görülmektedir. Solgunluk ve sararma semptomları gösteren bitkilerin yaklaşık %57’sinden fungal etmen başarılı bir şekilde elde edilmiştir (Tablo 4.2).

Bitkide görülen sararma ve solgunluk semptomları sadece *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*’ten değil farklı biyotik ve abiyotik faktörlerden de kaynaklanabilir. Rowan (1989), bitkilerde sararma veya klorozis durumunun biyotik veya abiyotik faktörlerden kaynaklanabildiğini öne sürmüştür. Dolayısıyla nohut tarlalarındaki bu semptomların oluşumunda sadece *F. oxysporum* değil çeşitli çevresel koşullar da rol oynayabilir. Ancak *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*’in hastalıklı bitkilerdeki semptomların büyük bir kısmından sorumlu (yaklaşık %57) nedensel ajan olduğunun da göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Bu nedenle solgunluk ve kök çürüklüğü hastalıklarına neden olan fitopatojenlerin patojenik çeşitliliğinin belirlenmesi ile söz konusu etmenlerin ırklarına veya biyotiplerine karşı dayanıklılık geliştirilmesi mümkün olabilmektedir (Damte ve Ojiewo, 2016).

Türkiye’de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*’in patojenik ve genetik çeşitliliği 13 ilden elde edilen 74 izolat kullanılarak RAPD ve ISSR moleküler markırları ile Bayraktar vd. (2008) tarafından ve 8 ilden elde edilen 19 izolat kullanılarak 10 farklı ayırıcı nohut çeşidi seti ile ırk dağılımı Bayraktar ve Dolar (2012) tarafından belirlenmiştir. Ancak Türkiye’nin tüm coğrafi bölgelerini kapsayacak şekilde yapılmış hastalığın yaygınlığı, etmenin patojenik çeşitliliği ve iklim koşullarının patojeni nasıl etkilediği hakkında güncel ve kapsamlı bilgiler bulunmamaktadır. Bu çalışmada hem tarla gözlemlerinden hem de laboratuvar testlerinden elde edilen bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesi ile Türkiye’nin farklı coğrafi bölgelerinde ve illerinde etmenin değişken bir virülenslik düzeyine sahip olduğu belirlenmiştir.

Hastalık değerlendirmeleri, herhangi bir epideminin karakterizasyonunda başlangıç noktası olduğundan sonraki tüm analizler ve yorumlar için önem arz etmektedir. Hastalık surveyleri bitki hastalıklarının yaygınlığına, insidansına ve/veya şiddetine ve neden oldukları kayıplara ilişkin önemli bilgiler sağlamaktadır (Thai ve Campbell, 1987). Hastalık insidansı, gözle görülür şekilde hastalıklı olan bitki sayısı; hastalık şiddeti, görülebilir şekilde hastalıklı olan bitki dokusunun alanı veya hacmi olarak tanımlanmıştır (Kranz, 1988; Campbell ve Madden, 1990).

Hastalık yaygınlığı, hastalığın gözlemlendiği bir bölgedeki alanların yüzdesi veya orantısı olarak alındığında hastalık insidansının bir uzantısı olarak kullanılabilir (Zadoks ve Schein, 1979). Bu çalışmada 37 ile ait 106 ilçede ve 423 tarla incelenerek (Tablo 3.1) hastalık insidansı, hastalık yaygınlığı ve hastalık şiddeti değerleri hesaplanarak analiz edilmiş ve değerlendirilmiştir (Tablo 4.1).

Survey çalışması yapılan illerden elde edilen verilere Duncan testi uygulanmıştır. Sararma tipinin görüldüğü Doğu Anadolu Bölgesi'nde hastalık şiddetinin en yüksek ortalama değere sahip olduğu belirlenmiştir (%8,38). Bu bölgenin hastalık şiddeti diğer bölgelerin hastalık şiddeti ortalamalarından anlamlı düzeyde daha yüksek ($p<0,05$) olduğundan Grup-IV'te yer almıştır (Şekil 4.5). Aynı zamanda hastalık yaygınlığı en düşük (%33,33) bölge olan Doğu Anadolu'da (Şekil 4.6) enfekte tarla sayısı en az olup (4 tarla) hastalıklı tarlalarda bitki köklerinin dış kısmında kararmalar gözlemlenmiştir (Şekil 4.4). Ancak bitkinin toprak üstü kısımlarında sararma semptomları olduğundan bu bitkiler patojen izolasyonuna tabi tutulmuştur. Dolayısıyla laboratuvara getirilen bitkilerden de %17,50 oranında *Fusarium* spp. izolasyonlarının yapılması (Tablo 4.2), Haware (1990) tarafından bildirildiği gibi bu bitkilerin kök çürüklüğünden etkilenmiş olabilme ve *Fusarium* solgunluk ve sararma hastalığı ile karıştırılabilme olasılığının olduğunu göstermektedir. Jiménez-Fernández vd. (2011b), nohutta fungal bir vasküler enfeksiyon sonucu gelişen solgunluk ve sararma hastalığında, farklı fitopatojenlerin de rolünün olabildiğini ve yanlış teşhis edilirse bu patojenlerin *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* olarak yanlış tanımlanabileceği bildirmişlerdir. Örneğin, *F. oxysporum*'un bir varyetesi (Booth, 1971) veya sinonimi (Nelson vd., 1983) olan *F. redolens*, *F. oxysporum* kompleksinde olduğu gibi, kortikal çürüklük, fide çökerten ve solgunluk hastalıklarına neden olabilmektedir (Gerlach, 1961; Gerlach ve Pag, 1961; Booth, 1971). Ayrıca *F. redolens* tarafından nohut enfeksiyonu gövdeden yukarı doğru gelişen yaprak sararması ve nekrozu ile bitkinin erken yaşlanması gibi *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in sararma tipinin neden olduğu hastalığa benzer bir hastalık sendromu oluşturmaktadır. *F. redolens*'in nohutta sararma benzeri semptomlar ile ilişkisi Lübnan, Fas, Pakistan ve İspanya'dan Jiménez-Fernández vd. (2011b); Tunus'tan Bouhadida vd. (2017); Türkiye'den Tekeoğlu vd. (2017) tarafından rapor edilmiştir.

F. solani f. sp. *pisi* ve *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* de sürgünlerde sararma ve solgunluk semptomları göstermektedir (Westerlund vd., 1974). Bu nedenle Fusarium hastalıklarının etkin yönetimi için patojenik *Fusarium* türlerinin ve *F. oxysporum* formae speciales'lerinin doğru tanımlanması gerekmektedir (Jiménez-Díaz vd., 1993; Landa vd., 2004 a, b; 2006). Ayrıca yeni çeşitler geliştirilen Doğu Anadolu Bölgesi'nde, geleneksel olarak buğday tarlalarının nadasa bırakıldığı sistemin uygulanmasından dolayı nohut bitkisi bu bölgede rekabetçi bir ürün haline getirilmiştir (Demirci vd., 1999). 2014-2017 yılları arasında Doğu Anadolu Bölgesi'nde toplam 10 ilde 6.657 hektarlık alanda nohut ekimi yapılmış ve yaklaşık 8 ton ürün elde edilmiştir. Bu bölge Türkiye'deki nohut ekim alanlarının yaklaşık olarak %2'sini oluşturmaktadır. Doğu Anadolu Bölgesi'nde ekim alanı ile doğru orantılı olarak üretim de az olmasına rağmen bu bölge 13,6 t/ha verimlilik ile diğer bölgelere kıyasla üçüncü sırada bulunmaktadır (TÜİK, 2019). Doğu Anadolu Bölgesi'nde nohut tarlaları ile nohutta Fusarium solgunluk ve sararma hastalığı değerlendirildiğinde bu rakamsal veriler ve Demirci vd. (1999) tarafından bildirilen bu bölgede nohut tarımının yeni başlaması durumu bu fungal hastalığın da başlangıç seviyesinde olabileceğini göstermektedir ve bu bölge toprakları hastalıktan arı alanlar olarak değerlendirilebilir.

Doğu Anadolu Bölgesi'nden sonra en yüksek hastalık şiddeti (%3,61) Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde saptanmış olup bu bölge Grup III'te bulunmaktadır (Şekil 4.5). Ancak bu bölgede özellikle Mardin, Diyarbakır ve Gaziantep illerinde nohut bitkilerinde sararmalar ve bitkiler bodurlaşma saptanmıştır. Bu durumun *F. oxysporum*'un neden olduğu sararma semptomu olabileceği düşünülerek bu illerdeki tarlalar incelenmiştir. Bu bitkilerden patojen izolasyonu amacıyla örnekleme yapılmış ve izolasyon yapılan bitkilerin %29,48'inin *F. oxysporum* olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.2). Özellikle Gaziantep'te nohut yetiştiricileri ile yapılan kişisel görüşmeler neticesinde kuraklığın bu ildeki bazı nohut tarlalarını ciddi anlamda etkilediği sonucuna ulaşılmıştır. Nohut kuraklığa dayanıklı bir baklagil olmasına rağmen (Saxena ve Singh, 1987; Üstün, 1994) toprak neminin düşük olması kapsül doldurma ve tohum gelişimini olumsuz etkilemektedir (Gaur vd., 2008). Bu durumda bitkilerdeki sararma semptomlarının oluşumunda kuraklık stresinin rol oynaması ile açıklanabilir (Şekil 4.3).

Toprak havalandırmasının az olması genellikle su ve besin alımını engelleyerek kloroz ile sonuçlanan kuraklık veya fiziksel kök hasarına benzer stresler üretebilmektedir (Levitt, 1972). Kuraklığın yanı sıra sararma semptomlarının oluşumunda su, böcekler, ısı veya soğuk yaralanması ve fungal hastalıklar gibi birçok faktör rol oynadığını bildiren Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz (1985), İspanya’da vasküler solgunluk ve sararma gösteren bazı sarı ve bodur bitkilerden fungus izole edememişlerdir.

Çeşitli bitki virüsleri de nohutta yaprak sararmasını ve solgunluğu indükleyebilmektedir (Kaiser ve Danesh, 1971; Nene vd., 1978; Katul vd., 1993; Horn vd., 1993, 1995; Ait Yahia vd., 1997; Jiménez-Díaz vd., 2015). Nohut bitkisini olumsuz etkileyen viral hastalıklar Kuzey Afrika ve Batı Asya’dan (Abraham vd., 2009); Suriye’den (Asaad vd., 2009); Eritre’den (Kumari vd., 2008); İran’dan (Bananej vd., 2010); Etiyopya’dan (Abraham vd., 2006) ve Tunus’tan (Najar vd., 2000, 2011) rapor edilmiştir. Horn ve Makkouk (1995), Gaziantep çevresinde ve Gaziantep-Diyarbakır arasındaki nohut tarlalarında bakla nekrotik sararma virüsünün varlığını belirlemişlerdir. Bu virüs nohutta bodurlaşmaya ve kloroza neden olabilir (Katul vd., 1993), floem ile sınırlı olup bitkide yüzeysel semptomları indükler (Waterhouse vd., 1988). Benzer şekilde Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nden toplanan sarı ve bodur bitkilerden az oranda fungal izolat elde edilmesi durumu da Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz (1985) ve Horn ve Makkouk (1995) tarafından elde edilen bulgularla uyusmaktadır. Hem Doğu Anadolu hem de Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nin tarla verileri, nohut tarlalarında görülen sararma semptomlarının ve bodurlaşmanın sadece *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*’ten kaynaklanmadığını göstermiştir. Çünkü fide klorozuna, bir diyagnostik prosedür gerektiren biyotik ve abiyotik faktör kombinasyonunun neden olabileceği Rowan (1989) tarafından da bildirilmiştir. Dolayısıyla nohutta sararma ve solgunluk semptomları görüldüğünde bu durumda *F. solani* f. sp. *pisi*, *F. redolens*, *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* gibi fungal etmenler ve viral etmenler ile kuraklık stresi gibi bitkide fizyolojik stres oluşturan faktörlerin etkili olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Çünkü çevresel faktörler de bir patojenin müdahalesi olmadan bitkilerde mikroorganizma benzeri hastalıklara neden olabilmektedir (Colhoun, 1973).

Hastalık epidemilerinin ortaya çıkması söz konusu olduğunda, çevresel faktörlerin etkilerini dikkate almak gerekmektedir (Miller ve O'Brien, 1957; Sys ve Soenen, 1970; Colhoun, 1973). Örneğin nemli toprakta solgunluk ve kök çürüklüğünde, etkili patojenin klamidospore çimlenmesinin artması sonucu rizosferde inokulum seviyesi de artmaktadır. Kuru topraktaki azalmış fungal patojenik aktivite, az kök eksüdasyonunun neden olduğu zayıf klamidospore çimlenmesine bağlı olabilmektedir (Kerr, 1964; Cook ve Flentje, 1967). Doymuş toprak, köklere zarar veren ve onları kök hastalığına yatkınlaştıran anaerobik koşullara neden olabilmektedir (Allmaras vd., 1988). Çevre faktörleri, konukçu veya patojeni aracılığıyla hastalık insidansını ve gelişimini de etkileyebilmektedir (Colhoun, 1973). Sonuç olarak, bu bölgede *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in neden olduğu sararmaların yanı sıra kuraklıktan dolayı meydana gelen fizyolojik sararmaların ve belki viral etmenlerin de etkili olduğu söylenebilir.

Güneydoğu Anadolu Bölgesi nohutun orijin bölgesi olduğundan (Van der Maesen, 1987) bu bölgedeki tarımsal uygulamalar çok eskiye dayanmaktadır ve ilk ekilen ürünlerden farklı olarak son ekilen ürünlerde ayrı ya da tek başına mikroorganizma-çevre etkileşiminin söz konusu olabildiği sonucunu çıkarabiliriz. Yeni tarımsal ekosistem, enfekte olmuş ve enfekte olmamış bitkiler arasında daha kolay patojen geçişini sağlayan ve doğal ekosisteme kıyasla patojen için konukçu özelleşmesine daha elverişli bir ortam sunan ve genetik olarak daha üniform bir konukçu popülasyonu sağlamıştır (McDonald ve Linde, 2002a). Bu nedenle bu bölgeden izole edilen fitopatogenler kullanılarak konukçu-patojen popülasyon ilişkisi arasındaki dengelerin ve birbirleriyle olan evrimsel ilişkilerin dikkatle incelenmesi gerekmektedir. Çünkü aynı lokalitede bulunan konukçulara ve patojenlere etki eden selektif baskının birleşmesi sonucu tarımsal bir ekosistemde doğal bir ekosisteme göre daha hızlı evrimsel değişiklikler oluşabilmektedir (Stahl ve Bishop, 2000; Zhan vd., 2002; McDonald ve Linde, 2002b). Bu noktada eğer selektif baskı konukçu yani nohut bitkisi üzerine etkili olursa söz konusu patojen avantaj sağlayıp hızlı çoğalabilir ve konukçusu üzerinde agresif bir yapı sergileyebilir. Böylece *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'e karşı hassas olan lokal çeşitlerin risk altında bulunduğu söylenebilir. Bu nedenle bu fungal etmenin orijin bölgesinde dominant kök patojeni olmasının önüne geçilmeli ve etmene dayanıklı nohut çeşitlerinin geliştirilmesinde nohutun yabani atalarından etkili bir şekilde faydalanılması gerekmektedir.

Türkiye'deki nohut tarlalarında gerçekleştirilen survey çalışmaları sırasında, enfekte bitkilerde solgunluk ve sararma olmak üzere birbirinden farklı iki semptomatik tip gözlemlenmiştir. Fungusun morfolojik değerlendirmelerine ve patojenisite testlerine göre nohutun bu etmenin farklı biyotipleri tarafından indüklendiğini Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz (1985) ilk olarak rapor etmiştir. Bu tez çalışmasında ise Türkiye'de nohutta vasküler bir enfeksiyonun sonucunda solgunluk ve sararma şeklinde iki semptomatik tipin mevcut olduğu ilk kez bildirilmektedir (Şekil 4.1 ve 4.2). Bu çalışma Türkiye'deki *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* popülasyonu için semptomolojik tiplerin ayrımını gösteren ilk rapor niteliği taşımaktadır.

Sararma tipine göre daha virulent olan solgunluk tipinin (Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz, 1985; Jiménez-Díaz vd., 1993; Jiménez-Gasco ve Jiménez-Díaz, 2003) Mersin, Isparta, Aksaray ve Eskişehir illerindeki nohut tarlalarında bulunduğu görülmüş ve hastalıklı bitkilerin %72'sinden izolat elde edilmiştir. Sararma tipinin ise geri kalan tüm illerde olduğu belirlenmiştir. Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz (1985)'a göre solgunluk, sararmaya göre daha düşük frekansta yayılım göstermesine rağmen ülkemizde solgunluk semptomunun görüldüğü tarlaların hastalık yaygınlığı %61,04; sararma grubunun hastalık yaygınlığı ise %52,31 olarak hesaplanmıştır.

Genel olarak survey çalışmasından elde edilen veriler, nohutta *Fusarium* solgunluk ve sararma hastalığının yaygınlığının %53,90 olduğunu göstermiştir. Oysa Güneş (2012), etmenin %31,50 oranında yaygınlık gösterdiğini tespit etmiştir. Bu durum zaman içerisinde söz konusu fitopatojenin nohut tarımı yapılan alanlarda daha virulent ve daha yaygın bir forma dönüştüğünü göstermektedir. Patojenisite testlerine göre solgunluk izolatlarının yaklaşık %99'unun virulent olması solgunluğun ülkemizdeki nohut tarlaları için ciddi bir tehdit olduğunu göstermektedir.

Tarla gözlemleri *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in solgunluk ve sararma olmak üzere iki farklı semptomatik tipe ayrıldığını gösterse de (Şekil 4.1 ve 4.2) kontrollü koşullarda gerçekleştirilen patojenisite deneylerinde tek tip semptom gelişimi görülmüştür (Şekil 4.15). Konukçu bitki üzerinde (ILC482 çeşidi) fungal etmen farklı virülenslik dereceleri sergilemiştir (Şekil 4.19). Benzer şekilde sararma ve solgunluk tipi izolatlarının ayırıcı nohut hatlarında farklı virülenslik dereceleri gösterdiği ancak patojenin her iki tipte de vasküler enfeksiyonları indüklediği Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz (1985) tarafından rapor edilmiştir.

Kontrollü koşullarda gerçekleştirilen virölenslik testlemelerinde, hem solgunluk hem de sararma grubunun virölensliği yüksek izolatlarda, hastalık yaklaşık 3. gün bitkinin alt yapraklarının sararıp kuruması ile başlamıştır. Bulgularımız Zemouli-Benfreha vd. (2014) tarafından da tespit edilen ilk semptomların çok agresif bazı izolatlar için inokölasyondan sonraki 3. günden sonra ortaya çıkması durumu ile paralellik göstermektedir. Köklerden giriş yapan fungus hızlı bir şekilde vasküler sistemde yukarı doğru ilerlediğinden yapraklardaki kloroz ve kuruma yaklaşık 21. gün bitkinin tepe noktasına ulaşmıştır. Bitkideki genel solgunluğa yaprakların ve petiyollerin dökölmesi eşlik etmiştir. 28. gün ölü bitki sayısının en fazla solgunluk izolatlarında görölmesi ve hastalık skorlamalarından elde edilen istatistiksel analizler solgunluk tipinin virölensliğinin yüksek olduğunu göstermektedir. Çünkü solgunluk grubu izolatlar konukçu bitkiyi daha hızlı enfekte ederken sararmının solgunluğa göre daha yavaş ilerlediği AUDPC sonuçlarına göre ve gözlemsel olarak tespit edilmiştir. Sararma grubunun 21. gün hastalık şiddetinin %41,13 olduğu ve solgunluk grubunun ise daha 14. günde %44,59 olması da sararma ve solgunluk gruplarının virölenslik bazında farklılık gösterdiğini açıklar niteliktedir (şekil 4.19).

Jiménez-Díaz vd. (1989a) tarafından yapılan histolojik çalışmalar, sararma ırkı olan ırk 0'a kıyasla solgunluk ırkı ve daha virölent olan ırk 5'in P-2245 nohut çeşidinin kök ve gövdedeki ksilem damarlarında daha hızlı ve geniş çapta kolonize olduğunu göstermiştir. Bu nedenle solgunluk ırkları inokölasyondan sonra 20 gün içinde; sararma ırkları ise 40 gün içinde vasküler enfeksiyon sonucu bitki ölümüne neden olmaktadır (Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz, 1985). Ayrıca Demers vd. (2014), solgunluk ırkları olan 1A, 2, 3 ve 4 ırklarında genomunun büyük bir kısmının duplike olması ile virölenslik genlerinin de duplikasyonu sonucu solgunluk ırklarının artmış bir virölensliğe sahip olabileceğini öne sürmüşlerdir. 1A, 5 ve 6 nolu solgunluk ırkları az çeşitliliğe sahip iken sararmayı indükleyen 0 ve 1B/C ırklarında yüksek allel çeşitliliği sararma ırklarının solgunluk ırklarının ataları olduğu göstermektedir (Jiménez-Gasco vd., 2004b). Chakrabarti vd. (2000), *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ırklarının nükleer ribozomal DNA'sının *EcoRI* restriksiyon kalıpları, ırk 1 ve 4'ün ırk 2 ve 3'e çok benzer olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmanın solgunluk grubu izolatlarının solgunluk ırklarını (ırk 1A, 2, 3, 4, 5 ve 6) ve sararma grubu izolatlarının da sararma ırklarını (ırk 0 ve 1B/C) taşıyıp taşımadığının belirlenmesi için izolatların daha kapsamlı çalışmalara tabi tutulması gerekmektedir.

F. oxysporum f. sp. *ciceris* tarlada nohut bitkisi üzerinde iki semptomolojik tipe sahipken patojenisite deneylerinde ILC482 çeşidi üzerinde tek tip semptomatik gelişimi predispozisyon ile açıklanabilir. Yarwood (1959), enfeksiyondan önce etki gösteren stres faktörlerinin bitkilerin hastalığa yatkınlığını etkileme eğilimini predispozisyon olarak tanımlamıştır. Bu kavram ilk olarak Sorauer (1974) tarafından kullanılmış ve çevresel faktörlerin bitki hastalıklarına ilişkin önemini ortaya koymuştur. Patojenik enfeksiyon olasılığı, öncelikle bitkinin yatkınlığına bağlı (predispozisyon) olduğundan (Yarwood, 1959) patojenisite deneyleri sırasında viyollerinden çıkarılan bitki köklerinin uç kısımları kesilerek her bitkiye homojenliği sağlamak amacıyla belirli bir oranda (1×10^6 konidi/ml) inokulum uygulaması yapıldıktan sonra bitkiler saksılara yerleştirilmiştir. Bu doğrultuda semptomolojik gelişim bakımından laboratuvar ile tarla farklılığı predispozisyon ile açıklanabilir. Dolayısıyla bitkiler kök uçlarının kesilmesiyle patojene rahat penetrasyon sağlanması, yoğun ve her bitki için eşit inokulum uygulaması ve transplantasyon durumuyla predispoze edilmiştir, yani hastalık oluşumunu sağlayan koşullar sağlanarak bitkiler hastalığa yatkın hale getirilmiştir (Şekil 3.7). Zaten deneysel patolojide de amaç, doğada bulunmayan kontrollü koşullar altında hastalığı meydana getirmektir (Yarwood, 1976). Böylece transplantasyon öncesinde bitkilerin köklerinin budanması sonucu taze yaralar yoluyla patojenlere giriş yollarını sağladığından bitkiler şiddetli strese maruz kalmaktadır (Schoeneweiss, 1975). Hindistan'da şiddetli nem stresiyle karşı karşıya kalan nohut bitkisi, *R. bataticola*'nın neden olduğu kuru kök çürüklüğü gelişimine predispoze hale gelmiştir (Aghakhani ve Dubey, 2009).

Laboratuvarda bir fungusun davranışı saat başı takip edilebilmesine karşılık tarlada tüm mikrofenolojik koşullar aniden değişebilmektedir (Weille, 1965). Kontrollü koşulların sağlandığı klima odalarında gerçekleştirilen patojenisite deneylerinde tarla koşullarından farklı olarak yabancı ot varlığına bağlı yoğun inokulum söz konusu değildir ve inokulum yoğunluğu her bitki için sabit tutulmaktadır. Çalışma 28 gün içinde tamamlanmakta ve saksı toprağında virülenslik birikimi olmamaktadır. Ancak tarlada patojenin kontaminant ürün kalıntılarındaki yaklaşık 6 yıl kadar yaşayabilmesi, yabancı otlar ve diğer baklagiller gibi asemptomatik taşıyıcılarının olması ve enfekte tohumlardan hastalıklı bitkilerin yetişmesi etmenin toprakta birikmesine ve yayılmasına neden olabilmektedir (Haware ve Nene, 1982b).

Yabancı otların bulunduğu tarlalarda yetişen nohut bitkilerinde, yabancı otların bulunmadığı tarlalarda yetiştirilenlere göre yüksek seviyede solgunluk ve kök çürüklüğü gözlemlenmiştir ve bu durum hastalık epidemilerini etkileyen biyofiziksel faktörler arasında bulunmaktadır (Yimer vd., 2018). Etiyopya’da *F. solani*’nin neden olduğu baklada kök çürüklüğü hastalık şiddeti ile yabancı ot yoğunluğu arasında korelasyon saptanmıştır (Eshetu vd., 2013). *F. oxysporum* f. sp. *melongenae*, patlıcan tarlalarından elde edilen 13 farklı yabancı otun köklerinde semptom göstermeksizin kolonize olabilmektedir (Altinok, 2013).

Bu çalışmada hastalık şiddeti ile yabancı ot sayısı arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir ($p>0,05$). Yabancı otlar, tarlada toprak nemi ve besin maddeleri için rekabet ederek ekili ürünün canlılığını azaltmaktadır ve önceki ürün yetiştirme sezonundan gelen patojenlerin semptomsuz taşıyıcıları veya alternatif konukçuları olabildiğinden patojenlerin inokulum kaynağı olarak görev yapabilmektedir (Haware ve Nene, 1982b). Çünkü *F. oxysporum* herhangi bir semptom göstermeksizin alternatif bir konukçu üzerinde yaşayabilmektedir (Katan, 1971; Nelson, 1981). Hastalıklı bitkilerde semptomlar ilerledikçe enfekte dokularda oluşan *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*’in klamidosporları, toprağa salınarak organik atıklar ve kök salgıları tarafından desteklenen fungal saprofitik yaşam döngüsüne dâhil olmaktadır (Jiménez-Díaz vd., 2015). Patojenin yaşam döngüsünde parazitik ve saprofitik faz bulunmaktadır (Backman ve Turner, 1989). Böylece saprofitik fazda olan patojenin tarla toprağında kolonizasyonuna bağlı olarak artan bir inokulum söz konusu olduğundan Türkiye genelindeki her nohut tarlası ve her nohut bitkisi farklı inokulum yoğunluğu ile karşı karşıya kalmaktadır. Daha sonra etmen konukçusu ile karşılaştığında parazitik forma geçebilmektedir (Jalali ve Chand, 1992). Dolayısıyla bazı tarlalarda solgunluk tipinin bulunması ve bu tarlalardaki yüksek hastalık şiddeti, bu tarlalarda inokulum miktarının diğerlerine göre daha yüksek olabilmesi ile ilişkilendirilebilir. *Fusarium* solgunluk hastalıkları için, nohut tarımı yapılan alanlarda solgunluk insidansının her yıl arttığı, hastalık şiddetinin topraktaki patojen inokulumünün artan yoğunluğu ile doğrudan ilişkili olduğu ve inokulum miktarının maksimum hastalık gelişimi için gereken süreyi azalttığı bazı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Bhatti ve Kraft, 1992a; Sugha vd., 1994a; Ben-Yephet vd., 1996; Zote vd., 1996).

Çünkü ekim amacıyla kullanılan sağlıklı tohumlarla karıştırılan enfekte olmuş tohumlar toprakta etmenin inokulum yoğunluğunun artmasını sağlamaktadır (Pande vd., 2007). Toprak kökenli fungusların inokulum yoğunluğunun hastalık gelişimindeki rolü birçok patosistemde rapor edilmiştir. Bezelyedeki kök çürüklüğü ve solgunluk da doğrudan inokulum yoğunluğu ve çevresel stres ile ilişkilendirilmiştir (Kraft ve Roberts, 1969; Bruehl, 1987; Allmaras vd., 1988; Kraft vd., 1988). Navas-Cortés vd. (2000a) tarafından bildirilene göre topraktaki değişken inokulum oranı, hastalık şiddetinin yıllık değişimini etkileyebilmektedir. Genel olarak alternatif konukçu-patojen ilişkisi ile ilgili olarak, bu durum *F. oxysporum*'un dünya çapında önemli bir solgunluk patojeni olmasının yanı sıra yaygın bir toprak saprofiti de olduğundan (Levic, 2008) yabancı otlarda endofitik olarak bulunabilmesi (Postic vd., 2012) ile açıklanabilir. Tarladaki yabancı otlar bitki patojenleri için alternatif konukçu ve asemptomatik taşıyıcı (Kaloostian vd., 1976; Bandyopadhyay vd., 2006); bitki artıkları ise rezervuar görevi görerek (McMullen ve Stack, 1983; Jeschke vd., 1990; Inch ve Gilbert, 2003) toprakta inokulum yoğunluğunun artmasını sağlamaktadır (Barrow vd., 2008; Altinok, 2013). *Fusarium* solgunluğunu etkileyen inokulum yoğunluğu (Altinok, 2013) virülensliğin birikmesini (Jiménez-Gasco vd., 2004b) sağlayabilir ve böylece daha patojenik izolatlar ile ciddi hastalık epidemileri meydana gelebilir.

Tarlada sararma tipi vasküler renk değişikliği ile birlikte ilerleyen yaprak sararmasını indüklemekte ve inokülasyondan sonraki 40 gün içinde bitki ölümü görülmektedir. Solgunluk tipi ise inokülasyondan 20 gün sonra şiddetli kloroz ve gevşeklik ile birlikte vasküler renk değişikliğini ve son olarak da bitki ölümünü indüklemektedir (Haware ve Nene, 1982a). *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* inokulum yükündeki artışın nohutta *Fusarium* solgunluğunun ilerlemesini hızlandığını ve inokulum konsantrasyonlarının düşük olmasının ise solgunluk semptomlarında gecikmeye neden olduğu için (Sugha vd., 1994a) laboratuvarında 1×10^6 konidi/ml oranında inokulum uygulaması yapılarak 28 gün içerisinde bitkide tüm semptomların görülmesi sağlanmakta ve patojenisite testi tamamlanmaktadır. Dolayısıyla tarladakinden daha kısa sürede hastalanan bitkilerde enfeksiyon öncesi predispozisyon koşulları oldukça önemli bir yer tutmaktadır.

F. oxysporum f. sp. *ciceris* ırkları virülensliğin birikmesiyle kademeli evrimleştiğinden (Jiménez-Gasco vd., 2004b) daha patojenik olan solgunluk ırkları sararma ırklarından türemiştir (Kelly vd., 1994; Jiménez-Gasco vd., 2001). Dolayısıyla solgunluk tipinin görüldüğü Mersin, Isparta, Aksaray ve Eskişehir illerinde bulunan nohut tarlalarındaki *F. oxysporum*'un Haware ve Nene (1982b) tarafından bildirilen koşullardan dolayı etmenin genomunda mutasyonların birikmesi sonucu virülenslikte artış gerçekleşmiş olabilir. Ayrıca Pande vd. (2007), hastalıklı nohut bitkilerinden sağlıklı görülen tohumlar aracılığıyla *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in farklı alanlara taşınarak üç yıl içinde nohut tarlalarında kontaminasyona neden olduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde Türkiye'deki nohut tarlalarında enfekte tohumlardan dolayı *Fusarium* solgunluk ve sararma hastalığı virülensliğini artırarak yayılış göstermiş olabilir. Aseksüel bir tür olan *F. oxysporum*'un mutasyonlar yoluyla ve paraseksüel rekombinasyon süreci boyunca geliştiği (Kuhn vd., 1995) ve dayanıklılık genlerinin üstesinden gelebilen ırkları, mutasyonların art arda birikmesiyle evrimleştiği öngörülmektedir (Steele vd., 2001). *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* gibi aseksüel olan fungusların virülensliklerindeki mutasyonların zaman içinde birikmesi gerektiği bildirilmiştir (Taylor vd., 1999a). Sonuç olarak *Fusarium* solgunluğunun gelişimi patojenik ırkları agresifliğinden, patojenin topraktaki inokulum yoğunluğundan, çevresel koşullardan ve çeşit duyarlılığından etkilenmektedir (Jiménez-Díaz vd., 2015).

Patojenisite çalışmalarında konukçu bitkiyi predispoze eden koşullara ek olarak tarla ve iklimlendirme kabini arasında sıcaklık farklılıkları bulunmaktadır. Tarla koşullarında sıcaklıklar genellikle optimum seviyelerde kalmamakla birlikte bazen ani sıcaklık değişimleri de olmaktadır. Oysa patojenisite testi 14 saat aydınlık (12.000-15.000 lüks), 10 saat karanlık fotoperiyota ayarlı, gündüz %50-90 bağıl nem ve 22-28°C, gece %60-100 bağıl nem ve 18-24°C sıcaklık içeren kontrollü klima odasında kurulmuştur (Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz, 1985). Hastalık gelişimi için koşullar 28 gün boyunca sabit tutulmuş ve bitki hastalığa karşı predispoze hale gelmiştir. Sıcaklığın konukçu ile *Fusarium* solgunluk patojeni arasındaki dengeyi değiştirdiğini ileri sürülmüştür. Konukçu metabolizmasını patojeninkiyle orantılı olarak artıran sıcaklıklar dayanıklılık reaksiyonlarına neden olmaktadır, buna karşılık patojeni destekleyen sıcaklıklar hassasiyet reaksiyonunu indükleyerek solgunluk semptomlarına neden olmaktadır (Harling vd., 1988).

Patojenik çeşitlilik, kök daldırma tekniği kullanılarak seçilen izolatların on iki günlük ILC482 fidelerine inokülasyonu yoluyla belirlenmiştir (Şekil 3.7). Tüm izolatlar virülenslik bakımından değişkenlik göstermiş ve yüksek, orta ve zayıf derecede virulent olarak nitelendirilmiştir. 2 il güçlü, 26 il orta ve 1 il ise zayıf virulent grupta yer almıştır (Tablo 4.9). Diğer araştırmacılar da *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'teki patojenik çeşitliliği rapor etmişlerdir (Prasad ve Padwick, 1939; Chauhan, 1962; Grewal vd., 1974; Gupta vd., 1986; Barhate vd., 2006., Pande vd., 2007; Bayraktar vd., 2008; Sharma vd., 2009; Gurjar vd., 2012).

