

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI



NOHUT YANIKLIK ETMENİ *Ascochyta rabiei* İZOLATLARI
ARASINDAKİ GENETİK FARKLILIĞIN İPBS VE SCOT DNA
MARKÖRLERİ İLE İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MEHMET ALPEREN SERTKAYA

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Göksel ÖZER

BOLU, NİSAN - 2023

KABUL VE ONAY SAYFASI

Mehmet Alperen SERTKAYA tarafından hazırlanan “**NOHUT YANIKLIK ETMENİ *Ascochyta rabiei* İZOLATLARI ARASINDAKİ GENETİK FARKLILIĞIN İPBS VE SCoT DNA MARKÖRLERİ İLE İNCELENMESİ**” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği/ oy çokluğuyla kabul edilmiştir.19/04/2023

Jüri Üyeleri

İmza

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

.....

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

.....

Üye
Prof. Dr. Harun BAYRAKTAR
Ankara Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

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

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

Teze ilişkin 18/05/2023 tarihinde Turnitin adlı intihal tespit programından enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %27 olarak tespit edilmiştir.

.....

MEHMET ALPEREN SERTKAYA

ÖZET

**NOHUT YANIKLIK ETMENİ *Ascochyta rabiei* İZOLATLARI
ARASINDAKİ GENETİK FARKLILIĞIN İPBS VE SCoT DNA
MARKÖRLERİ İLE İNCELENMESİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MEHMET ALPEREN SERTKAYA
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. GÖKSEL ÖZER)
BOLU, NİSAN – 2023
XIII+50**

Nohut yanıklık etmeni *Ascochyta rabiei* bitkide çok önemli zararlara yol açmaktadır. Bu çalışmada Ankara ve Çankırı ilinde farklı lokasyonlardaki nohut ekim alanlarındaki sörveylerden elde edilmiş hastalıklı nohut bitkileri kullanılmıştır. Toplam 7 farklı lokasyondan alınan hastalıklı bitkilerden yapılan izolasyonlar, etmen sporulasyonu için en uygun ortam olan nohut unu agar ortamına gerçekleştirilmiştir. İzolatların genomik DNA'sı izolasyonu CTAB tabanlı bir yöntem ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen *A. rabiei* izolatların arasındaki tür içi genetik çeşitlilik İPBS (inter-Priming Binding Sites) ve SCoT (Start Codon Targeted) DNA markör sistemleri kullanılarak araştırılmıştır. Yapılan ön çalışmalarda gruplarının ayrımı ve grup içindeki genetik farklılıkları değerlendirmede polimorfizm sağlaması beklenen SCoT primerleri (13, 28, 29, 32) seçilmiş ve tüm izolatlar arasındaki tür içi farklılıkları tespit etmek amacıyla kullanılmıştır. İPBS primerleri ile amplifiye edilmiş polimorfik bantların sayısı 11 ile 15 arasında değişirken, SCoT işaretleri ile 7-13 arasında değişmektedir. İPBS ve SCoT işaret sistemleri için ortalama güçlendirilmiş PCR ürünü sayısı sırasıyla 10, 12, 13 ve 11 olarak bulunmuştur. Buna rağmen İPBS ve SCoT markör sistemi ile izolatlar arasında tür içi polimorfizm saptanmamıştır. İPBS ve SCoT markör sistemlerinin *A. rabiei* izolatlarının tür içi ayrımında iyi bir DNA markör sistemi olmadığı ve daha geniş patojen popülasyonları ile araştırılması gerekliliği kanısına varılmıştır.

ANAHTAR KELİMELEER: Nohut, Genetik, İPBS, SCoT

ABSTRACT

INVESTIGATION OF GENETIC DIFFERENCES BETWEEN CHICKPEA BLIGHT AGENT *Ascochyta rabiei* ISOLATES WITH iPBS AND SCoT DNA MARKERS

MSC THESIS

MEHMET ALPEREN SERTKAYA

BOLU ABANT IZZET BAYSAL UNIVERSITY

GRADUATE INSTITUTE

DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

(SUPERVISOR: PROF. DR. GÖKSEL ÖZER)

BOLU, APRIL 2023

XIII+50

The causative agent *Ascochyta rabiei* causes significant damage to chickpea plants. In this study, diseased chickpea plants obtained from different locations in Ankara and Çankırı provinces were used. Isolations from diseased plants collected from a total of 7 different locations were performed on chickpea flour agar medium, which is the most suitable medium for pathogen sporulation. The genomic DNA of the isolates was extracted using a CTAB-based method. The intra-species genetic diversity among the obtained *A. rabiei* isolates was investigated using the iPBS (inter-Priming Binding Sites) and SCoT (Start Codon Targeted) DNA marker systems. In preliminary work, the SCoT primers (13, 28, 29, 32) that were expected to provide polymorphism in distinguishing groups and evaluating genetic differences within groups were selected and used to detect intra-species differences among all isolates. The number of polymorphic bands amplified by iPBS primers ranged from 11 to 15, while the number of SCoT markers ranged from 7 to 13. The average number of amplified PCR products for iPBS and SCoT marker systems was found to be 10, 12, 13, and 11, respectively. However, no intra-species polymorphism was detected among the isolates using the iPBS and SCoT marker systems. It was concluded that the iPBS and SCoT marker systems are not suitable DNA marker systems for intra-species differentiation of *A. rabiei* isolates and further investigation with larger pathogen populations is necessary.

KEYWORDS: Chickpea, Genetic, iPBS, SCoT

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR VE SEMBOLLER LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER TABLOSU.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xii
TEŞEKKÜR	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	7
2.1. Nohut İle İlgili Genel Bilgiler	7
2.2. Nohut Bitkisinin Bitkisel Üretim İçin Önemi	9
2.3. Nohut Yanıklığı Fungal Etmeni (<i>Ascochyta rabiei</i>) İle İlgili Genel Bilgiler	10
2.4. Nohut Yanıklığı Hastalığı ile İlgili Moleküler Markör.....	12
Araştırmaları	12
2.5. Ascochyta Rabiei İzolatları Arasındaki Genetik Farklılıkları Araştırılması İçin Yapılan Çalışmalar.....	15
2.6. iPBS-Retrotranspozon Hakkında Genel Bilgiler	18
2.7. SCoT İle İlgili Genel Bilgiler.....	21
2.8. Nohut Yanıklığı Hastalığı ile İlgili Diğer Bilgiler	22
2.9. Retrotranspozon'la İlişkili Bilgiler	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM	26
3.1. Materyal	26
3.1.1. Hastalıklı Bitki Materyalinin Eldesi.....	26
3.2. Yöntem.....	27

3.2.1. Hastalıklı Bitki Dokusundan İzolasyon	27
3.2.2. Kullanılan Besiyeri	27
3.2.3. Moleküler Çalışmalar.....	28
3.2.4. Patojen İzolasyonu ve Geliştirilmesi.....	28
3.2.5. İzolatların Karakterizasyonu	29
3.2.6. İzolatların DNA Ekstrasyonu.....	30
3.2.7. SCoT Markörleri İle DNA Amplifikasyonu	31
3.2.8. iPBS Retrotransposon Markörleri ile DNA Amplifikasyonu	32
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	34
4.1. iPBS-PCR Tekniği	36
4.2. SCoT-PCR Tekniği	37
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	41
6. KAYNAKLAR	42

KISALTMALAR VE SEMBOLLER LİSTESİ

°C	: Santigrad Derece
µl	: Mikrolitre
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
cm	: Santimetre
CSMDA	: Chickpea Seed Meal Dextrose Agar
CTAB	: Setil Trimetil Amonyum Bromit
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
EDTA	: Etilendiamintetra asetik asit
FAO	: Food and agriculture organization
g	: Gram/g kuvveti
IRAP	: Inter-retrotransposons amplified polymorphisms
ISS	: Inter Simple Sequence Repeat
iPBS	: inter-Priming Binding Sites
KCl	: Potasyum Klorür
LTR	: Long Terminal Repeats
Mat	: Mating Type
MgCl₂	: Magnezyum klorür
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mm²	: Milimetrekare
NaCl	: Sodyum klorür
ng	: Nanogram

PBİ	: Polimorfizm Bilgi İçeriği
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PIC	: Polymorphism Information Content
PVP	: Polivinilpirolidon
RAPD	: Random Amplified Polymorphic DNA
REMAP	: Retrotransposon-microsatellite amplified polymorphism
SCoT	: Start Codon Targeted
SRAP	: Sequence Related Amplified Polymorphism
SSR	: Simple Sequence Repeats
TrisHCl	: Tris hidroklorür
UV	: Ultraviyole

ŞEKİLLER TABLOSU

Sayfa

Şekil 3.1. Hastalıklı Bitki Materyalleri.....	26
Şekil 3.2. Hastalıklı Nohut Bitkisinden Yüzey Dezenfeksiyonu Aşamaları	27
Şekil 3.3. İzolasyon Sonucunda Elde Edilen İzolatların Gelişimleri	29
Şekil 3.4. Elde Edilen İzolatların Kültür Besiyerinde Miselyal Gelişimleri	29
Şekil 3.5. DNA İzolasyonu Aşaması ve Spektrofotometrede DNA Ölçüm Örneği	30
Şekil 4.1. <i>Ascochyta</i> İzolatlarının Temsili iPBS 2395 Primeri İle Elde Edilen Jel Görüntüleri.....	40
Şekil 4.2. <i>Ascochyta</i> İzolatlarının Temsili SCoT 13 Primeri İle Elde Edilen Jel Görüntüsü.....	40

TABLÖLER DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. Dünya Geneline Ülkere Göre Nohut Üretimi	3
Tablo 1.2. Türkiye’de İl Düzeyinde Nohut Ekim Alanları ve Miktarları	3
Tablo 3.1. Sörveylerin gerçekleştiği buğday tarlalarına ait lokasyon bilgileri	26
Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan ekstraksiyon buffer içeriği	28
Tablo 3.3. <i>Ascochyta raibei</i> izolatlarının moleküler karakterizasyonunda kullanılacak SCoT primerleri.....	31
Tablo 3.4. TAE tamponu ve yükleme boyası içeriği	32
Tablo 3.5. Araştırmada kullanılacak iPBS retrotranspozon primerlerine ait bilgiler	33
Tablo 4.1. <i>Ascochyta</i> izolatlarından elde edilen DNA miktarları ve kaliteleri.....	35
Tablo 4.2. Toplam Bant Dizilimleri.....	37
Tablo 4.3. iPBS markörlerinin karakterizasyon değerleri.....	38

TEŞEKKÜR

Yapılan bu tez çalışmasında yardımlarını ve ilgisini her zaman sağlayan değerli bilim insanı danışmanım Prof. Dr. Göksel Özer hocama teşekkür ederim. Çalışmamda her türlü yardımını esirgemeyen Araştırma Görevlisi Fatih Tekin hocama teşekkürlerimi sunarım. Bu çalışmanın başladığı günden beri yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen yüksek lisans öğrencisi Tuğba Bozoğlu'na teşekkürü bir borç olarak bilirim. Her zaman desteğini bana hissettiren Uzman Biyolog Kübra Teper'e teşekkür ederim. Benim bu günlere gelmemi sağlayan aileme de sonsuz teşekkür ederim.



1. GİRİŞ

Nohut bitkisinin, Dünya’da ortaya çıkan, ilk ıslahı gerçekleştirilen ve üretilebilen bitkilerden olduğu bildirilmektedir. Köken olarak, Türkiye'nin Güneydoğusu ile Suriye'nin Kuzey'i olduğu bilinmektedir (Singh, 1997). Nohut, baklagil bitkileri içinde özellikleri ve üretilebilme karakterleri bakımından önemli bir bitki grubudur. Baklagil bitkileri arasında Dünya üzerinde yetiştirilme sahaları açısından fasulye bitkisinden sonra ikinci sırada, yetiştirilebilme olarak da fasulye ve bezelye bitkisinden ardından üçüncü sırada bulunmaktadır. Türkiye’de en çok yetiştirilen ve üretimi gerçekleşen baklagil çeşididir (Encan vd., 2005).

Nohut bitkisi, mercimek bitkisinin ardından, yemeklik tane baklagil bitkileri arasında kuraklığa ve soğukluğa toleranslı ikinci bitki grubudur. Toprak konusunda spesifik değildir. Asidik veya alkali topraklarda (pH: 6-8), kireçli ve kurak olabilecek toprak gruplarında bile iyi gelişebilmektedir. Kaliteli bir büyüme olması için sıcaklık değerinin 22-29 °C gündüz sıcak hava değerine sahip olması gerekmektedir. Vejetatif aksamı ile bulundurduğu kazık kök modeli sayesinde toprağın iç kısımlarında nem faktöründen de faydalanabilmesi bitkinin kuraklık şartlarına karşı direncini arttırmaktadır. Kök bölgesinde simbiyotik hayat sürdüren Rhizobium bakterisi ile havada serbest azotun etkisinden yararlanabilmesi ve toprak için faydalı olması, üreticiliğinin çok kolay olması ve büyüme döngüsünün de hızlı olması gibi koşullar, bu bitkiyi üretim bakımından etkili baklagil grubuna dahil etmektedir. Böyle özel tahıl-nadas tekniğinin yapıldığı bölgelerde münavebeye eklenen nadir bitkilerden biri olarak kabul edilir (Azkan, 1989; Işık, 1992; Sepetoğlu, 1994).

Nohut bitkisi, baklagil bitkilerinin karakteristik etkisiyle kök bölgesinde barınan bakteriler sayesinde havada bulunan serbest iki azotu faydalı biçimde toprak sistemine aktarmaktadır. Kök sistemindeki bakteriler aracılığı ile 2 dekar alana 8 kg azot bağlayarak hem kendine yetecek kadar azot elementini kullanabilmekte hem de sırada ekilecek bitki grubuna azot içeriği bolca bulunan topraklar sağlamaktadır (Şehirali, 1988).

Nohut bitkisi, Türkiye’de besin açısından önemli bitkilerden biri olduğundan yetiştirilmesinin yanında çerezlik üretimde de etkilidir. Evrensel olarak üretilen nohut bitkisi iki ayrı grupta sınıflandırılır. Türkiye, İran ve Suriye gibi ılıman iklim kuşağındaki ülkelerde üretimi yapılır ve yüksek boyutlarda taneye

sahip, bej renk barındıran nohut bitkisidir. Hindistan, Pakistan gibi yarı kurak tropik iklimlerdeki ülkelerde desi olarak adlandırılan daha küçük, siyah, kahverengi ve benzeri renkli nohut çeşitleri üretilmektedir (Muehlbauer ve Singh, 1987).

Nohut bitkisinin kökleri, gelişmiş ve derinlere inebilen (1-2 m.), büyük bir ana kazık kökle ve bundan oluşan fazla yan köklerle meydana gelmektedir. Ortalama 25-60 cm boyuna sahip kök sistemi toprakta ilerleme kabiliyetine sahiptir. Gövde 18-60 cm uzunluğunda olup, dört köşeli, güçlü ve sert yapıda, sap kısmının orta kısmı boş bir yapıdadır. Gövde genel itibari ile yeşil renktedir, gövde boğumları 25-29 adetten oluşur ve meyve 19 ile 25. boğumlar arasında meydana gelir. Nohutun yaprak bölgesi değişik şekillerde yaprakçık kısımlarından meydana gelmiştir. Yaprakçık kısımları yüzeylerinde asitten oluşan tüy kısımlarına sahiptir. Çiçek kısımları, yapraklardan çıkan çiçek, sapcık kısmının yüzeyinde meydana gelmektedir. Çiçekler, 8-12 mm uzunluğundadır ve çiçek sap kısımları çiçeklerin oluşması esnasında uzamaya başlar ve alt kısımlara doğru bükülme yapar. Meyve, ortadaki damar uzunluğunca bir araya gelerek kenar kısımları birleşmiş olarak bir karpelden oluşmuş bir kapsül kısmından oluşmaktadır.

Nohutlar $2n = 36$ kromozomlu ve tek başına tozlaşabilen baklagil bitkisidir. Nohut bitkisinin 2 farklı çeşidi vardır. Bunlar; Desi ve kabuli çeşididir. Desi çeşidi daha çok Güney Asya'da, kabuli çeşidi ise genel itibari ile Akdeniz bölgemizde yetiştirilir. Nohutlar, karbonhidrat ve protein bakımından zengin besin kaynağıdır ve tohum ağırlığının yaklaşık %80'ini oluşturur. Nohut bitkisi mikro besin kaynağı olarak da zengindir ve hayvanlar açısından da besin kaynağı olarak kullanılır (Hari vd., 2008).

Tablo 1.1 'de Dünya genelinde en çok nohut üretimi yapan bazı ülkeler verilmiştir. Buna göre Dünya genelinde en çok nohut üretimi yapan ülke Hindistan'dır. Hindistan 10943655 (ha) alanda 11910000 ton üretim gerçekleştirmiştir. Türkiye ise Dünya'da önemli bir nohut üreticisi olup, 481667 (ha) alanda 475000 ton üretim gerçekleştirmiştir.

Tablo 1.1. Dünya genelinde Ülkelere Göre Nohut Üretimi (FAO, 2022)

Ülkeler	Ekilen Alan (Hektar)	Üretim (Ton)	Miktarı
Hindistan	10943655	11910000	
Pakistan	882718	233934	
Avustralya	606316	876468	
Etiyopya	228420	478211	
Türkiye	481667	475000	
İran	439872	168142	
Myanmar	344370	467340	
Rusya	313039	316840	
ABD	142050	129770	

2021 yılında ülkemiz nohut yetiştiriciliği sonucunda tablo 1.2 de bazı illerde ekilen nohut alanları, hasat edilen alanlar ve dekar başına verimler hakkında istatistiksel veriler verilmiştir. Bu tabloya baktığımızda Ankara tüm Türkiye’ de yetiştiricilik ve nohut üretimi açısından il bazında 79665 ton ile 1. olmuştur. Türkiye genelinde 766560 dekar alan ile ekilen bölge açısından lider konumdadır. Verim olarak dekar başına 105 kg olarak tespit edilmiştir. İkinci sırayı 657372 dekar alan ve toplam 79665 ton dekar başına verim ile Yozgat ilimiz izlemektedir.

Tablo 1.2. Türkiye’de il düzeyinde nohut ekim alanları ve miktarları (TUIK, 2022)

İller	Ekilen Alan (Dekar)	Hasat Edilen Alan (Dekar)	Verim (Kg/Dekar)	Üretim (Ton)
Ankara	766560	756360	105	79665
Yozgat	657372	657372	104	68433
Kırşehir	413735	413735	107	44075
Kırıkkale	402651	381551	46	17693
Konya	334240	331780	103	34029
Çorum	220659	220659	110	24216
Karaman	222651	208678	118	24681
Adıyaman	153750	153750	128	19706
Kayseri	118858	118858	128	15218

Geçmişten bu yana 55 değişik ülkelerden 67 fungus, 3 bakteri, 22 virüs, mikoplazma, 80 nematod, 172 patojenin nohut bitkisinde hastalık meydana getirdiği bilinmekte ve bu faktörlerden en azından bir bölümünün ekonomik değere neden olduğu tespit edilmiştir (Nene vd., 1996). Dünya çerçevesinde nohut verim ve kalitesini belirleyen en önemli biyolojik stres faktörü *Ascochyta* yanıklığı hastalığıdır. Bu faktörleri nohut bitkisinin başka etkili hastalık çeşiti olan *Fusarium* solgunluğu olduğu bilinmektedir (Soran, 1977, Haware vd., 1986; Maden, 1987; Dolar, 1996; Nene vd., 1996; Bayraktar, 2008).

Ascochyta rabiei bitkilerin bütün kısımlarını etkiler (Nene, 1982). Etmen Dünya’da ve ılıman iklimde yaşayan yerlerde baya etkili, mahsulde verim düşüklüğüne sebebiyet verir (Kaiser, 1973). Etmenin etkisini sürdürmesi için yağışlar ve rüzgarlar gibi etmenler etkilidir (Akem, 1999). Böyle etkiler etmenin yaşamını sürdürmesini kolaylaştırır ve elverişli durumlarda hastalık nedeni ile tüm bitkide mahsul kayıplarını oluşturur (Karahan, 1968; Navas-Cortés vd., 1995). Kanada’da 1999 yılında %96 oranında ürün kayıpları oluşturduğu tespit edilmiştir (Chongo vd., 2000)

A. rabiei nohut yanıklık etmeninin fungal hastalık etmenidir. Hastalık dünya çapında nohut yetiştiriciliği yapılan alanlarda yaygın olarak tespit edilmektedir ve 35 memlekette görülmüştür (Nene vd., 1996; Kaiser ve Küsmenoğlu, 1997). Türkiye’de ilk defa Bremer (1948) tarafından ilk olarak İç Anadolu ve Güneydoğu’da görüldüğü bildirilmiştir.

