T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

YERFISTIĞI (*Arachis hypogaea* L.) KOLEKSİYONUNDA SAP ÇÜRÜKLÜĞÜNE (etmen: *Sclerotium rolfsii*) DAYANIKLI GENOTİPLERİN BELİRLENMESİ VE MOLEKÜLER MARKER İLE VALİDASYONU

Volkan GÜÇLÜ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARLA BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EYLÜL 2018

ANTALYA

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

YERFISTIĞI (*Arachis hypogaea* L.) KOLEKSİYONUNDA SAP ÇÜRÜKLÜĞÜNE (etmen: *Sclerotium rolfsii*) DAYANIKLI GENOTİPLERİN BELİRLENMESİ VE MOLEKÜLER MARKER İLE VALİDASYONU

Volkan GÜÇLÜ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARLA BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EYLÜL 2018

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YERFISTIĞI (*Arachis hypogaea* L.) KOLEKSİYONUNDA SAP ÇÜRÜKLÜĞÜNE (etmen: *Sclerotium rolfsii*) DAYANIKLI GENOTİPLERİN BELİRLENMESİ VE MOLEKÜLER MARKER İLE VALİDASYONU

Volkan GÜÇLÜ

TARLA BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FYL-2017-2663 nolu proje ile desteklenmiştir.

EYLÜL 2018

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YERFISTIĞI (*Arachis hypogaea* L.) KOLEKSİYONUNDA SAP ÇÜRÜKLÜĞÜNE (etmen: *Sclerotium rolfsii*) DAYANIKLI GENOTİPLERİN BELİRLENMESİ VE MOLEKÜLER MARKER İLE VALİDASYONU

Volkan GÜÇLÜ

TARLA BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 28/09/2018 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üye. Engin YOL ……

Prof. Dr. Bülent UZUN ……

Doç. Dr. Ufuk DEMİREL ……

ÖZET

Yerfıstığı (*Arachis hypogaea* L.) koleksiyonunda sap çürüklüğüne (etmen: *sclerotium rolfsii*) dayanıklı genotiplerin belirlenmesi ve moleküler marker ile validasyonu

Volkan GÜÇLÜ

Yüksek Lisans, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Engin YOL

Eylül 2018; Sayfa 59

Sclerotium rolfsii'nin etmen olduğu sap çürüklüğü hastalığı dünya yerfıstığı üretim alanlarında ciddi verim kayıplarına neden olmaktadır. Bu yüksek lisans tez çalışmasında, toplamda 121 adet genotipten oluşan yerfıstığı gen kaynağı koleksiyonu hastalığa karşı dayanıklılık bakımından çalışılmış ve moleküler marker kullanılarak dayanıklılık doğrulanmaya çalışılmıştır. Aynı zamanda *Arachis* cinsine ait beş yabani tür de (*A. diogoi*, *A. ipaensis*, *A. botizocoi*, *A. duranensis* ve *A. cordenosii*) sera ortamında yapay inokülasyon ile dayanıklılık bakımından değerlendirilmiştir. Her iki çalışmada da ekim işleminden yaklaşık 60-65 gün sonra bitkilere agar disk tekniği kullanılarak *S. rolfsii* izolatı inoküle edilmiştir. Inokülasyondan 7-10 gün sonra hastalığın ilk belirtileri gözlenmiş ve 4 hafta sonunda inoküle olan yerfıstığı genotipleri 1-5 skalasına göre değerlendirilmiştir. Koleksiyonda hastalık skoru 2 ile 5 arasında değişkenlik gösterirken genel ortalama 4,7 olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak yoğun fungus baskısı altında koleksiyonun % 92,8'si hassas, % 5,7'si orta derecede hassas ve sadece % 1,6'sı *Sclerotium rolfsii'*ye karşı orta derecede dayanıklı olarak gözlenmiştir. Genotipler arasında ayrıca lezyon uzunluğu ve lezyon alanı karakterleri arasında da istatistikî olarak önemli farklılıklar elde edilmiştir En düşük hastalık skoru ACG 14 (subsp. *fastigiata* var. *vulgaris*) ve ACG 101 (subsp. *hypogaea* var. *hypogaea*) genotiplerinde gözlenmiştir. Yabani *Arachis* türleri için ortalama hastalık skoru ise 3,7 olup en düşük hastalık skoruna sahip tür 2,5 skor değeri ile *A. botizocoi* olmuştur. Yürütülen tarla denemesini doğrulamak amacıyla daha önceki çalışmalarda dayanıklılıkla ilişkili olduğu bildirilen GM2350 markeri koleksiyonu taramada kullanılmış, ancak bu SSR markeri ile genotiplerin hastalığa karşı reaksyionları arasında bir korelasyon gözlenmemiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Sap çürüklüğü, Moleküler marker, *Sclerotium rolfsii*, Yerfıstığı

JÜRİ: Dr. Öğr. Üye. Engin YOL
Prof. Dr. Bülent UZUN
Doç. Dr. Ufuk DEMİREL

ABSTRACT

Determination of resistant genotypes against to stem rot disease (caused by *Sclerotium rolfsii*) in groundnut and validation of marker linked to disease

Volkan GÜÇLÜ

MSc Thesis in Department of Field Crops

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Engin YOL

September 2018; 59 pages

Stem rot is one of most the important biotic stress factors in groundnut, and causes to high yield losses worldwide. In the present investigation 121 groundnut genotypes from different subspecies and botanical varieties were screened for resistance to *S. rolfsii* under field conditions. The five wild *Arachis* species, *A. diogoi*, *A. ipaensis*, *A. botizocoi*, *A. duranensis* and A. *cordenosii*, were also evaluated in greenhouse conditions. In both experiments, 60 to 65 days after planting, plants were inoculated with an aggressive isolate of *S. rolfsii* using a combined agar disk technique with a grain-based medium. A disease score (DS) scale (1 to 5) was used to assess symptomatic plants. To validate the experimental assessments, leaf samples of the genotypes and wild type species were analyzed using a SSR marker, GM2350, associated with stem rot resistance. The traits of lesion length, lesion area and disease severity showed significant differences among the genotypes. The DS ranged from 2 to 5 with a general mean of 4.7. The 5.7% and 1.6% of the collection were found to be moderately susceptible and moderately resistant, respectively. The lowest DS results were identified on genotypes ACG 14 from subsp. *fastigiata* var. *vulgaris* and ACG 101 from subsp. *hypogaea* var. *hypogaea*. ACG 101 also had a similar pod yield to the control plot. The lowest DS was recorded as 2.5 for *A. botizocoi* and the average DS was 3.7 in wild species. There was no correlation between the molecular analysis and field phenotyping.

KEYWORDS: Stem rot, Molecular marker, *Sclerotium rolfsii*, peanut

COMMITTEE: Asst. Prof. Dr. Engin YOL
Prof. Dr. Bülent UZUN
Assoc. Prof. Dr. Ufuk DEMİREL

ÖNSÖZ

Yerfıstığı, tohumlarında yüksek oranda yağ ve protein barındıran, tüm dünyada talep gören önemli bir yağlı tohum bitkisidir. Özellikle tohumlarından elde edilen kaliteli yağ, yüksek tutuşma ve yanma sıcaklığı nedeniyle dünyada kızartma yağı olarak tercih edilmektedir. Ülkemizde ise yüksek maliyeti sebebiyle yağ üretimi gerçekleşmemekte, tohumları da çoğunlukla çerezlik olarak ve gıda amaçlı değerlendirilmektedir. Ülkemizde her yıl milyarlarca dolar yağ ve yağlı tohum ithalatı göz önüne alındığında kullanılabilir her türlü yağlı tohuma gereksinim duyulmaktadır. Dolayısıyla yerfıstığında yüksek verim ve yağ içeriğine sahip çeşitlerin geliştirilmesi amacıyla ıslah çalışmalarının yürütülmesi gerekmektedir. Geliştirilen bu çeşitlerde ise hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılığın bulunması çok önemlidir. Ülkemizin güney bölgelerinde yoğun olarak yetiştirilen yerfıstığı birçok biyotik ve abiyotik stres faktörüne maruz kalmakta ve bitkilerde vejetatif ve generatif gelişim olumsuz etkilenmektedir. Biyotik stres faktörlerinden biri olan sap çürüklüğü (etmen: *Sclerotium rolfsii*) fungal kökenli bir hastalık olup yerfıstığında % 50'lere varan oranlarda verim kayıplarına neden olmaktadır. Bu stres faktörü ile mücadelede dayanıklı genotipler geliştirmek adına klasik ıslah metotlarının yanında moleküler markerlerinin kullanılması da oldukça önemlidir. Ülkemizde hem klasik hem de moleküler ıslahın kullanıldığı dayanıklılık çalışma sayısı ise ne yazık ki yok denecek kadar azdır. Bu eksikliğin giderilmesi adına yürütülen bu çalışmada 121 adet genotipten oluşan yerfıstığı gen kaynağı koleksiyonu sap çürüklüğüne dayanıklılık bakımından hem tarla koşullarında inokülasyon ile hem de moleküler marker ile taranmıştır. Tarla koşullarında hastalığı yaymak amacıyla daha önceki yıllarda enfekte olmuş bitkilerden alınan ve kültür ortamında yetiştirilen *S. rolfsii* örnekleri bitkiler üzerine inoküle edilmiştir. Bu işlemin ardından enfekte olmuş bitkiler skorlanarak, dayanıklı bitkiler belirlenmeye çalışılmıştır. Aynı zamanda, kullanılan SSR marker ile dayanıklılık karakteri arasında potanisyel korealasyon bu tez çalışmasında değerlendirilmiştir.

Tezimin her aşamasında benden yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleriyle bana hep yol gösteren, hayat görüşüme farklı yollar göstererek vizyonumu genişleten, lisans eğitimimden itibaren kendimi geliştirmemde sayısız emekleri olan, sürekli çalışmasına ve yoğun olmasına rağmen benden de bir an olsun desteklerini esirgemeyen sevgili danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üye. Engin YOL'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimde bitki koruma konusunda engin deneyimlerini ve tecrübelerini paylaşan, benimle birlikte arazide gün ve zaman gözetmeksizin çalışan, hastalığın tanınması ve çoğaltılması konusunda yardımlarını bir an olsun esirgemeyen Sayın Dr. Mehmet AYDOĞDU'ya teşekkürlerimi sunarım.

Bana yerfıstığını sevdiren, moleküler çalışmalarımda çok büyük destekler veren ve benim için örnek bir bilim insanı olan Sayın Prof. Dr. Bülent UZUN'a da özellikle teşekkür ederim.

Ayrıca birim imkânlarından yararlandığım Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü ile bu çalışmayı maddi olarak destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinasyon Birimine ve ihtiyaç duyulduğunda desteklerini esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Duygu SARI YOL'a, Sayın Arş. Gör. Birgül GÜDEN'e,

Sayın Arş. Gör. Rüstem ÜSTÜN'e ve arkadaştan öte kardeş olarak gördüğüm Sayın Zir. Müh. Mustafa POLAT'a teşekkürlerimi sunarım. Bütün bu zor zamanlarımda arkamda olan, benden desteklerini ve alın terlerini esirgemeyen mesai arkadaşlarım Sayın Zir. Müh. Merve BAŞAK'a ve Sayın Zir. Müh. Sibel KIZIL'a teşekkürlerimi iletirim. Beni bugünlere getiren aileme de teşekkürlerimi sunarım.

Projenin yazılmasından bitimine kadar tezimin her aşamasında yanımda olan, gece gündüz demeden projeyi bitirmemde yardımcı olan ve tüm aşamalarda yanımda duran arkadaşım ve meslektaşım Sayın Yük. Zir. Müh. Sevde ALPARSLAN'a ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
ÖNSÖZ iii
AKADEMİK BEYAN vi
SİMGELER VE KISALTMALAR vii
ŞEKİLLER DİZİNİ ix
ÇİZELGELER DİZİNİ x
1. GİRİŞ 1
2. KAYNAK TARAMASI 4
3. MATERYAL VE METOT 9
3.1. Materyal 9
3.1.1. Deneme yeri 9
3.1.2. Deneme yerinin iklim değerleri ve toprak yapısı 9
3.1.3. Genetik materyal 9
3.1.4. Deneme planı 13
3.2. Metot 13
3.2.1. Tohumların ekilmesi ve bakım işlemleri 13
3.2.2. Epidemi oluşturulması öncesi yapılan kültürel işlemler 14
3.2.3. Yabani türlerin sera koşullarında değerlendirilmesi 15
3.2.4. *S. rolfsii*'nin izolasyonu 16
3.2.5. İnokülumun hazırlanması 16
3.2.6. İnokülasyon 17
3.2.7. Hastalığın değerlendirilmesi 19
3.2.8. DNA izolasyonu 19
3.2.9. Moleküler analiz 21
3.2.10. İstatiksel analiz 21
4. BULGULAR 22
5. TARTIŞMA 37
6. SONUÇLAR 39
7. KAYNAKLAR 40
ÖZGEÇMİŞ

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum **"Yerfıstığı (*Arachis hypogaea* L.) koleksiyonunda sap çürüklüğüne (etmen: *Sclerotium rolfsii*) dayanıklı genotiplerin belirlenmesi ve moleküler marker ile validasyonu"** adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

28/09/2018

Volkan GÜÇLÜ

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

bp	Baz çifti
cm	Santimetre
°C	Santigrat derece
g	Gram
ha	Hektar
HCI	Hidroklorik asit
kg	Kilogram
l	Litre
ml	Mililitre
mM	Milimolar
m	Metre
NaOCI	Sodyum hipoklorit
NaCI	Sodyum klorür
PDA	Patates dekstroz agar
pH	Hidrojen gücü
ppm	Milyonda bir birim
µM	Mikromolar

Kısaltmalar

AFLP	Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi
BAW	Beet Army Worm
CTAB	Cetyl trimethylammonium bromide
DAPG	Diacetylphloroglucinol
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations- Dünya Tarım Örgütü
ISSR	Inter-simple sequence repeat- Kısa dizi tekrarı arası
LSD	Asgari önemli fark
NCBI	National Center for Biotechnology Information
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
QTL	Quantitative trait locus- Kantitatif özellik lokusu
RPM	Revolutions per minute- Dakikada devir sayısı
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA- Rastgele çoğaltılmış DNA farklılığı
SSR	Simple sequence repeats- Basit dizi tekrarı
TBE	Tris Borate EDTA

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3. 1. Deneme yerleri; (a) Tarla denemelerinin yürütüldüğü alan, (b) Moleküler Bitki Islahı Laboratuarı 9
Şekil 3. 2. Ekim işlemine ait görüntüler 13
Şekil 3. 3. Gübreleme, sulama, yabancı ot temizliği ve ilaçlama işlemleri 14
Şekil 3. 4. Nemin kaybolmasını engellemek için Tritikale samanı ile bitkilerin çevrelenmesi 15
Şekil 3. 5. (a) *Arachis diogoi*, (b) *Arachis ipaensis*, (c) *Arachis cardenasii,* (d) *Arachis botizocoi*, (e) *Arachis duranensis* 16
Şekil 3. 6. S. rolfsii ile kaplanmış yulaf ve buğday taneleri 17
Şekil 3. 7. İnokülasyonu işlemleri 18
Şekil 3. 8. Bitkilerin plastik naylon ile kapatılması 19
Şekil 3. 9. Genotiplerin bir bölümüne ait izolasyon sonrası agaroz jel görüntüsü 20
Şekil 4. 1. Sahip olduğumuz izolatın ITS3/ITS4 primerleri çoğaltıması sonrasında elde edilen dizi 22
Şekil 4. 2. NCBI'da blast sonrası diğer S. rolfsii izolatları ile benzerlik oranları 22
Şekil 4. 3. İnokülasyon sonrası bitkilerde oluşan zararlar 24
Şekil 4. 4. (a) GM2350 markeri ile tarama sonrası bazı genotiplere ait jel görüntüsü **(b)** Seçilen bazı genotiplere ait PCR ürünlerinin Fragment AnalyzerTM cihazında görüntülenmesi. D ve H sırasıyla dayanıklı ve hassas bitki. 25

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3. 1. Tez çalışmasında yer alan genotipler ve ait oldukları taksonomik gruplar 10
Çizelge 3. 2. Bitkileri skorlamada kullanılan hastalık skoru tablosu 19
Çizelge 4. 1. *Sclerotium rolfsii* inokülasyonu sonrası 121 genotipe ait veriler 26
Çizelge 4. 2. Farklı karakterler için yapılan varyans analiz tablosu 33
Çizelge 4. 3. Genotiplerin marker ve tarla skorları 34
Çizelge 4. 4. Yabani türlere ait skorlar 34

