

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

Adem ÖZARSLANDAN

**TÜRKİYE’NİN FARKLI BÖLGELERİNDEN ALINAN KÖK-UR
NEMATODU TÜRLERİNİN (*Meloidogyne spp.*) TANISI VE BAZI KÖK-UR
NEMATODU POPULASYONLARININ VİRÜLENTLİĞİNİN
BELİRLENMESİ**

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA, 2009

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE’NİN FARKLI BÖLGELERİNDEN ALINAN KÖK-UR
NEMATODU TÜRLERİNİN (*Meloidogyne* spp.) TANISI VE BAZI KÖK-UR
NEMATODU POPULASYONLARININ VİRÜLENTLİĞİNİN
BELİRLENMESİ**

Adem ÖZARSLANDAN

DOKTORA TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**Bu tez 20 / 02 / 2009 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği
İle Kabul Edilmiştir.**

İmza.....

Prof. Dr. İ. Halil ELEKCİOĞLU
DANIŞMAN

İmza.....

Prof. Dr. Nedim UYGUN
ÜYE

İmza.....

Prof. Dr. Salih KAFKAS
ÜYE

İmza.....

Doç. Dr. Uğur GÖZEL
ÜYE

İmza.....

Yrd. Doç. Mehmet Ali SÖĞÜT
ÜYE

Bu tez Enstitümüz Bitki Koruma Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi ve TÜBİTAK
Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: Ç.Ü. BAPB-ZF2006D38

TÜBİTAK-TOVAG 105O177

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların
kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

DOKTORA TEZİ

TÜRKİYE’NİN FARKLI BÖLGELERİNDEN ALINAN KÖK-UR NEMATODU TÜRLERİNİN (*Meloidogyne* spp.) TANISI VE BAZI KÖK-UR NEMATODU POPULASYONLARININ VİRÜLENTLİĞİNİN BELİRLENMESİ

Adem ÖZARSLANDAN

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

DANIŞMAN : Prof. Dr. İ. Halil ELEKCİOĞLU
Yıl : 2009 **Sayfa:** 84
Jüri : Prof. Dr. İ. Halil ELEKCİOĞLU
Prof. Dr. Nedim UYGUN
Prof. Dr. Salih KAFKAS
Doç. Dr. Uğur GÖZEL
Yrd. Doç. Mehmet Ali SÖĞÜT

Kök-ur nematodu türleri (*Meloidogyne* spp.) tüm dünyada bitkisel üretimde önemli verim ve kalite kayıplarına sebep olmaktadır. Bu çalışmada Türkiye Kök-ur nematodu türlerinin saptanması amacıyla, farklı alanlardan 79 adet Kök-ur nematodu populasyonu toplanarak moleküler ve morfolojik yöntemlerle teşhis çalışması yapılmıştır. Elde edilen Kök-ur nematodu populasyonları bir yumurta paketi ile hassas domates ‘Simita F1’ çeşidi üzerinde saflaştırılmıştır. Saflaştırılan yumurta paketlerinden elde edilen ikinci larva dönemindeki bireylerinden DNA izolasyonu yapılmış, türe spesifik primerlerle PCR kurularak *Meloidogyne* türleri teşhis edilmiştir. Aynı zamanda her populasyona ait ikinci dönem larvaların ve hassas domates bitkilerinin köklerinden elde edilen dişi bireylerin vulva kesitlerinden daimi preparatlar yapılarak morfolojik yöntemlerle de teşhis çalışmaları yapılmıştır. Moleküler ve morfolojik yöntemlerle yapılan teşhis sonucunda 4 türün *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* ve *M. chitwoodi*, ülkemizde yaygın olduğu tespit edilmiştir. Türkiye genelinden elde edilen 79 Kök-ur nematodu populasyonundan 22 adedinin *M. incognita*, 21 adedinin *M. arenaria*, 28 adedinin *M. javanica* ve 8 adedinin de *M. chitwoodi* olduğu saptanmış olup, bunların bulunma oranları sırasıyla, % 28, % 27, % 35 ve %10 olarak saptanmıştır. Bu türlerden *M. chitwoodi* Türkiye nematod faunası için yeni kayıt niteliğindedir. Patates örneklerinden elde edilen Kök-ur nematodlarının tamamının *M. chitwoodi* olduğu tespit edilmiştir. Tespit edilen *Meloidogyne* türlerinin illere ve ürün gruplarına göre dağılımı ülkemiz tarımı için önemli bilgiler sunmaktadır. 8 adet *M. incognita*, 13 adet *M. arenaria* ve 7 adet *M. javanica* populasyonlarının virülemliliği Picasso ve Malike F1 domates çeşitlerinde incelenmiştir. Sonuçlarda denemeye alınan hiçbir populasyonun virulent olmadığı saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kök-ur nematodu, moleküler teşhis, morfolojik teşhis

ABSTRACT

PhD THESIS

IDENTIFICATION of *Meloidogyne* SPECIES COLLECTED FROM DIFFERENT PARTS of TURKEY and DETERMINATION of VIRULENCE of SOME ROOT-KNOT (*Meloidogyne* spp.) POPULATIONS

Adem ÖZARSLANDAN

DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION
INSTITUTE OF NATURAL APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA

Supervisor : Prof. Dr. İ. Halil ELEKCİOĞLU
Year : 2009 **Pages:** 84
Jury : Prof. Dr. İ. Halil ELEKCİOĞLU
Prof. Dr. Nedim UYGUN
Prof. Dr. Salih KAFKAS
Assoc. Prof. Uğur GÖZEL
Asist. Prof. Mehmet Ali SÖĞÜT

Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) cause significant quality and yield losses in crops throughout the world. The objective of this study was to identify the root-knot nematode samples, by molecular and morphological means, that have been collected from different regions of Turkey. The seventy-nine root-knot nematode samples were first homogenized by inoculating susceptible tomato cultivar ‘Simita F1’ with single egg masse. Then, second stage larvae obtained from homogenized-egg masses were used for DNA isolation. The molecular identification of the samples were conducted with species-specific SCAR (sequence characterized amplified region) and PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) markers. The morphological identification of the samples were carried out using dissected-fixed vulva of female and second stage larvae collected from susceptible tomatoes (homogenized samples). Results showed that four root-knot nematode species, *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* and *M. chitwoodi* were the most common in Turkey. Of the 79 samples, 22 (28 %), 21 (27 %), 28 (35 %), and 8 (10 %) were identified to be *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* and *M. chitwoodi*, respectively. This is the first report for *M. chitwoodi* in Turkey. All the samples that were collected from potato crop in mid-anatolia belong to *M. chitwoodi*. The distribution of *Meloidogyne* species by region and crop offers important insight for Turkish agriculture. 8, 13 and 7 populations of *M. incognita*, *M. arenaria* and *M. javanica* were used in this study respectively. Result showed that none of these populations belonging to three different root-knot nematode species were able to overcome the resistance controlled by single dominant gene Mi in tomato, indicating that populations were not virulent.

Key words: Root-knot nematode, molecular identification, morphological identification

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında desteğini benden esirgemeyen değerli Hocam Prof. Dr. İ.Halil ELEKCİOĞLU (Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü) başta olmak üzere, bu çalışmanın moleküler kısmının yürütmesinde büyük katkıları olan Dr. Nedim MUTLU ve Dr. Zübeyir DEVRAN'a ve tez izleme sırasındaki değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. Nedim UYGUN, Prof. Dr. Salih KAFKAS'a, Sayın Doç. Dr. Uğur GÖZEL, Sayın Yard. Doç. Dr. Mehmet Ali SÖĞÜT'e, Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürü Dr. Ahmet KUŞDEMİR'e ve mesai arkadaşlarım Dr. Halil TOKTAY, Uzm. Mustafa İMREN, Uzm. Refik BOZBUĞA, Uzm. Murat ÖLÇÜLÜ, Teknisyenlerimiz Cennet KESER ve Yasin HARMANKAYA'ya, Elektrikçilerimiz Ergün AVCI, Dursun KAYA, Halil KOCAYILMAZ'a ve diğer mesai arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Proje süresince domates fidesi sağlayan GEN fide A.Ş.'ye teşekkür ederim. Örneklerin alınmasında yardımcı olan Tarım İl Müdürlüğü Bitki Koruma Şubelerine teşekkür ederim.

Eğitimim sırasında maddi ve manevi katkılarından dolayı sevgili anneme, kardeşlerime ve beni küçük yaşta yönlendiren bugünlere gelmemi sağlayan saygıdeğer ortaokul hocam Mehmet KARABULUT'a desteklerinden dolayı sonsuz teşekkür ederim. Ayrıca tez çalışmalarım ve yazımı sırasında bana her konuda yardımcı olan, yoğun çalışmalarım sırasında ihmal ettiğim meslektaşım, sevgili eşim Mümine ÖZARSLANDAN'a ve kızım Zehra ÖZARSLANDAN'a sabırlarından ve desteklerinden dolayı sonsuz teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
1.GİRİŞ.....	1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
3.MATERYAL ve METOD	14
3.1 Kök ur Nematodu Örneklerinin Toplanması.....	17
3.2. Örneklerin Saf Kültürlerinin Oluşturulması.....	17
3.3. Saf Kültür Populasyonlarının Morfolojik Tanımlanması	18
3.3.1. Dişi Bireylerin Preparat Çalışmaları	18
3.3.2. Larva Ölçümleri	19
3.4. Moleküler Çalışmalar.....	19
3.4.1. DNA İzolasyonu	19
3.4.2. Tür-Spesifik Primerlerle Moleküler Tanımlamaların Yapılması..	20
3.4.2.1. <i>Meloidogyne arenaria</i> Spesifik Far ve Rar Primerleriyle PCR	21
3.4.2.2. <i>Meloidogyne javanica</i> Spesifik Fjav ve Rjav Primerleriyle PCR.....	22
3.4.2.3. <i>Meloidogyne incognita</i> Spesifik Finc ve Rinc Primerleriyle PCR	22
3.4.2.4. <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>M. javanica</i> , <i>M. arenaria</i> ve <i>M.</i> <i>chitwoodi</i> Spesifik C2F3 ve 1108 Primerleriyle PCR.....	23
3.4.2.5. <i>Meloidogyne incognita</i> , <i>M. javanica</i> , <i>M. arenaria</i> ve <i>M.</i> <i>chitwoodi</i> Spesifik 18s1.2/18sr2b Primerleriyle PCR.....	23
3.4.3. Genetik Varyasyon Çalışmaları.....	24
3.5. Moleküler Veri Analizleri ve Türlere Ait Filogenetik İlişkinin Belirlenmesi.....	24

3.6. Dayanıklılıklarının Testlenmesi İçin Populasyonların Üretimi.....	24
3.7. Denemenin Kurulması ve Değerlendirilmesi	25
4.BULGULAR ve TARTIŞMA.....	27
4.1. <i>Meloidogyne arenaria</i> 'nın Tanımlanması.....	28
4.2. <i>Meloidogyne javanica</i> 'nın Tanımlanması.....	35
4.3. <i>Meloidogyne incognita</i> 'nın Tanımlanması	41
4.4. <i>Meloidogyne chitwoodi</i> 'nin Tanımlanması.....	47
4.5. Genetik Varyasyon Çalışmaları.....	54
4.6. Malike F1 Dayanıklı (RN) ve Picasso Hassas Domates Çeşitlerinde <i>M. javanica</i> , <i>M. incognita</i> ve <i>M. arenaria</i> 'nın Farklı Populasyonlarının Virülensliğinin Belirlenmesi.....	58
5.SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	62
KAYNAKLAR	67
ÖZGEÇMİŞ	77
EKLER.....	78

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. Kök-ur nematodu populasyonlarının 2004 yılında Türkiye genelinde toplandıkları bölge, il ve konukçu bitkileri.....	14
Çizelge 3.2. Kök-ur nematod örneklerinin moleküler tanımlanmasında kullanılan primerlerin adları, dizileri, fragment büyüklükleri ve ilgili kaynaklar	20
Çizelge 4.1. Moleküler olarak tanımlanan <i>Meloidogyne arenaria</i> populasyonları.....	29
Çizelge 4.2. Moleküler olarak teşhis edilen <i>Meloidogyne arenaria</i> 'nın ikinci dönem larva ölçümleri.....	31
Çizelge 4.3. Moleküler olarak tanımlanan <i>Meloidogyne javanica</i> populasyonları.....	35
Çizelge 4.4. Moleküler olarak Teşhis Edilen <i>Meloidogyne javanica</i> 'nın ikinci dönem larva ölçümleri.....	37
Çizelge 4.5. Moleküler olarak tanımlanan <i>Meloidogyne incognita</i> populasyonları.....	41
Çizelge 4.6. Moleküler olarak Teşhis Edilen <i>Meloidogyne incognita</i> 'nın ikinci dönem larva ölçümleri.....	43
Çizelge 4.7. Moleküler olarak tanımlanan <i>Meloidogyne chitwoodi</i> populasyonları.....	47
Çizelge 4.8. Moleküler olarak teşhis edilen <i>Meloidogyne chitwoodi</i> 'nin ikinci dönem larva ölçümleri.....	50
Çizelge 4.9. Kök-ur nematodlarının hassas Picasso ve dayanıklı Malike F1 domates çeşitlerinde urlaşma oranı ve 2. dönem larva sayıları.....	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1. Kök-ur nematod örneklerinin toplandığı iller.....	17
Şekil 4.1. Teşhis edilen Kök-ur nematod türleri	28
Şekil 4.2. <i>Meloidogyne arenaria</i> 'ya spesifik SCAR primerlerine göre 420 bp PCR ürünleri.....	30
Şekil 4.3. Moleküler olarak teşhis edilen <i>Meloidogyne arenaria</i> 'nın A, B: Vulva kesitleri, C, D: ikinci dönem larva kuyruk kısmı, E, F: Larva baş kısmı.....	34
Şekil 4.4. <i>Meloidogyne javanica</i> 'ya spesifik SCAR primerlerine göre 670 bp PCR ürünleri	36
Şekil 4.5. Moleküler olarak teşhis edilen <i>Meloidogyne javanica</i> 'nın A, B: Vulva kesitleri, C, D: ikinci dönem larva kuyruk kısmı, E, F: Larva baş kısmı	40
Şekil 4.6. <i>Meloidogyne incognita</i> 'ya spesifik SCAR primerlerine göre 1200 bp PCR ürünleri	42
Şekil 4.7. Moleküler olarak teşhis edilen <i>Meloidogyne incognita</i> 'nın A, B: Vulva kesitleri, C, D: ikinci dönem larva kuyruk kısmı, E, F: Larva baş kısmı	46
Şekil 4.8. <i>Meloidogyne chitwoodi</i> 'nin PCR ürünleri.....	48
Şekil 4.9. C2F3-1108 primerleriyle elde edilen PCR ürününün <i>DraI</i> ile kesimiyle elde edilen ürünler.....	48
Şekil 4.10 Moleküler olarak teşhis edilen <i>Meloidogyne chitwoodi</i> 'nin A, B, C: Vulva kesitleri.....	52
Şekil 4.11 Moleküler olarak teşhis edilen <i>Meloidogyne chitwoodi</i> 'nin A, B, C, D: İkinci dönem larva kuyruk kısmı, E, F: Larva baş kısmı.....	53
Şekil 4.12 <i>Meloidogyne incognita</i> populasyonları arasındaki genetik benzerlik oranları.....	54
Şekil 4.13 <i>Meloidogyne arenaria</i> populasyonları arasındaki genetik benzerlik oranları.....	55

Şekil 4.14 <i>Meloidogyne javanica</i> populasyonları arasındaki genetik benzerlik oranları.....	56
Şekil 4.15 <i>Meloidogyne chitwoodi</i> populasyonları arasındaki genetik benzerlik oranları.....	57

1.GİRİŞ

Kök-ur nematodları (*Meloidogyne* spp.) başta örtü altı sebze yetiştiriciliği olmak üzere, muz ve patates alanlarında çok önemli ekonomik zarar meydana getirmekte olup ana zararlı konumundadır. Türkiye’de daha önce değişik bölgelerde yürütülen çalışmalarda (Akdeniz, Marmara, Ege, Karadeniz, Güneydoğu Anadolu, İç ve Doğu Anadolu Bölgeleri) farklı bitki türlerinde (sebze, muz, bazı yumuşak ve sert çekirdekli meyve ağaçları) Kök-ur nematodu türlerinden *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. acrita*, *M. exiqua* ve *M. thomasi*’nin bulunduğu, *M. incognita* ve *M. javanica*’nın en yaygın ve ekonomik olarak en önemli türler olduğu, *M. arenaria* ve *M. hapla*’nın ise ender rastlanan türler olduğu bildirilmektedir (Yüksel, 1974; Ağdacı, 1978; Elekcioğlu ve Uygun 1994; Elekcioğlu ve ark., 1994; Mennan ve Ecevit, 1996; Söğüt ve Elekcioğlu, 2000b). Dünyada geniş üretim alanına sahip patates bitkisinde bir çok nematod türü zarar yapmaktadır. Bunlardan en önemli türler tropikal alanlarda *M. incognita*, *M. arenaria* ve *M. javanica* (Jatala ve Bridge, 1990; Vovlas ve ark., 2005), serin iklimlerde ise *M. hapla*, *M. chitwoodi* ve *M. Fallax*’dır (Griffin ve Jorgenson, 1969; Golden ve ark., 1980; Karssen 1996).

Kök-ur nematodlarının üzerinde beslendiği konukçuya bağlı olarak konukçu ırkları ve çok sayıda virü lent-avirü lent popülasyonları bulunmaktadır (Decker ve Fritzsche, 1991, Xu ve ark. 2001). Türkiye’de Kök-ur nematod türlerinin ırklarını belirlemek amacıyla iki ayrı çalışma yapılmıştır; Doğu Akdeniz Bölgesi’nde *M. javanica*’ya ait 1 (ırk 1), *M. incognita*’ya ait 2 (ırk 2 ve 4) olmak üzere toplam 3 Kök-ur nematodu ırkı (Söğüt ve Elekcioğlu, 2000a), Bafra ve Çarşamba Ovalarında *M. incognita*’ya ait ırk 2 (Mennan ve Ecevit, 2001) bulunmuştur. Ayrıca Türkiye’de ilk kez *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla* türleri moleküler olarak (ITS ve rDNA) olarak teşhis edilmiştir (Devran ve ark., 2002).

Kök-ur nematodlarının dünya genelinde sebzelerde çok önemli verim kayıplarına neden oldukları ve bu kayıpların domateslerde % 42-54, patlıcanlarda % 30-60 oranlarında olduğu belirtilmektedir (Netscher ve Sikora, 1990). Türkiye’deki yapılan çalışmalarda ise Kök-ur nematodlarının biberde % 25,9-61 oranında verim kayıplarına neden olduğu saptanmıştır (Yücel ve ark., 2001; 2002). Kök-ur

nematodları baskı altına alınamadığında ise doğrudan zararının yanında kılcal köklerden açmış olduğu yaralardan giren toprak kökenli mikroorganizmaların (fungal ve bakteriyel) bitkide hastalık oluşturmaya neden olmaktadır.

Kök-ur nematodlarıyla mücadelede; kimyasal savaş, biyolojik mücadele, ekim nöbeti, solarizasyon ve dayanıklı çeşitler önerilmekte (Gheysen ve ark., 1996; Sijmons ve ark., 1994), ancak bu yöntemlerden birçoğu çeşitli nedenlerden dolayı kullanılmamaktadır.

Bir çok ülkede olduğu gibi Türkiye'de de sera alanlarında bu zararlılara karşı çok yoğun olarak nematisit kullanılmaktadır. Bu kimyasalların bazılarının kumsal topraklarda yoğun kullanılması sonucu taban suyuna karışma tehlikesi bulunmaktadır. Bu yöntemde daha çok geniş etkili fümigantlar (Metil bromid) veya nematisitler kullanılmaktadır. Nematodlara kullanılan nematisitlerin ve Metil bromid (Mebr) gibi geniş etkili fümigantların doğru kullanılmadığında ise insan ve çevre sağlığına çok zararlı oldukları bilinmektedir. Özellikle Metil bromid, ozon tabakasında incelmelere sebep olarak UV ışınlarının atmosferden geçmesini artırmakta, böylece bitkisel ve hayvansal organizmalarda olumsuz etkilere neden olmaktadır. Mebr 1994 yılında Montreal'da bir çok ülkenin taraf olduğu anlaşma sonucu gelişmiş ülkelerde 2005 yılında kaldırılmış, gelişmekte olan ülkelerde ise 2015 yılında tarım alanlarında toprak fümiganti olarak uygulamadan kaldırılacaktır. Türkiye'de ise Mebr 2007 yılında uygulamadan kaldırılmıştır. Kök-ur nematodlarının mücadelesinde kullanılan nematisitlerin bazılarının böyle sakıncaları olması sonucu, alternatif mücadele yöntemlerine daha fazla ağırlık verilmesi büyük önem taşımaktadır. Alternatif mücadele yöntemlerinden biyolojik mücadele, henüz araştırma safhasında olup pratiğe tam olarak aktarılamamıştır.

Ekim nöbeti, yoğun sebze üretimi yapılan alanlarda ekonomik nedenlerden ötürü tercih edilmemektedir. Toprak solarizasyonu, toprak kökenli patojen ve nematodlara karşı etkili olması nedeniyle tüm savaşın (IPM) ana yöntemlerinden birisini duruma gelmiştir. Toprak solarizasyonunun yararları göz önüne alındığında sera gibi yoğun tarım alanlarında en uygun mücadele yöntemlerinden birisini oluşturduğu görülmektedir. Fakat toprak solarizasyonu için yaz aylarında seraların yaklaşık olarak 2 ay süreyle boş kalması gerekmekte ve genellikle sonbahar

ekimlerinde uygulanmaktadır. Yılda iki ürün yetiştirilen seralarda veya baharda yapılan ekimde ise bu mücadele yöntemi kullanılmamaktadır.

Diğer yöntemlerin uygulanmadığı durumlarda Kök-ur nematodlarına karşı mücadelede kullanılan yöntemlerden en önemlilerinden birisini de dayanıklı çeşitlerin kullanımı oluşturmaktadır (Boerma ve Hussey 1992; Vrain 1999). Dayanıklılık çalışmaları, nematodun üremesini tamamen engellemesi veya çok az düzeyde tutması, özel uygulama tekniği ve alet ekipman gerektirmemesi, diğer mücadele yöntemlerine göre maliyetin daha düşük olması ve çevre dostu olmasından dolayı tercih edilmektedir (Cook ve Evans, 1987; Boerma ve Hussey, 1992; Lopez-Perez, 2006). Kök-ur nematodlarına karşı domates (Milligan ve ark., 1998; Yaghoobi ve ark., 1995), tütün (Yi ve ark., 1998), soya (Tamulonis ve ark., 1997a, 1997b), tatlı patates (Ukoskit ve ark., 1997), patates (Brown ve ark., 1996), yerfıstığı (Burow ve ark., 1996; Garcia ve ark., 1996), ve şeftali (Lu ve ark., 1998) gibi bitki türlerinde dayanıklılık çalışmaları yapılmıştır. Mi geni domateslerde *M. incognita*, *M. javanica* ve *M. arenaria*'ya karşı dayanıklılık sağlamakta diğer Kök-ur nematodlarına karşı dayanıklılık sağlamamaktadır. Dayanıklı domates çeşitleri ürün kayıplarını önlemekte, nematodları baskı altına almakta ve başlangıç infeksiyonlarına toleranslık sağladığı sağlamaktadır. Bir çok ülkede sera alanlarında Kök-ur nematodlarının virulent popülasyonlarının tespit edildiğini bildirmişlerdir (Xu ve ark., 2001; Ornat ve ark., 2001; Castagnone-Sereno, 2002; Karajeh ve ark., 2005; Tzortzakakis ve ark., 2005).