Bir bitki hastalığı, “patojenik bir ajandan veya çevresel faktörden olumsuz olarak etkilenen konukçuda semptomların gelişmesine bağlı olarak konukçu hücrelerin ve dokuların hatalı çalışması” olarak tanımlanmaktadır. Hassas bir konukçu bitki, virulent bir patojen ve elverişli bir ortam veya iklim bir araya geldiğinde hastalık meydana gelmektedir (Agrios, 2005). Patojenin veya metabolitlerinin varlığına ve çevresel faktörlerin konukçu bitkinin savunması üzerinde etkisine göre hastalık ilerlemektedir (Yarwood, 1959). Yani çevresel koşullar, konukçu-patojen etkileşimlerini etkilemek suretiyle konukçunun kolonizasyonunda patojenin etkinliğini belirleyerek ve konukçuda hastalığa karşı dayanıklılığın ekspresyonu ile ilişkili genetik mekanizmaları düzenleyerek bitki patojenlerinin yayılmasında kritik bir rol oynamaktadır (Colhoun, 1973; Garrett vd., 2006). Bu nedenle çevresel faktörlerle ilişkili olan iklim, belirli bir süre boyunca sıcaklık, yağış ve rüzgâr gibi ilgili miktarların değişkenliği ve ortalamasının istatistiksel bir tanımlanması olarak bilinmektedir (Pachauri ve Reisinger, 2007).

Epidemiyoloji, iklimsel koşulların bitki hastalığı üzerindeki etkilerini tahmin etmek için kullanılmaktadır (Coakley vd., 1999; Bourgeois vd., 2004; Garrett vd., 2006; Jeger ve Pautasso, 2008). Ayrıca nohutta görülen solgunluk insidansı bölgenin iklimsel koşullarına bağlı olmaktadır (Mina ve Dubey, 2010). Bu amaçla iklimsel değerlerin *Fusarium* solgunluk ve sararma hastalığı üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hastalık şiddeti ile coğrafi parametreler arasında korelasyon analizleri yapılmıştır. Buna göre sararma grubu için bağıl nem ($r=-0,25$; $p<0,01$) ve yağışlı günler sayısı ($r=-0,23$; $p<0,01$) ile hastalık şiddeti arasında negatif korelasyon ve sıcaklık ile hastalık şiddeti arasındaki pozitif korelasyon tespit edilmiştir ($r=0,38$; $p<0,01$) (Tablo 4.3).

Sıcaklık şüphesiz birçok hastalığın ortaya çıkışını ve gelişimini etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Bazı hastalıklar düşük sıcaklıklarda, bazıları ise yüksek sıcaklıklarda en şiddetlidir. Bunun nedeni ise sıcaklığın hastalık üzerindeki etkilerinin, patojen veya konukçu üzerindeki etkilere veya konukçu-patojen arasındaki etkileşime bağlı olabileceğidir. Tablo 4.3'te de görüldüğü gibi sıcaklık, bağıl nem ve yağış gibi çevresel faktörler sararma grubunun hastalık şiddetini etkileyebilmektedir. Bu durumda nohutta *Fusarium* sararma hastalığını nemin antagonistik ve sıcaklığın ise sinerjistik etkilediği söylenebilir. Oysa yoğun yağış ve bağıl nemin, orta düzeyde sıcaklığın ve yoğun inokulum varlığının hastalık epidemilerini etkilediği bildirilmiştir (Chala vd., 2010). Dolayısıyla nohutta solgunluk ve sararma hastalığının insidansı ve gelişiminde çevresel koşullar önemli rol oynamaktadır (Merkuz ve Getachew, 2012). Bu bulgular, düşük düzeydeki nem ile sıcaklığın tarlada *Fusarium* sararmasının hastalık şiddetini artıran kritik bir faktör olduğunu göstermiştir. Hastalık semptomlarının yüksek sıcaklıkta (25 ve 30°C) daha düşük sıcaklıklardan (10, 15 ve 20°C) daha şiddetli görülmesi (Sugha vd., 1994a) bulgularımızı destekler niteliktedir. *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* nohut bitkisinde iyi bir enfeksiyon için 20-30°C sıcaklıkları tercih etmektedir (Sugha vd., 1994a; Landa vd., 2001). Hastalık gelişimi için optimum sıcaklığın 24,5 ila 28,5°C olduğu belirlenmiştir (Bhatti ve Kraft, 1992a; Sugha vd., 1994a; Landa vd., 2001) ve bu aralığın üstünde ve altında sıcaklık seviyeleri hastalık insidansını geciktirmiş ve solgunluğun ilerlemesini yavaşlatmıştır (Sugha vd., 1994a). Ayrıca Chand ve Khirbat (2009), patojen için optimum sıcaklığın 25°C ve pH'nın 5.0-6.5 olduğunu rapor etmiştir. Laboratuvar çalışmalarının sonuçlarını tarla koşullarıyla birlikte değerlendirirken, tarladaki bitki sıcaklıklarının çevredeki havanın sıcaklığından daha yüksek olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır. Bitkilerin inokülasyondan önce yüksek veya düşük sıcaklıklara maruz kalması hastalıklara karşı duyarlılıklarını artırabilir veya azaltabilir, ancak bazen hiçbir etkisi de olmayabilir (Colhoun, 1973). Sonuç olarak ortalama solgunluk ve kök çürüklüğü hastalık insidansı nohut çeşidi, yetiştirilme aşaması, toprak tipi, tohumlama oranları, ekim tarihi, gübreleme, sulama aralıkları ve önceki ürünler gibi biyofiziksel faktörlerden etkilendiğinden bölgeler ve tarlalar arasında değişkenlik göstermektedir (Mohamed vd., 2018). Tablo 4.4'teki solgunluk grubunun korelasyon analizleri incelendiğinde hastalığın herhangi bir iklimsel faktörle anlamlı bir ilişkisi olmadığı sonucu çıkarılmaktadır ($p>0,05$).

Sararma ve solgunluk gruplarının hastalık şiddeti ile rakım, ortalama yabancı ot sayısı, sağlıklı ve enfekte bitkilerin ortalama nodül sayısı ve ortalama boyu arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.5 ve 4.6). Ancak %52,31 yaygınlığa sahip sararma grubundaki yabancı ot sayısı, sağlıklı ve enfekte bitki boyu ile rakım arasındaki pozitif korelasyon ($p<0,01$) (Tablo 4.5) yüksek rakıma sahip tarlalarda yetiştirilen nohut bitkisinin hem enfekte hem sağlıklı bitki boyunun da fazla olduğunu ve bu tarlalarda yabancı otların da yoğun olarak bulunduğunu göstermektedir.

Hem sararma hem de solgunluk grubunda sağlıklı ile enfekte bitkilerin nodül sayısı arasında ve sağlıklı ile enfekte bitkilerin bitki boyu arasında pozitif korelasyon saptanmıştır ($p<0,01$). Ayrıca hastalık şiddeti ile sağlıklı ve enfekte bitkilerin nodül sayısı, sağlıklı ve enfekte bitkilerin bitki boyu arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. ($p>0,05$) (Tablo 4.5 ve 4.6). Bu iki istatistiksel bulguya göre nohutta *Fusarium* solgunluk ve sararma hastalığının bitkideki nodülasyonu ve boy uzunluğunu etkilemediği görülmektedir. Gözlem yapılan nohut tarlalarındaki sağlıklı bitkilerin ortalama nodül sayısının (7,65) hastalıklı bitkilerden (2,01) daha fazla olması ve sağlıklı bitkilerin ortalama boylarının (32,85 cm) hastalıklı olanlardan (26,89 cm) daha uzun olması durumu *F. oxysporum*'un nodülasyon inhibasyonu ve bitki boyuna olumsuz etkisi ile ilişkilendirilebilir. Ancak nohutta *F. oxysporum* ve *Rhizoctonia solani* ile enfekte olması bitkinin nodülasyonunda azalmaya neden olmaktadır (Khan vd., 2014). Çünkü patojenler tarafından üretilen metabolitler nodülasyonu engelleyebilmektedir (Rizvi vd., 2012). Örneğin, *Fusarium* spp. tarafından üretilen fusarik asit nodül bakterisi olan *Rhizobium* bakterileri için toksik etki gösterebilmektedir (Toyoda ve Utsumi, 1991). Çünkü *Rhizobium* spp., asidik pH'a duyarlı olduğundan fusarik asit üretimi köklerin yakınında toprak pH'ını düşürerek rhizobial aktiviteyi inhibe etmiş olabileceği belirtilmiştir (Khan vd., 2014). Diğer yandan *Rhizobium* bakterileri, bitkide büyümeyi teşvik edici faktörleri salgılayarak büyümeyi artırabilmekte (Singh ve Singh, 2018) ve *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* gibi toprak kökenli funguslara karşı bitkinin dayanıklılığını artırabilmektedir (Suman ve Yadav, 2015). Dolayısıyla nohutta *Fusarium* solgunluk ve sararma hastalığı ile bitkideki nodül sayısı arasında pozitif veya negatif bir korelasyon olmaması bazı tarlalarda patojenin bazı tarlalarda da *Rhizobium* bakterilerinin baskın olması durumu ile açıklanabilir.

Buğdaydaki patojenik *Fusarium* türleri ile ilişkili olarak enfekte bitkilerin boylarının sağlıklı olanlardan daha kısa olduğu bazı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Couture, 1982; Mesterhazy, 1995; Hilton vd., 1999). Bu durum uzun boylu bitki genotiplerinin topraktaki inokulumdan kaçma davranışına atfedilmiştir (Hilton vd., 1999).

Çevresel koşullar, bitki hastalıkları epidemilerini ve tarımsal ürün sistemlerindeki hastalıkların şiddetini değiştirme ve konukçu ve patojenin birlikte evrimleşme ilişkilerini yeniden şekillendirme potansiyeline sahiptir (Chakraborty, 2005; Burdon vd., 2006; Fargette vd., 2006; Ziska ve Runion, 2007; Crowl vd., 2008). Bitki gelişimi ve çeşitli stres koşullarına verilen yanıtlar genetik olarak programlanmış olmasına rağmen çevresel koşullardan da etkilenebilmektedir. Bitkiler transkriptomlarını düzenleyerek çevresel zorluklara uyum sağlayabilmektedir (Baker vd., 1997; Cushman ve Bohnert, 2000; Chen vd., 2002; Yamaguchi-Shinozaki ve Shinozaki, 2006).

Fusarium solgunluk ve sararma hastalığı Türkiye'nin çeşitli yükseltilerde nohut tarlalarında yaygın olarak bulunmaktadır. Hastalık şiddeti ile rakım arasında istatistiksel bir ilişki bulunmadığından hastalığın rakımdan etkilenmediği saptanmıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.5 ve 4.6). Çünkü gözlem yapılan lokasyonların yükseltisi 36 metre (Adana/Yüreğir) ile 1.663 metre (Malatya/Darende) arasında değişmiştir.

Kozmopolit yapıdaki *Fusarium* türlerinin (Burgess, 1981) fungal komünite yapısındaki ve çeşitliliğindeki varyasyonlar, dünyanın belirli iklim bölgeleriyle ilişkilendirilmiştir (Backhouse ve Burgess, 1995; Saremi vd., 1997). Dolayısıyla hastalığın farklı yükseltilerde (36-1.663 metre) görülmesi etmenin çeşitli iklimlerde nohut bitkileri üzerinde olumsuz etkisini gösterebileceği anlamına gelmektedir. Ancak 1.000 metrenin altında hastalık şiddetinin düşük olması, etmenin farklı yükseltilerde yaşayabilmesine rağmen belirli bir yükseklikten sonra bitki üzerinde patojenite sergileyememesi ile açıklanabilir (Şekil 4.8). Bu nedenle *Fusarium* solgunluk ve sararma hastalığı açısından nohutta etkili hastalık kontrolü sağlanmasında ve standart ıslah programları geliştirilmesinde patojen-konukçu-çevre etkileşimlerinin dikkatle değerlendirilmesi gerekmektedir.

Fungal patojenisite, bir saprofitin bir patojene geçişini sağlayan ve fungusun gelişimini konukçusuna adapte eden mekanizmaların evrimi olarak bilinmektedir (Knogge, 1996a, 1996b; Walton, 1996). Bir patojenin hastalık şiddeti, türü, formae speciales'i, patotipi ve ırkları gibi epidemiyolojik parametrelere göre güvenilir tanımlanması gerekmektedir (Strange ve Scott, 2005). Bu amaçla bitki hastalıklarının kontrolünün sağlanmasına yönelik hastalığın nedensel ajanı hakkında temel bilgiler sunan patojen popülasyonunun patojenitesi izlenmektedir. Patojenin virülensliğini ve agresifliğini belirleyen patojenisite testleri ile bir popülasyonun hastalık miktarı ölçülerek patojenin adaptasyon, çoğalma, yayılma ve hayatta kalma yeteneği belirlenebilmektedir (Keane ve Kerr, 1997).

Bir patojenin epidemi ve bir sonraki sezon hayatta kalabilme yeteneği özellikle toprak kaynaklı patojenler için önem arz etmektedir (Keane ve Kerr, 1997). Çünkü toprak patojenlerinin neden olduğu hastalıklar, sadece tarım topraklarındaki patojen varlığı ile ilişkili olan inokulum yoğunluğuna bağlı olmayıp aynı zamanda toprağın fiziko-kimyasal özelliklerinden ve mikrobiyal aktivitelerinden de etkilenmektedir (Benson, 1994). pH, organik madde ve kil içeriği gibi abiyotik faktörler patojen varlığını etkilemektedir (Mondal ve Hyakumachi, 1998; Peng vd., 1999; Kühn vd., 2009). Virülensliğin *F. oxysporum* izolatlarının karakterizasyonunda oldukça kullanışlı bir özellik olarak bilinmektedir. Ancak fitopatojenlerin patojenik karakterizasyonunda, sadece patojenisiteye dayanan sınıflandırmada bir fungusun virülensliği sıcaklık (Williams, 1981), konukçu yaşı (Hart ve Endo, 1981) ve inokülasyon metodu (Kraft ve Haglund, 1978) gibi değişkenlerden etkilenmektedir (Correll, 1991).

Ayrıca sadece patojenisiteye dayalı gruplandırma patojenik olmayan izolatların karakterizasyonunu da engelleyebilmektedir. Çünkü bu izolatlar tarım topraklarının fungal mikroflorasının önemli bir kısmını temsil ettiğinden bu izolatların da popülasyonlarının karakterize edilmesi gerekmektedir (Correll, 1991).

Toprak patojenlerinin konukçu yokluğunda sklerot, klamidospore veya oospore gibi dayanıklı yapılar oluşturarak yıllarca hayatta kalabilmesi ve farklı patojenlerin neden olduğu toprak kökenli hastalıkların kök çürüklüğü, solgunluk, sararma fide çökerten ve geriye doğru ölüm gibi benzer semptomlar göstermesi bu patojenlerin tespitini, teşhisini ve kontrolünü zorlaştırmaktadır (Åström ve Gerhardson, 1988).

Bitkide ilerleme hızı ve verimi sınırlaması bir hastalığın ekonomik önemini etkilemektedir (Keane ve Kerr, 1997). Bu tez çalışmasında nohutta *Fusarium solgunluk* ve sararma hastalığından sorumlu *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* hakkında bilgilendirici veriler sunan patojenisite testleri gerçekleştirilmiş ve etmenin virülenslik düzeyi belirlenmiştir. Böylece farklı virülenslik grupları meydana çıkmış ve patojenin coğrafi bölgeler arasındaki patojenik etkinliğinin hangi seviyede bulunduğu, hangi lokasyonlar için tehdit oluşturduğu ve hangi lokasyonlarda başlangıç seviyesinde olduğu hakkında önem teşkil eden veriler elde edilmiştir.

F. oxysporum seksene yakın bitki türünde ciddi solgunluk hastalıklarına neden olmasına rağmen bu fungusun patojenisite ve semptom indüksiyon mekanizması tam olarak anlaşılmamıştır (Beckman, 1987). Fitopatojenlerin konukçularını enfekte etmeden önce latent bir evreye sahip olduğu bilinmektedir (Fisher ve Petrini, 1992). *In vitro* koşullarda bitkinin bazal yapraklarında gözlemlenen sararmalar solgunluk grubu izolatlarında inokülasyondan sonra 3. gün ve sararma grubunda ise 7. gün gerçekleşmiştir (Şekil 4.17 ve 4.19). Bu durum *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in 3-7 gün arasında latent bir evrede bulunduğunu göstermektedir. *F. oxysporum*'un enfeksiyon sürecinde kök salgıları ile sporların çimlenmesi, kök yüzeyine bağlanmayı sağlayan penetrasyon hüflerinin üretilmesi ve fungusun konukçu bitki dokusunda invazyonu bulunmaktadır (Rodríguez-Gálvez ve Mendgen, 1995). Enfeksiyon aşamalarının gerçekleşme hızı, fungusun başarılı bir enfeksiyon gerçekleştirebilme yeteneği ve virülenslik seviyesi ile ilişkilendirilebilir.

Bazal yapraklarda başlayan sararmalar ve kurumalar, bitkinin tepe noktasına kadar ilerleyebilmektedir. Kuruyan yaprakların dökülmesi, solgunluk izolatlarında genellikle sararma izolatlarına göre daha erken gerçekleşmiştir. Bulgularımız Jiménez-Díaz vd. (1989a) tarafından bildirilen solgunluk semptomlarının inokülasyondan sonra 15 gün içerisinde ilerlemesi ve bitkilerin 5-10 gün sonra ölmesi; sararma semptomlarının ise inokülasyondan sonra 20-25 gün içerisinde ilerlemesi ve bitkilerin 10-15 gün sonra ölmesi durumu ile benzerlik göstermektedir. Ayrıca bulgularımız Chaithra vd. (2019) tarafından bildirilen bitkilerin petiyol, yaprakçık ve saplarının dökülmesi ve alt yaprakların üst yapraklara göre daha önce kloroza uğraması gibi karakteristik solgunluk semptomları göstermesi ile uyusmaktadır.

Bu tez çalışmasında AUDPC analizi ile nohutta *Fusarium* solgunluk ve sararma hastalığının karakterizasyonunu gerçekleştirmek ve *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in Türkiye popülasyonunun virülensliğini değerlendirmek amacıyla patojenisite deneylerinden elde edilen hastalık şiddeti değerleri değerlendirilmiştir. Hastalık şiddetinin yıllar ve lokasyonlar bakımından kıyaslanmasını sağlayan AUDPC değerlendirmesi, zaman içerisinde değişen bir bitki popülasyonundaki hastalık yoğunluğunun kantitatif bir özetini sunmaktadır (Madden vd., 2007). *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının virülenslik spektrumu, %0 patojenik değil (NP); %1-20 zayıf patojenik (WP); %21-50 orta derecede patojenik (MP); %51-70 güçlü patojenik (SP) ve %>70 yüksek patojenik (HP) olmak üzere %AUDPC hesaplanmasına göre tanımlanmıştır (Tablo 4.9). ILC482 nohut çeşidi üzerinde *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in hastalık şiddeti izolatlar ve lokasyonlar arasında (iller ve bölgeler) arasında değişkenlik göstermiştir. Yüksek patojenik grupta (>%70 DSI) yer alan 15 izolatın tamamının solgunluk izolatları olduğu belirlenmiştir. Eskişehir/Sivrihisar izolatı (FES1/16) %83,33 ile en yüksek hastalık şiddetine sahiptir. Solgunluk tipi daha virulent olduğundan (Jiménez-Gasco ve Jiménez-Díaz, 2003) sararma izolatları bu grupta yer almamıştır. Güçlü patojenik grupta yer alan (%51-70 DSI) 57 izolatın 53'ü solgunluk grubuna aittir. Sadece sararma izolatlarından olan sırasıyla %51,49, %52,07, %53,27 ve %67,86 DSI ile Adıyaman/Besni (FAB29/16-1), Antalya/Döşemealtı (FAD2/15), Uşak/Banaz (FUB4/16), Denizli/Karahayıt (FDK6/15) izolatları güçlü patojenik olarak sınıflandırılmıştır. İzolatların büyük bir çoğunluğu (416 izolatın 287'si) ise orta derecede patojenik olarak sınıflandırılmıştır (%21-50 DSI). Zayıf patojenik gruptaki (%1-20 DSI) 57 izolatın virülenslik dereceleri %6,55-20,84 arasında değişkenlik göstermiştir ve en düşük DSI değerine sahip izolatın Manisa/Kula (FMK25/16) izolatı olduğu tespit edilmiştir. Bu grupta sadece dört Mersin/Silifke (FMS7/16, FMS23/15-1, FMS11/16, FMS36/16) ve iki Mersin/Gülhar (FMG31/16, FMG39/16) izolatı solgunluk izolatlarındandır. Geri kalan 51 sararma izolatı zayıf patojenik grupta yer almaktadır. Bulgularımıza benzer şekilde Montakhabi vd. (2018) ve Kashyap vd. (2016) tarafından elde edilen sonuçlar, izolatların çoğunun orta veya daha az virulent olduğunu; az bir kısmının yüksek oranda virulent (>%50) olduğunu göstermiştir. Dubey vd. (2010a), değerlendirdiği izolatların çoğunun JG62 nohut çeşidinde hastalık şiddetinin %50'den fazla olduğunu bildirmiş ve yüksek patojenik olarak sınıflandırmıştır.

Tüm izolatlar arasından, DSI değerine göre sırasıyla Aksaray ve Eskişehir ili izolatlarının %65,06 ve %64,11 ile en yüksek virülenslik seviyesine sahip olduğu belirlenmiştir. Solgunluk illerinden Aksaray ve Eskişehir'i barındıran İç Anadolu Bölgesi %59,73 DSI değeri ile güçlü patojenik grupta yer almıştır. İç Anadolu Bölgesi'nden sonra, DSI değeri en yüksek (%39,45) olan bölge solgunluk illerinden Mersin ve Isparta'yı barındıran Akdeniz Bölgesi'dir (Tablo 4.9). Marmara Bölgesi ise %27,88 DSI ile en düşük virülensliğe sahiptir. Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu ve Ege Bölgeleri'nin DSI değeri ise sırasıyla %30,92, %30,83 ve %29,96 olarak hesaplanmıştır. İç Anadolu Bölgesi hariç diğer bölgeler orta derecede patojenik grupta yer almıştır. *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in geniş bir patojenik çeşitliliğe sahip olduğu Türkiye'den (Bayraktar ve Dolar, 2012; Güneş, 2012); İran'dan (Montakhabi vd., 2018); Cezayir'den (Merzoug vd., 2009); Mısır'dan (Abou-Zeid vd., 2002); Etiyopya'dan (Shehabu vd., 2008; Damte ve Ojiewo, 2016); Hindistan'dan (Honreddy ve Dubey, 2006; Dubey vd., 2010a; Kumar vd., 2012; Kaur vd., 2015; Rakhonde vd., 2015; Chaithra vd., 2019); Pakistan'dan (Khan vd., 2002; Ahmad, 2010; Jamil vd., 2010); İspanya'dan (Trapero-Casas ve Jiménez-Díaz, 1985; Jiménez-Díaz vd., 1989a, 1989b, 1993) ve İsrail'den (Landa vd., 2006) pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Virülenslik çalışmasının sonuçları ülke genelinde oldukça değişken bir popülasyonun varlığını göstermiştir.

Patojenisite testleri sonunda hastalıklı bitki dokularından yapılan re-izolasyonlardan elde edilen fungal kültürler orijinal izolatlar ile karşılaştırılmıştır. Nohut bitkisindeki solgunluk ve sararmaya *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in neden olduğu doğrulanmıştır. Sonuçlarımız bazı araştırmacıların elde ettiği bulgularla uyumluluk göstermektedir (Demirci vd., 1999; Srivastava ve Kamthan, 2002; Nikam vd., 2011). Virülensliğin fungal popülasyonlardaki izolatların çeşitliliğinin tanımlanmasında oldukça kullanışlı bir özellik olduğu (Krnjaja vd., 2013) bu çalışma ile de belirlenmiştir.

Vejetatif uyumluluk, *F. oxysporum* da dahil (Puhalla, 1985), çeşitli fungal popülasyonların aynı ve farklı vejetatif uyum grubuna ait izolatlarının karakterizasyonunda kullanılmaktadır (Correll vd., 1987b; Krnjaja vd., 2013). Çünkü vejetatif uyumluluk testlemeleri fungusların popülasyon yapısı hakkında bilgiler sunmaktadır ve sadece genetik olarak çok benzer *F. oxysporum* izolatları aynı VCG'nin üyeleri olabilmektedir (Kistler, 1997).

Vejetatif uyumluluk alışmaları *F. oxysporum*'un patojenik (Leslie, 1993; Katan, 1999) ve patojenik olmayan izolatlarının (Correll vd., 1986b; Steinberg vd., 1997) değerlendirilebilmesini sağlamaktadır. Bu nedenlerden dolayı VCG alışmaları fungal popölasyonların karakterizasyon çalışmalarında önem arz etmektedir (Kistler, 1997). Vejetatif uyumluluk bakımından aynı grupta yer alan izolatlar ortak genetik, fizyolojik ve patolojik özellikleri paylaşmaktadırlar (Puhalla, 1985; Correll vd., 1987b). Örneğin, *F. oxysporum*'da, aynı VCG'ye ait izolatlar TEF-1a ve mtSSU rDNA için özdeş bir sekans paylaşmaktadır (Baayen vd., 2000). Çünkü *F. oxysporum* izolatlarındaki nükleer materyal değişimi (Puhalla, 1985; Correll, 1991; Leslie, 1993) sayesinde her VCG genetik olarak benzer bir popölasyonu temsil etmektedir (Di Primo vd., 2002).

Leslie ve Summerell (2006), VCG tanımlama stratejisinin klorata dayanıklı *nit* mutantlarının izolasyonu ve daha sonra çeşitli nitrojen kaynakları içeren besiyerlerindeki gelişimlerine göre fenotiplemesi olduğunu belirtmişlerdir. *nit* mutantları genellikle nitrat içeren besiyerlerinde eşleştirilerek vejetatif olarak uyumlu izolatlar kolaylıkla taranabilmektedir. Puhalla (1985), funguslardaki nitrat asimilasyonunu klorata dayanıklı izolatların nitratı indirgeyemediğı ancak klorata hassas izolatların bunu yapabilmesi durumu olarak tanımlamıştır.

Bu tez çalışmasında, *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının vejetatif uyumluluğu Türkiye'nin 26 ilinden ve 73 farklı lokasyonundan seçilen 121 izolat üzerinde tanımlanmıştır. Nohuttan elde edilen patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatlarının VCG alışmaları 6 ilden ve 5 farklı lokasyondan seçilen 6 izolat ile gerçekleştirilmiştir. *nit* mutantlarının izolasyonu %1,5 ve %2 KClO₃ içeren PDA ve FMM besiyerlerinde gerçekleştirilmiştir. Puhalla (1985) ve Puhalla ve Spieth (1983), FMMC-15'te *F. oxysporum* ve *F. moniliforme* izolatlarından; Hopkins vd. (1992), PDAC-15'te *F. oxysporum* f. sp. *niveum* izolatlarından sektör elde etmişlerdir.

nit mutantlarının izolasyon çalışmalarında %1,5'luk besiyerleri (PDAC-15 ve FMMC-15) her *nit* sınıfına ait mutant verememiştir. Bu amaçla daha fazla *nit* mutantı elde etmek ve mutant elde edilemeyen izotatlardan da *nit* mutant oluşumunu sağlamak amacıyla aynı izolatlar %2 KClO₃ içeren PDA ve FMM (PDAC-20 ve FMMC-20) besiyerlerinde kültüre alınmıştır. Böylece eşleşme testlerinde kullanılmak üzere farklı fenotipik sınıflara ait çeşitli *nit* mutantları kazanılmıştır.

Ancak bazı izolatlarda birkaç deneme yapılmasına rağmen ya tek bir *nit* mutanlığı ya da sadece tek mutant sınıfına ait (*nit1* veya *nit3*) *nit* mutantları elde edilmiştir. PDAC-15'te 140 ve FMMC-15'te 78 *nit* mutanlığı olmak üzere 218 *nit* mutanlığı; PDAC-20'de 67 ve FMMC-20'de 91 *nit* mutanlığı olmak üzere 158 *nit* mutanlığı elde edilmiştir (Şekil 4.20). Ancak PDAC-15 ve FMMC-15'ye alternatif olarak kullanılan PDAC-20 ve FMMC-20 daha fazla sayıda *nit* mutanlığı sağlamamıştır (Şekil 4.21).

Benzer şekilde Pasquali vd. (2005), %2'lik ve %3'lük besiyerleriyle kıyaslandığında *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* izolatlarının çoğunun %1,5 KClO₃ içeren besiyerlerinde komplementer *nit* mutanlığı ürettiğini belirtmiştir. Aksine Swift vd. (2002), *F. oxysporum* f. sp. *cepae* izolatlarında %1,5'lük besiyeri ile karşılaştırıldığında %3'lükte daha fazla *nit* mutanlığı elde etmişlerdir. Dolayısıyla VCG çalışmalarında çok sayıda ve komplementer *nit* mutanlığı elde edebilmek için Puhalla (1985)'in önerdiği gibi değişen oranlarda (%1,5-6) klorat kullanılması gerekebilmektedir.

Puhalla (1985), 16 *F. oxysporum* izolatında yaklaşık %60; Saabale (2013), 39 *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatından %76 oranında *nit* mutanlığı elde etmiştir. Bu çalışmada kullanılan 127 izolattan hem %1,5 hem de %2 KClO₃ içeren PDA ve FMM besiyerleri kullanılmasına rağmen %36,15 oranında mutant (376 *nit* mutanlığı) elde edilmesi diğer araştırmacıların elde ettiği *nit* mutant oranlarına göre oldukça düşük bir değere sahiptir. Benzer şekilde Dervis vd. (2007), 207 *V. dahliae* izolatından %52,1 oranında *nit* mutanlığı elde etmiştir.

Bu çalışmada kullanılan ve *nit1*, *nit3* ve NitM mutantlarının oranları sırasıyla %66,5, %5,3 ve %28,2 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.20). Benzer şekilde Cumagun vd. (2008), *F. oxysporum* f. sp. *lagenariae*'den %52 *nit1*, %20 *nit3* ve %28 NitM; Tok (2010), *F. oxysporum* f. sp. *melonis*'ten ve %81 *nit1*, %7 *nit3* ve %12 NitM; Erincik ve Döken (2017), *F. oxysporum* f. sp. *niveum*'dan %76 *nit1*, %5 *nit3* ve %19 NitM mutanlığı elde etmiştir. Aksine Bayraktar vd. (2010), *F. oxysporum* f. sp. *cepae*'den %74 *nit1*, %15 *nit3* ve %11 NitM mutanlığı belirlemişlerdir.

F. oxysporum dışında Mohammadi vd. (2012), *F. verticillioides*'ten sırasıyla %58, %24 ve %19 oranlarında *nit1*, *nit3* ve NitM elde etmişlerdir. Fallahi vd. (2014), *F. solani*'de *nit1* mutanlığının oranının *nit3* ve NitM'den daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Saabale ve Dubey (2014) ise *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'te baskın fenotipin *nit1* (%73,3) olduğunu belirlemişlerdir ve bunu sırasıyla *nit3* (%15,6) ile NitM (%9,5) takip etmiştir. Bulgularımız *nit3* ve NitM ile kıyaslandığında *nit* mutantlarının çoğunun *nit1* olduğunu göstermiştir. Baskın fenotip *nit1* mutanı olup NitM ve *nit3* mutantlarının sayıları ise değişkenlik göstermektedir. Ancak Ilić vd. (2013), yabancı otlardan izole ettikleri *F. oxysporum* izolatlarında *nit3*'ün *nit1* ve NitM'den daha yaygın olarak bulunduğunu belirtmişlerdir. *nit1* mutantının *Fusarium* türlerinde genel olarak baskın bir fenotip olduğu bilinmektedir (Correll vd., 1987b; Klittich ve Leslie, 1988).

Farklı klorat miktarlarının farklı sayılarda *nit* mutanı vermesinin yanı sıra kullanılan besiyeri de mutant sayısını etkilemektedir. Correll vd. (1987b), PDAC besiyerinin FMMC'ye göre daha fazla *nit1* mutanı sağladığından *F. oxysporum*'da *nit* mutant karakterizasyonunda kullanılan besiyerlerinin *nit* mutant fenotipini etkilediği bildirmiştir. Bu çalışmada PDAC-15'ten 140 *nit* mutanı sağlanmasına rağmen FMMC-15'ten 78 *nit* mutanı elde edilmiştir. Buna karşılık FMMC-20'den 91 *nit* mutanı sağlanmasına rağmen PDAC-20'den 67 *nit* mutanı elde edilmiştir (Şekil 4.21). Sonuç olarak bu çalışmada PDAC-15'in ve FMMC-20'nin daha fazla *nit* mutanı sağladığı belirlenmiştir. Ayrıca Correll vd. (1987b) tarafından bildirildiği gibi çalışmamızda PDAC besiyeri 134 adet ve FMMC besiyeri 116 adet *nit1* mutanı sağlamıştır (Şekil 4.21).

Woo vd. (1996)'ya göre *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*'nin *nit* mutantlarının frekansları, kullanılan klorat ve besiyerine bağlı olarak değişmiştir: PDAC-15'te *nit1* %60-86, *nit3* %4-23 ve NitM %0-15; %1,5 FMMC-15'te *nit1* %58-62, *nit3* %5-25 ve NitM %0-25. FMMC'nin *F. oxysporum* f. sp. *cepaе*, *dianthi* ve *lactucaе* izolatlarının NitM eldesinde oldukça işlevsel bir besiyeri olduğu bildirilmiştir (Swift vd., 2002; Pasquali vd., 2004, 2005).

Correll vd. (1987b), *nit3* ve NitM mutantlarının sıklığının FMMC'de (*nit3* %10-28 ve NitM %10-25) PDAC'den (*nit3* %0-12 ve NitM %2-10) daha yüksek olduğunu; *nit1* mutantlarının sıklığı PDAC'de (%82-95) FMMC'den (%59-66) daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Ancak *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'te en fazla NitM mutanı da PDAC-15'ten en az FMMC-15'ten elde edilmiştir (Şekil 4.21).