1. GİRİŞ

Yerfıstığı (*Arachis hypogaea* L.), dünyada 40° Kuzey ve 40° Güney enlemleri arasında, 100'den fazla ülkede tarımı yapılan önemli bir yağ ve protein bitkisidir (Liao ve Holbrook 2007). Yere dik olarak 30-60 cm boylanabilen yerfıstığı yere paralel olarak ise 40-50 cm uzayabilir (Kadiroğlu 2013). Yerfıstığı kazık köklü bir bitkidir ve kökün etrafında ana köke bağlı olarak çok sayıda yan kökler bulunur. Bu ana ve yan kökler üzerinde ise havanın serbest azotunu bağlayan *Rhizobium* bakterileri (nodül) bulunur. Bu nodüller baklagiller familyasındaki diğer bitkilerde olduğu gibi bitkinin azot ihtiyacını karşılarlar. Pinnat yaprak yapısına sahip olan yerfıstığı 2-5 cm uzunluğunda karşılıklı olarak yer alan iki çift yaprakçıktan oluşur (Porter 1997). Yaprakların şekilleri uzun ve oval olup yaprak renkleri açık yeşilden koyu yeşile doğru değişmektedir. Yaprakların üzeri ise hafif tüylüdür. Güneşe ve susuzluğa karşı duyarlı olan bu bitkiler, güneş battığında veya susuz kaldıklarında yaprakçıkları karşılıklı olarak kapanırlar. Tipik bir baklagil çiçeği yapısında olan yerfıstığının çiçekleri, yaprak koltuğundan çıkar ve her bir çiçekte de en dışta 5 adet çanak yaprağı, bunun içerisinde de 2 kayıkçık, 2 kanatçık ve 1 bayrak yaprağı bulunur. Taç yapraklarının ortasında ise 10 adet erkek organ ile 1 adet dişi organ vardır. Genellikle portakal sarısı renkte olan çiçekleri çeşitlere göre sarı, beyaz ve erguvan renkte de olabilirler. Çiçekler döllendikten sonra taç yaprakları dökülür. 10-12 gün sonra yumurtalığın altındaki doku hızla çoğalmaya başlar ve zamanla yumurtalığı çevreleyen doku ile birleşerek bir uzantı meydana gelir ve bu uzantıya ginofor adı verilir. Ginofor, anatomik olarak gövdeye benzemekle birlikte fonksiyonel olarak köke benzemektedir. Ginoforlar toprağa girdikten sonra 10 gün içerisinde embriyolar gelişerek kapsüller (meyve) oluşturmaya başlar ve çiçeklenmeden itibaren 60 gün içerisinde yerfıstığı kapsülleri olgunlaşır (Kadiroğlu 2013). Yerfıstığı bitkisinde 600-1000 adet arası çiçek oluşur ve bunun sadece % 60-75'i ginofor oluşturur. Oluşan bu ginoforların ise % 8-23'ü kapsül meydana getirir ve her bir kapsülde de ortalama 1-4 arasında yerfıstığı tohumu bulunur. Çiçeklerin tozlanmasıyla oluşan ve uzayarak toprağa giren gineforların uçlarında bulunan embriyolar, toprakta gelişerek meyveye dönüşür ve her meyve kabuğu içerisinde de tohumlar oluşmaya başlar. Kapsül adı verilen bu meyvelerde genellikle 2 adet tohum bulunur. Her tohumda da iki etli kotiledon ve kotiledonların iç ve alt orta noktasında embriyo bulunur. Embriyo, 4-5 adet yaprak taslaklarından (plumul), hipokotilden ve birincil kök taslağından (kökçük) oluşur. Çimlenmeyle birlikte embriyodaki yaprak taslaklarının gelişmesi sonucunda sap ve yapraklar meydana gelir. Hipokotil çimlenmeyle birlikte kök ile saplar arasındaki beyaz ve etli gövdeyi oluşturur. Çeşitlere göre yerfıstığı tohumlarının rengi, şekli ve iriliği gibi morfolojik özellikleri ile kimyasal içerikleri değişiklik gösterebilir. Tohum renkleri açık pembe, pembe, açık kırmızı, kırmızı, beyaz, mor, kahverengi renklerinde veya bunların farklı tonlarında olabilirler. Genellikle açık pembe veya açık kırmızı rengindedirler. Tohum şekilleri ise silindirik veya yuvarlak olabilir. Tohum uzunluğu 9-24 mm ve eni ise 6-14 mm arasındadır. Genellikle koyu renkli tohumlar proteince daha zengin olup, açık renkli tohumlar ise yağca daha zengindir. İçerik bakımından ise tohumlar yapılarında % 45-56 oranında yağ ve % 22-30 oranında protein (Savage ve Keenan 1994) ile birlikte mineraller, vitaminler, antioksidanlar (Bishi vd. 2015) ve birçok biyoaktif bileşen (Francisco ve Resurreccion 2008) gibi sağlıklı besinler içerir. Bu nedenle yerfıstığı tohumları çoğunlukla fıstık yağı ve fıstık ezmesi üretiminde değerlendirilen bir üründür (Norden 1980). Dünyada kızartma yağı olarak tercih edilmesinin sebebi ise yağının yüksek tutuşma ve yanma

sıcaklığına sahip olmasıdır. Yerfıstığı yağı aynı zamanda yüksek oranda doymamış yağ asitlerini içermekte (oleik asit % 40-65 arasında ve linoleik asit % 20-40) ve yağında bulundurduğu antioksidanlar uzun raf ömrüne sahip olmasını sağlamaktadır. Yağı çıkarıldıktan sonra geriye kalan küspe ise çok değerli bir yem katkı maddesidir ve yapısında % 45 ham protein, % 24 azotsuz öz maddeler ve % 5,5 madensel maddeler bulundurmaktadır. Ayrıca bazı ülkelerde yerfıstığının toprak üstü aksamı yeşil yem olarak hayvanlara yedirilir (Wan 2003). Kurutularak balya yapılıp kışın hayvan yemi olarak da kullanılır. Yerfıstığından elde edilen ürünün 2-2,5 katı kadar kuru ot verimi elde edilir. Bu kuru otta % 11 protein, % 5 yağ, % 22 ham selüloz, % 42 azotsuz öz maddeler, % 10 kül ve % 10 su bulundurur. Bu özellikleri yerfıstığının hem ulusal hem de küresel pazarlarda ciddi değer görmesine neden olmaktadır (Pandey vd. 2012).

Tropikal ve subtropikal bölgelerde yetiştirilen yerfıstığı bitkisinin üretiminin % 53'ü yemeklik yağ, % 32'si yerfıstığı ezmesi ve çerez gibi gıda amaçlı, geri kalan % 15'i ise hayvan yemi olarak kullanılmaktadır (Liao ve Holbrook 2007). Yerfıstığı, 2016 yılında dünyada tek yıllık yağ bitkileri arasında soya, kolza ve ayçiçeğinden sonra 27.66 milyon ha alanda 43.9 milyon tonluk üretim değeri ile en fazla ekiliş alanına sahip dördüncü yağlı tohum bitkisidir (FAO 2016). Bu üretimin % 90'dan fazlasını Asya ve Afrika ülkeleri gerçekleştirilmektedir. Hindistan alan bakımından en fazla yerfıstığı ekilen ülke olmasına rağmen, Çin yaklaşık 17 milyon tonluk üretim ile dünya lideridir (FAO 2016). Bunun nedeni ise Çin'de polietilen film malçlama yöntemiyle yerfıstığı üretiminin yapılmasıdır (Wan 2003). Afrika kıtası yerfıstığı üretiminde önemli bir yere sahip olmasına rağmen, çeşitli nedenlerden dolayı birçok ülkede verim miktarları dekara yaklaşık 90 kg'dır (FAO 2016). Orta ve Güney Amerika bölgeleri ise toplam üretimin yaklaşık % 3-4'ünü oluşturmaktadır ancak bu bölgelerde dekara alınan verim miktarı 200 kg'ın üzerindedir (Liao ve Holbrook 2007). Türkiye ise 33,32 bin ha alanda 164 bin tonluk üretim değeri ile dünya yerfıstığı üretiminin ancak % 0,37 gibi küçük bir dilimini karşılamaktadır (FAO 2016).

Yerfıstığı üretimini olumsuz yönde etkileyen birçok biyotik ve abiyotik stres faktörü vardır. Bitkinin su ihtiyacının karşılanamaması, asidik karakterli topraklardaki düşük fosfor, kalkerli topraklardaki demir yetersizliği gibi faktörler yerfıstığında en çok görülen abiyotik stres koşullarıdır. Biyotik faktörler içerisinde özellikle fungal kökenli patojenler (pas, erken yaprak beneklenmesi, geç yaprak beneklenmesi, sap çürüklüğü, beyaz sap çürüklüğü, kök boğazı çürüklüğü), virüs, bakteriyel kökenli hastalıklar ile nematodlar en fazla hasar oluşturan etmenlerdir (Dwivedi vd. 2003). Tohumlarının toprakla olan etkileşimi nedeniyle toprak kaynaklı patojenlerin neden olduğu hastalıklar yerfıstığı üretimini tehdit etmektedir (Thiessen ve Woodward 2012). Bu hastalıklardan biri olan sap çürüklüğü hastalığı, vermiş olduğu zarar nedeniyle yerfıstığından istenilen verimin alınamamasına neden olmaktadır. Çoğunlukla Güney Asya ve Güney Amerika bölgelerinde görülen ve ülkemizde de rastlanan bu hastalık sıcak havalarda ve nemli koşullarda gelişir. Yerfıstığı dâhil yaklaşık 500 bitki türünü enfekte eden ve kök ve sap çürüklüğüne sebep olan toprak kökenli fungal bir patojen olan *Sclerotium rolfsii* birçok sıcak ve nemli bölgede bitkisel üretim üzerinde önemli olumsuz etkilere sahiptir. Birçok mahsul üzerinde (soya fasulyesi, pancar, vs) ekonomik kayıplara neden olan *Sclerotium rolfsii* patojeni *Sclerotium* çürüklüğü veya beyaz küf olarak da bilinir. *Sclerotium rolfsii*, ABD'nin yanı sıra Hindistan, Bolivya, Çin, Mısır, Tayvan ve Tayland'da ciddi verim kayıplarına neden olmaktadır. Bu fungus nedeniyle fıstıkta verim kaybı % 10 ile % 40

arasında olmakla birlikte, ağır istila edilmiş alanlarda % 80'in üzerinde verim kayıpları oluşabilmektedir (Bowen vd. 1992; Mehan ve McDonald 1994). Etmen aynı zamanda fıstık kapsüllerinin hem kuru ağırlığında hem de tane yağ içeriğinde azalma gibi dolaylı kayıplara da neden olmakla birlikte, tohum ve yem kalitesini de düşürmektedir. Toprakta yaygın şekilde bulunan *Sclerotium rolfsii* lentil ve stomalardan bitkiye giriş yapar (Kumer vd. 2013). Enfekte olan bitkilerin köküne, kök bölgesine ve kapsüllerine bulaşır (Brewster 2001). *Sklerotia,* enfekte olmuş bitki kısımlarında oluşur ve enfeksiyon ilerledikçe yapraklar sararmaya başlar ve ardından solgunluk ve ölümle sonuçlanır (Akgül vd. 2011). Hastalığın ortaya çıkışı ise çimlenmeden 30-45 gün sonra yağışların düşük ve düzensiz dağılımında meydana gelmektedir. Hastalık özellikle kumlu, aşırı azotlu gübre uygulanmış, organik maddece yüksek olan ve fazla rutubetli topraklarda daha çok zarar yapmaktadır. Fungus, bitki aksamının her yerinde etkili olmasına karşın daha çok gövdede lezyonlar gözlenmektedir. Bunun yanı sıra çiçek ve meyvede de hastalık etkilerini görmek mümkündür. Bu hastalık öncelikle dalların sararması ve solması ile kendini belli etmektedir. Daha ileri aşamalarda özellikle yapraklar, dallar ve kapsül sapları (ginefor) koyu kahverengi rengine dönüşür ve bitkilerin dip kısımlarında kül serpilmiş gibi beyazlıklar ortaya çıkar.

Ülkemizin piyasadaki mevcut çeşitleri göz önüne alındığında *Sclerotium rolfsii* hastalığına karşı çeşitlerin hassas olması birim alandan alınan yerfıstığı veriminin azalmasına sebep olmaktadır. Bunun için hastalığa karşı dayanıklı hatların geliştirilmesi gerekmektedir. Klasik metotların yanında moleküler tabanlı ıslah çalışmaları dayanıklı tiplerin geliştirilmesi açısından süreci oldukça kısaltmaktadır. Günümüzde yoğun şekilde kullanılan moleküler markerler hem ıslah sürecini hızlandırmada hem de kesin sonuç alma konusunda büyük fayda sağlamaktadır. Ülkemizde yerfıstığında hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılık bakımından klasik ıslah yöntemlerinin ya da moleküler araçlarının kullanıldığı çalışma sayısı oldukça düşüktür. Bu durum araştırmacıların sayısının yetersiz olması, yerfıstığının belli bölgelerde yetişmesi ve ülkemizin sahip olduğu yerfıstığı varyasyonlarının çok dar olmasından dolayı kaynaklanmaktadır. Marker destekli çalışmalar geleneksel yöntemlerden daha hızlı olsa da, sadece sınırlı sayıda çalışma olduğu için yeterli bilgilere ulaşılamamaktadır.

Bazı çalışmalar ile hem tarla hem de sera koşullarında çeşitli yerfıstığı genotiplerinin sap çürüklüğüne karşı dayanıklılık ve toleransları değerlendirilmiştir (Branch ve Csinos 1987; Besler vd. 1997; Thirumalaisamy vd. 2014; Eslami vd. 2015; Bera vd. 2016a). Bu nedenle tarla koşullarında farklı genetik materyallerin taranması, gerçekten dayanıklı ve toleranslı genotipleri bulmak adına önemli bir yöntemdir. Sunulan bu yüksek lisans tez çalışmasında, içerisinde değişik ülkelerden orijin alan, 121 genotipten oluşan yerfıstığı koleksiyonu ve *Arachis* cinsine ait beş yabani tür (*A. diogoi, A. ipaensis, A. botizocoi, A. duranensis* ve *A. cordenosii*) ayrıntılı olarak *Sclerotium rolfsii'*ye karşı dayanıklılık bakımından ele alınmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

Shew vd. (1987) sahip oldukları üç virginia tipi yerfıstığı genotipini tarla, mikroplot ve sera koşullarında sap çürüklüğü hastalığına dayanıklılık bakımından değerlendirmişlerdir. Genotiplerin farklı kanopiye sahip olduğu belirtilirken, NC Ac 18416 çeşidinin sera koşullarında hastalığa karşı kısmi dayanıklılık gösterdiği ifade edilmiştir. Mikroplotlarda yürütülen denemede ise sclerotiların genotipler üzerinde farklı oranlarda geliştiği ayrıca belirtilmiştir.

Branch vd. (1987) 1983-1985 yıllarında 16 adet yerfıstığı çeşidinin doğal epidemi altında *Sclerotium rolfsii*'ye karşı dayanımını test etmek için bir çalışma ele almışlardır. Çalışmada Valencia tipi yerfıstığı çeşitlerinin Spanish, Runner veya Virginia tiplerine göre önemli derecede daha hassas olduğu rapor edilmiştir. Toalson, Tifrun, Pronto ve Sunbelt Runner çeşitleri hastalığa en dayanıklı çeşitler olarak belirlenirken, Early Bunch, Tifrun, Sunbelt Runner, Florigiant, NC 7 ve GK 3 en yüksek verim değerlerine sahip olarak bulunmuştur. Çeşitlerin düşük hastalık oranı ve yüksek verim potansiyeline göre değerlendirilmesi sap çürüklüğünün kontrolü için faydalı bir yaklaşım olduğu ayrıca ifade edilmiştir.

Şengül vd. (1995) yerfıstığında sap çürüklüğü (*Sclerotium rolfsii Sacc.*) hastalığına karşı yapılan solarizasyon, yabancı ot kompost ve solarizasyon+yabancı ot kompost uygulamalarının topraktaki aktinomiset popülasyonu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Eylül ve Ekim aylarında aktinomiset popülâsyonunu bütün uygulamalarda kontrole oranla yüksek bulmuşlardır. Aktinomiset popülasyonu solarizasyon+yabancı ot kompost uygulamasında en iyi kolonizasyonu göstermiştir. Aktinomiset izolatları ikili kültürde *Sclerotium rolfsii*'ye karşı antagonistik etki göstermiş ve 18 izolat 3 cm'nin üzerinde inhibasyon oluşturmuştur. *İn vitro* koşullarda 3 cm'nin üzerinde inhibasyon oluşturan izolatlardan 11 tanesi saksı denemesinde araştırılmış ve bunlardan Ac-11 ile Ac-19 izolatlarının *S. rolfsii* gelişimini % 75 oranında engellediği bildirilmiştir.