Türkiye'de Kök-ur nematodlarına karşı dayanıklı çeşit araştırmaları henüz başlangıç aşamasındadır. Kök-ur nematodlarına karşı dayanıklılık çalışmalarının başarısı o alandaki tür ve ırk teşhislerinin doğru olarak yapılmasına bağlıdır. Bu konudaki yanlış teşhisler dayanıklı çeşit araştırmalarında başarısızlığa neden olmaktadır. Kök-ur nematodlarının teşhisi genellikle morfolojik yöntemlerle, yani dişi bireyin vulva bölgelerindeki kütikula çizgilerinden ve ikinci dönem larvalarından yararlanarak yapılmaktadır. Bu yöntemde bazı türlerin birbirine çok yakın morfolojik özellikler göstermesiyle, teşhiste zorluklar olmakta bazen çok büyük hatalar yapılmasına neden olmaktadır. Moleküler yöntemlerde ise tür teşhisleri daha güvenilir ve hızlı yapılarak bu olumsuzluklar giderilebilmektedir.

Nematodlarla mücadelede en önemli konulardan biriside dış karantina önlemlerine titizlikle uyulmasıdır. Bu sayede temiz olan bir alana zararlı nematod türlerinin bulaşması engellenebilir. Dünya’da Kök-ur nematodlarının 80’den fazla türü tespit edilmiş olup (Karssen, 1999) bunlardan yalnızca 7 tür Türkiye’de tespit edilmiştir. Karantina önlemlerine uyulduğunda Türkiye’de tespit edilen türlerin dışındaki diğer türlerin ülkemize girmesi önlenabilir. Türkiye’de halen karantina çalışmalarında klasik yöntemlerle teşhis yapılmaktadır. Klasik teşhis yönteminin uzun zaman alması, bazen zararlının ergininin bulunmaması ve genellikle bulunan zararlının mevcut ikinci dönem larvasından teşhisin zor olmasından dolayı bazen karantina hizmetlerinde ciddi sorunlar ortaya çıkmaktadır. Bu konuda yapılan yanlışlıktan dolayı *Aphelenchoides besseyi* (çeltik beyaz uç nematodu), *Globodera pallida*, *G. rostochiensis* (patates kist nematodları) gibi daha önce ülkemizde bulunmamasına rağmen son yıllarda ülkemize girmesi engellenememiştir. Patates ekiliş alanlarında (Niğde ve Nevşehir illerinde) Kök-ur nematodlarının çok geniş bir alana yayıldığı görülmektedir. Fakat bu bölgelerde hangi tür veya türlerin olduğu bu çalışma yapılınca kadar henüz belirlenmemiştir.

Kök-ur nematodları ile mücadelede dayanıklı çeşit yetiştirme ve karantina önlemlerinin doğru bir şekilde yapılabilmesi için ise en güvenilir yöntem olan moleküler ve klasik teşhis birlikte yapılmalıdır.

Bu çalışma ile, Türkiye’nin farklı bölge ve illerinden Kök-ur nematodlarının yoğun bulunduğu alanlardan toplanan Kök-ur nematod popülasyonları tür düzeyinde moleküler ve klasik yöntemlerle teşhis edilmiştir. Teşhisi yapılan bu türlerin tür içi ve türler arası genetik varyasyonları belirlenmiştir.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Öztüzün (1970), Malatya ve Elazığ'da *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood, 1949'nın varlığını belirlemiştir.

Yüksel (1974), Türkiye'de Karadeniz Bölgesi'nde *M. incognita*, *M. arenaria*; Marmara Bölgesi'nde *M. incognita*, *M. incognita acrita*, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. hapla*'nın bulunduğunu; Ege Bölgesi'nde *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla*; Akdeniz Bölgesi'nde *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla*'nın bulunduğunu belirtmektedir.

Gürdemir ve Ağdacı (1975), Antalya ve İçel illerinde yaptıkları çalışmada Antalya seralarının % 75.79'unun, İçel seralarının % 23.09'unun Kök-ur nematodları ile bulaşık olduğunu ve en yaygın türlerin *M. incognita* (% 71.1), *M. javanica* (% 14.9), *M. arenaria* (% 6.01) ve *M. thamesi* (% 2.4) olduğunu bildirmişlerdir.

Ağdacı (1978), 1973 ve 1976 yılları arasında Akdeniz Bölgesi'nde 717 adet kabakgil yetiştiriciliği yapılan sera incelendiğini ve bunlardan 248 adedinin Kök-ur nematodu türlerinden *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. thamesi* ile bulaşık olduğunu belirlemiştir. Antalya'da Kök-ur nematodu nedeniyle meydana gelen zararın % 16.7, Adana'da ise % 47 oranında olduğunu ve bulaşık bitkilerde vejetatif gelişmenin sağlıklı bitkilere göre önemli ölçüde zayıf olduğunu saptamıştır.

Enneli (1980), İç Anadolu Bölgesi'nde Kök-ur nematodlar ile bulaşıklık oranının %10-94 olduğunu, en yaygın türlerinde *M. incognita* (% 93), *M. javanica* (% 2), *M. arenaria* (% 1) olduğunu bildirmiştir.

Johnson ve Fassuliotis (1984), Dünya genelinde 75 ülkeden elde edilen 1000 adet Kök-ur nematodu popülasyonundan % 52'sinin *M. incognita*, % 30'unun *M. javanica*, % 8'inin *M. arenaria*, % 8'inin *M. hapla* olduğunu, geriye kalan % 2'sinin ise diğer türlerin oluşturduğunu bildirmektedirler.

Sasser ve Carter (1985), 70 ülkeden topladıkları 850 popülasyon üzerinde yaptıkları çalışmada, toplanan popülasyonların % 97'sinde *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla* türlerini saptamışlardır.

Harris ve ark. (1990), 1,8kb'lık mtDNA spesifik *M. hapla*, *M. arenaria*, *M. incognita* ve *M. javanica*'dan oluşan 17 popülasyonun bir larvasından ve yumurta

kümelerinden elde edilerek PCR yoluyla çoğaltarak, 4 türün birbirinden ayrılmasını bu üretilen DNA'nın Hinf I enzimi ile keserek gerçekleştirmişlerdir.

Decker ve Fritzsche (1991), Dünya genelinde *M. incognita*'nın 4, *M. javanica*'nın 2 ve *M. arenaria*'nın 2 ırkının olduğunu, *M. hapla*'nın konukçu ırklarının henüz tespit edilmediğini belirtmişlerdir.

Cenis (1993), RAPD yöntemiyle 22 primer kullanarak *M. hapla*, *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*'dan oluşan 18 popülasyonu belirlemişlerdir. *M. hapla*'nın A ırkı ile B ırkı'nın birbirleri arasında ve *M. arenaria* popülasyonları arasındaki gibi bir çok polimorfizimin bulunduğunu saptamışlardır.

Powers ve Harris (1993), *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* *M. hapla* ve *M. chitwoodi*'yi birbirinden ayırabilen bir PCR metodu geliştirmiştir. Tek bir larva bir damla suyun içine alınıp doğrudan PCR reaksiyon karışımına eklemiş, PCR sonucunda 3 değişik büyüklükte DNA bandı tespit etmiştir. *Meloidogyne incognita* ve *M. javanica* 1.7 kb, *M. arenaria* reaksiyonu 1.1 kb ve *M. hapla* ve *M. chitwoodi* 0.52 kb bandları oluşmuş. Aynı büyüklükte DNA bandı veren türlerin ayrımını DNA'yı kesen enzimler yardımıyla yapmışlardır. 0.52 kb bandın Dra I ile kesilmesiyle *M. chitwoodi* 3 banda karşılık *M. hapla* 2 band vermiştir. 1.7 kb DNA bandın Hinf I ile kesilmesi sonucu *M. javanica* 2 banda karşılık *M. incognita* 3 band vermiş. Daha az rastlanan *Meloidogyne* spp. türlerinin *M. marylandi*, *M. naasi* ve *M. nataliei* aynı şekilde tek larvadan PCR ve DNA kesen enzimlerle bu primer seti kullanarak ayırt edilebileceğini tespit etmişlerdir.

Elekcioğlu ve Uygun (1994), Doğu Akdeniz Bölgesi'nde ekonomik öneme sahip bitkilerde bitki paraziti nematodların tespiti ve dağılımı üzerine yaptıkları çalışmada muz ve birçok sebzenin köklerinde *Meloidogyne* spp. (*M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*)'nin yoğun olarak bulunduğunu, *M. incognita* ve *M. javanica*'nın özellikle domates, biber ve patlıcan gibi sebzeler üzerinde yoğun popülasyon oluşturduklarını belirtmektedirler.

Zijlstra ve ark. (1995), rDNA zincirlerinin DNA'yı kesen enzimlerle kesilmesiyle Kök-ur nematodlarının türlerini tespit etmekte kullanmışlardır. PCR kullanarak 27 değişik bölgeden toplanmış *Meloidogyne chitwoodi* ve *M. hapla* ile *M. javanica* ve *M. incognita*'nın birer izolatının ITS bölgesini içeren rDNA bandları

üretilmiştir. Bu PCR ürünlerini çoğaltmak için tek bir larvadaki elde edilen DNA yeterli olduğunu saptamışlardır. *Meloidogyne* spp'nin ITS band uzunluğu *Aphelenchoides*, *Caenorhabditis*, *Ditylenchus*, *Heterodera* ve *Xiphinema* ile karşılaştırıldığında oldukça kısa olduğunu, ITS bölgesinin *AluI*, *DraI* ve *HinfI* DNA enzimleriyle kesilmesiyle *Meloidogyne chitwoodi* ve *M. hapla* birbirlerinden ayrıldığı gibi bunları *M. javanica* ve *M. incognita*'dan da ayırmışlardır.

Petersen ve Vrain (1996), ITS bölgesini çoğaltan primerler genomik rDNA'nın *M. chitwoodi*'nin 16 S bölgesini PCR yoluyla çoğaltmakta kullanmışlardır. Elde edilen 5.8 kb DNA bandının içinde IGS bölgesinin yeri bu bandın DNA enzimleri ile kesilmesiyle bulmuşlardır. 28 S ve 18 S RDNA'sının bir kısmını IGS bölgesiyle birlikte çoğaltabilen yeni primerler dizayn etmişlerdir. *M. chitwoodi*, *M. hapla* ve *M. fallax*'dan elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde band büyüklüğü farklarından kaynaklanan polimorfizmi elde etmişlerdir. Band büyüklüklerinden kaynaklanan polimorfizimler PCR ürünlerini DNA kesen enzimlerle kesilmesinden sonra elde edilen polimorfizimlerden nematod türlerini ayırtmakta daha kolaylık sağladığını belirtmişlerdir.

Blok ve ark. (1997), Tropiklerde *Meloidogyne* spp türlerinin tür içi ve türler arası varyasyonunu değerlendirmek için RAPD parmak izi yöntemini kullanmışlardır. *M. arenaria*'nın en çok tür içi varyasyon gösterdiğini, Birkaç primer ile türleri ayırt edebilmişlerdir. 3 tane virüent *M. arenaria* izolatını hem virüent olmayan izolatlardan hemde *M. javanica*, *M. incognita*, *M. mayaguensis* ve *M. hapla* izolatlarından ayırt etmişlerdir. RAPD, RFLP ile karşılaştırıldığında türler arası benzer farklılıklar vermesine rağmen tür içi varyasyon RAPD ile daha iyi tespit edilmiştir.

Zijlstra (1997), Kök-ur nematodları karışık halde iken gösteren bir teknik tarif etmişlerdir. Bir karışımın en az % 5'ini oluşturmaları şartıyla *M. hapla*, *M. incognita*, *M. chitwoodi* ve *M. fallax* türleri ITS PCR ürünlerinin *DraI*, *EcoRI* ve *RsaI* enzimleri ile kesildikten sonra oluşan bantlar ile bu türleri tespit etmişlerdir. Gözlenen türe özgü DNA kesen enzimlerden oluşan bantların yoğunluğunun oranı türün karışımındaki oranı ile doğrudan orantılı olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışmada Kök-ur nematodlarının tarladaki karışımını tespit etmek için rutin kullanılabileceğini

bildirmişlerdir.

Stanton ve ark. (1997), Avusturya’da yaygın olan *Meloidogyne* spp. türlerinden birbirine yakın 6 tanesinin mtDNA’sının 2212 bp’lik kısmının analizi 12 tane polimorfik nükleotit bölgesi bulmuşlardır. Düşük varyasyona rağmen bu DNA dizilimleri arasında teşhisi sağlayacak yeterli miktarda DNA’yı kesecek enzimlerle varyasyonun olduğunu tespit etmişlerdir. Bu teşhis yöntemi ile *M. arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica*, ve *M. hispanica* üstelik *M. hapla* ve *M. chitwoodi*’nin bulunduğu karışımda dahi ayırt edebilmişlerdir. Bu farklılıklardan bir kısmını kullanarak multipleks PCR’a dayanan bir teşhis yöntemi geliştirmişlerdir. PCR da üretilen 2 değişik mtDNA bölgesi *HinfI* veya *MnII* kesilmesiyle türleri ayırmışlardır. Bu daha önceki mtDNA PCR testlerine göre Kök-ur nematodları için bir ilerlemedir. Çünkü bu yöntemle daha çok türü ayırmışlar, daha küçük PCR bandı üretilmiş bununda teşhis de daha kolaylık getirdiğini tespit etmişlerdir.

Kaşkavalı (1998), Aydın ilinin yazlık sebze yetiştirilen önemli bölgelerinde bulunan Kök-ur nematodlarının türlerini saptamışlar. Kök-ur nematodlarının anal kesitinden yaptıkları teşhiste sırasıyla % 80,06 *M. incognita*, % 14,49 *M. javanica* ve % 5,45’i ise *M. hapla* olarak saptamışlardır.

Tzortzakakis ve ark. (1999, 2000), Sera koşullarında aşılı fide kullanarak Kök-ur nematodlarına karşı mücadele üzerinde çalışmalar yapmışlardır. Dayanıklı domates çeşidi ile hassas domates çeşitlerini münavebe yaparak *M. javanica* infeksiyonunun düştüğünü, alan ve sera koşullarında yapmış oldukları denemelerde dayanıklı domates çeşitlerinde de Kök-ur nematodlarının dayanıklılığı kırdığını dayanıklı çeşitlerde üreyebildiklerini bildirmişlerdir.

Ornat ve ark. (2001), Domates bitkisinde Mi genini kıran bir *M. javanica* popülasyonunu İspanya’da tespit etmişlerdir. Sera, saksı ve alan çalışmalarında dayanıklı ve hassas domates çeşitlerinde benzer ürediğini belirlemişlerdir. Virü lent *M. javanica* popülasyonu dayanıklı domates çeşidinde virü lent olmayan popülasyondan daha fazla ürediğini tespit etmişlerdir. Virü lent popülasyonun saksı çalışmasında hassas ve dayanıklı domates çeşitlerinde her ikisinded e % 29 oranında verim kaybına neden olduğunu bildirmişlerdir.

Semblat ve ark. (2000), Ekonomik öneme sahip Kök-ur nematodları *M.*

javanica, *M. incognita* ve *M. arenaria* 17 populasyonun genetik ilişkisini incelemişlerdir. Mi geni taşıyan domateslerde virü lent ve virü lent olmayan özelliklerine göre moleküler özelliklerine bakmışlardır. 1550 polimorfik DNA bandını populasyonlar arasında incelemişler ve virü lent olmayan populasyonlarla moleküler çalışmalar arasında bir ilişki tespit etmişlerdir.

Zijlstra (2000), Bu çalışmada Kök-ur nematodlarından *M. chitwoodi*, *M. fallax* ve *M. hapla*'yı türe özgü spesifik bandları veren PCR primerlerin geliştirilmesini açıklamışlardır. DNA bandlarının DNA zincirlerinin belirlenmesinden sonra polimorfik olan bu DNA bandlarının PCR da üretilmesini sağlayarak daha uzun primerlar dizayn etmişlerdir. Elde edilen primer çiftleri (SCARs) markerini üretmekte kullanmışlardır. Geliştirilen SCAR(sequence characterized amplified region) primerleri kullanarak nematodun yumurta kümesi, larva veya ergin dişisi kullanılarak *M. chitwoodi*, *M. fallax* ve *M. hapla*'nın elde edilen DNA'ları çoğaltılarak SCAR bandlarını elde etmişlerdir. 3 çift SCAR primerleri kullanarak özel olarak dizayn edilmiş multiplex PCR yöntemi ile birden fazla türün bir PCR da ayırt edilmesi mümkün olmuştur. Bu multiplex yöntemini kullanılarak bir larvadan kolaylıkla türü tespit edilebilmiştir. Burada tarif edilen SCAR PCR yöntemi pratikte rutin teşhis için kullanılma potansiyeline sahip olduğunu, RAPD markırlarını SCAR markırlarına çevirmenin faydalarını tartışmıştır.

Mennan ve Ecevit (2001), Bafra ve Çarşamba ovalarında *M. incognita* ırk 2'nin hakim tür olduğunu bildirmişlerdir.

Xu ve ark. (2001), Dayanıkl ı domates çeşitlerindeki Mi geni 3 Kök-ur nematodu *M. javanica*, *M. incognita* ve *M. arenaria*'ya karşı dayanıklılık sağlamaktadır. Buna rağmen Mi genini kıran virü lent populasyonlar olmaktadır. Mi genini kıran populasyonları belirlemek için moleküler marker olarak bir RAPD marker geliştirmişlerdir. SCAR- PCR ile virü lent populasyonlarının diğ erlerinden yüksek benzerlik gösterdiklerini, doğal virü lent ve virü lent olmayan populasyonların açıkça farklı oldukları tespit etmişlerdir. Geliştirilen markerlarla RAPD yöntemi ile virü lent *M. javanica*, *M. incognita* ve *M. arenaria* genotipleri teşhis edilebildiklerini bildirmişlerdir.

Devran ve ark. (2002), *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M.*

hapla'nın RdnA'sının ITS bölgesini içeren fragmentler PCR ile çoğaltmışlar. ITS bölgesinin RsaI enzimi ile kesimi sonucu *M. hapla* diğer türlerden ayrılmış, EcoRI ve BamHI enzimlerinin bu türleri ayırmakta etkisiz olduğunu tespit etmişlerdir. Bu nedenle diğer türleri ayırmada mtDNA markerleri kullanılarak PCR sonucu elde edilen 600 bp'lik fragment HinfI enzimi ile keserek türleri birbirinden ayırmışlardır. Bu çalışmada mtDNA'nın önemli Kök-ur nematod türlerini ayırmada faydalı bir araç olabileceğini bulmuşlardır.

Randig ve ark. (2002), RAPD markerlar kullanarak genetik karakterizasyon ve Kök-ur nematodlarının akrabalıklarını incelemişlerdir. *M. arenaria*, *M. exigua*, and *M. hapla*'yı diğer türlerle karşılaştırmışlardır. Filogenetik analizde *M. hapla* ve *M. exigua* diğer türlerden yakın akraba olduklarını saptamışlardır. *M. arenaria*, *M. exigua*, ve *M. hapla* SCAR primerler geliştirmişlerdir. Üç çift SCAR primerle Multiplex PCR kullanarak bu türleri ayırabildiklerini, rutin teşhiste kullanabileceğini bildirmişlerdir.

Wishart ve ark. (2002), 5S ve 18S primerleri ile *Meloidogyne chitwoodi*, *M. fallax*, ve *M. hapla* türlerini birbirinden ayırabilmişlerdir. 28 S ve 5 S primerleri ile *M. chitwoodi* ve *M. fallax* türlerini tropikal ve *M. hapla*'dan ayırabilmişlerdir.

Molinari ve Caradonna (2003), Motella Mi geni taşıyan domates çeşidi ile Moneymarker hassas domates çeşidi 16 Kök-ur nematod popülasyonuna karşı testlemişlerdir. Her popülasyonunun ortalama üreme indeksini 3 yıl boyunca gözlemlemişlerdir. Popülasyonların çoğu Motella üzerinde dayanıklılığı kırıp üreyebildikleri gözlemlemişlerdir. Dayanıklılığı kıran popülasyonları farklı ülkelerden getirmişler. Kuzey Afrika'dan getirilen doğal virulent popülasyonlar dayanıklı domates üzerinde ürediklerini tespit etmişlerdir. Genellikle verilen bir popülasyon hassas çeşitte dayanıklı çeşide göre daha iyi üremektedir. Dayanıklı domates üzerinde birkaç yılda Kök-ur nematod popülasyonlarının dayanıklılığı kırabildiklerini bildirmişlerdir.

Özarslan ve Elekcioğlu (2003), Yaptıkları çalışmada 28 hıyar, 26 domates ve 16 biber çeşidi *Meloidogyne javanica* ırk-1 ve *M. incognita* ırk-2'ye karşı 25±1°C sıcaklık ve % 60±10 orantılı nem koşullarında iklim odasında testlenmiştir. Denemeye alınan tüm hıyar çeşitlerinin *M. javanica* ırk-1 ve *M. incognita* ırk-2'ye

duyarlı oldukları, domates çeşitlerinin tümü *M. incognita* ırk-2'ye duyarlı iken, 144 RN, Target N F1 ve 1077 domates çeşitlerinin *M. javanica* ırk-1'e dayanıklı olduğunu ve diğerlerinin ise duyarlı olduğu saptanmıştır. Bu çeşitlerin *M. javanica* ırk-1 karşı $30\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de de dayanıklı olduğu ortaya çıkarılmıştır. Denemeye alınan biber çeşitlerinin tamamının *M. javanica* ırk-1'e karşı dayanıklı bulunurken, *M. incognita* ırk-2'ye karşı duyarlı oldukları tespit edilmiştir. Biber çeşitlerinin tümü $30\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta da *M. javanica* ırk-1'e karşı dayanıklılıklarını sürdürebildikleri bildirmişlerdir.

Tesarova ve ark. (2003), Farklı yerlerden alınan *M. incognita* türünü tanıyan spesifik primer dizayn etmişlerdir. Bu primer *M. fallax*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. chitwoodi* ve *M. hapla*'yı tanımadığı sadece 502 bp de bant oluşturarak *M. incognita*'yı tanıdığını bildirmişlerdir.

Randig ve ark. (2004), Brezilya'da çeşitli ürünlerde ve kahve bitkilerinde zarar yapan kök ur nematodlarından en önemli türler *M. exigua*, *M. incognita* ve *M. paranaensis* olduğunu saptamışlardır. Bunları SCAR Markerlarla *M. exigua*'nın 562 bp, *M. incognita*'nın 399 bp ve *M. Paranaensis*'nin ise 208 bp de bant oluşturduğunu, Multipleks – PCR tekniğinin hızlı, kolay ve çok hassas olduğunu, karışık türleride ayırabildiklerini bildirmişlerdir.

Dong ve ark. (2005), Yaptıkları sürvey çalışmasında 363 toprak örneği almışlar, bunlardan 119 örnekte ikinci dönem Kök-ur nematodu larvası tespit etmişlerdir. Bu ikinci dönem larvaların moleküler teşhislerinde 9 örnek *M. arenaria*, 8 örnek *M. hapla*, 76 örnek *M. incognita*, 16 örnek *M. javanica*, 4 örnek ise *M. incognita* ve *M. javanica* ile karışık populasyonlar olduğu, 3 örneğin teşhis edilemediğini, 3 örnekte de üretilmediğini bildirmişlerdir.

Karajeh ve ark. (2005), Kök-ur nematodlarının üç türü *M. javanica*, *M. incognita* ırk-1 ve ırk-2 ve *M. arenaria* ırk-2 bu türleri ve ırkları morfolojik karakterler, farklı konukçu testleri ve SCAR-PCR yöntemleri ile belirlemişlerdir. Kök-ur nematodlarının virülensliğini Mi genine sahip dayanıklı 'Betterboy' ve hassas 'Rutgers' domates çeşitlerinde üreme oranlarına bakmışlardır. 83 populasyondan 3 *M. javanica* populasyonunun virulent olduğu 'Betterboy' dayanıklı domates çeşidinde kök gal indeksi 4.73 olduğunu tespit etmişlerdir.

Jacquet ve ark. (2005), *M. incognita*'nın 7 popülasyonunu Mi geni taşıyan domatesde virülensliklerini incelemişlerdir. 2. dönem larva inokulasyonundan sonra kök sisteminde yumurta kümesini saymışlardır. Nematodların üremesini heterozigot domates genotipinde homozigot genotiplerden daha fazla ürediğini bildirmişlerdir. Mi geni içeren heterozigot domates genotiplerinde Nematodların üremesi domates genetik bankraundunun önemli etkili olduğuna işaret etmektedirler. Bu sonuçlar ıslah stratejilerinde ve Mi geninin dayanıklılığının sürekliliğinde önemli sonuçlar olduğunu bildirmişlerdir.