PDAC besiyeri, sararma ve solgunluk grubu izolatlarında tüm mutant sınıflarında hem en fazla *nit* mutantını vermiş hem de en iyi eşleşmeyi yapan test izolatlarını sağlamıştır. Dolayısıyla PDAC besiyeri, *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in *nit* mutant karakterizasyonu için idealdir. Bu nedenle VCG testlemesinde kullanılan klorat miktarına ve besiyeri türüne göre değişkenlik gösteren özellikle her mutant sınıfı ile eşleşebilen NitM olmak üzere tüm *nit* mutant sınıflarının sayısı ve sınıfı, *nit* mutant karakterizasyonu yapılan fungusa göre de değişiklik gösterebilmektedir.

Heterokaryon uyumluluğu belirlemek amacıyla *nit* mutant karakterizasyonu gerçekleştirilen bu çalışmada, 127 izolattan 7'si 3 farklı *nit* fenotipini ve 10'u iki farklı *nit* fenotipini üretmiştir. 21 izolat sadece *nit1* (%16,5), 4 izolat sadece *nit3* (%3,1) ve 18 izolat ise sadece NitM fenotipini (%14,2) sağlamıştır. Somrith vd. (2011), *F. oxysporum* f. sp. *cubense*'nin tüm izolatlarının %48 oranında *nit1*; %52 oranında ise *nit1* ile NitM mutantlarına sahip olduğunu belirtmiştir. Sonuçlarımız *nit1* mutantının hem klorat miktarına hem de besiyeri çeşidine bağlı olmaksızın diğer mutant sınıflarına göre daha kolay elde edildiğini göstermektedir.

F. oxysporum popülasyonlarında her VCG, bir çift komplementer *nit* test izolatı ile temsil edilmektedir (Puhalla, 1985; Correll vd., 1987b). Bütün *nit* mutantları eşit derecede komplementer heterokaryon oluşturamadığından güvenilir test izolatlarının seçilmesi gerekmektedir. İlk olarak, biyokimyasal düzeyde, yanlış negatif sonuçlardan kaçınmak için test izolatlarının tüm mutantlarla eşleşebilmesi gerekmektedir (Katan ve Katan, 1999).

nit1 ve *nit3* mutantlarının her biri tek bir lokusta mutasyon taşıdığı için homojen fenotipik sınıflar olduğundan bu mutantlarda eşleşme nadiren veya çok zayıf gerçekleşmektedir (Correll vd., 1987b; Baayen ve Kleijn, 1989; Toth ve Lacy, 1992). Çok sayıda oluşan *nit1* mutantları (Correll vd., 1987b; Baayen ve Kleijn, 1989; Ahn vd., 1998) *nit3* ile sık sık başarısız eşleşme sağladığından VCG test mutanti olarak önerilmemektedir (Katan ve Katan, 1999). Buna karşılık, NitM fenotipi en az beş lokustaki mutasyonun sonucu oluşan bir mutant olup (Correll vd., 1987b) daha az sıklıkla ortaya çıkmaktadır. Biyokimyasal düzeyde, NitM mutanti *nit1*, *nit3* ve NitM mutantları ile eşleşebilmektedir. Test olarak seçilen bir çift NitM mutanti kendi VCG'sindeki her bir *nit* mutanti ile anastomoz yapabilmesi gerekmektedir (Brake vd., 1990).

Çoklu eşleştirmeler ile karşılaştırılan aday mutantlardan en geniş mutant aralığını etkili bir şekilde tamamlayan NitM mutantları test mutantları olarak tanımlanabilmektedir (Katan ve Katan, 1999). Bu çalışmadaki *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in tüm test izolatları NitM fenotipik sınıfına aittir. Hem sararma (FDT5/15-5 ve FANB6/16-23) hem de solgunluk grubundan (FIY31/16-15 ve FIŞ13/16-5) elde edilen bir çift test mutantı eşleşme çalışmalarında etkili bir şekilde kullanılmıştır.

Hifsel anastomoz, çoğu fungusun yaşam döngüsünün önemli bir parçasını oluşturmaktadır (Correll vd., 1989). Filamentöz fungusların olgun hiflerinin füzyonu sonucu oluşan heterokaryotik hücrelerin *het* lokuslarındaki alleller farklı olursa hücreler vejetatif olarak uyumsuz olmakta (HSI) ve bu hücreler hızlı bir şekilde ölmektedir (Saupe, 2000; Glass ve Kaneko, 2003; Glass ve Dementhon, 2006; Aanen vd., 2010). HSI durumunun komplementer heterokaryonlar oluşturmak için bir araya gelen aynı izolatın farklı *nit* mutantlarının eşleşme yetersizliği ile ortaya çıktığı (Jacobson ve Gordon, 1988; Leslie, 1990, 1993) veya bu uyumsuzluk tepkisinin virüsler veya mitokondri gibi istenmeyen genetik elementlerin organizmaya girişini önlemek için bir savunma mekanizması olduğu belirtilmiştir (Glass vd., 2000). Bu nedenle heterokaryotik hücrelerin gelişmemesi filamentöz funguslar için avantajlı olsa da vejetatif uyumsuzluğun genetik mekanizması, genetik olarak farklı iki birey arasındaki rekombinasyon sürecini kısıtlayabilmektedir (Ishikawa vd., 2012). Bu çalışmada VCG testlemesinde kullanılan her *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatının farklı *nit* fenotiplerinin eşleştirilmesi sonucu 41 izolatın HSC ve 11 izolatın HSI olduğu belirlenmiştir. Ancak HSI izolatlar, test izolatlar ve diğer *nit* mutantları ile başarılı eşleşmeler gerçekleştirmiştir. Katan (1999), HSI izolatlarının güçlü anastomoz yapan test izolatlarla eşleşmesine rağmen bir VCG'ye dâhil olmadığını bildirmiş ve bunların *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*'de olduğu gibi VCG003-HSI şeklinde adlandırılabilceğini önermiştir. Bu çalışmada da *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in HSI izolatlarının VCG0280-HSI şeklinde adlandırılabilceği önerilmektedir. Hawthorne ve Rees-George (1996), *F. solani*'nin farklı izolatları arasında birçok uyumsuz izolat olduğunu, fakat doğada kendi kendine uyumsuzluğun öneminin belirsiz olduğunu belirtmişlerdir. Correll vd. (1989), *F. moniliforme*'deki HSI'nin, tek bir genin kontrolü altında olduğu sonucuna varmış ve Jacobson ve Gordon (1990), uzun süre kültüre alınan funguslarda ortaya çıkabileceğini öne sürmüşlerdir.

Tek bir *nit* veya aynı *nit* mutantına (*nit1* veya *nit3*) sahip izolatların HSC/HSI fenotipi belirlenemese de bu izolatların test izolatlar ve farklı izolatlarla eşleştiğinden onların da HSC olduğu varsayılmaktadır. Ancak *nit* mutantlarının sayısının azlığı veya her izolatın NitM mutantının bulunmaması HSC/HSI durumunun belirlenmesini sınırlandırmaktadır. Bazı durumlarda komplementer HSI izolatlarının varlığından dolayı bir izolatın HSC/HSI durumunun belirlenmesi için aynı izolatın farklı *nit* mutantlarının eşleştirilmesi gerekmektedir.

VCG çalışmalarında kullanılan her izolat için en az iki farklı *nit* mutant sınıfına ait mutantların sağlanması gerekmektedir. Fungal popülasyonlarda HSI izolatların varlığı ve bu izolatlar arasındaki genetik benzerliğin ifadesinde VCG'lerin yetersizliği, mevcut sınırlamaların üstesinden gelmek için daha güçlü araçların kullanılması gerektiğini göstermiştir. PCR'a dayalı moleküler markırların kullanımı bu amaç için düşünülmüştür (Fallahi vd., 2014).

HSC olan FHM5/16 (Hatay/Merkez) izolatının *nit* mutantları test izolatlarla ve diğer izolatların *nit* mutantlarıyla stabil heterokaryonlar oluşturamamıştır. Bu durum Carvalho ve Mendes-Costa (2011) tarafından da belirtildiği gibi füzyon öncesi olayları kontrol eden genler ile vejetatif uyumluluğu kontrol eden genler arasındaki allelik farklılıkların anastomoz oluşturabilecek, ancak heterokaryonlar oluşturamayacak şekilde düzenlenmesi ile açıklanabilir. Çünkü protoplast füzyonu yapan hücreler heterokaryon oluşumuna yönlendirilmediğinde apoptotik yanıt aktive edilmektedir (Leslie ve Zeller, 1996).

Yani *Fusarium* da dâhil (Kuhn vd., 1996; Zeller ve Leslie, 1996) bazı fungal türlerde (Jacobson vd., 1995; Burgess vd., 1996), vejetatif uyumsuzluk etkileyen bazı lokuslar, füzyon sonrasında ilk etkileşimlerden gelen sinyalleri hücre ölümü yolağına iletmede rol oynayabilmektedir (Leslie ve Zeller, 1996). Dolayısıyla HSC olup da diğer izolatlarla uyumlu olmayan FHM5/16 izolatının *nit* mutantlarının diğer *nit* mutantları ile etkileşimi, Leslie ve Zeller (1996) tarafından belirtildiği gibi *hsi* genlerinin feromon reseptörleri üretmesiyle hisel füzyonu gerçekleştiren hücrelerin *het* lokuslarındaki allelik farklılıklarının hücreyi apoptotik sürece yönlendirmesinden dolayı stabil bir heterokaryon ile sonuçlanmamıştır.

F. oxysporum'un VCG'leri testlenen formae speciales'lerin klonal orijini hakkında bilgiler sunmasına rağmen (Leslie, 1993; Gordon ve Martyn, 1997) tek bir vic lokusundaki mutasyonunun izolatların vejetatif olarak uyumsuz olmasına ve hatta iki ayrı VCG'ye ayrılmasına neden olabilmektedir (Correll, 1991; Bentley vd., 1995, 1998). Örneğin, *F. oxysporum* f. sp. *cubense*'nin ırk 4'ü iki ayrı VCG'ye (0120 ve 0129) ayrılrsa da fungusun ortak bir orijine işaret eden benzer bir mtDNA RFLP modeline de sahip olduğu belirlenmiştir (Ploetz, 1990). Bayeen vd. (2000) ise bazı izolatlarındaki vejetatif uyumsuzluğun izolatların uzun süreli kültüre alınmasından kaynaklanmış olabileceğini belirtmiştir. Bu nedenle popülasyonlardaki varyasyonların değerlendirilmesini sağlayan fenotipik karakterler ile temsil edilen VCG'lerin genetik ilişkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir (Fourie vd., 2011). Dolayısıyla testlenen 127 izolattan sadece bir izolatta gerçekleşen bu uyumsuzluğun fungusun genetik yapısındaki bir değişiklikten kaynaklanıp kaynaklanmadığının belirlenmesi ancak moleküler seviyede yapılacak polimorfizm çalışmalarıyla mümkün olabilir. Çünkü *F. oxysporum*'un genomunun yaklaşık %5'i transpozonlardan oluştuğundan ve rRNA bölgesindeki genetik duplikasyonlardan dolayı bu fungal türün genetik değişimin meydana geldiği mekanizmaların incelenmesi gerekmektedir (Kistler, 1997).

Bu çalışmada patojenin farklı ırklarını temsil ettiği varsayılan patojenik *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* (121 izolat) ve patojenik olmayan *F. oxysporum* (6 izolat) izolatlarının farklı *nit* mutantları arasında eşleşmeler yapılmıştır. İzolatların FMM besiyerinde heterokaryon oluşturup/oluşturmama durumlarına göre birbiriyle uyumlu ya da uyumsuz olduğu belirlenmiştir.

Sararma grubundaki 54 patojenik izolatın 46'sı ve 6 patojenik olmayan izolatın 32'si birbirleriyle uyumluluk göstermiştir ve 8 patojenik ve 3 patojenik olmayan izolat uyumlu bulunmamıştır. Solgunluk grubundaki 67 patojenik izolattan 66 izolat uyumluluk göstermiştir ve 1 izolat uyumlu olmamıştır. Sonuç olarak 112 *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatı ve 3 patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatı heterokaryon oluşturma yeteneğine göre bir VCG'de sınıflandırılmıştır. *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in vejetatif uyum gruplarının belirlenmesine yönelik gerçekleştirilen bu tez çalışmasında, etmenin tek VCG'de bulunduğu Türkiye'den ilk kez rapor edilmektedir.

Güneş (2012) tarafından gerçekleştirilen Türkiye'nin 6 ilini kapsayan 79 adet *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatu, her il bir grup oluşturacak şekilde çoklu VCG'ler meydana getirmiştir. Khan vd. (2002), Pakistan'dan elde edilen 19 adet *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatu vejetatif uyumluluk bakımından 2 gruba ayırmışlardır. Solgunluk grubunun VCG0280 olabileceğini ve sararma grubunun ise farklı VCG'ye ait olabileceğini bildirmişlerdir. Zamani vd. (2004) ise İran'dan elde edilen 15 *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatu 3 VCG'de sınıflandırmıştır. Patojenin 8 fizyolojik ırkı temsil eden 47 izolat kullanan Nogales-Moncada vd. (2009), İspanya'da *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'i tek bir VCG'de tanımlamıştır. Saabale ve Dubey (2014), patojenin 8 ırkına ait tüm Hint izolatlarını tek VCG'de gruplandırarak VCG0280'e ait olabileceğini önermiştir.

Eşleşme çalışmalarında bazı izolatların NitM mutantları testlemeye giren mutantların çoğuyla eşleşme sağladığından ilk aşamada birden fazla grup oluşmuştur. Daha sonra bu anastomoz kabiliyeti yüksek NitM mutantlarının eşleşmesi sonucu tüm mutantlar tek grup altında toplanmıştır. Mutantlar hemen hemen eşzamanlı olarak komplementer heterokaryon oluşumunu iki hafta içinde göstermiştir. Farklı *nit* mutantlarının eşleşmesinde iki mutant kolonisi arasındaki temas bölgesinde yoğun miselyum gelişimi olmakta (heterokaryon) (Leslie, 1993) ve vejetatif olarak uyumlu olan izolatların *nit* mutantları nitratu kullanacak duruma geldiklerinden dolayı heterokaryonlar yabancı tip gelişim gösterebilmektedir (Correll vd., 1987b).

Saabale ve Dubey (2014), uyumlu *nit* mutantlarının eşleşmeleri sırasında kuvvetli ve zayıf olmak üzere iki tip heterokaryon oluşumu gözlemlemişlerdir. Bu çalışmada eşleşme gerçekleştiren uyumlu izolatların *nit* mutantlarının birleştiği kısımlarda kuvvetli ve zayıf heterokaryonların yanı sıra tam ve parçalı anastomoz da meydana gelmiştir (Şekil 4.22). Bu durumun vejetatif uyumluluğu etkileyen her bir lokustaki allel farklılığından kaynaklandığı bildirilmiştir (Gordon ve Okamoto, 1991). Solgunluk grubu izolatların *nit* mutantları arasında gerçekleştirilen eşleşme testlerinde güçlü ve tam olmak üzere tek tip heterokaryonlar gelişmiştir. Sararma grubunda ise güçlü, zayıf, tam ve parçalı heterokaryonlar görülmüştür. FANB6/16-FAK2/16 heterokaryonları zayıf ve parçalı; FÇE4/15'in HSC etkileşimi güçlü ve parçalı; FÇB16/15'in tüm heterokaryonları zayıf ve tam olup diğer parçalı heterokaryonlar Şekil 4.22'de verilmiştir.

İki izolat arasındaki kültürel etkileşimin yoğunluğundaki farklılıklar vejetatif uyumluluğu etkileyen lokuslardaki allelik farklılıkların sayısını yansıtmaktadır (Gordon ve Okamoto, 1991). Bunların dışında geri kalan tüm eşleşmelerin güçlü ve tam olduğu belirlenmiştir.

VCG testlemesi, *F. oxysporum*'un formae speciales'lerinin karakterizasyonunda kullanılabilmektedir (Puhalla, 1985) ve patojenik popülasyonların genetik çeşitliliğinin daha iyi anlaşılmasını sağlamaktadır (Pintore vd., 2017). *F. oxysporum*'un formae speciales'lerinin çoğu birden fazla VCG'de; bazıları ise tek VCG'de bulunmaktadır (Correll, 1991; Kistler vd., 1998).

F. oxysporum f. sp. *vasinfectum* (Katan ve Katan, 1988), f. sp. *apii* (Correll vd., 1986a), f. sp. *dianthi* (Katan vd., 1989), f. sp. *niveum* (Larkin vd., 1990), f. sp. *elaeidis* (Flood vd., 1992) ve f. sp. *cucumerinum* (Ahn vd., 1998) patojenlerinin vejetatif uyumluluğun patojenisite ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Ancak *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'te vejetatif uyumluluk ile patojenisite arasında bir ilişki bulunmamaktadır. Patojenik olmayan dört izolattan (FMD13/15-1, FHB1/16, FBBZ6/15, FBBZ11/15-1) ikisinin (FMD13/15-1, FHB1/16) patojenik izolatlarla uyumlu olduğu görülmüştür. Merzoug ve Belabid (2017), patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatlarının patojenik *F. oxysporum* f. sp. *pisi*'nin ırk 1 ve 6 ile uyumlu olduğunu gözlemlemişlerdir.

Nogales-Moncada vd. (2009), patojenik olmayan izolatların çoğunun sararma tipi düşük virulent *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatı ile uyumlu olduğunu rapor etmişlerdir. Böylece patojenik ve patojenik olmayan popülasyonlar arasında geçiş izolatlarının var olma olasılığını ortaya koymuşlardır. Bu durumda patojenik izolatlarla vejetatif olarak uyumluluk sergileyen FMD13/15-1 ve FHB1/16 izolatlarının patojenik olma yolunda evrimleştiği söylenebilir.

Correll (1991), fungusaların yalnızca patojenisiteye bağlı sınıflandırılmasının patojenik olmayan izolatların karakterizasyonunu önlediğini bildirmiştir. Patojenik olmayan izolatlar, tarım topraklarının fungal mikroflorasının önemli bir bileşenini temsil ettiğinden patojenik olmayan popülasyonun da çeşitliliğinin belirlenmesi gerektiğini belirtmiştir.

Patojenik olmayan *F. oxysporum* türlerinin ekolojik önemi ve popülasyon dinamikleri hakkında çok az şey bilinmektedir (Merzoug ve Belabid, 2017). Kesin sonuçların elde edilmesi için Türkiye’den nohutta patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatlarının testlenmesi gerekmektedir. *F. oxysporum* f. sp. *elaedis* gibi bazı fungal izolatların patojenitesini doğrulamak için vejetatif uyumluluk kullanılmıştır (Flood vd., 1992). Ayrıca aseksüel bir popülasyona sahip olan *F. oxysporum* için klonal soyun bir parçası olarak ortaya çıkan benzer patojenisite sahip izolatların hepsinin aynı VCG’de olması gerektiği belirtilmiştir (Leslie ve Summerell, 2006) ve bazı çalışmalar, benzer patojenisiteye sahip izolatların aynı VCG’ye ait olduğunu göstermiştir (Strausbaugh vd., 1992; Daayf vd., 1995; Dervis vd., 2009). Ancak vejetatif uyumluluğun nohutta patojenik olan *F. oxysporum* izolatları ile patojenik olmayanları ayırt edememesi Webb vd. (2013) tarafından bildirilen vejetatif uyumluluk testinin şekerpancarında patojenik *F. oxysporum* izolatları ile patojenik olmayan arasında ayırım yapılamaması durumu ile benzerlik göstermektedir.

VCG ile patojenisite arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi gerekmektedir (Leslie, 1993). Bu çalışmada tek VCG ile temsil edilen *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının değişen derecelerde virülenslik seviyelerine sahip olduğu belirlenmiştir. Hem tarla gözlemlerinin sağladığı istatistiki veriler hem de laboratuvar koşullarında gerçekleştirilen virülenslik çalışmaları *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*’in patojenik çeşitliliğinin yanı sıra Jiménez-Díaz vd. (2015) tarafından da bildirildiği gibi farklı patojenisite derecelerine sahip olan çeşitli fizyolojik ırklara da sahip olduğunu da göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Dolayısıyla *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* geniş bir coğrafi dağılıma ve patojenik çeşitliliğe sahip olmasına rağmen (Jiménez-Díaz vd., 2015) tek VCG’de bulunmaktadır. Semptomatik farklılık, ırk çeşitliliği ve etmenin geniş coğrafi dağılımına rağmen, dünyanın farklı bölgelerinden elde edilen ve bugüne kadar test edilen tüm *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatları tek bir VCG’de tanımlanmıştır (Nogales-Moncada vd., 2009). Bu durum, bu fungusun monofiletik bir orijine sahip olabileceğini göstermiştir (Jiménez-Gasco vd., 2002; Demers vd., 2014). Tek bir VCG içindeki *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının ortak ve tek bir atasal türden meydana geldiği söylenebilir. Kistler (1997), *F. oxysporum* popülasyonundaki VCG’lerin ayrı klonal soya ait olduğunu bildirmiştir.

F. oxysporum'un 28S rDNA sekans analizleri, *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in TEF1- α geninin filogenetik analizleri ve mtDNA'da aynı RFLP'yi paylaşması, bu patojenin monofiletik olduğunu göstermiştir (Pérez-Artés vd., 1995; O'Donnell ve Cigelnik, 1997; Jiménez-Gasco vd., 2002; Demers vd., 2014). Etmenin tanımlanan 6 ırkı TEF1- α , β -tübülin, histon3, aktin ve kalmodulin genlerinin intronları için aynı sekansları göstermiştir. Yani *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'te sekans varyasyonunun olmaması, *Cicer* türlerine patojenik olan bu patojenin küçük bir kurucu popülasyondan ya da belki de tek bir bireyden türediğini göstermektedir (monofili) (Jiménez-Gasco vd., 2002). Bunun bir sonucu olarak, etmenin semptomatik ve virülenslik çeşitliliğinin yeni genetik değişikliklerin birikmesinden kaynaklanmış olabileceği belirtilmiştir (Gordon ve Martyn, 1997). Aseksüel genetik değişim, farklı ırkların izolatları arasında ve patojenik ve patojenik olmayan izolatlar arasında ortaya çıkabilmektedir (Jiménez-Gasco vd., 2001). Bu çalışmanın *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in filogenetik kökeni ile bu fitopatojenin patojenik gruplarının arasındaki ilişkiyi anlamada yardımcı olacağı düşünülmektedir. Tek bir VCG içindeki çoklu patojenik grubun varlığı izolatlar arasında yüksek derecede genetik homoloji olması ile açıklanmıştır (Saabale, 2013).

Bu çalışmada 26 il ve 73 farklı lokasyondan seçilen ve Türkiye'nin *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* popülasyonunu temsil edecek şekilde gerçekleştirilen vejetatif uyumluluk çalışmalarının sonuçları, patojenisitenin yanı sıra coğrafi orijin ile de herhangi bir ilişki sunmamıştır. Bu sonuçlar, *F. oxysporum*'un çeşitli formae speciales'leri (Elias vd., 1993; Woo vd., 1996; Belabid ve Fortas, 2002; Merzoug ve Belabid, 2017) ile yapılan önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlarla uyumludur.

Elias ve Schneider (1991), vejetatif uyumluluğun *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*'de ırk ile ilişkisi olmadığını bildirmişlerdir. Khan vd. (2002)'ye göre *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarında semptomatik tip ile VCG arasında bir ilişki bulunmasına rağmen ırk 5 ve 1A izolatları tek VCG'ye ait olduğundan ırklar ve VCG arasında bir ilişki bulunamamıştır. Çünkü solgunluk izolatları aynı VCG'de bulunmaktaydı. Ancak çalışmamızda solgunluk ve sararma izolatları vejetatif uyumluluk bakımından tek bir grup ile temsil edilmektedir. *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'te, VCG ile semptomatik tip ilişkili değildir ve buradan VCG ile ırk arasında da ilişki bulunmadığı sonucu çıkarılabilir.

Solgunluk ve sararma gruplarını temsil eden ırklar aynı VCG'de yer almaktadır. Irk-VCG ilişkisi, fizyolojik ırkların tanımlanmasında uygun bir araç değildir (Katan vd., 1994). Ancak VCG stratejisi, nohuttaki bu fitopatojenin ırklarının orijininin değerlendirilmesinde kullanılabilir. Jacobson ve Gordon (1988), bir VCG içindeki patojenik ırkların bazı lokuslarda farklılık gösterebileceğini öne sürmüştür.

F. oxysporum'da vejetatif uyumluluk *vic* lokusu tarafından kontrol edildiğinden (Correll, 1991) izolatların birbirleriyle vejetatif olarak uyumlu olması için ırklardaki karşılıklı *vic* lokusunun her birindeki allellerin aynı olması gerekmektedir (Saabale ve Dubey, 2014). Tanımlanmış 8 ırka sahip *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in vejetatif uyumluluğunun belirlenmesine yönelik gerçekleştirilen ve tek VCG ile karakterize olan bu çalışma ve diğer çalışmaların (Nogales-Moncada vd., 2009; Saabale ve Dubey, 2014) sonuçları sunulmuştur. Sonuç olarak geniş bir coğrafi dağılıma ve virülenslik ve ırk bazında çeşitliliğe sahip nohutta solgunluk ve sararmanın nedensel ajanı olan bu fungal etmenin (Jiménez-Díaz vd., 2015) *vic* lokusunda bulunan alleller identik olduğu için vejetatif uyumlulukla ilişkili stabil heterokaryonların oluşumu (Correll, 1991), etmenin tek orijini olduğunu gösteren monofili hipotezi (Jiménez-Gasco vd., 2002; Demers vd., 2014) ile ilişkilidir.

Tarımsal ekosistemlerde yaygın olarak görülen birlikte evrimleşme (co-evaluation) patojenin konukçusuna nasıl adapte olduğunu ve konukçu popülasyonundaki genetik değişikliklere karşı patojen popülasyonunun nasıl yanıt verdiğini araştırmaktadır (Zhan vd., 2003).

En eski yemeklik tane baklagillerden biri olan nohutun (Lev-Yadun vd., 2000; Zohary ve Hopf, 2000) orijin merkezinin ülkemizin Güneydoğu Anadolu Bölgesi olduğu bildirilmiştir (Ladizinsky ve Adler, 1976b; Van der Maesen, 1987; Singh, 1997). Dolayısıyla *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in de orijin bölgesinin bu alanlar olmasının muhtemel olduğu düşünülmektedir. Çünkü VCG çalışmaları etmenin tek bir atasal türden köken aldığını göstermektedir. Etmenin solgunluk ve sararma olmak üzere iki farklı semptomatik tipe, virülenslik ile fizyolojik ırklar bakımından çeşitliliğe ve dünya genelinde geniş coğrafi dağılıma sahip olduğu bilinmektedir (Nogales-Moncada vd., 2009). Ancak bu patojenin monofiletik orijine sahip olduğunu (Jiménez-Gasco vd., 2002; Demers vd., 2014) destekleyen heterokaryon uyumluluğu bakımından tek bir grupta yer alması, bu görüşü destekler niteliktedir.

Coğrafi açıdan etmenin farklı virülenslik seviyesi göstermesinin bu bölgelerdeki çeşitli nohut hatlarının yetiştiriciliği ile ilişkili olduğu öngörülmüştür (Haware ve Nene, 1980). Yani ırkların evrimi ile nohut hatlarının kültivasyonu arasında bir korelasyon bulunmaktadır (Joshi, 2011). Benzer durum buğday patojeni olan *Mycosphaerella graminicola* için de önerilmiştir (Zhan vd., 2003).

Bugünkü Suriye ve İsrail'in bazı bölümlerini içeren Bereketli Hilal, kültüre alınan buğdayın orijin merkezi olup (Harlan ve Zohary, 1966; Nevo ve Beiles, 1989) bu bölgedeki fungal popülasyonlar en yüksek mitokondriyal çeşitliliği sergilemiş ve nükleer genomda en yüksek çeşitliliğe sahip olmuştur (Zhan vd., 2003).

Ayrıca *M. graminicola* ve onun yabancı akrabaları arasında paylaşılan DNA dizilerinin kaynaşması, son ortak atalarının yaklaşık 10 bin yıl önce ortaya çıktığını göstermiştir (Stukenbrock vd., 2011). Dolayısıyla konukçusu olan *Cicer* cinslerine spesifik olan *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in (Haware ve Nene, 1982b) atalarının, nohutun orijin bölgesi olan (Ladizinsky ve Adler, 1976b; Van der Maesen, 1987; Singh, 1997) ve *Cicer* cinsinin dörtte birini bulunduran (Davis, 1973; Van der Maesen, 1987) Türkiye'den yayıldığı söylenebilir. Bu durum ise Akdeniz Bölgesi'nde yayılış gösteren sararma ırklarının (Jiménez-Gasco vd., 2004a; Demers vd., 2014) ülkemizde de yayılışa sahip olması (Bayraktar ve Dolar, 2012) ve bu ırkların diğer ırkların atası olabileceği (Jiménez-Gasco vd., 2004a; Demers vd., 2014) varsayımı ile desteklenmektedir.

Bu hipotezin doğrulanması için bu çalışma ile ülkemizin *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* popülasyonu üzerinde daha ileri fungal filogenetik ve moleküler analizlerin yapılması gerektiği düşünülmektedir. Çünkü konukçu-patojen evrimsel etkileşimlerinin anlaşılmasındaki ilerlemelerin konukçu dayanıklılığı ve patojen virülensliğinin temel moleküler bilgisi ile bu özellikleri kontrol eden genlerdeki polimorfizmin doğada hastalığı nasıl etkilediğine dair yapılan çalışmalarla bütünleştirilmesi gerekmektedir (Burdon ve Thrall, 2009).

Sonuç olarak Güneydoğu Anadolu'dan başlamak üzere tüm dünya geneline yayılan nohut bitkisi ile vasküler solgunluk ve sararma septomlarını indükleyen kök patojeni *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in evrimleşme sürecini birlikte geçirdiği söylenebilir.

Türkiye’de vasküler solgunluk semptomlarının oluşumunu sağlayarak nohut verimliliğini sınırlandıran *Fusarium* solgunluk ve sararma hastalığının uygun yönetimi için hızlı ve doğru tanımlanan fungal etmenin patojenik çeşitliliğinin de belirlenmesi gerekmektedir. Bu amaçla gerçekleştiren çalışmada virülenslik deneyleri ve VCG analizleri ile Türkiye orijinli *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*’in patojenik karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Jiménez-Fernández vd. (2011a) tarafından geliştirilen *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*’e spesifik FOCP1 primer seti kullanılarak fitopatojen popülasyonu belirlenmeye çalışılmış ancak çeşitli optimizasyonlar yapılmasına rağmen tüm izolatlarda amplifikasyon sağlanamamıştır. *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ve *radicis-lycopersici* izolatlarını belirleyen uni primer seti tüm *conglutinans* ve *tulipae* izolatlarında, iki *dianthi* ve *melonis* izolatından birinde ve altı patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatlarının ikisinde yaklaşık 670 bp büyüklüğünde ampikon üretmiştir. Bu primer seti testlenen *F. oxysporum* f. sp. *colocasiae*, *cucumerinum*, *fragariae*, *lactucae*, *lagenariae*, *melongenae*, *niveum*, *raphani*, *phaseoli*, *spinaciae* ve *tracheiphilum* izolatlarında ise herhangi bir amplifikasyon sağlamamıştır (Hirano ve Arie, 2006). Bu çalışmada ise sadece FDÇ6/15 izolatında (Diyarbakır/Çermik) 670 bp büyüklüğünde ampikon oluşturan bu uni primer seti, *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*’te de başarılı sonuçlar vermemiştir (Şekil 4.23). Ayrıca FOF1 ve FOR1 spesifik primerleri kullanılarak testlenen 447 izolatın 334’ünün *Fusarium oxysporum* olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.14 ve 4.15). Bu durum bitki patojenlerinde formae speciales belirlenmesinde markır temelli PCR çalışmalarına ek olarak klasik patojenisite testlerinin de yapılması gerektiğini göstermiştir. Çünkü virülenslik testleri ile nohutun patojenik *F. oxysporum* popülasyonu belirlenebilmiştir. Dolayısıyla bu çalışmada geleneksel ve moleküler yöntemlerin eksik ve birbirini tamamlayıcı yönleri saptanmış olmakla birlikte nohutta *Fusarium* solgunluk ve sararma hastalığının nedensel ajanının patojenik çeşitliliği konusunda sağlam bilgiler rapor edilmiştir.

Türkiye orijinli *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*’in patojenik çeşitliliğinin belirlenmesinin yanı sıra etmenin fizyolojik ırklarının da tespit edilmesi gerekmektedir. Barve vd. (2001), tüm dünyada farklı ırkların yaygınlığının belirlenmesinin bu patojenin ırklarına karşı dayanıklılık kazandırma stratejilerini tasarlanmasını sağlayacağını önermişlerdir.

Jiménez-Gasco vd. (2004b), seksüel aşamasının yokluğundan dolayı *F. oxysporum*'daki ırk-çeşit spesifitesinin genetik mekanizmaları tam olarak bilinmediğinden hastalık dayanıklılığı ve mevcut dayanıklı çeşitlerin verimli kullanımı için patojenik ırkların tanımlanmasının önem arz ettiğini bildirmişlerdir.

Genellikle seçilen konukçu genotipleri ile virülenslik özelliğine dayalı patojenik ırkların tanımlanması, zaman alıcı (40-60 gün) işlemler olup kapsamlı tesisler gerektirmekte ve deney sistemine özgü değişkenlerden etkilenebilmektedir. Yalnızca patojenisite verileri patojenik izolatları arasındaki genetik çeşitlilik hakkında bilgi verememektedir (Kashyap vd., 2016). Irk ayırıcı setlerin bir kısmı ara reaksiyonlar göstermektedir (Sharma vd., 2005). Patojenisite testleri bazı araştırmacılar tarafından önerilmemesine rağmen (Alcala-Jiménez vd., 1992; Bhatti ve Kraft, 1992a; 1992b) ırklar arasındaki genetik ilişki hakkında sonuçların yorumlanmasında kullanılabilmektedir (Jiménez-Gasco vd., 2001). Delesyonlar, duplikasyonlar, inversiyonlar ve karşılıklı translokasyonlar gibi kromozomal düzenlemeleri indükleyebilen transpozonlar, *F. oxysporum* izolatlarının patojenitesini etkileyebilmektedir (Davière vd., 2001; Hannachi vd., 2016). Birçok hayvan, bitki ve fungal sistemde etkili bir şekilde çalışan DNA markır teknolojisi (Weising vd., 1991) virülenslik testlerinin neden olduğu sınırlamaları aşarak fungal karakterizasyonun (Ouellett ve Seifert, 1993) ve ırk kavramına sahip funguslarda, ırklar arasındaki genetik ilişkilerin analizini sağlayabilmektedir (Hong vd., 1996; Woo vd., 1996). Bu nedenlerden dolayı *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in genetik varyasyonunun araştırılmasında RAPD, RFLP, AFLP, ISSR ve SSR gibi bazı moleküler markırlar kullanılmıştır (Kelly vd., 1994; Barve vd., 2001; Jiménez-Gasco vd., 2001; Sivaramakrishnan vd., 2002; Jiménez-Gasco ve Jiménez-Díaz, 2003; Honnareddy ve Dubey, 2006; Dubey ve Singh, 2008; Sharma vd., 2009; Durai vd., 2012).