Fungal etmenin eşeyli evresi elverişli ortamlarda bulaşık bitki artıklarının yüzeyinde oluşur. Sonbahar ayında yağışın etkisi ile pseudothecial evresi gelecek ilkbahar aylarında olgun hale gelir. Bulaşık bitkilerde pseudotheciumlar üzerinde büyüyen askosporlar serbest kalarak rüzgâr etkisiyle ücra yerlere gidebilmekte ve askosporlar gidebildikleri sağlıklı alanlardaki bitkileri bulaştırmada etkilidirler (Trapero-Casas ve Kaiser, 1992; Kaiser, 1997a).

Üretici genel itibari ile kimyasal mücadeleyi yapmakta olup, başarı yüzdesi çok yüksek olmadığı için; kimyasal mücadele üretim maliyetini yükseltmektedir. Bitki üzerindeki ilaç kalıntısı sebebi ile yetiştirilen nohutun ihracatının yapılması zorlaşarak maddi zararlara sebebiyet vermekte, ayrıca ilaç kalıntısının çevresel ve sağlık açısından olumsuz etki yaptığı tespit edilmiştir (Ergün, 2001).

Bitkisel ırkların birbiri ile genetik ilişkilerinin yakın tarihimizde genel itibari ile molekül metotlar ile tespit edilmektedir. Moleküler metotların dış etkisel

nedenlerden zarar görmemesi, araştırmaların süre gibi faktörlerle daraltılması, birden fazla çeşitte, etkili risklerle genlerin kısımlarının tespit edilmesi araştırmalarda amaca doğru getirmeyi amaçlamıştır. Markör sistemleri, genetik ırkların belirlenmesi, tür isimlendirme, haritalama ve has durumun tespit edilmesi gibi birçok araştırmalarda uygulanabilmektedir.

Düşük seviyede DNA ile bağlantılı çok fazla tepki veren baskın markörler (RAPD, ISSR, iPBS gibi) maddi açıdan düşük maddiyatta oldukları için hızlı sonuçlandıkları ve az sayıda kuvvet gerektiğinden bir alternatif durum haline gelmektedir (Yorgancılar vd., 2015; Demirel, 2020; Koçak vd., 2020; Nkongolo vd., 2020). iPBS (Inter-Primer Binding Sites), polimorfizmi tespit etmede dengeli ya da fazla etkiye sebebiyet vermektedir. Türleri ve aralarındaki ilişkiyi belirlemek için etkisi fazladır (Andeden vd., 2013).

Markör Sistem yöntemlerinden biri de iPBS retrotranspozon metotudur. Retrotranspozonlar tekrarlayan, sürekli aktif olan DNA kısımlarıdır ve bitkilerde ve hayvanlarda hareket halindeki DNA dizileri oluşturmaktadır. Transpozonlar DNA genomlarında yer değıştirerek DNA miktarının değışmesine neden olurlar. Retrotranspozonlar RNA ara ürünü aracılığıyla kendine benzer bir tane daha yaparak aktif olurlar ve genomun farklı kısmına geçerler. DNA transpozonları ise RNA ara ürünüyle çalışmazlar. Oldukları kısımdan başka bir yere kopartılarak geçirilmektedirler (Todorovska, 2007; Startek vd., 2017). Retrotranspozonlar bu hususiyetleri ile genom içerisindeki kopya seviyelerini arttırırlar ama hücrede denetim yerleri ile denetime girmektedirler (Todorovska, 2007). Retrotranspozonların bir yerden bir yere gitme düzenekleri bazı faktörler sebebi ile hareketli duruma gelir ve bitki genomunda değışimlere sebebiyet verirler ve bunun için genetik türlerin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (Grandbastien vd., 2005)

Önceki yıllarda uygulanan retrotranspozonlar çeşitte göre olduğu için her türde aynı etkide sonuç vermemektedir. Çeşitte retrotranspozonlar markörlerini daha iyi kullanmak için çeşitin temelde retrotranspozon bölgelerine yakın kısımlarının dizi bilgisi bilinmelidir. Böyle sınırlayıcı etkileri yok etmek için Kalendar vd. (2010) bitkilerde ve hayvan gruplarında etkili biçimde kullanılacak iPBS çoğaltma metodu diye isimlendiren ve tanınmayan ve Dünya çapında kullanılabilecek bir metot bulmuşlardır. iPBS yöntemi PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile kopyalanabilecek uzaklıktaki LTR (Long Term Relationship) retrotranspozonların, ters transkriptaz primer bağlanma bölgelerindeki DNA

kısımlarının sayısının artmasıyla ilişkilidir. Genomun bütün yerlerine ulaşmaları, genomda fazla şekilde çoğalabilmeleri ve kromozomların her yerine ulaşmaları nedeni ile retrotranspozonların çok iyi katkı sağladıkları görülmüştür (Kalendar vd., 2010).

Farklı bir çeşit için, retrotranspozonlarla ilişkili markörlerin daha iyi çalışmasında engelleyici riskler, ürün boyutundaki farklılıklar, özel bölgede yakın genomik DNA ile birleşen primerlerin tasarımı için kopyalama bilgisi ile ön dizi bilgisinin gerekli olmasıdır. Günümüz zamanlarında, Kalendar vd. (2010) bu faktörlerden kurtulmak için farklı PCR'la ilişkili metot bulmuşlardır. Bulunan metot genel itibari ile herhangi bir canlıda LTR transpozonlarını yalıtarak ve Dünya çapında kullanılan tek markör olarak uygulanabilmektedir.

iPBS sisteminin olumlu yönleri şöyledir;

1. Retrotranspozonların bitki genomlarının büyük bölümüne ulaşması sebebi ile genomun geniş bölümünün taranma imkânı yükselmektedir.
2. T organizmalara etki edebilecek evrensel primerler mevcuttur.
3. Primerlere elde bulunduktan sonraki aşamada başka bir organizmada kullanılır.
4. Laboratuvar ortamlarında PCR ve standart agaroz jel elektroforez metotlarının kullanılma olasılığı vardır.

SCoT markör sistemleri, gene yönelik markörlerin elde edilmesi düşünüldükçe Collard ve Mackill (2009) tarafından bulunan kolay ve etkili markör sistemleridir. Başka markörlerle karşılaştırsak, SCoT markörleri bitkilerin biyolojik karakterleri hakkında bilgi vermektedir. Ulaşabilecek gen ile birleşme olanağı sağlar. Yeniden kullanılabilir, basit uygulanabilir ve çalışmadan iyi bir sonuç almayı sağlar.

Bu tez çalışmasında Ankara ve Çankırı ili nohut alanlarından elde edilen *A. rabiei* izolatlarının SCoT ve iPBS primerleri kullanılarak genetik farklılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Nohut İle İlgili Genel Bilgiler

Nohut Baklagiller familyasının kelebek çiçekliler alt familyasının en etkili çeşitlerindendir (Akçin, 1988). Nohut türleri içinde kültürel nohutun da olduğu 9 tek yıllık, 33 çok yıllık ve 1 ayrılmamış 43 çeşiti barındırır. (Sethy vd., 2006a). Nohut çeşitleri yapısal karakterleri, yaşam çemberleri ve bölgesel konumları göz önüne alındığında, tek yıllık nohut çeşitleri Monocicer ve Chamacicer olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Monocicer sınıfında 8 tek yıllık nohut çeşiti bulunurken, Chamaecicer grubunda sadece tek çeşit vardır. Polycicer ve Acanthocicer sınıflarında ise tane tek yıllık çeşit yoktur. Polycicer sınıfında 25, Acanthocicer sınıfında ise 7 tane çok yıllık nohut türü bulunur (Frediani ve Caputo 2005).

Genellikle, bitki boyları 20 ila 100 cm kadar uzayabilir, fakat elverişli ortamlarda iyi yetişen bitkiler 130 cm'ye kadar uzayabilir. Çiçek kısmı genellikle papilionludur. Çiçek kısmı, 6-13 mm boyunda bir pedicel ve peduncle yüzeyinde, aksiller rasem yüzeyinde oluşurlar. *Cicer* türündeki bitkiler, tek çiçek için karpelden oluşmaktadır (Singh, 1997)

Tohumları özellik bakımından sivridir, sıklıkla açısall ve buruşuk özelliktedir. Tohumlar açısall, baykuş ve bezelye şeklinde üç tipte görülür. Tohum renkleri farklı şekillerde belirgin olarak görülür (Singh, 1997).

Nohut bitkisi susuz ve yarı susuz yerlerde üretilen, ekonomik katkısı olan mat renkli baklagil bitkisidir. Susuzluğa ve güneş ışıklarına toleranslı olarak mercimek bitkisinden sonra ikinci konumda bulunur. Toprağa kadar gidebilen köklerden oluşan bir bitkidir. Epidermis katmanı ile bazılarının üstü örtülüdür. Bitkinin böyle karakteristik etkisi ile susuz yerlerde rahat yetiştirilir. Bitkinin çimlenmesi için vejetasyon süresi 60-90 gün olmalı ve toprak sıcaklığı +3 °C'den çok sıcaklıkla yer almalıdır. Ortalama gelişmesi için 15 °C gereklidir. 26 °C'den çok güneş ışığında gelişme açısından zararlı bir hal oluşmaktadır. Nohut çeşitlerinin gelişmesi için 15 °C ile 26 °C sıcaklık gerekir. Fazla nem nohut için olumsuz bir durumdur. Yağışlı havalarda fungal hastalıklara ve kök çürüklükleri meydana gelerek verimleri azalabilir. Bunun için su olmadan da üretilir. Yemelik baklagil bitkileri arasında kireç ve tuz seviyesine çok dayanıklı bir bitkidir. Bu sebeplerden dolayı toprak içinde tuz değeri yükseldiği durumlarda *Cicer arietinum* özel bir konuma sahiptir. Nohut bitkisi için en iyi kumlu-tınlı

topraklarda yetiştirilir ve diğer toprak gruplarında da rahat yetişebilmektedir. Çok asitli topraklarda zarar görürler. Toprakların yapısı, büyüme zamanı ve hafif yağmurlar bitki için gereklidir (Hasdemir ve Terzi, 2015).

Ekim için kışa girmeden önce topraklar tabandan sürülerek hazırlanır. Susuz bölgelerde toprağın sürülmesi, nohut yetiştiriciliğinde fazla etkiye sahip değildir. Türkiye’de nohutun ekim süresi bölgeden bölgeye değişmektedir. Zamanından önce ekim yapıldığı durumda yabancı ot sorunu meydana gelmektedir. Hastalığa dayanıklı türlerin üretilmesi için, Mart Ayı itibariyle Amasya, Tokat ve Çorum’da üretilmektedir. Duyarlı nohut türlerinde ürünü ekmek için Mayıs ayı tercih edilmelidir (Hasdemir ve Terzi, 2015).

Nohut bitkisi ile ilgili yapılan son araştırmalarda Van der Maesen (1972), nohut çeşitlerinin denizden 5600 m yükseklikte bile üretilbildiğini ortaya koymuştur (Saraçoğlu, 2007).

Sepetoğlu (1994), ülkemizde genel itibari ile bütün yerlerde nohut yetiştiriciliğinin olduğu, nohut için mühim olan birkaç hastalığın yazlık ekim zamanlarında tespit edilmediği ve etkilerden sakınmak için yazlık ekim türlerin kullanılması gerektiğini bildirmiştir.

Erdoğan (2002), yağışların normalden fazla sürmesinin ekimi geciktirdiği için, geç ekilen türlerde çiçeklenme süresinin daha az olduğu ve ileriki zamanda meyve miktarında farklılaşmalar oluşabileceğini bildirmiştir.

Özdemir ve Karadavut (2003) Ülkemizin kuzey bölgesindeki araştırmada, iki yıllık uzun gelişme zamanının bitkinin uzunluğunu, meyve sayısını, toplam kütlesini ve miktarını arttırdığını bildirmişlerdir.

Nohut baklagil bitkisi az sıcaklıklarda ve fazla sıcaklara dayanıklılık sağladığı (Uzun vd., 2012) ve nadas uygulamasının yapıldığı susuz bölgelerde az seviyedeki sıcaklıklara daha iyi direnç gösteren ve fazla sıcaklarda hayatta durabilen bir baklagil çeşiti olduğunu (Üstün ve Gülümser, 2003) bildirmişlerdir.

Türk ve Koç (2003), bazı nohut türlerinin Diyarbakır ortamında meyve miktarı özelliklerini araştırmak için bazı çalışmalar yapmışlardır ve araştırmada bitki boyu, ilk bakla boyu, 1000 tane kütlesinin ve meyve miktarının değişik ekim süresi ve aralıklarında değişimler oluşturabileceğini ve meyve miktarının üzerine etki yapabileceğini bildirmişlerdir.

2.2. Nohut Bitkisinin Bitkisel Üretim İçin Önemi

Dünya üzerinde meydana gelen çevre sorunları, üretimdeki düşüklük, hayvansal maddelerin maddi değerinin yükselmesi ve insan popülasyonunun sürekli fazlalaşması ırkımızı besinlerin doğru üretilmesine gereksinim kılmaktadır. Böyle sebepler ile bitkilerden elde edilen proteinlerde de önem kazanmıştır (Bayrak, 2010). Nohut bitkisi öteki baklagil bitkilerine göre karşılaştırıldığında %21-24 değerinde protein barındırmasıyla fasulye türünden sonra gelmektedir. Bu sebeplerden dolayı nohut yaşamamızda etkili konuma sahip bir bitkidir. Başka proteinlerle kıyaslandığında basit ve daha az maliyetli olmaları, antioksidan barındırdıkları için kanser zararını düşürmektedirler. Ayrıca içinde bulunan bazı vitaminler ve mineraller sayesinde besin için çok faydalıdır (Hasdemir ve Terzi, 2015; FAO, 2022).

İnsan beslenmesinde kullanılmasının yanı sıra nohutun diğer kısımları, hayvanlar için besin olarak kullanılmaktadır. Nohut bitkisinin belirli kısımlarında az seviyede selüloz bulunmaktadır. Artıklarında fazla değerde protein miktarı barınmaktadır. Bitkilerden arta kalan kısımlar su ile karıştırılarak hayvanlara yem olarak verilebilir. Hayvanların beslemesinde etkili diğer tahıllardan iki kat daha protein barındırırlar. Ayrıca bitkinin içinde bulunan proteinin sindirimi daha kolaydır (Hasdemir ve Terzi, 2015). Nohut FAO, 2022 bilgilerine bakılarak evrensel bir biçimde tüketilen bitkidir. Türkiye de üretilen baklagil bitkisi ve ürünü olarak ilk başlarda nohut bitkisi yer almıştır.

Dünya üzerinde çok geniş bölgelerde kültürü yapılmasına ve geniş uygulanabilirliğe uygun olmasına karşı mikro besin noksanlıkları, soğuk, kuraklık, tuzluluk ve yaprak hastalıkları gibi çeşitli biyotik ve abiyotik stres nedenleri nohutun verimliliğini azaltmaktadır. Bu sebeple son zamanlarda birçok çalışma stres şartlarına dayanıklı nohut çeşitlerinin belirlenmesi ile ilgilidir (Mahmoudi vd., 2007).

Nohut, artan dünya nüfusu için önemli bir besin olmaktadır ve iklim değişikliği ile daha çok önem kazanan ürünlerden olması düşünülmektedir. Yıllık ortalama 17 milyon tonun üzerindeki ürün miktarı ile yemeklik dane baklagil bitkisi arasında fasulyeden sonra ikinci sırada yer alır (FAO, 2022). Son zamanlarda nohut yetiştiriciliği için ayrılan üretim alanları fazlalaşmakta ve günümüzde tahmini olarak 17,8 milyon hektar alanda ürün üretilmesi sağlanmaktadır (FAO, 2022).

Birim alandaki üretim miktarı, 1961'den beri hızlı olmamasına karşın düzenli bir biçimde yıllık 6 kg/ha civarı yükselmektedir (Muehlbauer ve Sarker, 2017). Dünyada yerli yetiştiricilik ile nohut isteğini karşılayamayan ülkelerin iç tüketim gereklerini karşılamak için yıllık olarak 3,3 milyon tondan fazla miktar nohut, dünya pazarlarına bu ihtiyacı karşılamak üzere üretilmeye çalışılmaktadır (FAO, 2022).

Anbessa ve Bejiga (2002), susuzluğa dayanıklılık bakımından 482 nohut türünü araştırmışlar ve dayanıklı çeşitlerin susuz koşullarda olumsuz etkilenmelerine göre yaklaşık %10'dan daha çok verim meydana getirdiğini tespit etmişlerdir. Duyarlı çeşitlerde düşük nem seviyelerinde susuz kök kütlelerinin, kök hacmi ve kökün toprağa inme seviyesinin etkili derecede düştüğü ve yaprak yüzeyinin azaldığı gözlenmiştir. Başka araştırmada meyve gelişme evresinde yaşanan kuraklık riskinde meyve miktarının ve kalitesinin düştüğü, meyvede oluşan besin elementlerinin daha az seviyede görüldüğü tespit edilmiştir. Kabuli türü nohut türünde Desi türüne göre kuraklık riskinin yüksek gerçekleştiği bildirilmiştir (Nayyar vd., 2006).

2.3. Nohut Yanıklığı Fungal Etmeni (*Ascochyta rabiei*) İle İlgili Genel Bilgiler

Nohut yanıklığı *A. rabiei* fungal etmeni tarafından meydana gelen ve bitkinin tüm kısımlarında meydana gelen etkili bir hastalık çeşitidir (Anonim, 2014).

A. rabiei'nin neden yaptığı hastalık tüm üretim gerçekleştiren ülkelerde önemli olup ürün miktarlarında azalmaya neden olur (Khan vd., 1999).

A. rabiei fungal etmeninin piknidium meydana oluşturması, misel gelişimi ve spor çimlenmesi için oluşması gereken ısı 20 °C dir. Bu sıcaklığın üstündeki ve alt sıcaklıklardaki spor çimlenmesi olmasına karşın, etki az derecede görülmektedir (TrapedoCasas ve Kaiser, 1992b). Yaprığın ıslak olması ve nemli hava, fungusun gelişmesini daha çok tesir eden nedenlerdendir. Hastalık yaprağın ıslak olmasından 4 veya 8 saat sonra ortaya çıkabilir. Yaprak yüzeyinin ıslak olma süresi arttıkça hastalık daha çok şiddetlenebilir. Nem fungusun gelişmesi için etkili bir faktördür. Nemsiz hava da depolanan nohutlarda pseudotesyumlar meydana gelmezler (Trapero-Casas ve Kaiser, 1992a; Gamliel-Atinsky vd., 2005).

Singh ve Saxena (1996), nohut yanıklık hastalığı bitkinin zarar görmemesi için yazlık ekimlerdeki nohut türlerinde daha az randımanın gerçekleştiği; fakat çok

fazla randıman getiren kışlık ekim çeşitlerinin geliştirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Etmen, “apressorium” oluştuktan itibaren hızla bitkinin epidermisinden giriş yaparak hastalığı meydana getirir (Höhl vd., 1990; Köhler vd., 1995). Penetrasyon yapılması zor bir kuvvet ile yapılmayıp enzim yardımıyla meydana gelebilir.

Hastalık döngüsünde pseudotesyumlardan kopan askosporlar enfeksiyonu başlatılır. Sonraki aşamada bu etmenler yayılarak sağlıklı konukçularda hastalıklar oluşturur. Eşeyssel üremeye meydana gelen rekombinasyonlardan, değişik özelliklerden oluşan patotipler meydana gelebilir (Tabanlı, 2016).

Askosporların meydana getirdiği ilk belirtilerden itibaren bitkinin diğer kısımlarında oluşan konidileri meydana getirir. Hastalık meydana geldiğinde ve gelişmesi için elverişli ortamlar oluştuğunda zarar meyvenin tümünde görülür (Tabanlı, 2016).