Powers ve ark. (2005), Patates alanlarında yaptıkları survey çalışmasında topraktan elde ettikleri ikinci dönem Kök-ur nematodu larvalarından moleküler teşhis yapmışlardır. C2F3/ 1108 primerleri ile *M. arenaria* 1kb, *M. incognita* ve *M. javanica* 1.5 kb, bunu *HinfI* ile kesildiğinde *M. incognita* 1,15 ve 0,35 kb bant oluşturduğunu, *M. javanica*'nın ise bant oluşturmadığı tespit etmişlerdir. *M. chitwoodi* 0,52 kb bant oluşturduğunu bunu *DraI* ile kesildiğinde 260 bp, 120 bp, 85 bp ve 40 bp de bant oluşturduğunu bildirmişlerdir. C2F3/1108 PCR ürününü 18 S primer seti ile PCR yapıldığında *M. chitwoodi* 636 bp bant oluşturduğunu, *AluI* ile kesiminde 350,115,85 ve 50 bp de bant oluşturduğunu saptamışlardır.

Tzortzakakis ve ark. (2005), Kök-ur nematodunun 9 popülasyonu Yunanistan'da SCAR PCR ve izoenzim fenotipleri yöntemi ile *M. javanica* ve *M. incognita* tespit etmişlerdir. *M. javanica* ve *M. incognita* popülasyonlarını dayanıklı domates çeşidinde saksı denemesinde virülensliklerini incelemişlerdir. Dayanıklılığı kıran *M. incognita*'nın bir popülasyonu bu ülkede ilk defa tespit etmişlerdir.

Lopez-Perez ve ark. (2006), Hassas domates çeşidi ve Mi geni taşıyan 'Beaufort' anacına aşılı domatesler *M. incognita* popülasyonunun olduğu yüksek nematod yoğunluğunda serada yetiştirilmişlerdir. 'Beaufort' anacının olduğu domatesden daha fazla ürün almışlar, hasatta gal indeksi ve 2. dönem larva sayısı düşük tespit etmişlerdir. Mi geni taşıyan domates çeşitleri arasında büyük farklılıklar olduğunu bazılarının dayanıklı tolerant olabileceğini, aşılama yönteminde anaç seçiminin önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Petrillo ve ark. (2006), Kök-ur nematodlarından üç *M. incognita* popülasyonunu dayanıklı bitkide virülensliklerine bakmışlardır. Dayanıklı börtölcede

nematodun virülensliklerini % 0, % 75 ve % 120 olarak tespit etmişlerdir. Bu populasyonlardan % 75 virülensliği olan populasyonun olduğu yerde 5 yıl hassas domates yetiştirdikten sonra virülensliğinin % 4'e düştüğünü tespit etmişlerdir. Virülensliğinin düşme oranı orada hassas konukçular yetiştirildikçe virülensliğini kaybettiğine işaret etmişlerdir. Virülensliği % 0,2 ve % 8,1 virulent populasyonlar 5 yıl aynı yerde yetiştirildiğinde dayanıklı Rk börülce bitkisinde virülensliklerinin % 129 ve % 172 olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışma Kök-ur nematodlarına dayanıklı bitkiler yetiştirildiği zaman hassas itkilerle veya diğer ürünlerle münavebe yapılması gerektiğini bildirmişlerdir.

Adam ve ark. (2007), En yaygın ve ekonomik öneme sahip Kök-ur nematodu türlerini ayıran moleküler protokol oluşturmuşlardır. Bu oluşturdukları moleküler protokolla *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. mayaguensis*, *M. hapla*, *M. chitwoodi* ve *M. fallax* türlerini ayırabildiklerini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada Kök-ur nematodu türlerini belirlemek amacıyla Türkiye'nin değişik bölgelerinden toplanan Kök-ur nematodu populasyonları kullanılmıştır (Çizelge 1, Şekil 3.1.).

Çizelge 3.1. Kök-ur nematodu populasyonlarının 2004 yılında Türkiye genelinde toplandıkları bölge, il ve konukçu bitkileri

Örnek kodu	Bölge	İl	Konukçu Bitki
01- Sn-1	Akdeniz	Adana	İt üzümü(<i>Solanum nigrum</i>)
01-Cs-1	Akdeniz	Adana	Hıyar(<i>Cucumis sativus</i>)
01-Cs-2	Akdeniz	Adana	Hıyar (<i>C. sativus</i>)
01-Cs-3	Akdeniz	Adana	Hıyar (<i>C. sativus</i>)
01-M	Akdeniz	Adana	Dut (<i>Morus spp</i>)
01-Fc-1	Akdeniz	Adana	İncir (<i>Ficus carica</i>)
33-CI-1	Akdeniz	Mersin	Karpuz (<i>Citrullus lanatus</i>)
33-Mc-1	Akdeniz	Mersin	Muz (<i>Musa cavendish</i>)
01-Pg-1	Akdeniz	Adana	Misis Nar (<i>Punica granatum</i>)
33-SI-1	Akdeniz	Mersin	Domates(<i>Solanum lycopersicum</i>)
33-Sm-1	Akdeniz	Mersin	Patlıcan(<i>S. melongena</i>)
33-Ca-1	Akdeniz	Mersin	Biber (<i>Capsicum annuum</i> L.)
33-Ca-2	Akdeniz	Mersin	Biber (<i>Capsicum annuum</i>)
33-Cs-1	Akdeniz	Mersin	Hıyar (<i>C. sativus</i>)
33-Cs-2	Akdeniz	Mersin	Hıyar (<i>C. sativus</i>)
33-SI-2	Akdeniz	Mersin	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
07-SI-1	Akdeniz	Antalya	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
07-SI-2	Akdeniz	Antalya	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
07-SI-3	Akdeniz	Antalya	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
31-SI-1	Akdeniz	Hatay	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
31-SI-2	Akdeniz	Hatay	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
31-Cs-1	Akdeniz	Hatay	Hıyar (<i>C. sativus</i>)
31-Cs-2	Akdeniz	Hatay	Hıyar (<i>C. sativus</i>)

Çizelge 3.1.'in devamı

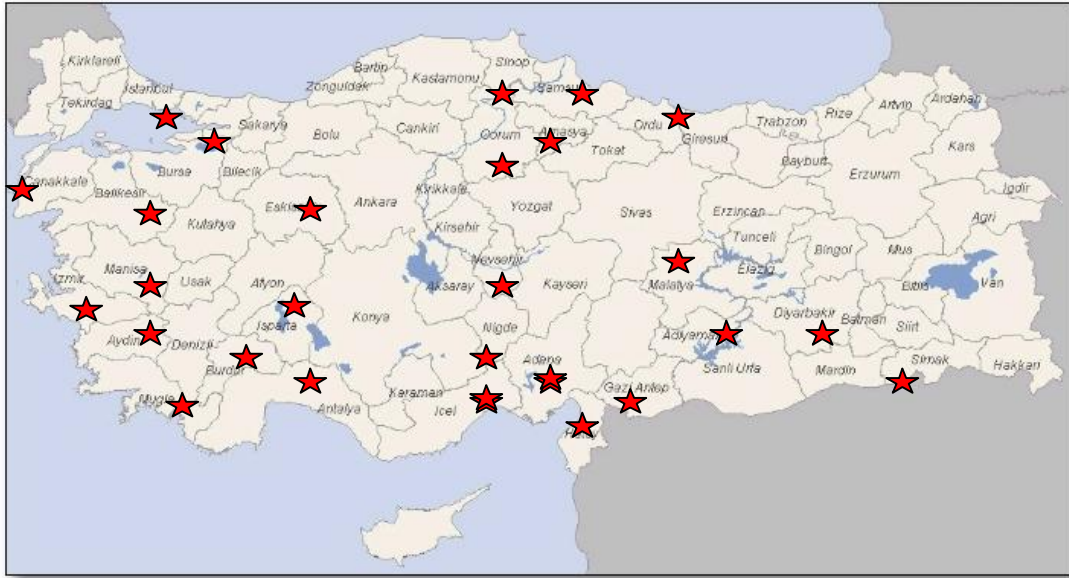
Örnek kodu	Bölge	İl	Konukçu Bitki
09-Cs-1	Ege	Aydın	Hıyar (<i>C. sativus</i>)
09-Cs-2	Ege	Aydın	Hıyar (<i>C. sativus</i>)
09-Sl-1	Ege	Aydın	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
09-Sl-2	Ege	Aydın	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
26-Sl-1	İçanadolu	Eskişehir	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
35-Cs-1	Ege	İzmir	Hıyar (<i>C. sativus</i>)
35-Sl-1	Ege	İzmir	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
45-Sl-1	Ege	Manisa	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
45-Sl-2	Ege	Manisa	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
45-Sm-1	Ege	Manisa	Patlıcan (<i>S. melongena</i>)
48-Sl-1	Ege	Muğla	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
48-Cs-1	Ege	Muğla	Hıyar (<i>C. sativus</i>)
17-Sl-1	Marmara	Çanakkale	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
17-Sl-2	Marmara	Çanakkale	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
17-Sl-3	Marmara	Çanakkale	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
10-Sl-1	Marmara	Balıkesir	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
34-Sl-1	Marmara	İstanbul	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
34-Sl-2	Marmara	İstanbul	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
77-Sl-1	Marmara	Yalova	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
77-Cs-1	Marmara	Yalova	Hıyar (<i>C. sativus</i>)
32-Sl-1	İçanadolu	Isparta	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
32-Cs-1	İçanadolu	Isparta	Hıyar (<i>C. sativus</i>)
15-Sl-1	İçanadolu	Burdur	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
26-Sl-2	İçanadolu	Eskişehir	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
26-Cs-1	İçanadolu	Eskişehir	Hıyar (<i>C. sativus</i>)
51-St-1	İçanadolu	Niğde	Patates(<i>S. tuberosum</i>)
51-St-2	İçanadolu	Niğde	Patates (<i>S. tuberosum</i>)
51-St-3	İçanadolu	Niğde	Patates (<i>S. tuberosum</i>)

Çizelge 3.1.'in devamı

Örnek kodu	Bölge	İl	Konukçu Bitki
51-St-4	İçanadolu	Niğde	Patates (<i>S. tuberosum</i>)
51-St-5	İçanadolu	Niğde	Patates (<i>S. tuberosum</i>)
50-St-1	İçanadolu	Nevşehir	Patates (<i>S. tuberosum</i>)
50-St-2	İçanadolu	Nevşehir	Patates (<i>S. tuberosum</i>)
52-Sl-1	Karadeniz	Ordu	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
52-Sl-2	Karadeniz	Ordu	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
55-Cs-1	Karadeniz	Samsun	Hıyar (<i>C. sativus</i>)
55-Cs-2	Karadeniz	Samsun	Hıyar (<i>C. sativus</i>)
55-Cs-3	Karadeniz	Samsun	Hıyar (<i>C. sativus</i>)
05-Sl-1	Karadeniz	Amasya	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
05-Cs-1	Karadeniz	Amasya	Hıyar (<i>C. sativus</i>)
57-Sl-1	Karadeniz	Sinop	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
57-Cs-1	Karadeniz	Sinop	Hıyar (<i>C. sativus</i>)
19-Sl-1	Karadeniz	Çorum	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
27-Vv-1	Güneydoğu	G.Antep	14 bağ (<i>Vitis vinifera</i>)
73-Sl-1	Güneydoğu	Şırnak	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
02-Sl-1	Güneydoğu	Adıyaman3	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
02-Sl-2	Güneydoğu	Adıyaman1	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
27-Os-1	Güneydoğu	G.Antep	Zeytin (<i>Olea sativa</i>)
44-Sl-1	Güneydoğu	Malatya	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
21-Sl-1	Güneydoğu	Diyarbakır Çermik	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
21-Sl-2	Güneydoğu	Diyarbakır Bismil	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
21-Sl-3	Güneydoğu	Diyarbakır Dikili	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)
27-Vv-2	Güneydoğu	G.Antep	G.Antep13 bağ (<i>V. vinifera</i>)
21-Sl-4	Güneydoğu	Diyarbakır çınar	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)

Çizelge 3.1'in devamı

Örnek Kodu	Bölge	İl	Konukçu Bitki
51-St-6	İç Anadolu	Niğde	Patates (<i>S. tuberosum</i>)
M.in	<i>M. incognita</i>	Laboratuvar kontrol örneği	
M.ja	<i>M. javanica</i>	Laboratuvar kontrol örneği	



Şekil 3.1. ★ :Kök-ur Nematod Örneklerinin Toplandığı İller

3.1. Kök-ur Nematodu Örneklerinin Toplanması

Türkiye'nin farklı bölgelerini oluşturan illerinden tüm coğrafik bölgeleri temsil edecek şekilde bir kısmı Tarım İl Müdürlükleri ile irtibat kurularak, bir kısmı ise arazi surveyleri ile tarafımızdan temin edilmiştir (Çizelge 1). Patates yetiştiriciliğinin yapıldığı Niğde-Nevşehir illerinde Kök-ur nematod örnekleri tarafımızca alınmıştır.

3. 2. Örneklerin Saf Kültürlerinin Oluşturulması

Bu çalışmada, toplanan Kök-ur nematod örnekleri, Kök-ur nematodlarına duyarlı domates çeşidi "Simita F1" köklerinde çoğaltılmış ve saf kültürleri

oluşturulmuştur. İllerden alınan Kök-ur nematodlu örneklerden topraktan Baermann Huni yöntemi ile ikinci dönem Kök-ur nematod larvaları elde edilmiştir. Domates fideleri 2. gerçek yapraklı döneme geldiğinde otoklav kullanılarak steril edilen kumlu (% 80 kum, % 5 mil ve % 15 toprak) toprak içeren saksılara şaşırtılmıştır. Toprakten elde edilen Kök-ur nematodu larvaları nematodların saf kültürleri için 25 ± 1 °C'de % 65 neme sahip iklim odasında 11 cm çapında (500 cm^3 hacimde) içerisinde bulunan saksılara dikilen 2. ve 4. gerçek yaprak döneminde hassas domates çeşidine kök boğazı etrafında 2 cm derinliğinde açılan deliklere inokulasyon işlemi yapılmıştır. Nematodların gelişmesi için 6-8 hafta bekletilip bitkiler sökülüş, köklerinde oluşmuş yumurta paketleri binoküler altında çıkarılarak tekerrürlü olarak hassas 2- 4. gerçek yaprak döneminde yeni domates fidelerine birer yumurta paketi inokulasyon yapılmış ve 60 gün bekletildikten sonra iyi üreyen biri alınmıştır. Kök-ur nematod popülasyonları bu şekilde saflaştırılmıştır. Daha sonra saflaştırılan bu popülasyonlar her iki ayda bir iklim odasında yeni hassas domates fidelerine inokulasyon yapılarak popülasyonlar devam ettirilmişdir. Kök-ur nematodları obligat olduklarından dolayı bitki öldüğü zaman türler kaybolmaktadır. Bundan dolayı devamlı hassas domates fidelerinde üretimleri gerekmektedir.

Yumurta paketi veya larva gerektiği zamanlarda bu hassas domates fidelerinin köklerinde oluşan Kök-ur nematodlarının yumurta paketleri binoküler altında toplanmıştır. Bu yumurta kümelerinden ve 2. dönem larvalardan DNA izolasyonu yapılmıştır. Daha sonra saf kültürlerde çalışan primer sistemlerinin popülasyonlarda etkin çalışıp-çalışmadığı kontrol edilmiştir.

3.3. Saf Kültür Popülasyonlarının Morfolojik Tanımlanması

3.3.1. Dişi Bireylerin Preparat Çalışmaları

Kök-ur nematodlarının tür ayrımlarında önemli morfolojik kriterlerden birisi dişi bireylerin vulva-anüs kısımlarını içeren perineal bölgeleridir (Hooper, 1986; Jepson, 1987). Teşhiste kullanılan dişi Kök-ur nematodu bireyleri urlu bitki köklerinden binoküler altında pens ve bisturi yardımıyla dişi bireyler çıkarılarak

perineal bölgeleri % 45 laktik asit içerisinde kesilip gliserin içerisinde süreli preparatları yapılarak, tür düzeyinde teşhisleri Jepson (1987)'dan faydalanılarak yapılmıştır.

Kök-ur nematodlarının ikinci dönem larvalarından tür düzeyinde teşhis edilebilmesi için bunların usulüne göre öldürülerek daimi preparatlarının yapılması gerekmektedir. Bu amaçla yumurta paketlerinden elde edilen 2. dönem larvalar etüvde 60 °C'de 5 dakika bekletilerek öldürülmüş ve TAF çözeltisi (7 ml formalin (% 40 formaldehid) + 2 ml triethanolamin + 91 ml saf su) içerisinde fikse edilmiştir (Hooper, 1986). Fikse edilen nematodlar Seinhorst (1959) yöntemine göre gliserin içerisine alınmıştır. Bunun için nematodlar ilk önce 20 kısım ethanol (% 96), 1 kısım gliserin ve 79 kısım saf sudan meydana gelen birinci çözeltiye aktararak 35–40 °C'de 12 saat bekletilmiştir. Daha sonra ise 5 kısım gliserin ve 95 kısım ethanol (% 96) içeren ikinci çözeltiye alınmış ve burada da 40 °C'de 3 saat tutulduktan sonra sıvı içerisindeki suyun tamamının çekilmesi amacıyla desikatör içinde bir süre bekletilmiştir. Bu şekilde saf gliserin içerisine alınan ikinci dönem Kök-ur nematodu larvaları lam üzerinde sabitleştirilerek, tür teşhisine hazır duruma getirilmiştir.

3.3.2. Larva Ölçümleri

İkinci dönem larvaların özellikleri ve ölçümler Karssen (2002) dikkate alınarak yapılmıştır.

3.4. Moleküler Çalışmalar

3.4.1. DNA İzolasyonu

Kök-ur nematodu yumurta kümelerinden DNA izolasyonu, Promega DNA izolasyon kiti (Madison, Wisconsin, USA) kullanılarak yapılmıştır. DNA izolasyonu aşağıdaki basamaklara göre gerçekleşmiştir.

a. Yumurta kümeleri 1,5 ml eppendorf tüpüne koyuldu ve üzerine 500 mikrolitre Nuclei Lysis Solution ilave edildi ve ezildi. Daha sonra 65 °C'de 15

dakika inkübe edildi.

b. İnkübasyondan alınan örneklerin her birine 3 mikrolitre RNase Solution ilave edildikten sonra 37 °C’de 15 dakika inkübe edildi.

c. Her bir örnek üzerine 200 mikrolitre Protein Precipitation Solution ilave edildikten sonra 20 saniye vorteks yapıldı.

d. Örnekler 12.000 rpm de 5 dakika santrifüj yapıldı. Üst faz dikkatlice alınıp yeni 1,5 ml eppendorf tüpüne aktarıldı. Üzerine 600 mikrolitre isopropanol ilave edildi.

e. 13000 rpm de 5 dakika santrifüj yapıldıktan sonra üst faz döküldü ve 600 mikrolitre % 70’lik etanol ile örnekler yıkandı.

f. Pellet oda sıcaklığında kuruduktan sonra 100 mikrolitre DNA Rehydration Solution ile çözüldü.

3.4.2. Tür-Spesifik Primerlerle Moleküler Tanımlamaların Yapılması

Çalışmaya konu olan Kök-ur nematod örneklerini türlere özgü spesifik primerler kullanılarak tanımlamak için Çizelge 3.2’de belirtilen primerler ilgili literatürde belirtildiği gibi kullanılmıştır (Vrain ve ark., 1992; Zijlstra ve ark., 2000; Powers ve Harris, 1993; Dong ve ark., 2001).

Çizelge 3.2. Kök-ur nematod örneklerinin moleküler tanımlanmasında kullanılan primerlerin adları, dizileri, fragment büyüklükleri ve ilgili kaynaklar

Primer adı	Kök-ur nematod türü	DNA band büyüklüğü (bp)	Primer dizisi (5-3)	Kaynaklar
18 S	Bütün ekonomik öneme sahip türler	720	TCATTACGTCCCTGCCCTTTG	Vrain, 1992
28 S			TTTCACTCGCCGTTACTAAGG	
C2F3	Bütün ekonomik öneme sahip türler		GGTCAATGTTTCAGAAATTTGTGG	Powers ve Harris, 1993
1108			TACCTTTGACCAATCACGCT	

Çizelge 3.2'nin devamı

Primer adı	Kök-ur nematod türü	DNA band büyüklüğü (bp)	Primer dizisi (5-3)	Kaynaklar
18sl.2/			GGCGATCAGATACCGCCCTAGTT	Powers ve ark., 2005
18sr2b			TACAAAGGGCAGGGACGTAAT	
OPA-01			CAGGCCCTTC	Cenis, 1993
OPA-02			TGCCGAGCTG	
OPA-03			AGTCAGCCAC	
OPA-04			AATCGGGCTG	
OPAAI-14			TGGTGCATC	
Far	<i>M. arenaria</i>	420	TCGGCGATAGAGGTAAATGAC	Zijlstra ve ark., 2000
Rar			TCGGCGATAGACACTACAACT	
Fjav	<i>M. javanica</i>	670	GGTGC GCGATTGAACTGAGC	Zijlstra ve ark., 2000
Rjav			CAGGCCCTTCAGTGGAACTATAC	
Finc	<i>M. incognita</i>	1200	CTCTGCCCAATGAGCTGTCC	Zijlstra ve ark., 2000
Rinc			CTCTGCCCTCACATTAGG	
Ff	<i>M. fallax</i>	530	CCATTTCTGCTAAATGCCAACTA	Zijlstra., 2000
Rf			GGACACAGTAATTCATGAGCTAG	
Fh	<i>M. hapla</i>	610	TGACGGCGGTGAGTGCGA	Zijlstra., 2000
Rh			TGACGGCGGTACCTCATAG	
Fc2	<i>M. chitwodi</i>	755	GGCATTGACGTGCTCCGAGAGT	Zijlstra., 2000
Rc			GGTCTGAGTGAGGACAAGAGTA	
F	<i>M. incognita</i>	1350 and 1370	TAGGCAGTAGGTTGTCGGG	Dong ve ark., 2001
R			CAGATATCTCTGCATTGGTGC	
DAF	<i>M. arenaria</i>	950	TCGAGGGCATCTAATAAAGG	Dong ve ark., 2001
DAR			GGGCTGAATATTCAAAGGAA	
DHF	<i>M. hapla</i>	1500	GGCTGAGCATAGTAGATGATGTT	Dong ve ark., 2001
DHF			ACCCATTAAAGAGGAGTTTTGC	
DJF	<i>M. javanica</i>	1650	CCTTAATGTCAACACTAGAGCC	Dong ve ark., 2001
DJF			GGCCTTAACCGACAATTAGA	

3.4.2.1. *Meloidogyne arenaria* Spesifik Far ve Rar Primerleriyle PCR

PCR reaksiyonu DNA (20 ng), PCR tampon çözelti (2,5 mikrolitre), 1.5 mM MgCl₂ (2 mikrolitre), 200 µM dNTP, 10 mikromolar Primer Far (1 mikrolitre), 10

mikromolar Primer Rar (1 mikrolitre), 1 unit Taq DNA polymerase (0,25 mikrolitre) ve dSu (12.25 mikrolitre) olacak şekilde toplam 25 mikrolitrede gerçekleştirilmiştir.

PCR Döngüsü, 94 °C de 30 sn, 62 °C de 30 sn, 72 °C de 60 sn ve PCR 35 döngü olacak şekilde tamamlanmıştır. PCR ürünleri % 2 lik agaroz jelde yürütüldükten sonra görüntülenmiştir. PCR sonucu sadece *M. arenaria* olan örneklerde 420 bp uzunluğunda DNA bandı elde edilmiştir.

3.4.2.2. *Meloidogyne javanica* Spesifik Fjav ve Rjav Primerleriyle PCR

PCR reaksiyonu DNA (20 ng), PCR tampon çözelti (2,5 mikrolitre), 1.5 mM MgCl₂, 200 µM dNTP (1 mikrolitre), 10 mikromolar Primer Fjav (1 mikrolitre), 10 mikromolar Primer Rjav (1 mikrolitre), 1 unit Taq DNA polymerase (0,25 mikrolitre) ve dSu (12.25 mikrolitre) olacak şekilde toplam 25 mikrolitrede gerçekleştirilmiştir.