Ayrıca ırkla ilişkilendirilen moleküler markırlar izolatların tanımlanmasında, hastalığın demografik özelliklerinin izlenmesinde veya evrimsel ilişkilerin araştırılmasında yararlı olabilmektedir (Elias vd., 1993). Moleküler markırlardaki yüksek DNA polimorfizm seviyelerinin belirlenmesi ile nohut yetiştiriciliği yapılan alanlarındaki patojenin yeni rekombinantlarının hızlı değişimi gözlemlenebilmektedir (Sivaramakrishnan vd., 2002).

Birçok lokasyondan çok sayıda izolat ile gerçekleştirilen bu çalışmalara ek olarak, güncel *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* popülasyonu ile Türkiye'nin ırk kompozisyonunun çıkarılarak etmenin genetik çeşitliliğinin değerlendirilmelidir. Çünkü Montakhabi vd. (2018), moleküler tanı araçları ve tüm genom sekansı ile analiz edilebilen *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatları arasında gözlenen yüksek genetik çeşitliliğin patojenin çevresel değişikliklere uyumu açısından önemli olduğunu belirtmişlerdir. Bu değişiklikler virülensliği yüksek olan patojenin bir üründe geliştirilmiş yeni bir dayanıklılık geninin üstesinden gelmesi veya bitki koruma ajanlarına karşı gösterdiği reaksiyonları içermektedir (Mehrabi vd., 2011). Virülensliği kontrol eden genlerin tanımlanmasının *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ırklarının nasıl geliştiğine dair ipuçları sağlayacağı belirtilmiştir. Ancak gözlenen genotipik farklılıkların az olmasının patojendeki yeni ırkların kritik nokta mutasyonları nedeniyle ortaya çıkabileceğini ileri sürdüğünü göstermektedir (Demers vd., 2014).

F. oxysporum f. sp. *ciceris*'in neden olduğu hastalığa karşı dayanıklılık genlerini geliştirmek ve paraseksüel rekombinasyon yoluyla çoğaldığı için genetik çeşitliliği olan bu fungal etmende bu genlerin etkin kullanımını sağlamak amacıyla fungusun mevcut ırklarının belirlenmesinin yanı sıra güncel genetik ve patojenik karakterizasyon verilerine ihtiyaç duyulmaktadır. Kashyap vd. (2016)'ne göre patojenin hızlı ve bilgilendirici karakterizasyonu için gelişmiş yöntemlerin kullanılması gerekmektedir. Gurjar vd. (2009) ise *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in genetik çeşitlilik bilgisinin dayanıklı nohut çeşitlerinin gelişimi ve karantina önlemlerinin alınması için önemli olduğu belirtmişlerdir.

BÖLÜM VI

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasının sunduğu veriler, Türkiye'deki nohut tarımının en önemli problemlerinden birinin *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in neden olduğu solgunluk ve sararma hastalığı olduğunu göstermiştir. Patojen bitkinin vasküler sistemini enfekte ederek bitkiye zarar vermekte ve ürün verimliliğini ciddi olarak olumsuz yönde etkilemektedir. Hastalık etmeninin patojenik çeşitliliğinin belirlenmesi, toprak kökenli bu fungal patojenik hastalığa karşı alınması gereken tedbirlerin ve çeşitli mücadele tekniklerinin geliştirilmesi açısından önem arz etmektedir. Bu çalışmada Türkiye'nin nohut yetiştiriciliği yapılan tarımsal alanlarında gerçekleştirilen survey çalışmaları ile hastalığın mevcut durumunu belirten hastalık şiddeti, insidansı ve yaygınlığı belirlenmiştir. Daha sonra çeşitli epidemiyolojik ve bitkiye ait parametreler ile hastalık şiddeti karşılaştırılmış ve analiz edilmiştir. Survey çalışmaları esnasında solgunluk ve sararma semptomları gösteren nohut bitkilerinden örneklemeler yapılarak fungal patojen izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen izolatların patojenisiteleri hastalığa hassas bir nohut çeşidi olan ILC482 ile testlenerek *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* popülasyonu ile bu popülasyondaki izolatların virülenslik düzeyleri belirlenmiştir. Ayrıca fenotipik markır olarak kullanılabilen ve *F. oxysporum*'un çeşitliliğini değerlendiren vejetatif uyumluluk çalışmaları ile fungusun popülasyon yapısı hakkında önemli bilgiler elde edilmiştir. Bu tez çalışmasında tarla gözlemleri, patojenisite ve VCG testlerini kapsayan prosedürler uygulanarak *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* popülasyonunda güvenilir ve etkili bir tarama imkânı sağlanmış ve böylece fungusun patojenik çeşitliliğinin doğası ortaya konulmuştur. Elde edilen sonuçlar aşağıda sunulmuştur:

1. Survey çalışmaları sırasında gözlem yapılan nohut tarlalarında solgunluk ve sararma semptomlarına sahip bitkilerden %57,37 oranında *F. oxysporum* izolasyonları gerçekleştirilmiş ve 880 izolat elde edilmiştir.

Tarla gözlemi yapılan 423 tarlanın 47'sinde solgunluk ve 181'inde sararma semptomları gözlemlenmiştir. Tarlada fungus hem semptomatik hem de virülenslik bakımından farklılık göstermiştir.

Ancak patojenisite çalışmalarında solgunluk ve sararma grupları aynı semptomatik gelişim göstermesine karşılık izolatların virülenslik düzeyleri tarladakiyle paralellik göstermiştir. Gözlemlenen nohut tarlalarında düşük virulent sararma tipi, yüksek virulent solgunluk tipine göre daha yaygın olarak bulunmakta ve her iki tip de ürün verimini düşürerek ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

2. Türkiye'de toplam 10.837 dekarlık alanı temsil eden 423 nohut tarlasında gözlem yapılmış ve bu alanın 5.249 dekarlık kısmını oluşturan 228 tarlanın *Fusarium* solgunluk ve sararma hastalığından etkilendiği belirlenmiştir. Sararma semptomları 4.528 dekar alanda 181 tarlada; solgunluk semptomları ise 721 dekar alanda 47 tarlada tespit edilmiştir. Solgunluk izolatlarının ortalama DSI %49,43 iken sararma izolatlarının ortalama %29,39 olarak belirlenmiştir. Solgunluk semptomlarının gözlemlendiği İç Anadolu ve Akdeniz Bölgeleri'ne ait izolatlar sırasıyla en yüksek DSI değerlerine (%81,96 ve %66,39) sahip olmuştur. Akdeniz Bölgesi'nde 1.632 dekarlık alanda toplam 99 tarlada gözlem yapılmış ve tarlaların 35'inde *Fusarium* solgunluğu ve 29'unda *Fusarium* sararma hastalığı tespit edilmiştir. %64,65 ortalama hastalık yaygınlığı ile bu bölge hastalığın en yaygın olarak görüldüğü coğrafi bölgedir.

3. Virülenslik çalışmalarında 151 solgunluk ve 291 sararma izolatu olmak üzere toplam 442 izolat kullanılmıştır. 149 solgunluk ve 264 sararma izolatının (toplam 416 izolat) *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* olduğu belirlenmiştir. İzolatların ortalama DSI %36,57 olarak hesaplanmıştır.

4. Solgunluk grubundan 67, sararmadan 54 ve patojenik olmayan 6 adet *F. oxysporum* izolatu VCG çalışmalarına tabi tutulmuştur. VCG tiplemesinde kullanılan toplam 127 izolattan 376 *nit* mutanti elde edilmiştir. Sodyum nitrit ve hipoksantin içeren minimal besiyerlerinde gerçekleştirilen fenotipleme çalışmalarında mutantların %67'si *nit1*, %5'i *nit3* ve %28'i NitM olarak fenotiplenmiştir. En fazla mutant 99 *nit* mutanti ile ve en fazla NitM de yine 33 NitM mutanti ile Mersin ili izolatlarından elde edilmiştir.

F. oxysporum f. sp. *ciceris*'ten 121 izolat ve patojenik olmayan *F. oxysporum*'dan 6 izolattan 112 *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatu ve 3 *F. oxysporum* izolatu aynı vejetatif uyum grubunda yer alarak tek VCG'de sınıflandırılmıştır. Bu çalışma ile ülkemizin nohut tarlalarında solgunluk ve sararma semptomlarını indükleyerek ürün kaybına neden olan *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ve patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatları ülkemizde ilk kez tek VCG'de sınıflandırılmıştır. Ayrıca nohut bitkisinin iletim demetlerinden izole edilen patojenik olmayan *F. oxysporum* ise ilk VCG tiplemesine tabi tutularak patojenik izolatlarla aynı uyum grubuna dâhil olmuştur.

Sadece dünyada değil aynı zamanda ülkemizde de geniş bir coğrafi dağılıma sahip olan bu fungal etmenin virülensliği Türkiye'nin coğrafi bölgeleri, illeri, ilçeleri ve bu lokasyonlara bağlı tarlalarda dahi değişkenlik göstermektedir. Bu durum etmenin çevresel faktörlerle ilişkili olarak değişen çeşitli iklimsel koşullara adaptasyon sağlamasıyla ve konukçusu olan nohut bitkilerinin dayanıklılık mekanizmalarının üstesinden gelerek varlığını devam ettirme çabasıyla ilişkilidir. Heterokaryon uyumluluğu bakımından da tek grupta toplanan bu fitopatojen popülasyonundaki izolatlar Katan ve Katan (1999) tarafından bildirildiği gibi benzer genetik yapıyı paylaşmakta ve bundan dolayı fungusun tek bir noktadan orijinlenmiş olabileceği hipotezi benimsenmektedir.

Bu çalışmada *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in patojenik olmayan izolatlarla da anastomoz yapabilme kabiliyeti bu fungusun patojenik olmayan türleriyle sağladığı etkileşimin fizyolojik ve genetik bağlantısının ne düzeyde olduğunun sorgulanmasına yol açmıştır. Aseksüel bir fungus olan *F. oxysporum*'da farklı izolatlar arasında genetik bilgi alışverişi sınırlı olduğundan bu izolatlar arasındaki genetik uyumluluk sadece aynı VCG'de meydana gelebilmektedir (Van der Does vd., 2008).

Evrimsel süreç boyunca funguslar beslenme gereksinimlerini diğer organizmalarla simbiyotik veya patojenik ilişki içerisinde bulunarak karşılamışlardır (Kang ve Dobinson, 2004). Çeşitli besin maddelerini kullanabilen patojenik ve patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatları, bitkilerin rizosferini kolonize edebilmektedir (Garrett, 1970). Bu nedenle bitkilerde *F. oxysporum*'un saptanması mutlaka bir patojenik saldırı olduğunu göstermemektedir. Örneğin, patojenik ve patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatlarının domates kökü penetrasyonu oldukça benzer olup farklılıklar ancak kantitatif olarak belirlenmiştir (Olivain ve Alabouvette, 1999).

Keten bitkileri, korteksinde bariyerler oluşturarak patojenik olmayan *F. oxysporum* istilasını durdurabilirken patojenik izolatlar konukçusunun savunma sisteminden kaçabilmektedir (Olivain vd., 2003). Ancak hassas bir konukçunun köklerine veya vasküler sistemine yakın olan patojenik olmayan bir izolatın virülensliğinde mutasyonlar nedeniyle fungus epidemik potansiyel kazanabilmektedir (Yadeta ve Thomma, 2013).

Yeni ırkların ortaya çıkmasını veya mevcut ırkların daha virulent bir ırka dönüşmesini sağlayan *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in virülensliğini değiştiren başka mutasyonlar da gerçekleşebilir. Bu nedenlerden dolayı bu çalışmanın sunduğu veriler çerçevesinde, elde edilen *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatları ile daha ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Söz konusu besin bakımından değerli bu yemeklik tane baklagilin verimliliği olduğundan patojenik olmayan fungal türlerin patojenik olabilme kabiliyeti veya çok düşük virulent izolatların agresifleşme potansiyelinin araştırılması gerekmektedir.

Bu tez çalışmasından elde edilen bulgular ve sunulan sonuçlar ışığında;

1. Türkiye'nin *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* popülasyonun bölgeler ve iller bazında haritalandırılması için sistematik bir ırk araştırması yapılması gerekmektedir. Bu tez çalışmasında gerçekleştirilen patojenisite testleri, *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ırklarının karakterizasyonu için temel bir niteliğe sahip olduğundan patojenisite ve spesifik moleküler markır analizlerinin virülenslik ile coğrafi orijin arasındaki ilişkinin ortaya konmasını sağlayabileceği düşünülmektedir. Çünkü her ırkın virülenslik seviyesi farklı olduğundan ve genetik temeli gen-için-gen modeline göre işlediğinden ırka yönelik ıslah çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

Ayrıca ülkemizin ırk kompozisyonunun belirlenmesi konukçu dayanıklılığının üstesinden gelebilecek yeni ırklar gelişebilmesinden dolayı da önemlidir. Bu tez çalışmasının sunduğu bilgi ve bulgular farklı ırklara karşı dayanıklılık kaynaklarının tanımlanmasını ve dayanıklılığı sağlayan genlerin belirlenmesine ışık tutacağından hastalığa dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesine yol gösterecektir.

2. Türkiye’de nohut yetiştiriciliği yapılan tarımsal arazilerde *Fusarium solgunluk* ve sararma hastalığının mevcut durumunun belirlenmesi amacıyla sistematik hastalık surveyleri gerçekleştirilmiştir. Bu doğrultuda yürütülen tarla gözlemleri ve laboratuvar araştırmaları, söz konusu fungal etmene yönelik bir tarama çalışması olması itibarıyla önem arz etmekte ve bundan sonraki detaylı araştırma ve testlere zemin hazırlayacağı düşünülmektedir. *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*’in genetik çeşitliliğinin de belirlenmesi, hastalık dayanıklılığı için biyoteknolojik ıslah konusunda yapılacak araştırmaları yönlendirecektir.

3. Toprak sadece konukçu ürün bitkisi için değil aynı zamanda toprak kökenli patojenler için uygun koşulları teşkil edebildiğinden nohut tarımı yapılan veya yapılması planlanan tarımsal alanlarda hastalığı önleyebilmek veya kontrol altına alabilmek amacıyla toprağın biyofiziksel ve biyokimyasal parametreleri ile rizosferdeki biyolojik canlı popülasyonlarının birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir.

Böylece ülkemiz topraklarında aktivitesini arttıran bu fungal hastalık etmeninin daha detaylı epidemiyolojik ve biyolojik analizi gerçekleştirilmiş olacaktır. Tedbir niteliğinde oluşturulan hastalık risk tahminlerinin epidemi oluşumunu engelleyebileceği öngörülmektedir. Ayrıca Postic vd. (2012) tarafından bildirilene göre tarlada bir önceki üründen kalan bitki kalıntıları fitopatojenler için potansiyel epidemiler bakımından bir rezervuar görevi görebildiğinden patojen toplulukların varlığına ve çoğalmasına destek olmaktadır. Bu nedenle tarladaki fungal kontaminant organik kalıntıların tarladan uzaklaştırılması ve başarılı bir şekilde bertaraf edilmesi gerekmektedir. Böylece patojenlerin çoğalma yapılarının aktivasyonunun sınırlandırılmış veya önlenmiş olabileceği düşünülmektedir. Bu temel bilgileri göz önünde bulunduran bitki ıslahçıları biyocoğrafik olarak dayanıklı çeşit geliştirme çalışmalarına ivme kazandıracaklardır.

KAYNAKLAR

- Aanen, D. K., Debets, A. J. M., Glass, N. L., Saupe, S. J. (2010). Biology and genetics of vegetative incompatibility in fungi. In: Cellular and molecular biology of filamentous fungi. Ebbole, D., Momany, M., Borkovich, K. A. (Eds.). Washington DC: American Society of Microbiology Press. pp. 274-288.
- Abbo, S., Berger, J., Turner, N. C. (2003). Evolution of cultivated chickpea: four bottlenecks limit diversity and constraint adaptation. *Functional Plant Biology*. **30**, 1081-1087.
- Abbo, S., Lev-Yadun, S., Gopher A. (2012). Plant domestication and crop evolution in the Near East: On Events and Processes. *Critical Reviews in Plant Sciences*. **31**, 241-257.
- Abbo, S., Molina, C., Jungmann, R., Grusak, A., Berkovitch, Z., Reifen, R., Kahl, G., Winter, P. (2005). Quantitative trait loci governing carotenoid concentration and weight in seeds of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. **111**, 185-195.
- Abbo, S., Redden, R. J., Yadav, S. S. (2007). Utilisation of wild relatives. In: Yadav, S. S., Redden, R., Chen, W., Sharma, B. (Eds.). Chickpea breeding and management. Wallingford: CAB International. pp. 338-354.
- Abbo, S., Shtienberg, D., Lichtenzweig, J., Lev-Yadun, S., Gopher, A. (2003). The chickpea, summer cropping, and a new model for pulse domestication in the ancient Near East. *Quarterly Review of Biology*. **78**, 435-448.
- Abou-Zeid, N. M., Halila, H., Khalil, M. S. (2002). Characterization by RAPD-PCR of races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* infecting chickpea. *Plant Protection Science*. **38(2)**, 297-301.

Abraham, A. D., Menzel, W., Lesemann, D. E., Varrelmann, M., Vetten, H. H. (2006). Chickpea chlorotic stunt virus: A new Polerovirus infecting cool-season food legumes in Ethiopia. *Phytopathology*. **96**, 437-446.

Abraham, A. D., Menzel, W., Varrelmann, M., Vetten, H. J. (2009). Molecular, serological and biological variation among chickpea chlorotic stunt virus isolates from five countries of North Africa and West Asia. *Archives of Virology*. **154**(5), 791-799.

Açık, L. (2002). Populasyon genetiği. In: Genetik kavramlar. Öner, C., Klug, W. S., Clumming, M. R. (Eds.). Ankara: Palme Yayıncılık. pp. 683-711.

Adams, G., Johnson, N., Leslie, J. F., Hart, L. P. (1987). Heterokaryons of *Gibberella zeae* formed following hyphal anastomosis or protoplast fusion. *Experimental Mycology*. **11**, 339-353.

Afouda, L., Wolf, G., Wydra, K. (2009). Development of a sensitive serological method for specific detection of latent infection of *Macrophomina phaseolina* in cowpea. *Journal of Phytopathology*. **157**, 15-23.

Aghakhani, M., Dubey, S. C. (2009). Determination of genetic diversity among Indian isolates of *Rhizoctonia bataticola* causing dry root rot of chickpea. *Antonie van Leeuwenhoek*. **96**(4), 607-619.

Agrios, G. N. (2005). Environmental effects on development of the infectious disease. In: Plant pathology. 5th edition. USA: Elsevier Academic Press. pp. 251-262.

Ahmad, F., Gaur, P. M., Croser, J. (2005). Chickpea (*Cicer arietinum* L.). In: Genetic resources, chromosome engineering and crop improvement. Singh, R. J., Jauhar, P. P. (Eds.). Grain legumes: Vol. 1. Boca Raton: CRC Press. pp. 187-217.

Ahmad, M. A. (2010). Variability in *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* for chickpea wilt resistance in Pakistan. Doctor of Philosophy in Microbiology, Department of Microbiology Faculty of Biological Sciences, Quaid-i-Azam University, Islamabad, Pakistan.

Ahmed, A. U., Zaman, S., Mazid, M. A., Rahman, M. M., Sarkar, M. M. R., Arbia, L., Ud-deen, M. M., Kabir, G. (2014). Studies of *Botrytis cinerea* causing botrytis gray mold disease in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Bio-Science*. **22**, 69-76.

Ahn, I. P., Chung, H. S., Lee, Y. H. (1998). Vegetative compatibility groups and pathogenicity among isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Plant Disease*. **82**, 244-246.

Ahn, I. P., Lee, Y. H. (2000). Vegetative compatibility groups and pathogenicity variation among isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Plant Pathology Journal*. **16**, 227-230.

Aimé, S., Alabouvette, C., Steinberg, C., Olivain, C. (2013). The endophytic strain *Fusarium oxysporum* Fo47: a good candidate for priming the defense responses in tomato roots. *Molecular Plant Microbe Interaction*. **26**, 918-926.

Ait Yahia, A., Ait Ouada, M., Illoul, H., Tair, M. I. (1997). First occurrence of bean yellow mosaic potyvirus on chickpea in Algeria. *EPPO Bulletin*. **27**(2-3), 261-263.

Akçin, A. (1988). Yemeklik Tane Baklagiller. Konya: Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. p. 377.

Akhter, A., Hage-Ahmed, K., Soja, G., Steinkellner, S. (2016). Potential of *Fusarium* wilt-inducing chlamydospores, in vitro behaviour in root exudates and physiology of tomato in biochar and compost amended soil. *Plant and Soil*. **406**(1-2), 425-440.

Akibode, S., Maredia, M. (2011). Global and regional trends in production, trade and consumption of food legume crops. PIA: Michigan State University, Department of Agricultural Fare. p. 89.

Alabouvette, C., Olivain, C., Migheli, Q., Steinberg, C. (2009). Microbiological control of soil-borne phytopathogenic fungi with special emphasis on wilt-inducing *Fusarium oxysporum*. *New Phytologist*. **184**, 529-544.

- Alcala-Jiménez, A. R., Trapero-Casas, J. L., Jiménez-Díaz, R. M. (1992). Influencia de la densidad de inoculo en la infección de garbanzo por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. In: Resúmenes, VI Congreso Latino-Americano de Fitopatología, p. 39.
- Ali, M., Kumar, S. (2001). An overview of chickpea research in India. *Indian Journal of Pulse Research*. **14**(2), 81-89.
- Allmaras, R. R., Kraft, J. M., Miller, D. E. (1988). Effects of soil compaction and incorporated crop residue on root health. *Annual Review of Phytopathology*. **26**, 219-243.
- Alloosh, M., Hamwieh, A., Ahmed, S., Alkai, B. (2019). Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* isolates affecting chickpea in Syria. *Crop Protection*. **124**, 104863.
- Al-Taae, A. K., Hadwan, H. A., Al-Jobory, S. A. E. (2013). Physiological races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in Iraq. *Journal of Life Sciences*. **7**, 1070-1075.
- Altinok, H. H. (2013). *Fusarium* species isolated from common weeds in eggplant fields and symptomless hosts of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* in Turkey. *Journal of Phytopathology*. **161**(5), 335-340.
- Altinok, H. H., Can, C. (2010). Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* isolates from eggplant in Turkey by pathogenicity, VCG and RAPD analysis. *Phytoparasitica*. **38**(2), 149-157.
- Amaral, D. O. J., Almeida, C. M. A., Malafaia, C. B., Silva, M. L. R. B., Correia, M. T. S., Lima, V. L. M., Silva, M. V. (2013). Identification of races 1, 2 and 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by molecular markers. *African Journal of Microbiology Research*. **7**(20), 2324-2331.
- Anagnostakis, S. L. (1982). Genetic analyses of *Endothia parasitica*: Linkage data for four single genes and three vegetative compatibility types. *Genetics*. **102**, 25-28.
- Anagnostakis, S. L. (1987). Chestnut blight: The classical problem of an introduced pathogen. *Mycologia*. **79**, 23-27.

Armstrong, G. M., Armstrong, J. K. (1981). *Formae speciales and races of Fusarium oxysporum causing wilt diseases*. In: *Fusarium: Disease, biology and taxonomy*. Nelson, P. E., Toussoun, T. A., Cook, R. J. (Eds.). University Park, PA, USA; State University Press, pp. 391-399.

Artès, E. P., Tena, M. (1990). Purification and characterization of pectic enzymes from two races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* differing in virulence to chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Physiological and Molecular Plant Pathology*. **37**(2), 107-124.

Arumuganathan, K., Earle E. D. (1991). Estimation of nuclear DNA content of plants by flow cytometry. *Plant Molecular Biology Reporter*. **9**, 221–231.

Arvayo-Ortiz, R. M., Esqueda, M., Acedo-Felix, E., Sanchez, A., Gutierrez, A. (2011). Morphological variability and races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* associated with chickpea (*Cicer arietinum*) crops. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. **6**(1), 114-121.

Asaad, N. Y., Kumari, S. G., Haj-Kassem, A. A., Shalaby, A. B. A., Al-Shaabi, S., Malhotra, R. S. (2009). Detection and characterization of chickpea chlorotic stunt virus in Syria. *Journal of Phytopathology*. **157**(11-12), 756-761.

Assigbetse, K. B., Fernandez, D., Dubois, M. P., Geiger, J. P. (1994). Differentiation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* races on cotton by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Phytopathology*. **84**, 622-626.

Åström, B., Gerhardson, B. (1988). Differential reactions of wheat and pea genotypes to root inoculation with growth-affecting rhizosphere bacteria. *Plant and Soil*. **109**(2), 263-269.

Auld, D. L., Lee, C. A. (1981). Chickpeas: A potential new pulse for northern Idaho. Idaho Agricultural Experiment Station Current Information Series. **570**, 1-4.

Azevedo, D. M., Rocha, F. S., Costa, C. A., Pfenning, L. H., Da Costa, S. S., Melo, M. P., Silva, J. G., Maria de Fátima, G. F. (2017). Etiology of root rot and wilt disease of chickpea in Brazil. *Tropical Plant Pathology*. **42**(4), 273-283.

Baayen, R. P., Foerch, M. G., Waalwijk, C., Bonants, P. J., Leeffler, H. J. M., Roebroek, E. J. A. (1998). Pathogenic, genetic and molecular characterization of *F. oxysporum* f. sp. *lilii*. *European Journal of Plant Pathology*. **104**, 887-894.

Baayen, R. P., Kleijn, J. (1989). The Elegans Fusaria causing wilt disease of carnation. II. Distinction of vegetative compatibility groups. *Netherlands Journal of Plant Pathology*. **95**, 185-194.

Baayen, R. P., O'Donnell, K., Bonants, P. J. M., Cigelnik, E., Kroon, L. P. N. M., Roebroek, E. J. A., Waalwijk, C. (2000). Gene genealogies and AFLP analyses in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and nonmonophyletic formae speciales causing wilt and rot disease. *Phytopathology*. **90**, 891-900.

Backhouse, D., Burgess, L. W. (1995). Mycogeography of *Fusarium*: Climatic analysis of the distribution within Australia of *Fusarium* species in section *Gibbosum*. *Mycological Research*. **99**, 1218-1224.

Backman, P. A., Turner, J. T. (1989). Plant response and disease control following seed inoculation with *Bacillus subtilis*, *Proceedings belt wide cotton products research conference*. National Cotton Council of American, Memphis, 16-17.

Baixia, Z., Zenggui, G., Jinghua, Z. (2009). Diversity analysis of *Fusarium* species from greenhouse soils of melon crops with UP-PCR. *ChinaVegetables*. **10**, 46-50.

Baker, B., Zambryski, P., Staskawicz, B., Dinesh-Kumar, S.P. (1997). Signaling in plant-microbe interactions. *Science*. **276**, 726-733.

Bakr, M. A., Rahman, M. L., Ahmed, A. U. (2002). Manifestation of Botrytis grey mould in chickpea in Bangladesh. In: Integrated management of Botrytis grey mould of chickpea in Bangladesh and Australia. Bakr, M. A., Siddique, K. H. M., Johansen, C. (Eds.). Joydebour: Bangladesh Research Institute. pp. 63-69.

Balesdent, M. H., Fudal, I., Ollivier, B., Bally, P., Grandaubert, J., Eber, F., Chèvre, A-M., Leflon, M., Rouxel, T. (2013). The dispensable chromosome of *Leptosphaeria maculans* shelters an effector gene conferring avirulence towards *Brassica rapa*. *New Phytologist*. **198**(3), 887-898.

Balmas, V., Migheli, Q., Scherm, B., Garau, P., O'Donnell, K., Ceccherelli, G., Kang, S., Geiser, D. M. (2010). Multilocus phylogenetics show high levels of endemic fusaria inhabiting Sardinian soils (Tyrrhenian Islands). *Mycologia*. **102**, 803-812.

Bananej, K., Vahdat, A., Menzel, W., Vetten, H. J. (2010). Serological and molecular identification of chickpea chlorotic stunt virus from chickpea in Iran. *Plant Disease*. **94**, 788.

Bandyopadhyay, R., Mwangi, M., Aigbe, O. S., Leslie, J. F. (2006). *Fusarium* species from the cassava root rot complex in West Africa. *Phytopathology*. **96**, 673-676.

Barhate, B. G., Dake, G. N., Game, B C., Padule, D. N. (2006). Variability for virulence in *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* causing wilt of chickpea. *Legume Research*. **29**(4), 308-310.

Barrow, J. R., Lucero, M. E., Reyes-Vera, I., Havstad, K. M. (2008). Do symbiotic microbes have a role in plant evolution, performance and response to stress? *Communicative Integrative Biology*. **1**, 1-5.

Barve, M. P. (2003). Insight into genomic architecture of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* and *Ascochyta rabiei*, the two major fungal pathogens of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Doctor of Philosophy in Biotechnology, Plant Molecular Biology Unit, Division of Biochemical Sciences, National Chemical Laboratory, University of Pune, India.

Barve, M. P., Haware, M. P., Sainani, M. N., Ranjekar, P. K., Gupta, V. S. (2001). Potential of microsatellites to distinguish four races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* prevalent in India. *Theoretical and Applied Genetics*. **102**, 138-147.

Bayraktar, H., Dolar, F. S. (2009). Genetic diversity of wilt and root rot pathogens of chickpea as assessed by RAPD and ISSR. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. **33**, 1-10.

- Bayraktar, H., Dolar, F. S. (2012). Pathogenic variability of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* isolates from chickpea in Turkey. *Pakistan Journal of Botany*. **44**(2), 821-823.
- Bayraktar, H., Dolar, F. S., Maden, S. (2008). Use of RAPD and ISSR markers in detection of genetic variation and population structure among *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* isolates on chickpea in Turkey. *Journal of Phytopathology*. **156**, 146-154.
- Bayraktar, H., Turkkan, M., Dolar, F. S. (2010). Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* from onion in Turkey based on vegetative compatibility and rDNA RFLP analysis. *Journal of Phytopathology*. **158**, 691-697.
- Beck, D. P., Wery, J., Saxena, M. C., Ayadi, A. (1991). Dinitrogen fixation and nitrogen balance in cool-season food legumes. *Agronomy Journal*. **83**, 334-341.
- Beckman, C. H. (1987). The nature of wilt diseases of plants. St. Paul. MN. USA: APS Press. pp. 175.
- Bejiga, G., Anbessa, Y. (1994). Breeding chickpea for resistance to drought, *International Symposium on Pulse Research*. 2-6 April. New Delhi, India, pp. 145-146.
- Belabid, L., Fortas, Z. (2002). Virulence and vegetative compatibility of Algerian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. *Phytopathologia Mediterranea*. **41**(3), 179-187.
- Benson, D. (1994). Inoculum. In: Epidemiology and management of root diseases, Berlin, Heidelberg: Springer. pp. 1-33.
- Bentley, S., Pegg, K. G., Dale, J. L. (1994). Optimization of RAPD-PCR fingerprinting to analyse genetic variation within populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Journal of Phytopathology*. **142**, 64-78.
- Bentley, S., Pegg, K. G., Dale, J. L. (1995). Genetic variation among a worldwide collection of isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* analyzed by RAPD-PCR fingerprinting. *Mycological Research*. **99**, 1378-1384.

- Bentley, S., Pegg, K. G., Moore, N. Y., Davis, R. D., Buddenhagen, I. W. (1998). Genetic variation among vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* analyzed by DNA fingerprinting. *Phytopathology*. **88**, 1283-1293.
- Ben-Yephet, Y., Reuven, M., Zveibil, A., Shtienberg, D. (1996). Effects of abiotic variables on the response of carnation cultivars to *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Plant Pathology*. **45**, 98-105.
- Berger, J. D. (2013). An evolutionary perspective on the role of phenology in the specific adaptation of chickpea. *Legume Perspectives*. **4**.
- Berger, J. D., Turner, N. C. (2007). The ecology of chickpea. In: Chickpea breeding and management. Yadav, S. S., Redden, R. J., Chen, W., Sharma, B. (Eds.). Wallingford: CABI. pp. 47-71.
- Bhar, A., Chatterjee, M., Gupta, S., Das, S. (2018). Salicylic acid regulates systemic defense signaling in chickpea during *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* race 1 infection. *Plant Molecular Biology Reporter*. **36**(2), 162-175.
- Bhatti, M. A., Kraft, J. M. (1992a). Effects of inoculum density and temperature on root rot and wilt of chickpea. *Plant Disease*. **76**, 50-54.
- Bhatti, M. A., Kraft, J. M. (1992b). Influence of soil moisture on root rot and wilt of chickpea. *Plant Disease*. **76**, 1259-1262.
- Biles, C. L., Martyn, R. D. (1989). Local and systemic resistance induced in watermelon by formae speciales of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*. **79**, 856-860.
- Biswas, J. C., Lodha, J. K., Dazzo, F. B. (2000). *Rhizobia* inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. *Soil Science Society of America Journal*. **64**, 1644-1650.
- Boland, G. J., Hall, R. (1994). Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*. **16**(2), 93-108.
- Booth, C. (1971). The genus *Fusarium*. Kew, England: Commonwealth Mycological Institute.