Akdeniz ülkelerinde sıcaklık fazla olduğundan nohut yanıklığı fungal etmeni toprak üstünde bitki artıklarında iki yıl etkisini kaybetmeden durabilir. Fakat artıkları toprak içinde kalırsa belli bir süreden sonra etkisini yitirir (Davidson ve Kimber, 2007). Kanada benzeri sıcaklığın düşük olduğu bölgelerde *A. rabiei* bitki artıklarında 4 seneden fazla canlılığını yitirmedeği bildirilmiştir. Bitki artıkları toprak yüzeyinin 10 cm içine de koyulsa etmen etkisini sürdürmektedir (Gossen ve Miller, 2004). Nohut üretildikten sonraki zamanlarda etmen etkinliğini sürdürmesine karşın, iki yıldan sonra bulaşık ürünlerin farklı etmenlerin gelişimine zemin hazırladığı bildirilmiştir (Trapero-Casas ve Kaiser 1992b). Bitki artıkları toprağın üzerinde kaldığında, pseudotesyum ve piknidyumların iki yıl hayatta kaldıkları halde bitki fazlalıkları toprak içine konduktan sonraki süreçte 2-5 ay hayatlarını devam ettirirler (Navas-Cortes vd., 1995). Luthra vd., (1935) ve Açıkgöz (1994)’ün gözlemlediğine göre fungus tarla yüzeyindeki bitki artıkları yüzeyinde hayatını iki yıldan fazla sürdürür. Amerika’da yapılan araştırmada, artıkların toprak üzerinde durması halinde 57-81 hafta, 16cm içeriye gömülmesi halinde 10-15 hafta da görüldüğü tespit edilmiştir (Açıkgöz, 1994). Hastalık etmeninin depo koşullarında bulaşık tohumlarla etkinliğini 13 sene devam ettirdiği görülmüştür. Fungus aslında bulaşıklı bitki kısımlarında, hastalıklı bitkilerin tohum kısımlarında canlılığını devam ettirmektedir. Enfekteli nohut artıkları, patojenin bir

dönemden diğer döneme hayatta kalmasında ve nohutun ilerki dönemde ekilmeye kadarki evresinde hayatta kalır (Kaiser, 1973).

Yağışlı hava ve nem hastalık etkisinin artması için en önemli etkidir. 15 °C'den fazla sıcaklık ve %60'tan fazla nispi nem ve yazın 350-400 mm yağmurun olduğu yerlerde hastalık gelişmesine neden olduğu belirlenmiştir (Açıkgöz, 1994). Çiçeklenme ve bakla bağlama evresinde yağışın sürmesi durumunda ilk günlerde nohut komple zarar görmektedir. Fakat yağmur yağmadığı zaman etmen etkisini kaybeder. Weltzien ve Kaack (1984) araştırmasında 6 °C'den düşük sıcaklarda ve yaprak yüzeyinin 6 saatten fazla ıslak kalması durumunda etmen etkisini çok gösteremediğini belirtmiştir. 9-24 °C ve en az 10 saat yaprakta yağmurun kalması halinde etmenin etkisinin fazla olduğu bildirilmiş, yoğun hastalığın oluşması için sıcaklığın 8 derece üstü ve bir ayda yağın yağmurun 400 mm'den fazla olmasının hastalığı kuvvetlendirdiğini bildirmiştir. Sıcak hava etmenin gelişmesi için ikinci seviyede etkilidir. Etmenin istediği uygun sıcaklık 20 °C'dir. 5 °C'den düşük durumlarda ve 30 °C den yüksek sıcaklıklarda genel itibariyle hastalık meydana gelmez. Rüzgar etkisi ile enfekteli bitki artıkları taşınarak hastalığın meydana gelmesine zemin hazırlarlar. Ayrıca rüzgar etkisi ile askosporlar daha ücra yerlere giderek hastalık olmayan yerlerde dahil hastalık oluşturabilir (Açıkgöz, 1994).

2.4. Nohut Yanıklığı Hastalığı ile İlgili Moleküler Markör Araştırmaları

Pseudotheciumlar kışı bitki yüzeyinde geçirerek meydana gelirler. Pseudotheciumlar 120-270 µm çapında kahverengi-siyah, küresel, zor anlaşılabilen gaga ve ostiole yapıya sahip olur (Nene ve Reddy, 1987). Trapero-Casas ve Kaiser (1992), her bir mm² hastalıklı yerin 15000 askospor meydana getirme kapasitesine sahip olabileceğini belirtmişlerdir.

A. rabiei heterothallic yapıda bir fungus olduğundan eşeyli evresinin oluşması için birbirini tamamlayan iki mating type gereklidir. Mating type'lar Yoder vd. (1986)'nın genetik adlandırılmaya bakılarak MAT 1-1 ve MAT 1-2 bulunarak belirtilmiştir.

A. rabiei'nin öncelikli konukçu bitkisi nohuttur ve farklı *Cicer* türlerindeki hastalandırdığı bildirilmiştir. Etmenin nohut bitkisinden farklı bir bitkide zarar verdiği bildirilmemiştir. (Pande vd., 2005). Bundan başka nohut türünden başka

ender görülen *A. rabiei*'nin sebep verdiği etkilerin az görüldüğü rapor edilmektedir (Kaiser, 1990; Porta-Puglia vd., 1996).

Etmen sebebi ile oluşan zararlı maddelerin ve seviyelerinin farklı izolatlarda değişiklik arz ettiği bildirilmiş ve izolatların patojenisiteleri ile bağlantılı görüldüğü rapor edilmiştir (Kaur, 1995).

Hastalık etmeni bitkide toprak üstü organlarda kurumalara sebep olmakla beraber, gövde kısmını çevreleyen değişik boyutlarda kahverengi, 3-4 cm boyutunda leke oluşturur. Gövde kısmı leke olan bölgeler zarar görmekte ve bitki az bir süre zarfında kuruyarak zarara uğramaktadır. Gelişen lekelerin yüzeyinde çok küçük boyutta, fungusun siyah piknitleri meydana gelmektedir. Yapraklarda yuvarlak olarak görülen lekeler daha sonra sarı renkli hale gelmektedir. Kapsüllerin yüzeyinde iç içe geçmiş yuvarlak lekeler oluşmaktadır. Hastalıklı tohum koyu siyah renge bürünür ve şekli bozulur. Etmenin etkisi tarla koşullarında yer yer bitkide kurumaya sebebiyet verir ve tarlada düz ve bitkisiz alanlar oluşur (Nene, 1982; Nene ve Reddy, 1987).

Navas-Cortés vd., (1995), Tarlada kalmış hastalıklı bitkilerde kışı geçiren fungusun sonraki üretim sezonunda hastalık kaynağı olabileceği bildirilmiştir.

Maden vd. (1975), yaptıkları araştırmada Orta Anadolu Bölgesi'nde buldukları tohumların %70'inin *A. rabiei* fungal etmeni ile bulaşmış olduğunu bildirmişlerdir. Fungus ile enfekte olmuş tohumların iç ve dış kısmında miselyum ve piknitler tespit edilmiştir. Ayrıca Maden (1987) tarafından etmenin %56 değerinde tohumla bir yerden başka bir yere sürüklendiği bildirmiştir. Hastalıklı tohumlar sebebi ile sağlıklı tohumlarda hastalık etmeniyle bulaşık hale gelebildiğini tespit etmişlerdir (Porta-Puglia vd., 1996).

Dayanıklı bitki yetiştirilmesi *Ascochyta* yanıklığının kontrol altına alınmasında en kolay teknik olarak rapor edilmektedir. Dünya genelinde de araştırmalar yapılarak tek bir majör genle yapılan genetik direnç meydana gelmesi sağlanması düşünülmektedir. Bununla birlikte hastalığa dayanıklı çeşit ıslahı araştırılmalarında düşük seviyede ilerleme görüldüğü rapor edilmektedir (Reddy ve Singh, 1984).

A. rabiei'nin yaşam döngüsünde seksüel rekombinasyonlar, popülasyonlarındaki fazla miktardaki patojenik farklılıklara olanak oluşturarak yeni patotipler meydana getirmektedir. Fazla değerdeki patojenik farklılık, nohutta oluşturulan direncin az sürede kaybedildiğine sebep verdiği görülmüştür (Chongo

ve Gossen, 2001). Sabit dirence bağılı çeşitlerin oluşturulmasıyla yapılan araştırmalar etmen yoğunluğundaki şu anki durumunu patojenik varyasyonun bilinmesi ile yoğunluğun sürekli takip edilmesini savunmaktadır (Chongo ve Gossen, 2001; Chongo vd., 2004).

Vir ve Grewal (1974), oluşturdukları araştırmada Hindistan'ın değişik yerlerinden edindikleri 268 adet *A. rabiei* izolatını kültürde gelişme karakterlerine ve yapısal özelliklerine göre 13 sınıfa bölmüşlerdir. Çalışmalarda, her gruba 1 tane denk gelecek şekilde hastalık etmeni uygulanmış değişik reaksiyonlar gösterdiği görülmüştür.

Qureshi ve Alam (1984), Pakistan'ın nohut ekiliş bölgelerinden değişik yıllarda buldukları 25 *A. rabiei* izolatını yapısal özelliklerine göre sınıflandırmışlar ve değişik gruplara göre 8 izole edilmiş bitkiyi nohut türlerinde hastalık oluşturabilecek türlerin seviyeleri dikkate alınarak 5 sınıfa ayırmışlardır.

Reddy ve Kabbabeh (1985), Lübnan ve Suriye'nin değişik yerlerinden elde ettikleri 50 izolatı yapısal özelliklerine bakılarak 24 sınıfa ayırmışlardır. Hastalandırma testinde 6 bitkiyle test uygulayarak *A. rabie*'nin 6 ırkını tespit etmeye çalışmıştır.

Dolar ve Gürcan (1992), Türkiye'nin farklı ekiliş bölgelerine göre temsil eden 20 *A. rabiei* izolatının yapısal özelliklerine göre 8 grupta sınıflandırmışlar ve ırk belirlemesi için her bir grubu temsilen seçilen izolatları Reddy ve Kabbabeh (1985)'in uyguladığı 6'lı set ile reaksiyon denemesine sokmuşlar ve Türkiye'de o zamana kadar tespit edilen 6 ırktan ırk 1, ırk 4 ve ırk 6'nın tespit edildiği rapor etmişlerdir.

Ülkemizin en etkili nohut ekiliş alanlarında 2000 ve 2001 senelerinde yapılan araştırmalarda 134 *A. rabiei* izolatı bulunmuş ve bu izolatlar denetime alınarak 2 dirençli ve 2 tolerant ve 1 duyarlı tür içinde yaptıkları işlevlere göre 17 patotip gruplara ayrılmıştır. 17 patotip çok agresif, 1 patotipin hastalandırma olasılığının, çok az seviyede olduğu tespit edilmiştir. Araştırma bittikten sonra izolatların 69 (%51)'unun patotip 1 de bulunduğu rapor edilmiştir (Babalıoğlu, 2004).

Yapılan bu araştırmada nohut bitkisinde bulunan patojenlerin Türkiye 'deki patojenler arasında genetik çeşitliliği ortaya koymaktır. Araştırma sonucunda patojenler arasında yüksek düzeyde genetik çeşitlilik gözlemlenmiştir. Bütün moleküler belirteçler gruplara bölündü ve analiz edildi. UPGMA'dan meydana

gelen gruplar hem RAPD hemde ISSR markörleri ile analiz edilerek morfolojik olarak sınıflandırılmıştır. Yapılan bu 2 analiz türü ile izolatların dendrogramlarında genetik benzerlik görülmüştür (Bayraktar ve Dolar , 2009)

2.5. Ascochta Rabiei İzolatları Arasındaki Genetik Farklılıkları Araştırılması İçin Yapılan Çalışmalar

RAPD çalışması; genetik markör ile uygulanabilen, amplifikasyon sonucu eser elde etmek için gelişigüzel üretilebilen 9-10 bp'lik oligonükleotit primerlerle yapılan PCR metotudur. Tarihte 1990 senesinde Williams ve arkadaşları araştırmalarda test etmişlerdir. RAPD çalışması kolay ve seri uygulanabilmesi sebebi ile büssürü canlı organizmada genetik çalışmalarında genel itibari ile uygulanmışlardır. Bu yöntemle amplifikasyonlar total genomik DNA da uygulandığı için RAPD çalışması yalnız bir genetik kısımdaki varyasyondan farklı genetik değişimin araştırılmasına da imkân verir. Amplifikasyon faktörleriyle ilişkili değişik DNA eserleri oluşmakta ve bütün amplifikasyon eserlerinde genomik DNA ile uygulanan primerlerle bazı sekans benzerlikleri bulunmuştur (Williams vd., 1990; Welsh ve McClelland, 1990).

Weising vd. (1991), değişik patojenik sınıflara bölündüğünde buldukları 6 adet *A. rabiei* izolatının DNA'larını ayırmıştır. TaqI, EcoRI, HinfI ve MboII enzimleri uygulanarak bölünen DNA'lar belirtilen (GTG)₅, (CA)₈, (TCC)₅ ve (GATA)₄ problarla denenmiştir. Sonuçta izole edilen genotipin 4 ayrı gruba sınıflandırıldığı tespit edilmiş (GATA)₄ izolatların ayrılması için en önemli prob olarak belirlenmiştir.

Jamil vd. (2000), Pakistan'ın farklı ekim bölgelerinden aldığı 130 *A. rabiei* izolatını geleneksel yöntemlerle 3 patotip sınıfına ayırmışlar ve ayrılan kısımları belirleyecek biçimde komple elde edilen 21 *A. rabiei* izolatı ve 80 primer çalışmada değerlendirilerek RAPD çalışması için araştırmalar yapmışlardır. OP-A13 ve OP-B07 primerleri izolatlarla polimorfizmi meydana çıkarmak için olumlu görülmüş ve bunlarla meydana gelen 24 adet total bant verisi uygulanarak oluşturulan dendrogram, izolatların aralarında ayrılmış ama benzer izolatların patotip bölünmesi ile bir benzerlik görülmemiştir. Bundan başka araştırmada uygulanan 130 izolata ait DNA'lar HinfI enzimi aracılığı ile bölünmüş ve 32P ile belirlenmiş olan (CAA)₅, (CA)₈, (GA)₈, (GAA)₅ ve (GATA)₄ probları aracılığıyla test edilmiştir.

Phan vd. (2003), Avustralya'nın değişik yerlerinden buldukları *A. rabiei* izolatlarını 19 STMS primerleri kullanarak oluşturdukları araştırmada, yoğunluğun

allel bağlantısında ciddi değişiklikler görememiştir. Moleküler varyans araştırması ile Avustralya’da görülen gen değişikliğinin gayet az miktarının ($HT=0,02$) populasyonlarda genetik değişikliklerden olduğunu, ayrıca genetik değişiminin yüksek bölümünün (%92) alt populasyonlardaki genetik varyasyondan olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca yapılan bu çalışmada izole edilen bitkilerde fazla farklılıklar görülmüş ve Kanada örneklerinin, ABD örnekleri ile olan benzerliğinin Suriye ve Avustralya örneklerinin birbirleriyle olan benzerliğinin fazla görüldüğü tespit edilmiştir.

Akalın (2006), nohut yanıklık hastalığı ile kültürel mücadele metotlarıyla hastalığın zararın en az seviyeye düşürülebileceğini bildirmiştir. Kültürel mücadele metotların en yaygın olanı geç ekim yöntemidir. Etmenle kimyasal savaşta en çok tohum ile yaprak yüzeylerinin ilaçlanması yapılır. Genellikle fungusit ilaçlarından olan etkili maneb-80, tebuconazole ve difenoconazole etken maddeye sahip ilaçlar gelir. Etmenin mücadelesinde, ermenle savaşta diğer yolların mücadelede düşük kalması sebebi ile dirençli türler geliştirmek gerekliliği ortaya çıkmıştır.

Retrotranspozonlar tekrar eden ve mobil DNA dizileri olup kendilerinden tekrar üreterek oldukları genomun başka bir tarafına kendilerini taşıma özelliğine sahip transpozonlardır. Bu sebeple mutasyonlara, genom büyüklüğünün yükselmesine vebunun sonucunda genetik çeşitliliğe sebep olduğundan mükemmel bir markör kaynağı olarak görülmektedir (Schulman vd., 2004). Retrotranspozonlar bütün ökaryotların genomları boyunca çok fazla sayıda bulunurlar (Finnegan, 1989). Funguslarda retrotranspozonlar ilk olarak 1970’de görülmüş olmasına karşın hifsel gelişme gösteren funguslarda LTR retrotranspozonlarının varlığı yaklaşık 10 yıl sonra görüldüğü bildirilmiştir (Muszewska vd., 2011). Yüksek markör üretme potansiyellerinden dolayı RMAP ve IRAP gibi retrotranspozon markörleri çok fazla ökaryotik organizmanın karakterizasyonu ve genetik haritalaması için kullanılmıştır. Bununla birlikte PCR ürünlerinin büyüklüğündeki farklılıklar ve primer tasarlamak için klonlama ve sekans bilgisi gereksinimi bu markör sistemlerinin kullanılmasını engellemiştir. Retrotranspozon iPBS amplifikasyon tekniği ise LTR retrotranspozonlarında ters transkriptaz primer bağlanma bölgesine dayalı evrensel bir DNA markör yöntemi olarak Kalendar vd., (2010) tarafından deklare edilmiş ve pek çok ökaryotik organizmada etkinliği görülmüştür. iPBS markörleri şimdiye kadar birçok bitki patojeni fungusun tür içi ve türler arası seviyedeki genetik farklılığının araştırılması için araştırmalara dahil edilmiştir

(Pourmahdi ve Taheri, 2015; Özer vd., 2016, 2017; Özer ve Bayraktar, 2018; Skipars vd., 2018; Wu vd., 2019).

Bugüne kadar 55 farklı ülkeden 67 fungus, 3 bakteri, 22 virüs ve mikoplazma ve 80 nematod olmak üzere 172 patojenin nohutta hastalığa sebep olduğu rapor edilmekle beraber bunlardan az bir kısmının ekonomik öneme sahip olduğu bildirilmiştir (Nene vd., 1996). Dünya’da nohut verimini etkileyen en önemli biyolojik stres nedeni *Ascochyta* yanıklığıdır. Bunu nohutun diğer önemli hastalığı olan *Fusarium* solgunluğu izlemektedir (Soran 1977, Haware et al. 1986, Maden 1987, Dolar 1996, Nene vd., 1996, Bayraktar 2008).

Bayraktar et al. (2007), Türkiye’nin İç Anadolu Bölgesindeki 6 farklı ilden elde ettikleri 45 *A. rabiei* izolatının %57.2’sinin (26 izolat) MAT 1-1, %42.8’inin (19 izolat) ise MAT 1-2’e ait olduğunu belirlemişlerdir.

Türkiye’nin farklı bölgelerine ait 18 ili temsil eden *A. rabiei* patotipleri arasındaki genetik çeşitlilikler 54 RAPD ve 30 ISSR primeri kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen verilerin Dice’ın benzerlik katsayısı kullanılarak yapılan UPGMA cluster analizi sonucunda 81 *A. rabiei* izolatı RAPD analizine göre 6 grup, ISSR analizine göre ise 4 grup içerisinde gruplandırılmıştır. Ancak izolatların patotip ve bölgelere göre dağılımı ile dendrogramdaki gruplanmaları arasında herhangi bir bağ tespit edilememiştir. İzolatların populasyon yapısına bakıldığında en yüksek gen farklılığının İç Anadolu bölgesinde (0.1992), en düşük farklılığın ise Akdeniz bölgesinde (0.1574) olduğu bildirilmiştir (Özer, 2009).

Tunus’un 5 değişik ekim yerlerinden alınan *A. rabiei* izolatlarının birbirleriyle olan genetik değişiklikleri SSR ve MAT-PCR ile araştıran Rhaïem vd. (2008), Tunus’daki MAT 1-2 örneklerinin MAT 1-1 örneklerine bakılarak düşük seviyede bir genetik ve genotipik değişikliğine uğradığını bildirmişlerdir. Elde edilen bilgiler gerçekleşen çalışmalar neticesinde, Nabeul ve Kef populasyonları ile Beja, Bizerte ve Jendouba populasyonları arasında mühim genetik değişikliklerin olduğunu bildirmişlerdir. Varyans çalışması sonunda bulunan genetik değişikliğin fazla bir bölümünün, %70’ten yüksek bir oranda etmen grunu içinde değişikliklerden olduğu ve az bölümünün ise (%28) topluluklar arasındaki değişikliklerden olduğu bildirilmiştir.