Grichar vd. (1995) fungusitlerin *Sclerotium rolfsii*'nin neden olduğu sap çürüklüğü hastalığı üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. 1989-1992 yılları arasında Lavaca ve Frio eyaletlerinde *fluazinam*, *flutolanil*, *tebuconazole*, MON 24 000 ve SAN 619 fungisitlerinin etkinliklerin değerlendirildiği çalışmada MON 24 000 ve *tebuconazole* fungisitlerinin sap çürüklüğünün enfeksiyonlarını azaltmada etkili olduğu belirtilmiştir.

Shokes vd. (1996) yer fıstığında sap çürüklüğü etmenini inoküle etmede en etkili metodu tespit etmek için 1994 yılında 4 sera denemesi ve bir tarla denemesi yürütmüşlerdir. Bu amaçla 20 cm genişliğindeki saksılarda yetiştirilen Florunner çeşidine, ekimden 14 gün sonra inokülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Tarla denemesindeki bitkiler 2,7 m uzunluğundaki 0,9 m genişliğindeki parsellerde yetiştirilmiş ve çıkıştan sonra her sırada 11 bitki olacak şekilde seyreltilmiş ve inokülasyon yapılacak bitkiler ekimden 48 gün sonra etiketlenmiştir. Çalışmada a) ana gövdenin çıkış noktasına koyulan 1 cm çapındaki agar disk içerisinde *Sclerotium* çimlendirilerek, b) serada ya da tarla denemesinde parsellerin merkez noktasında yine ana gövdenin çıkış noktası üzerine steril edilmiş yulaf tohumu üzerinde yetiştirilen 6 farklı izolatın karışık miselleriyle, c) ana gövdenin çıkış noktasına içerisinde misel

yetiştirilmiş 2-3 mL'lik PDA bulamacı eklenmesiyle, d) ana gövdenin çıkış noktasının içine patates dekstroz sıvı besi yeri eklenmiş ve misellerin kürdan yardımıyla zemin üzerine dağıtılmasıyla, e) d tekniğinde olduğu gibi ana gövdenin çıkış noktasına yakın olarak misellerin kürdanla toprağa bulaştırılmasıyla, f) ana gövdenin çıkış noktasının etrafına üzerinde miselyum olan patates dekstroz sıvı besin yeri ile bulaştırılmış mandalların sıkıştırılmasıyla olmak üzere 6 farklı inokülasyon metodu uygulanmıştır. Agar disk metodu (a) ve mandallama metodu (f) bütün denemelerde de en etkili metodlar olarak bulunmuştur. Yulaf inokulüm tekniği (b) ise bu iki metoda nazaran biraz daha etkisiz bulunmuştur ancak bu metodun da birden fazla izolata ait miseller inoküle edilebildiğinde geniş alanlarda yapılan arazi çalışmalarında kullanılabileceği bildirilmiştir. a ve f metodları ise tek bitki inokülasyonunda etkili olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir. Buna karşın c, d ve e teknikleri ise diğer tekniklere nazaran oldukça az hastalık üretmişlerdir.

Bowen vd. (1997) Alabama'daki çiftçilerin arazilerinde hastalık kontrolünü sağlamak ve yerfıstığında verimi en üst düzeye çıkarmak için *Tebuconazole* fungisitini uygulamışlardır. Dört farklı düzeyde uygulanan fungisit ile tarlalarda hastalık ve tohum verimleri gözlemlenmiştir. Verimler 3 yıllık çalışma boyunca sekiz lokasyonda 1.918 ile 6.891 kg/ha arasında değişirken ve ortalama 4.319 kg/ha olarak ölçülmüştür. Yerfıstığı erken ve geç yaprak lekelerinin (*Cercospora arachidicola* ve *Cercosporidium acutatum*) ve sap çürüklüğünün (*Sclerotium rolfsii*) görülme sıklığı, *tebuconazole* uygulamalarının sayısı ile ters orantılı iken, verim doğrudan *tebuconazole* uygulamalarının sayısı ile ilişkili olarak bulunmuştur. Hiç fungisit uygulanmayan arazide verim 3.609 kg/ha olarak belirlenirken en yüksek dozda 4.868 kg/ha verim alınmıştır.

Besler vd. (1997) 8 Teksas ve 1 Georgia ıslah hattını ve Burkina Faso'dan temin edilen 4 aksesyon, 6 Runner ve 2 Spanish tipi çeşit olmak üzere 21 yerfıstığı genotipini 3 yıl süreyle sulu tarla şartlarında *Sclerotium rolfsii* Sacc.'ye dayanıklılık ve verim yönüyle karşılaştırmışlardır. Spanish tipi Tamspan 90 çeşidi ve Runner tipi TX896100 ıslah hattı 3 yıl boyunca hastalığa en yüksek düzeyde dayanıklılık göstermiştir. En yüksek verime sahip olan Okrun çeşidi 4 ıslah hattından da yüksek verime sahip olarak bulunmuştur. Genel olarak, Afrika orijinli aksesyonların düşük verime sahip olduğu ve hastalığa hassas olduğu rapor edilmiştir.

Shokes vd. (1998) agar disk tekniği kullanarak yerfıstığında sap çürüklüğüne karşı 3 yıl boyunca 2 lokasyonda 6 farklı test yürütmüşlerdir. Çalışmada 4 ticari çeşidin olduğu toplamda 11 genetik materyal hastalığa dayanıklılık bakımından 0-5 skalası ile değerlendirilmiştir. Kullanılan genetik materyallerden Flourunner çok hassas, Southern runner kısmi dayanıklı, Early Bunch ise Southern Runner'a göre biraz daha dayanıklı ve Marc I ise Southern Runner'a göre biraz daha hassas reaksiyona sahip olarak karakterize edilmiştir. UF91108 numaralı runner hattı ve F79/4-6-2-1-1-Z1, F79/4-6-2-1-1-Z16 ve F84/49-2-2 virginia hatları benzer dayanıklılık seviyelerine sahip olarak bulunmuştur. Çalışma sonucunda agar disk tekniğinin ıslah hatlarında sap çürüklüğü hastalığına karşı tarla şartlarında yürütülen ıslah çalışmalarında etkin bir şekilde kullanıldığı rapor edilmiştir. Aynı zamanda bütün testlerde iyi derecede dayanıma sahip olarak belirlenen hatların çeşit geliştirme programlarında dayanıklılık kaynağı olarak kullanılabileceği vurgulanmıştır.

Branch vd. (1999) yerfıstığı popülâsyonlarını sap çürüklüğüne karşı değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar toprak kaynaklı bu hastalığa dayanıklı çeşitleri belirlemek amacıyla bir çalışma ele almışlardır. Çalışmada tarama sonucunda 'Toalson' ve 'Southern Runner', çeşitleri sap çürüklüğüne kısmı dayanıklılık gösterirlen "Florunner" ve "Sunbelt Runner" çeşitleri ise hassas olarak bildirmişlerdir. Bu iki dayanıklı ve hassas çeşitler daha sonra melezleme programına alınmışlar ve F6-F9 generasyonları 1993-1996 yılları arasında tekerrürlü olarak verim ve hastalık reaksiyonları bakımından değerlendirilmiştir. Çalışmada Sunbelt Runner x Toalson kombinasyonundan üretilen popülasyonlar, Florunner x Southern Runner kombinasyonundan üretilen popülasyonlara kıyasla belirgin şekilde daha yüksek verim ve sap çürüklüğüne dayanıklı olarak belirlenmiştir.

Ferguson vd. (2001) buğday samanı ile malçlama sonrası üç toprak kökenli patojenin yerfıstığındaki etkilerini araştırmışlardır. 1992, 1993 ve 1994 yıllarında Kuzey Carolina eyaletinde yürütülen çalışmada *Cylindrocladium* siyah çürüklük (CBR), *Sclerotinia* yanıklığı ve sap çürüklüğü hastalığının etkileri incelenmiştir. Üç patojen (*Cylindrocladium parasiticum, Sclerotium rolfsii* veya *Sclerotinia minor*) NC-7 ve NC-10C çeşitlerinin ekildiği toprağa inoküle edilmiştir. % 80 ile % 90 oranında toprak yüzeyinin buğday samanı ile kaplanmasının ardından 1992'de her 2 haftada bir, 1993 ve 1994'te ise haftalık olarak hastalık skorları toplanmıştır. Çalışma sonucunda *Sclerotium rolfsii* oranının saman ile birlikte arttığı ayrıca belirtilmiştir.

Cilliers vd. (2003) Güney Afrika yerfıstığı yetiştiricilğinde *Sclerotium rolfsii*'nin meydana getirdiği etkileri azaltmak amacıyla birçok strateji denemiştir. Çalışmada difenoconazole fungisiti *Trichoderma harzianum* ile birlikte uygulandığında en uygun mücadele yöntemi olarak belirlenmiştir. Difenoconazole'ün önemli derecede fungusun gelişimi durdurduğu ifade edilmiştir. Aynı zamanda tarlanın işlenmesininde fungus enfeksiyonunu azalttığı ve ürün kalitesini de arttırdığı çalışmada ortaya konmuştur. Düşük ekim aralığınında enfekte olmuş tarlalarda hastalık etkisini arttırdığı da ayrıca yapılan bu geniş kapsamlı çalışmada belirtilmiştir.

Sconyers vd. (2005) yerfıstığında sap çürüklüğü ve domates leke çürüklüğü hastalıklarının oluşmasında bitki ekim sıklığı, inokülasyon tarihi, ve çeşit farklılıklarının etkilerini incelemişlerdir. Sap çürüklüğü hastalığı dikkate alındığında her beş cm'lik sıra aralığının artması ie hastalık etkilerinin azaldığı ifade edilmiştir. Çalışmada kulanılan iki çeşit benzer hassaslık seviyelerine sahip olmasına rağmen farklı büyüme karakterleri çalışmada karşılaştırılmıştır. Ancak iki çeşidin, Florida MDR-98' ve 'Georgia Browne' aynı seviyede dayanıklılığa sahip olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonucunda bitkiler arasında fiziksel boşluğun hastalığın gelişmesinde kritik faktör olduğu ifade edilmiştir.

Karthikeyan vd. (2006) *Trichoderma viride, T. harzianum* and *Pseudomonas fluorescens* türlerine ait izolatların *Sclerotium rolfsii* (Sacc.) üzerindeki inhibe edici etkilerini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada *Trichoderma viride* türüne ait izolat Tv1'in patojen üzerinde % 69.40'lık inhibisyon etkisi olduğu ifade edilirken *P. fluorescens* türüne ait izoaltın %6 4.40'lık bir inhibisyona neden olduğu ifade edilmiştir. Tv1'in sklerotial çimlenme üzerinde yaklaşık % 87'lik bir etki gösterdiği de araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur. Enfekte edilmiş bitkilerde ayrıca peroksidaz ve polifenoloksidaz enzimlerinin daha yüksek aktivitede olduğu da çalışmada ayrıca belirtilmiştir.

Ganesan vd. (2007) *Rhizobium* ve *Trichoderma harzianum* (ITCC-4572) kullanarak yerfıstığında sap çürüklüğü hastalığının etkilerini azaltmayı amaçlamışlardır. Araştırmacılar Hindistan'da yetiştirilen mahsullerin çoğu toprak kaynaklı patojenlere karşı hassas olduğunu ve özellikle yerfıstığında *Sclerotium rolfsii*'nin neden olduğu sap çürüklüğünün en sık görülen hastalık olduğu ifade edilmiştir. Yürütülen bu çalışmada *Rhizobium* ve *Trichoderma harzianum* (ITCC-4572) kombine uygulanması ile sap çürüklüğü hastalığına karşı doğal yollardan mücadele yöntemi araştırılmıştır. Bu doğal mikroorganizmaların uygulanmasının, sap çürüklüğü enfeksiyon oranında başarılı bir şekilde azalamaya neden olduğu ve ayrıca yerfıstığı bitkilerinin büyümesini de teşvik ettiği bildirilmiştir.

Branch ve Culbreath (2013) 2007 ve 2010 yılları arasında Georgia Üniversitesi Tifton kampüsünde fungusit ve insektisit kullanmaksızın yürüttükleri yerfıstığı verim denemesinde çeşitleri biyotik stres faktörlerine karşı test etmişlerdir. Güneydoğu Amerika'da en çok zarar yapan endemik hastalıklar sırasıyla domates lekeli solgunluğu (TSW), *Sclerotium rolfsii* Sacc.'den kaynaklanan sap çürüklüğü ve *Cercospora arachidicola* Hori ve *Cercosporidium personatum* (Berk Curt.) Deighton'dan kaynaklanan erken ve geç yanıklığıdır. En önemli zararlılar da tütün tripsi (*Frankliniella fusca* Hinds) ve patates hortumlu böceği (*Empoasca fabae* Harris)'dir. Tekerrürlü olarak yürütülen tarla denemeleri sonucunda Georgia ıslah hatları ve çeşitleri arasında istatistiki olarak önemli ($p<0.05$) farklılık bulunmuştur. 3 Georgia çeşidi (Georgia-01R, Georgia-05E ve Georgia-10T) denemenin her yılında da domates solgunluk virüsü, sap çürüklüğü, patates hortumlu böceği ve yaprak yanıklığı etkenlerine karşı yüksek dayanım ile beraber en yüksek verimi göstermişlerdir. Georgia-05E, Virginia tipi, orta geççi ve birden fazla böceğe dayanım özelliklerine sahipken Georgia-01R ise runner tipi, geççi ve yine birden fazla böceğe dayanım özelliği ile ön plana çıkmaktadır.

Thirumalaisamy vd. (2014) sahip oldukları 60 genotipi sap çürüklüğü hastalığına dayanıklılık bakımından denemeye almışlardır. İçinde türler arası melezlerin, çeşitlerin ve ıslah hatlarının bulunduğu bu genetik kaynak 2m x 1m x 2m boyutlarındaki özel alanlarda testlenmiştir. Çalışma sonucunda türlerarası melezleme ile elde edilen hat NRCG-CS-319 sap çürüklüğü hastalığına dayanıklı olarak belirlenirken bu hattın bundan sonraki yüksek verimli ve dayanıklı genotiplerin geliştirilmesi ıslah çalışmalarında ebeveyn olarak kullanılabileceği ayrıca ifade edilmiştir.

Eslami vd. (2015) sahip oldukları 20 yerfıstığı genotipini *S. rolfsii*'ye dayanıklılık bakımında değerlendirmişlerdir. 10 konukçu bitkiden 78 izolatın kullanıldığı çalışmada tekerrürlü olarak sera denemesi kurulmuştur. Hastalık skoru çürüme, sararma, ölü bitki sayısı, sklerotia sayısı karakterleri kullanılarak belirlenirken ayrıca etkilenmiş dal yüzeyi oranı ve lezyon uzunluğu karakterleride değerlendirilmiştir. Yapılan çalışma sonrası tüm izolatların fıstık genotipleri üzerinde virulent etki yarattığı ifade edilmiştir. 140 numaralı genotipin ayrıca agro-morfolojik karakterler dikkate alındığında daha dayanıklı olduğu ifade edilmiştir.

Bera vd. (2016a) *Sclerotium rolfsii*'nin neden olduğu sap çürüklüğü hastalığının birçok ülkede yerfıstığı üretimini önemli derecede kısıtladığını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar ele aldıkları tarla çalışmasında iki yabani *Arachis* türünü ve üç F3 hattını % 20 ve % 10'un altında ölüm oranı ile birlikte sap çürüklüğüne dayanıklı olarak bulmuşlardır.

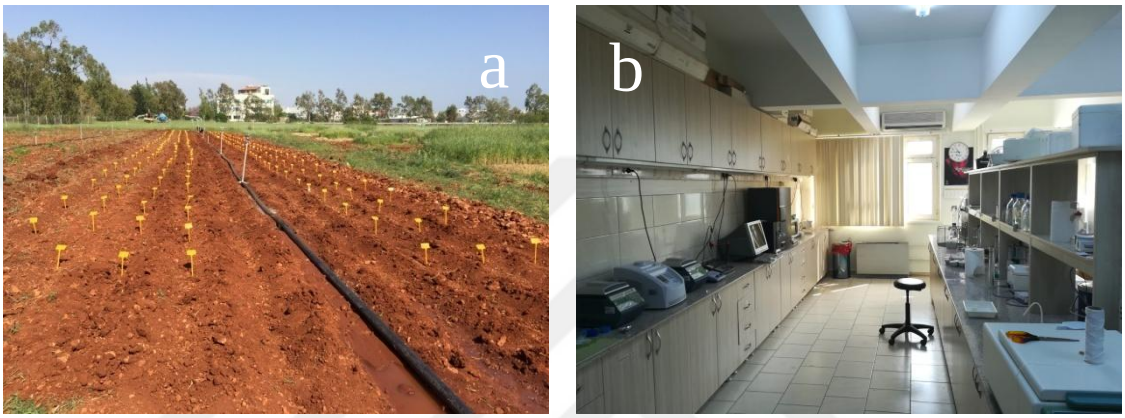
Bera vd. (2016b) sap çürüklüğüne dayanıklılık karakterini haritalamak amacıyla için CS19 ve GG20 melezinden elde edilen F2 popülasyonunu 1980 marker ile taramışlardır. Çalışmada kullanılan primerlerin sadece % 25.5'i polimorfik olarak bulunmuştur. 23 polimorfik primer homozigot ve F1 heterozigot genotipleri başarılı bir şekilde ayırt etmiş ve daha sonra 178 F2 genotipinin genotiplemesinde kullanılmıştır. Bu primerlerden 12'si beklendiği gibi 1:2:1 oranında açılma göstermiştir. 558.74 cM uzunluğunda harita elde edilirken majör QTL bölgesi *qstga01.1*'nin yer fıstığında sap çürüklüğüne dayanıklılık için kullanılabileceği rapor edilmiştir. Çalışmada hem GM2350 ve TC4H02 komşu markerlerinin de bu yeni belirlenen QTL bölgesi ile sıkı bağlı olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma yer fıstığında sap çürüklüğü hastalığına karşı rapor edilen ilk QTL çalışması olarak öne çıkmaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Deneme yeri

Araştırmada kullanılan bitki materyallerinin yetiştirilmesinde Akdeniz Üniversitesi'ne ait deneme alanları kullanılmıştır (Şekil 3.1.a). Deneme yerinin denizden yüksekliği 15 m olup, 36° 53' kuzey enlemi ve 38° 30' doğu boylamında yer almaktadır. Tüm moleküler çalışmalar ise Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Moleküler Bitki Islahı Laboratuarında yapılmıştır (Şekil 3.1.b).