- Bosland, P. W., Williams, P. H. (1987). An evaluation of *Fusarium oxysporum* from crucifers based on pathogenicity, isozyme polymorphism, vegetative compatibility and geographical origin. *Canadian Journal of Botany*. **65**, 2067-2073.
- Bouhadida, M., Jendoubi, W., Gargouri, S., Beji, M., Kharrat, M., Chen, W. (2017). First report of *Fusarium redolens* causing Fusarium yellowing and wilt of chickpea in Tunisia. *Plant disease*. **101**(6), 1038-1038.
- Bourgeois, G., Bourque, A., Deaudelin, G. (2004). Modelling the impact of climate change on disease incidence: A bioclimatic challenge. *Canadian Journal of Plant Pathology*. **26**, 284-290.
- Bowden, R. L., Leslie, J. F. (1992). Nitrate non-utilizing mutants of *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*) and their use in determining vegetative compatibility. *Experimental Mycology*. **16**, 308-315.
- Brake, V. M., Pegg, K. G., Irwin, J. A. G., Langdon, P. W. (1990). Vegetative compatibility groups within Australian populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, the cause of Fusarium wilt of bananas. *Australian Journal of Agricultural Research*. **41**, 863-870.
- Brayford, D. (1998). *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. IMI Descriptions of Fungi and Bacteria. p. 1113.
- Bretag, T. W., Mebalds, M. I. (1987). Pathogenicity of fungi isolated from *Cicer arietinum* (chickpea) grown in Northwestern Victoria. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. **27**, 141-148.
- Bruehl, G. W. (1987). Soil-borne plant pathogens. New York: Macmillan Publication.
- Bruns, T. D., White, T. J., Taylor, J. W. (1991). Fungal molecular systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*. **22**, 525-564.
- Buddenhagen, I. W., Workneh, F., Bosque-Pérez, N. A. (1988). Chickpea improvement and chickpea diseases in California. *International Chickpea Newsletter*. **19**, 9-10.

Burdon, J. J., Thrall, P. H., Ericson, A. L. (2006). The current and future dynamics of disease in plant communities. *Annual Review of Phytopathology*. **44**, 19-39.

Burdon, J. J., Thrall, P. H. (2009). Co-evolution of plants and their pathogens in natural habitats. *Science*. **324**, 755-756.

Burgess, L. W. (1981). General ecology of Fusaria. In: *Fusarium, Diseases, Biology, and Taxonomy*. Nelson, P. E., Toussoun, T. A., Cook, R. J. (Eds.) University Park, PA: Pennsylvania State University Press. pp. 225-235.

Burgess, L. W., Summerell, B. A., Backhouse, D., Benyon, F., Levic, J. (1996). Biodiversity and population studies in *Fusarium*. *Sydowia*. **48**(1), 1-11.

Burgess, T., Bihon, W., Wingfield, M. J., Wingfield, B. D. (2009). A simple and rapid method to determine vegetative compatibility groups in fungi. *Inoculum: Newsletter of the Mycological Society of America*. **60**(6), 1-2.

Butler, D. R. (1993). How important is crop microclimate in chickpea Botrytis gray mold? In: Recent advances in research on Botrytis gray mold of chickpea. Haware, M. P., Gowda, C. L. L., McDonald, D. (Eds.). Patancheru: ICRISAT. pp. 7-9.

Butler, E. J. (1918). Fungi and diseases of plants. Saxena, M. C., Singh, K. B. (Eds.). Wallingford, UK: CABI Publishing. pp. 233-270.

CABI, (2019). *Cicer arietinum*. In: Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. www.cabi.org/isc. 06.01.2019.

Cabrera, J., Colina, D. L., Trapero-Casas, A., Jiménez-Díaz, R. M. (1989). Races of Foc in Andalusia, South Spain. *International Chickpea Newsletter*. **13**, 24-26.

Campbell, C. L., Madden, L. V. (1990). Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley & Sons. p. 532.

Campbell, C. L., Neher, D. A. (1994). Estimating disease severity and incidence. In: Epidemiology and management of root diseases. Berlin, Heidelberg: Springer. pp. 117-147.

Can, C., Kafadar, F. N., Özkan, A., Turan, A., Kuscali, N., Nalcaci, N., Basbuga, S. Polatbilek, H., Yasar, A., Bulgak, S., Sarpkaya, K., İslar, D., Anay, A., Mart, D., Ogut, E., Ozkilinc, H., Ozyigit, I. (2015). Current status of chickpea Ascochyta blight in Turkey, XVIII. *International Plant Protection Congress*, 24–27 August, Berlin, Germany. p. 527.

Can, C., Kafadar, F. N., Özkan, A., Turan, A., Kuscali, N., Nalcaci, N., Basbuga, S. Polatbilek, H., Yasar, A., Bulgak, S., Kar, Y., Sarpkaya, K., İslar, D., Anay, A., Mart, D., Ogut, E., Ozkilinc, H., Ozyigit, I. (2016). Correlation of Ascochyta blight severity in chickpea with pathotypes, mating type, altitude, nodulation and weed density in Turkey, IV *International Ascochyta Workshop*, 10-11 October, Tróia, Portugal. p. 22.

Carvalho, C. R. D., Mendes-Costa, M. C. (2011). Vegetative compatibility and heterokaryon formation between different isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* by using the nit mutant system. *Brazilian Journal of Microbiology*. **42**(1), 346-353.

Castro, P., Pistón, F., Madrid, E., Millán, T., Gil, J., Rubio, J. (2010). Development of chickpea near-isogenic lines for Fusarium wilt. *Theoretical and Applied Genetics*. **121**, 1519-1526.

Chaithra, H. R., Manjunatha, H., Saifulla, M., Deepthi, P. (2019). Pathogenic and morphological variability among *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* isolates causing wilt in chickpea. *Legume Research*. **42**(2), 277-281.

Chakrabarti, A., Mukherjee, P. K., Sherkhane, P. D., Bhagwat, A. S., Murthy, N. B. K. (2000). A simple and rapid molecular method for distinguishing between races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* from India. *Current Science*. **80**, 571-575.

Chakraborty, S. (2005). Potential impact of climate change on plant–pathogen interactions. *Australasian Plant Pathology*. **34**, 443-448.

Chakraborty, U., Purkayastha, R. P. (1984). Role of rhizobitoxine in protecting soybean roots. *Canadian Journal of Microbiology*. **30**, 285-289.

Chala, A., Brurberg, M. B., Tronsmo, A. M. (2010). Incidence and severity of sorghum anthracnose in Ethiopia. *Plant Pathology Journal*. **9**, 23-30.

Chand, H., Khirbat, S. K. (2009). Chickpea wilt and its management-A Review. *Agricultural Reviews*. **30**(1), 1-12.

Charles, M. T., Dominique, R., Kumar, J., Gangi, O. P. (2002). A preliminary study of the functional properties of chickpea leaves. In: Annual meeting of the Canadian society of food and nutrition. Edmonton, Alberta, Canada. pp. 89-96.

Chattopadhyay, S. B., Sen Gupta, P. K. (1967). Studies on wilt diseases of pulses. In: Variation and taxonomy of *Fusarium* species associated with wilt disease of pulses. *Indian Journal Mycological Research*. **5**, 45-53.

Chaudhary, S., Anderson, T. R., Park, S. J., Yu, K. (2006). Comparison of screening methods for resistance to *Fusarium* root rot in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Phytopathology*. **154**, 303-308.

Chaudhry, M. A., Ilyas, M. B., Muhammad, F., Ghazanfar, M. U. (2007). Sources of resistance in chickpea germplasm against *Fusarium* wilt. *Mycopath*. **5**(1), 17-21.

Chauhan, S. K. (1961). Toxin production by *F. orthoceras* var. *ciceris* causing wilt of gram. *Proceedings of the National Academy of Sciences Section B*. **3**, 341-348.

Chauhan, S. K. (1962). Physiologic variation in *F. orthoceras* App. Wr. var. *ciceris* Padwick causing wilt of gram. *Proceedings of the National Academy of Sciences Section B*. **22**, 78-84.

Chavan, S. C., Hegde, Y. R., Prashanthi, S. K. (2009). Management of wilt of patchouli caused by *Fusarium solani*. *Journal of Mycology and Plant Pathology*. **39**, 32-34.

Chen, C., Wang, J., Luo, Q., Yuan, S., Zhou, M. (2007). Characterization and fitness of carbendazim-resistant strains of *Fusarium graminearum* (wheat scab). *Pest Management Science*. **63**, 1201-1207.

Chen, W. (2011). Dry root rot of chickpea. In: Compendium of chickpea and lentil diseases and pests. USA: APS Press. pp. 15-16.

Chen, W., Provart, N. J., Glazebrook, J., Katagiri, F., Chang, H-S., Eulgem, T., Mauch, F., Luan, S., Zou, G., Whitham, S. A., Budworth, P. R., vd. (2002).

Expression profile matrix of *Arabidopsis* transcription factor genes suggests their putative functions in response to environmental stresses. *The Plant Cell*. **14**, 559-574.

Chen, W., Schatz, B., Henson, B., McPhee, K. E., Muehlbauer, F. J. (2006). First report of Sclerotinia stem rot of chickpea caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in North Dakota and Washington. *Plant Disease*. **90**, 114.

Chen, W., Sharma, H. C., Muehlbauer, F. J. (2011). Compendium of chickpea and lentil diseases and pests. USA: APS Press. p. 165.

Chiocchetti, A., Ghignose, S., Minuto, A., Gullino, M. L., Garibaldi, A., Migheli, Q. (1999). Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *basilici* isolated from soil, basil seed and plants by RAPD analysis. *Plant Disease*. **83**, 576-581.

Chougule, P. M., Andoji, Y. S., Kamble, S. S. (2015). Detection seed borne mycoflora from different categories of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Life Science Informatics Publication*. **1**(4), 203-206.

Chung, W. H., Ishii, H., Nishimura, K., Ohshima, M., Iwama, T., Yoshimatsu, H. (2008). Genetic analysis and PCR-based identification of major *Fusarium* species causing head blight on wheat in Japan. *Journal of General Plant Pathology*. **74**, 364-374.

Coakley, S. M., Scherm, H., Chakraborty, S. (1999). Climate change and plant disease management. *Annual Review of Phytopathology*. **37**, 399-426.

Coleman, J. J., Rounsley, S. D., Rodriguez-Carres, M., Kuo, A., Wasmann, C. C., Grimwood, J., Schmutz, J., Taga, M., White, G. J., Zhou, S., Schwartz, D. C., Freitag, M., vd. (2009). The genome of *Nectria haematococca*: Contribution of supernumerary chromosomes to gene expansion. *PLoS Genetics*. **5**(8), e1000618.

Colhoun, J. (1973). Effects of environmental factors on plant disease. *Annual Review of Phytopathology*. **11**, 343-364.

Collmer, A., Keen, N. T. (1986). The role of pectic enzymes in plant pathogenesis. *Annual Review of Phytopathology*. **24**(1), 383-409.

Cook, R. J., Flentje, N. T. (1967). Chlamydospore germination and germling survival of *Fusarium solani* f. sp. *pisi* in soil as affected by soil water and pea exudation. *Phytopathology*. **57**, 178-182.

Correll, J. C. (1991). The relationship between formae speciales, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*. **81**, 1061-1064.

Correll, J. C., Klittich, C. J. R., Leslie, J. F. (1987b). Nitrate non-utilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. *Phytopathology*. **77**, 1640-1646.

Correll, J. C., Klittich, C. J. R., Leslie, J. F. (1989). Heterokaryon self-incompatibility in *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium moniliforme*). *Mycological Research*. **93**(1), 21-27.

Correll, J. C., Leslie, J. F., Klittich, C. J. R. (1987a). Observations on the heritability of heterokaryon "self-incompatibility" in *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium moniliforme*). *Phytopathology*. **77**, 1710-1711.

Correll, J. C., Puhalla, J. E., Schneider, R. W. (1986a). Identification of *F. oxysporum* f. sp. *apii* on the basis of colony size, virulence, and vegetative compatibility. *Phytopathology*. **76**, 396-400.

Correll, J. C., Puhalla, J. E., Schneider, R. W. (1986b). Vegetative compatibility groups among non-pathogenic root colonizing strains of *Fusarium oxysporum*. *Canadian Journal of Botany*. **64**, 2358-2361.

Correll, J. C., Puhalla, J. E., Schneider, R. W., Kraft, J. M. (1985). Differentiating races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* based on vegetative compatibility. *Phytopathology*. **75**, 1347.

Ćosić, J., Vrandečić, K., Svitlica, B. (2004). *Fusarium* species isolated from wheat and maize in eastern Croatia. *Poljoprivreda*. **10**(1), 5-8.

- Couteaudier, Y., Alabouvette, C. (1990). Survival and inoculum potential of conidia and chlamydospores of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* in soil. *Canadian Journal of Microbiology*. **36**, 551-556
- Couture, L. (1982). Receptivity of spring cereal cultivars to contamination of grain in the inflorescence by *Fusarium* spp. *Canadian Journal of Plant Science*. **62**, 29-34.
- Cove, D. J. (1976). Chlorate toxicity in *Aspergillus nidulans*: The selection and characterization of chlorate resistant mutants. *Heredity*. **36**, 191-203.
- Cove, D. J. (1979). Genetics studies of nitrate assimilation in *Aspergillus nidulans*. *Biological Reviews*. **54**, 291-327.
- Covert, S. F., Enkerli, J., Miao, V. P., VanEtten, H. D. (1996). A gene for maackiain detoxification from a dispensable chromosome of *Nectria haematococca*. *Molecular Genetics and Genomics*. **251**(4), 397-406.
- Covey, P. A., Kuwitzky, B., Hanson, M., Webb, K. M. (2014). Multilocus analysis using putative fungal effectors to describe a population of *Fusarium oxysporum* from sugar beet. *Phytopathology*. **104**, 886-896.
- Croser, J. S., Ahmad, F., Clarke, H. J., Siddique, K. H. M. (2003). Utilisation of wild *Cicer* in chickpea improvement-progress, constraints, and prospects. *Australian Journal of Agricultural Research*. **54**, 429-444.
- Crowl, T. A., Crist, T. O., Parmenter, R. R., Belovsky, G., Lugo, A. E. (2008). The spread of invasive species and infectious disease as drivers of ecosystem change. *Frontiers in Ecology and the Environment*. **6**, 238-246.
- Cubero, J. I. (1987). Morphology of chickpea. In: The chickpea. Saxena, M. C., Singh, K. B. (Eds.). U.K., Wallingford and Aleppo, Syria, ICARDA: CAB International. pp. 35-66.
- Cullen, D., Smalley, E. B., Dimond, R. L. (1983). Heterokaryosis in *Fusarium tricinctum* and *Fusarium sporotrichiodes*. *Journal of General Microbiology*. **129**, 3035-3041.

Cumagun, C. J. R., Oribiana, Z. C., Tolentino, M. S., Relevante, C. A., Balatero, C. H. (2008). Vegetative compatibility among *Fusarium oxysporum* isolates from bitter gourd and bottle gourd in the Philippines. *Journal of Plant Protection Research*. **48**(3), 283-292.

Cunnington, J. (2006). Novel primers developed from mitochondrial intergenic spacers are useful for multi-locus sequence typing of *Fusarium oxysporum* strains. *European Journal of Plant Pathology*. **116**, 77-80.

Cushman, J. C., Bohnert, H. J. (2000). Genomic approaches to plant stress tolerance. *Current Opinion in Plant Biology*. **3**, 117-124.

Daayf, F., Nicole, M., Geiger, J. P. (1995). Differentiation of *Verticillium dahliae* populations on the basis of vegetative compatibility and pathogenicity on cotton. *European Journal of Plant Pathology*. **101**, 69-79.

Damte, T., Ojiewo, C. O. (2016). Current status of wilt/root rot diseases in major chickpea growing areas of Ethiopia. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. **49**(9-10), 222-238.

Dastur, J. F. (1935). Gram wilts in the Central Provinces. *Agriculture and Livestock in India*. **5**, 615-627.

Datta, J., Lal, N. (2012). Application of molecular markers for genetic discrimination of fusarium wilt pathogen races affecting chickpea and pigeonpea in major regions of India. *Cellular and Molecular Biology*. **58**(1), 55-65.

Davière, J. M., Langin, T., Daboussi, M. J. (2001). Potential role of transposable elements in the rapid reorganization of the *Fusarium oxysporum* genome. *Fungal Genetics and Biology*. **34**(3), 177-192.

Davis, P. H. (1973). The Flora of Turkey. Edinburgh: Edinburgh University Press. Vol. 3: pp. 267-273.

Deacon, J. W. (2006). Fungal biology. UK: Blackwell Publishing. 4th edition.

Deb, A. C., Khaleque, M. A. (2009). Nature of gene action of some quantitative traits in chickpea (*Cicer arietinum* L). *World Journal of Agricultural Sciences*, **5**(3), 361-368.

De-Cal, A., Pascual, S., Melgarejo, P. (1997). Infectivity of chlamydospores vs microconidia of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* on tomato. *Journal of Phytopathology*. **145**, 231-233.

Demers, J. E., Garzón, C. D., Jiménez-Gasco, M. (2014). Striking genetic similarity between races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* confirms a monophyletic origin and clonal evolution of the chickpea vascular wilt pathogen. *European Journal of Plant Pathology*. **139**, 309-324.

Demirci, E., Eken, C., Kantar F. (1998). Wilt and root rot pathogens of chickpea cv. Aziziye-94. *Journal of Plant Pathology*. **80**(2), 175.

Demirci, E., Eken, C., Kantar F. (1999). Pathogenicity wilt and root rot pathogens of chickpea cv. Aziziye-94. *Journal of Turkish Phytopathology*. **28**, 22-32.

Dervis, S., Erten, L., Soylu, S., Tok, F. M., Kurt, S., Yıldız, M., Soylu, E. M. (2007). Vegetative compatibility groups in *Verticillium dahliae* isolates from olive in western Turkey. *European Journal of Plant Pathology*. **119**(4), 437-447.

Dervis, S., Yetisir, H., Tok, F. M., Kurt, S., Karaca, F. (2009). Vegetative compatibility groups and pathogenicity of *Verticillium dahliae* isolates from watermelon in Turkey. *African Journal of Agricultural Research*. **4**, 1268-1275.

Di Pietro, A., Madrid, M. P., Caracuel, Z., Delgado-Jarana, J., Roncero, M. I. G. (2003). *Fusarium oxysporum*: Exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. *Molecular Plant Pathology*. **4**, 315-325.

Di Primo, P., Cappelli, C., Katan, T. (2002). Vegetative compatibility grouping of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* from saffron. *European Journal of Plant Pathology*. **108**, 869-875.

- Díaz-Franco, A., Pérez-García, P. (1995). Control químico de la roya y la rabia del garbanzo y su influencia en el rendimiento de grano. *Revista Mexicana de Fitopatología*. **13**, 123–125.
- Dickman, M. B., Leslie, J. F. (1992). Complementation of a *nnu* mutant of *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*) by the regulatory *nit-2* gene of *Neurospora crassa*. *Molecular and General Genetics*. **235**, 458-462.
- Dolar, F. S. (1995). Evaluation of some chickpea cultivars for resistance to *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* in Turkey. *The Journal of Turkish Phytopathology*. **24**, 15-22.
- Dolar, F. S. (1997). Determination of the races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in Ankara province, Turkey. *The Journal of Turkish Phytopathology*. **26**, 11-15.
- Dubey, S. C., Priyanka, K., Singh, V., Singh, B. (2012). Race profiling and molecular diversity analysis of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* causing wilt in chickpea. *Journal of Phytopathology*. **160**(10), 576-587.
- Dubey, S. C., Singh, S. R. (2008). Virulence analysis and oligonucleotide fingerprinting to detect diversity among Indian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* causing chickpea wilt. *Mycopathologia*. **165**, 389-406.
- Dubey, S. C., Singh, S. R., Singh, B. (2010a). Morphological and pathogenic variability of Indian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* causing chickpea wilt. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. **43**, 174-189.
- Dubey, S. C., Suresh, M., Singh, B. (2007). Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wilt. *Biological Control*. **40**(1), 118-127.
- Dubey, S. C., Tripathi, A., Singh, S. R. (2010b). ITS-RFLP fingerprinting and molecular markers for detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Folia Microbiologica*. **55**, 629-634.
- Duke, J. A. (1981). Handbook of legumes of world economic importance. New York: Plenum Press. pp. 52-57.

Dunlop, R. H. (2004). Pathophysiology of plant toxicants. In: Veterinary Pathophysiology. Dunlop, R. H., Malbert, C. M. (Eds.). Oxford, USA: Wiley-Blackwell. pp. 478-489.

Dunn-Coleman, N. S., Smarrelli, J., Jr., Garrett, R. H. (1984). Nitrate assimilation in eukaryotic cells. *International Review of Cytology*. **92**, 1-50.

Durai, M., Dubey, S. C., Tripathi, A. (2012). Genetic diversity analysis and development of SCAR marker for detection of Indian populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* causing chickpea wilt. *Folia Microbiologica*. **57**(3), 229-235.

Duro Almazan, M. D. (2000). Influence of the temperature, pH in vitro the races of the *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. Msc. thesis. Universidad the Cordoba, Cordoba, Spain.

Elena, K., Pappas, A. C. (2006). Race distribution, vegetative compatibility and pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* isolates in Greece. *Journal of Phytopathology*. **154**, 250-255.

Elias, K. S., Schneider, R. W. (1991). Vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathology*. **81**, 159-162.

Elias, K. S., Zamir, D., Lichtman-Pleban, T., Katan, T. (1993). Population structure of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: Restriction fragment length polymorphisms provide genetic evidence that vegetative compatibility group is an indicator of evolutionary origin. *Molecular Plant-Microbe Interaction*. **6**, 565-572.

Elmer, W. H., Stephens, C. T. (1989). Classification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* into vegetatively compatible groups. *Phytopathology*. **79**, 88-93.

Erincik, B. G., Döken, M. T. (2017). Vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* in Aydın province. *The Journal of Turkish Phytopathology*. **46**(2), 79-87.

Erwin, D. C., Snyder, W. C. (1958). Yellowing of garbanzo beans. *California Agricultural Inspection*. **12**(11), 6.

Eshetu, B., Amare, A., Seid, A. (2013). Associations of biophysical factors with faba bean root rot (*Fusarium solani*) epidemics in the northeastern highlands of Ethiopia. *Crop Protection*. **52**, 39–46.

Fallahi, M., Javan-Nikkhah, M., Fotouhifar, K. B., Eskandari, M. M. (2014). Vegetative compatibility and rep-PCR DNA fingerprinting groups of *Fusarium solani* isolates obtained from different hosts and their pathogenicity. *Mycologia Iranica*. **1**(2), 75-85.

FAOSTAT, (2019). Food and Agriculture Organization of The United Nations. <http://faostat3.fao.org/home/E>. 15.01.2019.

Fargette, D., Konate, G., Fauquet, C., Muller, E., Peterschmitt, M., Thresh, J. M. (2006). Molecular ecology and emergence of tropical plant viruses. *Annual Review of Phytopathology*. **44**, 235-260.

Fernandez, D., Ouinten, M., Tantaoui, A., Lourd, M., Geiger, J. P. (1995). Population genetic structure of *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Abstr.). *Fungal Genetics Newsletter A*. **42**, 34.

Fisher, P. J., Petrini, O. (1992). Fungal saprobes and pathogens as endophytes of rice (*Oryza sativa*). *New Phytologist*. **120**, 137-143.

Flood, J., Whitehead, D. S., Cooper, R. M. (1992). Vegetative compatibility and DNA polymorphisms in *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaedis* and their relationship to isolate virulence and origin. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. **41**(3), 201-215.

Fourie, G., Steenkamp, E. T., Gordon, T. R., Viljoen, A. (2009). Evolutionary relationships among the *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* vegetative compatibility groups. *Applied and Environmental Microbiology*. **75**, 4770-4781.

Fourie, G., Steenkamp, E. T., Ploetz, R. C., Gordon, T. R., Viljoen, A. (2011). Current status of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum* forma specialis *cubense* within the *Fusarium oxysporum* complex. *Infection, Genetics and Evolution*. **11**(3), 533-542.

Fravel, D., Olivain, C., Alabouvette, C. (2003). *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. *New Phytologist*. **157**(3), 493-502.

Fu, Y. H., Marzluf, G. A. (1990). nit-2, the major positive-acting nitrogen regulatory gene of *Neurospora crassa* encodes a sequence-specific DNA binding protein, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **87**, 5331-5335.

Fuhlbohmer, M. J., Tatnell, J. R., Ryley, M. J. (2003). First report of stem rot and wilt of chickpea caused by *Sclerotinia minor* in Queensland, Australia. *Australasian Plant Pathology*. **32**, 323-324.

Gagkaeva, T., Levitin, M., Yli-Mattila, T. (2002). Vegetative compatibility and incompatibility of nitrate nonutilizing mutants in *F. avenaceum*. *Journal of Applied Genetics*. **43**, 45-54.

Gan, Y., Liang, C., Chai, Q., Lemke, R. L., Campbell, C.A., Zentner, R. P. (2014). Improving farming practices reduces the carbon footprint of spring wheat production. *Nature Communications*. **5**, 5012.

García-Pedrajas, M. D., Bainbridge, B. W., Heale, J. B., Pérez-Artés, E., Jiménez-Díaz, R. M., Gilligan, C. A. (1999). A simple PCR-based method for the detection of the chickpea-wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in artificial and natural soils. *Journal of Plant Pathology*. **105**, 251-259.

Garrett, K. A., Dendy, S. P., Frank, E. E., Rouse, M. N., Travers, S. E. (2006). Climate change effects on plant disease: Genomes to ecosystems. *Annual Review of Phytopathology*. **44**, 201-2021.

Garrett, S. D. (1970). Pathogenic root-infection fungi. London, UK: Cambridge University Press.

Gaur, P. M., Jukanti, A. K., Srinivasan, S., Gowda, C. L. L. (2012). Chickpea (*Cicer arietinum* L.). In: Breeding of field crops. Bharadwaj, D. N. (Ed.). Jodhpur, India: Agrobios. pp. 165-194.

Gaur, P. M., Kumar, J., Gowda, C. L. L., Pande, S., Siddique, K. H. M., Khan, T. N., Warkentin, T. D., Chaturvedi, S. K., Than, A. M., Ketema, D. (2008). Breeding

chickpea for early phenology: perspectives, progress and prospects. In: Food legumes for nutritional security and sustainable agriculture. Kharkwal, M. C. (Ed.). New Delhi, India: Indian Society of Genetics and Plant Breeding. pp. 39-48.

Gaur, P. M., Samineni, S., Varshney, R. K. (2014). Drought and heat tolerance in chickpea. *Legume Perspectives*. **3**, 15-17.

Geervani, P. (1991). Utilization of chickpea in India and scope for novel and alternative uses. Uses of tropical grain legumes, *Proceedings of consultants meeting* 27-30 March, 1989. India: ICRISAT. pp. 47-54.

Geiser, D. M., Jiménez-Gasco, M. M., Kang, S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T. J., Zhang, N., Kulda, G. A., O'Donnell, K. (2004). FUSARIUM-ID v. 1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. *European Journal of Plant Pathology*. **110**, 473-479.

Gerlach, W. (1961). *Fusarium redolens* Wr., seine morphologie und systematische Stellung. Ein beitrage zur kenntnis der Elegans-Fusarien. *Phytopathology Zeitschr.* **42**, 150-160.

Gerlach, W., Pag, H. (1961). *Fusarium redolens* Wr., seine phytopathologische Bedeutung und eine an Dianthus-Artengefäßparasitäre Form (*F. redolens* Wr. f. *dianthi* Gerlach). *Phytopathology Zeitschr.* **42**, 349-361.

Gichuru, E. K., Várzea, V. M. P., Rodrigues J. R., Masaba, D. M. (2000). Vegetative compatibility grouping of *Colletotrichum kahawae* in Kenya. *Journal of Phytopathology*. **148**, 233-237.

Gil, J., Cubero, J. I. (1993). Inheritance of seed coat thickness in chickpea (*Cicer arietinum* L.) and its evolutionary implications. *Plant Breeding*. **111**, 257-260.

Glass, N. L., Dementhon, K. (2006). Non-self recognition and programmed cell death in filamentous fungi. *Current Opinion in Microbiology*. **9**, 553-558.

Glass, N. L., Jacobson, D. J., Shiu, P. K. (2000). The genetics of hyphal fusion and vegetative incompatibility in filamentous ascomycete fungi. *Annual Review of Genetics*. **34**, 165-186.

- Glass, N. L., Kaneko, I. (2003). Fatal attraction: Nonself recognition and heterokaryon incompatibility in filamentous fungi. *Eukaryotic Cell*. **2**(1), 1-8.
- Gopalakrishnan, S., Strange, R.N. (2005). Identity and toxicity of *Fusarium* species isolated from wilted chickpea. *Phytopathologia Mediterranea*. **44**(2), 180-188.
- Gordon, T. R., Martyn, R. D. (1997). The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Annual Review of Phytopathology*. **35**, 111-128.
- Gordon, T. R., Okamoto, D. (1991). Vegetative compatibility groupings in a local population of *Fusarium oxysporum*. *Canadian Journal of Botany*. **69**, 168-172.
- Gordon, T. R., Okamoto, D. (1992a). Variation within and between populations of *Fusarium oxysporum* based on vegetative compatibility and mitochondrial DNA. *Canadian Journal of Botany*. **70**, 1211-1217.
- Gordon, T. R., Okamoto, D. (1992b). Variation in mitochondrial DNA among vegetatively compatible isolates of *Fusarium oxysporum*. *Experimental Mycology*. **16**, 245-250.
- Graham, P. H., Vance, C. P. (2003). Legumes: Importance and constraints to greater use. *Plant Physiology*. **131**(3), 872-877.
- Grajal-Martín, M. J., Simon, C. J., Muehlbauer, F. J. (1993). Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to characterize race 2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. *Phytopathology*. **83**, 612-614.
- Green Jr, R. J. (1981). An overview. In: Fungal wilt diseases of plants. California, USA: Academic Press. pp. 1-20.
- Grewal, J. S. (1969). Important fungal diseases of *C. arietinum* L. in India, *Pulse Improvement Project Seminar*, Tehran and USDA: Karaj Agricultural College University. 7-9 January. pp. 35-40.
- Grewal, J. S., Mohindar, P., Kulshrestha, D. D. (1974). Studies on gram wilt. *Indian Journal of Genetics*. **34**, 242-246.

Grewal, J. S., Pal, M., Rewal, N. (1992). Botrytis gray mold of chickpea in India. In: Botrytis gray mold of chickpea. Haware, M. P., Faris, D. G., Gowda, C. L. L. (Eds.). Patancheru: ICRISAT. pp. 6-8.

Groenewald, S., Van den Berg, N., Marasas, W. F. O., Viljoen, A. (2006). Biological, physiological and pathogenic variation in a genetically homogenous population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Australasian Plant Pathology*. **35**(4), 401-409.

Grün, C. H. (2003). Structure and biosynthesis of fungal α -glucans. Netherlands: Utrecht University, 90-393-3300-9.

Gupta, O. M. (1991). Symptomless carrier of chickpea vascular wilt pathogen *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Legume Research*. **14**(4), 193-194.

Gupta, O. M., Khare, M. N., Kotasthane, S. R. (1986). Variability among six isolates of *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* causing vascular wilt of chickpea. *Indian Phytopathology*. **39**, 279-281.

Gupta, O., Kotasthane, S. R., Khare, M. N. (1987). Factors influencing epidemiology of vascular wilt of chickpea, *Proceedings of the National Academy of Sciences, India*. **57**, 86-91.

Gurha, S. N., Singh, G., Sharma, Y. R. (2003). Diseases of chickpea and their management. In: Chickpea research in India. Ali, M., Kumar, S., Singh, N. B. (Eds.). Lucknow: Army Printing Press. pp. 195-227.

Gurjar, G. S., Giri, A. P., Gupta, V. S. (2012). Gene expression profiling during wilting in chickpea caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. *American Journal of Plant Sciences*, **3**(2), 190-201.

Gurjar, G., Barve, M., Giri, A., Gupta, V. (2009). Identification of Indian pathogenic races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* with gene specific, ITS and random markers. *Mycologia*. **101**, 84-495.

Güllü, B. (2003). Gaziantep il ve ilçelerinde yetiştiriciliği yapılan nohuda zarar veren fungal hastalık etmenlerinin belirlenmesi ve yabani nohut türlerinde bulunan

dayanıklılığın araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Gaziantep.

Güneş, S. (2012). *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının vejetatif uyum grupları. Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Gaziantep.

Haichar, F. Z., Santaella, C., Heulin, T., Achouak, W. (2014). Root exudates mediated interactions belowground. *Soil Biology and Biochemistry*. **77**, 69-80.

Halila, M. H., Strange, R. N. (1996). Identification of the causal agent of wilt of chickpea in Tunisia as *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* race 0. *Phytopathologia Mediterranea*. **35**, 67-74.

Hamid, K., Alam, S. S., Muhammad, H., Strange, R. N. (2001). Phytotoxins of *Ascochyta rabiei* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* affecting chickpea, 4th European conference on grain legumes, Cracow, Polonya. pp. 62-63.

Hannachi, I., Slimen, R. B., Rezgui, S. (2016). An overview of molecular tools to characterize pathogenic forms of *Fusarium oxysporum*. *Journal of New Sciences, Agriculture and Biotechnology*. **25**(3), 1145-1150.

Harlan, J. R., Zohary, D. (1966). Distribution of wild wheats and barley. *Science*. **153**, 1074-1080.

Harling, R., Taylor, G. S., Matthews, P., Arthur A. E. (1988). The effect of temperature on symptom expression in resistant and susceptible carnation cultivars infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Journal of Phytopathology*. **121**, 103-117.

Hart, L. P., Endo, R. M. (1981). The effect of length of exposure to inoculum, plant age, root development, and root wounding on *Fusarium* yellows of celery. *Phytopathology*. **71**, 77-79.

Hartman, A., Singh, M., Klingmuler, W. (1983). Isolation and characterization of *Azospirillum* mutants excreting high amount of indole acetic acid. *Canadian Journal of Microbiology*. **29**, 916-923.

Haware, M. P. (1982). Fusarium wilt and its managements. *Phytopathology*. **68**, 1364-1367.

Haware, M. P. (1990). Fusarium wilt and other important diseases of chickpea in the Mediterranean area. *Options Méditerranéennes-Série Séminaires*. **9**, 163-166.

Haware, M. P. (1998). Diseases of chickpea. In: The pathology of food and pasture legumes. Allen, D. J., Lenné, J. M. (Eds.). Wallingford, UK: CAB International. pp. 473-516.

Haware, M. P., Jiménez-Díaz, R. M., Amin, K. S., Phillips, J. C., Halila, M. H. (1990). Integrated management of wilt and root rot of chickpea. In: Chickpea in the nineties. Van Rheenen, H. A., Saxena, M. C. (Eds.). Hyderabad, India: ICRISAT. pp. 129-133.

Haware, M. P., McDonald, D. (1992). Integrated management of Botrytis gray mold of chickpea. In: Botrytis gray mold of chickpea. Haware, M. P., Faris, D. G., Gowda, C. L. L. (Eds.). Patancheru: ICRISAT. pp. 3-6.