PCR Döngüsü, 94 °C de 30 sn, 56 °C de 30 sn, 72 °C de 60 sn ve PCR 35 döngü olacak şekilde tamamlanmıştır. PCR ürünleri % 2 lik agaroz jelde yürütüldükten sonra görüntülenmiştir. PCR sonucu sadece *M. javanica* olan örneklerde 670 bp uzunluğunda DNA bandı elde edilmiştir.

3.4.2.3. *Meloidogyne incognita* Spesifik Finc ve Rinc Primerleriyle PCR

PCR reaksiyonu DNA (20 ng), PCR tampon çözelti (2,5 mikrolitre), 1.5 mM MgCl₂, 200 µM dNTP (1 mikrolitre), 10 mikromolar Primer Finc (1 mikrolitre), 10 mikromolar Primer Rinc (1 mikrolitre), 1 unit Taq DNA polymerase (0,25 mikrolitre) ve dSu (12.25 mikrolitre) olacak şekilde toplam 25 mikrolitrede gerçekleştirilmiştir.

PCR Döngüsü, 94 °C de 30 sn, 56 °C de 30 sn, 72 °C de 60 sn ve PCR 35 döngü olacak şekilde tamamlanmıştır. PCR ürünleri % 2 lik agaroz jelde yürütüldükten sonra görüntülenmiştir. PCR sonucu sadece *M. incognita* olan örneklerde 1200 bp uzunluğunda DNA bandı elde edilmiştir.

3.4.2.4. *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. chitwoodi* Spesifik C2F3 ve 1108 Primerleriyle PCR

PCR reaksiyonu DNA (20 ng), PCR tampon çözelti (2,5 mikrolitre), 1.5 mM MgCl₂, 200 µM dNTP (1 mikrolitre), 10 mikromolar Primer C2F3 (1 mikrolitre), 10 mikromolar Primer 1108 (1 mikrolitre), 1 unit Taq DNA polymerase (0,25 mikrolitre) ve dSu (12.25 mikrolitre) olacak şekilde toplam 25 mikrolitrede gerçekleştirilmiştir.

PCR Döngüsü, başlangıçta 94 °C 60 sn, sonra 94 °C de 30 sn, 50 °C de 30 sn, 72 °C de 120 sn ve PCR 40 döngü olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri % 2 lik agaroz jelde yürütüldükten sonra görüntülenmiştir. PCR sonucu, *M. incognita* ve *M. javanica* türleri 1700 bp, *M. arenaria* türü 1100 bp ve *M. chitwoodi* türü ise 520 bp uzunluğunda DNA bandı oluşturmuştur. *M. chitwoodi* için C2F3/1108 primerleri sonucu elde edilen PCR ürünü DraI enzimiyle 37 C de 3 saat bekletilerek kesim işlemi yapılmıştır.

3.4.2.5. *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. chitwoodi* Spesifik 18s1.2/18sr2b Primerleriyle PCR

PCR reaksiyonu DNA (20 ng), PCR tampon çözelti (2,5 mikrolitre), 1.5 mM MgCl₂, 200 µM dNTP (1 mikrolitre), 10 mikromolar Primer C2F3 (1 mikrolitre), 10 mikromolar Primer 1108 (1 mikrolitre), 1 unit Taq DNA polymerase (0,25 mikrolitre) ve dSu (12.25 mikrolitre) olacak şekilde toplam 25 mikrolitrede gerçekleştirilmiştir.

PCR Döngüsü, 94 °C de 30 sn, 55 °C de 30 sn, 60 °C de 120 sn ve PCR 40 döngü olacak şekilde tamamlanmıştır. PCR ürünleri % 2 lik agaroz jelde yürütüldükten sonra görüntülenmiştir. PCR sonucu, *M. incognita* ve *M. javanica* türleri 1700 bp, *M. arenaria* türü 1100 bp ve *M. chitwoodi* türü de 636 bp uzunluğunda DNA bandı oluşturmuştur. 18s1.2/18sr2b primerleri sonucu elde edilen PCR ürünleri Alu enzimiyle 37 °C de 3 saat bekletilerek kesim işlemi yapılmıştır. Bunun için;

PCR ürünü (10 mikrolitre), 10xBuffer (2,5 mikrolitre), AluI Kesim Enzimi (1 mikrolitre-unit) ve dSu (11,5 mikrolitre) olacak şekilde örneklerin kesimi gerçekleştirilmiştir. Kesilen örnekler % 2,5'lik agarozda yürütülerek fotoğraflanmıştır.

3.4.3. Genetik Varyasyon Çalışmaları

Çalışmada türler ve tür içleri arasında genetik varyasyonu belirlemek için daha önce belirlenen RAPD primerleri kullanılmıştır.

PCR reaksiyonu DNA (5 mikrolitre, 20 ng), PCR Buffer (2,5 mikrolitre), 1.5 mM MgCl₂ (2 mikrolitre), 200 µM dNTP (1 mikrolitre), 10 mikromolar RAPD Primer (2 mikrolitre), 1 unit Taq DNA polymerase (0,25 mikrolitre) ve dSu (12,25 mikrolitre) olacak şekilde toplam 25 mikrolitrede gerçekleştirilmiştir.

PCR Döngüsü, 94 °C de 30 sn, 35 °C de 30 sn, 60 °C de 60 sn ve PCR 45 döngü olacak şekilde tamamlanmıştır. PCR ürünleri % 2 lik agaroz jelde yürütüldükten sonra görüntülenmiştir.

3.5. Moleküler Veri Analizleri ve Türlerle Ait Filogenetik İlişkinin Belirlenmesi

Çalışmaya konu olan Kök-ur nematod örneklerinden Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) marker yöntemi ile parmak izi çıkarılmıştır. DNA bantların değerlendirilmesi, bant varsa “1” yoksa “0” olarak yapılmıştır. Elde edilen bant verileri, NTSYS-pc versiyon 2.0 (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System, NTSYS-pc version 2.1 Exeter Software, Setauket, N.Y., USA, Rohlf, 1993) programında değerlendirilmiştir. Dendrogram UPGMA (unweighted pair-group method algorithm) yöntemi kullanılarak belirlenmiş ve benzerlik indeksleri Dice (1945)'e göre hesaplanmıştır.

3.6. Dayanıklılıklarının Testlenmesi İçin Populasyonların Üretimi

Farklı bölgelerden alınan örneklerden moleküler yöntemlerle belirlenen Kök-ur nematodu türlerinden aynı türler alınarak, bu populasyonların duyarlı olarak

bilinen “Simita F1” domates çeşitlerinde üretimleri yapılmıştır. Üretim sonunda bitki köklerinde oluşan yumurta paketleri binoküler altında toplanarak, geliştirilmiş Baerman-huni yöntemiyle 2. dönem larvalar elde edilmiş ve ışıklı mikroskop altında sayımları yapılarak inokulasyona hazır hale getirilmiştir.

3.7. Denemenin Kurulması ve Değerlendirilmesi

Bu çalışmada farklı bölgelerden toplanan Kök-ur nematodlarından moleküler yöntemlerle belirlenen 8 adet *M. incognita*, 13 adet *M. arenaria* ve 7 adet *M. javanica*’nın virülentliği RN’li domates çeşidi olan Malike RN F1(Tezier) ve hassas Picasso (Altın Tohumculuk) çeşitleri testleyerek populasyonlar içerisinde virulent populasyon olup olmadığı araştırılmıştır.

Piyasada dayanıklı olarak satılan Malike F1 domates çeşiti (RN) Kök-ur nematodu türlerine karşı dayanıklılık durumları $25\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta ve % 60 ± 10 orantılı nem koşullarında incelenmiştir. Bir çeşidin dayanıklı veya duyarlı olması birçok etmene bağlı olup, bunlar bazı durumlarda dayanıklılığın sürekliliğini etkilemektedir. Bu etmenlerden en önemlisi sıcaklık olup Kök-ur nematodlarında 28°C ’nin üzerindeki sıcaklıklar dayanıklılığı olumsuz etkileyebilmektedir (Fassuliotis, 1985). Bu nedenle çalışmada $25\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve % 60 ± 10 orantılı nem koşullarında dayanıklılıkları araştırılmıştır. Bu şekilde denemeye alınan sebze çeşitlerinin dayanıklılık durumları araştırılarak sonuçların daha sağlıklı bir şekilde pratiğe aktarılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla denemeye alınan sebze çeşitleri 4 tekerrürlü olacak şekilde 11 cm çapında ve 500 cm^3 hacimlik plastik saksılara şaşırtılmıştır. Saksılarda kullanılan toprak yapısı; % 80 kum, % 5 mil ve % 15 toprak olacak şekilde hazırlanmış ve deneme öncesi otoklav yapılarak dezenfekte edilmiştir. Sebze fideleri yukarıda belirtilen özelliklerde hazırlanmış olan saksı toprağına şaşırtılarak, sulama ve gübreleme gibi rutin yetiştirme işlemleri yapılmıştır. Bitkiler yaklaşık 2-4 gerçek yapraklı dönemine ulaştıklarında üretimi yapılan Kök-ur nematodu türlerinin 2. dönem larvaları bitki başına 1000 adet olacak şekilde kök bölgesinin yakınına açılan yaklaşık 2 cm derinliğindeki çukura inokule edilmiştir. *M. incognita* ırk-2 ve *M.*

javanica ırk-1 bir neslini genellikle 3-4 hafta içinde tamamladığından (Söğüt ve Elekçioğlu, 2000b), denemede 2 nesil sonra yaklaşık 7 hafta beklendikten sonra bitkiler değerlendirilmiştir. Sökülen bitkilerin hem kök sistemi hem de toprak analizleri yapılarak deneme değerlendirilmiştir.

Toprak analizleri geliştirilmiş Baermann-huni yöntemiyle sayımları yapılarak değerlendirilmiştir. Denemeye alınan çeşitlerin dayanıklılık veya duyarlılık özelliklerinin ortaya konması yalnızca ur oluşumuna göre değil, aynı zamanda Kök-ur nematodlarının yumurta oluşturmaya bağlıdır. Kök-ur nematodunun beslenmesi sonucu bir çeşidin köklerinde ur oluşabilir, ancak iyi bir konukçu olmadığı için Kök-ur nematodu yumurta üretemez. Bu durumda ur indeksi yapılan köklerde Hartman ve Sasser (1985) tarafından belirtilen ve aşağıda açıklanan 0-5 yumurta kesesi ve ur sayısı indekse göre köklerde 0-2 skala değeri bulunan bitkiler dayanıklı, 3-5 skala değeri alan bitkiler ise hassas olarak değerlendirilmiştir. Bu şekilde dayanıklı RN'li domates çeşidinde popülasyonların virulent olup olmadığına bakılmıştır.

0-5 Yumurta kesesi sayısı veya ur sayısı indeksi:

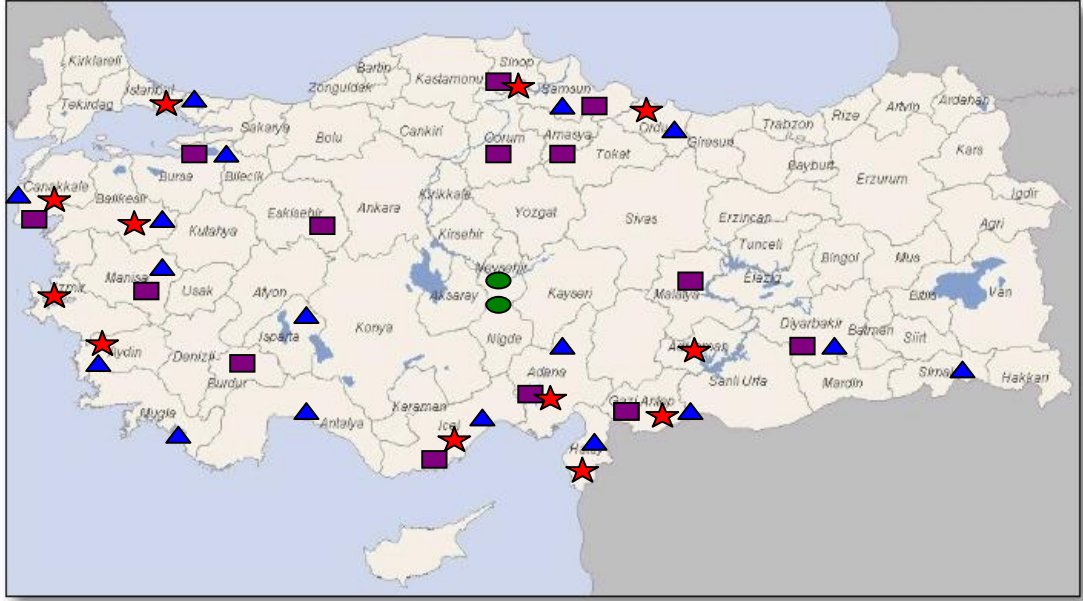
- 0: Kökte yumurta kesesi ve ur oluşumu yok.
- 1: Kökte 1-2 yumurta kesesi ve ur oluşumu var.
- 2: Kökte 3-10 yumurta kesesi ve ur oluşumu var.
- 3: Kökte 11-30 yumurta kesesi ve ur oluşumu var.
- 4: Kökte 31-100 yumurta kesesi ve ur oluşumu var.
- 5: Kökte 100'den fazla yumurta kesesi ve ur oluşumu var.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu proje çerçevesinde Türkiye'nin değişik alanlarından toplanan Kök-ur nematodu örnekleri, laboratuarda saflaştırılıp, kitle üretimleri yapıldıktan sonra moleküler yöntemler kullanılarak teşhis çalışmaları yürütülmüştür. Moleküler yöntemlerle yapılan teşhislerde *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* ve *M. chitwoodi* tespit edilmiştir (Şekil 4.1). Bu proje çerçevesinde Türkiye genelinden toplanarak saflaştırılan ve kitle üretimi yapılan 79 adet Kök-ur nematodu popülasyonundan 14 adet örnekte *M. incognita*, 18 örnekte *M. arenaria*, 19 örnekte *M. javanica* ve 8 örnekte *M. chitwoodi* saptanmış olup, bulunma oranları sırasıyla % 17.72, % 22.78, % 24.05, % 10.13 olmuştur. Ele alınan popülasyondan 20 (% 25.32) örnek moleküler olarak tanımlanamamıştır.

Klasik yöntemlerle yapılan teşhis sonucunda *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* ve *M. chitwoodi* tespit edilmiştir. Toplanan 79 popülasyondan 22 adedinin *M. incognita*, 21 adedinin *M. arenaria*, 28 adedinin *M. javanica* ve 8 adedinin *M. chitwoodi* olduğu, bunların bulunma oranlarının da sırasıyla % 27.85, % 26.58, % 35.44 ve %10.13 olduğu tespit edilmiştir.

Moleküler olarak tanımlanamayan, ancak klasik olarak tespit edilen 20 örnekten 8 örnek *M. incognita*, 9 örnek *M. javanica* ve 3 örnek ise *M. arenaria* olarak tespit edilmiştir (Ek 1, Ek 2, Ek 3, Ek 4). Tespit edilen 22 adet *M. incognita* popülasyonundan 14 örneğin (% 64) moleküler yöntemlerle teşhis edildiği, 8 örneğin (% 36) ise sadece klasik yöntemlerle teşhis edildiği ve moleküler yöntemlerle örtüşmediği tespit edilmiştir. Elde edilen 21 adet *M. arenaria* popülasyonundan 18 örnek (% 86) moleküler olarak tespit edilirken, 3 örneğin (% 14) ise sadece klasik yöntemle teşhis edildiği ve moleküler yöntemin klasik yöntemle örtüşmediği tespit edilmiştir. Tespit edilen 28 *M. javanica* popülasyonundan 19 örnek (% 68) moleküler olarak tespit edilirken, 9 örneğin (% 32) sadece klasik yöntemle teşhis edildiği ve moleküler yöntemle örtüşmedikleri tespit edilmiştir. Elde edilen 8 adet *M. chitwoodi* popülasyonu ise hem klasik ve hem de moleküler yöntemlerle teşhis edilmiş ve bu türün teşhisinde moleküler ve klasik teşhis yöntemlerinin % 100 oranında örtüştüğü tespit edilmiştir.



Şekil 4.1. Teşhis Edilen Kök-ur Nematod Türleri ■ : *M. arenaria*,

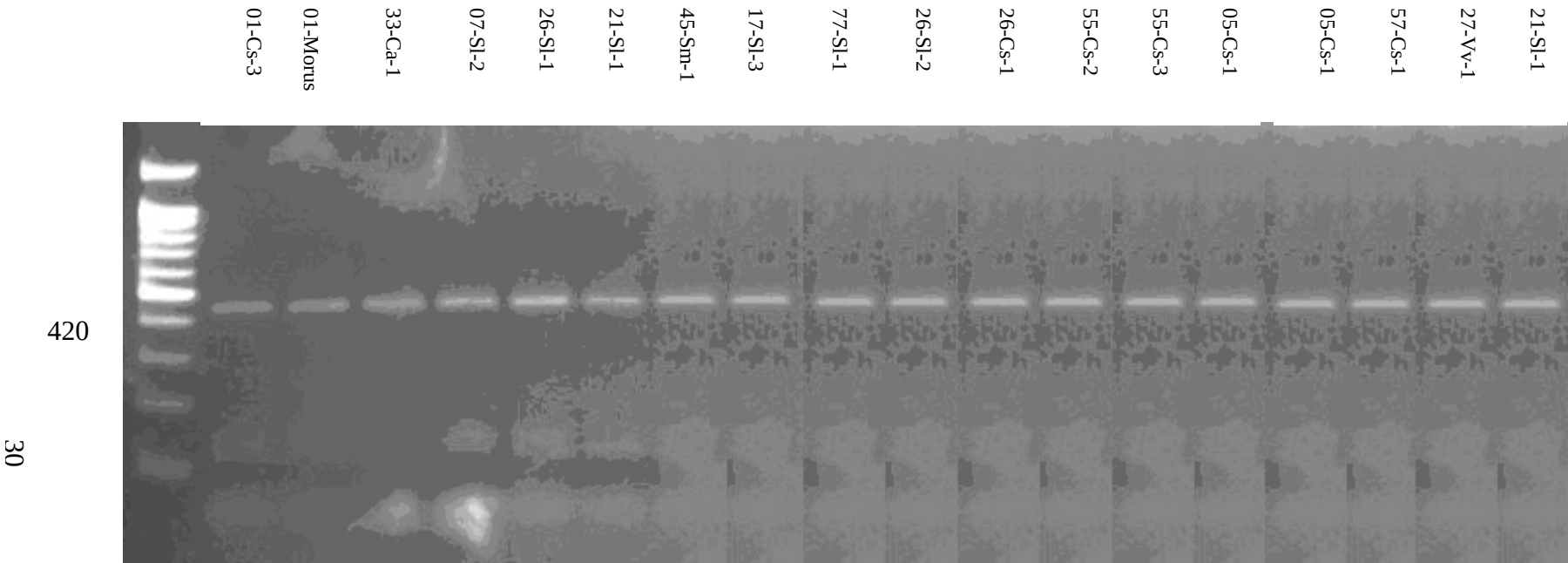
★ : *M. incognita*, ▲ : *M. javanica*, ● : *M. chitwoodi*

4.1. *Meloidogyne arenaria*'nın Tanımlanması

M. arenaria'yı belirlemek için, Zijlstra ve ark., (2000) tarafından geliştirilen bu türe özgü spesifik primerler kullanılmış ve *M. arenaria* özgü 420 bp DNA bandı elde edilmiştir. (Şekil 4.2). Bu türün bulunduğu alanlar Çizelge 4.1'de ve ikinci dönem larvalarına ait ölçüm değerleri Çizelge 4.2'de belirtilmiştir.

Çizelge 4.1. Moleküler olarak tanımlanan *Meloidogyne arenaria* populasyonları

Örnek kodu	İl	Konukçu Bitki	Moleküler Teşhis
01-Cs-3	Adana	Hıyar (<i>Cucumis sativus</i>)	<i>M. arenaria</i>
01-M	Adana	Dut (<i>Morus spp</i>)	<i>M. arenaria</i>
33-Ca-1	Mersin	Biber (<i>Capsicum annuum</i>)	<i>M. arenaria</i>
07-Sl-2	Antalya	Domates (<i>Solanum lycopersicum</i>)	<i>M. arenaria</i>
26-Sl-1	Eskişehir	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. arenaria</i>
45-Sl-1	Manisa	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. arenaria</i>
45-Sm-1	Manisa	Patlıcan (<i>S. melongena</i>)	<i>M. arenaria</i>
17-Sl-3	Çanakkale	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. arenaria</i>
77-Sl-1	Yalova	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. arenaria</i>
26-Sl-2	Eskişehir	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. arenaria</i>
26-Cs-1	Eskişehir	Hıyar (<i>C. sativus</i>)	<i>M. arenaria</i>
55-Cs-2	Samsun	Hıyar (<i>C. sativus</i>)	<i>M. arenaria</i>
55-Cs-3	Samsun	Hıyar (<i>C. sativus</i>)	<i>M. arenaria</i>
05-Sl-1	Amasya	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. arenaria</i>
05-Cs-1	Amasya	Hıyar (<i>C. sativus</i>)	<i>M. arenaria</i>
57-Cs-1	Sinop	Hıyar (<i>C. sativus</i>)	<i>M. arenaria</i>
27-Vv-1	G.Antep	Bağ (<i>Vitis vinifera</i>)	<i>M. arenaria</i>
21-Sl-1	Diyarbakır Çermik	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. arenaria</i>



Şekil 4.2. *Meloidogyne arenaria*'ya spesifik SCAR primerlerine göre 420 bp PCR ürünleri

Çizelge 4.2. Moleküler olarak teşhis edilen *Meloidogyne arenaria*'nın ikinci dönem larva ölçümleri

Karakterler	55-Cs-2	05-Cs-1	05-SI-1	07-SI-2	45-Sm-1	77-SI-1	26-SI-1	57-Cs-1	01-Morus	45-SI-1	Whitehead (1968)
Vücut uzunluğu (µm)	420.4 ± 54,9 (396,8 – 441,6)	410,6 ± 9,7 (384 – 430,5)	429 ± 7,2 (396,8-462,4)	425,42± 3,9 (406,4 – 448)	426 ± 2,6 (414,40 – 433,60)	424,32 ± 6,1 (416 – 448)	420 ± 4,8 (403,20 – 438,40)	421,92± 5,73 (396,80 – 460,80)	423,36 ± 6,82 (390,40 – 448)	424,71 ± 5,4 (403,20 – 448,00)	450-490
Vücut genişliği (µm)	14,3 ± 0,1 (13,6 – 14,4)	13,76 ± 0,3 (12,8 – 14,4)	13,7±0,3 (12,8 – 15,2)	14,31 ± 0,08 (13,6 – 14,4)	13,80 ± 0,2 (12,80 – 14,40)	14,08 ± 0,2 (13,60 – 14,40)	13,20 ± 0,2 (12,80 – 13,60)	14,24 ± 0,2 (13,60 – 15,20)	13,92 ± 0,2 (12,80 – 15,20)	13,86 ± 0,2 (12,80 – 15,20)	
Stilet tokmakçığı seviyesinde vücut genişliği (µm)	9,10 ± 0,2 (8,8 – 9,6)	8,80 ± 0,3 (8,00 – 9,6)	8,70 ± 0,1 (8,00 – 8,80)	8,36± 0,1 (8,00 – 8,80)	9,20 ± 0,2 (8,00 – 9,60)	9,12 ± 0,3 (8,00 – 9,60)	9,07 ± 0,3 (8,00-9,60)	8,48 ± 0,1 (8,00 – 8,80)	9,36 ± 0,1 (8,80 – 9,60)	8,98 ± 0,1 (8,80 – 9,60)	
S-E pore seviyesinde (µm)	13,1 ± 0,2 (12,8 – 13,6)	12,64 ± 0,2 (12,00-12,80)	12,70 ± 0,1 (12,00-12,80)	13,16 ± 0,1 (12,80 – 13,60)	12,50 ± 0,2 (11,20 – 12,80)	13,28 ± 0,2 (12,80-13,60)	12,40 ± 0,3 (11,20-12,80)	13,04 ± 0,1 (12,80 – 13,60)	12,72 ± 0,08 (12,00 – 12,80)	12,80 ± 0,1 (12,00 – 13,60)	
Anus seviyesinde vücut genişliği	9,9 ± 0,3 (8,8 – 11,2)	9,76 ± 0,2 (9,60 – 0,40)	9,70 ± 0,4 (8,00-11,20)	8,98 ± 0,3 (8,00 – 9,60)	9,50 ± 0,6 (6,40 – 11,20)	9,60 ± 0,0 (9,60 – 9,60)	10,00 ± 0,2 (9,60-10,40)	9,92 ± 0,2 (9,60 – 11,20)	10,08 ± 0,2 (8,80 – 11,20)	9,42 ± 0,3 (8,00 – 10,40)	