Aydın vd. (2016), Türkiye’ nin güneydoğusunda nohut yanıklık hastalık etmeni ile savaşta neler geliştirilebileceği ve etmenin yaşamına dair araştırmalar yapmışlardır. Kışlık ekimde, yanıklık zararının en düşük seviyeye azaltmak uğruna

dayanıklı tohumlar kullanmışlardır. Araştırma sona erdikten sonra Azkan ve Arda türlerinin etmene karşın en güçlü tür olduğunu bildirmişlerdir. Belirtilen türler sonbahar mevsiminin sonunda ekilirken tohum ilaçlaması, ilkbaharda da yeşil aksam ilaçlaması uygulandıktan itibaren etmenin etkisinin azaldığı ve az miktarda enfeksiyon oluşabileceğini öngörmüşlerdir.

2.6. iPBS-Retrotranspozon Hakkında Genel Bilgiler

iPBS, bitki ve hayvan alemi için polimorfizmin görülebileceği tek retrotranspozon merkezli markörlerden bir tanesidir. Tek çenekli ve çift çenekli bitkilerde retrotranspozonlar, genel itibari ile karışık populasyonları içermektedir. Bitkisel çeşitlerde fazla miktarda retrotranspozonun baya polimorfik oldukları bildirilmiştir. BARE-1 net bir şekilde gösterilebilmektedir. BARE-1 arpa bitkisinden alınmıştır ve buğdaylarda ve çavdarlarda da benzeyen içerikler içerdiği tespit edilmiştir (Pearce vd., 1997; Gribbon vd., 1999). Aynı zamanda, tek çeşitte çalışan markörlerin büyük kısmı, farklı çeşitlerde pasif çalışabilir fakat Kalendar vd. (2010), bildirdiğine göre bulunan iPBS markörleri “evrensel retrotranspozon markörler” gibi adlandırılan ve bütün hayvansal ve bitkisel çeşitlerde uygulanabilmektedir.

Bu metot yalnızca genetik materyalleri değil, ayrıca güçlü açık okuma kalıplarını barındırmayan ama iPBS kısmını bulunduran LARD'lar ve TRIM'lerle de uygulanabilmektedir. (Kalendar vd., 2008). iPBS metodu genellikle, kapalı tohumlarda açık tohumlarda ve alt yapılı bitkilerde polimorfizmi belirlemek nedeni ile uygulanmışlardır. Bu metot, yaygın genom barındıran hem de Brachypodium distachyon benzeri ufak genomu barındıran bitki türlerinde kullanımı önemli olmaya devam etmiştir (Hawkins vd., 2009). Oluşan ürünler agaroz jel yüzeyinde görülebilir. iPBS metodu gen haritalaması değerlendirilmelerinde etkilidir (Kalendar vd., 2010).

Retrotranspozonlar, baskılayıcı karakterleri sayesinde genomda çoğalmayı kolaylaştırırlar. Ama retrotranspozonların saldırgan özellikleri olsada bu özellikleri hücrede farklı denetim yerleri ile denetime tabidir. Retrotranspozonların taşınma prensibi, stres nedenleri (Grandbastien vd., 2005) ve doku kültüründe somatik çoğaltma (Hirochika, 1993) sebebiyle hareketli duruma anında gelirler. Böyle durumda görüldüğü üzere genetik çeşitliliğin ortaya çıkmasına neden olur.

Yıldız vd. (2019), iPBS primerleri ile 94 biber çeşidi üzerinden genetik çeşitlilik ve popülasyon yapısının özellikleri incelenmiştir. Primer başına ortalama

8,6 bant sayısı ile 20 iPBS primerinde 172 bant bulmuşlardır. %92 polimorfizm oranı ile primerler birbirinden ayırt edilmiştir. Farklı uygulamalar ile küme analizleri uygulamaya dahil edilmiş, polimorfizm bilgi içeriği (PIC) 0,15-0,99 arasında farklılıklar tespit edilmiştir.

Andeden vd. (2013), yaptıkları araştırmada köken olarak ülkemizin Güneydoğusunda 5 yabani ve 1 kültür çeşitini çevreleyen nohutun genetik çeşitliliği ve akrabalık bağlantılarını tespit etmek için iPBS ve ISSR markörlerini araştırmaya dahil etmişlerdir. 10 ISSR primeri uygulamaya eklenerek toplam 6 çeşite has 71 nohut genotipinde 136 skorlanabilir bant bulunmuştur. Bu bantlardan 135'i polimorfiktir, bununla birlikte 10 iPBS marköründe 130 bant bulunmuş ve primer başına ortalama 13.0 bant yüksek seviyedeki tür sayısı *C. chinospermum* ve *C. pinnatifidum* çeşitleri içinde tespit edildiği, *C. arietinum* az seviye de polimorfizm görüldüğü bildirilmiştir. Bu markörlardan yaklaşık PIC oranı 0,91 tespit edilmiştir. iPBS ve ISSR NeighborNet planar şemaları kıyaslandığında çeşitlerin sınıfları içindeki etkileşimlerinin aynı olduğu görülmüştür. Bu araştırma iPBS markörlerin yabani nohut çeşitlerinde ve kültür nohutunda çeşitlilik araştırmaları için katkısını ve görevini göstermiştir.

Guo vd. (2014), 35 değişik üzüm çeşidini incelediklerinde moleküler araştırmalarda %86 değerinde polimorfizm gösteren toplam 99 polimorfik bant bulmuşlardır. Bu araştırma sonucunda iPBS'in genetik çalışmalarında üzüm bitkisi için kolay, itimat eden ve elverişli bir yöntem olduğunu görmüşlerdir.

Yıldız vd. (2015), 66 bamya bitkisinde genetik çeşitliliği bulmak için iPBS markör sistemlerini uygulayarak araştırmıştır. iPBS retrotranspozon primerlerinden, primer başına ortalama 6,8 bant olmak üzere %40 polimorfizm ile toplam 88 bant elde etmişlerdir. iPBS retrotranspozonları için genetik çeşitlilik ve Shannon bilgi indeksi sırasıyla 0,01 ile 0,13 ve 0,02 ile 0,21, SSR markörleri için yine sırasıyla 0,06 ile 0,46 ve 0,14 ile 0,65 arasında meydana gelmiştir. Polimorfizm içeriği, retrotranspozonlar için 0,12 ile 0,99 arasında farklılaşırken, SSR markörü için 0,52 ile 0,81 arasında değişme olduğu görülmüştür. Ama SSR markörleri yerel türlerin orijinaline göre bölme bakımından fazla etkili olduğu görülmüştür. Popülasyon içeriğini bulmakta STRUCTURE programıyla uygulanmış ve yerli türler içinde iki popülasyon görülmüştür. Böylece araştırmada, bamya bitkisinde iPBS'in çalışmada uygulamaya katılabildiği bildirilmiştir.

Bitkilerin türlerin belirlenmesi ve türün yapısı, iç sisteminin nasıl çalıştığına göre yapılır. Bu nedenlerin artı yönü varsa da miktarları bellidir ve diğer etmenler etkili olabilir. Moleküler belirleyiciler, türlerin morfolojik ve fizyolojik karakterlerinin etkili belirleyicisidir, zira bu etmenler fazlaca bulunabilir, doku veya çevresel faktörlerden bağımsız şekilde ve bitki gelişmesinin ilk çıkış dönemlerinde genotip tanımlamasına imkân sağlar. Türlerin moleküler karakterizasyonu eş zamanda genetik çeşitliliğin giderek düşmesine neden olur ve tanımlanan potansiyel genetik erozyonu belirlemek için uygulanabilir (Manifesto vd., 2001).

Aydın (2016), 96 adet fasulye genotipi kullanarak iPBS retrotranspozon primerleri ile genetik çeşitlilik araştırması yapmıştır. Bu çalışmada primerlerin polimorfizm oranı %33 ile %90 arasında farklılık gösterdiği görülmüştür. PIC değeri en az kolimorfizm değeri 0,65 en yüksek polimorfizm değeri 0,93 olarak tespit edilmiştir.

Sadık (2017), 7 farklı *Daucus* çeşitinin 17 genotipinde genetik değişikliği araştırmak üzere yapmış olduğu çalışmada; *Daucus* çeşitleri üzerinde 24 adet polimorfik olan iPBS primeri ile toplamda 201 adet skorlaması oluşturabilecek bant oluştuğunu bildirmiştir. Primer başına yaklaşık polimorfik bant sayısı 8,3 ve bunlar arasında en fazla bant sayısı ise 12, en düşük 5 olarak görülmüştür. Ortalama PIC değeri 0,89 olarak rapor edilmiştir.

Demirel (2018), 58 buğday genotipinin morfolojik ve moleküler karakterlerini incelediği çalışmada; bitki boyu, başak uzunluğu, başakta dane sayısı, başak verimi, bitki verimi, biyolojik erim, hasat indeksi, başaklanma süresi, olgunlaşma süresi, bin dane ağırlığı ve hektolitre ağırlığı morfolojik özellikler için bir değer olarak görüp incelemiştir. Kalitatif karakterler arasında mumsuluk ve tüylülük özellikleri bulunmuştur. Araştırma, 10 adet iPBS primeri ile uygulanmış ve 163 adet polimorfik bant tespit edilmiştir. Polimorfizm yüzde ortalaması %95 olarak bildirilmiştir. Primer ortalama gen çeşitliliği 0,26 yaklaşık polimorfizm içeriği PIC ise 0,22 olarak tespit edilmiştir. 58 buğday genotipi üç alt popülasyona bölünmüştür. Genotiplerin popülasyon içeriği STRUCTURE yazılımı ile araştırılmış; Delta K=3 elde edildiği rapor edilmiştir.

Arystanbek Kyzy (2019), iPBS-retrotranspozon metodu kullanarak 38 buğday genotipinde genetik çeşitlilik ve popülasyon içeriğinin tespitini yapmıştır. Yaklaşık polimorfizm değeri %87 ve PBI 0,660 tespit edilmiştir. iPBS bilgileri ile bulunmuş ortalama allel miktarı ise 1.961 olarak tespit edilmiştir. iPBS

primerlerinin göstermiş olduğu kendi içeriğinden kaynaklı bitkilerin filogenetik ve taksonomik ilişki çalışması içerisinde etken bir şekilde kullanılabileceğini bildirmiştir.

Alkan vd. (2019), Türkiye ve Azerbaycan buğday üretim alanlarından 32 adet *Fusarium* türü izole etmişlerdir. 7 adet iPBS retrotranspozon primeri kullanıp 99 polimorfik (%86), 114 bant bulmuşlardır. Primer başına yaklaşık 14.14 polimorfik bant bulmuşlardır. PIC yaklaşık 0,17 ve bu değerler 0,10-0,29 değerleri arasında farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca UPGMA küme analizi sonrası bulunan dendrogramda, izolatların çeşit seviyelerinde 3 farklı gruba ayrıldıklarını bildirmişlerdir.

2.7. SCoT İle İlgili Genel Bilgiler

SCoT markörleri, bitki genomunda ATG başlangıç kodonunu çevreleyen korunmuş bölgelere dayalı olarak geliştirilmiş yeni bir sistemdir. Bu markörler genellikle tekrarlanabilirliği, uzunluk ve tavlama sıcaklığını belirleyen faktörler önemli değildir (Gorji vd., 2011). Bitki genetik analizi, kantitatif özellik lokusları (QTL) haritalaması ve toplu segregat analizi için kullanılabilen baskın markörlerdir (Collard vd., 2009). Tekrarlanabilir, güvenilir, verimli ve kullanımı kolaydır. Bitki ıslahı, genetik ilişkilere erişim ve QTL haritalaması için faydalıdır.

Scot primerleri, genlerin başlangıç kodon dizilerini çevreleyen korunmuş bölgelere dayanır. RAPD ve ISSR gibi tek bir primer kullanma prensibini taşır. İşaret sistemi ile başarılı bir şekilde genetik çeşitlilik analizinde ve bir dizi tarımsal ve bahçecilik ürünlerinin fungal hastalıklarının popülasyon analizinde kullanılır (Luo vd., 2010; Mulpuri vd., 2013; Xiong vd., 2011), (Zhao vd., 2013).

Tahıl ıslahı için önemli bir bitki olan *Elymus sibiricus* Batı ve Kuzey Çin'de yaygın olarak bulunan bitkidir. Genetiği hakkında bilgiler sınırlıdır. SCoT işaretleyicileri kullanılarak 53 *E. sibiricus* türü arasındaki genetik çeşitlilik ve ilişkileri belirlemek için Çin'de örnekler alındı. 16 SCoT primerinden toplam 173 bant üretilmiştir. 159 polimorfik bantların (PPB) yüzdesi ile polimorfik olan bantlar %91'dir. Nüfus yapısı analizine dayalı olarak beş grupta oluşturulmuştur. Küme Analizleri iki ana kümeye ve üç alt kümeye ayrılmıştır. Ana koordinat analizinin (PCoA) sonuçları Moleküler varyans analizi (AMOVA) genetik varyasyonun coğrafi bölgelerde (%50) ve kendi aralarında %49 olarak görüldü. Sonuçta mevcut çalışma, SCoT belirteçlerinin genetik çeşitliliği değerlendirmede etkili olduğunu göstermiştir (Zhang vd., 2015).

2.8. Nohut Yanıklığı Hastalığı ile İlgili Diğer Bilgiler

Dolar ve Gürcan (1991), nohutun *A. rabiei* karşın dirençli türlerini bulmuş ve fitoaleksinlerin etkisi üzerine araştırmalar gerçekleştirmiştir. Farklı yerlerden elde ettiği *A. rabiei* izolatlarını morfolojik ve kültürel karakterlerine göre gruplara ayırmış ve her bir grubu gösteren izolat ırkın tespiti için 6 test türü ile reaksiyona girmeleri sağlanmıştır. Araştırmanın sonucunda *A. rabiei*'nin 1-4 ve 6 nolu soylarının olduğu görülmüştür. İnokulum konsantrasyonunun enfeksiyon seviyesi ile bağlantılı olduğu belirlenmiştir. Dirençli ve hassas türlerin solunum, toplam karbonhidrat ve klorofil seviyelerinde farklılığının değişik olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca hastalığın başlangıç aşamasında nohut bitkisinde iki fitoaleksin bulunmuş ve bu faktörlerin seviyesinin dirençli türlerde etmeni sınırlayacak seviyede olacağı düşünülmüştür.

Dolar ve Gürcan (1992), yanıklık derecelerinin farklılığını ve ırkları belirlemek için Ülkemizin 11 değişik bölgesinden *A. rabiei* ilişkili nohut bitki artıklarından 20 adet *A. rabiei* izolatını tespit etmişlerdir. CSMDA ortamını morfolojik ve kültürel özelliklerini bulmak için uygulamışlar ve 8 gruba sınıflandırmışlardır.

Her gün bir gruptan 1 tane seçilip, belirlenen izolat 6 nohut hattıyla reaksiyon testine alınıp soy belirlenmesi gerçekleştirmişlerdir. Bu araştırmanın sonucunda ülkemizde *A. rabiei*'nin 1, 4 ve 6 numaralı soylarının hali hazırda bulunduğunu bildirmişlerdir.

Yaldız vd. (2018), 90 adet yerel tür ile 6 adet ticari türün araştırıldığı Türk tütün germplazmındaki genetik değişikliği belirlemek üzere yapmış olduğu araştırmada; 119 adet puanlanabilir bant ve bu bantların 98 adetinin polimorfik olduğunu (%82), ortalama polimorfizm içinde 0,10-0,80 arasında değişip ortalama değerinin 0,33 bulunduğunu rapor etmişlerdir. Bayesian kümeleme tekniği ile Türk tütün germplazmı genetik yapısı elde edilerek, 2 ana grup olduğu görülmüştür.

Rekombinant DNA teknolojisi 1970'lerin ilk zamanlarında ortaya çıkmış ve diğer zamanlarda genetik ile ilgilenenlerin çalışmalarında önemli olay oluşturarak biyoteknoloji endüstrisinde önemli devrimlere neden olduğu tespit edilmiştir. PCR metodu, ilgili DNA kopyalanmasının oluşmasından mesul olan ısılara dirençli DNA polimeraz enziminin kullanılmasına dayalı bir uygulamadır. Bunun sayesinde belirlenecek DNA kısmının enzimatik olaylar sonunda çok fazla sayıda kopyalanmasına olanak oluşturur (McClelland vd., 1994).

PCR Metodu 3 aşamadan oluşur ve bunlar denatürasyon, bağlanma ve uzamadır. İlk evrede hedef çift sarmal DNA 90-95 °C gibi ısıya maruz bırakılarak denatürasyon gerçekleştirilip tek zincirli duruma gelir. Bunu takiben sıcaklık 50 ile 70 °C arasında bir dereceye indirilir ve primerlerin tek zincirli duruma getirilmiş hedef DNA'ya ilişkilendirilmesi olanağı verilir. Üçüncü evrede, Taq DNA polimeraz enzimi ortamdaki nükleik asitleri ile DNA kısımlarını fazlalaştırır. DNA amplifikasyonunun elde edilmesi için gerekli görüldüğü hallerde tekrarlanma olanağı vardır. PCR uygulanması için genel itibari ile 5 faktöre gereksinim duyulur:

- 1) Tris-HCl, KCl ve MgCl₂ içeren bir tampon çözeltisi,
- 2) Termostabil DNA polimeraz enzimi,
- 3) İki oligonükleotid primer,
- 4) Deoksi-nükleotit-trifosfatlar (dNTP),
- 5) Genomik DNA'ya gereklilik vardır (Mukherjee vd., 2015).

PCR metodu, yüksek hızı, spesifikliğı seçiciliğı ve duyarlılığı ile bilinmektedir. PCR yalnızca DNA parmak izi için kullanılmaz, aynı zamanda farklı rekombinant DNA testlerinde de genellikle uygulanabilmektedirler. Önceleri DNA'nın kopyalanmasını gerektiren moleküler biyolojideki prosedürler şimdi PCR ile uygulanabilmektedir. Her bireyin değişik DNA diziliş olmasından, aynı primerler kullanıldığı halde her bireyde değişik DNA ürünleri ortaya çıkar. Ortaya çıkan bu ürünler genetik markör olarak araştırmalarda yer verilir. Bu zamanlarda DNA markörleri değişik yerlerde uygulanabilmekte ve geliştirilmeye açıktır. AFLP, RAPD, SSR ve SRAP gibi DNA markörleri araştırmalarda genel itibari ile kullanılan PCR merkezli markörlerdir (Yorgancılar vd., 2015).

2.9. Retrotranspozon'la İlişkili Bilgiler

Retrotranspozonlar, genomun çok fazla değişebilecek yerlerindendir ve klonlama yönünden yüksek değerde seyreden, bitki genomunun gelişmesinde bitki genom yapı taşı meydana getiren genetik etkilerdendir (Flavell vd., 1992; Voytas vd., 1992; Macas vd., 2015).

Tahıl bitkilerinde bütün DNA'sının %40-70'ini LTR retrotranspozonlarından meydana gelmektedir (Pearce vd., 1996; Goke ve Ng, 2016). Yeniden genom entegrasyonlarının oluşması retrotranspozon yüzünden olmaktadır.

Transpoze edilebilir bileşenlerin, markör sistemlerinde kullanılması değişik yöntemlere yöneltmiştir. Transpozonların genomda çok olması, her yere ulaşması

ve veriminin fazla olması gibi özellikleri markörlerin geliştirilmesine imkân verir. Retrotranspozon sekanslarının markör sistemi olarak uygulanmasıyla polimeraz zincir reaksiyonu ile ilişkili çok fazla metod bulunmuştur (Kalendar, 2011).

Retrotranspozonlar içinden SINE gibi sıralar, LTR retorelementleri benzeri fazla olan dizi setleri, IRAP, REMAP ve İnter-MITE amplifikasyon metodlarının meydana gelmesine imkan vermiştir (Bureau ve Wessler, 1992; Kalendar ve Schulman, 2006; Wenke vd., 2011; Seibt vd., 2012).

Transpozon elemanlarının değişik karakterde geliştiği görülmüş, böyle sebeple değişik transpozonlara dayalı transpozon markör sistemleri genotip çözünürlük bakımından değişik dereceleri tespit etmekle birlikte, gerektiğinde çalışmalara uygun olacak biçimde kullanılmaktadır (Leigh vd., 2003; Kalendar, Schulman, 2006; Smykal vd., 2009; Hosid vd., 2012). Retrotranspozon temelindeki bileşenlerin inversiyonu, Mendel lokusuna uygun olduğu tespit edilmiştir (Manninen vd., 2006; Tanhuanpaa vd., 2008). Bu sebeple, retrotranspozon temelli markörlerin kodominant olabileceği düşünülmektedir. Değişik fertler içinde bir retrotranspozonun LTR'leri savunan dizileri olmasından seçici fert için elde edilen bir primer çifti farklı fertler için uygulanabildiği bildirilmiştir. Fakat bir bireyin değişik retrotranspozonları değişik LTR dizilerinden oluşmuştur. Bu nedenle, spesifik bir retrotranspozon için elde edilmiş primer çifti bir diğ erinin LTR retrotranspozonuna ilişkilendirilemez (Kalendar vd., 2004; Yin vd., 2013; Moisy vd., 2014).