Şekil 3. 1. Deneme yerleri; (a) Tarla denemelerinin yürütüldüğü alan, (b) Moleküler Bitki Islahı Laboratuarı

3.1.2. Deneme yerinin iklim değerleri ve toprak yapısı

Tarla denemesinin kurulduğu bölgede 2017 yılına ait yetiştirme sezonunda Mayıs ayında 21,3 °C, Haziran'da 26,3 °C, Temmuz'da 30,5 °C, Ağustos'ta 29,0 °C ve Eylül'de de 26,9 °C ortalama sıcaklıkları ölçülmüştür. Ortalama nispi nem oranları ise Mayıs ayında % 67,7, Haziran'da % 63,1, Temmuz'da % 57,3, Ağustos'ta % 64,3 ve Eylül'de de % 62,8 olarak ölçülmüştür. Bu yüksek sıcaklık ve yüksek nem tipik bir Akdeniz iklim aralığını karakterize etmektedir. Toprak ise hafif alkali (pH 7,7) olup tınlı kil yapısı göstermiştir.

3.1.3. Genetik materyal

Değişik tip ve özellikteki 121 adet yerfıstığı genotipinden oluşan bitki materyali yüksek lisans tez çalışmasında genetik kaynak olarak kullanılmıştır. Yol vd. (2015) tarafından karakterize edilen koleksiyondan (184 adet genotipten oluşan dünya yerfıstığı mini kor koleksiyonu (Upadhyaya vd. 2002) ve 72 adet ıslah materyali) seçilen bu genetik kaynak tarla koşullarında denemeye alınmıştır. Materyaller hakkında detaylı bilgi Çizelge 3.1'de verilmiştir. Ayrıca sera çalışması ile beş yabani *Arachis* türü (*A. diogoi, A. ipaensis, A. botizocoi, A. duranensis* ve *A. cordenosii*) hastalığa dayanıklılık bakımından değerlendirilmiştir.

Çizelge 3. 1. Tez çalışmasında yer alan genotipler ve ait oldukları taksonomik gruplar

Sıra No.	Aksesyon No.	Alt Tür	Botanik Varyete
1	ACG 1	*fastigiata*	*vulgaris*
2	ACG 14	*fastigiata*	*vulgaris*
3	ACG 15	*fastigiata*	*vulgaris*
4	ACG 18	*hypogaea*	*hypogaea*
5	ACG 21	*hypogaea*	*hypogaea*
6	ACG 23	*fastigiata*	*fastigiata*
7	ACG 24	*fastigiata*	*fastigiata*
8	ACG 25	*fastigiata*	*fastigiata*
9	ACG 31	*fastigiata*	*vulgaris*
10	ACG 32	*fastigiata*	*vulgaris*
11	ACG 33	*hypogaea*	*hypogaea*
12	ACG 34	*hypogaea*	*hypogaea*
13	ACG 37	*hypogaea*	*hypogaea*
14	ACG 39	*hypogaea*	*hypogaea*
15	ACG 49	*fastigiata*	*fastigiata*
16	ACG 50	*fastigiata*	*vulgaris*
17	ACG 52	*hypogaea*	*hypogaea*
18	ACG 54	*hypogaea*	*hypogaea*
19	ACG 56	*hypogaea*	*hypogaea*
20	ACG 58	*hypogaea*	*hypogaea*
21	ACG 59	*fastigiata*	*vulgaris*
22	ACG 62	*fastigiata*	*vulgaris*
23	ACG 66	*fastigiata*	*vulgaris*
24	ACG 68	*hypogaea*	*hypogaea*
25	ACG 71	*fastigiata*	*fastigiata*
26	ACG 72	*fastigiata*	*vulgaris*
27	ACG 73	*hypogaea*	*hypogaea*
28	ACG 78	*hypogaea*	*hypogaea*
29	ACG 81	*fastigiata*	*vulgaris*
30	ACG 82	*hypogaea*	*hypogaea*
31	ACG 83	*hypogaea*	*hypogaea*
32	ACG 84	*fastigiata*	*fastigiata*
33	ACG 87	*fastigiata*	*vulgaris*
34	ACG 88	*fastigiata*	*vulgaris*
35	ACG 90	*fastigiata*	*vulgaris*
36	ACG 92	*fastigiata*	*vulgaris*
37	ACG 93	*hypogaea*	*hypogaea*
38	ACG 95	*hypogaea*	*hypogaea*
39	ACG 101	*hypogaea*	*hypogaea*
40	ACG 103	*fastigiata*	*vulgaris*
41	ACG 105	*fastigiata*	*vulgaris*
42	ACG 106	*hypogaea*	*hypogaea*
43	ACG 112	*fastigiata*	*fastigiata*

Devamı Arkada

Çizelge 3.1' in Devamı

Sıra No.	Aksesyon No.	Alt Tür	Botanik Varyete
44	ACG 114	*hypogaea*	*hypogaea*
45	ACG 116	*fastigiata*	*vulgaris*
46	ACG 118	*fastigiata*	*fastigiata*
47	ACG 120	*fastigiata*	*vulgaris*
48	ACG 124	*hypogaea*	*hypogaea*
49	ACG 125	*hypogaea*	*hypogaea*
50	ACG 128	*fastigiata*	*fastigiata*
51	ACG 131	*fastigiata*	*fastigiata*
52	ACG 133	*fastigiata*	*fastigiata*
53	ACG 136	*fastigiata*	*peruviana*
54	ACG 137	*hypogaea*	*hypogaea*
55	ACG 142	*hypogaea*	*hypogaea*
56	ACG 143	*hypogaea*	*hypogaea*
57	ACG 147	*hypogaea*	*hypogaea*
58	ACG 148	*hypogaea*	*hypogaea*
59	ACG 150	*fastigiata*	*vulgaris*
60	ACG 153	*fastigiata*	*aequatoriana*
61	ACG 155	*fastigiata*	*vulgaris*
62	ACG 156	*fastigiata*	*vulgaris*
63	ACG 157	*fastigiata*	*vulgaris*
64	ACG 158	*fastigiata*	*vulgaris*
65	ACG 160	*hypogaea*	*hypogaea*
66	ACG 161	*fastigiata*	*vulgaris*
67	ACG 163	*hypogaea*	*hypogaea*
68	ACG 164	*hypogaea*	*hypogaea*
69	ACG 165	*fastigiata*	*fastigiata*
70	ACG 168	*hypogaea*	*hypogaea*
71	ACG 178	*fastigiata*	*fastigiata*
72	ACG 179	*hypogaea*	*hypogaea*
73	ACG 180	*fastigiata*	*fastigiata*
74	ACG 181	*fastigiata*	*vulgaris*
75	ACG 183	*hypogaea*	*hypogaea*
76	ACG 185	*fastigiata*	*fastigiata*
77	ACG 188	*hypogaea*	*hypogaea*
78	ACG 190	*hypogaea*	*hypogaea*
79	ACG 191	*hypogaea*	*hypogaea*
80	ACG 192	*hypogaea*	*hypogaea*
81	ACG 193	*hypogaea*	*hypogaea*
82	ACG 194	*hypogaea*	*hypogaea*
83	ACG 195	*hypogaea*	*hypogaea*
84	ACG 196	*hypogaea*	*hypogaea*
85	ACG 197	*hypogaea*	*hypogaea*
86	ACG 199	*hypogaea*	*hypogaea*
87	ACG 200	*hypogaea*	*hypogaea*

Devamı Arkada

Çizelge 3.1' in Devamı

Sıra No.	Aksesyon No.	Alt Tür	Botanik Varyete
88	ACG 201	*hypogaea*	*hypogaea*
89	ACG 202	*hypogaea*	*hypogaea*
90	ACG 204	*hypogaea*	*hypogaea*
91	ACG 205	*hypogaea*	*hypogaea*
92	ACG 209	*hypogaea*	*hypogaea*
93	ACG 210	*hypogaea*	*hypogaea*
94	ACG 211	*hypogaea*	*hypogaea*
95	ACG 215	*hypogaea*	*hypogaea*
96	ACG 217	*hypogaea*	*hypogaea*
97	ACG 218	*hypogaea*	*hypogaea*
98	ACG 221	*hypogaea*	*hypogaea*
99	ACG 224	*hypogaea*	*hypogaea*
100	ACG 225	*hypogaea*	*hypogaea*
101	ACG 226	*hypogaea*	*hypogaea*
102	ACG 227	*hypogaea*	*hypogaea*
103	ACG 228	*hypogaea*	*hypogaea*
104	ACG 229	*hypogaea*	*hypogaea*
105	ACG 230	*hypogaea*	*hypogaea*
106	ACG 231	*hypogaea*	*hypogaea*
107	ACG 232	*hypogaea*	*hypogaea*
108	ACG 235	*fastigiata*	*fastigiata*
109	ACG 236	*fastigiata*	*fastigiata*
110	ACG 237	*fastigiata*	*fastigiata*
111	ACG 238	*fastigiata*	*fastigiata*
112	ACG 239	*fastigiata*	*fastigiata*
113	ACG 240	*fastigiata*	*fastigiata*
114	ACG 241	*fastigiata*	*fastigiata*
115	ACG 247	*fastigiata*	*fastigiata*
116	ACG 248	*fastigiata*	*fastigiata*
117	ACG 250	*fastigiata*	*fastigiata*
118	ACG 251	*fastigiata*	*fastigiata*
119	ACG 254	*fastigiata*	*fastigiata*
120	ACG 255	*fastigiata*	*fastigiata*
121	ACG 256	*fastigiata*	*fastigiata*

3.1.4. Deneme planı

Tarla denemesi tesadüf blokları deneme desenine göre iki tekerrürlü olarak gerçekleşmiştir. Her genotip sıra arası 70 cm ve sıra üzeri 20 cm'lik aralıklarla 3 m uzunluğunda sıralar halinde ekilmiştir. Kontrol bitkileri ise tek sıraya ekilmiştir. Tarladaki bitki atıkları ekimden önce temizlenmiş ve toprağın nemini sağlamak için yağmurlama sistemiyle sulama yapılmıştır. *Arachis* yabani tipleri bakımdaki zorluklar nedeniyle saksılarda değerlendirilmiştir. Her bir saksı 35 cm (çap) ve 52 cm (yükseklik) boyutunda olup toprak ve diğer elementler (torf, perlit ve vermikulit 3:1:1) 1:1 oranında karıştıralarak saksılara aktarılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Tohumların ekilmesi ve bakım işlemleri

Ekim işlemi 03.05.2017 tarihinde yapılmıştır (Şekil 3.2). Ekilen genotiplerde yaklaşık iki hafta sonra çimlenmeler gözlenmiştir. Tüm bitkilerden sağlıklı çıkış elde edilirken bitkilerin ihtiyaç duydukları sulama, gübreleme, ilaçlama gibi bakım işleri (Şekil 3.3) genotiplerin gelişim sürecinde devam etmiştir. Sadece ekimden önce dekara 25 kg DAP gübresi uygulanmıştır. Deneme boyunca ayrıca gübreleme işlemi yapılmamıştır. Bitkilerin çıkışlarından 25 ve 60 gün sonra çapalama işlemi yapılmıştır. Ayrıca çiçeklenme öncesi boğaz doldurma işlemi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3. 2. Ekim işlemine ait görüntüler



Şekil 3. 3. Gübreleme, sulama, yabancı ot temizliği ve ilaçlama işlemleri

3.2.2. Epidemi oluşturulması öncesi yapılan kültürel işlemler

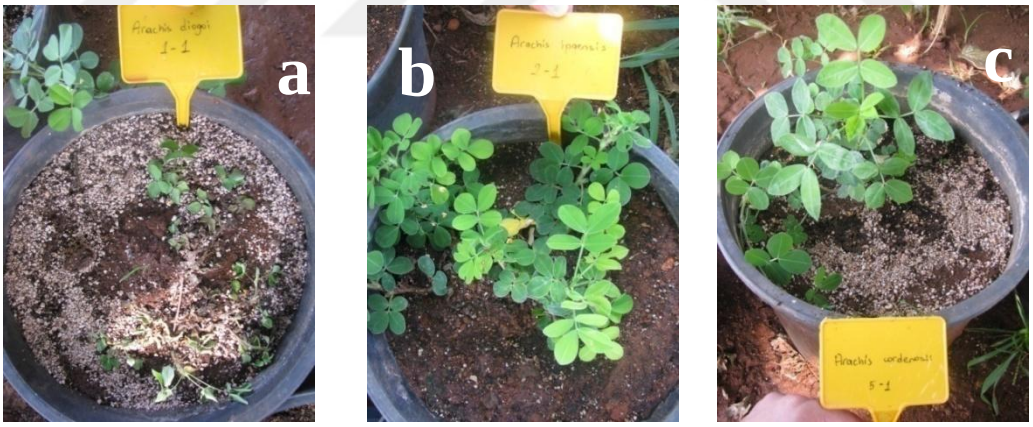
Hastalık bulaştırılmadan önce yeterli olgunluğa gelen bitkiler Tritikale samanı ile çevrelenmiş ve ortamdaki nemin kaybolması önlenmiştir (Şekil 3.4). Daha sonra polietilen sera naylonu ile tüm sıralar kapatılarak küçük sera ortamı yaratılmış ve böylelikle ortamdaki sıcaklık ve nem miktarı yüksek ve sabit tutulmaya çalışılmıştır. 10.07.2017 tarihinde hastalık bulaştırma işlemi başlanmıştır.



Şekil 3. 4. Nemin kaybolmasını engellemek için Tritikale samanı ile bitkilerin çevrelenmesi

3.2.3. Yabani türlerin sera koşullarında değerlendirilmesi

15.05.2017 tarihinde saksılara 4 adet tohum ekilmiş daha sonra seyreltme yapılarak tek bitkiye düşürülmüştür. Yabani *Arachis* türleri sera ortamında yetiştirildiği için tekrardan nemlendirme işlemine gerek kalmamıştır. Fakat diğer bakım işlemleri eksiksiz bir şekilde yapılmıştır. Her bir yabani türe ait görüntüler Şekil 3.5'te yer almaktadır. Bitkilerin ihtiyaç duydukları zamanlarda sulamaları yapılmış ve gübreleme işlemine gerek duyulmamıştır.





Şekil 3. 5. (a) *Arachis diogoi*, (b) *Arachis ipaensis*, (c) *Arachis cardenasii*, (d) *Arachis botizocoi*, (e) *Arachis duranensis*

3.2.4. *S. rolfsii*'nin izolasyonu

S. rolfsii 2016 yılında Antalya'nın Manavgat ilçesi yakınlarında bir tarlada tipik sap çürüklüğü belirtilerini gösteren yerfıstığı bitkilerinden izole edilmiştir. Enfekte olmuş bitki dokuları 2 ile 3 dakika boyunca % 2'lik NaOCI ile dezenfekte edilmiş ve daha sonra 25 mg/l streptomycinsulfate içeren Patates dekstroz agar (PDA) üzerine yerleştirilmiştir. Örnekler 26 ºC'de dört gün boyunca inkübe edilmiştir ve 10 gün sonra dairesel şekilde sklerotia gözlenmiştir. Fungus DNA'sı CTAB metodu ile izole edilmiş olup, PCR koşulları ise White vd. (1990) tarafından ortaya konan protokol dikkate alınarak hazırlanmıştır.