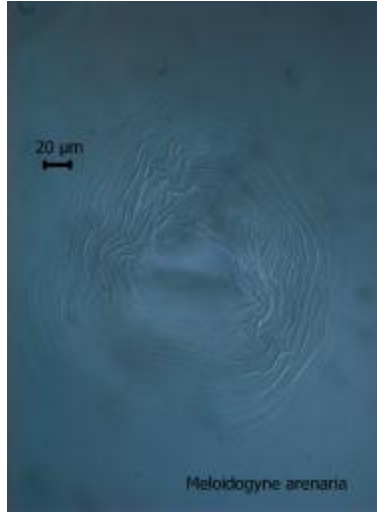
Çizelge 4.2.'nin devamı

Karakterler	55-Cs-2	05-Cs-1	05-Sl-1	07-Sl-2	45-Sm-1	77-Sl-1	26-Sl-1	57-Cs-1	01-Morus	45-Sl-1	
Stilet uzunluğu (µm)	13,8 ± 0,2 (12,8 – 14,4)	13,92 ± 0,3 (12,80 – 4,40)	13,20 ± 0,2 (12,80 – 14,40)	13,78 ± 0,2 (12,80- 14,40)	13,50 ± 0,2 (12,80 – 14,40)	14,08 ± 0,2 (13,60 – 14,40)	14,40 ± 0,0 (14,40 – 14,40)	13,68 ± 0,3 (12,80 – 14,40)	14,24 ± 0,1 (13,60 – 14,40)	13,42 ± 0,1 (12,80 – 13,60)	10
DGO (dorsal özefagus bezi) (µm)	4,2 ± 0,2 (3,2 – 4,8)	4,16 ± 0,3 (3,20 – 4,80)	4,30 ± 0,2 (4,00- 4,80)	4,18 ± 0,1 (4,00 – 4,80)	4,00 ± 0,2 (3,20 – 4,80)	4,32 ± 0,2 (4,00 – 4,80)	4,53 ± 0,2 (4,00 – 4,80)	4,08 ± 0,1 (3,20 – 4,80)	4,24 ± 0,1 (4,00 – 4,80)	4,71 ± 0,1 (4,00 – 4,80)	3
Kuyruk uzunluğu (µm)	49,8 ± 1,1 (44,8 – 54,4)	47,36 ± 1,3 (44,8 – 51,2)	48,60 ± 1,5 (43,2 – 56)	45,33 ± 0,8 (40 – 48)	49,85 ± 0,9 (44,80 – 52,40)	44,80 ± 0,9 (41,60 – 46,40)	48,53 ± 1,97 (40,00 – 54,40)	49,68 ± 1,3 (44,80 – 57,60)	47,84 ± 0,94 (43,20 – 52,80)	48,18 ± 0,98 (44,80 – 52,80)	
Kuyruk ucu (hyalin) uzunluğu(µm)	13,5 ± 0,4 (12 – 15,2)	12,32 ± 0,3 (11,2 – 12,8)	12,60 ± 0,6 (9,60- 16)	12,98 ± 0,3 (11,20 – 14,40)	13,30 ± 0,4 (12,00- 15,20)	12,80 ± 0,8 (10,40 – 14,40)	12,67 ± 0,5 (11,20 – 14,40)	12,72 ± 0,4 (11,20 – 14,40)	13,12 ± 0,5 (11,20 – 15,20)	13,24 ± 0,4 (11,20 – 14,40)	
Anüs-genital primordium arası (µm)	102 ± 1,3 (97,6 – 107,2)	99,20 ± 4,1 (91,20 – 113,60)	104,80 ± 2,5 (96,0- 115,2)	104,71 ± 1,5 (94,40 – 108,8)	109,20 ± 2,9 (97,60 – 121,60)	104,96 ± 2,5 (97,60- 112,00)	106,40 ± 3,7 (96,00 – 116,80)	103,20 ± 2,96 (84,80 – 113,60)	105,44 ± 2,4 (97,60 – 116,80)	106,84 ± 2,8 (92,80 – 116,80)	
a	29,4 ± 0,5 (27,6 – 32)	29,88 ± 0,8 (28,24 – 33)	31,45 ± 0,96 (27,56- 34,88)	29,74 ± 0,4 (28,22 – 31,65)	30,90 ± 0,4 (30,00 – 32,75)	30,15 ± 0,5 (28,89 – 31,18)	31,86 ± 0,6 (29,65- 34,25)	29,55 ± 0,5 (27,89 – 32,00)	30,47 ± 0,7 (27,11 – 32,82)	30,68 ± 0,5 (27,90 – 32,94)	26-32

Çizelge 4.2.'nin devamı

Karakterler	55-Cs-2	05-Cs-1	05-SI-1	07-SI-2	45-Sm-1	77-SI-1	26-SI-1	57-Cs-1	01-Morus	45-SI-1	
b'	6,5 ± 0,05 (6,2 – 6,69)	6,38 ± 0,07 (6,15 – 6,56)	6,77 ± 0,1 (6,54 – 7,41)	6,67 ± 0,06 (6,35 – 6,90)	6,64 ± 0,1 (6,32 – 6,78)	6,63 ± 0,09 (6,50 – 7,00)	6,52 ± 0,1 (6,30 – 7,22)	6,46 ± 0,03 (6,33 – 6,59)	6,25 ± 0,1 (5,95 – 6,73)	6,44 ± 0,1 (6,12 – 6,83)	
c	8,5 ± 0,1 (8,12 – 8,90)	8,67 ± 0,1 (8,31 – 9,10)	8,88 ± 0,3 (7,08 – 9,64)	9,40 ± 0,1 (8,97 – 10,16)	8,53 ± 0,2 (7,97 – 9,64)	9,49 ± 0,2 (8,97 – 10,00)	8,71 ± 0,3 (7,79 – 10,08)	8,52 ± 0,2 (7,75 – 9,21)	8,86 ± 0,1 (8,29 – 9,20)	8,83 ± 0,1 (8,49 – 9,25)	6-7,5
c'	3,7 ± 0,1 (3,29 – 4,13)	3,85 ± 0,1 (3,50 – 4,00)	3,89 ± 0,1 (3,50 – 4,50)	3,54 ± 0,1 (3,13 – 4,00)	3,78 ± 0,1 (3,11 – 4,20)	3,54 ± 0,2 (3,11 – 4,00)	3,84 ± 0,1 (3,56 – 4,28)	3,92 ± 0,1 (3,22 – 4,40)	3,68 ± 0,1 (3,22 – 4,13)	3,66 ± 0,1 (3,33 – 4,29)	
(S-P pore/L) X 100	19,47 ± 0,2 (18,75 – 20,57)	19,90 ± 0,5 (19,26 – 21,66)	19,15 ± 0,3 (17,65 – 20,37)	19,39 ± 0,2 (18,80 – 20,08)	19,02 ± 0,1 (18,45 – 19,39)	20,00 ± 0,4 (18,57 – 20,77)	19,63 ± 0,3 (18,85 – 20,64)	19,73 ± 0,2 (19,10 – 20,37)	19,79 ± 0,2 (18,84 – 20,64)	20,11 ± 0,3 (18,57 – 21,01)	

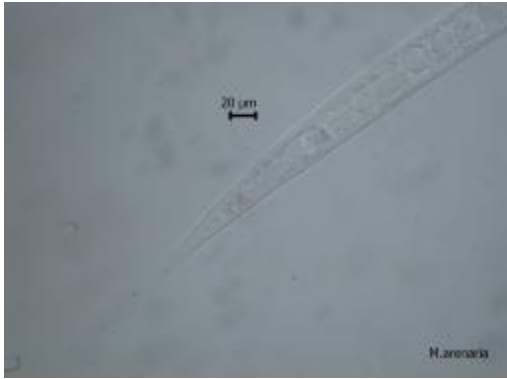
Çalışmada bulunan larva morфометrik ölçümler, morfolojik karakterler bakımından Neal (1889), Eisenback ve Triantaphyllou (1991) 'nun saptamış oldukları bireylerin tanımlarına uymaktadır.



A



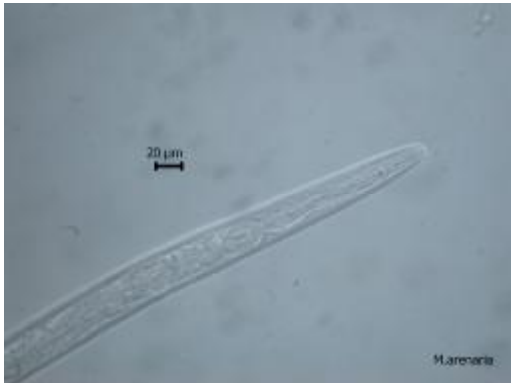
B



C



D



E



F

Şekil 4.3. Moleküler olarak teşhis edilen *Meloidogyne arenaria*'nın A, B: Vulva kesitleri, C, D: ikinci dönem larva kuyruk kısmı, E, F: Larva baş kısmı

Moleküler olarak teşhis edilen *Meloidogyne arenaria*'nın vulva kesitleri ve

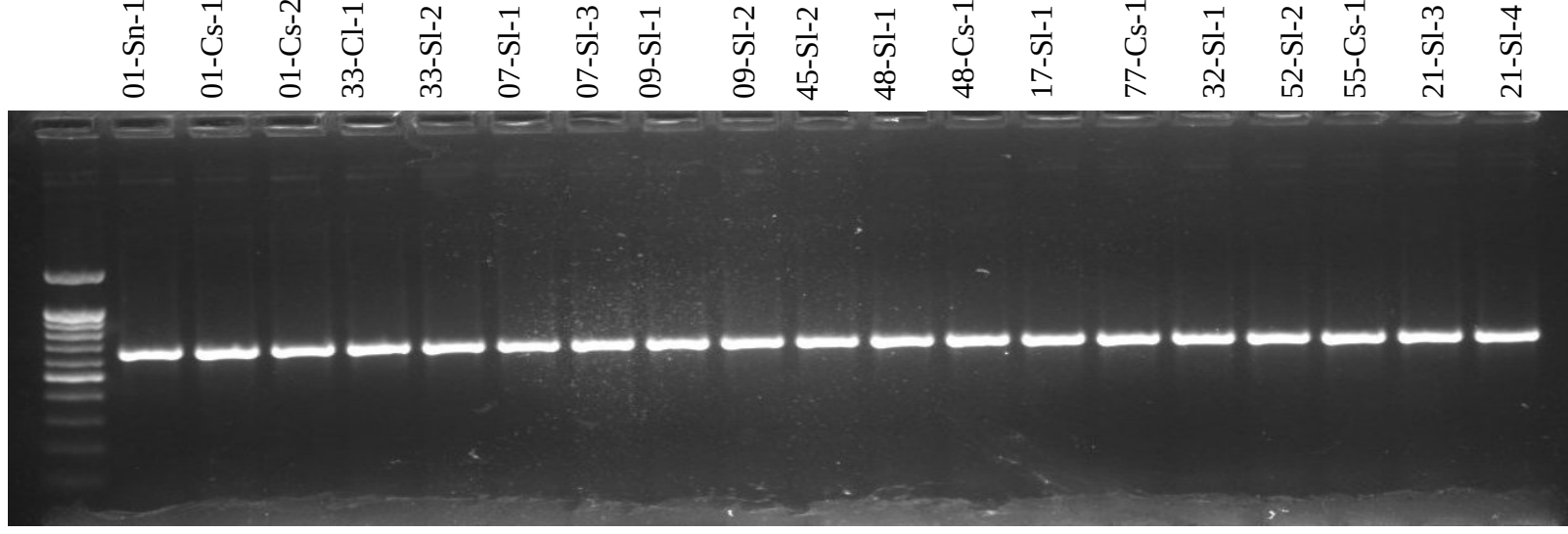
ikinci dönem larva resimleri ise Şekil 4.3’de gösterilmiştir. Vulva kesitleri ve ikinci dönem larvaların genel görünüşleri literatürde belirtilen orijinal görünümle örtüşmektedir.

4.2. *Meloidogyne javanica*’nın Tanımlanması

M. javanica’ yı belirlemek için, Zijlstra ve ark., (2000) tarafından geliştirilen bu türlere özgü spesifik primerler kullanılmış ve *M. javanica*’ya özgü 670 bp DNA bandı elde edilmiştir (Şekil 4.4). Bu türün bulunduğu alanlar Çizelge 4.3’de ve ikinci dönem larvalarına ait ölçüm değerleri Çizelge 4.4’de belirtilmiştir.

Çizelge 4.3. Moleküler olarak tanımlanan *Meloidogyne javanica* populasyonları

Örnek kodu	İl	Konukçu Bitki	Moleküler Teşhis
01-Sn-1	Adana	İt üzümü (<i>Solanum nigrum</i>)	<i>M. javanica</i>
01-Cs-1	Adana	Hıyar (<i>C. sativus</i>)	<i>M. javanica</i>
01-Cs-2	Adana	Hıyar (<i>C. sativus</i>)	<i>M. javanica</i>
33-Cl-1	Mersin	Karpuz (<i>Citrullus lanatus</i>)	<i>M. javanica</i>
33-Sl-2	Mersin	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. javanica</i>
07-Sl-1	Antalya	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. javanica</i>
07-Sl-3	Antalya	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. javanica</i>
09-Sl-1	Aydın	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. javanica</i>
09-Sl-2	Aydın	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. javanica</i>
45-Sl-2	Manisa	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. javanica</i>
48-Sl-1	Muğla	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. javanica</i>
48-Cs-1	Muğla	Hıyar (<i>C. sativus</i>)	<i>M. javanica</i>
17-Sl-1	Çanakkale	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. javanica</i>
77-Cs-1	Yalova	Hıyar (<i>C. sativus</i>)	<i>M. javanica</i>
32-Sl-1	Isparta	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. javanica</i>
52-Sl-2	Ordu	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. javanica</i>
55-Cs-1	Samsun	Hıyar (<i>C. sativus</i>)	<i>M. javanica</i>
21-Sl-3	Diyarbakır, Dikili	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. javanica</i>
21-Sl-4	Diyarbakır, Çınar	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. javanica</i>



670

Şekil 4.4. *Meloidogyne javanica*'ya spesifik SCAR primerlerine göre 670 bp PCR ürünleri

Çizelge 4.4. Moleküler olarak teşhis edilen *Meloidogyne javanica*'nın ikinci dönem larva ölçümleri

Karakterler	01-Sn-1	33-SI-2	07-SI-1	07-SI-3	32-SI-1	48-Cs-1	48-SI-1	45-SI-2	09-SI-1	77-Cs-1	Whitehead (1968)
Vücut uzunluğu (µm)	465 ± 6,4 (444,80 – 502,40)	455,36 ± 4,9 (425,60 – 468,80)	431,2 ± 7,4 (406,40 – 464,00)	446,72 ± 6,4 (395,20 – 465,60)	426,56 ± 4,4 (408,00 – 454,40)	444,14 ± 6,7 (412,80 – 470,40)	443,56 ± 8 (403,20 – 480,00)	426,40 ± 6,7 (408,00 – 457,60)	430,24 ± 7,7 (390,40 – 460,80)	447,20 ± 6,7 (420,80 – 499,80)	387-459
Vücut genişliği (µm)	14 ± 0,1 (13,60 – 14,40)	14,40 ± 0,2 (13,60 – 15,20)	13,78 ± 0,3 (12,80 – 15,20)	14,08 ± 0,2 (12,80 – 15,20)	14,16 ± 0,1 (13,60 – 14,40)	13,92 ± 0,2 (12,80 – 15,20)	13,86 ± 0,3 (12,80 – 15,20)	14,40 ± 0,0 (14,40 – 14,40)	14,24 ± 0,2 (13,60 – 15,20)	14,40 ± 0,1 (13,60 – 15,20)	
Stilet tokmakçığı seviyesinde vücut genişliği (µm)	9,28 ± 0,2 (8,00 – 9,60)	9,44 ± 0,1 (8,80 – 9,60)	9,07 ± 0,2 (8,00 – 9,60)	9,20 ± 0,1 (8,80 – 9,60)	9,44 ± 0,1 (8,80 – 9,60)	9,28 ± 0,1 (8,80 – 9,60)	9,07 ± 0,2 (8,00 – 9,60)	8,80 ± 0,2 (8,00 – 9,60)	9,28 ± 0,1 (8,80 – 9,60)	9,28 ± 0,2 (8,80 – 10,40)	
S-E pore seviyesinde (µm)	12,80 ± 0,2 (12,00 – 13,60)	13,28 ± 0,2 (12,80 – 14,40)	12,53 ± 0,1 (12,00 – 12,80)	12,96 ± 0,1 (12,80 – 13,60)	13,12 ± 0,1 (12,80 – 13,60)	12,80 ± 0,1 (12,00 – 13,60)	12,71 ± 0,2 (12,00 – 13,60)	13,10 ± 0,2 (12,80 – 14,40)	13,20 ± 0,1 (12,80 – 13,60)	13,44 ± 0,2 (12,80 – 14,40)	
Anüs seviyesinde vücut genişliği (µm)	9,76 ± 0,1 (9,60 – 10,40)	9,84 ± 0,1 (9,60 – 10,40)	9,33 ± 0,1 (8,80 – 9,60)	9,20 ± 0,2 (8,00 – 9,60)	9,92 ± 0,1 (9,60 – 10,40)	9,76 ± 0,1 (9,60 – 10,40)	9,51 ± 0,1 (8,80 – 9,60)	9,10 ± 0,3 (8,00 – 10,40)	9,84 ± 0,1 (9,60 – 10,40)	10,32 ± 0,3 (8,80 – 11,20)	
Stilet uzunluğu (µm)	13,28 ± 0,3 (11,20 – 14,40)	13,92 ± 0,2 (12,80 – 14,40)	13,51 ± 0,3 (12,80 – 14,40)	13,68 ± 0,2 (12,80 – 14,40)	13,36 ± 0,4 (11,20 – 14,40)	13,12 ± 0,3 (11,20 – 14,40)	13,69 ± 0,3 (12,00 – 15,20)	13,50 ± 0,4 (11,20 – 14,40)	13,76 ± 0,2 (12,80 – 14,40)	13,68 ± 0,4 (12,00 – 16,00)	9,4-11,4

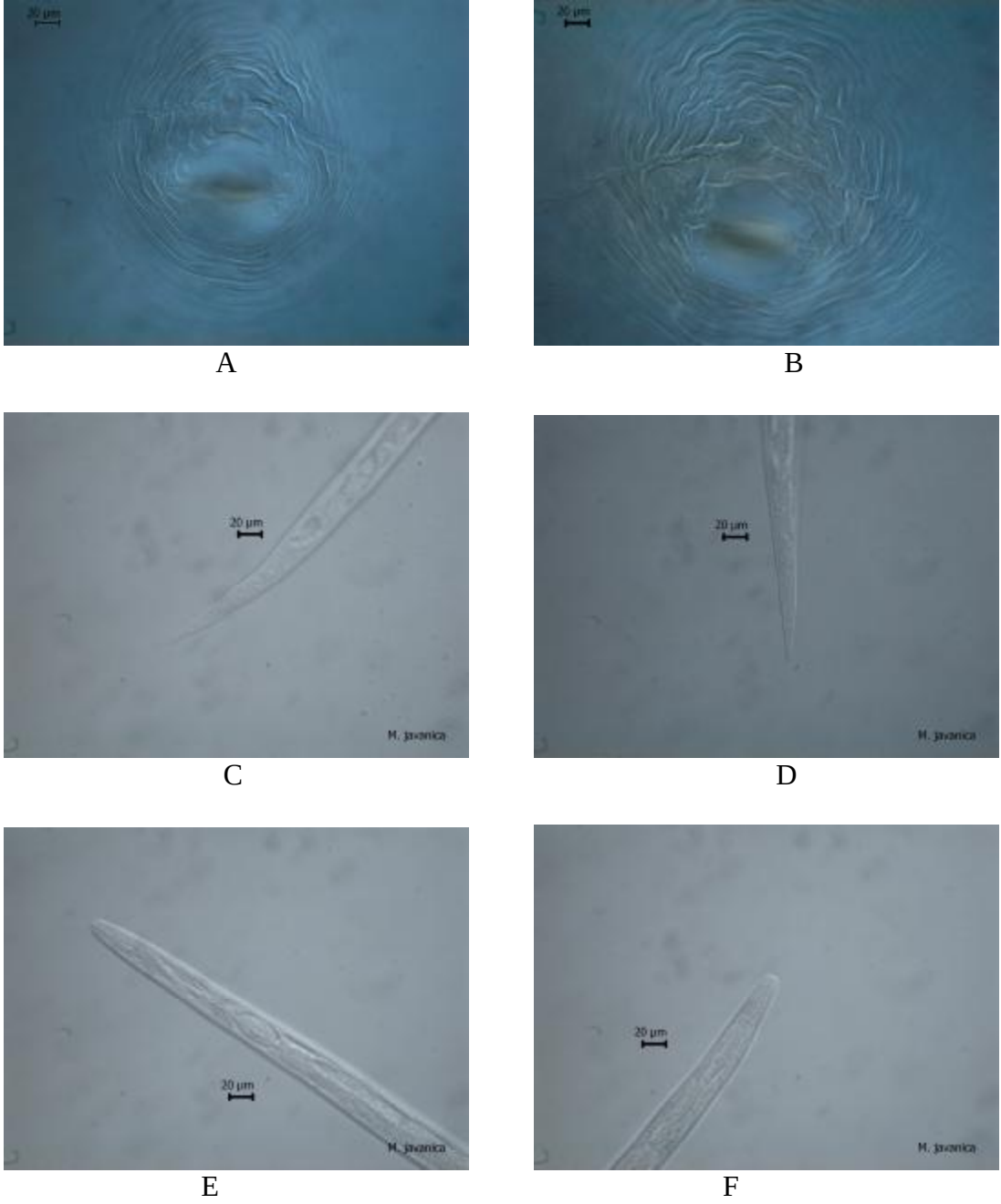
Çizelge 4.4.'ün devamı

Karakterler	01-Sn-1	33-SI-2	07-SI-1	07-SI-3	32-SI-1	48-Cs-1	48-SI-1	45-SI-2	09-SI-1	77-Cs-1	
DGO (dorsal özefagus bezi) (µm)	3,52 ± 0,1 (3,20 – 4,00)	3,68 ± 0,1 (3,20 – 4,00)	3,64 ± 0,1 (3,20- 4,00)	3,60 ± 0,1 (3,20 – 4,00)	3,36 ± 0,1 (3,20 – 4,00)	3,68 ± 0,1 (3,20 – 4,00)	3,82 ± 0,1 (3,20 – 4,00)	3,80 ± 0,1 (3,20 – 4,00)	3,60 ± 0,1 (3,20 – 4,00)	3,84 ± 0,1 (3,20 – 4,00)	4
Kuyruk uzunluğu (µm)	57,04 ± 0,7 (53,60- 59,20)	55,36 ± 0,8 (51,20 – 59,20)	53,69 ± 1 (49,60 – 57,60)	56,16 ± 0,9 (51,20 – 59,20)	51,44 ± 1,1 (46,40 – 59,20)	55,12 ± 1 (49,60 – 59,20)	52,44 ± 1,1 (46,40 – 56,80)	52,60 ± 1,1 (49,60 – 59,20)	50,56 ± 0,6 (48,00 – 52,80)	52,64 ± 0,7 (48,00 – 56,00)	36-56
Kuyruk ucu (hyalin) uzunluğu (µm)	13,04 ± 0,4 (11,20 – 15,20)	13,36 ± 0,3 (12,00- 15,20)	13,69 ± 0,3 (12,80 – 15,20)	13,20 ± 0,4 (11,20 – 14,40)	12,96 ± 0,4 (11,20 – 15,20)	13,84 ± 0,3 (12,80 – 15,20)	13,78 ± 0,3 (12,80 – 15,20)	12,70 ± 0,3 (12,00 – 14,40)	12,24 ± 0,3 (10,40 – 13,60)	12,24 ± 0,3 (11,20 – 14,40)	
Anüs-genital primordium arası (µm)	114,56 ± 2,7 (100,80 – 131,20)	115,18 ± 2,4 (99,20 – 124,60)	105,42 ± 3,3 (89,60 – 120,00)	112,16 ± 2,2 (104,00 – 124,80)	105,04 ± 2,1 (96,00 – 118,40)	120,78 ± 2,5 (105,60 – 129,60)	115,20 ± 3,6 (100,80 – 131,20)	111,00 ± 2,8 (102,40 – 121,60)	108,96 ± 2,7 (96,00 – 120,00)	104,96 ± 1,3 (99,20 – 112,00)	
a	33,29 ± 0,6 (30,89 – 131,20)	31,67 ± 0,6 (28,84 – 34,47)	31,37 ± 0,9 (28,33 – 36,25)	31,75 ± 0,3 (30,33 – 33,65)	30,33 ± 0,5 (28,33 – 33,41)	31,93 ± 0,5 (29,11 – 34,59)	32,08 ± 0,8 (28,89 – 35,75)	29,61 ± 0,5 (28,33 – 31,78)	30,23 ± 0,5 (27,78 – 32,00)	30,89 ± 0,5 (29,22 – 34,67)	27,1-35,9
b'	6,46 ± 0,2 (4,93 – 7,10)	6,47 ± 0,1 (6,05 – 6,79)	6,31 ± 0,1 (5,82 – 6,59)	6,58 ± 0,1 (6,21 – 6,90)	6,59 ± 0,1 (6,27 – 6,92)	6,53 ± 0,1 (5,86 – 6,98)	6,64 ± 0,1 (6,11 – 6,98)	6,41 ± 0,1 (5,98 – 6,71)	6,58 ± 0,1 (6,25 – 6,86)	6,68 ± 0,1 (6,09 – 7,43)	