Kary Mullis bulduğu PCR, moleküler biyoloji biliminin hızlı bir biçimde gelişmesine olanak vermiştir. PCR'ın çalışma metodu canlı hücrede olan replikasyon gibidir, düşük seviyedeki kalıp DNA'da istenen bölgenin yapay şekilde in vitro koşullarda enzimlerle çok fazla kopya edilmesi biçiminde olduğu söylenebilir. Kalıp DNA, araştırılacak organizmalardan çeşitli metodlarla ayrılır. PCR teknikleri "Thermocycler" olarak isimlendirilen cihazın iç kısmında in vitro koşullarda incelenmektedir (Yüzbaşıoğlu, 2005).

Kary Mullis bulduğu PCR, moleküler biyoloji biliminin hızlı bir biçimde gelişmesine olanak vermiştir. PCR'ın çalışma metodu canlı hücrede olan replikasyon gibidir, düşük seviyedeki kalıp DNA'da istenen bölgenin yapay şekilde in vitro koşullarda enzimlerle çok fazla kopya edilmesi biçiminde olduğu söylenebilir. Kalıp DNA, araştırılacak organizmalardan çeşitli metodlarla ayrılır.

PCR teknikleri “Thermocycler” olarak isimlendirilen cihazın iç kısmında in vitro koşullarda incelenmektedir (Yüzbaşıoğlu, 2005).

PCR ile DNA çoğaltmak için 6-25 nükleotid boyutunda başlatıcı primerler gereklidir. Primerler kalıp DNA’da kopyalanmak istenilen kısımlara yöneliktir. Polimeraz enziminin gereksinimi olan MgSO₄ ve DNA üretmek için harcanacak A, T, G, C nükleotidleri ortamda vardır. Polimeraz enzimi, bu başlatıcı DNA’nın bir kalıp DNA yüzeyine ilişkilendirilmesinden ardından, ucundan uzamasına sebebiyet verir ve kalıp DNA’nın benzeri oluşur. DNA üretme şekli birbirlerini takip eden seçici sıcaklık zamanlarında gerçekleşir. İlk evrede 95 °C civarında bir sıcaklık ile kalıp DN’nın çift sarmalı açılır ve DNA tek iplik biçimine gelir. 2. evrede 30-60 °C arasında bir sıcaklıkta başlatıcı DNA’nın kalıp DNA’ya bütünleşmesi yapılır. Üçüncü evrede de 72 °C’de DNA oluşur. Bu aşamaların her biri 1-2 dakika işlem görmektedir. Bu üç aşama istenilen zamanda tekrarlanır ve DNA oluşumu sonuçlanır (Yıldırım ve Kandemir, 2001). Her aşama bitince baştaki DNA’nın sayısı iki katı seviyesine ulaşır ve DNA replikasyonu oluşur.

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Hastalıklı Bitki Materyalinin Eldesi

Hastalıklı bitki örnekleri Ankara ve Çankırı ili nohut üretim alanlarında gerçekleştirilmiş sürveylerden elde edilmiştir. Bu kapsamda farklı ilçeleri temsil eden 7 farklı tarladan hasada yakın veya hasat zamanında örneklemeler gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.1). Her bir tarlayı temsil eden örnek rastgele seçilmiş 10 bitkiden oluşmaktadır.



Şekil 3.1. Hastalıklı Bitki Materyalleri

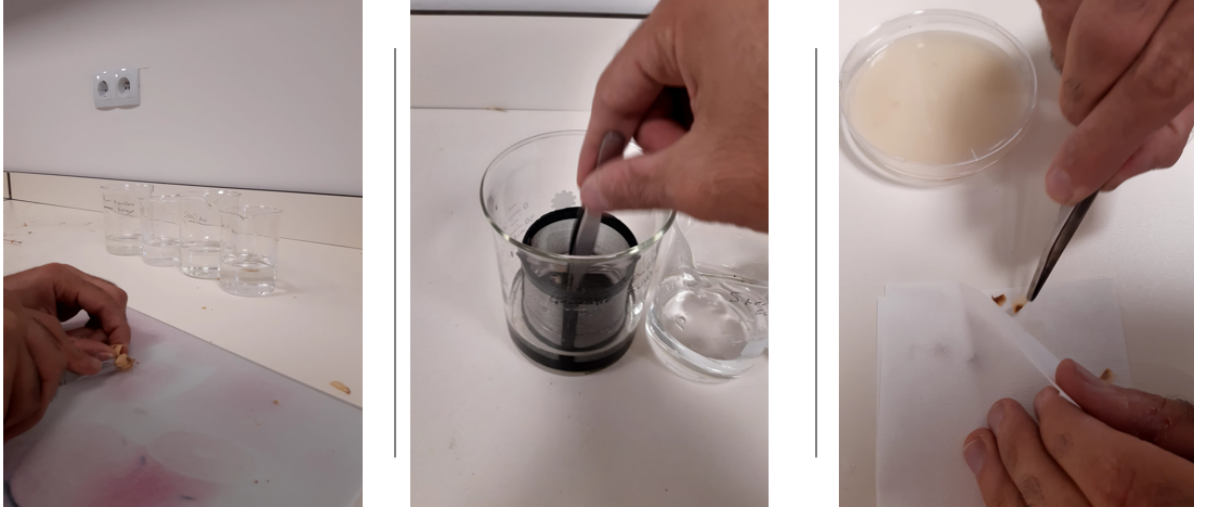
Tablo 3.1. Sürveylerin gerçekleştirildiği nohut tarlalarına ait lokasyon bilgileri

No	Lokasyon	Koordinat
1	Balıbağı-Çankırı	N:40°33'17.2512'' E:33°45'.5.6448'
2	Terme Köyü-Çankırı	N:40°23'41.4312'' E:33°38'36.2652''
3	Büyükboyalık-Bala-Ankara	N:39°33'5.6736'' E:33°15'12.4524''
4	Elmapınar-Kalecik-Ankara	N:39°27'59.7852'' E:33°18'7.9956''
5	Aşağıhacıbekir-Bala-Ankara	N:40°19'31.1376'' E:33°31'10.7292''
6	Kalecik-Çandır-Ankara	N:40°15'20.1888'' E:33°27'23.9508''
7	Germece-Çankırı	N:40°24'39.0744'' E:33°39'13.1148''

3.2. Yöntem

3.2.1. Hastalıklı Bitki Dokusundan İzolasyon

Ascochyta izolatların elde edilmesi amacıyla hastalık belirtisi gösteren nohut bitkilerinin kök ve gövdelerinden izolasyon yapılmıştır. Bu amaçla hastalıklı ve sağlıklı dokuyu içeren bitki kısımları 0,2-0,5 cm boyunda kesilmiştir. Bölünen bitki kısımları yüzeysel dezenfeksiyon amacıyla %1'lik sodyumhipoklorür'de (NaOCl) 2 dakika tutulmak suretiyle ve bunu takiben 3 seri steril saf sudan geçirilmiştir. Daha sonra steril filtre kağıtları arasında kurutularak %1,5 su agarı ortamı içeren petri kaplarına 5' er adet olacak şekilde konulmuştur. Bu petri kapları 23 ± 1 °C' de karanlık periyot içeren inkübasyon odasında birkaç gün süreyle geliştirilmiştir. Daha sonra *Ascochyta* benzeri gelişme gösteren fungusların hif uçlarından binoküler altında alınarak Nohut-Unu-Dekstroz-Agar ortamına aktarılmıştır.



Şekil 3.2. Hastalıklı Nohut Bitkisinden Yüzey Dezenfeksiyonu Aşamaları

3.2.2. Kullanılan Besiyeri

Elde edilen *A. rabiei* izolatları sporulasyonu için en uygun ortam olan Nohut-Unu-Dekstroz-Agar (Chickpea Seed Meal Dextrose Agar: CSMDA: Nohut Unu:40g/l, Agar: 20g/l ve Dekstroz: 20g/l) içeren petri kaplarında 22 ± 10 °C sıcaklık ve 12 saat aydınlık dönem barındıran inkübasyon odasında 14 gün süreyle geliştirilmiştir. Patojen izolatı gelişmesi ve virülensliği noktasında çalışmada oldukça sağlıklı olduğu izlenmiş ve çalışmalarda yararlı olmuştur. İzolatlar ayrıca ileriki çalışmalarda kullanılmak üzere bölümümüz kültür koleksiyonunda saklanmaktadır.

3.2.3. Moleküler Çalışmalar

İzolatların genomik DNA'sının izolasyonu hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB)'a dayalı bir metodu olan ve DArT DNA izolasyon (<https://www.diversityarrays.com>) metotunda gösterilen ekstraksiyon–lizis tamponu modifiye edilerek kullanılmıştır (Tablo 3.2).

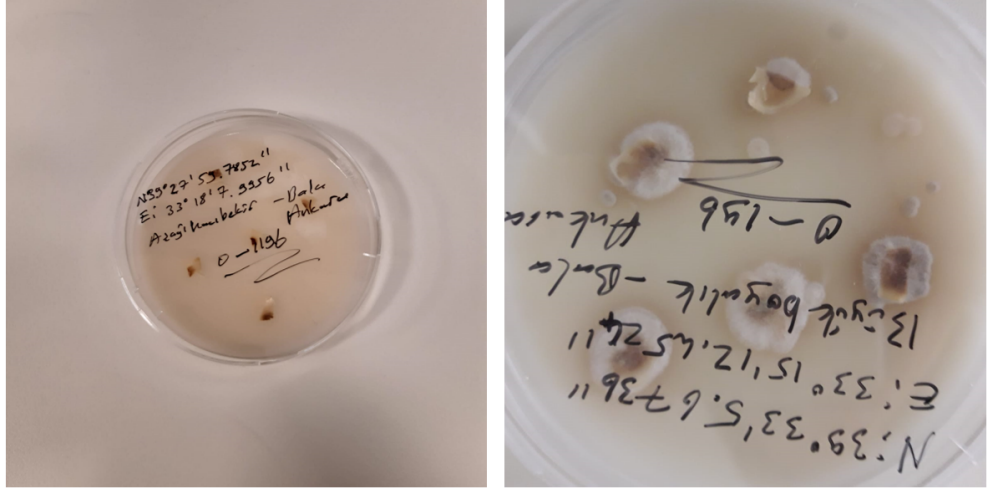
Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan ekstraksiyon buffer içeriği

Ekstraksiyon–Lizis Tamponu İçeriği	Miktar
Tris HCl pH 8.0 ml	12,00
EDTA pH 8.0 ml	5,00
5M NaCl ml	18,00
Sorbitol g	2,75
CTAB g	1,50
Sarcosyl g	1,00
PVP-40 g	1,50
Sodium disulfite g	0,50
Bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.	

Çalışmalarda kullanılan primerler ve sekans hizmeti ticari bir firma (MacroGen, Seul, Güney Kore) tarafından sağlanmıştır.

3.2.4. Patojen İzolasyonu ve Geliştirilmesi

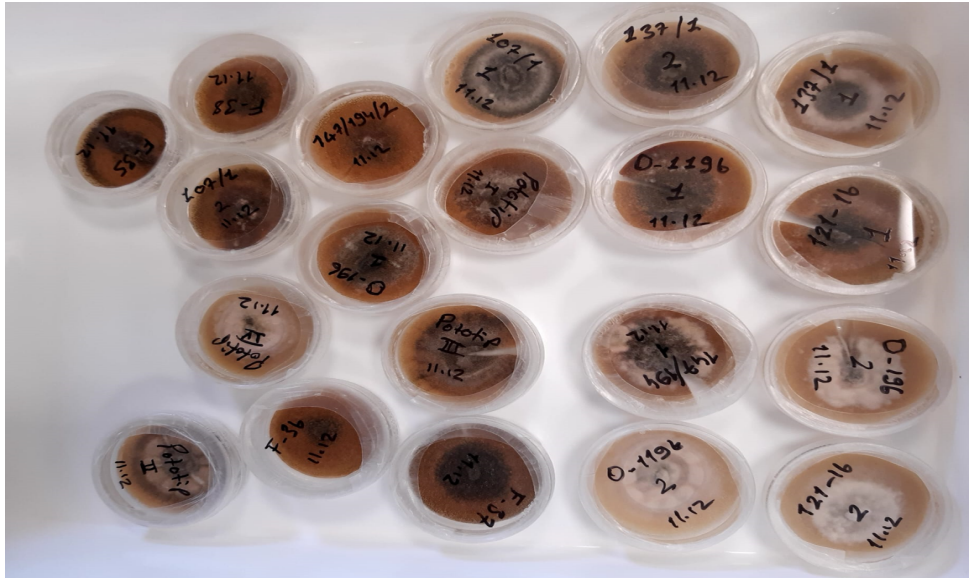
Örnekleme sonucu etiketlenerek laboratuvar ortamına getirilmiş olan numunelerden fungal etmenin izolasyonu için *Ascochyta* izolatların elde edilmesi amacıyla hastalık belirtisi gösteren nohut bitkilerinin kök ve gövdelerinden izolasyon yapılmıştır. Bu amaçla hastalıklı ve sağlıklı dokuyu içeren bitki kısımları 0,2-0,5 cm boyunda kesilmiştir. Bölünen bitki kısımlara dezenfeksiyon amacıyla %1'lik sodyumhipoklorür'de (NaOCl) 2 dakika tutulacak ve bunu takiben 3 seri steril saf sudan geçirilmiştir. Daha sonra steril filtre kağıtları arasında kurutularak %1,5 su agarı ortamı içeren petri kaplarına 5' er adet olacak şekilde konulmuştur. Bu petri kapları 23±1 °C' de karanlık periyot içeren inkübasyon odasında birkaç gün süreyle büyümesi beklenilmiştir. Daha sonra *Ascochyta* benzeri gelişme gösteren fungusların hif uçlarından binoküler altında alınarak Nohut-Unu-Dekstrozu-Agar ortamına aktarılmıştır.



Şekil 3.3. İzolasyon sonucunda elde edilen izolatların gelişimleri

3.2.5. İzolatların Karakterizasyonu

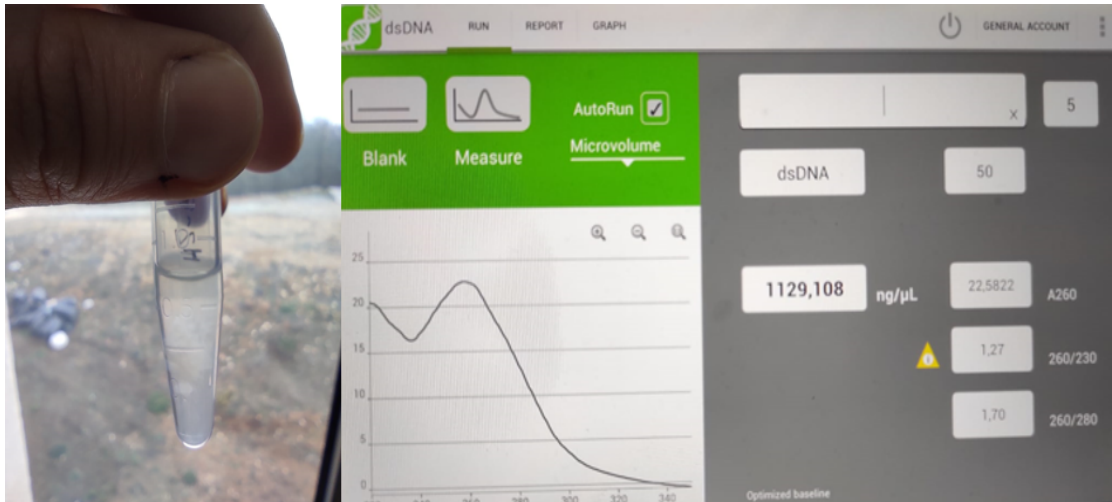
Çalışmadaki elde edilen fungal kolonilerin morfolojik karakterizasyonu Sivanesen (1987)'ye göre yapılmıştır. Bu amaçla elde edilmiş izolatlar Nohut-Unu-Dekstroz-Agar ortamına aşılanarak sürekli karanlıkta ve 23 ± 1 °C'de bir hafta süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda kültürel özellikleri incelenmiş spor ($n = 50$) ve spor verici yapılar bir DM1000 model mikroskop kullanılarak (Leica Microsystems, Wetzlar, Almanya) $400 \times$ büyütmede incelenmiş ve spor boylarının ölçümleri alınmıştır.



Şekil 3.4. Elde edilen izolatların kültür besiyerinde miselyal gelişimleri

3.2.6. İzolatların DNA Ekstrasyonu

İzolatların genomik DNA'sının izolasyonu amacıyla DArT protokolünde (<http://www.diversityarrays.com>) açıklanan bir hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB) tabanlı yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Her izolata ait yaklaşık 100 mg misel/spor dokusu, kültür yüzeyinden hafifçe kazınmış ve 2 ml'lik ependorf tüplere konmuştur. Önceden ısıtılmış (65 °C) 750 µl ekstraksiyon–lizis tamponu (125 mM Tris-HCl pH 8.0, 25 mM EDTA pH 8.0, %2 CTAB, %2 PVP-40, 0,8 M NaCl, %0,5 sodium disulfite, %1 sarcosyl) tüpe eklenerek örnekler bir steril çelik ezici kullanılarak homojen duruma getirilmiş ve her 15 dakikada bir hafifçe ters düz edilerek 65 °C'de 60 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda kuru blok ısıtıcıdan alınan örnekler oda sıcaklığına kadar soğutulurak üzerlerine 750 µl kloroform/izoamil alkol (24:1 w/w) eklenmiş ve 10 dakika süre ile yavaşça ters düz edilerek 12000 g'de 15 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Süpernatantlar temiz 1,5 ml'lik santrifüj tüplerine aktararak üzerlerine DNA'yı çöktirmek için 0,6 hacim soğuk izopropanol eklenmiştir. 12000 g'de 15 dakika santrifüj işleminden sonra, süpernatantlar uzaklaştırılarak ve pelletler 2 kez %70'lik soğuk etanolle yıkanmış ve oda sıcaklığında 30 dakika ile kurutulmuştur. DNA 200 µl steril Milli-Q su içinde çözülerek, konsantrasyonu DS11 FX Serisi Spektrofotometre (Denovix Inc., ABD) ile ölçülmüş ve PCR çalışmaları için 40 ng/µl'ye ayarlanmıştır.



Şekil 3.5. DNA İzolasyonu Aşaması ve Spektrofotometrede DNA Ölçüm Örneği

3.2.7. SCoT Markörleri İle DNA Amplifikasyonu

SCoT markör analizleri Collard ve Mackill (2009) tarafından dizayn edilen 36 primer arasından ayırım gücü yüksek bulunan primerler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu meyanda, çalışma kapsamında kullanılacak primerler ve özellikleri tablo 3'de verilmiştir. Çalışmada *Ascochyta* izolatlarına ait polimorfizmin durumunu tespit etmek amacıyla 36 SCoT primeri ile elde edilen izolatlar ile ön denemeler yapılmıştır. Yapılan ön çalışmalarda grupların ayırımı ve grup içindeki genetik farklılıkları değerlendirmede polimorfizm sağlaması beklenen SCoT primeri (13, 28, 29, 32) seçilmiş ve tüm izolatlar arasındaki tür içi farklılıkları tespit etmek amacıyla kullanılmıştır. Bu kapsamda seçilen primerlerin tamamı türlerin ayırımını sağlayan amplifikasyon profilleri oluşturmuştur.