Haware, M. P., Nene, Y. L. (1980). Influence of wilt at different growth stages on yield loss of chickpea. *Tropical Grain Legume Bulletin*. **19**, 38-40.

Haware, M. P., Nene, Y. L. (1981). Phoma blight: A new disease of chickpea. *Plant Disease*. **65**, 282.

Haware, M. P., Nene, Y. L. (1982a). Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. *Plant Disease*. **66**, 809-810.

Haware, M. P., Nene, Y. L. (1982b). Symptomless carriers of the chickpea wilt *Fusarium*. *Plant Disease*. **66**(3), 250-251.

Haware, M. P., Nene, Y. L., Natarajan, M. (1986). Survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* in soil in the absence of chickpea (Abstr.), *National seminar on management of soil-borne diseases of crop plants*. TNAU, Coimbatore, 8-10 January 1986. P.1

Haware, M. P., Nene, Y. L., Natarajan, M. (1996). The survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* in the soil in the absence of chickpea. *Phytopathologia Mediterranea*. **35**, 9-12.

Haware, M. P., Nene, Y. L., Pundir, R. P. S., Narayana Rao, J. (1992). Screening of world chickpea germplasm for resistance to fusarium wilt. *Field Crops Research*. **30**, 147-154.

Haware, M. P., Nene, Y. L., Rajeshwari, R. (1978). Eradication of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* transmitted in chickpea seed. *Phytopathology*. **68**, 1364-1367.

Hawthorne, B. T., Rees-George, J. (1996). Use of nitrate non-utilizing mutants to study vegetative incompatibility in *Fusarium solani* (*Nectria haematococca*), especially members of mating populations I, V and VI. *Mycological Research*. **100**(9), 1075-1081.

Hawthorne, W., Davidson, J., McMurray, L., Hobson, K., Lindbeck, K., Brand, J. (2012). Chickpea disease management strategy (southern region). *Disease Management Guide Series, Southern Pulse Bulletin*, Pulse Australia, Sydney.

Hawtin, G. C., Singh, K. B. (1980). Kabuli-desi introgression problems and prospects. In: Workshop on chickpea improvement. Hyderabad, India: ICRISAT. pp. 51-80.

Hawtin, G. C., Singh, K. B., Sexena, M. C. (1980). Some recent developments in the understanding and improvement of *Cicer* and *Lens*. In: Advances in legume science. Summerfield, R. J., Bunting, A. H. (Eds.). Kew: Royal Botanical Gardens.

Henderson, S. T., Petes, T. D. (1992). Instability of simple sequence DNA in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and Cellular Biology*. **12**, 2749-2757.

Hillman, G. C. (1975). The plant remains from Tell Abu Hureya in Syria: A preliminary report. In: The Excavation of Tell Abu Hureya in Syria: A Preliminary Report. Moore, A. M. T. (Ed.), *Proceedings of the Prehistory Society*. **41**, 70-73.

Hilton, A. J., Jenkinson, P., Hollins, T. W., Parry, D. W. (1999). Relationship between cultivar height and severity of *Fusarium* ear blight in wheat. *Plant Pathology*. **48**(2), 202-208.

Hilton, S. A. (2000). Canadian plant disease survey. *Agriculture and Agri-Food Canada*. **80**, 1-151.

Hirano, Y., Arie, T. (2006). PCR-based differentiation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *radicis-lycopersici* and races of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Journal of General Plant Pathology*. **72**(5), 273-283.

Hong, S. M., Kang, K. Y., Kim, N. S., Kang, S. W., Kim, H. K. (1996). Random amplified polymorphic DNA and restriction fragment length polymorphism analysis to differentiate races of the rice blast fungus, *Pyricularia oryza*, in Korea. *Molecular Cells*. **6**, 346-351.

Honnareddy, N., Dubey, S. C. (2006). Pathogenic and molecular characterization of Indian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* causing chickpea wilt. *Current Science*. **91**(5), 661-666.

Hopkins, D. L., Lobinske, R. J., Larkin, R. P. (1992). Selection for *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* race 2 in monocultures of watermelon cultivars resistant to *Fusarium* wilt. *Phytopathology*. **82**, 290-293.

Horn, N. M., Makkouk, K. M., Kumari, S. G., Van den Heuvel, J. F. J. M., Reddy, D. V. R. (1995). Survey of chickpea (*Cicer arietinum* L.) for chickpea stunt disease and associated viruses in Syria, Turkey and Lebanon. *Phytopathologia Mediterranea*. **34**(3), 192-198.

Horn, N. M., Reddy, S. V., Roberts, I. M., Reddy, D. V. R. (1993). Chickpea chlorotic dwarf virus, a new leafhopper-transmitted geminivirus of chickpea in India 1. *Annals of Applied Biology*. **122**(3), 467-479.

Ibricki, H., Knewston, S. J. B., Grusak, M. A. (2003). Chickpea leaves as a vegetable green for humans: Evaluation of mineral composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **83**, 945-950.

- Ilić, J., Ćosić, J., Jurković, D., Vrandečić, K. (2013). Vegetative compatibility of *Fusarium oxysporum* isolated from weeds in Eastern Croatia. *Poljoprivreda*. **19**(1), 20-24.
- Imran Khan, H. S., Saifulla M., Mahesh, S. B., Pallavi, M.S., (2011). Effect of different media and environmental conditions on the growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* causing Fusarium wilt of chickpea. *International Journal of Science and Nature*. **2**(2), 402-404.
- Inch, S., Gilbert, J. (2003). Survival of *Gibberella zeae* on *Fusarium* damaged kernels. *Plant Disease*. **87**, 287-282.
- Infantino, A., Kharrat, M., Riccioni, L., Coyne, C. J., McPhee, K. E., Gruenwald, N. J. (2006). Screening techniques and sources of resistance to root diseases in cool season food legumes. *Euphytica*. **147**, 201-221.
- Iruela, M., Rubio, J., Cubero, J. I., Gil, J., Millán, T. (2002). Phylogenetic analysis in the genus *Cicer* and cultivated chickpea using RAPD and ISSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*. **104**, 643-651.
- Irwin, J. A. G., Dale, J. L. (1982). Relationships between *Phytophthora megasperma* isolates from chickpea, lucerne and soybean. *Australian Journal of Botany*. **30**, 199-210.
- Ishikawa, F. H., Souza, E. A., Shoji, J. Y., Connolly, L., Freitag, M., Read, N. D., Roca, M. G. (2012). Heterokaryon incompatibility is suppressed following conidial anastomosis tube fusion in a fungal plant pathogen. *PloS One*. **7**(2), e31175.
- Islam, R. (2015). Variability of growth and sporulation of *Fusarium* soil isolates on different culture media. *International Journal of Research*. **2**(2), 160-167.
- Jacobson, D. J., Gordon, T. R. (1988). Vegetative compatibility and self-incompatibility within *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Phytopathology*. **78**, 668-672.

Jacobson, D. J., Gordon, T. R. (1990). Further investigations of vegetative compatibility within *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Canadian Journal of Botany*. **68**, 1245-1248.

Jacobson, D. J., Ohnberger, J., Akins, R. A. (1995). The Wilson-Garnjobst heterokaryon incompatibility tester strains of *Neurospora crassa* contain modifiers which influence growth rate of heterokaryons and distort segregation ratios. *Fungal Genetics Reports*. **42**(1), 34-40.

Jalali, B. L., Chand, H. (1992). Chickpea wilt. In: Plant Diseases of International Importance. Diseases of Cereals and Pulses. Singh, U. S., Mukhopadhyay, A. N., Kumar, J., Chaube, H. S. (Eds.). Vol. 1: Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ. pp. 429-444.

Jamil, F. F., Sarwar, M., Sarwar, N., Khan, J. A., Zahid, M. H., Yousaf, S., Imran Arshadi, H. M., Haq, I. (2010). Genotyping with RAPD markers resolves pathotype diversity in the Ascochyta blight and Fusarium wilt pathogens of chickpea in Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*. **42**(2), 1369-1378.

Jeger, M. J., Pautasso, M. (2008). Plant disease and global change-the importance of long-term data sets. *New Phytologist*. **177**, 8-11.

Jeschke, N., Nelson, P. E., Marasas, W. F. O. (1990). *Fusarium* species isolated from soil samples collected at different altitudes in the Transkei, Southern Africa. *Mycologia*. **82**, 727-733.

Jiménez-Díaz, R. M., Basallote-Ureba, M. J., Rapoport, H. (1989a). Colonization and Pathogenesis in chickpeas infected by races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. In: Vascular wilt diseases of plants. Berlin, Heidelberg: Springer. pp. 113-121.

Jiménez-Díaz, R. M., Castillo, P., Jiménez-Gasco, M. D. M., Landa, B. B., Navas-Cortés, J. A. (2015). Fusarium wilt of chickpeas: Biology, ecology and management. *Crop Protection*. **73**, 16-27.

Jiménez-Díaz, R. M., Jiménez-Gasco, M. M. (2011). 7. Integrated management of Fusarium wilt diseases. In: Control of Fusarium diseases. Alves-Santos, F. M., Diez, J. J. (Eds.). pp. 177-215.

Jiménez-Díaz, R. M., Trapero-Casas A. (1990). Improvement of chickpea resistance to wilt and root rot diseases. In: Present status and future prospects of chickpea crop production and improvement in the Mediterranean countries. Saxena, M. C., Cubero, J. I., Wery, J. (Eds.). Options Méditerranéennes Série A. Séminaires Méditerranéens. Zaragoza: CIHEAM. pp. 65-72.

Jiménez-Díaz, R. M., Trapero-Casas, A., Cabrera de la Colina, J. (1989b). Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* infecting chickpeas in southern Spain. In: Vascular wilt diseases of plants. Berlin: NATO ASI Series, Springer-Verlag. pp. 515-520.

Jiménez-Díaz, R., Alcalá-Jimenez, A., Hervás, A., Trapero-Casas, J. (1993). Pathogenic variability and host resistance in the *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris-Cicer arietinum* pathosystem. In: *Fusarium* mycotoxins, taxonomy, pathogenicity and host resistance, *Proceedings 3rd European Seminar*. Radzików, Poland: Plant Breeding and Acclimatization Institute. pp. 87-94.

Jiménez-Fernández, D., Landa, B. B., Kang, S., Jiménez-Díaz, R. M., Navas-Cortés, J. A. (2013). Quantitative and microscopic assessment of compatible and incompatible interactions between chickpea cultivars and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* races. *PloS One*. **8**(4), e61360.

Jiménez-Fernández, D., Montes-Borrego, M., Jiménez-Díaz, R. M., Navas-Cortés, J. A., Landa, B. B. (2011a). In planta and soil quantification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and evaluation of *Fusarium* wilt resistance in chickpea with a newly developed quantitative polymerase chain reaction assay. *Phytopathology*. **101**, 250-262.

Jiménez-Fernández, D., Navas-Cortés, J. A., Montes-Borrego, M., Jiménez-Díaz, R. M., Landa, B. B. (2011b). Molecular and pathogenic characterization of *Fusarium redolens*, a new causal agent of *Fusarium* yellows in chickpea. *Plant Disease*. **95**, 860-870.

Jiménez-Gasco, M. M., Jiménez-Díaz, R. M. (2003). Development of a specific polymerase chain reaction based-assay for the identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and its pathogenic races 0, 1A, 5 and 6. *Phytopathology*. **93**, 200-209.

Jiménez-Gasco, M. M., Milgroom, M. G., Jiménez-Díaz, R. M. (2002). Gene genealogies support *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* as a monophyletic group. *Plant Pathology*. **51**, 72-77.

Jiménez-Gasco, M. M., Milgroom, M. G., Jiménez-Díaz, R. M. (2004b). Stepwise evolution of races in *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* inferred from fingerprinting with repetitive DNA sequence. *Phytopathology*. **94**, 228-235.

Jiménez-Gasco, M. M., Navas-Cortés, J. A., Jiménez-Díaz, R. M. (2004a). The *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*/C. *arietinum* pathosystem: A case study of the evolution of plant-pathogenic fungi into races and pathotypes. *International Journal of Food Microbiology*. **7**, 95-104.

Jiménez-Gasco, M. M., Pérez-Artés, E., Jiménez-Díaz, R. F. (2001). Identification of pathogenic races 0, 1B/C, 5, and 6 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* with random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Journal of Plant Pathology*. **107**, 237-248.

Jones, D. R. (1983). Chickpea rust—a disease new to Australia. Queensland Department of Primary Industry Farm Note AGDEX. **168**, 673.

Jorge, I., Navas-Cortés, J. A., Jiménez-Díaz, R. M., Tena, M. (2006). Cell wall degrading enzymes in *Fusarium* wilt of chickpea: Correlation between pectinase and xylanase activities and disease development in plants infected with two pathogenic races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Canadian Journal of Botany*. **84**, 1395-1404.

Joshi, N. (2011). An investigation on the pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on chickpea (*Cicer arietinum* L.). Doctor of philosophy. Sardar Patel University. India.

Jukanti, A. K., Gaur, P. M., Gowda, C. L., Chibbar, R. N. (2012). Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): A review. *British Journal of Nutrition*. **108**, 11-26.

Kaiser, W. J., Danesh, D. (1971). Biology of four viruses affecting *Cicer arietinum* in Iran. *Phytopathology*. **61**(4), 372-375.

Kaloostian, G. H., Oldfield, G. N., Calavan, E. C., Blue, R. L. (1976). Leafhoppers transmit citrus stubborn disease to weed host. *California Agriculture*. **30**, 4-5.

Kamoun, S. (2007). Groovy times: Filamentous pathogen effectors revealed. *Current Opinion in Plant Biology*. **10**(4), 358-365.

Kang, S., Dobinson, K. F. (2004). Molecular and genetic basis of plant-fungal pathogen interactions. In: *Applied Mycology and Biotechnology*. Vol. 4: Elsevier. pp. 59-97.

Kanouni, H., Taleei, A., 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.

Kashyap, P. L., Rai, S., Kumar, S., Srivastava, A. K. (2016). Genetic diversity, mating types and phylogenetic analysis of Indian races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* from chickpea. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. **49**(19-20), 533-553.

Katan J. (1971) Symptomless carriers of the tomato *Fusarium* wilt pathogen. *Phytopathology*. **61**, 1213-1217.

Katan, T. (1999). Current status of vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytoparasitica*. **27**(1), 51-64.

Katan, T., Berliner, R., Katan, J. (1994). Vegetative compatibility in populations of *Fusarium oxysporum* from wild carnation. *Mycological Research*. **98**, 1415-1418.

Katan, T., Gamliel, A., Katan, J. (1996). Vegetative compatibility of *Fusarium oxysporum* from sweet basil in Israel. *Plant Pathology*. **45**, 656-661.

Katan, T., Hadar, E., Katan, J. (1989). Vegetative compatibility of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* from carnation in Israel. *Plant Pathology*. **38**, 376-381.

Katan, T., Katan, J. (1988). Vegetative compatibility grouping of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* from tissue and the rhizosphere of cotton plants. *Phytopathology*. **78**, 852-855.

Katan, T., Katan, J. (1999). Vegetative compatibility grouping in *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* from the UK, the Netherlands, Belgium and France. *Plant Pathology*. **48**, 541-549.

Katan, T., Katan, J., Gordon, T. R., Pozniak, D. (1993). Physiologic races and vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in Israel. *Phytopathology*. **84**, 153-157.

Katkar, M., Mane, S. S., Kadam, N. (2015). Molecular characterization races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* using RAPD and ISSR markers. *Legume Research*. **38**(2), 246-252.

Katul, U., Vetten, H. J., Maiss, E., Makkouk, K. M., Lesemann, D. E., Casper, R. (1993). Characterisation and serology of virus-like particles associated with faba bean necrotic yellows. *Annals of Applied Biology*. **123**(3), 629-647.

Kaur, A., Sharma, V. K., Sirari, A., Kaur, J., Singh, G., Kumar, P. (2015). Variability in *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* causing wilt in chickpea. *African Journal of Microbiology Research*. **9**(15), 1089-1097.

Kausserud, H. (2004). Widespread vegetative compatibility groups in the dry-rot fungus, *Serpula lacrymans*. *Mycologia*. **96**, 232-239.

Keane, P., Kerr, A. (1997). Factors affecting disease development. In: Plant pathogens and plant diseases. Brown, J. F., Ogle, H. J. (Eds.). Rockvale, Australia. pp. 287-298.

Kelly, A., Alcalá- Jiménez, A. R., Bainbridge, B. W., Heale, J. B., Pérez-Artés, E., Jiménez-Díaz, R. M. (1994). Use of genetic fingerprinting and random amplified polymorphic DNA to characterize pathotypes of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* infecting chickpea. *Phytopathology*. **84**, 1293-1298.

Kerem, Z., Lev-Yadun, S., Gopher, A., Weinberg, P., Abbo, S. (2007). Chickpea domestication in the Neolithic Levant through the nutritional perspective. *Journal of Archaeological Science*. **34**, 1289-1293.

Kerr, A. (1964). The influence of soil moisture on infection of peas by *Pythium ultimum*. *Australian Journal of Biological Sciences*. **17**, 676-685.

Khan, A. K., Jabbar, A., Alam, S. S. (2002). Genetic variation among *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* isolates in Pakistan as determined by biological pathotyping and vegetative compatibility. *Pakistan Journal of Botany*. **34**(4), 433-440.

Khan, M. R., Ashraf, S., Rasool, F., Salati, K. M., Mohiddin, F. A., Haque, Z. (2014). Field performance of *Trichoderma* species against wilt disease complex of chickpea caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* and *Rhizoctonia solani*. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. **38**(4), 447-454.

Khan, R. A., Bhat, T. A., Kumar, K. (2012). Management of chickpea (*Cicer arietinum* L.) dry root rot caused by *Rhizoctonia bataticola* (Taub.) Butler. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. **3**(4), 1539-1548.

Kim, D. H., Martyn, R. D., Magill, C. W. (1993). Mitochondrial DNA (mtDNA)-relatedness among formae speciales of *Fusarium oxysporum* in Cucurbitaceae. *Phytopathology*. **83**, 91-97.

Kiprop, E. K., Mwangombe, A. W., Baudoin, J. P., Kimani, P. M., Mergeai, G. (2002). Cultural characteristics, pathogenicity and vegetative compatibility of *Fusarium udum* isolates from pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] in Kenya. *European Journal of Plant Pathology*. **108**, 147-154.

Kistler, H. C. (1997). Genetic diversity in the plant pathogenic fungus *F. oxysporum*. *Phytopathology*. **87**, 474-479.

Kistler, H. C., Alabouvette, C., Baayen, R. P., Bentley, S., Brayford, D., Coddington, A., Correll, J., vd. (1998). Systematic numbering of vegetative compatibility groups in the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*. **88**, 30-32.

Kistler, H. C., Bosland, P. W., Benny, U., Leong, S., Williams, P. H. (1987). Relatedness of strains of *Fusarium oxysporum* from crucifers measured by examination of mitochondrial and ribosomal DNA. *Phytopathology*. **77**, 1289-1293.

- Klein, K. K., Correll, J. C. (2001). Vegetative compatibility group diversity. In: *Fusarium*. Summerell, B. A., Leslie, J. F., Beckhouse, D., Bryden, W. L., Burgess, L. W. (Eds.). *Paul E. Nelson Memorial Symposium*. St Paul, MN: APS Press, pp: 83-96.
- Klittich, C. J. R., Leslie J. F. (1988). Nitrate reduction mutants of *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*). *Genetics*. **118**, 417-423.
- Klittich, C. J. R., Leslie, J. F., Wilson, J. D. (1986). Spontaneous chlorate-resistant mutants of *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium moniliforme*) (Abstr.). *Phytopathology*. **76**, 1142.
- Knights, E. J., Southwell, R. J., Schwinghamer, M. W., Harden, S. (2008). Resistance to *Phytophthora medicaginis* Hansen and Maxwell in wild *Cicer* species and its use in breeding root rot resistant chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Australian Journal of Agricultural Research*. **59**, 383-387.
- Knogge, W. (1996a). Fungal infection of plants. *Plant Cell*. **8**, 1711-1722.
- Knogge, W. (1996b). Molecular basis of specificity in plant/fungus interactions. *European Journal of Plant Pathology*. **102**, 807-816.
- Kraft, J. M., Haglund, W. A. (1978). A reappraisal of the race classification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. *Phytopathology*. **68**, 273-275.
- Kraft, J. M., Haware, M. P., Hussein, M. M. (1988). In: World crops: Cool season food legumes. Summerfield, R. J. (Ed.). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. pp. 351-365.
- Kraft, J. M., Pflieger, F. L. (2001). Compendium of pea diseases and pests. St. Paul, MN, USA: APS Press.
- Kraft, J. M., Roberts, D. D. (1969). Influence of soil water and temperature on the pea root rot complex caused by *Pythium ultimum* and *Fusarium solani* f. sp. *pisi*. *Phytopathology*. **59**, 149-152.
- Kranz, J. (1988). Measuring plant disease. In: Experimental techniques in plant disease epidemiology. Berlin, Heidelberg: Springer. pp. 35-50.

- Krnjaja, V., Levic, J., Stankovic, S., Vasic, T. (2013). The use of vegetative compatibility tests for identification of biodiversity of phytopathogenic fungi. *Journal Pesticides and Phytomedicine*. **28**(3), 157-165.
- Kuhn, D. N., Cortes, B., Pinto, T., Weaver, J. (1995). Parasexuality and heterokaryosis in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Phytopathology*. **85**, 1119.
- Kuhn, D.N., Cortes, B., Pinto, T., Recalde, G., D'Alessio, N. (1996). Inter-vegetative compatibility group, inter-forma species, and inter-species heterokaryon formation in *Fusarium*. *Phytopathology*. **86**, 32-33.
- Kumar, A. T. U. L., Lal, H. C., Akhtar, J. (2012). Morphological and pathogenic characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* causing wilt of chickpea. *Indian Phytopathology*. **65**(1), 64-66.
- Kumar, J., Rahman, M. M., Singh, N. B., Van Rheenen, H. A., Johansen, C. (1995). Growing chickpea in Bangladesh and Eastern India. Patancheru, India: ICRISAT. p. 44.
- Kumari, S. G., Makkouk, K. M., Loh, M. H., Negassi, K., Tsegay, S., Kidane, R., Kibret, A., Tesfatsion, Y. (2008). Viral diseases affecting chickpea crops in Eritrea. *Phytopathologia Mediterranea*. **47**(1), 42-49.
- Kunwar, I. K., Satyaprasad, K., Ramarao, P. (1989). Histopathology of chickpea plant infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. *International Chickpea Newsletter*. **20**, 17-18
- Kühn, J., Rippel, R., Schmidhalter, U. (2009). Abiotic soil properties and the occurrence of Rhizoctonia crown and root rot in sugar beet. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. **172**(5), 661-668.
- Ladizinsky, G. (1975). A new *Cicer* from Turkey. Notes of the Royal Botanical Garden Edinburgh. **34**, 201-202.
- Ladizinsky, G. (1995) Chickpea, *Cicer arietinum* (Leguminosae-Papilionoideae). In: Evolution of crop plants. Smartt, J., Simmonds, N. W. (Eds.). Longman Scientific & Technical, Harlow, UK. pp. 258-261.

Ladizinsky, G., Adler, A. (1976b). Genetic relationships among the annual species of *Cicer* L. *Theoretical and Applied Genetics*. **48**, 197-203.

Landa, B. B., Navas-Cortés, J. A., Hervás, A., Jiménez-Díaz, R. M. (2001). Influence of temperature and inoculum density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on suppression of Fusarium wilt of chickpea by rhizosphere bacteria. *Phytopathology*. **91**, 807-816.

Landa, B. B., Navas-Cortés, J. A., Jiménez-Díaz, R. M. (2004a). Influence of temperature on plant-rhizobacteria interactions related to biocontrol potential for suppression of fusarium wilt of chickpea. *Plant Pathology*. **53**(3), 341-352.

Landa, B. B., Navas-Cortés, J. A., Jiménez-Díaz, R. M. (2004b). Integrated management of Fusarium wilt of chickpea with sowing date, host resistance, and biological control. *Phytopathology*. **94**, 946-960.

Landa, B. B., Navas-Cortés, J. A., Jiménez-Gasco, M. M., Katan, J., Retig, B., Jiménez-Díaz, R. M. (2006). Temperature response of chickpea cultivars to races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, causal agent of Fusarium wilt. *Plant Disease*. **90**, 365-374.

Larkin, R. P., Hopkins, D. L., Martin, F. N. (1990). Vegetative compatibility within *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* and its relationship to virulence, aggressiveness and race. *Canadian Journal of Microbiology*. **36**, 352-358.

Larkin, R. P., Hopkins, D. L., Martin, F. N. (1996). Suppression of Fusarium wilt of watermelon by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and other microorganisms recovered from a disease-suppressive soil. *Phytopathology*. **86**, 812-819.

Leport, L., Turner, N. C., Davies, S. L., Siddique, K. H. M. (2006). Variation in pod production and abortion among chickpea cultivars under terminal drought. *European Journal of Agriculture*. **24**(3), 236-246.

Leport, L., Turner, N. C., French, R. J., Barr, M. D., Duda, R., Davies, S. L., Tennant, D., Siddique, K. H. M. (1999). Physiological responses of chickpea genotypes to terminal drought in a Mediterranean-type environment. *European Journal of Agronomy*. **11**, 279-291.

Leslie, J. F. (1990). Genetic exchange within sexual and asexual populations of the genus *Fusarium*. In: *Fusarium wilt of banana*. Ploetz, R.C. (Eds.). St. Paul, MN, USA: APS Press. pp. 37-48.

Leslie, J. F. (1993). Fungal vegetative compatibility. *Annual Review of Phytopathology*. **31**, 127-150.

Leslie, J. F., Doe, F. J., Plattner, R. D., Shackelford, D. D., Jonz, J. (1992). Fumonisin B1 production and vegetative compatibility of strains from *Gibberella fujikuroi* mating population 'A' (*Fusarium moniliforme*). *Mycopathologia*. **117**, 37-45.

Leslie, J. F., Summerell, B. A. (2006). The *Fusarium* laboratory manual. Ames, IA, USA: Blackwell Publishing.

Leslie, J. F., Yamashiro, C. T. (1997). Effects of the *tol* mutation on allelic interactions at *het* loci in *Neurospora crassa*. *Genome*. **40**(6), 834-840.

Leslie, J. F., Zeller, K. A. (1996). Heterokaryon incompatibility in fungi-more than just another way to die. *Journal of Genetics*. **75**(3), 415-424.

Levic, J. T. (2008). *Vrste roda Fusarium*. Beograd, Cicero.

Levitt, J. (1972). Responses of plants to environmental stresses. New York & London: Academic. pp. 697.

Lev-Yadun, S., Gopher, A., Abbo, S. (2000). The Cradle of agriculture. *Science*. **288**(5471), 1602-1603.

Li, H., Rodda, M., Gnanasambandam, A., Aftab, M., Redden, R., Hobson, K., Rosewarne, G., Materne, M., Kaur, S., Slater, A. T. (2015). Breeding for biotic stress resistance in chickpea: progress and prospects. *Euphytica*. **204**(2), 257-288.

Lievens, B., Claes, L., Vakalounakis, D. J., Vanachter, A. C. R. C., Thomma, B. P. H. J. (2007). A robust identification and detection assay to discriminate the cucumber pathogens *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* and f. sp. *radicis-cucumerinum*. *Environmental Microbiology*. **9**, 2145-2161.

Lievens, B., Hanssen I. M., Rep M. (2012). Recent developments in the detection and identification of formae speciales and races of *Fusarium oxysporum*: From pathogenicity testing to molecular diagnostics. In: *Fusarium wilts of greenhouse vegetable and ornamental crops*. Gullino, M. L., Katan, J., Garibaldi, A. (Eds.). St Paul, MN: APS Press. pp. 47-55.

Liu, W., Sundheim, L. (1996). Nitrate nonutilizing mutants and vegetative compatibility groups in *Fusarium poae*. *Fungal Genetics and Biology*. **20**(1), 12-17.

Lopez-Bellido, L., Fuentes, M., Castillo, J. E., Lopez-Garrido, F. J., Fernandez, E. J. (1996). Long-term tillage, crop rotation, and nitrogen fertilizer effects on wheat yield under rainfed Mediterranean conditions. *Agronomy Journal*. **88**, 783-791.

Lori, G., Edel-Hermann, V., Gautheron, N., Alabouvette, C. (2007). Genetic diversity of pathogenic and nonpathogenic populations of *Fusarium oxysporum* isolated from carnation fields in Argentina. *Phytopathology*. **94**(6), 661-668.

Lubeck, M., Poulsen, H. (2001). UP-PCR cross blot hybridization as a tool for identification of anastomosis groups in the *Rhizoctonia solani* complex. *FEMS Microbiology Letters*. **201**, 83-89.

Ma, L. J., Van der Does, H. C., Borkovich, K. A., Coleman, J. J., Daboussi, M. J., Di Pietro, A., Dufresne, M., Freitag, M., vd. (2010). Comparative genomics reveals mobile pathogenicity chromosomes in *Fusarium*. *Nature*. **464**(7287), 367-373.

MacHardy, W. E., Beckman, C. H. (1981). Vascular wilt Fusaria: Infections and Pathogenesis. In: *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*. Nelson, P. E., Toussoun, T. A., Cook, R. J. (Eds.). University Park and London: The Pennsylvania State University Press. pp. 365-390.

Madden, L. V., Hughes, G., Van Den Bosch, F. (2007). The study of plant disease epidemics. Vol. 19: St. Paul, Minnesota, USA: APS Press.

Maden, S. (1987). Seed-borne fungal diseases of chickpea in Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology*. **16**, 1-8.

- Maitlo, S., Rajput, A., Syed, R., Khanzada, M., Rajput, N., Lodhi, A. (2017). Influence of physiological factors on vegetative growth and sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Pakistan Journal of Botany*. **49**, 311-316.
- Manulis, S., Kogan, N., Reuven, M., Ben-Yephet, Y. (1994). Use of the RAPD technique for identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* from carnation. *Phytopathology*. **84**, 98-101.
- Markell, S., Wise, K., McKay, K., Goswami, R., Gudmestad, N. (2008). Plant disease management. NDSU Extension Service. Fargo: North Dakota State University.
- Martin, A., Dolar, S. (2009). Yerli nohut çeşitlerinin *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* ırklarına karşı reaksiyonları, *Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi*, 15-18 Temmuz 2009, Van. p. 247.
- Martinez, G. E., de Albarracin, N., Arcia, A., Subero, L., Albarracin, M. (1996). Basal rot of garlic caused by *Fusarium oxysporum*. *Agronomia Tropical*. **46**, 265-273.
- Martinez, S. M., Snowdon, R., Pons-Kuhnemann, J. (2004). Variability of Cuban and international populations of *Alternaria solani* from different hosts and localities: AFLP genetic analysis. *European Journal of Plant Pathology*. **110**, 399-409.
- Marzluf, G. A. (1981). Regulation of nitrogen metabolism and gene expression in fungi. *Microbiological Reviews*. **45**, 437-461.
- Marzluf, G. A., Perrine, K. G., Nahm, B. H. (1985). Genetic regulation of nitrogen metabolism in *Neurospora crassa*. In: Molecular genetics of filamentous fungi. Timberlake, W. E., Liss, A. R. (Eds.). Vol. 34: New York. 83-94.
- Matheron, M. E., Porchas, M. (2000). First report of stem and crown rot of garbanzo caused by *Sclerotinia minor* in the United States and by *Sclerotinia sclerotiorum* in Arizona. *Plant Disease*. **84**, 1250.
- Matthews, P., McCaffery, D., Jenkins, L. (2014). Winter crop variety sowing guide 2014. Sydney: NSW Department of Primary Industries.

- Mazur, S., Nawrocki, J., Kucmierz, J. (2002). Fungal diseases of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivated in the south region of Poland. *Plant Protection Science*. **38**, 332-335.
- Mazur, S., Nawrocki, J., Kućmierz, J. (2004). Disease symptoms on chickpea (*Cicer arietinum* L.) and their causal agents. *Folia Horticulturae*. **16**(1), 47-53.
- McDonald, B. A. (1997). The population genetics of fungi: Tools and techniques. *Phytopathology*. **87**, 448-453.
- McDonald, B. A., Linde, C. (2002a). The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. *Euphytica*. **124**(2), 163-180.
- McDonald, B. A., Linde, C. (2002b). Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology*. **40**(1), 349-379.
- McIntosh, G. H., Topping, D. L. (2000). Food legumes in human nutrition. In: Linking research and marketing opportunities for pulses in the 21st century. Knight, R. (Ed.). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. pp. 655-666.
- McKerrall, A. (1923). A note on Fusarium wilt of gram in Burma and measures taken to combat it. *Agricultural Journal of India*. **18**, 608-613.
- McMullen, M. P., Stack, R. W. (1983). Effects of isolation techniques and media on the differential isolation of *Fusarium* species. *Phytopathology*. **73**, 458-462.
- McRae, W. (1932). Export of the imperial mycologist. pp. 78-86.
- Mehmood, Y., Khan, M. A., Javed, N., Arif, M. J. (2013). Effect of soil and environmental factors on chickpea wilts disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Pakistan Journal of Phytopathology*. **25**(1), 52-58.
- Mehrabi, R., Bahkali, A. H., Abd-Elsalam, K. A., Moslem, M., Ben M'Barek S., Gohari, A. M., Jashni, M. K., Stergiopoulos, I., Kema, G. H. J., de Wit P. J. G. M. (2011). Horizontal gene and chromosome transfer in plant pathogenic fungi affecting host range. *FEMS Microbiology Review*. **35**, 542-554.

Mendgen, K., Bachem, U., Stark-Urnau, M., Xu, H. (1995). Secretion and endocytosis at the interface of plants and fungi. *Canadian Journal of Botany*. **73**(1), 640-648.

Merkuz, A., Getachew, A. (2012). Epidemic of fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*) of chickpea at wilt sick plot in adet-ethiopia. *International Journal of Current Research*, **4**(05), 135-141.

Merzoug, A., Belabid, L. (2017). Relationship between pathogenicity, race and vegetative compatibility grouping among Algerian populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* causing pea wilt. *Journal of Plant Protection Research*. **57**(4), 111-124.

Merzoug, A., Benfreha, F., Taleb, M., Belabid, L. (2009). Fungal disease of pea (*Pisum sativum*) and Chickpea (*Cicer arietinum*) in northwestern Algeria. (Abstr.), *10th Arab Congress of Plant Protection*, pp. 26-30.

Mesterhazy, A. (1995). Types and components of resistance to *Fusarium* head blight of wheat. *Plant Breeding*. **114**, 377-386.