Çizelge 4.4.'ün devamı

Karakterler	01-Sn-1	33-SI-2	07-SI-1	07-SI-3	32-SI-1	48-Cs-1	48-SI-1	45-SI-2	09-SI-1	77-Cs-1	
c	8,17 ± 0,1 (7,54-8,88)	8,24 ± 0,1 (7,64-9,09)	7,99 ± 0,1 (7,28 – 8,71)	7,96 ± 0,1 (7,58 – 8,67)	8,31 ± 0,1 (7,68 – 9,17)	8,08 ± 0,2 (7,27 – 9,48)	8,47 ± 0,1 (7,86 – 9,03)	8,12 ± 0,1 (7,43 – 8,56)	8,51 ± 0,1 (7,82 - 8,91)	8,51 ± 0,1 (8,00 – 9,46)	7,3-11,1
c'	4,4 ± 0,1 (3,89 – 4,86)	4,2 ± 0,1 (3,89-4,50)	3,93 ± 0,1 (3,58 – 4,36)	4,29 ± 0,1 (3,67 – 5,14)	4,04 ± 0,1 (3,55 – 4,43)	4,00 ± 0,1 (3,44 – 4,50)	3,81 ± 0,1 (3,56 – 4,25)	4,15 ± 0,1 (3,67 – 4,63)	4,16 ± 0,1 (3,65 – 4,71)	4,33 ± 0,1 (3,56 – 4,86)	
(S-P pore/L) X 100	19,12 ± 0,2 (18,12 – 20,07)	18,84 ± 0,1 (18,34 – 19,55)	19,11 ± 0,3 (18,15 – 20,61)	18,77 ± 0,2 (17,87 – 19,41)	19,25 ± 0,4 (17,05 – 20,76)	18,80 ± 0,3 (17,89 – 20,54)	18,58 ± 0,3 (17,33 – 20,07)	18,83 ± 0,3 (17,83 – 19,92)	19,47 ± 0,3 (17,62 – 20,59)	19,64 ± 0,2 (17,95 – 20,53)	

Çalışmada bulunan larva morfometrik ölçümler, morfolojik karakterler bakımından Treub (1885), Eisenback ve Triantaphyllou (1991)'nin saptamış oldukları bireylerin tanımlarına uymaktadır.



Şekil 4.5. Moleküler olarak teşhis edilen *Meloidogyne javanica*'nın A, B: Vulva kesitleri, C, D: ikinci dönem larva kuyruk kısmı, E, F: Larva baş kısmı

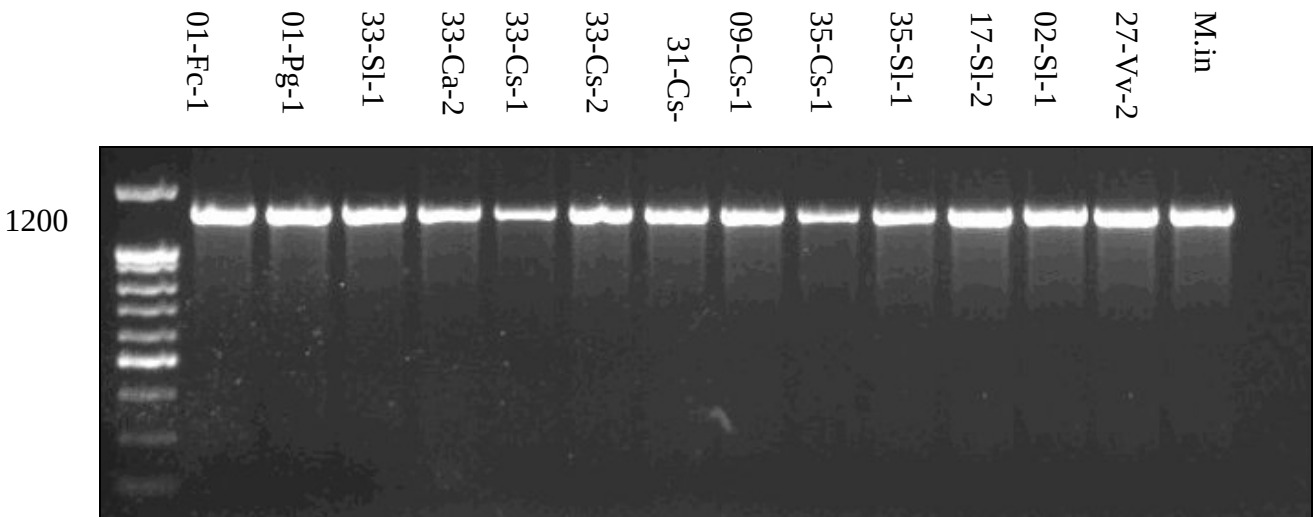
Moleküler olarak teşhis edilen *Meloidogyne javanica*'nın vulva kesitleri ve ikinci dönem larva resimleri ise Şekil 4.5'de gösterilmiştir. Vulva kesitleri ve ikinci dönem larvaların genel görünüşleri literatürde belirtilen orijinal görünümle örtüşmektedir.

4.3. *Meloidogyne incognita*'nın Tanımlanması

M. incognita'yı belirlemek için, Zijlstra ve ark. (2000) tarafından bu türlere özgü geliştirilen spesifik primerler kullanılmış ve 1200 bp DNA bandı elde edilmiştir. Türler için özgü spesifik SCAR primerlerine göre elde edilen PCR ürünleri aşağıda görülmektedir (Şekil 4.6). Bu türün bulunduğu alanlar Çizelge 4.5'de ve ikinci dönem larvalarına ait ölçüm değerleri Çizelge 4.6'da belirtilmiştir.

Çizelge 4.5. Moleküler olarak tanımlanan *Meloidogyne incognita* popülasyonları

Örnek Kodu	İl	Konukçu Bitki	Moleküler Teşhis
01-Fc-1	Adana	İncir (<i>Morus</i> sp.)	<i>M. incognita</i>
01-Pg-1	Adana	Nar (<i>Punica granatum</i>)	<i>M. incognita</i>
33-Sl-1	Mersin	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. incognita</i>
33-Ca-2	Mersin	Biber (<i>Capsicum annuum</i>)	<i>M. incognita</i>
33-Cs-1	Mersin	Hıyar (<i>C. sativus</i>)	<i>M. incognita</i>
33-Cs-2	Mersin	Hıyar (<i>C. sativus</i>)	<i>M. incognita</i>
31-Cs-2	Hatay	Hıyar (<i>C. sativus</i>)	<i>M. incognita</i>
09-Cs-1	Aydın	Hıyar (<i>C. sativus</i>)	<i>M. incognita</i>
35-Cs-1	İzmir	Hıyar (<i>C. sativus</i>)	<i>M. incognita</i>
35-Sl-1	İzmir	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. incognita</i>
17-Sl-2	Çanakkale	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. incognita</i>
02-Sl-1	Adıyaman	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. incognita</i>
27-Vv-2	G. Antep	Bağ (<i>V. vinifera</i>)	<i>M. incognita</i>
Laboratuvar örneği			<i>M. incognita</i>



Şekil 4.6. *Meloidogyne incognita*'ya spesifik SCAR primerlerine göre 1200 bp PCR ürünleri

Çizelge 4.6. Moleküler olarak teşhis edilen *Meloidogyne incognita*'nın ikinci dönem larva ölçümleri

Karakterler	33-Ca-2	01-Pg-1	02-Sl-1	01-Fc-1	17-Sl-2	27-Vv-2	31-Cs-2	33-Cs-1	33-Cs-2	<i>M. in Lab. Örn.</i>	Whitehead (1968)
Vücut uzunluğu (µm)	430,13 ± 2,7 (419,20–438,40)	386,13 ± 4,3 (376 – 403,20)	374,72 ± 3,8 (363,20–387,20)	395,40 ± 7,1 (364,80 – 424)	403,20 ± 6,7 (372,80–420,80)	382,20 ± 9,2 (347,20–422,40)	385,60 ± 3,8 (364,80 – 400)	417,37 ± 6,2 (392,00–35,20)	407,60 ± 4,7 (387,80 – 428,80)	393,42 ± 2,8 (382,40 – 408)	360-393
Vücut genişliği (µm)	12,80 ± 0,2 (12,00–13,60)	12,66 ± 0,3 (12,00–13,60)	12,32 ± 0,2 (12,00–12,80)	13 ± 0,2 (12,00 – 3,60)	12,69 ± 0,3 (12,00 – 13,60)	11,90 ± 0,3 (11,20 – 13,60)	13,28 ± 0,1 (12,80 – 13,60)	12,80 ± 0,0 (12,80 – 12,80)	12,40 ± 0,3 (11,20 – 13,60)	12,18 ± 0,2 (11,20 – 12,80)	
Stilet tokmakçığı seviyesinde vücut genişliği (µm)	8,40 ± 0,2 (8,00 – 8,80)	8,67 ± 0,1 (8,00 – 8,80)	8,64 ± 0,2 (8,00 – 8,80)	8,70 ± 0,2 (8,00 – 9,60)	8,69 ± 0,2 (8,00- 9,60)	8,30 ± 0,2 (7,20 – 8,80)	8,88 ± 0,2 (8,00- 9,60)	8,57 ± 0,2 (8,00 - 9,60)	8,30 ± 0,2 (8,00 – 8,80)	8,18 ± 0,1 (8,00- 8,80)	
S-E pore seviyesinde (µm)	11,73 ± 0,3 (11,20 – 12,80)	11,20 ± 0,0 (11,20 – 11,20)	11,36 ± 0,2 (11,20 – 12,00)	12,30 ± 0,2 (12,00 – 12,80)	12,00 ± 0,2 (11,20 – 12,80)	11,50 ± 0,2 (11,20 – 12,80)	12,32 ± 0,2 (11,20 - 12,80)	11,89 ± 0,2 (11,20 – 12,80)	11,50 ± 0,2 (11,20 – 12,00)	11,73 ± 0,1 (11,20 – 12,00)	
Anüs seviyesinde vücut genişliği (µm)	9,07 ± 0,3 (8,00 – 9,60)	9,20 ± 0,3 (8,00 – 9,60)	9,12 ± 0,5 (8,00– 10,40)	9,30 ± 0,4 (8,00 – 11,20)	9,03 ± 0,3 (8,00 – 9,60)	8,50 ± 0,2 (8,00– 9,60)	9,52 ± 0,1 (8,80 - 9,60)	8,80 ± 0,2 (8,00– 9,60)	9,00 ± 0,2 (8,00 - 9,60)	8,80 ± 0,1 (8,00 – 9,60)	
Stilet uzunluğu (µm)	10,67 ± 0,3 (9,60 - 11,20)	11,07 ± 0,3 (10,40 – 12,00)	10,88 ± 0,2 (10,40 - 11,20)	12,10 ± 0,2 (11,20 – 12,80)	10,97 ± 0,2 (10,40 – 11,20)	11,60 ± 0,3 (10,40 – 12,80)	10,56 ± 0,2 (9,60 - 11,20)	11,20 ± 0,2 (10,40 – 12,00)	11,40 ± 0,4 (9,60 – 12,80)	10,76 ± 0,2 (9,60 – 11,20)	10

Çizelge 4.6.'nın devamı

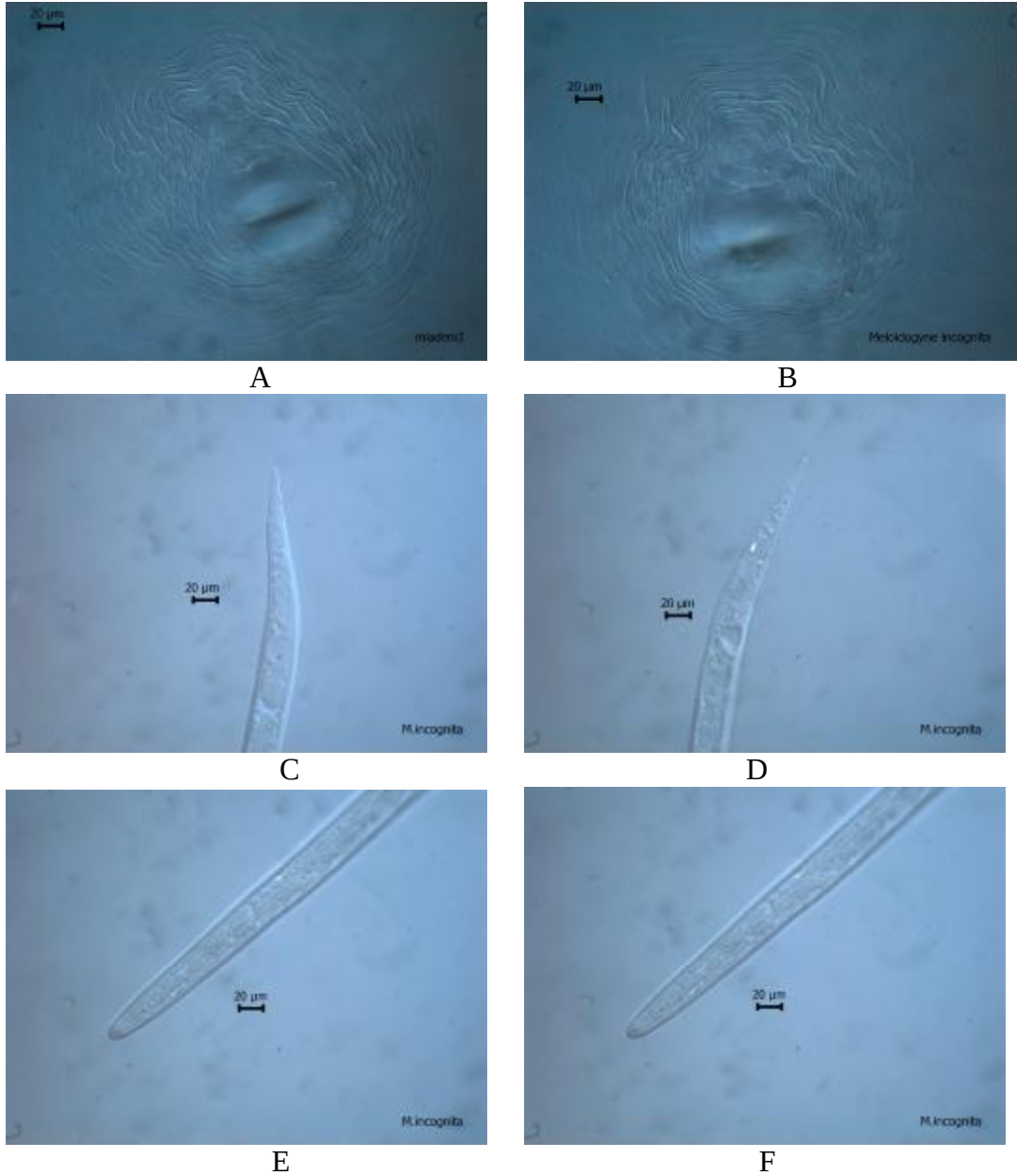
Karakterler	33-Ca-2	01-Pg-1	02-SI-1	01-Fc-1	17-SI-2	27-Vv-2	31-Cs-2	33-Cs-1	33-Cs-2	M. in	
DO (dorsal özefagus bezi) (µm)	2,40 ±0,0 (2,40 - 2,40)	2,53 ±0,1 (2,40 - 2,88)	2,59 ± 0,1 (2,40 - 2,88)	2,54 ± 0,1 (2,40 - 2,88)	2,42 ± 0,1 (2,08 - 2,88)	2,44 ± 0,04 (2,40 - 2,72)	2,50 ± 0,1 (2,40 - 2,88)	2,58 ±0,1 (2,40 - 2,88)	2,56 ± 0,1 (2,40 - 2,88)	2,36± 0,04 (2,08- 2,40)	2-2,5
Kuyruk uzunluğu (µm)	47,47 ± 1,1 (44,80 - 51,20)	43,73 ± 0,8 (41,60 - 46,40)	40,64 ± 0,4 (40,00 - 41,60)	45,60 ± 1,7 (40,00 - 51,20)	46,17 ± 1,1 (41,60- 49,60)	45,00 ± 1,4 (40,00 - 49,60)	44,64 ± 0,8 (40,00- 48,00)	46,63 ±0,7 (44,80 - 49,60)	47,00 ± 1,5 (38,40 - 52,80)	45,69 ± 0,5 (44,80 - 49,60)	
Kuyruk ucu (hyalin) uzunluğu(µ m)	11,47 ± 0,2 (11,20 - 12,00)	9,87 ± 0,3 (8,80 - 11,20)	9,60 ± 0,4 (8,80 - 11,20)	10,60 ±0,3 (9,60 - 12,00)	11,31 ± 0,4 (9,60 - 12,80)	10,90 ± 0,3 (8,80 - 12,00)	10,24 ± 0,3 (8,80 - 11,20)	10,40 ± 0,3 (9,60 - 11,20)	10,10 ± 0,4 (8,00 - 11,20)	10,04± 0,3 (8,80 - 12,00)	
Anüs-genital primordium arası (µm)	106,13 ± 2,1 (97,60 - 112)	95,20 ± 1,79 (88,00 - 100,80)	98,56 ±1,2 (96,00- 102,40)	98,00 ± 2,5 (83,20 - 107,20)	101,26 ± 2,1 (96,00- 112,00)	95,20 ± 2,1 (88,00 - 104)	100,80 ±1,3 (92,80 - 105,60)	107,20 ± 2,4 (99,20 - 115,20)	103,80 ± 2,2 (96,00 - 112,00)	92,80 ± 1,6 (84,80 - 100,80)	
a	33,28 ± 0,4 (31,65 - 34,25)	30,88 ± 0,8 (28,94 - 33,60)	30,46 ±0,7 (28,38 - 32,27)	30,44 ± 0,5 (28,24- 32,25)	31,87 ± 0,9 (28,82- 35,06)	32,15 ± 0,6 (30,00 - 34,71)	29,05 ± 0,3 (26,82 - 30,25)	32,61 ± 0,5 (30,63 - 34,00)	33,17 ±0,9 (30,25 - 36,42)	32,36 ± 0,5 (29,88- 34,57)	29-33
b'	6,53 ± 0,1 (6,38 - 6,80)	6,56 ± 0,1 (6,34- 6,94)	6,44 ± 0,1 (6,13 - 6,72)	6,38 ± 0,1 (5,71 - 6,81)	6,64 ± 0,1 (6,32- 7,11)	6,05 ± 0,1 (5,65 - 6,56)	6,46 ±0,1 (6,18 - 6,76)	6,34 ± 0,1 (6,13- 6,54)	6,38 ± 0,1 (6,15 - 6,55)	6,10 ± 0,1 (5,72- 6,33)	

Çizelge 4.6.'nın devamı

Karakterler	33-Ca-2	01-Pg-1	02-Sl-1	01-Fc-1	17-Sl-2	27-Vv-2	31-Cs-2	33-Cs-1	33-Cs-2	M. in	
c	9,08 ± 0,2 (8,56-9,57)	8,84 ± 0,2 (8,48-9,69)	9,22 ± 0,1 (8,96 – 9,40)	8,76 ± 0,2 (7,75 – 9,69)	8,76 ± 0,2 (8,17- 9,92)	8,56 ± 0,2 (8,04 – 9,79)	8,65 ± 0,1 (8,03 – 9,18)	8,96 ± 0,2 (8,03-9,38)	8,77 ± 0,3 (8,07 – 10,25)	8,62 ± 0,1 (8,23-8,96)	8-9,4
c'	4,14 ± 0,1 (3,87 – 4,42)	4,45 ± 0,2 (4,00 – 5,09)	4,26 ± 0,2 (3,71 – 4,54)	4,30 ± 0,2 (3,47 – 5,00)	4,09 ± 0,1 (3,75 – 4,33)	4,12 ± 0,1 (3,85 – 4,43)	4,37 ± 0,1 (4,00-4,90)	4,50 ± 0,1 (4,00 – 4,83)	4,67 ± 0,1 (4,28 – 5,00)	4,58 ± 0,1 (3,87 – 5,16)	
(S-P pore/L) X 100	19,66 ± 0,3 (19,03 – 20,61)	19,90 ± 0,2 (19,05 – 20,75)	19,48 ± 0,2 (19,01-20,17)	20,05 ± 0,3 (18,61 – 21,67)	19,69 ± 0,3 (18,25 – 20,60)	20,71 ± 0,3 (19,92 – 21,78)	20,18 ± 0,2 (18,80 – 20,96)	19,73 ± 0,3 (18,87 – 20,82)	20,77 ± 0,2 (19,85 – 21,18)	20,63 ± 0,2 (19,83 – 21,57)	

Çalışmada bulunan larva morfometrik ölçümler, morfolojik karakterler bakımından Kofold ve White (1919), Eisenback ve Triantaphyllou (1991)'nun saptamış oldukları bireylerin tanımlarına uymaktadır.

Moleküler olarak teşhis edilen *Meloidogyne incognita*'nın vulva kesitleri ve ikinci dönem larva resimleri ise Şekil 4.7'de gösterilmiştir. Vulva kesitleri ve ikinci dönem larvaların genel görünüşleri literatürde belirtilen orijinal görünümle örtüşmektedir.