Tablo 3.3. *Ascochyta rabiei* izolatlarının moleküler karakterizasyonunda kullanılacak SCoT primerleri

Scot ID	Baz dizilimleri	Tm (°C)	GC (%)
13	ACGACATGGCGACCATCG	50,0	61,0
28	CCATGGCTACCACCGCCA	50,0	67,0
29	CCATGGCTACCACCGGCC	50,0	72,0
32	CCATGGCTACCACCGCAC	50,0	67,0

Seçilen primerler ile PCR reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. PCR karışımları Dream Taq DNA polimeraz tamponu 10x, 0,24 mM dNTPs, 0,8 µM primer, 0,5 ünite Dream Taq DNA polimeraz ve 20 ng DNA içermiştir. Reaksiyona ilk önce 94 °C'de 3 dakika denatürasyon ile başlanmış ve 35 döngü 94 °C'de 60 saniye denatürasyon, 50 °C'de 1 dakika bağlanma, 72 °C'de 2 dakika ve son uzama safhası 72 °C'de 5 dakika bekletilerek tamamlanmıştır. PCR ürünleri 1× TAE tampon solüsyonunda (Tablo 3.4) %1,4'lük agaroz jel içerisinde elektroforetik ayırma tabi tutulmuştur. 1× TAE tampon solüsyonu ve Prona agaroz (BIOMAX, Ardoz-Madrid, İspanya) karışımı mikrodalgada homojen kıvama gelene kadar çözündürülmüştür. Homojen çözelti 50 dereceye kadar soğutularak jel tepsisine dökülmüş ve taraklar kullanılarak kuyucuklar elde edilmiştir. Hazırlanan agaroz jeldeki kuyucuklara amplifiye edilen PCR ürünlerinden 10 µl alınarak 6× yürüme boyası (Tablo 3.4) eklenerek yüklenmiş ve 90 dakika 120 volt elektriksel alanda yürütülmüştür. Örneklerin büyüklüklerini hesaplamak için markör olarak GeneRuler 100 bp+ DNA ladder (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, ABD)

kullanılmıştır. Agaroz jel süre sonunda etidyum bromit ile boyanarak ürünlerin varlığı bir jel görüntüleme sisteminde (G: BOX F3, Syngene, İngiltere) kontrol edilmiştir.

Tablo 3.4. TAE tamponu ve yükleme boyası içeriği

Tampon	Miktar
50× Tris-Asetat-EDTA (TAE) tamponu	100 ml için. 24,2 g tris bazı. 10 ml 0.5 M EDTA (pH 8,0). 5,71 mL glasiyal asetik asit
6× elektroforez yükleme boyası	10 mM Tris-HCl (pH 8.0). 60 mM EDTA (pH 8,0). %0,25 ksilen siyanol. %0,25 bromofenol mavisi. %60 gliserol

3.2.8. iPBS Retrotransposon Markörleri ile DNA Amplifikasyonu

Kalendar vd. (2010) dizayn edilen ve evrensel olarak elde edilen iPBS retrotranspozon DNA markörlerini kullanılacak olup, primerlere ilişkin detaylı bilgi tablo 3.5.'de gösterilmiştir. iPBS retrotranspozons analizleri Baloch vd. (2015)'e göre Dream Taq DNA polimeraz tamponu (Fermantas) 10x, 5 mM dNTPs, 10 µM primer, 1,75 ünite Dream Taq DNA polimeraz (Fermantas) ve 10 ng DNA içerecektir. Reaksiyona ilk önce 95 °C'de 4 dakika denatürasyon ile başlanacak ve 30 döngü 95 °C'de 15 saniye denatürasyon, 50-65 °C'de 1 dakika bağlanma (primere bağlı olarak değişmek üzere), 68 °C'de 1 dakika ve son uzama safhası 72 °C'de 5 dakika bekletilerek tamamlanacaktır. Yapılan ön çalışmalarda gruplarının ayrımı ve grup içindeki genetik farklılıkları değerlendirmede polimorfizm sağlaması beklenen SCoT primeri (2395, 2228, 2232, 2415) seçilmiş ve tüm izolatlar arasındaki tür içi farklılıkları tespit etmek amacıyla kullanılmıştır. iPBS analizleri için elde edilecek PCR ürünleri 1× TAE tampon solüsyonunda %1,4'lük agaroz jel içerisinde elektroforetik ayırma tabi tutulmuştur. 1×TAE tampon solüsyonu ve Prona agaroz (BIOMAX, Ardoz-Madrid, İspanya) karışımı mikrodalgada homojen kıvama gelene kadar çözündürülmüştür. Homojen çözelti 50 °C'ye kadar soğutulurken jel tepsisine dökülmüş ve taraklar kullanılarak kuyucuklar elde edilmiştir. Hazırlanan agaroz jeldeki kuyucuklara amplifiye edilen PCR ürünlerinden 10 µl alınarak 6× yürüme boyası (Tablo 3.4) eklenerek

yüklenmiş ve 90 dakika 120 volt elektriksel alanda yürütülmüştür. Örneklerin büyüklükleri hesaplamak için markör olarak GeneRuler 100 bp+ DNA ladder (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, ABD) kullanılmıştır. Agaroz jel süre sonunda etidyum bromit ile boyanarak ürünlerin varlığı bir jel görüntüleme sisteminde (G: BOX F3, Syngene, İngiltere) kontrol edilmiştir.

Tablo 3.5. Araştırmada Kullanılacak iPBS retrotranspozon Primerlerine Ait Bilgiler

Primer	Baz dizilimleri	T _m (°C)	CG (%)	Optimum annealing, T _a (°C)
2395	TCCCCAGCGGAGTCGCCA	66,00	72,20	52,80
2228	CATTGGCTCTTGATACCA	51,90	44,40	54,00
2232	AGAGAGGCTCGGATACCA	56,60	55,60	55,40
2415	CATCGTAGGTGGGCGCCA	62,50	66,70	61,00

3.3. Veri Analizleri

SCoT ve iPBS analizleri ile belirlenen tüm bantlar, ikili veri matrisi meydana getirmek için pozisyonlarda bulunan (1) veya yok (0) olarak skorlanmıştır. Her primer örnek kombinasyonu en az iki farklı PCR amplifikasyonu tekrarlanmış ve sadece tekrarlanabilir bantlar belirlenmiştir. İzolatların genetik profillerini belirlemek için SCoT ve iPBS markörlerinin çalışabildiğini belirlemek için markörlerin başarısı, Prevost ve Wilkinson (1999) polimorfik bilgi içeriği (PIC) ve Rolden-Ruiz vd. (2000) çözme gücü kullanılarak değerlendirilmiştir.

Her bir işaretleme sisteminden üretilen veri matrisleri, ayrı ayrı ve birlikte NTSYS-pc sayısal taksonomi paketi, sürüm 2.02 tarafından Jaccard'ın benzerlik katsayısı uygulamaya dahil edilerek genetik bir benzerlik matrisine dönüştürülmüştür (Rohlf, 2000). Bir dendrogram oluşturmak için aritmetik ortalama (UPGMA) küme analizlerine göre ağırlıksız çift gruplu yöntem kullanılmıştır. SCoT, iPBS kombinasyon verilerinden elde edilen dendrogramların her biri için bir kofenetik matris üretilmiş ve SCoT ve iPBS işaretleme yöntemlerinin uyum iyiliğini kontrol etmek için, benzerlik katsayıları matrisi ile dendrogram arasındaki korelasyonu hesaplamak ve benzerlik matrislerinin her bir çiftini NTSYS 2.02'nin MxComp Modülünü kullanarak karşılaştırmak için Mantel anlamlılık testi kullanılmıştır (Rohlf, 2000).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Ascochyta yanıklığı ülkemizdeki nohut ekim bölgelerinde meydana gelen önemli fungal hastalıklardan birisidir ve tüm dünyada bu patojenle mücadele yöntemi olarak dayanıklı çeşitlerin yetiştirilmesi önerilmektedir (Singh and Reddy 1984). Mevcut nohut çeşitlerinin dayanıklılığı ise bölgelere göre farklılık göstermekle birlikte fungusun yapısında sıklıkla oluşan patojenik değişkenliklerden dolayı (Kaiser ve Hannan 1987) zaman içinde dayanıklılık dirençlerinde düşüş görülmektedir. Bunun için nohut ekim bölgelerinde *A. rabiei* populasyonlarındaki genetik ve patojenik farklılıkların tespit edilmesi bu patojenle etkin mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi bakımından önemi büyüktür. Bu kapsamda farklı ayırıcı test çeşitleri kullanılarak *A. rabiei* izolatları arasındaki patojenik farklılıkları bulmak için birçok araştırma yapılmıştır. Ülkemizde ise farklı bölgelerden elde edilen *A. rabiei* izolatları 2 dayanıklı (ER 99 ve ILC 195/2), 2 toleran (Uzunlu 99 ve Gökçe) ve 1 hassas (Canitez-87) yerel nohut türü kullanarak 17 patotip grubu içerisinde gruplandırmıştır (Babalıoğlu 2004). Yapılan diğer çalışmalarda genellikle 3 ila 16 ayırıcı test çeşidi kullanılarak *A. rabiei* izolatları 3-14 patotip grubu içerisinde gruplandırılmıştır (Vir ve Grewal 1974, Jan ve Wiese 1991, Udupa vd., 1997, Jamil vd., 2000, Chongo vd., 2004).

A. rabiei nohut yanıklık hastalığına neden olup nohut üretilen bölgelerde yaygın olarak bulunmaktadır. Bu durum bazı araştırmacılar aracılığı ile incelenmiştir. Atasagun (2009) Konya'nın 9 ilinde nohut yetiştirme bölgelerinde sörvey araştırmaları yapmış ve *A. rabiei* yaygınlığını, hastalık oranını ve hastalık şiddetini incelemiştir. Araştırma sonunda Kadınhanı, Sarayönü, Ilgın ve Seydişehir'de sörvey bölgelerinin bütününde hastalık görüldüğü bildirilmiştir. Beyşehir'de hastalık sörvey alanlarının %78'inde, Ereğli'de % 49'unda Güneysınır'da ise %18'inde görülmüştür. Hastalığın Konya ili ortalama hastalık yaygınlığı %60,55 olarak tespit edilmiştir. Bulgak (2016) Marmara Bölgesinde nohut ekim yapılan bölgelerde yaptığı sörvey araştırmalarında tarlalardaki *Ascochyta* yanıklığı incelemiş ve Balıkesir ilinde hastalık oranını %31, Tekirdağ'da %70, Çanakkale'de %45, Bursa'da %35 ve Bilecik'de %22 olarak tespit etmiştir.

A. rabiei'nin patotip I, II ve III'ün varlığından Udupa vd. (1998), patotip IV'ün varlığından ise Imtiaz vd. (2011) tarafından yapılan incelemeler sonucu görülmüştür. Patotipler arasında değişkenlikler görülmüş ve farklı nohut

çeşitlerinin farklı patotiplere karşı dayanıklılığı olduğu görülmüştür.

Türkkan ve Dolar (2009) yapmış oldukları çalışmada Türkiye'nin farklı illerinden bulunmuş 67 *A. rabiei* izolatı ile patotip varlığını ve ırk ayrımını araştırmışlardır. İzolatların %59'unun patotip I, %5'inin patotip II ve %36'sının patotip III bulunduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan başka bir çalışmada bölgelere göre ayrılan *A. rabiei* popülasyonlarındaki genetik farklılık oldukça benzer olup tüm popülasyonlar için ortalama 0.1984 ± 0.1636 olarak bildirilmiştir. Popülasyonlar içinde en yüksek gen farklılığının İç Anadolu bölgesinde (0.1992), en düşük farklılığın ise Akdeniz bölgesinde (0.1574) olduğu bildirilmiştir. Güneydoğu Anadolu, Ege ve Karadeniz bölgelerindeki gen farklılıkları ise sırasıyla 0.1773, 0.1819, 0.1943 olarak tespit edilmiştir. Popülasyon farklılıklarının bir ölçüsü olarak kullanılan Shannon indeksi (Lewontin 1972)'de benzer bir eğilim göstermiştir. Bu veriye göre popülasyonlardaki Shannon indeksinin tüm popülasyonlar için ortalama 0.3228 ± 0.2202 olduğu ve 0.3165 (İç Anadolu) ile 0.2336 (Akdeniz) arasında değiştiği bildirilmiştir. Bölgelere göre polimorfik lokus oranının dağılımı incelendiğinde ise en fazla polimorfik lokus oranının Karadeniz bölgesinden elde edilen izolatlar arasında bulunduğu tespit edilmiştir. (Özer, 2009)

Genotipik karakterizasyon için gerçekleştirilen DNA izolasyon çalışmalarında DArT DNA izolasyon yönteminin oldukça başarılı olduğu görülmüştür. Nohut genotip ve çeşitlerinden elde edilen DNA'ların bir DS-11 FX+ spektrofotometre ölçümleri sonucu çalışmanın sağlıklı bir şekilde yürütülebilmesi için gerekli temizlik ve miktarda DNA sağladığı tespit edilmiştir. Tüm DNA'ların spektrofotometre ölçümleri Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.1. *Ascochyta* İzolatlarından Elde Edilen DNA Miktarları Ve Kaliteleri

No	İzolat ismi	DNA miktarı	260/280
1	Ascoc-01	307,00	1,10
2	Ascoc-02	1166,06	1,33
3	Ascoc-03	1129,10	1,75
4	Ascoc-04	1107,10	1,50
5	Ascoc-05	163,93	1,37
6	Ascoc-06	338,59	1,83

7	Ascoc-07	290,70	1,76
8	Ascoc-08	236,21	1,86
9	Ascoc-09	244,09	1,96
10	Ascoc-10	251,97	1,20
11	Ascoc-11	259,85	1,33
12	Ascoc-12	247,72	1,26
13	Ascoc-13	275,60	1,59
14	Ascoc-14	283,48	1,72
15	Ascoc-15	291,36	1,85
16	Ascoc-16	299,24	1,88
17	Ascoc-17	317,11	1,11
18	Ascoc-18	314,99	1,82
19	Ascoc-19	322,87	2,14
20	Ascoc-20	320,75	1,60

Geçmiş yıllarda araştırılan Kumlay vd. (2021) 10 adet pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) türünün iPBS markörleriyle moleküler karakterizasyonunu belirlemişlerdir. DNA'ya dayalı 6 adet iPBS markör kullanılarak, toplamda 36 adet polimorfik bant bulmuşlar ve ortalama polimorfizm oranını %77 olarak bulmuşlardır. Markörlerin aşağı yukarı polimorfizm oranı 0,27, ortalama gen çeşitliliği oranı 0,34, korelasyon katsayı değerini de (r) 0,90 olarak bulmuşlardır. Genotipler arasındaki genetik bağlantıyı, NTSYS-pc yazılımını uygulayarak görmüşler ve 0,04 ile 0,83 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Yapılan PCA 55 çalışmasında ise ilk üç değerler toplamı, toplam varyasyonun %71'ünü bildirmişlerdir. Çalışmada bulunan markörlerin yukarı PIC oranı 0,33 ve gen çeşitliliği (H) değeri de 0,42 ile daha yüksek görülmüştür. Genotipler arasındaki genetik ilişki, NTSYS-pc yazılımı kullanılarak bulunmuş ve 0,03 ile 0,75 arasında değiştiği bildirilmiştir.

4.1. iPBS-PCR Tekniği

A. rabiei izolatlarının tür içi çeşitliliğini tanımlamak için Kalendar ve ark. (2010) tarafından geliştirilen tekrarlanabilir, skorlanabilir ve keskin fragmanlar ile taranmıştır. Ön çalışmalarda hiçbir genetik varyasyon saptanmamıştır; bu nedenle, tüm 20 izolat için iPBS-PCR çalışmaları için dört iPBS primeri (2395, 2228, 2232 ve 2415) rastgele seçilmiştir.

4.2. SCoT-PCR Tekniği

A. rabiei izolatlarının spesifik olmayan genetik varyasyonu için ön çalışmalarda hiçbir genetik varyasyon saptanmamıştır; bu nedenle, tümü 20 izolat için iPBS-PCR alışmaları için dört iPBS primeri (13, 28, 29 ve 32) rastgele seçilmiştir.

Tüm iPBS ve SCoT belirteçleri, *A. rabiei* izolatları için net ve tekrarlanabilir bant profilleri üretilmiştir. iPBS ve SCoT markör sistemi için gösterildiği gibi izolatlar arasında polimorfizm saptanmamıştır. iPBS primerleri ile amplifiye edilmiş polimorfik bantların sayısı 11 ila 15 arasında değişirken, SCoT işaretleri ile 7 ila 13 arasında değişmektedir. iPBS ve SCoT işaret sistemleri için ortalama güçlendirilmiş PCR ürünü sayısı sırasıyla 10,12, 13 ve 11 olarak bulunmuştur.

Tablo 4.2. Toplam Bant Dizilimleri

SCoT	Baz Dizilimleri (5'–3')	Tm (°C)	GC (%)	TB
13	ACGACATGGCGACCATCG	50,00	61,0	10
28	CCATGGCTACCACCGCCA	50,00	67	12
29	CCATGGCTACCACCGGCC	50,00	72	13
32	CCATGGCTACCACCGCAC	50,00	67	11
Avg./primer				10,0
iPBS				
2395	TCCCCAGCGGAGTCGCCA	66,00	72,20	15
2228	CATTGGCTCTTGATACCA	51,90	44,40	11
2232	AGAGAGGCTCGGATACCA	56,60	55,60	14
2415	CATCGTAGGTGGGCGCCA	62,50	66,70	15
Avg./primer				6,5

Tm= Primer bağlanma sıcaklığı; TB= Toplam bant

Yapılan başka bir çalışmada kullanılan 32 izolat için yedi iPBS markörü ile toplamda 114 lokus üretilmiştir. Markör sistemi, farklı *Fusarium* türlerine ait izolatlar arasında önemli bir değişkenlik sağlayan çok sayıda fragment üretmiştir iPBS-PCR'dan üretilen ve tekrarlanabilir 114 amplifikasyon ürününden 99'unun (%86.8) türler arasında polimorfik olduğu tespit edilmiştir. iPBS primerleri ile oğaltılmış bantların sayısı primer başına ortalama 16.3 olarak bulunurken, bu değer 11 (iPBS2395) ila 23 (iPBS2080) arasında farklılık gsterniştir. En yüksek

polimorfik bant oranı %92.9 ile iPBS2077 için bulunmuş, en düşük oran ise %77.6 ile iPBS2244 primerinden üretilmiştir. Bu polimorfizm oranları Albayrak et al. (2016)'nın geneli Türkiye ve İran olmak üzere buğdaydan üretilmiş olan 20 F. culmorum izolatu ve 43 F. graminearum izolatının 25 ISSR primeri ile gerçekleştirdikleri çalışmada elde ettikleri %5.92 polimorfizm oranına göre oldukça fazladır. (Alkan vd., 2019)

Başka çalışmada Sclerotiniaceae familyasının 6 türüne ait 34 izolat arasındaki türler arası polimorfizm 6 iPBS markörü ile araştırılmış ve oluşan bantların %98 oranında türler arasında polimorfik olduğu bildirilmiştir (Özer vd., 2017).

Yapılan başka bir çalışmada 12 soya çeşidi 6 IPBS markörleri kullanılarak polimorfizm incelenmiştir. Markörlere ait bilgiler tablo 4.3 verilmiştir. Çalışmada üretilen toplam 49 banttan 44'ü polimorfik bant tespit edilmiştir. Ortalama polimorfik bant sayısı 7.33'dür. En yüksek polimorfik bant (15) veren IPBS-2080 markörüdür ve polimorfizm oranı %100'dür. En düşük polimorfizm oranı %50 olup IPBS-2384 markörüdür.