3.2.5. İnokülumun hazırlanması

İnokülum *S. rolfsii* ile kaplanmış yulaf ve buğday tanelerinin (3:1) karışımından hazırlanmıştır. Yulaf ve buğday karışımı gece boyunca su ile muamele edilmiş ve bir gece boyunca da -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Daha sonra bu karışım 2 gün boyunca her iki saatte bir otoklavlanmıştır. Daha sonra *S. rolfsii* bu tohumların aktarıldığı şişelere inoküle edilmiştir. Şişeler steril pamuk tıpaları ile kapatılmış ve folyo ile kaplanmıştır. Miselyumlar tohumlarda 20 ile 22 gün boyunca büyümüş ve tohumları iyice kaplamıştır (Shokes vd. 1996) (Şekil 3.6). PDA üzerinde üç gün boyunca büyütülen *S. rolfsii*'nin miselyumlarından alınan beş agar diski (her biri 1 cm çapında) ile bitkiler inoküle edilmiştir.



Şekil 3. 6. S. rolfsii ile kaplanmış yulaf ve buğday taneleri

3.2.6. İnokülasyon

Bitkilere hastalık bulaştırma işlemine 10.07.2017 tarihinde başlanmış ve bu işlem yaklaşık 10 gün sürmüştür. İnokülasyon işlemi için daha önceden kesilmiş yaklaşık 1 cm çapındaki agar diskleri ana sapa yakın gövde kısmına temas ettirilmiştir. Ayrıca epideminin artması amacıyla yaklaşık 20-22 gün boyunca *Sclerotium rolfsii* ile muamele edilmiş yulaf + buğday tohumu karışımı inokule edilmiş bitkinin ana sapı etrafına ilave edilmiştir. Daha sonra üzerine pamuk koyarak ortamdaki nem korunmuştur. Pamuğun üzeri toprakla kapatılarak patojenin direk güneş ışığına temas etmesi engellenmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3. 7. İnokülasyonu işlemleri

Uygun şartlar altında optimum hastalık gelişmesi için uygun nemi sağlamak amacıyla bitkiler gün batımından sabahın erken saatlerine kadar naylon sera ile kapatılmıştır (Şekil 3.8). Yaklaşık 1 ay kadar bu işlem devam ettirilmiştir. Bu şartlar altında 7-10 gün sonra hastalığın ilk belirtileri yapraklarda solma ve dallarda lekeler şeklinde gözlenmiştir.



Şekil 3. 8. Bitkilerin plastik naylon ile kapatılması

3.2.7. Hastalığın değerlendirilmesi

Bitkilere *S. rolfsii* fungusu inoküle edildikten yaklaşık iki hafta sonra farklı seviyelerde hastalık semptomları gözlenmiştir. İnoküle edilmiş bitkiler hastalığa karşı dayanıklılık bakımından Shokes vd. (1996) tarafından hastalık skorlarına göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3. 2.).

Çizelge 3. 2. Bitkileri skorlamada kullanılan hastalık skoru tablosu

	Skor
Sağlıklı Bitki	1
Sadece Gövdede Lezyon	2
%25 Kadar Bitkideki Lezyonlar	3
%26-50 Arasındaki Lezyonlar	4
%50'nin Üzerindeki Lezyonlar	5

Hastalığın etkisini daha iyi belirtmek amacıyla inoküle olan bütün bitkilerin dal lezyon uzunlukları ve lezyon çapları iki tekerrürlü olarak cm cinsinden ölçülmüştür.

3.2.8. DNA izolasyonu

Bitkilerin yeterli olgunluğa erişmesinin ardından her bir genotipe ait 3 bitkiden birisini kaynaklarımızda saklamak ve diğerini de analizlerde kullanmak için genç yaprak örnekleri alınmış ve bulk edilerek DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Doyle ve Doyle (1990) tarafından geliştirilen CTAB metodu izolasyon işlemi için kullanılmıştır.

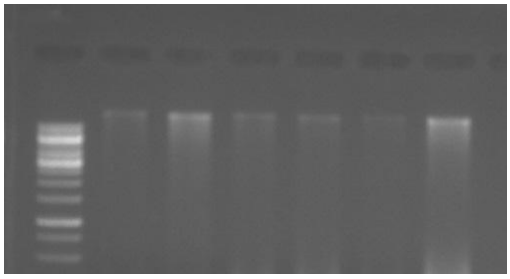
DNA izolasyon protokolü (Doyle ve Doyle 1990);

1. Bulk olarak alınan eşit ağırlıktaki (Her bir bitki için ortalama 0.1 g) yaprak örnekleri 1,5 ml'lik ependorf tüplerin içerisine konulmuş ve üzerine % 0.5

merkaptoetanol içeren CTAB (100 mM Tris-HCl, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, % 2 CTAB) çözeltisinden 500 ml ilave edilmiştir.

2. Daha sonra yapraklar ependorf tüp içerisinde rahatça hareket ettirilebilen plastik ezme çubukları (pestil) ile her tüp için farklı bir tane kullanılarak iyice ezilmiştir.
3. Ezme işleminin ardından DNA'larının sıvıya geçmesini sağlamak amacıyla önceden sıcaklığı 65 ºC'ye ayarlanmış olan su banyosunda örnekler 3 saat inkübasyona bırakılmış ve her 15 dakikada bir hafifçe çalkalanmıştır.
4. İnkübasyondan sonra örneklerden proteinin uzaklaştırılması için 600 µl kloroform-izoamil alkol (24:1) çözeltisi ependorflara konularak 10 saniye kadar hafifçe ters düz edilerek çalkalanmıştır.
5. Bu işlemin ardından örnekler 20 dakika boyunca 14000 rpm hızında santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen örneklerde tüpün alt kısmında kloroform, orta tabakasında protein ve üst fazında ise DNA'nın bulunduğu sıvı olmak üzere üç ayrı faz görülmüştür. Tüpün içerisinde bulunan süpernatant kısım (üst faz) 1.5 ml'lik temiz tüplere alınmıştır (yaklaşık 300 µl). Bu safha daha temiz DNA izolasyonu için bir kez daha tekrarlanmış ve ikinci tekrarda yeni tüplere yaklaşık 150 µl üst faz çekilmiştir.
6. Bu faz içerisindeki DNA'nın çökmesi için üzerine 500 µl hacimde -20 ºC'de bulunan soğuk izoproponal konulup 10 saniye kadar hafifçe ters düz edilerek çalkalanmış ve DNA'nın daha iyi çökmesini sağlamak için 1 gece -20 ºC'de bekletilmiştir.
7. -20 ºC'den alınan örnekler 14000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir.
8. Bu işlemin sonunda tüplerin dibinde pelet oluştuğu gözlenmiştir. Pelet yerinden oynatılmadan tüpün içerisindeki sıvı boşaltılmış ve pelet üzerine -20 ºC'de bulunan % 70'lik etanolden 300 µl konularak 14000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj yapılmıştır. Bu işlem bir kez daha tekrarlandıktan sonra santrifüj edilen tüplerin dibindeki pelete zarar vermeden sıvılar dikkatlice boşaltılmıştır.
9. Pelet içeren tüpler ters çevrilmiş ve 30- 40 dakika boyunca ağzı açık vaziyette kurumaya bırakılmıştır.
10. Kuruma işleminin sonunda tüplerin içerisine 150 µl saf su ilave edilmiş ve DNA'ların sıvıya geçmesi için örnekler +4 ºC'de bir gece bekletilmiştir. Daha sonrasında ise bozulmamaları için -20 ºC'de saklanmıştır.

DNA izolasyonu yapılan örneklerin DNA kalitelerine bakmak amacı ile her bir bitkiden elde edilen 1 µl hacminde DNA, 1 µl yükleme boyası ile karıştırılarak % 1'lik agaroz jele yüklenmiştir. Elektroforez cihazında 65 voltta 15 dakika koşan örnekler ultraviyole ışık altında görüntülenmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3. 9. Genotiplerin bir bölümüne ait izolasyon sonrası agaroz jel görüntüsü

3.2.9. Moleküler analiz

Yerfıstığı koleksiyonundaki genotiplerin sap çürüklüğüne dayanıklılığı moleküler yöntemlerle taranmıştır. Bu amaçla her bir genotipin DNA örneği ve GM2350 markerine ait primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) analizleri yapılmıştır. PCR reaksiyonu için: 1,5 µl 10x PCR buffer, 1,5 mM dNTPs mix, 1.25 mM $MgCl_2$, 0,2 µM her bir primer, 8,25 mM su, 1 µl genomik DNA kalıbı ve Milli-Qwater (yaklaşık 10 µl) kullanılmıştır. Sap çürüklüğü dayanıklılığı ile ilişkili marker GM2350 (forward primer 5′GACTGTGTGGTTGGTGGTTTT3′; reverse primer: 5′CTCCTTGACCTCCTGGAGAAT3′) Bera vd. (2016a) tarafından geliştirilmiştir. SSR markerinin amplifikasyonu denatürasyon için her biri 95 °C'de her biri 30 saniye 30 döngü ile 5 dakika boyunca, annealing için 54 °C'de 30 saniye, extension aşaması için 72 °C'de 30 saniye, son extension için ise 72 °C'de 10 dakika koşulları altında PCR cihazında (Bioneer, MyGenie) gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri ise 1xTBE buffer kullanılarak hazırlanmış % 2 agaroz jelde UV ışığı altında gözlenmiştir. Amplifiye edilmiş ürünlerin yüksek çözünürlüklü görüntülenmesi için ayrıca Fragment Analyzer™ (Advanced Analytical Technologies GmbH, Heidelberg, Almanya)'da kullanılmıştır. Çözeltilerin hazırlanması ve standartlaştırılması için sırasıyla DNF-900 kiti ve 35-500 bp marker kullanılmıştır. Analizden sonra biyo görüntüleme için PROSize 2.0 yazılımı (versiyon 1.2.1.1) (Advanced Analytical Technologies, AMES, IA, ABD) kullanılmıştır. 175 ve 180 bp'de amplifiye edilen bantlar sırasıyla dayanıklı ve hassas olarak skorlanmıştır.

3.2.10. İstatiksel analiz

Lezyon uzunluğu, lezyon alanı, hastalık skoru ve verim karakterleri istastistiki analiz yürütülmüştür. Bu özellikler için ortalamalar, SAS 9.3 (SAS Institute 2011) kullanılarak 0.05 ve 0.01 seviyelerinde asgari önemli fark (LSD) testi ile karşılaştırılmıştır. Enfekte ve kontrol parsellerli için kapsül verimi *t-testi* kullanılarak karşılaştırılmıştır. Verim değerleri için parselden toplanan kapsüllerin ağırlığı parselin alanına bölünmüş ve daha sonra hektara çevrilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmada kullanmış olduğumuz *S. rolfsii*'yi doğrulamak amacıyla hem morfolojik hem de moleküler çalışmalar ele alınmıştır. Toplanan s*klerotia* başlangıçta beyaz renkte olup daha sonra zamanla kahverengi, koyu kahverengi ve siyah rengine dönüşmüştür. Fungus morfolojisine dayanılarak gelişen mikroorganizmanın *S. rolfsii* olduğu tespit edilmiştir (Mordue 1974; Mullen 2001). Daha sonra ITS3 ve ITS4 primerleri (White vd.1990) ile ITS bölgesi çoğaltılmış ve ardından elde edilen dizi NCBI gen bankasına MH189849 kodu ile yüklenmiştir (Şekil 4.1). NCBI'da yapılan BLAST analizi sonrası ise sahip olduğumuz dizinin diğer (örn: MG645251, KY640623 ve KT222910) *S. rolfsii* (teleomorf *Athelia rolfsii*) izolatları ile % 99 benzerlik gösterdiği görülmüştür (Şekil 4.2).

Athelia rolfsii isolate ANT1 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: MH189849.1

GenBank Graphics

```
>MH189849.1 Athelia rolfsii isolate ANT1 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed
spacer 2, partial sequence
TCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCCCTTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTTGAG
AGTCATTAAATTCTCAACCTTACAAATTTTTGTATTTGTCAAGGCTTGGATGTGAGAGTTGCTAGTTAAA
AATATCTGACTGGCTCTCTTTAAAACTATTAGTAGGACATATAGAAATGCGTGCGGTTGGTGTGATAATA
TGTCTACGCCTATACCAAAGGGGATTCTAGCTTGTATGCACTACTTATAAAATCATGCGCATATATCTAG
CATATAAATGCATATAT
```

Şekil 4. 1. Sahip olduğumuz izolatın ITS3/ITS4 primerleri çoğaltıması sonrasında elde edilen dizi

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Athelia rolfsii isolate ANT1 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	549	549	100%	2e-152	100%	MH189849.1
Athelia rolfsii isolate DG92 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, comple	532	532	100%	2e-147	99%	MF776034.1
Athelia rolfsii strain HCRD16077 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequenc	532	532	100%	2e-147	99%	MG645251.1
Athelia rolfsii strain HCRD16076 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequenc	532	532	100%	2e-147	99%	MG645250.1
Athelia rolfsii strain SYHX-2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, comp	532	532	100%	2e-147	99%	MG646006.1
Athelia rolfsii isolate SrCAMKS12 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subu	532	532	100%	2e-147	99%	KY640623.1
Athelia rolfsii strain s20 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit riboson	532	532	100%	2e-147	99%	KU854983.1
Athelia rolfsii isolate SrKK19_1090 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, comple	532	532	100%	2e-147	99%	KU514414.1
Athelia rolfsii isolate SrKK18_1090 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, comple	532	532	100%	2e-147	99%	KU514413.1
Athelia rolfsii strain 13M-0065 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete se	532	532	100%	2e-147	99%	KT222910.1
Athelia rolfsii strain 13M-0086 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete se	532	532	100%	2e-147	99%	KT222909.1
Athelia rolfsii strain 13M-0083 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete se	532	532	100%	2e-147	99%	KT222901.1
Athelia rolfsii strain 13M-0067 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete se	532	532	100%	2e-147	99%	KT222900.1
Athelia rolfsii strain 13M-0081 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete se	532	532	100%	2e-147	99%	KT222899.1
Athelia rolfsii strain 13M-0091 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete se	532	532	100%	2e-147	99%	KT222898.1
Athelia rolfsii isolate KACC47818 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete	532	532	100%	2e-147	99%	KP214032.1

Şekil 4. 2. NCBI'da blast sonrası diğer S. rolfsii izolatları ile benzerlik oranları

Bu yüksek lisans tez çalışmasında *Sclerotium rolfsii*'ye dayanıklı yerfıstığı genotiplerinin belirlenmesi amacıyla 121 farklı genotipten oluşan yerfıstığı koleksiyonu Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'ne ait deneme arazilerinde denemeye alınmıştır. Deneme sonucunda genotiplerin farklı derecelerde hastalığa reaksiyon gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.3). Genotipler arasında lezyon uzunluğu, lezyon çapı ve hastalık skoru için önemli farklılıklar gözlenmiştir (Çizelge 4.1). İstatistiki olarakta bu fark varyans analizi ile ortaya konmuştur (Çizelge 4.2). Az sayıda genotipe sahip var. *aequatoriana* ve var. *peruviana* dışındaki diğer varyeteler farklı derecelerde hastalığa karşı reaksiyon göstermişlerdir. En düşük lezyon uzunluğu ortalaması subsp. *fastigiata* için 2,5 cm olarak gözlenirken ACG 136 ve ACG 254 en düşük değere sahip olan genotipler olarak belirlenmiştir. subsp. *hypogaea* var. *hipogaea*'ya ait olan ACG 34, ACG 39, ACG 217 ve ACG 225 ise 7 cm ve üzeri lezyon uzunluğu ile en yüksek değere sahip olan genotipler olarak kaydedilmiştir. Koleksiyonun ortalama lezyon uzunluğu ise 5,1 cm'dir. Genellikle subsp. *hypogaea*' ya ait genotipler, subsp. *fastigiata*'ya ait genotiplerden daha uzun lezyon uzunluğu göstermiştir. Çalışmada hastalık etkilerini belirlemede kullanılan bir diğer karakter olan lezyon çapı gövdeyi örten beyaz miselyum çapı alınarak belirlenmiştir. Lezyon çapı için ortalama varyasyon tüm koleksiyon için 5-13 cm arasında değişkenlik göstermiştir. Maksimum ve minumum lezyon alanları ACG 39 ve ACG 254 genotiplerinde sırasıyla 13 cm ve 5 cm olarak kaydedilmiştir. Aynı zamanda ACG 136, ACG 161, ACG 163 ve ACG 254 çeşitleride minimum 5 cm olan değerleri almışlardır. Ortalama lezyon çapı ise 7,9 cm olup, subsp. *fastigiata* 7,9 ve subsp. *hypogaea* 7,8 cm'lik ortalama lezyon değerleri göstermişlerdir.