Şekil 4.7. Moleküler olarak teşhis edilen *Meloidogyne incognita*'nın A, B: Vulva kesitleri, C, D: ikinci dönem larva kuyruk kısmı, E, F: Larva baş kısmı

4.4. *Meloidogyne chitwoodi*'nin Tanımlanması

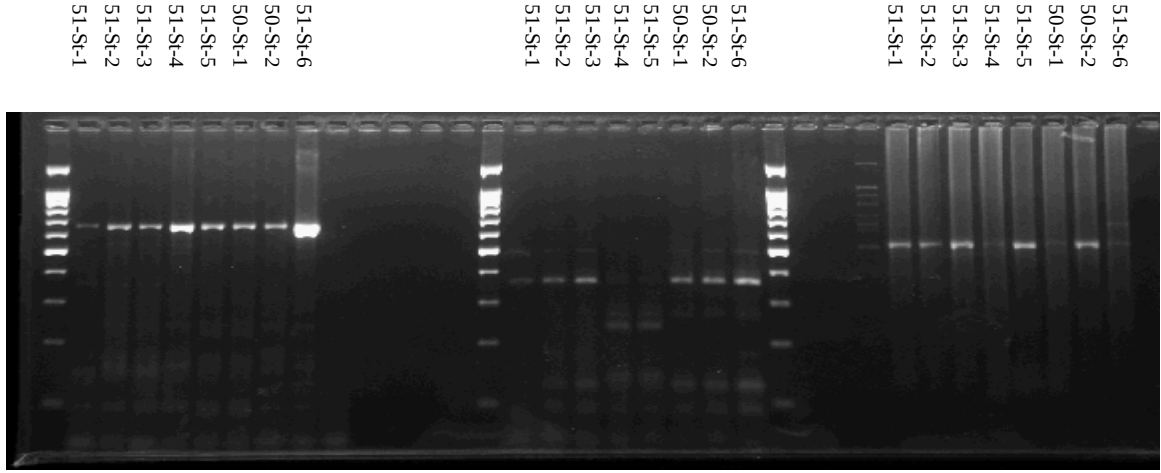
Powers ve Harris (1993) tarafından geliştirilen C2F3 ve 1108 primerleri ile yapılan PCR çalışmalarında *M. chitwoodi* 520 bp uzunluğunda DNA bandı elde edilmiştir (Şekil 4.8). Aynı örnekler 18s1.2/18sr2b primerleriyle (Powers ve ark, 2005) yapılan çalışmada 636 bp uzunluğunda DNA bandı elde edilmiş ve AluI enzimi ile kesim sonucu 350 bp, 115 bp 85 bp ve 50 bp uzunluğunda DNA bantları elde edilmiştir (Şekil 4.8). Bu türün bulunduğu alanlar Çizelge 4.7’de ve ikinci dönem larvalarına ait ölçüm değerleri Çizelge 4.8’de belirtilmiştir.

Çizelge 4.7. Moleküler olarak tanımlanan *Meloidogyne chitwoodi* popülasyonları

Örnek Kodu	İl	Konukçu Bitki	Moleküler Teşhis
51-St-1	Niğde	Patates (<i>S. tuberosum</i>)	<i>M. chitwoodi</i>
51-St-2	Niğde	Patates (<i>S. tuberosum</i>)	<i>M. chitwoodi</i>
51-St-3	Niğde	Patates (<i>S. tuberosum</i>)	<i>M. chitwoodi</i>
51-St-4	Niğde	Patates (<i>S. tuberosum</i>)	<i>M. chitwoodi</i>
51-St-5	Niğde	Patates (<i>S. tuberosum</i>)	<i>M. chitwoodi</i>
50-St-1	Nevşehir	Patates (<i>S. tuberosum</i>)	<i>M. chitwoodi</i>
50-St-2	Nevşehir	Patates (<i>S. tuberosum</i>)	<i>M. chitwoodi</i>
51-St-6	Niğde	Patates (<i>S. tuberosum</i>)	<i>M. chitwoodi</i>

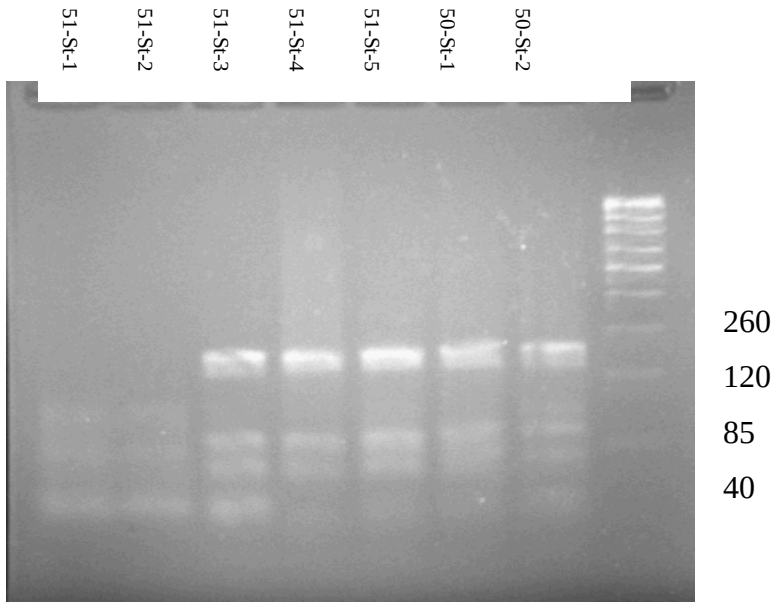
M. chitwoodi yalnızca patates üretim alanlarında bulunmuştur.

- a. Niğde ve Nevşehir illerinde patates üretim alanlarından toplanan örnekler diğer primerlerle PCR ürünü elde edilememiş fakat 18s1.2 / 18sr2b, C2F3/1108 primerleri sonucu *M. chitwoodi* olduğu belirlenmiştir (Powers ve ark., 2005).



Şekil 4.8. *Meloidogyne chitwoodi*'nin PCR ürünleri

- 18s1-18sr2b PCR ürünleri 636 bp,
- 18s1-18sr2b PCR ürünlerinin *AluI* enzimi ile kesimi 350 bp, 115 bp, 85 bp ve 50 bp
- C2F3-1108 primerleriyle elde edilen PCR ürünleri 520 bp



Şekil 4.9. C2F3-1108 primerleriyle elde edilen PCR ürününün *DraI* ile kesimiyle elde edilen ürünler

C2F3/1108 *DraI* ile kesildiğinde *M. chitwoodi* için 260 bp, 120 bp, 85 bp, ve 40 bp de bant oluşturduğu tespit edilmiştir(şekil 4.9). Bu patates örneklerinden alınan Kök-ur nematodlarının *M. chitwoodi* olduğu tespit edilmiştir. Avrupa Birliği  lkelerinin dış karantina listesinde olan *M. chitwoodi*'nin Türkiye'deki varlığı ilk defa bu çalışma ile ortaya çıkarılmıştır.

Çizelge 4.8. Moleküler olarak teşhis edilen *Meloidogyne chitwoodi*'nin ikinci dönem larva ölçümleri

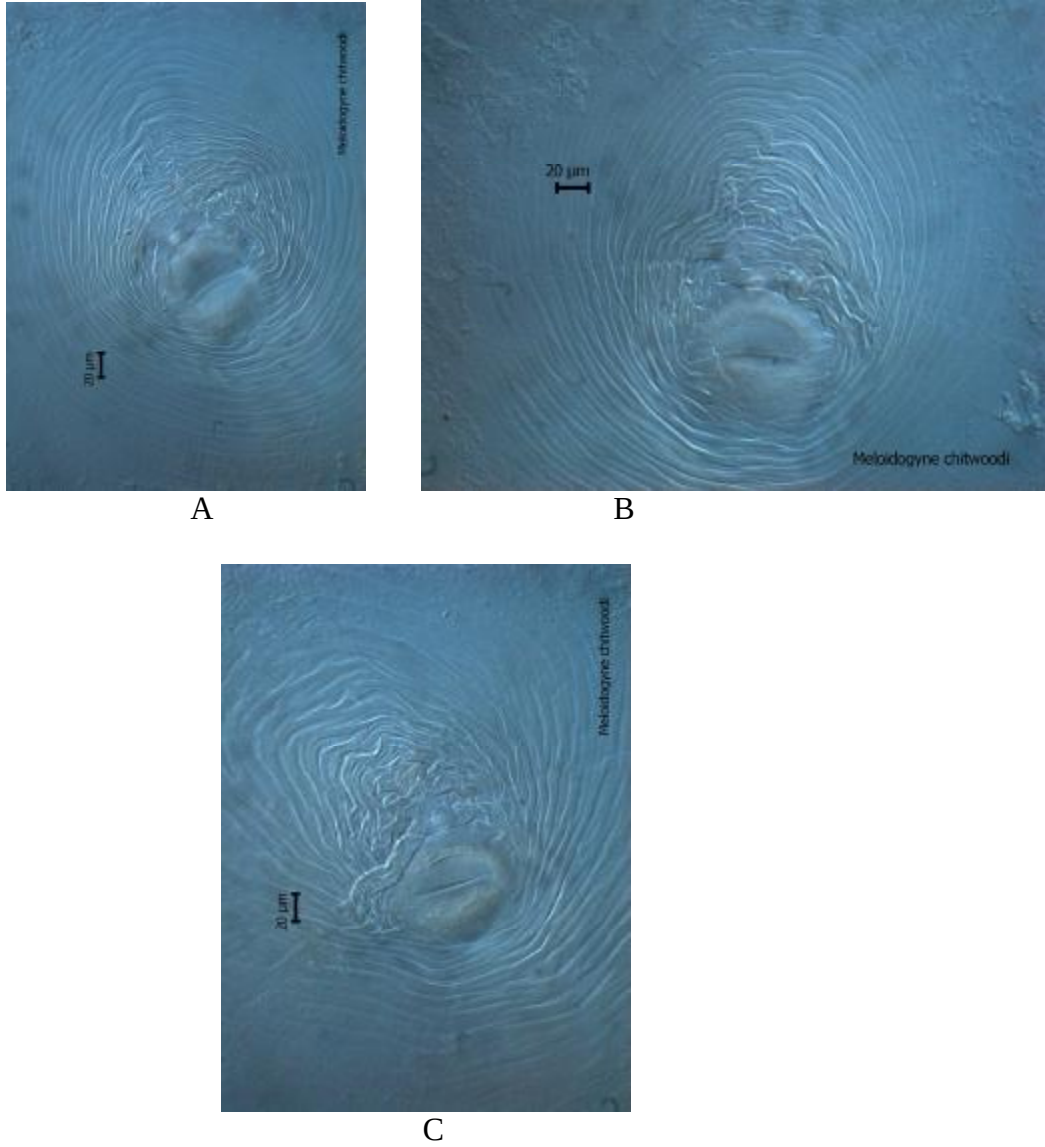
Karakterler	51-St-1	51-St-2	51-St-3	51-St-6	51-St-4	51-St-5	50-St-1	50-St-2	Karssen, 1999
Vücut uzunluğu (µm)	382,72 ± 5,9 (361,60-393,60)	371,84 ± 5,9 (344 – 396,80)	400,16 ± 4,9 (369,60 – 419,20)	383,36 ± 5,5 (355,20 – 417,60)	380 ± 4,1 (363,20 – 396,80)	391,3 ± 3,9 (377,60 – 403,20)	406,76 ± 4 (390,40 – 419,20)	388,48 ± 3 (372,80 – 400,00)	380 ±11.5 (362-394)
Vücut genişliği (µm)	13,92 ± 0,3 (12,80-14,40)	13,60 ± 0,2 (12,80 – 14,40)	13,60 ± 0,0 (13,60 - 13,60)	14,00± 0,2 (12,80 – 14,40)	14,10 ± 0,2 (13,60 – 14,40)	13,83 ± 0,2 (13,60 - 14,40)	13,60 ± 0,0 (13,60 – 13,60)	14,00 ± 0,2 (12,80 – 15,20)	13.1±0.5 (12.6-13.9)
Stilet tokmakçığı seviyesinde vücut genişliği (µm)	8,96 ± 0,4 (8,00 – 9,60)	9,12 ±0,1 (8,80 – 9,60)	9,12 ± 0,2 (8,00 – 9,60)	9,20 ± 0,2 (8,00-9,60)	9,10 ± 0,2 (8,80 – 9,60)	9,60 ± 0,0 (9,60 - 9,60)	9,33 ± 0,1 (8,80 – 9,60)	8,88 ± 0,2 (8,00 – 9,60)	
S-E pore seviyesinde (µm)	12,80 ±0,5 (12,00 – 14,40)	12,96 ± 0,2 (12,00-13,60)	13,20 ± 0,1 (12,80 – 13,60)	12,80 ± 0,2 (12,00 – 14,40)	13,50 ± 0,2 (12,80 – 14,40)	12,80 ± 0,2 (12,00 – 13,60)	12,80 ± 0,0 (12,80 - 12,80)	13,12 ± 0,2 (12,00 – 13,60)	11.8±0.3 (11.4-12.0)
Anüs seviyesinde vücut genişliği (µm)	11,04 ± 0,4 (9,60 – 12,00)	9,52 ± 0,3 (8,00 – 10,40)	9,92 ± 0,1 (9,60 – 10,40)	10,16 ± 0,3 (8,00-11,20)	10,80 ± 0,3 (9,60 – 12,00)	9,71 ± 0,1 (9,60 – 10,40)	9,60 ± 0,1 (8,80 – 10,40)	9,36 ± 0,3 (8,00 – 10,40)	9.4±0.4 (8.9-10.1)
Stilet uzunluğu (µm)	12,64 ± 0,2 (12,00 – 12,80)	12,40 ± 0,4 (9,60 – 13,60)	12,56 ± 0,2 (11,20 – 13,60)	13,12 ± 0,2 (12,00 – 13,60)	12,80± 0,0 (12,80 – 12,80)	13,14 ± 0,2 (12,80 – 14,40)	13,42 ± 0,2 (12,80 – 14,40)	12,88 ± 0,2 (12,00 – 14,40)	9.7±0.3 (9.5-10.1)

Çizelge 4.8'in devamı

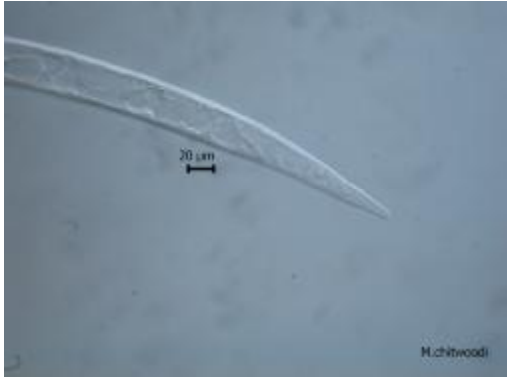
Karakterler	51-St-1	51-St-2	51-St-3	51-St-6	51-St-4	51-St-5	50-St-1	50-St-2	Karssen, 1999
DGO (dorsal özefagus bezi) (µm)	3,52 ± 0,2 (3,20 – 4,00)	3,60 ± 0,1 (3,20 – 4,00)	3,52 ± 0,1 (3,20 – 4,00)	3,52 ± 0,1 (3,20 – 4,00)	3,60 ± 0,2 (3,20 – 4,00)	3,43 ± 0,2 (3,20 – 4,00)	3,56 ± 0,1 (3,20 – 4,00)	3,36 ± 0,1 (3,20 – 4,00)	3.4±0.4 (2.5-3.83)
Kuyruk uzunluğu (µm)	44,80 ± 1,7 (41,60 – 51,20)	41,52 ± 0,7 (38,40 – 45,60)	43,44 ± 0,7 (40,00 – 46,40)	41,92 ± 0,6 (38,40 – 44,80)	43,00 ± 0,8 (41,60 – 48,00)	40,69 ± 0,3 (40,00 – 41,60)	43,29 ± 0,3 (41,60 – 45,60)	41,60 ± 0,8 (38,40 – 46,40)	43.2±1.6 (39.8-44.8)
Kuyruk ucu (hyalin) uzunluğu(µm)	10,40 ± 0,3 (9,60 – 11,20)	10,24 ± 0,3 (9,60 – 11,20)	10,56 ± 0,2 (9,60 – 11,20)	9,92 ± 0,2 (8,80 – 10,40)	11,00 ± 0,3 (9,60 – 12,00)	10,29 ± 0,3 (9,60 – 11,20)	10,04 ± 0,2 (8,80 – 11,20)	10,64 ± 0,4 (9,60 – 12,80)	10.9±0.8 (8.9-12.0)
Anüs-genital primordium arası (µm)	101,76 ± 4,1 (92,80 – 116,80)	98,56 ± 2 (84,80 – 107,20)	103,04 ± 1,9 (96,00 – 115,20)	99,04 ± 1,7 (89,60- 112,00)	99,20 ± 2,2 (86,40 – 108,80)	102,17 ± 2,1 (92,80 – 107,20)	99,73 ± 1,6 (94,40 – 108,80)	104,16 ± 1,7 (97,60 – 112,00)	93±8.5 (82-109)
a	27,55 ± 0,7 (26,22 – 30,38)	27,35 ± 0,3 (25,89 – 28,71)	29,42 ± 0,4 (27,18 – 30,82)	27,38 ± 0,2 (26,78 – 29,00)	26,96 ± 0,1 (26,33 – 27,56)	28,31 ± 0,3 (27,33 – 29,65)	29,91 ± 0,3 (28,71- 30,82)	27,82 ± 0,5 (24,95 – 31,13)	29.1±1.3 (26.0-31.0)
b'	6,80 ± 0,1 (6,62 – 6,94)	6,70 ± 0,1 (6,14 – 7,18)	7,04 ± 0,1 (6,69 – 7,27)	6,83 ± 0,1 (6,53 – 7,05)	6,90 ± 0,1 (6,62- 7,41)	7,05 ± 0,1 (6,74 – 7,24)	6,89 ± 0,1 (6,62 – 7,28)	6,94 ± 0,1 (6,75- 7,46)	7.6±0.9 (5.7-8.8)
c	8,59 ± 0,4 (7,38 – 9,46)	8,97 ± 0,2 (8,00 – 9,71)	9,17 ± 0,1 (8,25 – 9,64)	9,15 ± 0,1 (8,63- 9,67)	8,86 ± 0,2 (8,03 – 9,54)	9,62 ± 0,1 (9,42 – 10,04)	9,40 ± 0,1 (8,56 – 9,70)	9,37 ± 0,2 (8,62 – 10,25)	
c'	4,31 ± 0,2 (4,00 – 4,92)	4,07 ± 0,1 (3,71 – 4,50)	4,10 ± 0,04 (4,00 – 4,30)	4,34 ± 0,1 (4,00- 5,15)	3,93 ± 0,1 (3,46 – 4,33)	3,98 ± 0,1 (3,57 – 4,33)	4,32 ± 0,1 (4,07 – 4,90)	3,94 ± 0,1 (3,47 – 4,33)	4.6±0.2 (4.2-5.0)
(S-P pore/L) X 100	18,73 ± 0,4 (17,28 – 19,18)	18,95 ± 0,3 (18,03 – 20,93)	17,99 ± 0,2 (17,18 – 18,70)	18,97 ± 0,2 (18,01 – 19,82)	18,89 ± 0,1 (18,14 – 19,39)	18,23 ± 0,2 (17,89 – 19,07)	18,49 ± 0,2 (17,18- 19,10)	18,33 ± 0,1 (17,48 – 19,01)	18.5±0.8 (18.0-19.1)

Çalışmada bulunan larva morфометrik ölçümler, morfolojik karakterler bakımından Karssen, 1999'nun saptamış oldukları bireylerin tanımlarına uymaktadır.

Moleküler olarak teşhis edilen *Meloidogyne chitwoodi*'nin vulva kesitleri ve ikinci dönem larva resimleri ise Şekil 4.10 ve 4.11'de gösterilmiştir. Vulva kesitleri ve ikinci dönem larvaların genel görünüşleri literatürde belirtilen orijinal görünümle örtüşmektedir.



Şekil 4.10. Moleküler olarak teşhis edilen *Meloidogyne chitwoodi*'nin A, B, C: Vulva kesitleri



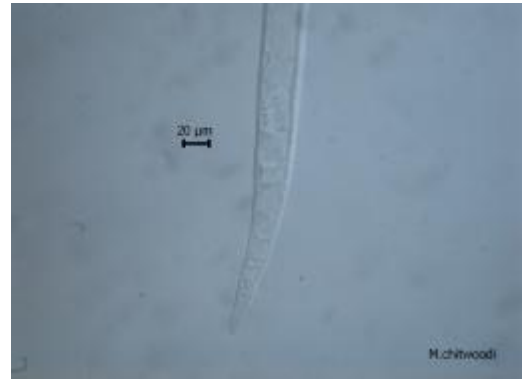
A



B



C



D



E

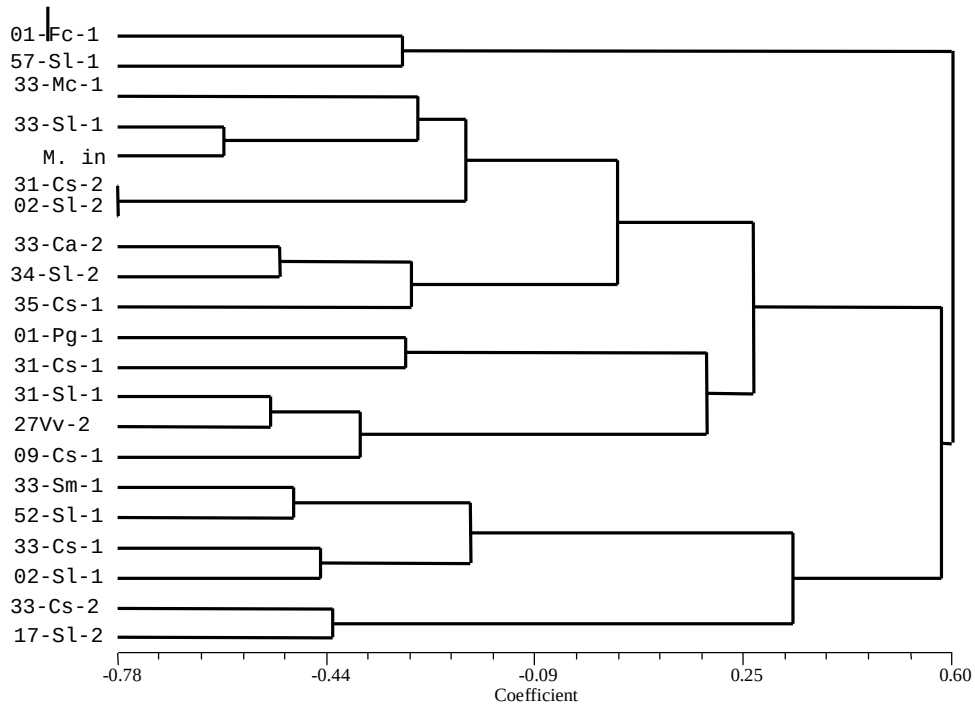


F

Şekil 4.11. Moleküler olarak teşhis edilen *Meloidogyne chitwoodi*'nin A, B, C, D: İkinci dönem larva kuyruk kısmı, E, F: Larva baş kısmı

4.5. Genetik Varyasyon Çalışmaları

Tespit edilen türlerin genetik varyasyonunu araştırmak amacıyla her Kök-ur nematodu türü için 30 adet RAPD markeri oluşturulmuştur. Elde edilen DNA bantlarının değerlendirilmesi, bant varsa “1” yoksa “0” olarak yapılmıştır. Elde edilen bant verileri, NTSYS-pc version 2.0 (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System, NTSYS-pc version 2.1 Exeter Software, Setauket, N.Y., USA, ROHLF, 1993) programında değerlendirilmiştir.