Tablo 4.3. iPBS Markörlerinin Karakterizasyon Değerleri (Kumlay vd., 2021)

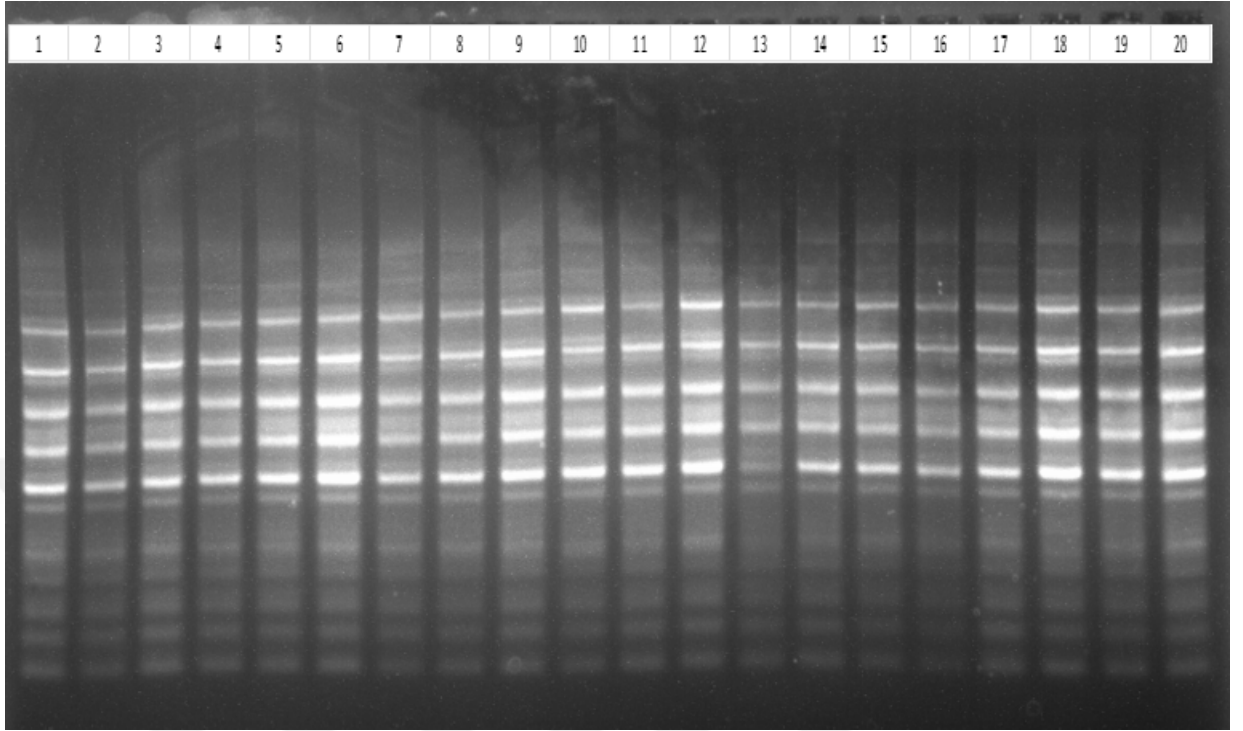
Markör Bilgileri			Bantların Bilgileri		Çeşitlilik Değerleri		
Markör Adı	Markör Sekansları 5'-3'	Sıcaklık	Toplam Bant	P%	I	H	PIC
IPBS2384	GTAATGGGTCCA	45	6	50	0.67	0.48	0.36
IPBS2382	TGTTGGCTTCCA	45	4	75	0.32	0.21	0.17
IPBS2381	GTCCATCTTCCA	45	8	100	0.47	0.31	0.25
IPBS2231	ACTTGGATGCTGATACCA	55	6	100	0.31	0.21	0.16
IPBS2080	CAGACGGCGCCA	50	15	100	0.31	0.18	0.16
IPBS2077	CTCACGATGCCA	45	10	90	0.44	0.27	0.23
Toplam				85.83	0.42	0.28	0.22
Ortalama							

SCoT markörleri, gen hedefli markörlerin üretimi için geliştirilen basit ve güvenilir markörlerdir. Diğer birçok markör sistemine kıyasla SCoT markörleri, bitkilerde evrensellik ve biyolojik özellikler ile ilgili daha fazla bilgiler sağlamaktadır. Hedef genle yakın bağlanma avantajına sahip olan bu sistem güvenilir, tekrarlanabilir, kolay kullanımlı ve verimli olması bakımından tercih edilmektedir (Yılmaz ve Ciftci, 2021a).

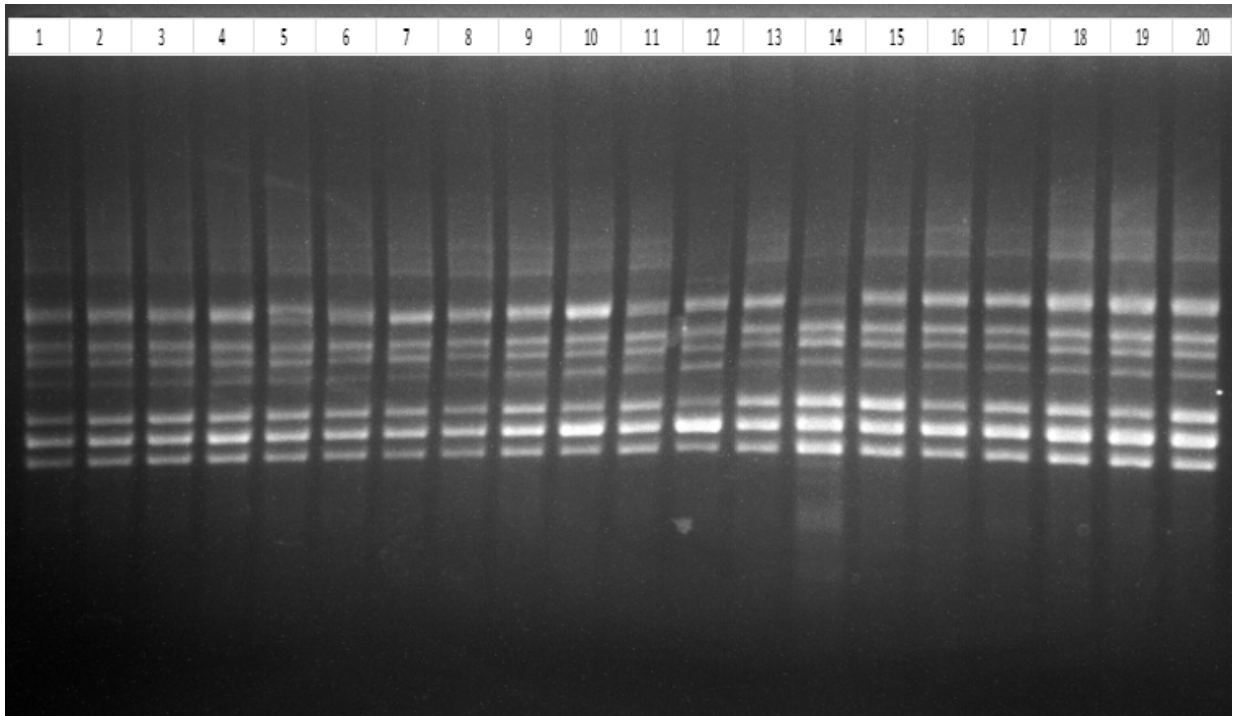
Yapılan başka bir çalışmada nohut bitkisinin atası olan *Elymus sibiricus* bitkisinden 53 *E. sibiricus*'un genetik çeşitliliği, seviyesi ve moleküler varyasyonu incelenmiştir. Çin'deki beş coğrafi bölgeden alınan örneklerde yapılan incelemede 16 SCoT primerinden toplam 173 bant üretilmiştir. 159 polimorfik bantların (PPB) yüzdesi ile polimorfik olan bantlar %91.91 dir (Zhang vd.,2015)

Yapılan başka bir çalışmada Van Gölü havzasından toplanan 74 *F. imperialis* genotipi arasındaki genetik çeşitliliği bulmak için yapılan araştırmada, 19 farklı iPBS-Retrotranspozon primeri araştırmaya dahil edilmiştir. Kullanılan 19 primerin tamamı %100 oranında polimorfizm gösteren toplam 94 bant meydana getirmiştir. Primer başına düşen ortalama bant sayısının 4.94, ortalama PIC değerinin 0.58 olduğu belirlenmiştir. En düşük bant veren primer 2 bant meydana getirirken, en yüksek bant veren primer 10 bant meydana getirmiştir. Ortalama etkili allel sayısının 1.50, Shannon bilgi indeksinin 0.47, gen çeşitliliğinin ise 0.30 olduğu bulunmuştur. Bulunan veriler, Van Gölü havzasından yetiştirilen ters lale genotiplerindeki genetik farklılığın önemli seviyede olduğu görülmüştür (Koçak vd., 2020).

Aşağıda SCoT ve iPBS markörleri ile yapılan deneyler sonucu elde edilen jel görüntüleri verilmiştir.



Şekil 4.1. *Ascochyta* izolatlarının temsili iPBS 2395 primeri ile elde edilen jel görüntüsü



Şekil 4.2. *Ascochyta* izolatlarının temsili SCoT 13 primeri ile elde edilen jel görüntüsü

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Genetik farklılıkların moleküler markör sistemleri ile belirlenmesinde hedef alınan bölgenin gen bölgesi olması tür içi genotipik gruplama çözünürlüğü için büyük bir avantajdır. Hangi markör yöntemi kullanılırsa kullansın türler arasında hatta tür içerisinde farklı polimorfik bantların elde edilmesi amaçlanmaktadır. Fakat tür içi genetik farklılıkların incelenmesinde kullanılan moleküler markör yönteminin spesifik gen bölgelerini çoğaltması istenen bir durumdur.

Bu araştırma ile Ankara ve Çankırı ili nohut alanlarından elde edilecek *A. rabiei* izolatlarının SCoT ve iPBS primerleri kullanılarak genetik farklılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Tüm iPBS ve SCoT belirteçleri, *Ascochyta rabiei* izolatları için net ve tekrarlanabilir bant profilleri üretilmiştir. iPBS ve SCoT marker sistemi için gösterildiği gibi izolatlar arasında polimorfizm saptanmamıştır. iPBS primerleri ile amplifiye edilmiş polimorfik bantların sayısı 11 ila 15 arasında değişirken, SCoT işaretleri ile 7 ila 13 arasında değişmektedir. iPBS ve SCoT işaret sistemleri için ortalama güçlendirilmiş PCR ürünü sayısı sırasıyla 10,12, 13 ve 11 olarak bulunmuştur.

6. KAYNAKLAR

(Bu tez çalışmasında APA atıf sistemi kullanılmıştır.)

- Açıkgöz, N. 1994. Evaluation of chickpea lines for resistance to Ascochyta blight. *9 th. Congress of the Mediterranean Phytopathological Unions*. 261-264.
- Akalın, M. (2006). Determination of Ascochyta Blight (*Ascochyta rabiei* (Pass.) Response Yield and Yield Related Traits of Some Chickpea (*Cicer Arietinum* L.) Genotypes in Tokat. (Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Akçin, A. 1988.Yemeklik Tane Baklagiller, *Selçuk Üniversitesi Yayınları No 43*, Konya.
- Akem, C. 1999. Ascochyta blight of chickpea: present status and future priorities. *International Journal of Pest Management*, 45; 131-137.
- Albayrak, G., Yörük, E., Gazdağlı, A., & Sharifnabi, B. (2016). Genetic diversity among *Fusarium graminearum* and *F. culmorum* isolates based on ISSR markers. *Archives of Biological Sciences*, 68(2), 333-343.
- Alkan, M., Göre, M. E., Bayraktar, H. & Özer, G. (2019). “Kışlık Buğdaylarda Kök Ve Kök Boğazı Çürüklüğüne Sebep Olan *Fusarium* Spp. İzolatları Arasındaki Genetik Varyasyonun Retrotranspozon Temelli İpbs Markörleri İle İncelenmesi”. *International Journal of Agriculture and Wildlife Science*. Cilt. 5. Sayı. 2, 250- 259.
- Anbessa, Y., Bejiga, G. 2002. Evaluation Of Ethiopian Chickpea Landraces For Tolerance To Drought. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 49, 557-564.
- Andeden, E. E., Baloch, F. S., Derya, M., Kilian, B., & Özkan, H. (2013). iPBS-Retrotransposonsbased Genetic Diversity And Relationship Among Wild Annual Cicer Species. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 22(4), 453-466.
- Anonim (2014). Nohut Hastalıkları ve Zararlıları, *Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları*, Edirne.
- Arystanbek Kyzy, M. (2019). Türkiye Orijinli Bazı Yabani Gernik Buğday Genotiplerinin (*Triticum Turgidum* Subsp. *Dicoccoides*) IPBS-Retrotranspozon Markör Yöntemiyle Genetik Karakterizasyonu. *Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya*.
- Atasagun (2009) Konya İlin’nde Nohut Antraknozu (*Ascochyta rabiei* (Pass) Labr.)’nun Durumu ve Mücadele Olanakları, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Aydın, M. F. (2016). Bazı Yerel Ve Yabancı Fasulye Genotiplerinin IPBS Retrotransposonlar Kullanılarak Genetik Çeşitlerinin Belirlenmesi. *Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bolu*.
- Azkan, N. 1989. Yemeklik Tane Baklagiller. *U.Ü. Zir. Fak. Ders Notları No: 40*, Bursa.
- Babalıogullu, I. 2004. *Nohutlarda Ascochyta Yanıklık Etmeni(Ascochyta rabiei(Pass.) Labr.)’nin Türkiye’deki Mevcut Patotiplerinin Belirlenmesi*. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. 36s.
- Baloch, F. S., Alsaleh, A., Miera, L., Hatipoğlu, R., Çiftçi, V., Karaköy, T., Yıldız, M. and Özkan, H. 2015b. DNA based iPBS-retrotransposon markers for investigating the population structure of pea (*Pisum sativum*) germplasm from Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 61: 244–252.

- Baloch, F.S., Derya, M., Andeden, E.E., Alsaleh, A., Cömertpay, G., Kilian, B., Özkan, H., 2015b. Inter-primer bindin site retrotransposon and inter-simple sequence repeat diversity among wild Lens species. *Biochemical Systematics and Ecology*.58: 162-168.
- Bayraktar, H., Dolar, F.S. and Maden, S. 2007. Mating Type Groups of *Ascochyta rabiei* (Teleomorph: *Didymella rabiei*), the Causal Agent of Chickpea Blight in Central Anatolia. *Turk J. Agric. For.*, 31; 41-46.
- Bayraktar H., Dolar, F.S. and 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 Phytopatology*, 156 (3); 146-154.
- Bayraktar, H., & Dolar, F. S. (2009). Nohut Solgunluk ve Kök Çürüklüğü Patojenleri Arasındaki Genetik Farklılığın RAPD ve ISSR İle İncelenmesi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 33(1), 1-10.
- Bulğak (2016) Marmara Bölgesi' nde Nohutta Yanıklık Hastalığına Neden Olan *Didymella rabiei*'nin Genetik Karakterizasyonu ve Patojenisite Analizleri, Yüksek Lisans Tezi, *Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep*.
- Bureau, T. E., Wessler, S. R. 1992. Tourist: A Large Family Of Small Inverted Repeat Elements Frequently Associated With Maize Genes. *Plant Cell.*, 4(10):1283-1294.
- Chongo, G. And Gossen, B. 2001. Effect Of Plant Age On Resistance To *Ascochyta Rabiei* İn Chickpea. *Canadian Journal Of Plant Pathology*, 23; 358-363.
- Chongo, G., Gossen, B.D. And Buchwaldt, L. 2000. Fungicidal Control Of *Ascochyta* Blight İn Chickpea İn 1999. In 1999 Pesticide Management Research Reports. *Agriculture-Food Canada, Ottawa, Ont.*, Report No: 99 ; 275-276.
- Chongo, G., Gossen, B.D., Buchwaldt, L., Adhikari T. And Rimmer, S.R. 2004. Genetic University Of *Ascochyta Rabiei* İn Canada. *Plant Disease*, 88; 4-10.
- Collard BC, Mackill DJ (2009), Start Codon Targeted (Scot) Polymorphism: A Simple, Novel DNA Marker Technique For Generating Gene-Targeted Markers İn Plants. *Plant Molecular Biology Reporter*, 27(1), 86.
- Collard, B.C. Y. & Mackill, D.J. (2009). Conserved DNA-derived Polymorphism (CDDP): A Simple and Novel Method for Generating DNA Markers in Plants. *Plant Molecular Biology Reporter*. 27: 558-562.
- Davidson, J. A. and Kimber, R. B. E. 2007. Integrated disease management of *ascochyta* blight in pulse crops. *Eur. J. Plant Pathol.* 119: 99-110.
- Demirel, F. (2018). Türkiye'nin Farklı Bölgelerinden Toplanmış Yerel Buğday Genotiplerinin Morfolojik Ve Moleküler Karakterizasyonu. Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, *Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Iğdır*.
- Demirel, F. (2020). Bazı Siyez Buğdaylarının ISSR Markörleri İle Karakterizasyonu. *Journal Of Agriculture*, 3(2), 33-39.
- Dolar, F.S. & Gürcan, A. (1991). *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.'a Nohut Bitkisinin Dayanıklılığında İnokulum Yoğunluğunun Rolü. VI. *Türkiye Fitopatoloji Kongresi*, İzmir, 87-90.
- Dolar, F.S. & Gürcan, A. (1992). *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. Patojenik Değişkenliği ve Irk Görünümü Türkiye'de. *Türk Fitopatoloji Dergisi*, 21(2), 61-65.
- Dolar, F.S. (1994). Development of *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. in the Leaves of Susceptible and Resistant Chickpea Cultivars. *Journal of Turkish Phytopathology*, 23(1), 27-35.
- Dolar, F.S. 1996. Determination of chickpea diseases in Ankara, Turkey. *International Chickpea and Pigeonpea Newsletter* No: 3; 33-34.

- Encan, G., Kaya, M. ve Çiftçi, C. Y., 2005. Nohutun Dünya ve Türkiye ekonomisindeki yeri. *Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9 (1): 19-29.
- Erdoğan, C., 2002. Hatay Çevresinde Bazı Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşitleri Değişik Rhizobium İrkları İle Aşılamanın Nodül Oluşumu ve Tane Verimine Etkileri. *Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Ana Bilim Dalı*. Basılmamış Doktora Tezi. Adana.
- Ergün, A. (2001). Humiforte N 6'nın Klasik Fungisitlerin Bitkiye Penetrasyonuna ve Nohut Antraknozu [*Ascochyta blight* (Pass.) Labr.] Hastalığının Kontrolüne Etkisi. (*Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*).
- FAO.2021 <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- FAOSTAT 2020. <http://www.fao.org/faostat/#data/QC>. [Son erişim tarihi: 10.04.2020].
- Frediani, M., Caputo, P. 2005. Phylogenetic relationships among annual and perennial species of the genus *Cicer* as inferred from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. *Biologia Plantarum*, 49 (1): 47-52.
- Gamliel-Atinsky, E., Shtienberg, D., Vintal, H., Nitzni, Y., and Dinoor, A. 2005. Production of *Didymella rabieipseudothecia* and dispersal of ascospores in a Mediterranean Climate. *Phytopathology* 95: 1279-1286.
- Gribbon, B. M., Pearce, S. R., Kalendar, R., Schulman, A. H., Paulin, L., Jack, P. et al. 1999. Phylogeny and transpositional activity of Ty1-copia group retrotransposons in cereal genomes. *Mol Genet Genomics*, 261: 883-891.
- Gossen, B.D. and Miller, P. R. 2004. Survival of *Ascochyta blight* in chickpea residue on the Canadian prairies. *Can. J. Plant Pathol.* 26: 142-147.
- Hari, D. U., Dwivedi, S. L., Baum, M., Varshney, R. K., Udupa, S. M., Gowda, David, C. LL., Singh, H.&S., (2008). Genetic structure, diversity, and allelic richness in composite collection and reference set in chickpea (*Cicer arietinum* L.), 16 October 2008, *BMC Plant Biology*
- Hasdemir, M. ve Terzi, D., (2015). Yemeklik Baklagiller. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Eğitim Yayın ve Yayınlar Dairesi Başkanlığı İvedik Caddesi Bankacılar Sokak No: 10 Yenimahalle/ANKARA.
- Haware, M.P., Nene, Y.L. and Mathur, S.B. 1986. *Ascochyta blight. Seed Borne Diseases of Chickpea Technical Bulletin from the Danish Government Institute 55 of Seed Pathology for Developing Countries, No: 1; 9-15. Copenhagen, Denmark.*
- Hawkins, J. S. et al. 2009. Rapid DNA loss as a counterbalance to genome expansion through retrotransposon proliferation in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106:17811-17816.
- Hirochika, H. 1993. Activation of tobacco retrotransposons during tissue culture. *The EMBO Journal*, 12: 2521-2528.
- Hosid, E., Brodsky, L., Kalendar, R., Raskina, O., Belyayev, 2012. A. Diversity of long terminal repeat retrotransposon genome distribution in natural populations of the wild diploid wheat *Aegilops speltoides*. *Genetics*, 190(1):263-274.
- Höhl, B., Pfausch, M., ve Barz, W., 1990. Histology of diseases development in resistant and susceptible cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L.) inoculated with spores of *Ascochyta blight*. *Journal of Phytopathology*, 129, 31-45.
- Jamil, F.F., Sarwar, N., Sarwar, M., Khan, J., Geistlinger, J. and Kahl, G. 2000. Genetic and pathogenic diversity within *Ascochyta blight* (Pass.) Lab. populations in Pakistan causing blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 57; 243-254.