İnoküle olan yerfıstığı genotiplerinin her birine fungus hasarı dikkate alınarak Shokes vd. (1996) tarafından geliştirilen hastalık skoru verilmiştir. Genotipler arasında hastalık skoru 2 ile 5 arasında değişikenlik gösterirken genel ortalaması 4,7 olarak hesaplamıştır. Alt tür temelinde incelendiğinde ise subsp. *hypogaea* ve subsp. *fastigiata* benzer değerler göstermişlerdir. Koleksiyonda hiçbir genotip 1 skorunu alamamıştır. Elde edilen verilere göre sahip olunan koleksiyonun % 92,8'si hassas, % 5,7'si orta derecede hassas ve sadece % 1,6'sı *Sclerotium rolfsii'y*e karşı orta derecede dayanıklı olarak bulunmuştur. En düşük hastalık skoru ise ACG 14 (subsp. *fastigiata* var. *vulgaris*) ve ACG 101 (subsp. *hypogaea* var. *hypogaea)* genotiplerinde gözlenmiştir.

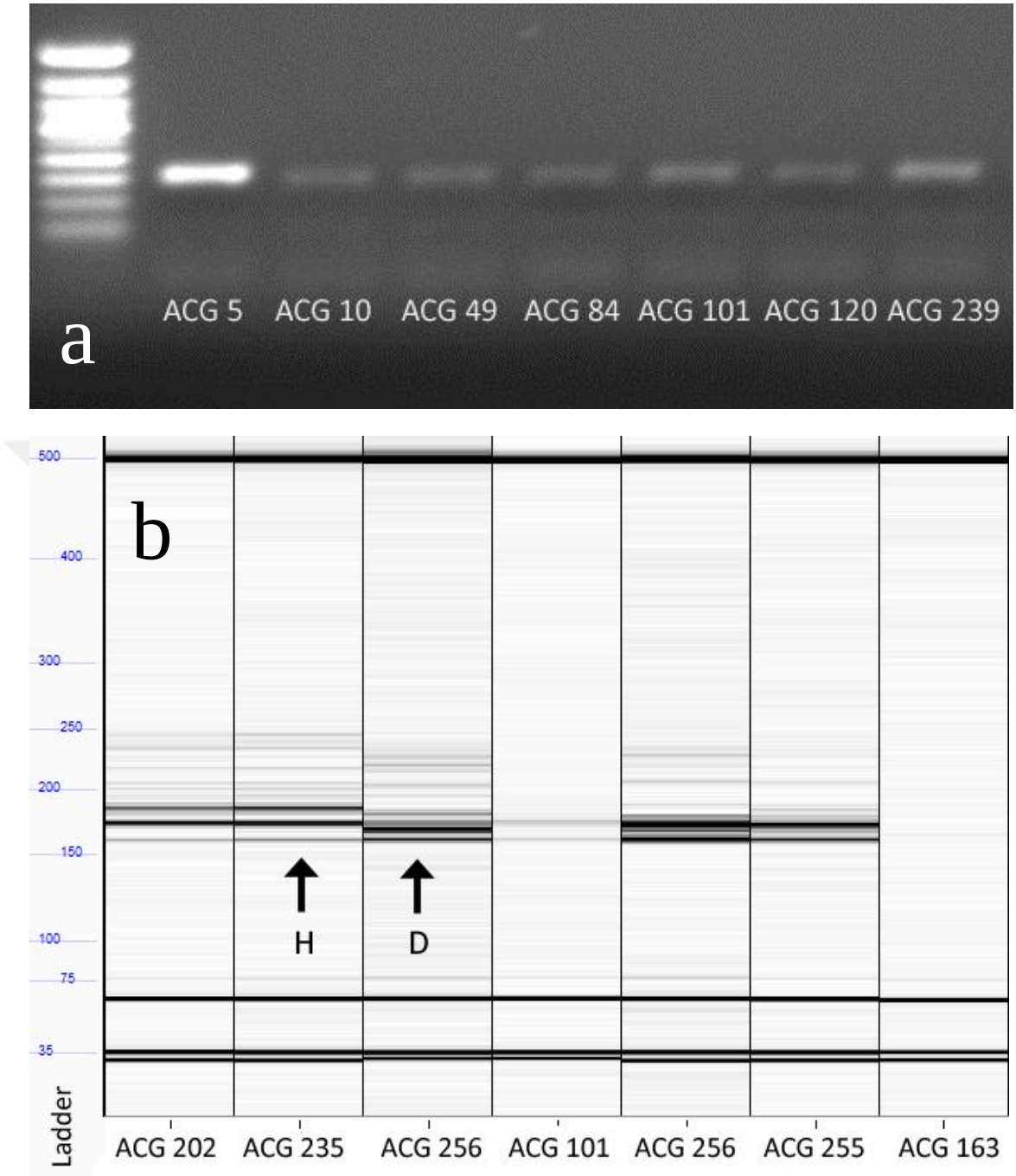
Çizelge 4.1'de gösterilen veriler inoküle olan yerfıstığı genotiplerinin ve kontrol parsellerinin kapsül verim ortalamalarını göstermektedir. İnoküle olan genotiplerin ortalama kapsül verimi 149,6 kg/ha^{-1} olarak hesaplanmıştır. Bunun yanında kontrol parsellerinde ise verim 1473,1 kg/ha^{-1} olarak ölçülmüş olup *t-test*'i inoküle ve kontrol parselleri arasında kapsül veriminde önemli bir fark olduğunu göstermiştir. Şiddetli fungus baskısı ile çoğunluğu subsp. *fastigiata*'ya ait olan 55 genotipte kapsül verimi alınamamıştır. En yüksek verim ortalaması 1077,5 kg/ha^{-1} değeri ile ACG 183 genotipinde gözlenmiştir. Bunu takip eden ikinci en yüksek verim ise aynı sistematik gruptan olan ve 997,5 kg/ha^{-1} değeri ile ACG 101 genotipinde elde edilmiştir. Kontrol parsellerinde aynı genotipler ACG 183 ve ACG 101 sırasıyla 2600,0 kg/ha^{-1} ve 1071,0 kg/ha^{-1} kapsül verimine sahip olarak kaydedilmiştir. Kontrol genotiplerinde en yüksek verim değerini 3600,0 kg/ha^{-1} ile ACG 136 genotipinde gözlenmiştir.



Şekil 4. 3. İnokülasyon sonrası bitkilerde oluşan zararlar

Yabani tipteki *Arachis* türleri sera koşullarında saksılarda sap çürüklüğüne karşı dayanıklılık açısından değerlendirilmiştir. Yabani türlerin hastalık skoru ortalaması 3,7 olarak elde edilirken hiçbir genotip 2'den az hastalık skor puanı alamamıştır (Çizelge 4.4). *A. botizocoi* 2,5 skoru ile en düşük skora sahip olup bunu *A. duranensis* ve *A. cardenasii* takip etmiştir. Diğer türlerin ise hastalık skoru 4'ün üzerinde olarak kaydedilmiştir.

Yerfıstığı koleksiyonunda sap çürüklüğüne karşı dayanıklılık kaynağını belirlemek amacıyla aynı zamanda marker destekli seleksiyon çalışması yürütülmüştür. Sap çürüklüğüne karşı dayanıklık çalışmalarında QTL qstga01.1 dayanıklılıkla ilişkili olarak tanımlanmış ve GM2350 markerinin dayanıklılık seleksiyonunda kullanılabileceği ifade edilmiştir (Bera vd. 2016a). Dayanıklı genotiplerin 175 bp, hassas genotiplerin ise 180 bp'de verdiği ifade edilirken, yaptığımız PCR sonrası agaroz jelde 5 bp'lik farkın ayırt edilmesi oldukça zor olmuştur (Şekil 4.4a). Bu sorunu aşmak adına yüksek çözünürlüklü görüntüleme sağlayan Fragment Analyzer cihazı kullanılmıştır (Şekil 4.4b). Analizler sonrası 52 genotipte dayanıklılık gözlenirken 52 genotipte hassas olarak karakterize edilmiştir. 17 genotipte ve yabani türlerde ise beklenen bölgelerde amplifikasyon elde edilmemiştir (Çizelge 4.3)



Şekil 4. 4. (a) GM2350 markeri ile tarama sonrası bazı genotiplere ait jel görüntüsü **(b)** Seçilen bazı genotiplere ait PCR ürünlerinin Fragment AnalyzerTM cihazında görüntülenmesi. D ve H sırasıyla dayanıklı ve hassas bitki.

Çizelge 4. 1. *Sclerotium rolfsii* inokülasyonu sonrası 121 genotipe ait veriler

Aksesyon No.	ICRISAT Gen bankası (ICG)/Genotip adı	Alt tür	Botanik varyete	Lezyon uzunluğu ortalaması (cm)	Lezyon alanı ortalaması (cm)	Hastalık skoru	Verim ortalaması (inoküle parsel) (kg/ha^{-1})	Verim ortalaması (kontrol parsel) (kg/ha^{-1})
ACG 1	ICG 36	*fastigiata*	*vulgaris*	5	9	5	120.7	1371.4
ACG 14	ICG 434	*fastigiata*	*vulgaris*	5.5	7	2	535.6	1142.9
ACG 15	ICG 442	*fastigiata*	*vulgaris*	6.5	10	4	538.1	1428.6
ACG 18	ICG 721	*hypogaea*	*hypogaea*	5.5	9	5	544.9	2857.1
ACG 21	ICG 928	*hypogaea*	*hypogaea*	5.5	8	5	198.0	1400.0
ACG 23	ICG 1142	*fastigiata*	*fastigiata*	6	8	5	YOK	814.3
ACG 24	ICG 1274	*fastigiata*	*fastigiata*	6	8	5	YOK	714.3
ACG 25	ICG 1399	*fastigiata*	*fastigiata*	5.5	10	5	36.0	885.7
ACG 31	ICG 2019	*fastigiata*	*vulgaris*	5.5	9	5	27.4	2100.0
ACG 32	ICG 2106	*fastigiata*	*vulgaris*	6.5	8	5	97.0	1171.4
ACG 33	ICG 2381	*hypogaea*	*hypogaea*	4.5	7	5	320.7	800.0
ACG 34	ICG 2511	*hypogaea*	*hypogaea*	7.5	10	5	45.6	1242.9
ACG 37	ICG 2773	*hypogaea*	*hypogaea*	4.5	6.5	3	460.2	1220.9
ACG 39	ICG 2857	*hypogaea*	*hypogaea*	8.5	13	5	YOK	1028.6
ACG 49	ICG 3681	*fastigiata*	*fastigiata*	6.5	11	5	YOK	742.9
ACG 50	ICG 3746	*fastigiata*	*vulgaris*	6	10	5	136.8	1271.4
ACG 52	ICG 3992	*hypogaea*	*hypogaea*	6	9	5	YOK	1414.3
ACG 54	ICG 4343	*hypogaea*	*hypogaea*	3.5	7	5	192.5	914.3
ACG 56	ICG 4412	*hypogaea*	*hypogaea*	6.5	10	5	80.9	1614.3
ACG 58	ICG 4538	*hypogaea*	*hypogaea*	6	9	5	82.9	742.9

Devamı Arkada

Çizelge 4.1'in devamı.

Aksesyon No.	ICRISAT Gen bankası (ICG)/Genotip adı	Alt tür	Botanik varyete	Lezyon uzunluğu ortalaması (cm)	Lezyon alanı ortalaması (cm)	Hastalık skoru	Verim ortalaması (inoküle parsel) (kg/ha^{-1})	Verim ortalaması (kontrol parsel) (kg/ha^{-1})
ACG 59	ICG 4543	*fastigiata*	*vulgaris*	3.5	6	5	YOK	1628.6
ACG 62	ICG 4684	*fastigiata*	*vulgaris*	5.5	9	5	27.7	1285.7
ACG 66	ICG 4911	*fastigiata*	*vulgaris*	5.5	10	3	746.6	1057.0
ACG 68	ICG4998	*hypogaea*	*hypogaea*	5.5	8	4	130.4	1000.0
ACG 71	ICG 5221	*fastigiata*	*fastigiata*	4.5	9	5	YOK	2628.6
ACG 72	ICG 5236	*fastigiata*	*vulgaris*	5.5	8	5	121.1	1671.4
ACG 73	ICG 5286	*hypogaea*	*hypogaea*	4.5	6	5	207.4	1642.9
ACG 78	ICG 5662	*hypogaea*	*hypogaea*	6.5	8	5	296.7	1771.4
ACG 81	ICG 5779	*fastigiata*	*vulgaris*	6	9	5	103.6	1514.3
ACG 82	ICG 5827	*hypogaea*	*hypogaea*	5.5	9	5	52.6	1142.9
ACG 83	ICG 5891	*hypogaea*	*hypogaea*	4.5	6	4	455.7	114.3
ACG 84	ICG 6022	*fastigiata*	*fastigiata*	4	7	5	134.0	1371.4
ACG 87	ICG 6263	*fastigiata*	*vulgaris*	6.5	9	5	35.9	1157.1
ACG 88	ICG 6375	*fastigiata*	*vulgaris*	5.5	8.5	5	33.6	1614.3
ACG 90	ICG 6407	*fastigiata*	*vulgaris*	6	10	5	71.9	2242.9
ACG 92	ICG 6654	*fastigiata*	*vulgaris*	5.5	8	5	YOK	1142.9
ACG 93	ICG 6667	*hypogaea*	*hypogaea*	4.5	6	5	YOK	1628.6
ACG 95	ICG 6766	*hypogaea*	*hypogaea*	6.5	9	4	185.0	1042.9
ACG 101	ICG 7153	*hypogaea*	*hypogaea*	6	8	2	997.5	1071.0
ACG 103	ICG 7190	*fastigiata*	*vulgaris*	5.5	8	5	146.9	1657.1

Devamı Arkada

Çizelge 4.1'in devamı.

Aksesyon No.	ICRISAT Gen bankası (ICG)/Genotip adı	Alt tür	Botanik varyete	Lezyon uzunluğu ortalaması (cm)	Lezyon alanı ortalaması (cm)	Hastalık skoru	Verim ortalaması (inoküle parsel) (kg/ha^{-1})	Verim ortalaması (kontrol parsel) (kg/ha^{-1})
ACG 105	ICG 7906	*fastigiata*	*vulgaris*	6.5	9	5	YOK	1200.0
ACG 106	ICG 7963	*hypogaea*	*hypogaea*	6	8	5	YOK	1757.1
ACG 112	ICG 8517	*fastigiata*	*fastigiata*	4.5	7	4	YOK	1671.4
ACG 114	ICG 8760	*hypogaea*	*hypogaea*	4.5	7	5	YOK	1200
ACG 116	ICG 9157	*fastigiata*	*vulgaris*	5.5	8	5	58.1	985.7
ACG 118	ICG 9315	*fastigiata*	*fastigiata*	5.5	9	5	YOK	1857.1
ACG 120	ICG 9507	*fastigiata*	*vulgaris*	4.5	8	5	YOK	2328.6
ACG 124	ICG 9842	*hypogaea*	*hypogaea*	4	7	5	YOK	1142.9
ACG 125	ICG 9905	*hypogaea*	*hypogaea*	4.5	7	4	YOK	1428.6
ACG 128	ICG 10092	*fastigiata*	*fastigiata*	4	8	3	345.0	1042.9
ACG 131	ICG 10474	*fastigiata*	*fastigiata*	5.5	8	5	YOK	1057.1
ACG 133	ICG 10554	*fastigiata*	*fastigiata*	3.5	6	5	YOK	714.3
ACG 136	ICG 11088	*fastigiata*	*peruviana*	2.5	5	4	115.4	3600.0
ACG 137	ICG 11109	*hypogaea*	*hypogaea*	5.5	9	5	38.4	1257.1
ACG 142	ICG 11426	*hypogaea*	*hypogaea*	4	6	5	122.3	857.1
ACG 143	ICG 11457	*hypogaea*	*hypogaea*	5	7	3	516.0	700.0
ACG 147	ICG 11855	*hypogaea*	*hypogaea*	4.5	6	5	237.7	1529.0
ACG 148	ICG 11862	*hypogaea*	*hypogaea*	4.5	6	5	79.8	1200.0
ACG 150	ICG 12189	*fastigiata*	*vulgaris*	5	7	5	804.9	2185.7
ACG 153	ICG 12625	*fastigiata*	*aequatoriana*	3.5	6	3	303.4	1314.3

Devamı Arkada

Çizelge 4.1'in devamı.