Miao, V. P., Covert, S. F., Van Etten, H. D. (1991). A fungal gene for antibiotic resistance on a dispensable ("B") chromosome. *Science*. **254**, 1773-1776.

Migheli, Q., Briatore, E., Garibaldi, A. (1998). Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to identify races 1, 2, 3 and 8 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* in Italy. *European Journal of Plant Pathology*. **104**, 49-57.

Milgroom, M. G., Fry, W. E. (1997). Contributions of population genetics to plant disease epidemiology and management. *Advances in Botanical Research*. **24**, 2-30.

Millan, T., Clarke, H. J., Siddique, K. H. M., Buhariwalla, H. K., Gaur, P. M., Kumar, J., Gil, J., Kahl, G., Winter, P. (2006). Chickpea molecular breeding: New tools and concepts. *Euphytica*. **147**, 81-103.

Miller, P. R., Gan, Y., McConkey, B. G., McDonald, C. L. (2003). Pulse crops for the northern Great Plains. *Agronomy Journal*. **95**(4), 980-986.

Miller, P. R., O'Brien, M. (1957). Prediction of plant disease epidemics. *Annual Review in Microbiology*. **11**(1), 77-110.

Mina, U., Dubey, S. C. (2010). Effect of environmental variables on development of Fusarium wilt in chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. **80**(3), 233-236.

Mohamed, G. I., Mohamed, G. A. A., Mohamed, M. S., Abo-Elnaga, H. I., Mahran, A. (2016). Genetic diversity among isolates of *Fusarium* spp. causing root rot and damping off chickpea. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*. **4**(5), 857-864.

Mohamed, O. E., Ahmed, S., Singh, M., Elmahi Ahmed, N. (2018). Association of crop production practices on the incidence of wilt and root rot diseases of chickpea in the Sudan. *Arab Journal of Plant Protection*. **36**(1), 21-26.

Mohamed, O. E., Hamwiah, A., Ahmed, S., Ahmed, N. E. (2015). Genetic variability of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* population affecting chickpea in the Sudan. *Journal of Phytopathology*. **163**(11-12), 941-946.

Mohammadi A., Nejad, R. F., Mofrad N. N. (2012). *Fusarium verticillioides* from sugarcane, vegetative compatibility groups and pathogenicity. *Plant Protection Science*. **48**, 80-84.

Mohammadi, P., Bahramnejad, B., Badakhshan, H., Kanouni, H. (2015). DNA methylation changes in fusarium wilt resistant and sensitive chickpea genotypes (*Cicer arietinum* L.). *Physiological and Molecular Plant Pathology*. **91**, 72-80.

Mondal, S., Hyakumachi, M. (1998). Carbon loss and germinability, viability, and virulence of chlamydospores of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* after exposure to soil at different pH levels, temperatures, and matric potentials. *Phytopathology*. **88**(2), 148-155.

Montakhabi, M. K., Bonjar, G. H. S., Talebi, R. (2018). Genetic diversity and population structure of Iranian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, the causal agent of chickpea wilt, using ISSR and DAMD-PCR markers. *Environmental and Experimental Biology*. **16**, 291-298.

Moore, K., Kelly, L., Ryley, M., Hobson, K., Knights, T., Harden, S., Martin, W., King, K., Nash, P., Chiplin, G., Bithell, S. (2015) *Phytophthora* in chickpea varieties-resistance rankings and yield loss. GRDC updated papers. <http://www.grdc.com.au/Research-and-Development/GRDC-Update-Papers/2015/02/Phytophthora-in-chickpea-varieties-resistancerankings-and-yield-loss>. 05.12.2019.

Moore, K., Ryley, M., Schwinghamer, M., Cumming, G., Jenkins, L. (2011). Chickpea: *Phytophthora* root rot management. Pulse Australia Disease Management Series: Northern Pulse Bulletin. PA 2011#11.

Muehlbauer, F. J. (1993). Use of wild species as a source of resistance in cool-season food legume crops. In: Breeding for stress tolerance in cool-season food legumes. Singh, K. B., Saxena, M. C. (Eds.). Chichester, UK: Wiley, pp. 359-372.

Muehlbauer, F. J., Kaiser, W. J., Simon, C. J. (1993). Potential for wild species in cool season food legume breeding. *Euphytica*. **73**(1-2), 109-114.

Muntanola-Cvetković, M. (1990). Opšta mikologija. Beograd: Načna knjiga. p. 320.

Murumkar, C. V., Chavan, P. D. (1985). Physiology changes in chickpea level, infected by *Fusarium* wilt. *Biovigyanam*. **11**(1), 118-120.

Muzquiz, M., Wood, J. A. (2007). Antinutritional factors. In: Chickpea breeding and management. Yadav, S. S., Redden, R. J., Chen, W., Sharma, B. (Eds.). Wallingford: CABI. pp. 143-166.

Mycobank, (2020). Fungal Databases, Nomenclature & Species Banks, <http://www.mycobank.org/>. 16.01.2020.

Najar, A., Kumari, S., Attar, N., Lababidi, S. (2011). First report of chickpea chlorotic stunt virus infecting legume crops in Tunisia. *Plant disease*. **95**(10), 1321.

Najar, A., Makkouk, K. M., Boudhir, H., Kumari, S. G., Zarouk, R., Bessai, R., Othman, F. B. (2000). Viral diseases of cultivated legume and cereal crops in Tunisia. *Phytopathologia Mediterranea*. **39**(3), 423-432.

Namiki, F., Shiomi, T., Kayamura, T., Tsuge, T. (1994). Characterization of the formae speciales of *Fusarium oxysporum* causing wilts of cucurbits by DNA

fingerprinting with nuclear repetitive DNA sequences. *Applied and Environmental Microbiology*. **60**(8), 2684-2691.

Narasimhan, R. (1929). A preliminary note on a *Fusarium* parasitic on Bengal Gram (*Cicer arietinum*). Madras Agricultural Department Year Book, pp. 5-11.

Nath, N., Ahmed, A. U., Aminuzzaman, F. M. (2017). Morphological and physiological variation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* isolates causing wilt disease in chickpea. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*. **2**(1), 202-212.

Navas-Cortés, J. A., Alcalá-Jiménez, A. R., Hau, B., Jiménez-Díaz, R. M. (2000a). Influence of inoculum density of races 0 and 5 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on development of Fusarium wilt in chickpea cultivars. *European Journal of Plant Pathology*. **106**, 135-146.

Navas-Cortés, J. A., Hau, B., Jiménez-Díaz, R. M. (1998). Effect of sowing date, host cultivar, and race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on development of Fusarium wilt of chickpea. *Phytopathology*. **88**, 1338-1346.

Navas-Cortés, J. A., Hau, B., Jiménez-Díaz, R. M. (2000b). Yield loss in chickpeas in relation to development of Fusarium wilt epidemics. *Phytopathology*. **90**, 1269-1278.

Nelson, P. E. (1981). Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*. In: Fungal wilt diseases of plants. Beckmann, C. H. (Ed.). St Paul, Minnesota: APS Press. pp. 51-79.

Nelson, P. E., Tousson, T. A., Marasas, W. F. O. (1983). *Fusarium* Species: An illustrated manual for identification. University Park, PA: Pennsylvania State University Press.

Nene, Y. L. (1979). Resistance to soil-borne diseases of legumes, *Proceedings of the Consultants' Group Discussion*, 8-11 January 1979, Patancheru, India: ICRISAT.

Nene, Y. L. (1980). Diseases of chickpea, *Proceedings of the International Workshop on Chickpea Improvement*, 28 Feb-2 Mar 1979, Hyderabad, India: ICRISAT. pp. 171-178.

Nene, Y. L. (1985). Opportunities for research on diseases of pulse crops. *Indian Phytopathology*. **38**, 1-10.

Nene, Y. L., Haware, M. P. (1980). Screening chickpea for resistance to wilt. *Plant Disease*. **64**, 379-380.

Nene, Y. L., Haware, M. P., Reddy, M. V. (1978). Diagnosis of some wilt-like disorders of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *ICRISAT Information Bulletin*. **3**, 44.

Nene, Y. L., Reddy, M. V. (1987). Chickpea diseases and their control. In: The chickpea. Saxena, M. C., Singh, K. B. (Eds.). Oxon, United Kingdom: CAB International. pp. 233-270.

Nene, Y. L., Reddy, M. V., Haware, M. P., Ghanekar, A. M., Amin, K. S. (1991). Field diagnosis of chickpea diseases and their control. In: Information bulletin no 28. Patancheru, India: ICRISAT.

Nene, Y. L., Reddy, M. V., Haware, M. P., Ghanekar, A. M., Amin, K. S., Pande, S., Sharma, M. (2012). Field diagnosis of chickpea diseases and their control. Information bulletin no 28 (revised). Patancheru, India: ICRISAT. p. 60.

Nevo, E., Beiles, A. (1989). Genetic diversity of wild emmerwheat in Israel and Turkey: Structure, evolution, and application in breeding. *Theoretical and Applied Genetics*. **77**, 421-455.

Nguyen, T. T., Taylor, P. W. J., Redden, R. J., Ford, R. (2004). Genetic diversity estimates in *Cicer* using AFLP analysis. *Plant Breeding*. **123**, 173-179.

Nikam, P. S., Jagtap, G. P., Sontakke, P. L. (2011). Survey, surveillance and cultural characteristics of chickpea wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. *African Journal of Agricultural Research*. **6**(7), 1913-1917.

Njambere, E. N., Chen, W., Frate, C., Wu, B-M., Temple, S. R., Muehlbauer, F. J. (2008). Stem and crown rot of chickpea in California caused by *Sclerotinia trifoliorum*. *Plant Disease*. **92**, 917-922.

Nogales-Moncada, A. M., Jiménez Díaz, R. M., Perez-Artez, E. (2009). Vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and *F. oxysporum* nonpathogenic to chickpea. *Journal of Phytopathology*. **157**, 729-735.

Nomura, Y. (1992). Pathogenicity to pumpkins (*Cucurbita* spp.) of bottle gourd *Fusarium* wilt organism (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lagenariae*) isolated from acutely wilted cucurbitaceous plants. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*. **58**, 373-379.

Nour, S. M., Cleyet-Marel, J. C., Normand, P., Fernandez, M. P. (1995). Genomic heterogeneity of strains nodulating chickpea (*Cicer arietinum* L.) and description of *Rhizobium mediterraneum* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. **45**, 640-648.

Nutter, F. W. Jr., Gaunt, R. E. (1996). Recent developments in methods for assessing disease losses in forage/pasture crop. In: Pasture and forage crop pathology. Chakraborty, S., Leath, D. T., Skipp, R. A., Pederson, G. A., Bray, R. A., Latch, G. C. M., Nutter, F. W. Jr. (Eds.). Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America. pp. 93-118.

O'Donnell, K., Cigelnik, E. (1997). Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. **7**, 103-116.

O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E., Ploetz, R. C. (1998). Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies, *Proceedings of the National Academy of Science*, **95**, 2044-2049.

O'Donnell, K., Sutton, D. A., Rinaldi, M. G., Magnon, K. C., Cox, P. A., Revankar, S. G., Sanche, S., Geiser, D. M., Juba, J. H., vd. (2004). Genetic diversity of human pathogenic members of the *Fusarium oxysporum* complex inferred from multilocus DNA sequence data and amplified fragment length polymorphism analyses:

Evidence for the recent dispersion of a geographically widespread clonal lineage and nosocomial origin. *Journal of Clinical Microbiology*. **42**(11), 5109-5120.

O'Donnell, K., Gueidan, C., Sink, S., Johnston, P. R., Crous, P. W., Glenn, A., Riley, R., Zitomer, N. C., Colyer, P., Waalwijk, C., Van der Lee, T., vd. (2009). A two-locus DNA sequence database for typing plant and human pathogens within the *Fusarium oxysporum* species complex. *Fungal Genetics and Biology*. **46**, 936-948.

O'Toole, N., Stoddard, F. L., O'Brien, L. (2001). Screening of chickpea for adaptation to autumn sowing. *Journal of Agronomy and Crop Science*. **186**, 193-207.

Olivain, C., Alabouvette, C. (1997). Colonization of tomato root by a nonpathogenic strain of *Fusarium oxysporum*. *New Phytologist*. **137**, 481-494.

Olivain, C., Alabouvette, C. (1999). Process of tomato root colonization by a pathogenic strain of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in comparison with a nonpathogenic strain. *New Phytologist*. **141**, 497-510.

Olivain, C., Trouvelot, S., Binet, M. N., Cordier, C., Pugin, A., Alabouvette, C. (2003). Colonization of flax roots and early physiological responses of flax cells inoculated with pathogenic and nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. *Applied Environmental Microbiology*. **69**, 5453-5462.

Ouellett, T., Seifert, K. A. (1993). Genetic characterisation of *Fusarium graminearum* strains using RAPD and PCR amplification. *Phytopathology*. **83**, 1003-1007.

Pachauri, R. K., Reisinger, A. (2007). Climate change 2007: Synthesis report. contribution of working groups I, II and III to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Geneva, Switzerland: IPCC.

Padwick, G. W. (1940). The genus *Fusarium*. III. A critical study of the fungus causing wilt of gram (*Cicer arietinum* L.) and of the related species of the subsection Orthocera, with special relation to the variability of key characteristics. *Indian Journal of Agricultural Science*. **10**, 241-284.

Padwick, G. W. (1941). Report of the imperial mycologist. Scientific Report, 1939-40, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, India, pp. 94-101.

Pál, K., Van Diepeningen, A. D., Varga, J., Hoekstra, R. F., Dyer, P. S., Debets, A. J. M. (2007). Sexual and vegetative compatibility genes in the aspergilli. *Studies in Mycology*. **59**, 19-30.

Pala, M., Saxena, M. C., Papastylianou, I., Jaradat, A. A. (1994). Enhancing the use of cool season food legumes in different farming systems. In: Expanding the production and use of cool season food legumes. Muehlbauer, F. J., Kaiser, W. J. (Eds.). Kluwer, Dordrecht. pp. 130-143.

Pande, S., Kishore, G. K., Upadhyaya, H. D., Rao, J. N. (2006a). Identification of sources of multiple disease resistance in mini-core collection of chickpea. *Plant Disease*. **90**(9), 1214-1218.

Pande, S., Ramgopal, D., Kishore, G. K., Mallikarjuna, N., Sharma, M., Pathak, M., Narayana Rao, J. (2006b). Evaluation of wild *Cicer* species for resistance to Ascochyta blight and Botrytis grey mold in controlled environment at ICRISAT, Patancheru, India. *Journal of SAT Agricultural Research*. **2**(1), 1-3.

Pande, S., Rao, J. N., Sharma, M. (2007). Establishment of the chickpea wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in the soil through seed transmission. *Plant Pathology Journal*. **23**(1), 3-6.

Pande, S., Siddique, K. H. M., Kishore, G. K., Bayaa, B., Gaur, P. M., Gowda C. L. L., Bretag, T. W., Crouch, J. H. (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., Singh, G., Rao, J. N., Bakr, M. A., Chaurasia, P. C. P., Joshi, S., Johansen, C., Singh, S. D., Kumar, J., Rahman, M. M., Gowda, C. L. L. (2002). Integrated management of Botrytis gray mold of chickpea. Information Bulletin No 61. Andhra Pradesh, India: ICRISAT.

Papa, K. E. (1986). Heterokaryon incompatibility in *Aspergillus flavus*. *Mycologia*. **78**, 98-101.

Parađiković, N., Ćosić, J., Jurković, D. (2000). Suzbijanje *Fusarium oxysporum* na gerberama (*Gerbera jamesonii* H. Bolus ex JD Hook) biološkim pripravkom. *Agriculture Scientific and Professional Review*, **6**(2), 58-61.

Pasquali, M., Dematheis, F., Gilardi, G., Gullino, M. L., Garibaldi, A. (2005). Vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* from lettuce. *Plant disease*. **89**(3), 237-240.

Pasquali, M., Marena, E. R., Gullino, M. L., Gariboldi, A. (2004). Vegetative compatibility grouping of *Fusarium* wilt pathogen of paris daisy (*Argyranthemum frutescens* L.). *Journal of Phytopathology*. **152**, 257-259.

Patil, M., Gupta, O., Pawar, M., Chobe, D. (2015). Effect of culture media, pH and temperature on the mycelial growth and sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* isolates of chickpea from Central Zone of India. *JNKVV Research Journal*. **49**(1), 54-60.

Peever, T. L., Canihos, Y., Olsen, Y., Ibanez, A., Liu, Y. C., Timmer, L. W. (1999). Population genetic structure and host specificity of *Alternaria* spp. causing brown spot of mineola and rough lemon in Florida. *Phytopathology*. **89**, 851-860.

Peng, H., Sivasithamparam, K., Turner, D. (1999). Chlamydospore germination and *Fusarium* wilt of banana plantlets in suppressive and conducive soils are affected by physical and chemical factors. *Soil Biology and Biochemistry*. **31**(10), 1363-1374.

Pérez-Artés, E., Roncero, M. I. G., Jiménez-Díaz, R. M. (1995). Restriction fragment length polymorphism analysis of the mitochondrial DNA of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Phytopathology*. **143**, 105-109.

Pérez-Artés, E., Tena, M. (1990). Purification and characterization of pectic enzymes from two races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* differing in virulence to chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Physiological and Molecular Plant Pathology*. **37**, 107-124.

Persmark, M., Pittman, P., Buyer, J. S., Schwyn, B., Gill, P. R., Neiland, J. B. (1993). Isolation and structure of Rhizobactin 1021, a siderophore from the alfalfa symbiont *Rhizobium meliloti* 1021. *Journal of the American Chemical Society*. **115**, 3950-3956.

Phillips, J. C. (1988). A distinct race of chickpea wilt in California. *International Chickpea Newsletters*. **18**, 19-20.

Pintore, I., Gilardi, G., Gullino, M. L., Garibaldi, A. (2017). Analysis of vegetative compatibility groups of Italian and Dutch isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*. *Journal of Plant Pathology*. **99**(2), 517-521.

Ploetz R. C., Correll, J. C. (1988). Vegetative compatibility among races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Plant Disease*. **72**, 325-328.

Ploetz, R. C. (1990). Population biology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. In: *Fusarium wilt of banana*. Ploetz, R.C. (Ed.). St Paul, MN: APS Press. pp. 63-76.

Ploetz, R. C., Shepard, E. S. (1989). Fusarial wilt of banana in Florida. *Mycological Research*. **93**, 242-245.

Poornima, K. N., Sabaale, P. R., Patil, P. G., Das, A., Soren, K. R., Singh, N. P. (2017). PCR based race identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* using molecular markers. *Journal of Food Legumes*. **30**(1), 6-10.

Postic, J., Cosic, J., Vrandecic, K., Jurkovic, D., Saleh, A. A., Leslie, J. F. (2012). Diversity of *Fusarium* species isolated from weeds and plant debris in Croatia. *Journal of Phytopathology*. **160**, 76-81.

Prasad, N., Padwick, G. W. (1939) The Genus *Fusarium*. II. A species of *Fusarium* as a cause of wilt of gram (*Cicer arietinum* L.). *Indian Journal of Agricultural Sciences*. **9**, 371-380.

Pueppke, S. G. (1986). Physiology of nodule initiation in the nitrogen-fixing legume-*Rhizobium* symbiosis. *Physiologia Plantarum*. **67**(2), 262-266.

Puhalla, J. E. (1981). Genetic consideration of the genus *Fusarium*. In: *Fusarium: Diseases, biology and taxonomy*. Nelson, P. E., Toussoun, T. A., Cook, R. J. (Eds.). University Park: The Pennsylvania State University Press. pp. 291-305.

Puhalla, J. E. (1985). Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Canadian Journal of Botany*. **63**, 179-183.

Puhalla, J. E., Spieth, P. T. (1983). Heterokaryosis in *Fusarium moniliforme*. *Experimental Mycology*. **7**, 328-335.

Puhalla, J. E., Spieth, P. T. (1985). A comparison of heterokaryosis and vegetative incompatibility among varieties of *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium moniliforme*). *Experimental Mycology*. **9**, 39-47.

Radford, A. (2004). Metabolic highways of *Neurospora crassa* revisited. *Advances in Genetics*. **52**, 165-207.

Ragazzi, A. (1982). Un grave attacco di ruggine su foglie di cese. (A serious attack of rust on *Cicer arietinum* leaves). *Informatore Fitopatologico*. **32**(2), 41-43.

Rahman, M. L., Haware, M. P., Mian, I. H., Akanda, A. M. (1998). Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* causing chickpea wilt in India. *Bangladesh Journal of Plant Pathology*. **14**, 33-36.

Rakhonde, P. N., Mane, S. S., Gawande, A. D., Bangar, S. S., Moharil, M. P. (2015). Molecular and pathogenic variability among Indian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* causing wilt in chickpea. *The Ecoscan*. **7**, 21-28.

Rakhonde, P. N., Mane, S. S., Gawande, A. D., Wadskar, R. M., Vyavhare, G. F., Harne, A. D. (2017). Molecular diversity in Indian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* by ISSR analysis. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. **SP1**, 195-201.

Recorbet, G., Steinberg, C., Olivain, C., Edel, V., Trouvelot, S., Dumas-Gaudot, E., Gianinazzi, S., Alabouvette, C. (2003). Wanted: pathogenesis-related marker molecules for *Fusarium oxysporum*. *New Phytologist*. **159**, 73-92.

Redden, R. J., Berger, J. D. (2007). History and origin of chickpea. In: Chickpea breeding and management. Yadav, S. S., Redden, R. J., Chen, W., Sharma, B. (Eds.). Wallingford: CABI. pp. 1-13.

Reddy, M. V., Singh, O., Bharati, M. P., Sah, R. P., Joshi, S. (1988). Botrytis grey mold epiphytotic of chickpea in Nepal. *International Chickpea Newsletter*. **19**, 15.

Rizvi, R., Mahmood, I., Tiyaqi, S. A., Khan, Z. (2012). Effect of some botanicals for the management of plant-parasitic nematodes and soil-inhabiting fungi infesting chickpea. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. **36**, 710-719.

Robertson, L. D., Ocampo, B., Singh, K. B. (1997). Morphological variation in wild annual *Cicer* species in comparison to the cultigen. *Euphytica*. **95**, 309-319.

Rodrigues, A. A. C., Menezes, M. (2005). Identification and pathogenic characterization of endophytic *Fusarium* species from cowpea seeds. *Mycopathologia*. **159**(1), 79-85.

Rodríguez-Gálvez, E., Mendgen, K. (1995). The infection process of *Fusarium oxysporum* in cotton root tips. *Protoplasma*. **189**, 61-72.

Roebroeck, E. J. A., Mes, J. J. (1992). Physiological races and vegetative compatibility groups within *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*. *Netherlands Journal of Plant Pathology*. **98**, 57-64.

Rowan, S. J. (1989). Yellows, or chlorosis. In: Forest nursery pests. Agriculture Handbook 680. Cordell, C. E.; Anderson, R. L.; Hoffard, W. H.; Landis, T. D.; Smith, Jr., R. S.; Toko, H. V., (Eds.). Washington, DC: USDA Forest Service. pp. 130-131.

Rubiales, D., Castillejo, M. A., Madrid, E., Barilli, E., Rispail, N. (2011). Legume breeding for rust resistance: lessons to learn from the model *Medicago truncatula*. *Euphytica*. **180**, 89-98.

Rubiales, D., Fondevilla, S., Chen, W., Gentzbittel, L., Higgins, T. J., Castillejo, M. A., Singh, K. B., Rispail, N. (2015). Achievements and challenges in legume breeding for pest and disease resistance. *Critical Reviews in Plant Sciences*. **34**(1-3), 195-236.

Saabale, P. R. (2013). Analysis of vegetative compatibility grouping of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and its molecular interaction with chickpea plants. PhD thesis, Indian Agricultural Research Enstitute, Division of Plant Pathology, New Delhi, India.

- Saabale, P. R., Dubey, S. C. (2014). Pathogenicity and vegetative compatibility grouping among Indian populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* causing chickpea wilt. *Phytoparasitica*. **42**, 465-473.
- Salimath, P. M., Bahl, P. N., Mehra, R. B. (1984). Genetic diversity in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Plant Breeding*. **92**(1), 52-60.
- Sambamurty, A. V. S. S. (2013). Significance of plant pathology. In: A textbook of plant pathology. New Delhi, India: IK International Pvt Ltd. pp. 7-15.
- Samuels, G. J., Nirenberg, H. I., Seifert, K. A. (2001). Perithecal species of *Fusarium*, *Memorial Symposium*. St. Paul, MN: APS Press. pp. 1-14.
- Saremi, H., Backhouse, D., Burgess, L. W. (1997). Mycogeographic survey of *Fusarium* species in southeastern New South Wales, *Fifth European Fusarium Seminar*. Szeged, Hungary. pp. 611-612.
- Satyaprasad, K., Bateman, G. L., Ward, E. (2000). Comparisons of isolates of *F. avenaceum* from lupin and other crops by pathogenicity tests, DNA analysis and vegetative compatibility test. *Journal of Phytopathology*. **148**, 211-219.
- Saupe, S. J. (2000). Molecular genetics of heterokaryon incompatibility in filamentous Ascomycetes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. **64**, 489-502.
- Saxena, M. C. (1990). Problems and potential of chickpea production in the nineties. *Chickpea in the nineties: Proceedings international workshop chickpea improvement*. Patancheru, India: ICRISAT. pp.13-27.
- Saxena, M. C., Saxena, N. P., Mohamed, A. K. (1988). High temperature stress. In: World crops: Cool season food legumes. Summerfield, R. J. (Ed.). Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publisher. pp. 845-856.
- Saxena, M. C., Singh, K. B. (1987). The chickpea. Wallingford, UK: CAB International.
- Schmidt, S. M., Lukasiewicz, J., Farrer, R., Van Dam, P., Bertoldo, C., Rep, M. (2015). Comparative genomics of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* reveals the

secreted protein recognized by the Fom-2 resistance gene in melon. *New Phytologist*. **209**(1), 307-318.

Schoeneweiss, D. F. (1975). Predisposition, stress, and plant disease. *Annual Review of Phytopathology*. **13**, 193-211.

Schoffemeer, E. A. M., Klisa, F. M., Sietsma, J. H., Cornelissen, B. J.C. (1999). The cell wall of *Fusarium oxysporum*. *Fungal Genetics and Biology*. **27**, 275-282.

Schroth, M. N., Becker, J. O. (1990). Concepts of ecological and physiological activities of rhizobacteria related to biological control and plant growth promotion. In: Biological control of soilborne plant pathogens. Hornby, D. (Ed.). Wallingford, UK: CAB International. pp. 389-414.

Sen, B. (2000). Biological control: A success story. *Indian Phytopathology*. **53**, 243-249.

Shakir, A. S., Mirza, J. H. (1994). Location of seed-borne fungi in chickpea seed. *Pakistan Journal of Phytopathology*. **6**, 87-90.

Sharma, B. L., Gupta, R. N. (1987). Survival of *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* causing wilt of Bengal gram during summer month. *Indian Phytopathology*. **36**(3), 261-262.

Sharma, K. D., Chen, W., Muehlbauer, F. J. (2005). Genetics of chickpea resistance to five races of *Fusarium* wilt and a concise set of race differentials for *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Plant Disease*. **89**, 385-390.

Sharma, M., Varshney, R. K., Rao, J. N., Kannan, S., Hoisington, D., Pande, S. (2009). Genetic diversity in Indian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, chickpea wilt pathogen. *African Journal of Biotechnology*. **8**(6), 1016-1023.

Sharma, P. D. (2004). The fungi. Delhi, India: Rastogi Publications. pp. 300.

Sharma, S., Upadhyaya, H. D., Roorkiwal, M., Varshney, R. K., Gowda, C. L. L. (2013). Chickpea. In: Genetic and genomic resources of grain legume improvement. Singh, M., Upadhyaya, H. D., Bisht, I. (Eds.), London: Elsevier. pp. 81-104.

- Shehabu, M., Ahmed, S., Sakhuja, P. K. (2008). Pathogenic variability in Ethiopian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and reaction of chickpea improved varieties to the isolates. *International Journal of Pest Management*. **54**(2), 143-149.
- Siddique, K. H. M., Loss, S. P., Regan, K. L., Jettner, R. L. (1999). Adaptation and seed yield of cool season grain legumes in Mediterranean environments of south-western Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*. **50**, 375-387.
- Sillero, J. C., Fondevilla, S., Davidson, J., Patto, M. V., Warkentin, T. D., Thomas, J., Rubiales, D. (2006). Screening techniques and sources of resistance to rusts and mildews in grain legumes. *Euphytica*. **147**(1-2), 255-272.
- Sillero, J. C., Moreno-Álías, I., Rubiales, D. (2012). Identification and characterization of resistance to rust (*Uromyces ciceris-arietini* (Grognot) Jacz. & Boyd) in a germplasm collection of *Cicer* spp. *Euphytica*. **188**(2), 229-238.
- Silva-Muniz, M. F., Muchovej, J. J., Maffia, L. A., Muchovej, R. M. C., Brommonschenkel, S. H., Alvarez-Venegas, V. H. (1991). Influence of calcium nutrition on wilt of dry bean. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. **26**, 2033-2041.
- Simko, I., Piepho, H. P. (2012). The area under the disease progress stairs: Calculation, advantage, and application. *Phytopathology*. **102**, 381-389.
- Singh, B. K., Srivastava, M., Narain, U. (2003a). Evaluation of biogents *Rhizoctonia bataticola* causing chickpea dry root rot. *Journal of Farm Sciences*. **12**, 48-49.
- Singh, B. P., Saikia, R., Yadav, M., Singh, R., Chauhan, V. S., Arora, D. K. (2006). Molecular characterization of *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* causing wilt of chickpea, *African Journal of Biotechnology*. **5**(6), 497-502.
- Singh, K. B. (1987). Chickpea breeding. In: The chickpea. Saxena, M. C., Singh, K. B. (Eds.). Wallingford, UK: CAB International. pp. 127-162.
- Singh, K. B. (1997). Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Field Crops Research*. **53**, 161-170.
- Singh, K. B., Bejiga, G., Malhotra, R. S. (1990). Associations of some characters with seed yield in chickpea collections. *Euphytica*. **49**, 83-88.

Singh, K. B., Malhotra, R. S., Halila, H., Knights, E. J., Verma, M. M. (1994). Current status and future strategy in breeding chickpea for resistance to biotic and abiotic stresses. *Euphytica*. **73**, 137-149.

Singh, K. B., Malhotra, R. S., Muehlbauer, F. J. (1984). An annotated bibliography of chickpea genetics and breeding. 1915-1983. ICARDA and ICRISAT.

Singh, K. B., Ocampo, B., Robertson, L. D. (1998). Diversity for abiotic and biotic stress resistance in the wild annual *Cicer* species. *Genetic Resources and Crop Evolution*. **45**(1), 9-17.

Singh, K. B., Reddy, M. V. (1990). Patterns of resistance and susceptibility to races of *Ascochyta rabiei* among germplasm accessions and breeding lines of chickpea. *Plant Disease*. **74**, 127-129.

Singh, K. B., Reddy, M. V. (1991). Advances in disease resistance breeding in chickpea. *Advances in Agronomy*. **45**, 191-222.

Singh, K. B., Reddy, M. V. (1996). Improving chickpea yield by incorporating resistance to ascochyta blight. *Theoretical and Applied Genetics*. **92**, 509-515.

Singh, R., Prasad, C. D., Singhal, V., Randhawa, G. J. (2003b). Assessment of genetic diversity in chickpea cultivars using RAPD, AFLP and STMS markers. *Journal of Genetics and Breeding*. **57**, 165-174.

Singh, V. D., Gangwar, R. K. (2017). Symptomatology and pathogenicity characteristics of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* in chickpea seeds. *Agriways*. **5**(1), 15-18.

Singh, V. K., Singh, H. B., Upadhyay, R. S. (2017). Role of fusaric acid in the development of 'Fusarium wilt' symptoms in tomato: Physiological, biochemical and proteomic perspectives. *Plant Physiology and Biochemistry*. **118**, 320-332.

Singh, Z., Singh, G. (2018). Role of *Rhizobium* in chickpea (*Cicer arietinum*) production-A review. *Agricultural Reviews*. **39**, 31-39.

Sivaramakrishnan, S., Kannan, S., Singh, S. D. (2002). Genetic variability of *Fusarium* wilt pathogen isolates of chickpea (*Cicer arietinum* L.) assessed by molecular markers. *Mycopathologia*. **155**, 171-178.

Skovgaard, K., Nirenberg, H. I., O'Donnell, K., Rosendahl, S. (2001). Evolution of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* races inferred from multigene genealogies. *Phytopathology*. **91**, 1231-1237.

Smartt, J. (1990). Grain legumes: Evolution and genetic resources. Cambridge University Press.

Smith, S. N. (2007). An overview of ecological and habitat aspects in the genus *Fusarium* with special emphasis on the soil-borne pathogenic forms. *Plant Pathology Bulletin*. **16**, 97-120.

Smithson, J. B., Thompson, J. A., Summerfield, R. J. (1985). Chickpea (*Cicer arietinum* L.). In: Grain legume crops. Summerfield, R. J., Roberts, E. H. (Eds.). London, UK: Collins. pp. 312-390.

Smykal, P., Coyne, C. J., Ambrose, M. J., Maxted, N., Schaefer, H., Blair, M. W., Berger, J., Greene, S. L., vd. (2015). Legume crops phylogeny and genetic diversity for science and breeding. *Critical Reviews in Plant Sciences*. **34**(1-3), 43-104.

Snyder, W. C., Hansen, H. N. (1940). The species concept in *Fusarium*. *American Journal of Botany*. **27**, 64-67.

Snyder, W. C., Hansen, H. N. (1941). The species concept in *Fusarium* with reference to section Martiella. *American Journal of Botany*. **28**, 738-742.

Snyder, W. C., Hansen, H. N. (1945). The species concept in *Fusarium* with reference to Discolor and other sections. *American Journal of Botany*. **32**, 657-666.

Somasegaran, P., Hopen, H. J. (1994). Section I: General microbiology of rhizobia. Handbook of rhizobia: Methods in legume-rhizobium technology. New York: Springer-Verlag. pp. 2-6.