- Jan, H. and Weise, M.V. 1991. Virulence forms of *Ascochyta rabiei* affecting chickpea in The Palouse. *Plant Disease*, 75: 904-906.
- Imtiaz M, Abang MM, Malhotra RS, Ahmed S, Bayaa B, Udupa SM and Baum M (2011) "Pathotype IV, a New and Highly Virulent Pathotype of *Didymella rabiei*, Causing *Ascochyta* Blight in Chickpea in Syria", *Plant disease*, 95(9): 1192–1192.
- Kaiser, W. J. 1973. Factors affecting growth sporulation, pathogenicity and survival of *Ascochyta rabiei*. *Mycologia*, 65: 444-457.
- Kaiser, W.J. and Hannan, R.M.. 1987. First Report of *Mycosphaerella rabiei* On Chickpeas in The Western Hemisphere. *Plant Disease*, 71; 192.
- Kaiser, W.J. 1990. Host range of the *Ascochyta* blight pathogen of chickpea. *Phytopathol*, 80; 889-890.
- Kaiser, W. J. 1997. Inter and Intranational Spread of *Ascochyta* Pathogens of Chickpea, Faba, bean and lentil. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 19; 215-224
- Kaiser, W., J. and Kusmenoglu, I.. 1997b. Distribution of mating types and the teleomorph of *Ascochyta rabiei* on chickpea in Turkey. *Plant Disease*, 81, 1284– 1287.
- Kalendar, R., Vicient, C. M., Peleg, O., Ananthawat-Jonsson, K., Bolshoy, A., Schulman, A.H. 2004. Large retrotransposon derivatives: abundant, conserved but nonautonomous retroelements of barley and related genomes. *Genetics*. ,166(3):1437-1450.
- Kalendar, R., Schulman, A. 2006. IRAP and REMAP for retrotransposon-based genotyping and fingerprinting. *Nature Protocols*., 1(5):2478-2484.
- Kalendar, R. et al. 2008. Cassandra retrotransposons carry independently transcribed 5S RNA. *Proc Natl Acad Sci USA*., 105:5833–5838.
- Kalendar, R., Antonius, K., Smýkal, P., & Schulman, A. H. (2010). iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. *Theoretical and Applied Genetics*, 121(8), 1419-1430.
- Kalendar, R. 2011. The use of retrotransposon-based molecular markers to analyze genetic diversity. *Field and Vegetable Crops Research*., 48: 261–274.
- Khan, M.S.A., Ramsey, M.D., Corbiere, R., Infantino, A., Porta-Puglia, a., Bouznad, Z., and Scoot, E.S. (1999). *Ascochyta* blight of chickpea in Australia: Identification, pathogenicity and mating type: *Plant Pathology*, 48, 230-234.
- Koçak, M., Karataş, M., Alp, Ş., Baloch, F., & Yıldız, M. (2020). Van gölü havzasından toplanan terslale (*Fritillaria imperialis* L.) genotiplerinde genetik farklılığın iPBS retrotranspozon markörları ile belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 30(2) , 398-406.
- Köhler, G., Linkert, C., ve Barz, W., 1995. Infection studies of *Cicer arietinum* (L.) with gus (*E. coli* beta-glucuronidase) transformed *Ascochyta rabiei* strains. *Journal of Phytopathology*, 143, 589-595.
- Kumar, L. S., 1999. DNA Markers in Plant Improvement: An Overview. *Biotechnology Advances*, 17: 143-182.
- Kumlay, A.M., Eren, B., Demirel, S., Demirel, F., Yıldırım, B. (2021). Bazı Pamuk Çeşitlerinde iPBS Analiziyle Genetik Varyasyonun Ortaya Çıkarılması, Araştırma Makalesi, *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, Ocak, Sayı 21, S. 67-73. doi:10.31590/ejosat.809479.

- Kumlay, A. M., Demirel, S., & Yıldırım, B. (2021). Bazı Soya (*Glycine max* L.) Çeşitlerinin IPBS Markörleriyle Moleküler Karakterizasyonu. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 31(1).
- Lewontin, R.C. 1972. The apportionment of human diversity. *Evolutionary Biology*, 6; 381–398.
- Luthra, J.C., Sattar, A., and Singh, K. 1935. Life – history of gram blight. (*Ascochyta rabiei* (Pass) Trot. On gram (*Cicer arietinum* L.)) and its control in the punjab. Agriculture and livestock in India. 5: 489-498.
- Maden, S., Singh, D., Mathur, S.B., and Neergaard, P. 1975. Detection and location of seed- borne inoculum of *Ascochyta rabiei* and its transmission in chickpea (*Cicer arietinum*). *Seed sci. and Technol.* 3:667-681.
- Maden, S. 1987. Seed-borne Fungal Diseases of Chickpea in Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology*, 16 (1); 1-8.
- Mahmoudi, H., Labidi, N., Ksouri, R., Gharsalli, M., Abdelly, C. 2007. Differential tolerance to iron deficiency of chickpea varieties and Fe resupply effects. *C.R. Biologies* 330: 237-246.
- Manifesto, M. M., Schlatter, A. R., Hopp, H. E., Suárez, E. Y., & Dubcovsky, J. (2001). Quantitative evaluation of genetic diversity in wheat germplasm using molecular markers. *Crop science*, 41(3), 682-690.
- Manninen, O., Jalli, M., Kalendar, R., Schulman, A., Afanasenko, O., Robinson, J. 2006. Mapping of major spot-type and net-type net-blotch resistance genes in the Ethiopian barley line CI 9819. *Genome.*, 49(12):1564-1571.
- McClelland, M., Ralph, D., Chang., R and Welsh. J. 1994. Interaction among regulators of RNA abundance characterized using RNA fingerprinting by arbitrarily primed PCR. *Nucleic acid Res.*, 22: 4419 – 4431.
- Moisy, C., Schulman, A.H., Kalendar, R., Buchmann, J.P., Pelsy, F. 2014. The *Tvv1* retrotransposon family is conserved between plant genomes separated by over 100 million years. *Theor. Appl. Genet.* 127(5):1223-1235.
- Muehlbauer F.J., Singh K.B. (1987) Genetics of chickpea. In *The Chickpea*. pp. 99– 125. Eds. M.C. Saxena and K.B. Singh. *Wallingford. UK: CAB International*.
- Muehlbauer, F.J. and Sarker, A. 2017. Economic Importance of Chickpea: Production, Value, and World Trade. *The Chickpea Genome*, pp 5-12.
- Mukherjee, S., Ghatak, S., Yadav, R. P., Zothansanga, G., Gurusubramanian and Kumar, S. N. 2015. Advances in PCR based molecular markers and its application in biodiversity conservation. *Biodiversity in Tropical Ecosystems.*, 395-422.
- Navas-Cortes, J. A., Trapero-Casas, A., Jimenez-Diaz, R. M. 1995. Phenology of *Didymella rabiei* in chickpea debris under field conditions in Spain. *Plant Pathology*, 44: 332- 339.
- Nayyar, H., Kaur, S., Singh, S., Upadhyaya, H.D. 2006. Differential sensitivity of Desi (small-seeded) and Kabuli (large-seeded) chickpea genotypes to water stress during seed filling: Effects on accumulation of seed reserves and yield. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86 (13): 2076-2082.1.
- Nene, Y. L. (1982). A review of *Ascochyta* blight of chickpea. *International Journal of Pest Management*, 28(1), 61-70.
- Nene, Y.L. and Reddy, M.V. 1987. Chickpea diseases and their control. In: Saxena, M.C. and Singh K.B. (eds.), *The Chickpea*, pp. 233-270. C.A.B. Wallingford, Oxon, UK.
- Nene, Y.L., Sheila, V.K. and Sharma, S.B. 1996. A world list of chickpea and pigeonpea pathogens. 5th edn. Patoncheru 502 324 Andhra Pradesh, India: International Crops Research Institute for the Semi Arid Tropics. 27pp.

- Nkongolo, K., Alamri, S., & Michael, P. (2020). Assessment of Genetic Variation in Soybean (Glycine max) Accessions from International Gene Pools Using RAPD Markers: Comparison with the ISSR System. *American Journal of Plant Sciences*, 11(9), 1414-1428.
- Özer, G. Nohut Yanıklık Etmeni *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.' nin Patotiplerinin moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi. Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 2009.
- Özer, G., Bayraktar, H., & Baloch, F. S. (2016). iPBS retrotransposons 'A Universal Retrotransposons' now in molecular phylogeny of fungal pathogens. *Biochemical Systematics and Ecology*, 68, 142-147.
- Özer, G., Sameeullah, M., Bayraktar, H. & Göre, M. E. (2017). Genetic diversity among phytopathogenic Sclerotiniaceae, based on retrotransposon molecular markers. *Phytopathologia Mediterranea*, 56(2), 251-258.
- Özer, G., & Bayraktar, H. (2018). Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cumini* isolates analyzed by vegetative compatibility, sequences analyses of the rDNA IGS region and iPBS retrotransposon markers. *Journal of Plant Pathology*, 2, 225-232.
- Pande, S., Siddique, K.H.M., Kishore, G.K., Bayaa, B., Gaur, P.M., Gowda, C.L.L., Bretag, T.W. and Crouch, J.H. 2005. *Ascochyta* blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.): A review of biology, pathogenicity and disease management. *Aust. J. Agric. Res.* 56 ;317-332.
- Pearce, S. R., Harrison, G., Heslop-Harrison, J. S, Flavell AJ, Kumar A. Characterization and genomic organization of Ty1-copia group retrotransposons in rye (*Secale cereale*) *Genome*. 1997;40:1-9.
- Pearce, S. R., Harrison, G., Li, D., Heslop-Harrison, J., Kumar, A., Flavell, A. J. 1996. The Ty1-copia group retrotransposons in *Vicia* species: copy number, sequence heterogeneity and chromosomal localisation. *Mol. Gener. Genetics.*, 250(3):305-315.
- Phan, H.T.T., Ford, R. and Taylor P.W.J. 2003. Mapping the mating type locus of *Ascochyta rabiei*, the casual agent of *ascochyta* blight of chickpea. *Molecular Plant Pathology*, 4; 373-381.
- Porta-Puglia, A., Crino, P. and Mosconi, C. 1996. Variability to Chickpea of an Italian Population of *Ascochyta rabiei*. *Plant Disease*, 80; 39-41.
- Pourmahdi, A., & Taheri, P. (2015). Genetic Diversity of *Thanatephorus cucumeris* Infecting Tomato in Iran. *Journal of Phytopathology*, 163(1), 19-32.
- Reddy, M.V. and Singh, K.B. 1984. Evaluation of a world collection of chickpea germplasm accessions for resistance to *ascochyta* blight. *Plant Dis.* 65 ;586-587.
- Reddy, M.V. and Kabbabeh, S., 1985. Pathogenic variability in *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. in Syria and Lebanon. *Phytopath. Medit.*, 24; 265-266.
- Rhaïem, A., Chérif, M., Peever, T.L. and Dyer, P.S. 2008. Population structure and mating system of *Ascochyta rabiei* in Tunisia: evidence for the recent introduction of mating type 2. *Plant Pathology*, 57; 540-551.
- Sadık, G. (2017). Farklı *daucus* türlerinde genetik farklılığın belirlenmesinde iPBS retrotranspozon markörlerinin etkinliğinin belirlenmesi. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van*.
- Saraçoğlu, D. 2007. Yabancı ve Kültür Nohutlarının Moleküler Genetik Yöntemlerle Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. *Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Konya*.
- Schulman, A.H., Flavell, A.J., Ellis, T.H.N., 2004. The Application of LTR Retrotransposons as Molecular Markers in Plants. In: Miller W.J., Capy P. (eds) *Mobile Genetic Elements. Methods in Molecular Biology*, vol 260. Humana Press.
- Sepetoğlu, H., 1994. *Yemelik Dane Baklagiller*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, İzmir. Yayın No: 24, s: 262-274.

- Sethy, N.K., Choudhary, S., Shokeen, B., Bhatia, S. 2006a. Identification of microsatellite markers from *Cicer reticulatum*: Molecular variation and phylogenetic analysis. *Theor Appl Genet.* 112: 347-357.
- Sethy, N.K., Shokeen, B., Edwards, K.J., Bhatia, S. 2006b. Development of microsatellite markers and analysis of intraspecific genetic variability in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Theor Appl Genet.* 112: 1416–1428.
- Singh, K.B.; Reddy, M.V. and Nene Y.L. 1984. International Testing of Chickpeas for Resistance to *Ascochyta* Blight. *Plant Disease*, 68; 782-784.
- Singh, O. and Paroda, R.S. 1986. Association analysis of grain yield and its components in chickpea following hybridization and a combination of hybridization and mutagenesis. *Indian J Agric Sci*, 56: 139–141.
- Singh K.B., Saxena, M.C., 1996. Winter chickpea in mediterranean-type environments. A Technical Bulletin p: 1-30. ICARDA, ALEPPO, Syria.
- Singh K.B. (1997). Chickpea(*Cicer arietinum* L.). International Center for Agricultural Research in Dry Areas (ICARDA), P.O. Box 5466, Aleppo, Syria.
- Singh, K. B., 1997. Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Field Crops Research*, 53: 161- 170.
- Soran, H. 1977. The fungus disease situation of edible legumes in Turkey. *J. Turk. Phytopathology*, 6 (1); 1-7.
- Startek, M.P., Nogly, J., Gromadka, A., Grzebelus, D., Gambin, A., 2017. Inferring transposons activity chronology by TRANScendence –Tes database and de-novo minning tool. *BMC Bioinformatics* 18:422
- Şehirali, S., 1988. Yemeklik Dane Baklagiller. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1089, Ders Kitabı: 314, A. Ü. Basımevi, Ankara.*
- Tabanlı, F., (2016).Ülkemizde Geliştirilen Tescilli Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşitlerinde *Ascochyta* Yanıklığına Karşı Direncin Moleküler Belirteçler (STMS, RAPD, ISSR) ile Araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, İstanbul.*
- Tanhuanpaa, P., Kalendar, R., Schulman, A.H., Kiviharju, E. 2008. The first doubled haploid linkage map for cultivated oat. *Genome.*, 51(8):560-569.
- Todorovska, E., 2007. Retrotransposons and their role in plant genome evolution. *Biotechnology Biotechnological Equipment*, 21:3.
- Trapero-Casas, A. and Kaiser, W. 1987. Factors influencing development of the teleomorph of *Ascochyta rabiei*. *International Chickpea Newsletter*, 17: 27-28.
- Trapero-Casas, A. & Kaiser, W. J. 1992a. Influence of Temperature, Wetness, Period, Plant Age and Inoculum Concentration on Infection and Development of *Ascochyta blight* of Chickpea. *Phytopathology*, 82, 589-596.
- Trapero-Casas, A. and Kaiser, W.J. 1992b. Development of *Didymella rabiei*, The Teleomorph of *Ascochyta rabiei*, On Chickpea Straw. *Phytopathology*, 82; 1261-1266.
- Türkkan M and Dolar FS (2009) “Determination of Pathogenic Variability of *Didymella rabiei*, the Agent of *Ascochyta* Blight of Chickpea in Turkey”, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 33 (6): 585–591.
- TÜİK. 2022. *Bitkisel Üretim İstatistikleri* <http://www.tuik.gov.tr/>
- Udupa, S.M. and Weigand, F. 1997. Pathotyping of *Ascochyta rabiei* Isolates of Syria. DNA Markers and Breeding for Resistance to *Ascochyta* Blight in Chickpea. Proceedings of The Symposium on “Application of DNA Fingerprinting for Crop Improvement: Marker

- Assisted Selection of Chickpea for Sustainable Agriculture in The Dry Areas” (Udupa, S. M. and Weigand, F., eds.). 11-12 April 1994, Aleppo, Syria. ICARDA, Aleppo, Syria.
- Udupa SM, Weigand F, Saxena MC and Kahl G (1998) “Genotyping with RAPD and Microsatellite Markers Resolves Pathotype Diversity in the Ascochyta Blight Pathogen of Chickpea”, *Theoretical and Applied Genetics*, 97(1-2): 299-307.
- Üstün, A., Gülümser, A., 2003. Karadeniz Bölgesinde Nohuta Uygun Ekim Zamanının Belirlenmesi Çalışmaları, *Türkiye 5. Tarla Bitkileri Kongresi, Diyarbakır*. s: 110-120.
- 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 cultivation. PhD Thesis, H. Veenmann Q. Zonen N.V., Mendelingen Landbouwhogeschool Wageningen, Wageningen, The Netherlands, 341 p.
- Yıldırım, A., Kandemir, N. 2001. Bölüm 23: Genetik Markörler ve Analiz Metotları. Bitki Biyoteknolojisi II - Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları. (ed. Özcan, S. Gürel, E., Babaoğlu, M.). *Selçuk Üniv. Vakıf Yayınları*, sayfa 112-159. Konya.
- Yıldız, M., Koçak, M., Baloch, F.S., 2015. Genetic bottlenecks in Turkish okra germplasm and utility of iPBS retrotransposon markers for genetic diversity assessment. *Genetic and Molecular Research*, 14 (3): 10588-10602.
- Yıldız, M., Koçak, M., Nadeem, M. A., Cavagnaro, P., Barboza, K., Baloch F. S., Argün, D. & Keleş, D. (2019). “Genetic diversity analysis in the turkish pepper germplasm using iPBS (Inter-primer binding site) Retrotransposon-based markers”. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. Cilt. 44. Sayı. 1, 1-14.
- Yılmaz, A. (2020). Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan defne (*Laurus nobilis* L.) genotiplerinin moleküler karakterizasyonu, Doktora Tezi, *Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Yılmaz, A. ve Ciftci, V. (2021a). Genetic relationships and diversity analysis in Turkish laurel (*Laurus nobilis* L.) germplasm using ISSR and SCoT markers. *Molecular Biology Reports*, 1-11.
- Yılmaz, A., Moleküler Markörlerin Bitki Islahındaki Önemi, https://www.researchgate.net/profile/Abdurrahim-Yilmaz-4/publication/352384131_Molekuler_Markorlerin_Bitki_Islahindaki_Onemi/links/60c7afc6299bf108abd94caa/Molekuler-Markorlerin-Bitki-Islahindaki-Onemi.pdf, Ocak, 15, 2023
- Yin, H., Liu, J., Xu, Y., Liu, X., Zhang, S., Ma, J., Du, J. 2013. TARE1, A Mutated Copia-Like LTR Retrotransposon Followed By Recent Massive Amplification In Tomato. *Plos ONE*, 8(7):E68587.
- Yoder, O.C., Valent, B. and Chumley, F. 1986. Genetic Nomenclature and Practise for Plant Pathogenic Fungi. *Phytopathology*, 76; 383-385.
- Yorgancılar, M., Yakışır, E., & Erkoyuncu, M. T. (2015). Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 4(2), 1-12.
- Yüzbaşıoğlu, E. 2005. Mercimek Hat ve Çeğitlerinde Genetik Varyasyonun Tespiti. Doktora Tezi, *Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.
- Zhang, J., Xie, W., Wang, Y., & Zhao, X. (2015). Potential of Start Codon Targeted (SCoT) Markers to Estimate. *molecules*(20), 5987-6001.
- Weising, K., Kaemmer, D., Epplen, J., Weigand, F., Saxena, M. and Kahl, G. 1991. DNA fingerprinting of Ascochyta rabiei with synthetic oligodeoxynucleotides. *Current Genetics*. 19 ;483-489.

- Welsh, J. and McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acid Res.*, 18; 7213-7218.
- Weltzien, H. C. and Kaach, H. J. 1984. Ascochyta blight and winter sowing of chickpeas. Saxena, M.C. and Singh, K.B. (Eds.), *Epidemiological aspects of chickpea Ascochyta blight*. Pp:35-44.
- Wenke, T., Dobel, T., Sorensen, T.R., Junghans, H., Weisshaar, B., Schmidt, T. 2011. Targeted identification of short interspersed nuclear element families shows their widespread existence and extreme heterogeneity in plant genomes. *Plant Cell.*, 23(9):3117-3128.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livek, K.J., Rafalski, J.A. And Tingey, S.V. 1990. DNA Polymorphisms Amplified By Arbitrary Primers Are Useful As Genetic Markers. *Nucleic Acids Research*, 18; 6531-6535.
- Vir, S. and Grewal, J.S., 1974. Physiologic Specialization in *Ascochyta rabiei* The Causal Organism of Gram Blight. *Indian Phythopath*, 27 (3); 355-360
- Qureshi, S.H. and Alam, S.S. 1984. Pathogenic Behavior of *Ascochyta rabiei* isolates On Different Cultivars of Chickpea in Pakistan. *International Chickpea Newsletter*. 11; 29-31.