Aksesyon No.	ICRISAT Gen bankası (ICG)/Genotip adı	Alt tür	Botanik varyete	Lezyon uzunluğu ortalaması (cm)	Lezyon alanı ortalaması (cm)	Hastalık skoru	Verim ortalaması (inoküle parsel) (kg/ha^{-1})	Verim ortalaması (kontrol parsel) (kg/ha^{-1})
ACG 155	ICG 12682	*fastigiata*	*vulgaris*	5	6.5	5	YOK	871.4
ACG 156	ICG 12697	*fastigiata*	*vulgaris*	6	8	5	96.0	1842.9
ACG 157	ICG 12879	*fastigiata*	*vulgaris*	5.5	9	5	YOK	1085.7
ACG 158	ICG 12921	*fastigiata*	*vulgaris*	5.5	8	5	YOK	1900.0
ACG 160	ICG 13099	*hypogaea*	*hypogaea*	6	7	5	YOK	1800.0
ACG 161	ICG 13491	*fastigiata*	*vulgaris*	4	5	5	252.3	1814.3
ACG 163	ICG 13723	*hypogaea*	*hypogaea*	3.5	5	5	29.3	914.3
ACG 164	ICG 13787	*hypogaea*	*hypogaea*	5	9	5	YOK	1457.1
ACG 165	ICG 13856	*fastigiata*	*fastigiata*	4.5	8	5	YOK	1000.0
ACG 168	ICG 13942	*hypogaea*	*hypogaea*	4.5	8	5	YOK	2171.4
ACG 178	ICG 14630	*fastigiata*	*fastigiata*	5.5	8	5	YOK	1114.3
ACG 179	ICG 14705	*hypogaea*	*hypogaea*	4.5	8	5	YOK	1485.7
ACG 180	ICG 14710	*fastigiata*	*fastigiata*	5.5	7	5	YOK	1514.3
ACG 181	ICG 14985	*fastigiata*	*vulgaris*	3.5	6	5	YOK	971.4
ACG 183	ICG 15190	*hypogaea*	*hypogaea*	3.5	7	3	1077.5	2600.0
ACG 185	ICG 15309	*fastigiata*	*fastigiata*	6.5	8	5	YOK	1385.7
ACG 188	PF-259860	*hypogaea*	*hypogaea*	6	10	4	YOK	1328.6
ACG 190	5015	*hypogaea*	*hypogaea*	5.5	8	5	YOK	2214.3
ACG 191	5026	*hypogaea*	*hypogaea*	6	9	5	YOK	1085.7
ACG 192	5030	*hypogaea*	*hypogaea*	5	8	5	YOK	1642.9

Devamı Arkada

Çizelge 4.1'in devamı.

Aksesyon No.	ICRISAT Gen bankası (ICG)/Genotip adı	Alt tür	Botanik varyete	Lezyon uzunluğu ortalaması (cm)	Lezyon alanı ortalaması (cm)	Hastalık skoru	Verim ortalaması (inoküle parsel) (kg/ha^{-1})	Verim ortalaması (kontrol parsel) (kg/ha^{-1})
ACG 193	5067	*hypogaea*	*hypogaea*	4.5	7	5	YOK	2300.0
ACG 194	88/3	*hypogaea*	*hypogaea*	4.5	7	5	YOK	914.3
ACG 195	Ant-92/1	*hypogaea*	*hypogaea*	6.5	8	5	YOK	1314.3
ACG 196	427-24	*hypogaea*	*hypogaea*	5	7	4	297.5	1014.3
ACG 197	437-3-4(1-2)B-2	*hypogaea*	*hypogaea*	5.5	8	5	170.5	1657.1
ACG 199	70/1145-1/03	*hypogaea*	*hypogaea*	5.5	7	5	YOK	2714.3
ACG 200	75/1073-A	*hypogaea*	*hypogaea*	6	9	5	146.0	1771.4
ACG 201	75/1073-B	*hypogaea*	*hypogaea*	5	8	5	371.4	857.1
ACG 202	Bari-89	*hypogaea*	*hypogaea*	5	9	5	120.9	1071.4
ACG 204	V.Banbim P.	*hypogaea*	*hypogaea*	6	9	5	248.7	2142.9
ACG 205	88 Bocounba	*hypogaea*	*hypogaea*	4.5	8	5	YOK	814.3
ACG 209	Shulamit	*hypogaea*	*hypogaea*	5	8	4	427.1	1228.6
ACG 210	Sunrunner	*hypogaea*	*hypogaea*	4.5	7	5	192.9	1457.1
ACG 211	Florunner	*hypogaea*	*hypogaea*	5	8	4	671.4	2371.4
ACG 215	Kadriye	*hypogaea*	*hypogaea*	6	8	5	215.7	2457.1
ACG 217	Osmaniye Erzin	*hypogaea*	*hypogaea*	7	10	5	YOK	1114.3
ACG 218	Anamur-B	*hypogaea*	*hypogaea*	5.5	8	5	31.4	1000.0
ACG 221	Çom	*hypogaea*	*hypogaea*	5	8	5	YOK	1057.1
ACG 224	GP-NC-343	*hypogaea*	*hypogaea*	4.5	8	5	YOK	1785.7
ACG 225	88488	*hypogaea*	*hypogaea*	7	11	5	189.9	1528.6
ACG 226	88121	*hypogaea*	*hypogaea*	6.5	10	5	145.4	2771.4

Devamı Arkada

30

Çizelge 4.1'in devamı.

Aksesyon No.	ICRISAT Gen bankası (ICG)/Genotip adı	Alt tür	Botanik varyete	Lezyon uzunluğu ortalaması (cm)	Lezyon alanı ortalaması (cm)	Hastalık skoru	Verim ortalaması (inoküle parsel) (kg/ha^{-1})	Verim ortalaması (kontrol parsel) (kg/ha^{-1})
ACG 227	PI-315633	*hypogaea*	*hypogaea*	6	8	5	102.1	1600.0
ACG 228	PI-315621	*hypogaea*	*hypogaea*	5	8	5	YOK	2200.0
ACG 229	Edirne-9p-53	*hypogaea*	*hypogaea*	5	8	5	YOK	1857.1
ACG 230	M-44-A	*hypogaea*	*hypogaea*	5.5	8	5	YOK	1514.3
ACG 231	M-44-B	*hypogaea*	*hypogaea*	4.5	7	5	109.6	2057.1
ACG 232	Anamur-2006	*hypogaea*	*hypogaea*	5	8	3	905.4	1314.3
ACG 235	Florispan	*fastigiata*	*fastigiata*	4.5	7	4	143.8	1771.4
ACG 236	Spanish 191-1	*fastigiata*	*fastigiata*	5	9	5	YOK	1028.6
ACG 237	Spanish 18/38	*fastigiata*	*fastigiata*	6	8	5	YOK	1557.1
ACG 238	Starr	*fastigiata*	*fastigiata*	3.5	6	4	142.5	1600.0
ACG 239	Schwarz	*fastigiata*	*fastigiata*	4.5	8	5	YOK	1928.6
ACG 240	Spancross	*fastigiata*	*fastigiata*	4	7	4	38.2	957.1
ACG 241	PF-161317	*fastigiata*	*fastigiata*	4	6	5	YOK	1400.0
ACG 247	Bayramic	*fastigiata*	*fastigiata*	3	6	5	YOK	1185.7
ACG 248	Comet	*fastigiata*	*fastigiata*	4.5	9	5	88.7	771.4
ACG 250	Tryone Power	*fastigiata*	*fastigiata*	4.5	8	5	YOK	2171.4
ACG 251	96-Avusturalya	*fastigiata*	*fastigiata*	4.5	7	4	324.3	1642.9
ACG 254	Early rumir	*fastigiata*	*fastigiata*	2.5	5	5	YOK	1514.3
ACG 255	Egret	*fastigiata*	*fastigiata*	3	6	5	YOK	957.1
ACG 256	Dixil Anax	*fastigiata*	*fastigiata*	4.5	8.0	5	YOK	1942.9

Devamı Arkada

Çizelge 4. 2. Farklı karakterler için yapılan varyans analiz tablosu

Lezyon Uzunluğu					
VK	SD	KT	KO	F	P
TEKERRÜR	1	1,68289	1,65289	4,68	0,0324
GENOTİP	120	251,7685	2,09807	5,95	0,0001
Hata	120	42,3471	0,3528		
Genel	241	295,7686			

Lezyon Çapı					
VK	SD	KT	KO	F	P
TEKERRÜR	1	0,004132	0,004132	0,09	0,7644
GENOTİP	120	445,314	3,71095	81,3	0,001
Hata	120	5,49586	0,045799		
Genel	241	450,814			

Hastalık Skoru					
VK	SD	KT	KO	F	P
TEKERRÜR	1	2,18595	2,18585	3,11	0,083
GENOTİP	120	269,438	2,245317	3,2	0,0001
Hata	120	84,31405	0,702617		
Genel	241	355,938			

Çizelge 4. 3. Genotiplerin marker ve tarla skorları

GENOTİP ADI	MARKER SKORU	TARLA SKORU	GENOTİP ADI	MARKER SKORU	TARLA SKORU
ACG 1	NA	5	ACG 92	NA	5
ACG 14	NA	2	ACG 93	-	5
ACG 15	NA	4	ACG 95	+	4
ACG 18	NA	5	ACG 101	+	2
ACG 21	NA	5	ACG 103	NA	5
ACG 23	+	5	ACG 105	NA	5
ACG 24	-	5	ACG 106	-	5
ACG 25	NA	5	ACG 112	NA	4
ACG 31	NA	5	ACG 114	+	5
ACG 32	NA	5	ACG 116	+	5
ACG 33	NA	5	ACG 118	-	5
ACG 34	+	5	ACG 120	+	5
ACG 37	NA	3	ACG 124	+	5
ACG 39	-	5	ACG 125	+	4
ACG 49	-	5	ACG 128	NA	3
ACG 50	NA	5	ACG 131	-	5
ACG 52	+	5	ACG 133	-	5
ACG 54	NA	5	ACG 136	-	4
ACG 56	+	5	ACG 137	+	5
ACG 58	+	5	ACG 142	+	5
ACG 59	NA	5	ACG 143	NA	3
ACG 62	NA	5	ACG 147	+	5
ACG 66	+	3	ACG 148	+	5
ACG 68	NA	4	ACG 150	+	5
ACG 71	NA	4	ACG 153	+	3
ACG 72	-	5	ACG 155	-	5
ACG 73	NA	5	ACG 156	+	5
ACG 78	NA	5	ACG 157	NA	5
ACG 81	NA	5	ACG 158	NA	5
ACG 82	-	5	ACG 160	+	5
ACG 83	NA	4	ACG 161	NA	5
ACG 84	+	5	ACG 163	NA	5
ACG 87	NA	5	ACG 164	NA	5
ACG 88	-	5	ACG 165	NA	5
ACG 90	+	5	ACG 168	+	5

Devamı Arkada

Çizelge 4.3’ in devamı.

GENOTİP ADI	MARKER SKORU	TARLA SKORU	GENOTİP ADI	MARKER SKORU	TARLA SKORU
ACG 178	NA	5	ACG 231	+	5
ACG 179	NA	5	ACG 232	NA	3
ACG 180	NA	5	ACG 235	+	4
ACG 181	NA	5	ACG 236	+	5
ACG 183	+	3	ACG 237	NA	5
ACG 185	NA	5	ACG 238	NA	4
ACG 188	NA	4	ACG 239	+	5
ACG 190	NA	5	ACG 240	+	4
ACG 191	NA	5	ACG 241	NA	5
ACG 192	NA	5	ACG 247	+	5
ACG 193	+	5	ACG 248	+	5
ACG 194	NA	5	ACG 250	+	5
ACG 195	+	5	ACG 251	-	4
ACG 196	-	4	ACG 254	+	5
ACG 197	-	5	ACG 255	+	5
ACG 199	NA	5	ACG 256	+	5
ACG 200	NA	5			
ACG 201	+	5			
ACG 202	+	5			
ACG 204	NA	5			
ACG 205	+	5			
ACG 209	+	4			
ACG 210	+	5			
ACG 211	+	4			
ACG 215	+	5			
ACG 217	NA	5			
ACG 218	-	5			
ACG 221	+	5			
ACG 224	+	5			
ACG 225	NA	5			
ACG 226	+	5			
ACG 227	+	5			
ACG 228	+	5			
ACG 229	+	5			
ACG 230	+	5			

Çizelge 4. 3. + Dayanıklılık gösteren markerler, - Hiçbir bant göstermeyenler, NA Hassaslık gösteren markerler

Çizelge 4. 4. Sera koşullarında *Sclerotium rolfsii* inokülasyonu sonrası yabani türlere ait skorlar

Arachis türleri	**Hastalık skoru ortalaması**
Arachis diogoi	5 a*
Arachis ipaensis	4 ab
Arachis botizocoi	2.5 c
Arachis duranensis	3.5 bc
Arachis cardenasii	3.5 bc
Ortalama	3.7

*Aynı harfin takip ettiği sütun içindeki ortalamalar *P=0.05'te* anlamlı farklılık göstermez

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada 121 genotipten oluşan yerfıstığı koleksiyonu tarla koşullarında ve 5 yabani tür sera koşullarında sap çürüklüğüne dayanıklılık bakımından değerlendirilmiştir. Shokes vd. (1996) yerfıstığında hastalık taramasında tarla koşullarında değerlendirmenin araştırma sonucu açısından daha tutarlı olduğunu ifade etmiştir. Çalışmada yerfıstığı genotiplerinin inokulasyonu için agar disk tekniği kullanılmıştır. Bu teknik daha önce tarla koşullarında Shokes vd. (1998) tarafından denemeye alınmış ve sap çürüklüğüne karşı seleksiyonda başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Bitkideki patojen popülasyonunu ve fungus etkisini arttırmak için güneşte kurutulmuş bitki kalıntıları ile birlikte genotiplerin diplerine malçlama yapılmış, ardından plastik bir örtüyle üzeri sera şeklinde kapatılmıştır. İnoküle edilmiş tarlada test edilen 121 adet genotipin 55 adedi *S. rolfsii* hastalığı nedeniyle tamamen ölmüştür. Yerfıstığı genotiplerinin fungal etkilerini görmek için ise hastalık skoru, lezyon uzunluğu ve lezyon çapı karakterleri kullanılmıştır. Genel olarak, düşük hastalık skoruna ve yüksek kapsül verimine sahip genotiplerde lezyon uzunlukları ve lezyon çapları karakteri için minimum değerler ölçülmüştür. Ayrıca bu özellikler Eslami vd. tarafından (2015) sap çürüklüğüne karşı yerfıstığı genotiplerin değerlendirilmesinde kıstas olarak kullanılmıştır. Bu nedenle gelecekteki ıslah programlarında sap çürüklüğüne karşı dayanıklılığı belirlemede bu karakterler seleksiyon kriteri olarak kullanılabilirler.

Hastalığa dayanıklılık ve verim potansiyeli açısından mevcut genotipler arasında önemli farklılıklar görülmüştür. Koleksiyonun yüksek hastalık baskısı altında % 92,8'si hassas olarak karakterize edilirken, 55 adet genotipte kapsül verimi alınamamıştır. Mevcut koleksiyonda çoğu hassas genotip subsp. *hypogeae*'ya ait olmasına rağmen hastalık skorları 2 veya 3 olan genotipler çoğunlukla bu alttürden oluşmuşlardır. Önceki çalışmalar subsp *hypogaea*'ya ait olan genotiplerin *S. rolfsii*'ye karşı daha dayanıklı olduğunu göstermişlerdir (Porter vd. 1982; Branch ve Csinos 1987). Bu çalışmada sadece iki genotip ACG 14 subsp. *fastigiata* var. *vulgaris* ve ACG 101 subsp. *hypogaea* var. *hypogaea* orta derecede dayanıklı olarak tanımlanmıştır. Aynı şekilde, farklı yerfıstığı genetik kaynaklarında da çok az dayanıklı veya kısmen dayanıklı genotipler tespit edilmiştir (Shew vd. 1987; Besler vd. 1997; Thirumalaisamy vd. 2014; Eslami vd. 2015). Bu sonuçlar, dünya genelinde yerfıstığında sap çürüklüğü hastalığına karşı dayanıklılığın sınırlı sayıda olduğunu göstermektedir (Bera vd. 2016a). Çalışmamızda tanımlanan ACG 14 orta derecede dayanıklı olup ayrıca daha önce Yol vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada *Sclerotinia* yanıklığına (*Sclerotinia minor*) karşı da dayanıklı olarak karakterize edilmiştir. Bu genotip bir veya daha fazla patojene karşı dayanıklılık veya tolerans taşıdığı için toprak kaynaklı hastalıklara karşı yerfıstığı ıslah programlarında değerli bir genetik kaynak olarak kullanılabilir. Bu tür dayanıklı veya toleranslı genetik kaynaklar özellikle yoğun fungusit kullanımı olan alanlarda fungusit uygulamalarının sayısını azaltmak için önemli olabilir (Branch ve Culbreath 2013).

Yerfıstığı koleksiyonu kapsül verimi açısından da değerlendirilmiştir. Hastalık skoru 4 veya 5 olan genotiplerin çoğunluğu yıkıcı enfeksiyonlar sebebiyle kapsül oluşturmamıştır. Potansiyel dayanıklı olarak belirlenen ACG 101 genotipinin saplarının üzerinde *S. rolfsii* lezyonları oluşmuş olmasına rağmen kapsül veriminde kontrol denemelerine göre yaklaşık % 97'lik bir benzerlik görülmüştür. Ancak ACG 101 genotipi piyasadaki mevcut çeşitlerin kapsül veriminden oldukça düşük değerlere

sahiptir (Yol vd. 2018). Bu genotipi doğrudan kullanmak yerine ıslah programlarında dayanıklı bir ebeveyn olarak kullanmak daha uygun olabilir.