- Somrith, A., Singburaudom, N., Piasai, O. (2011). Vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Kasetsart Journal of Natural Science*. **45**, 451-460.
- Soran., H. (1977). The fungus disease situation of edible legumes in Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology*. **6**(1), 1-7.
- Sorauer, P. (1974). Handbuch der Pflanzenerkrankungen. Wiegandt, Berlin: Hempel und Parey. p. 406.
- Srivastava, R., Kamthan, K. P. (2002). Effect of soil types on the incidence of wilt in chickpea. *Annals of Plant Protection Sciences*. **10**(1), 156-157
- Stacey, G. (2007). The *Rhizobium*-legume nitrogen-fixing symbiosis. In: Biology of the nitrogen cycle. Elsevier. pp. 147-163.
- Stahl, E. A., Bishop, J. G. (2000). Plant-pathogen arms races at the molecular level. *Current Opinion in Plant Biology*. **3**, 299-304.
- Steele, K. A., Humphreys, E., Wellings, C. R., Dickinson, M. J. (2001). Support for a stepwise mutation model for pathogen evolution in Australasian *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* by use of molecular markers. *Plant Pathology*. **50**, 174-180.
- Steinberg, C., Edel, V., Gautheron, N., Abadie, C., Vallaey, T., Alabouvette, C. (1997). Phenotypic characterization of natural populations of *Fusarium oxysporum* in relation to genotypic characterization. *FEMS Microbiology Ecology*. **24**, 73-85.
- Stenglein, S. A., Rodrigueroc, M. S., Chandler, E., Jennings, P., Salerno, G. L., Nicholson, P. (2010). Phylogenetic relationships of *Fusarium poae* based on EF-1 α and mtSSU sequences. *Fungal Biology*. **114**, 96-106.
- Stergiopoulos, I., De Wit, P. J. (2009). Fungal effector proteins. *Annual Review of Phytopathology*. **47**, 233-263.
- Stevenson, P. C., Padgham, D. E., Haware, M. P. (1995). Root exudates associated with the resistance of four chickpea cultivars (*Cicer arietinum*) to two races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. *Plant Pathology*. **44**, 686-694.

- Stevenson, P. C., Turner, H. C., Haware, M. P. (1997). Phytoalexin accumulation in the roots of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seedlings associated with resistance to Fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*). *Physiology of Molecular Plant Pathology*. **50**, 167-178.
- Strange, R. N., Scott, P. R. (2005). Plant Disease: A threat to global food security. *Annual Review of Phytopathology*. **43**, 83-116.
- Strausbaugh, C. A., Schroth, M. N., Weinhold, A. R., Hancock, J. G. (1992). Assessment of vegetative compatibility of *Verticillium dahliae* tester strains and isolates from California potatoes. *Phytopathology*. **82**, 61-68.
- Stukenbrock, E. H., Bataillon, T., Dutheil, J. Y., Hansen, T. T., Li, R., Zala, M., vd. (2011). The making of a new pathogen: Insights from comparative population genomics of the domesticated wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* and its wild sister species. *Genome Research*. **21**(12), 2157-2166.
- Sudupak, M. A., Akkaya, M. S., Kence, A. (2004). Genetic relationships among perennial and annual *Cicer* species growing in Turkey assessed by AFLP fingerprinting. *Theoretical and Applied Genetics*. **108**, 937-944.
- Suga, H., Hyakumachi, M. (2004). Genomics of phytopathogenic *Fusarium*. In: Applied mycology and biotechnology. Arora, D. K., Khachatourians, G. G. (Eds.). Vol. 4: Elsevier. pp. 161-189.
- Sugha, S. K., Kapoor, S. K., Singh, B. M. (1994b). Factors influencing Fusarium wilt of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology*. **24**, 97-102.
- Sugha, S. K., Kapoor, S. K., Singh, M. B. (1994a). Soil characteristics and their relation to Fusarium wilt of chickpea (*C. arietinum* L.). *Tropical Science*. **24**(3), 282-288.
- Suman, Yadav, A. S. (2015). Antagonistic effect of *Mesorhizobium ciceri* isolates on *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. *Legume Research*. **38**, 115-120.

Summerell, B. A., Rugg, C. A. (1992). Vascular wilt of *Helichrysum* species caused by *Fusarium oxysporum*. *Australasian Plant Pathology*. **21**(1), 18-19.

Summerfield, R. J., Hadley, P., Roberts, E. H., Minchin, F. R., Rawsthorne, S., (1984). Sensitivity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to hot temperatures during the reproductive period. *Experimental Agriculture*. **20**, 77-93.

Swift, C. E., Wickliffe, E. R., Schwartz, H. F. (2002). Vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* from onion in Colorado. *Plant Disease*. **86**, 606-610.

Sys, S., Soenen, A. (1970). Investigations on the infection criteria of scab (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.) on apples with respect to the table of Mills & Laplante. *Agricultura, Louvain*. **18**(3-4).

Şehirali, S., Çiftçi, C. Y., Küsmenoğlu, I., Ünver, S., Yorgancılar, Ö. (1995). Yemelik baklagiller tüketim projeksiyonları ve üretim hedefleri. T.C. Ziraat Bankası Kültür Yayınları No: 26. pp. 449-466.

Tadesse, M., Turoop, Ojiewo, C. O (2017). Survey of chickpea (*Cicer arietinum* L) Ascochyta blight (*Ascochyta rabiei* Pass.) disease status in production regions of Ethiopia. *Plant*. **5**(1), 23-30.

Taga, M., Murata, M., Saito, H. (1998). Comparison of different karyotyping methods in filamentous Ascomycetes-a case of *Nectria haematococca*. *Mycological Research*. **102**, 1355-1364.

Takken, F., Rep, M. (2010). The arms race between tomato and *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology*. **11**, 309-314.

Talboys, P. W. (1964). A concept of the host-parasite relationship in Verticillium wilt diseases. *Nature*. **202**, 361-362.

Tanksley, S. D., McCouch, S. R. (1997). Seed banks and molecular maps: Unlocking genetic potential from the wild. *Science*. **277**, 1063-1066.

Tanno, K., Wilcox, G. (2006). The origins of cultivation of *Cicer arietinum* L. and *Vicia faba* L.: early finds from Tellel-Kerkh, north-west Syria, late 10th millennium B.P. *Vegetation History and Archaeobotany*. **15**, 197-204.

Tantaoui, A., Ouinten, M., Geiger, J. P., Fernandez, D. (1996). Characterization of a single clonal lineage of *F. oxysporum* f. sp. *albedinis* causing bayoud disease of date palm in Morocco. *Phytopathology*. **86**, 787-792.

Taylor, J. W., Geiser, D. M., Burt, A., Koufopanou, V. (1999a). The evolutionary biology and population genetics underlying fungal strain typing. *Clinical Microbiology Reviews*. **12**, 126-146.

Taylor, J. W., Jacobson, D. J., Fischer, M. C. (1999b). The evolution of asexual fungi: Reproduction, speciation and classification. *Annual Review of Phytopathology*. **37**, 197-246.

Tekeoglu, M., Tullu, A., Kaiser, W. J., Muehlbauer, F. J. (2000). Inheritance and linkage of two genes that confer resistance to Fusarium wilt in chickpea. *Crop Science*. **40**, 1247-1251.

Tekeoğlu, M., Özkılınç, H., Tunalı, B., Küsmenoğlu, İ., Chen, W. (2017). Molecular identification of *Fusarium* spp. causing wilt of chickpea and the first report of *Fusarium redolens* in Turkey. *Mediterranean Agricultural Sciences*. **30**(1), 27-33.

Tešić, Ž., Todorović, M. (1988). Mikrobiologija. Poljoprivredni fakultet. Beograd, Beograd: Naučna knjiga. p. 249.

Thai, W. M., Campbell, C. L. (1987). Sampling procedures for determining severity of alfalfa leaf spot diseases. *Phytopathology*. **77**, 157-162.

Thon, M. R., Royse, D. J. (1999). Partial β -tubulin gene sequences for evolutionary studies in the Basidiomycotina. *Mycologia*. **91**, 468-474.

Tok, F. (2010). Kavun ve hıyar patojeni *Fusarium oxysporum* izolatlarının patojenisite, ırk, vejetatif uyum grubu ve AFLP teknikleriyle karakterizasyonu ve dağılımları. Doktora Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay.

Toth, K. F., Lacy, M. L. (1992). Comparing vegetative compatibility and protein banding patterns for identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* race 2. *Canadian Journal of Microbiology*. **37**, 669-671.

Townsend, G. R., Heuberger, J. W. (1943). Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *The Plant Disease Reporter*. **27**, 340-343.

Toyoda, H., Utsumi, R. (1991). Method for the prevention of *Fusarium* diseases and microorganisms used for the same. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office. US Patent No. 4 988 586.

Trapero-Casas, A., Jiménez-Díaz, R. M. (1985). Fungal wilt and root rot diseases of chickpea in southern Spain. *Phytopathology*. **75**, 1146-1151.

Trapero-Casas, A., Kaiser, W. J. (2007). Differences between ascospores and conidia of *Didymella rabiei* in spore germination and infection of chickpea. *Phytopathology*. **97**, 1600-1607.

Trapero-Casas, A., Kaiser, W. J. (2009). Alternative hosts and plant tissues for the survival, sporulation and spread of the Ascochyta blight pathogen of chickpea. *European Journal of Plant Pathology*. **125**(4), 573-587.

Tripathi, H. S., Rathi, Y. P. S. (1992). Epidemiology of Botrytis gray mold of chickpea. In: Botrytis gray mold of chickpea. Haware, M. P., Faris, D. G., Gowda, C. L. L. (Eds.), Patancheru: ICRISAT. pp. 8-9.

Trivedi, L., Rathi, Y. P. S. (2015). Detection of seed mycoflora from chickpea wilt complex seedborne *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* diseased seeds. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. **4**, 1242-1249.

Trivedi, S., Srivastava, M., Srivastava, A. K., Ratan, V., Shahid, M., Singh, A., Pandey, S., Dixit, S., Srivastava Y. K. (2017). Status of root and foliar fungal diseases of pulses at different agro-climatic zones of Uttar Pradesh, India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. **6**(11), 152-165.

TÜİK (2019). Türkiye İstatistik Kurumu <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bikiselapp/bikisel.zul> 04.12.2016.

Türkomp, (2019). Türkiye Ulusal Gıda Kompozisyon Veritabanı. <http://www.turkomp.gov.tr/food-158>. 20.05.2019.

Üstün, A. (1994). Kuzey geçit bölgesinde nohut verimliliğini artırma yolları. *Tarım ve Köy İşleri*. **98**, 46-47.

Üstün, A., Gülümser, A. (2003). Orta Karadeniz Bölgesi'nde nohut için uygun ekim zamanının belirlenmesi, *Türkiye 5. Tarla Bitkileri Kongresi*. 13-17 Ekim, Diyarbakır.

Vakalounakis, D. J., Fragkiadakis, G. A. (1999). Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from cucumber: differentiation by pathogenicity, vegetative compatibility and RAPD fingerprinting. *Phytopathology*. **89**, 161-168.

Vakalounakis, D. J., Wang, Z., Fragkiadakis, G. A., Skaracis, G. N., Li, D. B. (2004). Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates obtained from cucumber in China by pathogenicity, VCGs and RAPD. *Plant Disease*. **88**, 645-649.

Van Dam, P., De Sain, M., Ter Horst, A., Van der Gragt, M., Rep, M. (2018). Use of comparative genomics-based markers for discrimination of host specificity in *Fusarium oxysporum*. *Applied Environmental Microbiology*. **84**(1), e01868-17.

Van der Does, H. C., Lievens, L., Claes, L., Houterman, P. M., Cornelissen, B. J. C., Rep, M. (2008). The presence of a virulence locus discriminates *Fusarium oxysporum* isolates causing tomato wilt from other isolates. *Environmental Microbiology*. **10**, 1475-1485.

Van der Maesen, L. J. G. (1972). *Cicer L.*, a monograph of the genus, with special reference to the chickpea (*Cicer arietinum L.*), its ecology and distribution. Mendelingen Landbouwhogeschool Wageningen, Wageningen, The Netherlands. pp. 1-341.

Van der Maesen, L. J. G. (1984). Taxonomy, distribution and evolution of chickpea. In: Genetic resources and their exploitation-chickpeas, faba Beans and lentils.

Witcombe, J. R., Erskine, W. (Eds.). The Hague, The Netherlands: Martinus Nijhoff/Junk, pp. 95-104.

Van der Maesen, L. J. G. (1987) Origin, history and taxonomy of chickpea. In: The Chickpea. Saxena, M. C., Singh, K. B. (Eds.). Wallingford, UK: CAB International.

Van der Maesen, L. J. G., Maxted, N., Javadi, F., Coles, S., Davies, A. M. R. (2007). Taxonomy of the genus *Cicer* revisited. In: Chickpea breeding and management. Yadav, S. S. (Ed.). Wallingford: CAB International. pp. 14-30.

Van Rheenen, H. A. (1991). Chickpea breeding-progress and prospects. In: Plant breeding abstracts. **61**(9), 997-1009.

Van Zeist, W., Bottema, S. (1972). Vegetation history of the eastern Mediterranean and the near east during the last 20,000 years. In: Paleoclimates, palaeoenvironments and human communities in the Eastern Mediterranean Region in later prehistory. Bintliff, J. L., Van Zeist, W. (Eds.). British Archeological Reports, International Series. p. 133.

Vandemark, G. J., Larsen, R. C., Hughes, T. J. (2006). Heritability of resistance to Verticillium wilt in alfalfa. *Plant Disease*. **90**, 314-318.

Vaupel, J. W. (2001). Analysis of population changes and differences: Methods for demographers, statisticians, biologists, epidemiologists, and reliability engineers. Unpublished Manuscript, Rostock: Max Planck Institute for Demographic Research.

Vavilov, N. I. (1951). The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. **72**(6), 482.

Venuto, B. C., Smith, R. R., Grau, C. R. (1995). Virulence, legume host specificity, and genetic relatedness of isolates of *Fusarium oxysporum* from red clover. *Plant Disease*. **79**, 406-410.

Von Wettberg, E. J. B., Chang, P. L., Başdemir, F., Carrasquilla-Garcia, N., Korbu, L. B., Moenga, S. M., vd. (2018). Ecology and genomics of an important crop wild relative as a prelude to agricultural innovation. *Nature Communications*. **9**(1), 649.

Walton, J. D. (1996). Host-selective toxins: Agents of compatibility. *Plant Cell*. **8**, 1723-1733.

Wang, C., Lin, Y., Lin, Y., Chung, W. (2013). Modified primers for the identification of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* isolates that have biological control potential against Fusarium wilt of cucumber in Taiwan. *PLoS One*. **8**, e65093.

Wang, J., Gan, Y. T., Clarke, F., McDonald C. L. (2006). Response of chickpea yield to higher temperature stress during reproductive development. *Crop Science*. **46**, 2171-2178.

Waterhouse, P. M., Gildow, F. E., Johnstone, G. R. (1988). AAB Descriptions of plant viruses No. 339, Luteovirus group. p. 9.

Webb, K. M., Case, A. J., Brick, M. A., Otto, K., Schwartz, H. F. (2013). Cross pathogenicity and vegetative compatibility of *Fusarium oxysporum* isolated from sugar beet. *Plant Disease*. **97**, 1200-1206.

Weille, G. A. D. (1965). The epidemiology of plant disease as considered within the scope of agrometeorology. *Agricultural Meteorology*. **2**, 1-15.

Weising, K., Ramser, J., Kaemmer, D., Kahl, G., Epplen, J. T. (1991). Oligonucleotide fingerprinting in plants and fungi. In: DNA fingerprinting: Approaches and applications. Burke, T., Dolf, G., Jeffreys, A. J., Wolff, R. (Eds.). Birkhäuser, Basel. pp. 312-319.

Welsh, J., McClelland, M. (1990). Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*. **18**, 7213-7218.

Wery, J. (1990). Adaptation to frost and drought stress in chickpea and implications in plant breeding. In: Present status and future prospects of chickpea crop production and improvement in the Mediterranean countries. Saxena, M. C., Cubero, J. I., Wery, J. (Eds.). *Options Mediterranennes-Serie Seminaires*. Paris: CIHEAM. pp. 77-85.

Westerlund, F. V., Campbell, R. N., Jr., Kimble, K. A. (1974). Fungal root rots and wilt of chickpea in California. *Phytopathology*. **64**, 432-436.

- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*. **18**, 6531-6535.
- Williams, P. H. (1981). Fusarium yellows. In: Screening crucifers for multiple disease resistance. USA: University of Wisconsin. pp. 124-129.
- Wilson, A. D., Kaiser, W. J. (1995). Cytology and genetics of sexual incompatibility in *Didymella rabiei*. *Mycologia*. **87**(6), 795-804.
- Wilson, R. A., Arst, Jr. H. N. (1998). Mutational analysis of AREA, a transcriptional activator mediating nitrogen metabolite repression in *Aspergillus nidulans* and a member of the "Streetwise" GATA family of transcription factors. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. **62**, 586-596.
- Windels, C. E. (1992). *Fusarium*. In: Methods of research on soil borne phytopathogenic fungi. Singleton, L. L., Mihail, J. D., Rush, C. M. (Eds.). St. Paul, M.N. USA: APS Press. pp. 115-128.
- Woo, S. L., Zoina, A., Del Sorbo, G., Lorito, M., Nanni, B., Scala, F., Noviello, C. (1996). Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* by pathogenic races, VCGs, RFLPs and RAPD. *Phytopathology*. **86**, 966-973.
- Wood, J. A., Grusak, M. A. (2007). Nutritional value of chickpea. In: Chickpea breeding and management. Yadav, S. S., Redden, R. J., Chen, W., Sharma, B. (Eds.). Wallingford: CABI. pp. 101-142.
- Yadeta, K. A., Thomma, J. B. P. H. (2013). The xylem as battleground for plant hosts and vascular wilt pathogens. *Frontiers in Plant Science*. **4**, 97.
- Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. (2006). Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annual Review of Plant Biology*. **57**, 781-803.
- Yarwood, C. E. (1959). Predisposition. In: Plant pathology. Horsfall, J. G., Dimond, A. E. (Eds.). New York & London: Academic. p. 674.

- Yarwood, C. E. (1976). Modification of the host response-predisposition. In: Physiological plant pathology. Heitefuss, R., Williams, P. H. (Eds.). Berlin: Springer. pp. 703-718.
- Yeh, F. C., Yang, R. C., Boyle, T. (1999). POPGENE Version 1.32. Quick User Guide. Microsoft Window-Based Freeware for Population Genetic Analysis.
- Yimer, S. M., Ahmed, S., Fininsa, C., Tadesse, N., Hamwih, A., Cook, D. R. (2018). Distribution and factors influencing chickpea wilt and root rot epidemics in Ethiopia. *Crop Protection*. **106**, 150-155.
- Yli-Mattila, T. Mach, R. L., Alekhina, A., Bulat, S. A., Koskinen, S., vd. (2004). Phylogenetic relationship of *Fusarium langsethiae* to *Fusarium poae* and *Fusarium sporotrichioides* as inferred by IGS, ITS, β -tubulin sequences and UP-PCR hybridization analysis. *International Journal of Food Microbiology*. **95**, 267-285.
- Yli-Mattila, T., Ward, T. J., O'Donnell, K., Proctor, R. H., Burkin, A. A. vd. (2011). *Fusarium sibiricum* sp. nov, a novel type A trichothecene producing *Fusarium* from northern Asia closely related to *F. sporotrichioides* and *F. langsethiae*. *International Journal of Food Microbiology*. **147**, 58-68.
- Yücel, S., Güncü, M. (1991). Akdeniz Bölgesi yemelik baklagillerinde görülen fungal hastalıklar. *Bitki Koruma Bülteni*. **31**, 19-30.
- Zadoks, J. C., Schein, R. D. (1979). Epidemiology and plant disease management. New York: Oxford University Press. p. 427.
- Zaidi, R. K., Pathak, N. (2013). Evaluation of seed infection of fungi in Chickpea. *e-Journal of Science & Technology (e-JST)*. **2**, 8.
- Zamani, M. R, Motallebi, M., Rostamian, A. (2004). Characterization of Iranian isolates of *F. oxysporum* on the basis of RAPD analysis, virulence and vegetative compatibility. *Journal of Phytopathology*. **152**, 449-453.
- Zeller, K. A., Leslie, J. F. (1996). Some mutants that overcome vegetative incompatibility in *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi* mating population A). *Phytopathology*. **86**, S32.

Zemouli-Benfreh, F., Djamel-eddine, H., Merzoug, A. (2014). Fusarium wilt of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) in North-west Algeria. *African Journal of Agricultural Research*. **9**(1), 168-175.

Zhan J., Pettway R. E., McDonald B. A. (2003). The global genetic structure of the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* is characterized by high nuclear diversity, low mitochondrial diversity, regular recombination, and gene flow. *Fungal Genetics and Biology*. **38**, 286-297.

Zhan, J., Mundt, C. C., Hoffer, M. E., McDonald, B. A. (2002). Local adaptation and effect of host genotype on the rate of pathogen evolution: An experimental test in a plant pathosystem. *Journal of Evolutionary Biology*. **15**, 634-647.

Zhang, S., Gao, Z. G., Zhuang, J. H., Zhao, B. X. Zhang, X. F., Ming-Hui, N. A. (2010). Diversity analysis of *Fusarium oxysporum* isolates from watermelon melon and cucumber in liaoning Province with UP-PCR. China. *Vegetables*. **1**, 19-23.

Zhang S., Zhao, B., Liu, X., Gao, Z., Huang, X. (2013). DNA Sequencing and UP-PCR characterization of *Fusarium oxysporum* isolates from three Cucurbit species. *Plant Pathology Journal*. **12**(2), 78-84.

Ziska, L. H., Runion, G. B. (2007). Future weed, pest and disease problems for plants. In: Agroecosystems in a changing climate. Newton, P. C. D., Carran, R. A., Edwards, G. R., Niklaus, P. A. (Eds.). Boca Raton: FL CRC Press. pp. 261-287.

Zohary, D., Hopf, M. (1993) Domestication of plants in the old world: the origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and the Nile Valley, 2nd edn. Oxford: Clarendon Press.

Zohary, D., Hopf, M. (2000). Domestication of plants in the old world. 3rd edition. New York: Oxford University Press.

Zote, K. K., Haware, M. P., Jayanthi, S., Narayana Rao, J. (1996). Effects of inoculum density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* race 1 and race 2 on chickpea wilt. *Phytopathologia Mediterranea*. **35**, 43-47.

EKLER

Ek 1. Fungal Besiyeri İçerikleri

PDA (Patates Dekstroz Agar) (g/L)

39 g Patates Dekstroz Agar

12 g Agar

(dH₂O ile 1 L'lik besiyeri hazırlanır.)

SNA (Sentetik Nutrient Agar) (g/L)

1 g KH₂PO₄

1 g KNO₃

0,5 g MgSO₄.7H₂O

0,5 g KCl

0,2 g Glikoz

0,2 g Sakkaroz

20 g Agar

(dH₂O ile 1 L'lik besiyeri hazırlanır.)

PDB (Patates Dekstroz Broth) (g/L)

24 g Patates Dekstroz Broth

(dH₂O ile 1 L'lik besiyeri hazırlanır.)

Ek 2. VCG Çalışmasında Kullanılan Besiyerleri ve İçerikleri

FMM İz Elementler Stok Solüsyonu

5 g Sitrik Asit

5 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

4,75 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

1 g $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

250 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

50 mg $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

50 mg H_3BO_3

50 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

(ddH₂O ile 95 ml'lik solüsyon hazırlanır.)

FMM (Fusarium Minimal Media) 50X Stok Solüsyonu

40 g NaNO_3

20 g KH_2PO_4

10 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

10 g KCl

(ddH₂O ile 400 ml'lik solüsyon hazırlanır.)

FMM

20 ml FMM (X50)

200 µl İz Elementler

30 g Sakkaroz

20 g Agar

(dH₂O ile 1 L'lik besiyeri hazırlanır.)

Ek 3. *nit* Mutantlarının Fenotipleme Çalışmalarında Kullanılan Besiyeri ve İçerikleri

Besiyeri	KClO ₃ (g/L)	Asparajin (g/L)
PDAC-15	15	-
FMMC-15	15	1,6
PDAC-20	20	-
FMMC-20	20	1,6

Mutant	Bileşenler	NaNO ₂ (g/L)	Hipoksantin (g/L)
<i>nit1</i>	FMM (-NaNO ₃)	0,5	-
<i>nit3</i>	FMM (NaNO ₃)	0,5	-
NitM	FMM (NaNO ₃)	-	0,2

Ek 4. Fungal Kültürlerin Muhafazasında Kullanılan Solusyonlar

Gliserol Stok (100 ml)

%20 Gliserol

%80 dH₂O

%0,25 NaCl

Ek 5. Nükleik Asit Analizlerinde Kullanılan Solüsyonlar

Lizis Buffer (125 ml)

25 ml 1 M Tris-HCl (pH: 8.0)

62,5 ml 1 M NaCl

2,5 ml 0,5 M EDTA (pH: 8.0)

12,5 ml %10 SDS

22,5 ml ddH₂O

1XTE (1 L)

10 ml 1M Tris-HCl

2 ml 0,5 M EDTA

988 ml ddH₂O

50X TAE (100 ml)

24,2 g Tris-Base

5,71 ml Glasiyel Asetik Asit

10 ml 0,5 M EDTA (pH: 8.0)

(dH₂O ile 100 ml'ye tamamlanır.)

ÖZGEÇMİŞ (CV)

Kişisel Bilgiler

Ad ve Soyad : Hatice KOCALAR
Doğum Yeri ve Tarihi : Şahinbey/Gaziantep 03.04.1990
Telefon : 0506 597 59 66
E-Posta : hpolatbilek@gmail.com
hatice.polatbilek2015@yandex.com

Eğitim Bilgileri

2014-2020-Doktora: Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü

Doktora Tez Başlığı: Türkiye’de Nohut Yetiştiriciliği Yapılan Bölgelerde Solgunluk ve Sararmaya Neden Olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*’in Patojenik Karakterizasyonu ve Vejetatif Uyum Grupları’nın Belirlenmesi (Danışman: Prof. Dr. Canan CAN)

Bu doktora tez çalışması Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri FEF.DT.17.04 no’lu proje ile desteklenmiştir.

2012-2014-Yüksek Lisans: Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans Tez Başlığı: Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde Yetiştiriciliği Yapılan Antepfıstığında (*Pistacia vera* L.) *Alternaria* Meyve Yanıklığının Karakterizasyonu (Danışman: Prof. Dr. Canan CAN)

Bu yüksek lisans tez çalışması, TÜBİTAK Bilimsel Araştırma Projeleri 112O554 no’lu proje ile desteklenmiştir.

2008-2012-Lisans: Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü

Yaz Stajı: Gaziantep Ersin Arslan Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, 2011

Bitirme Projesi: Toprağın İyileştirilmesinde Kullanılan Bakteriler (Ocak, 2012)

2004-2008-Lise: Gaziantep Hasan Ali Yücel Anadolu Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı Lise)

Başarı ve Ödüller

Lisans Mezuniyet Derecesi: Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi ve Bölüm İkinciliği, 2012

Lisans Mezuniyet Not Ortalaması: 3,85 (YÖK’e göre: 96,50)

2 adet Yüksek Şeref Belgesi

2008-2009 Akademik yılı Güz yarıyılı

2011-2012 Akademik yılı Güz yarıyılı

TÜBİTAK-BİDEB/2228-B Yüksek Lisans Öğrencileri için Yurt İçi Doktora Bursu 2014/1 (Ekim 2014-Ekim 2018)

Çalıştığı Projeler

1. Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri FEF.DT.17.04 no’lu proje: Nohutta *Fusarium* Solgunluğu Etmeni Olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* İzolatlarının Vejetatif Uyum Gruplarının Belirlenmesi (2017-2018)
2. TÜBİTAK Bilimsel Araştırma Projeleri 112O554 no’lu proje: Türkiye’deki *Pistachio* Türlerinde *Alternaria* Geç Yanıklık Hastalığına Neden Olan *Alternaria* spp.’nin Moleküler Patojenik Karakterizasyonları ve Hastalık Epidemiyolojisinin Araştırılması (2013-2016)
3. TÜBİTAK Bilimsel Araştırma Projeleri 113O071 no’lu proje: Nohutta *Ascochyta* Yanıklığı Etmeninin Populasyon Karakterizasyonu ve Moleküler İşaretleyiciler Kullanılarak Bu Etmene Karşı Dayanıklı Genotiplerin Araştırılması (2013-2017)

Katıldığı Kurslar ve Aldığı Sertifikalar

1. Niğde Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü tarafından düzenlenen “Workshop on Mixed Teaching Research Methodology, Reference Manager with EndNote Software and Writing Article Skills Based on ISI Rules”, 3-6 Haziran 2013, Niğde.
2. Çukurova Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi tarafından düzenlenen “II. Çukurova Biyoteknoloji Günleri”, 12-13 Mart 2014, Adana.

Uluslararası Yayın ve Bildiriler

1. **Kocalar, H.**, Kafadar, F. N., Ozkan, A., Talapov, T., Demirel, D., Anay, A., Mart, D., Can, C. (2020). Current Distribution and Virulence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in Turkey. *Legume Research*. 43(2). DOI no: 10.18805/LR-520.

2. **Polatbilek, H.**, Akveç, O., Kafadar, F., Mart, D., Can, C. (2017). Towards Determining *Didymella rabiei* from infected chickpea seeds with RT-PCR analyses. *International DNA Day and Genome Congress*, April 24-28, 2017 Kırşehir, Turkey, p.174.
3. **Polatbilek, H.**, Anay, A., Can, C. (2017). Survey studies of chickpea Fusarium wilt and yellowing in Turkey. *4th Annual Meeting of the Chickpea Innovation Lab*, 11-14 December 2017, Telangana (India), p.38.
4. Ozkilinc, H., Sarpkaya, K., Kurt, S., Can, C., **Polatbilek, H.**, Yasar, A., Sevinc, U., Uysal, A., Konukoğlu, F. (2017). Pathogenicity, morpho-species and mating types of *Alternaria* spp. causing Alternaria blight in *Pistacia* spp. in Turkey. *Phytoparasitica*. **45**, 719-728.
5. Can, C., Kafadar, F.N., Özkan, A., Turan, A., Kuşçalı, N., Nalçacı, N., Başbuğa, S., **Polatbilek, H.**, Yaşar, A., Bulgak, S., Kar, Y., Sarpkaya, K., İşler, D., Anay, A., Mart, D., Ögüt, E., Özkılınç, H., Özyiğit İ. (2016). Correlation of Ascochyta blight severity in chickpea with pathotypes, mating type, altitude, nodulation and weed density in Turkey. *IV International Ascochyta Workshop*, 10-11 October, 2016, Tróia (Portugal), p. 22.
6. Özkılınç, H., Kurt, Ş., Can, C., Konukoğlu, F., Aktan, A., Uysal, A., **Polatbilek, H.**, Yaşar, A., Sevinç, Ü., Sarpkaya, K. (2015). Alternaria blight of *Pistachio* species in Turkey. *XVI Grempa Meeting*, 12-14 May 2015, Meknes (Morocco).
7. Can, C., Kafadar, F.N., Özkan, A., Turan, A., Kuşçalı, N., Nalçacı, N., Başbuğa, S., **Polatbilek, H.**, Yaşar, A., Bulgak, S., Sarpkaya, K., İşler, D., Anay, A., Mart, D., Ögüt, E., Özkılınç, H., Özyiğit İ. (2015). Current status of chickpea Ascochyta blight in Turkey. *XVIII. International Plant Protection Congress*, 24-27 August, 2015, Berlin (Germany), p. 527.

Ulusal Yayın ve Bildiriler

1. **Polatbilek, H.**, Başbuğa, S., Nalçacı, N., Anay, A., Özkan, A., Can C. (2016). Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde nohutta Fusarium solgunluğunun nodülasyon oranı ve bitki gelişimi üzerine olan etkisinin belirlenmesi. *Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi*, 5-8 Eylül 2016, Konya, s. 762.
2. **Polatbilek, H.**, Yaşar, A., Sarpkaya, K., Özkılınç, H., Kurt, Ş., Uysal, A., Konukoğlu, F., Can, C. (2014). Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde antepfıstığında (*Pistacia vera*) Alternaria yanıklık hastalığı etmeninin patojenisitesi. *22. Ulusal Biyoloji Kongresi*, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir, s. 405.
3. **Polatbilek, H.**, Kafadar, F., İşler, D., Can, C. (2014). Yabani ve kültür nohut türlerinde Ascochyta yanıklığı etmeninin moleküler karakterizasyonunda kullanılan eşleşme (MAT) analizlerinin karşılaştırılması. *22. Ulusal Biyoloji Kongresi*, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir, s. 571.

4. Yaşar, A., **Polatbilek, H.**, Sarpkaya, K., Özkılınç, H., Kurt, Ş., Uysal, A., Konukoğlu, F., Can, C. (2014). Ege ve Akdeniz Bölgesi'nde *Pistacia* sp.'nin kültür ve yabani formlarının *Alternaria* yanıklık hastalığı etmeni olan *Alternaria* türlerine karşı duyarlılıklarının belirlenmesi. 22. *Ulusal Biyoloji Kongresi*, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir, s. 642.
5. Kafadar, F., Turan, A., **Polatbilek, H.**, Can, C. (2014). Nohutta (*Cicer* sp.) *Ascochyta rabiei*'nin koloni morfolojilerinin Karadeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri arasında karşılaştırılması. 22. *Ulusal Biyoloji Kongresi*, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir, s. 506.
6. Kafadar, F., Can, C., Turan, A., **Polatbilek H.** (2013). GDO'lu ürünlerin çevreye ve canlılar üzerine etkilerine bir bakış. *XI. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi*, 01-04 Ekim 2013, Samsun, s.150.
7. Kafadar, F., Can, C., **Polatbilek, H.**, Kar, Y., Avan, F. (2013). Bina içi hava kirliliğine neden olan ve sağlığı tehdit eden faktörlere bir bakış. *XI. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi*, 01-04 Ekim 2013, Samsun, s.154.
8. **Polatbilek, H.**, Binici, S. (2012). Toprağın iyileştirilmesinde kullanılan bakteriler. *Ekoloji Sempozyumu*, 03-05 Mayıs 2012, Kilis, s.160.
9. **Polatbilek, H.**, Tunc, E. (2010). Tıbbi atıklar ve çevre. *Ekoloji Sempozyumu*, 05-07 Mayıs 2010, Aksaray, s.165.

Yabancı Dil - İngilizce

YDS (Yabancı Dil Sınavı): 65.00 (Sınava girilen tarih: 07.09.2014)

IELTS (International English Language Testing System): 5.0 (T.C. Ölçme, Seçme ve Yerleştirme Merkezince yayınlanan 23 Temmuz 2013 tarihli Yabancı Dil Sınavları Eşdeğerlikleri'ne göre: 60) (Sınava girilen tarih: 14.12.2013)