Tarla çalışmalarına ek olarak, kontrollü şartlar altında sera ortamında beş yabani *Arachis* türü saksılarda değerlendirilmiştir. Sadece tek bir yabani tür (*A. botizocoi),* 3'ün altında skor almış ve sap çürüklüğüne karşı orta derecede dayanıklı olarak karakterize edilmiştir. *A.botizocoi* türü ayrıca yerfıstığında en önemli fungal hastalıklar olan erken ve geç yaprak lekelerine (Stalker 1992) ve paslanmaya (Subrahmanyam vd. 1985) dayanıklı olarak da karakterize edilmiştir. Bu yabani tipin minimum % 46 ölüm oranı ile sap çürüklüğüne hassas olduğu ifade edilmiştir (Bera vd. 2016b). Aynı çalışmada, bir başka yabani tip olan *A. duranansis* sap çürüklüğüne karşı hem hassas hem de orta derecede dayanıklılık göstermiştir. Mevcut çalışmamızda ise *A. duranansis* sap çürüklüğüne karşı hassas olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada, tarla koşullarında yerfıstığı koleksiyonlarının fenotiplendirilmesinde sadece iki genotipin orta derecede dayanıklı olduğu gözlenmiş ve buna rağmen PCR analizleri sonucunda 52 adet genotipin 175 bp uzunluğundaki dayanıklılık markeri taşıdığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar yerfıstığı koleksiyonlarında sap çürüklüğüne dayanıklılık ve mevcut marker arasında bir bağlantı olmadığını göstermektedir. Marker geliştirme sürecinde türler arasında melezlemenin kullanılması geliştirilen markerin mevcut kültür türlerinde etkinliğinin azalmasına neden olmuş olabilir (Bera vd. 2016a). Ayrıca qstga01.1 adlı QTL'de konumlandırılmış GM2350 markerinin toplam fenotipik varyansın sadece % 17.15'ini açıklamış (Bera vd. 2016a) olması, dayanıklılık mekanizmasının yüksek çevresel faktörün etkisi altında olduğunu göstermektedir. Dodia vd. (2016) sap çürüklüğü hastalığına dayanıklılık ile ilişkili markerlerin belirlenmesini amaçlayan bir çalışma yürütmüşler, ancak yerfıstığı hastalığına dayanıklılık ve geliştirilen moleküler markerler arasında bir ilişki bulamamışlardır. Yerfıstığında, sap çürüklüğüne dayanıklılığa yönelik belirlenmiş markerleri tanımlamak için yeni moleküler marker çalışmalarının yürütülmesi gerekmektedir.

Sconyers vd. (2005) yürütmüş oldukları çalışmada, birbirine yakın olarak dikilmiş yerfıstığı bitkilerinde sap çürüklüğü hastalığının şiddetinin daha fazla olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar yerfıstığı bitkilerinde daha düşük hastalık şiddeti için bitkiler arasındaki mesafenin 30 cm'ye (15 cm'ye kıyasla) kadar yapılmasını tavsiye etmişlerdir (Doley ve Jite 2013). Çalışmamızda bitkiler 70 cm sıra arası ve 20 cm sıra üzerine dikilmiştir. Daha geniş sıra aralığı hastalık gelişimi potansiyel olarak önleyebilmesine rağmen, bu sıra aralılığı ticari olarak yetiştirilen yerfıstığı üretimi için düşük verim sebebiyle uygun gözükmemektedir. Tüm bu yönler göz önüne alındığında, dayanıklı ve toleranslı yerfıstığı genotiplerinin bulunması sap çürüklüğü hastalığının yayılmasını engellemek ve yerfıstığı verimini arttırmak için çok önemlidir. Bu mevcut yüksek lisans tez çalışmasında *S. rolfsii*'ye karşı dayanıklılığı belirleyebilmek amacıyla çok yönlü bir yaklaşım kullanılmıştır. Sap çürümesine dayanıklı yerfıstığı genotiplerini tanımlayabilmek adına daha başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR

Bu yüksek lisans tez çalışmasında 121 genotipten oluşan yerfıstığı koleksiyonu *Sclerotium rolfsii*'nin neden olduğu sap çürüklüğüne karşı dayanıklılık bakımından tarla testlerine tabii tutulmuş, ayrıca moleküler marker ile taranarak dayanıklı ve hassas olarak karakterize edilmiştir. Ayrıca 5 adet yabani *Arachis* türü dayanıklılık bakımından değerlendirilmiştir. Bu çalışma ülkemizde ve dünyada önemli bir biyotik stres faktörü olan sap çürüklüğüne karşı yapılan ender çalışmalardan biridir. Yapılan analizler ve değerlendirmeler sonucunda ise;

Sap çürüklüğü hastalığına dayanıklılık bakımından, yoğun hastalık baskısı altında 121 adet yerfıstığı genotipinin % 92,8'si hassas, % 5,7'si orta derecede hassas ve sadece % 1,6'sı *Sclerotium rolfsii*'e karşı orta derecede dayanıklı olduğu bulunmuştur. Genotiplerin hastalık skorları 2 ile 5 arasında değişiklik göstermiş genel ortalaması ise 4,7 olmuştur. Yabani tipteki *Arachis* türlerinin hastalık ortalaması 3.7 olarak ölçülmüştür. Ayrıca genotipler arasında lezyon uzunluğu ve lezyon çapında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Dolayısıyla sadece ülkemiz için değil bu hastalığın görüldüğü tüm bölgelerde kullanılmak üzere farklı botanik varyetelere ait yoğun hastalık baskısı altında orta derece dayanıklılık gösteren yeni genetik kaynaklar ortaya konmuştur. Yapılan bu çalışma yerfıstğı ıslahçıları için oldukça faydalı olacaktır.

7. KAYNAKLAR

Akgül, D., Ozgonen, H. and Erkilic, A. (2011). The effects of seed treatments with fungicides on stem rot caused by *Sclerotium rolfsii* sacc., in peanut. *Pakistan Journal of Botany*, *43*, 2991–2996.

Branch, W. D. and Csinos, A. S. 1987. Evaluation of peanut cultivars resistance to field infection by *Sclerotium rolfsii*. *Plant Disease*, *71*, 268–270.

Branch, W.D. and Brenneman, T.B. 1999. Stem rot disease evaluation of mass-selected peanut populations. *Crop Protection*, 18, 2, 127-130.

Branch, W. D. and Culbreath, A. K. 2013. Yield performance and pest resistance among peanut genotypes when grown without fungicides or insecticides. *Crop Protection*, 52, 22-25.

Bishi, S. K., Kumar, L., Mahatma, M. K., Khatediya, N., Chauhan, S. M. and Misra, J. B. 2015. Quality traits of Indian peanut cultivars and their utility as nutritional and functional food. *Food Chemistry*, *167*, 107–114.

Bowen, K. L., Hagan, A. K. and Weeks, J. R. 1992. Seven years of Sclerotium rolfsii in peanut fields: yield losses and means of minimization. *Plant Disease*, *76*, 982–985.

Bowen, L.,Hagan, A.K. and Weeks, J.R., 1997. Number of tebuconazole applications for maximizing disease control and yield of peanut in growers' fields in Alabama. *APS*, 81-8, 927-931.

Brewster, V. 2001. Southern blight, southern stem blight, white mold. APS net. Online publication.

Besler, B. A., Grichar, W. J. and Smith O. D. 1997. Reaction of selected peanut varieties and breeding lines to southern stem rot. *Peanut Science*, *24*, 6–9.

Bera, S. K., Kamdar, J. H., Kasundra, S. V. and Thirumalaisamy, P. P. 2016a. Identification of groundnut genotypes and wild species resistant to stem rot using an efficient field screening technique. *Electronic Journal of Plant Breeding*, *7*, 61–70.

Bera, S. K., Kamdar, J. H., Kasundra, S. V. and Ajay, B. C. 2016b. A novel QTL governing resistance to stem rot disease caused by Sclerotium rolfsii in peanut. *Australasian Plant Pathology*, *45*, 637–644.

Cilliers, A.J., Pretorius, Z.A. and Van Wyk, P.S. 2003. Integrated control of Selerotium rolfsii on groundnut in South Africa. *Journal of phytopathology,* 151, 5, 249-258.

Doley, K. and Jite, P. K. 2013. Management of stem-rot of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) cultivar in field. *Notulae Scientia Biologicae*, *5*, 316–324.

Doyle, J. J. and Doyle, J. L. 1990. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus*, *12*, 13–15.

Dodia, S. M., Rathnakumar, A. L., Mishra, G. P., Radhakrishnan, T., Joshi, B. vd. 2016. Phenotyping and molecular marker analysis for stem-rot disease resistance using F_2 mapping population in groundnut. *International Journal of Tropical Agriculture*, *34*, 1135–1139.

Dwivedi, S.L., Crouch, J.H., Nigam, S.N., Ferguson, M.E. and Paterson, A.H. 2003. Molecular breeding of groundnut for enhanced productivity and food security in the semi-arid tropics: opportunities and challenges. *Advances in Agronomy,* 80: 153-221.

Eslami, A.A., Khodaparast, S.A.,Mousanejad, S. and Dehkaei, F. P. 2015. Evaluation of the virulence of Sclerotium rolfsii isolates on Arachis hypogaea and screening for resistant genotypes in greenhouse conditions. *Hellenic Plant Protection Journal*, 8(1), 1-11.

Ferguson, L.M. and Shew, B.B. 2001. Wheat straw mulch and its impacts on three soilborne pathogens of peanut in microplots. *The American Phytopathological Society*, 85(6), 661-667.

FAO (Food and Agriculture Organization). 2016. FAOSTAT. [2018-05-03]. http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx

Francisco, M. L. and Resurreccion, A. V. 2008. Functional components in peanuts. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *48*, 715–746.

Ganesan, S., Kuppusamy, R.G. and Sekar, R. 2007. Integrated management of stem rot disease (Sclerotium rolfsii) of groundnut (Arachis hypogaea L.) using Rhizobium and Trichoderma harzianum (ITCC - 4572). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry,* 31(2), 103-108, Hindistan.

Grichar, W.J. 1995. Management of stem rot of peanuts (Arachis hypogaea) caused by Sclerotium rolfsii with fungicides. *Crop Protection Journal*, 14(2), 111-115.

Kadiroğlu, A. 2013. Yerfıstığı yetiştiriciliği. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Antalya, 47 s.

Karthikeyan, V., Sankaralingam, A. and Nakkeeran, S. 2006. Biological control of groundnut stem rot caused by Sclerotium rolfsii (Sacc.). *Journal Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 39(3), 239-246.

Kumer N., Dagla M.C., Ajay B.C., Jadon K.S. and Thirumalaisamy P.P. .2013. Sclerotium stem rot: a threat to groundnut production, Popular Kheti 1:26–30.

Liao, B. and Holbrook, C. 2007. Groundnut. CRC Press, pp. 231-289, Florida.

Mehan, V.K., Reddy, P.M., Rao, V.K. and Mcdonald, D. 1994. Components of rust resistance in peanut genotypes. *Phytopathology*, 84: 1421-1426.

Mordue, J. E. 1974. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria. No. 410. CAB International, Wallingford, U.K.

Mullen, J. 2001. Southern blight, southern stem blight, white mold. *The Plant Health Instructor*, doi: 10.1094/PHI-I-2001-0104-01.

Norden, A.J. 1980. Peanut. American Society of Agronomy, pp. 443-454, Madison.

Porter, D.M. 1997. The peanut plant. APS Press, pp. 1-2, Minnesota.

Porter, D. M., Smith, D. H. and Rodriguez-Kabana, R. 1982. Groundnut and plant diseases. Groundnut science and technology. (pp. 326–410). Yoakman, TX: American groundnut Research and education association.

Pandey, M. K., Monyo, E., Ozias-Akins, P., Liang, X., Guimarães, P., Nigam, S. N., et al. 2012. Advances in *Arachis* genomics for peanut improvement. *Biotechnology Advances*, *30*, 639-651.

Shokes, F. M., Rozalski, K., Gorbet, D. W., Brenneman, T. B. and Berger, D. A. 1996. Techniques for inoculation of peanut with *Sclerotium rolfsii* in the green house and field. *Peanut Science*, *23*, 124–128.

Shokes, F. M., Weber, Z., Gorbet, D. W., Pudelko, H. A. and Taczanowski, M. 1998. Evaluation of peanut genotypes for resistance to southern stem rot using an agar disk technique. *Peanut Science*, *25*, 12–17.

Shew, B. B., Wynne, J. C. and Beute, M. K. 1987. Field, Microplot and greenhouse evaluation of resistance to *Sclerotium rolfsii* in groundnut. *Plant Disease*, *71*, 188–192.

Savage, G. P. and Keenan, J. I. 1994. The composition and nutritive value of groundnut kernels. In J Smart (Ed), The Groundnut Crop: a scientific basis for improvement (pp. 173–213). London: Chapman and Hall.

Stalker, H. T. 1992. Utilizing *Arachis* germplasm resources. In: Groundnut—a global perspective. Proc. Intern. Workshop. (pp. 281–295). November 25–29, 1991, Int. Crops Res. Inst. Semi-Arid Tropics. Patancheru, A. P., India.

Sconyers, L. E., Brenneman, T. B., Stevenson, K. L. and Mullinix, B. G. 2005. Effects of plant spacing, inoculation date, and peanut cultivar on epidemics of peanut stem rot and tomato spotted wilt. *Plant Disease*. *89*, 969–974.

Subrahmanyam, P., Reddy, L. J., Gibbons, R. W. and McDonald, D. (1985). Peanut rust: a major threat to peanut production in the semiarid tropics. *Plant Disease*, *69*, 813–819.

Şengül, G. 1995. Yerfıstığı rizosfer ve rizoplane'nindeki oktinomisetlerin yerfıstığında (sclerotium rolfsii sac.) ye antagonistic etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans, Çukurova Üniversitesi, Adana, 40 s.

Thiessen, L. D. and Woodward, J. E. 2012. Diseases of peanut caused by soilborne pathogens in the Southwestern United States. *ISRN Agronomy*, *2012*, 1–9.

Thirumalaisamy, P. P., Kumar, N., Radhakrishnan, T., Rathnakumar, A. L., Bera, S. K, Jadon, K. S., Mishra, G. P., Rajyaguru, R. and Joshi, B. 2014. Phenotyping of groundnut genotypes for resistance to sclerotium stem rot. *Journal of Mycology and Plant Pathology*, *44*, 459–462.

Upadhyaya, H. D., Bramel, P. J., Ortiz, R., & Singh, S. (2002). Developing a mini core of peanut for utilization of genetic resources. *Crop Science*, *42*, 2150–2156.

White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S. B. and Taylor, J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (Eds.), PCR protocols: A guide to methods and applications (pp. 315–322). New York: Academic Press.

Wan, S.B. 2003. Science of peanut cultivation in China. Shanghai Press for Science and Technology, Shanghai, 647 p.

Yol, E., Upadhyaya, H. D. and Uzun, B. 2015. Molecular diagnosis to identify new sources of resistance to sclerotinia blight in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Euphytica*, *203*, 367–374.

Yol, E., Furat, S., Upadhyaya, H. D. and Uzun, B. 2018. Characterization of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) collection using quantitative and qualitative traits in the Mediterranean Basin. *Journal of Integrative Agriculture*, *17*, 63–75.

ÖZGEÇMİŞ



VOLKAN GÜÇLÜ

volkanguclu1990@gmail.com

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2016-2018	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Antalya
Lisans 2012-2016	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Antalya
Ön Lisans 2008-2010	Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tohumculuk Bölümü, Isparta

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

TASACO Firmasında tohum ıslahçısı ve çimlendirme laboratuarında sertifikasyon işleminde görev aldım.

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. Güçlü V., Aydoğdu M., Uzun B., Yol E., "Monitoring of stem rot resistance in groundnut genotypes under artificial inoculation of Sclerotium rolfsii", I. International Agricultural Science Congress, VAN, TÜRKIYE, 9-12 Mayıs 2018, pp.273-273
2. Kizil S., Başak M., Güçlü V., Uzun B., Yol E., "The effects of colchicine treatments on germination rate of sesame seeds. 3rd International Plant Breeding

Congress", 3rd International Plant Breeding Congress, Girne, KUZEY KIBRIS TÜRK CUM., 15-19 Ekim 2017, pp.77-77

3. Güçlü V., Çat A., Çatal M., Başak M., Kizil S., Uzun B., et al., "Detection of Fusarium spp. causing fusarium root rot on groundnut in Turkey", 3rd International Plant Breeding Congress, Girne, KUZEY KIBRIS TÜRK CUM., 15-19 Ekim 2017, pp.78-78