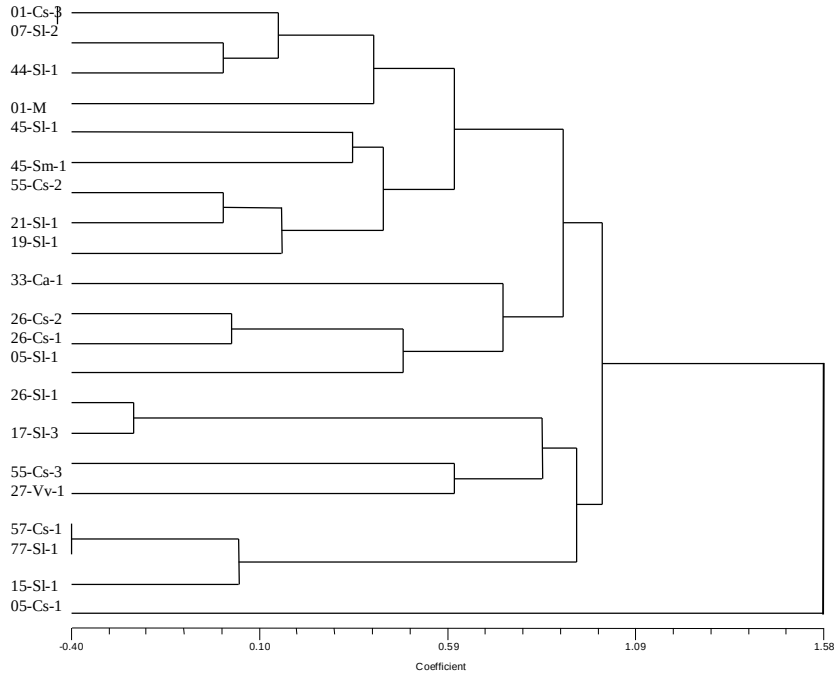


Şekil 4.12. *Meloidogyne incognita* populasyonları arasındaki genetik benzerlik oranları

01-Fc-1: incir, 57-Sl-1: domates, 33-Mc-1: Muz, 33-Sl-1: Domates, M. in, 31-Cs-2: Hıyar, 02-Sl-2: Domates, 33-Ca-2: Biber, 34-Sl-2: Domates, 35-Cs-1: Hıyar, 01-Pg-1: Nar, 31-Cs-1: Hıyar, 31-Sl-1: Domates, 27Vv-2: Bağ, 09-Cs-1: Hıyar, 33-Sm-1: Patlıcan, 52-Sl-1: Domates, 33-Cs-1: Hıyar, 02-Sl-1: Domates, 33-Cs-2: Hıyar, 17-Sl-2: Domates

Filogenetik analiz *M. incognita* örneklerini üç ana gruba ayırmıştır. Gruplar örneklerin geldiği illere veya ürün türlerine göre paralellik göstermemiştir. İlk grupta

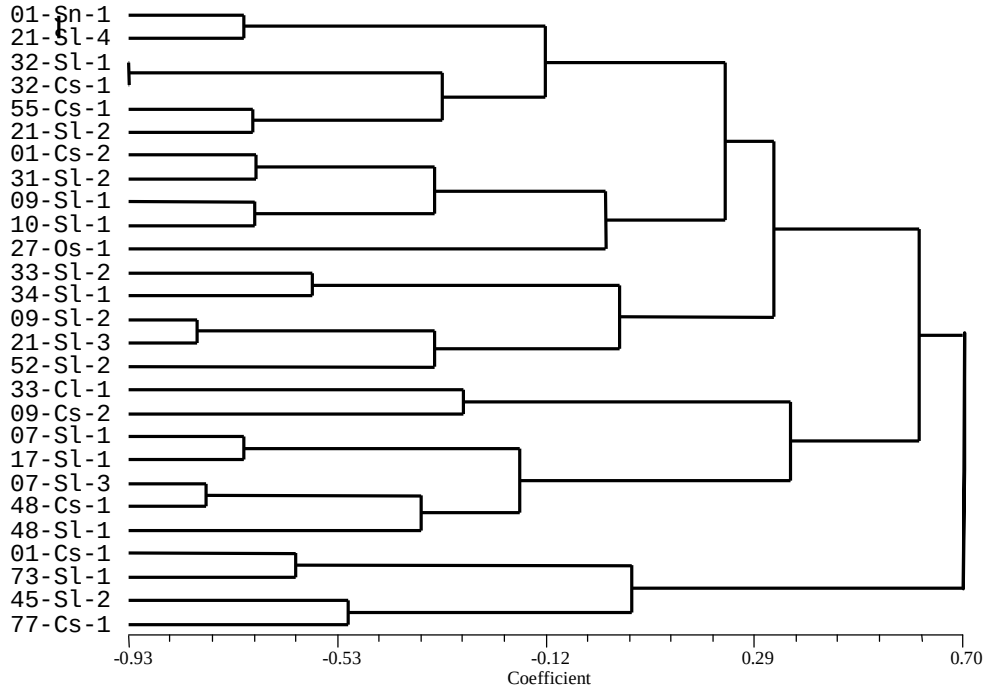
Adana ve Sinop'tan alınan iki örnek diğerlerinden farklı bulunmuştur. Hatay ve Adıyaman'dan alınan iki örnek (31-Cs-2 ve 02-Sl-2) birbirine en benzer genetik yapıyı göstermiştir. Tarımsal faaliyetlerin artması, bölgeler arası nematod taşınmasını kolaylaştırmış ve bölgeye spesifik nematod genotipi tanımlanması zorlaşmıştır.



Şekil 4.13. *Meloidogyne arenaria* populasyonları arasındaki genetik benzerlik oranları

01-Cs-3:Hıyar, 07-Sl-2:Domates, 44-Sl-1:Domates, 01-M:Dut, 45-Sl-1:Domates, 45 Sm-1: Patlıcan, 55-Cs-2: Hıyar, 21-Sl-1: Domates, 19-Sl-1: Domates, 33-Ca-1: Biber, 26-Cs-2: Domates, 26-Cs-1: Hıyar, 05-Sl-1: Domates, 26-Sl-1: Domates, 17-Sl-3: Domates, 55-Cs-3: Hıyar, 27-Vv-1: Bağ, 77-Sl-1: Domates, 57-Cs-1: Hıyar, 15-Sl-1: Domates, 05-Cs-1: Hıyar

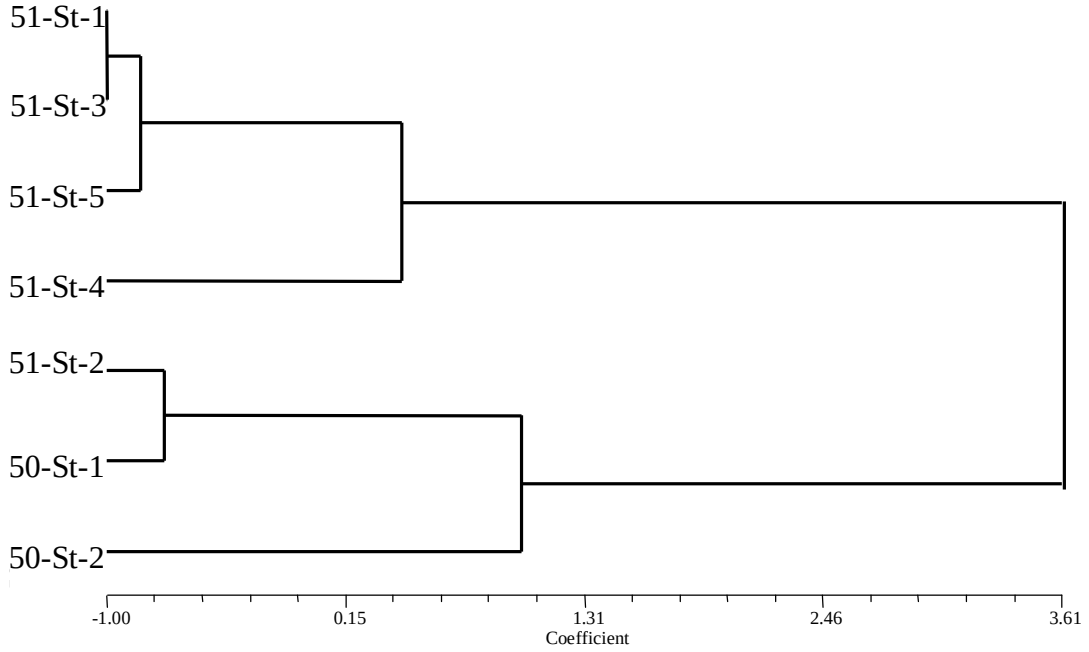
M. arenaria örnekleri geldikleri illere veya ürünlere göre grup oluşturmazlar. Fakat 26-Sl-2 ve 26-Cs-1 numaralı örnekler genetik olarak birbirine en yakın ve ikisi de Eskişehir orijinelidir. 77-Sl-1 ve 57-Cs-1 numaralı örnekler Yalova ve Sinop orijinli fakat genetik olarak çok benzer bulunmuşlardır. Morfometrik ölçümlerde *M. arenaria* olarak tespit edilen 05-Cs-1 numaralı örnek diğer tüm örneklerden genetik olarak farklı çıkmıştır. Bu örnek ya gerçekten genetik olarak çok farklı bir *M. arenaria*, yada yanlış teşhis edilmiş olabilir.



Şekil 4.14. *Meloidogyne javanica* populasyonları arasındaki genetik benzerlik oranları

01-Sn-1: İt üzümü, 21-Sl-4: Domates, 32-Sl-1: Domates, 32-Cs-1: Hıyar, 55-Cs-1: Hıyar, 21-Sl-2 : Domates, 01-Cs-2: Hıyar, 31-Sl-2: Domates, 09-Sl-1: Domates, 10-Sl-1: Domates, 27-Os-1: Zeytin, 33-Sl-2: Domates, 34-Sl-1: Domates, 09-Sl-2: Domates, 21-Sl-3: Domates, 52-Sl-2: Domates, 33-CI-1: Karpuz, 09-Cs-2: Hıyar 07-Sl-1: Domates, 17-Sl-1: Domates, 07-Sl-3: Domates, 48-Cs-1: Hıyar, 48-Sl-1: Domates, 01-Cs-1: Hıyar, 73-Sl-1: Domates, 45-Sl-2: Domates, 77-Cs-1: Hıyar

M. javanica örneklerinin filogenetik analizi geniş bir genetik varyasyonun varlığını ortaya koymaktadır. Isparta'dan alınan iki örnek birbirine en yakın iki genetik benzerliği göstermiştir. Yoğun sebze yetiştirilen iller arasında filogenetik gruplaşma görülmemesi, buralarda yoğun taşıma ile yeni bulaşmaların olduğuna işaret etmektedir. Akdeniz, Ege ve Marmara Bölgelerinde yetiştirilen bir çok sebze türünde (domates, biber, patlıcan gibi) aynı Kök-ur nematodları bulaştığından, örneklerin toplandığı sebze türü filogenetik gruplandırmada anlamlı bulunmamıştır.



Şekil 4.15. *Meloidogyne chitwoodi* populasyonları arasındaki genetik benzerlik oranları

51-St-1: Patates, 51-St-3: Patates, 51-St-5: Patates, 51-St-4: Patates, 51-St-2:Patates, 50-St-1: Patates, 50-St-2: Patates

Bu çalışmada ele alınan *M. chitwoodi* örnekleri Niğde-Nevşehir bölgesinde yetiştirilen patates bitkisinden toplanmıştır. Filogenetik analiz iki ana grubun varlığını göstermektedir. Bu sonuçlara göre Niğde ve Nevşehir’e birbirinden farklı *M. chitwoodi* populasyonları bulaşmış olacağı, sonrasında taşıma (tohum, alet-ekipman, ürün gibi) ile her iki populasyon bölgeye yayılmış olabileceği yorumu yapılabilir. Filogenetik yapı iki farklı bulaşma kaynağına da işaret etmektedir. Bu iki grup bu alanda farklı *M. chitwoodi* ırkları olabileceğine de işaret etmektedir. Bu bölgede yapılacak daha detaylı survey çalışması bu soruya cevap bulabilir. Farklı ırklara sahip *M. chitwoodi* nematod türüne karşı yapılacak mücadele yöntemleride farklılık gösterecektir. Çünkü patatesten ırka spesifik dayanıklılık mevcuttur.

4.6. Malike F1 Dayanıklı (RN) ve Picasso Hassas Domates Çeşitlerinde *M. javanica*, *M. incognita* ve *M. arenaria*'nın Farklı Populasyonlarının Virülensliğinin Belirlenmesi

Farklı *M. incognita*, *M. arenaria* ve *M. javanica* türlerinin virulent populasyonlarının olup olmadığını belirlemek için hassas domates çeşidi Picasso ve Malike F1 domates çeşitlerinde testlenmiştir. 8 adet *M. incognita*, 13 adet *M. arenaria* ve 7 adet *M. javanica* populasyonlarını virülensliğine Picasso ve Malike F1 domates çeşitlerinde incelenmiştir (Çizelge 4.9). Dayanıklı Malike F1 RN'li domates çeşidinde hiçbir populasyon 2'den küçük gal indeksi oluşturmadığı için dayanıklılığı kıran bir populasyona rastlanmamıştır. Bu sonuçlar denemeye alınan hiçbir populasyonun virulent olmadığını göstermektedir. Picasso hassas domates çeşidinde gal indeksi bütün populasyonlarda 4-5 arasında tespit edilmiş, topraktaki 2. dönem larva sayıları ise 225-3080 arasında birey/bitki olarak tespit edilmiştir. Dayanıklı olduğu bilinen Malike F1 domates çeşidinde ise bütün populasyonlarda oluşan gal indeksi 0 – 1,75 arasında tespit edilmiş, topraktaki 2. dönem larva sayıları ise sıfır olarak tespit edilmiştir. Özarslandan ve Elekcioglu (2003) denemeye aldıkları domates çeşitlerinin tümünün *M. incognita* ırk-2'ye duyarlı iken, 144 RN, Target N F1 ve 1077 domates çeşitlerinin *M. javanica* ırk-1'e dayanıklı olduğunu ve diğerlerinin ise duyarlı olduğunu belirlenmiştir.

Domateslerde ekonomik düzeyde verim ve kalite kayıplarına neden olan zararlı grublardan biride Kök-ur nematodlarıdır. Kök-ur nematodlarına karşı dayanıklı domates çeşitleri kullanılarak mücadele yapılmaktadır. Domateste Kök-ur nematodlarına karşı dayanıklılık sağlayan Mi geni yalnızca, *M. incognita*, *M. arenaria* ve *M. javanica* Kök-ur nematodlarına karşı dayanıklılık sağlamakta diğer türlere karşı sağlamamaktadır. Bu çalışma kapsamında Türkiye'nin değişik illerinden toplanan ve tür düzeyinde moleküler olarak belirlenen *M. incognita*, *M. arenaria* ve *M. javanica* populasyonlarında avirulent ve virulent durumu araştırılmıştır. Farklı yerlerden alınan 28 adet *M. incognita*, *M. arenaria* ve *M. javanica* Kök-ur nematoduna karşı dayanıklılık testlenmiştir. Bu populasyonlar içerisinde Mi genini kıran virulent bir populasyonu tespit edilmemiştir. Dünyanın değişik yerlerinde

virulent populasyonlarla ilgili çalışmalar yürütülmesine karşın Türkiye’de bu konuda bir çalışma yapılmamıştır. Virulent populasyonlar, Mi geninin etkinliğini ortadan kaldırmaktadır. Dayanıklı domates çeşitlerinin kullanımında en büyük problem virulent populasyonların olmasıdır. Virulent populasyonlar dayanıklılığı tamamen kırmaktadır. Bu nedenle domates yetiştiriciliği yapılacak bölgede virulent populasyonların belirlenmesi ürün münavebesinin yapılması sağlanacaktır.

Örtü altı sebze üretim alanlarında Kök-ur nematodlarına karşı kimyasal mücadele başta olmak üzere, toprak solarizasyonu, dayanıklı çeşitler ve aşılı fide kullanılmaktadır. Son yıllarda Kök-ur nematodlarına karşı domateste dayanıklı çeşitlerin ve aşılı fidelerin kullanımı hızlı şekilde artmaktadır. Dayanıklı çeşitler ve aşılı fideler, özellikle kimyasal uygulamalara göre daha düşük maliyetli, etkin ve sürekli bir koruma sağlaması ve çevre dostu olmalarından dolayı tercih edilmektedir (Lopez-Perez, 2006). Dayanıklı domates çeşitlerinin bazı dezavantajları vardır. Birincisi 28 °C üzerindeki toprak sıcaklıklarında geriye dönüşü olmayacak şekilde aktivitesini kaybetmekte ve bitki dayanıksız hale gelmektedir. İkincisi ise Mi genini kıran virulent populasyonların olmasıdır. Farklı ülkelerde yapılan çalışmalar da Mi-virulent populasyonları bulunmuş ve bunların dayanıklı çeşitlerde çoğaldıkları ve Mi genini tamamen kıldıkları belirlenmiştir (Xu ve ark., 2001; Ornat ve ark., 2001; Castagnone-Sereno, 2002; Karajeh ve ark., 2005; Tzortzakakis ve ark. 2005). Ornat ve ark., 2001, İspanya’nın kuzey doğu bölgesindeki bulaşık sebze alanlarından toplanan 14 Kök-ur nematodu populasyonundan bir *M. javanica* populasyonunun Mi genine sahip domates çeşidinde üreyip çoğaldığı ve dayanıklılığı kıldığını tespit etmişlerdir. Virulent populasyonun saksı çalışmasında hassas ve dayanıklı domates çeşitlerinde % 29 oranında verim kaybına neden olduğunu bildirmişlerdir. Molinari ve Caradonna, (2003), Motella (dayanıklı) ve Moneymaker (duyarlı) çeşitleri üzerinde 16 Kök-ur nematodu populasyonunu testlemişler ve çoğunun dayanıklılığı kırarak Motella üzerinde çoğalabildiğini tespit etmişlerdir. Tzortzakakis ve ark., (2005), Yunanistan’da populasyonu kıran bir *M. incognita* populasyonunu tespit etmişlerdir. Karajeh ve ark., (2005), 83 populasyondan 3 *M. javanica* populasyonunu virulent olduğunu ‘Betterboy’ dayanıklı domates çeşidinde kök gal indeksinin 4.73 olduğunu tespit etmişlerdir. Virulent populasyonlar; doğal olarak, laboratuarda

seleksiyon yoluyla ve bir bölgede sürekli dayanıklı çeşitlerinin kullanımıyla seleksiyon baskısından dolayı oluştuğunu tespit etmişlerdir(Roberts ve Matthews, 1995; Ornat ve ark., 2001; Castagnone-Sereno, 2002; Petrillo ve ark. 2006).

Çizelge. 4.9. Kök-ur nematodlarının hassas Picasso ve dayanıklı Malike F1 domates çeşitlerinde urlaşma oranı ve 2. dönem larva sayıları

Örnek Kodu	Picasso		Malike F1		
	Urlaşma	2.dönem larva	Urlaşma	2.dönem larva	Türler
33-Cs-2	4,50 ± 0,28abc	1270 ± 327,97abc	0,25 ± 0,25ab	0 ± 0a	<i>M. incognita</i>
05-Sl-1	4,25 ± 0,25ab	1620 ± 75,27abc	0,50 ± 0,28abc	0 ± 0 a	<i>M. arenaria</i>
33-Sl-2	5,00 ± 0,00c	2515 ± 571,33abc	0,25 ± 0,25ab	0 ± 0 a	<i>M. javanica</i>
33-Sl-1	5,00 ± 0,00c	785 ± 304,12ab	0,75 ± 0,47abcd	0 ± 0 a	<i>M. incognita</i>
33-CI-1	4,75 ± 0,25bc	640 ± 208,96ab	0,75 ± 0,47abcd	0 ± 0 a	<i>M. javanica</i>
07-Sl-1	5,00 ± 0,00c	420 ± 178,69a	1,00 ± 0,00abcd	0 ± 0 a	<i>M. javanica</i>
77-Sl-1	4,00 ± 0,40a	1735 ± 530,49abc	0,00 ± 0,00a	0 ± 0 a	<i>M. arenaria</i>
17-Sl-2	4,75 ± 0,25bc	1325 ± 662,38abc	0,00 ± 0,00a	0 ± 0 a	<i>M. incognita</i>
01-Pg-1	5,00 ± 0,00c	1160 ± 330,45abc	1,00 ± 0,40abcd	0 ± 0 a	<i>M. incognita</i>
52-Sl-2	5 ± 0,0c	620 ± 174,54c	0,75 ± 0,47abcd	0 ± 0 a	<i>M. javanica</i>
45-Sl-1	4,00 ± 0,00a	860 ± 202,64abc	0,00 ± 0,00a	0 ± 0 a	<i>M. arenaria</i>
55-Cs-2	5,00 ± 0,00c	1310 ± 466,58abc	0,00 ± 0,00a	0 ± 0 a	<i>M. arenaria</i>
33-Cs-1	5,00 ± 0,00c	1670 ± 819,28abc	0,75 ± 0,47abcd	0 ± 0 a	<i>M. incognita</i>
26-Sl-1	5,00 ± 0,00c	895 ± 340,13abc	0,75 ± 0,47abcd	0 ± 0 a	<i>M. arenaria</i>
33-Ca-1	5,00 ± 0,00c	1065 ± 336,88abc	1,00 ± 0,00abcd	0 ± 0 a	<i>M. arenaria</i>
07-Sl-3	5,00 ± 0,00c	225 ± 89,95a	1,00 ± 0,57abcd	0 ± 0 a	<i>M. javanica</i>
M.in	5,00 ± 0,00c	1095 ± 193,45abc	1,75 ± 0,25d	0 ± 0 a	<i>M. incognita</i>
M.ja	4,00 ± 0,40a	1540 ± 911,59abc	1,50 ± 0,28cd	0 ± 0 a	<i>M. javanica</i>
07-Sl-2	5,00 ± 0,00c	1120 ± 330,75abc	0,25 ± 0,25ab	0 ± 0 a	<i>M. arenaria</i>
01-Fc-1	5,00 ± 0,00c	3080 ± 2191,27bc	0,50 ± 0,28abc	0 ± 0 a	<i>M. incognita</i>
01-Morus	4,00 ± 0,40a	1125 ± 102,42abc	1,00 ± 0,00abcd	0 ± 0 a	<i>M. arenaria</i>
57-Cs-1	4,25 ± 0,47ab	685 ± 279,68ab	0,50 ± 0,28abc	0 ± 0 a	<i>M. arenaria</i>
26-Cs-1	5,00 ± 0,00c	1235 ± 195,68abc	0,50 ± 0,50abc	0 ± 0 a	<i>M. arenaria</i>
26-Sl-2	5,00 ± 0,00c	620 ± 174,54ab	1,25 ± 0,47bcd	0 ± 0 a	<i>M. arenaria</i>
09-Cs-2	5,00 ± 0,00c	710 ± 231,58ab	0,25 ± 0,25ab	0 ± 0 a	<i>M. javanica</i>
17-Sl-3	4,50 ± 0,28abc	500 ± 225,53ab	1,00 ± 0,00abcd	0 ± 0 a	<i>M. arenaria</i>
45-Sm-1	4,25 ± 0,25ab	1540 ± 500,79abc	0,50 ± 0,28abc	0 ± 0 a	<i>M. arenaria</i>
31-Cs-2	4,75 ± 0,25bc	555 ± 187,14ab	1,00 ± 0,00abcd	0 ± 0 a	<i>M. incognita</i>

* Aynı sütunda aynı harfleri içeren çeşitler Duncan (P<0,05)'a göre birbirinden farklıdır.

Son yıllarda Kök-ur nematodu populasyonlarının avirulent ve virulent yapılarını moleküler düzeyde anlamak için moleküler çalışmalar yürütülmüştür (Semblat ve ark., 2000; Xu ve ark., 2001; Tzortzakakis ve ark.,2005). Bu

çalışmalarda RAPD ve AFLP markerleri kullanılmış fakat net olarak virölenslikle korelasyon gösteren bir marker tespit etmemişlerdir. Xu ve ark., (2001) laboratuarda geliştirilen virölent populasyon, doğal virölent populasyon ve avirölent populasyonu RAPD markeri ile moleküler düzeyde incelemişlerdir. Virölenslikle korelasyon gösteren bir RAPD markerini klonlamışlar ve SCAR'a çevirmişlerdir.

Petrillo ve ark. (2006), Kök ur nematodlarından üç *M. incognita* populasyonunu dayanıklı bitkide virölensliklerine bakmışlardır. Dayanıklı börölce bitkisinde nematodların virölensliklerini % 0, % 75 ve % 120 olarak tespit etmişlerdir. Bu populasyonlardan % 75 virölensliği olan populasyonun olduğu yerde 5 yıl hassas domates yetiştirdikten sonra virölensliğinin % 4'e düştüğünü tespit etmişlerdir. Virölensliğinin düşme oranı hassas konukçular yetiştirildikçe virölensliğini kaybettiğini işaret etmişlerdir. Virölensliği % 0,2 ve % 8,1 virölent populasyonlar 5 yıl aynı yerde yetiştirildiğinde dayanıklı Rk börölce bitkisinde virölensliklerinin % 129 ve % 172 olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışma Kök ur nematodlarına dayanıklı bitkiler yetiştirildiği zaman hassas bitkilerle veya diğer ürünlerle münavebe yapılması gerektiğini bildirmişlerdir.

Tzortzakakis ve ark. (1999, 2000), sera koşullarında aşılı fide kullanarak Kök-ur nematodlarına karşı mücadele üzerinde çalışmalar yapmışlardır. Dayanıklı domates çeşidi ile hassas domates çeşitlerini münavebe yaparak *M. javanica* infeksiyonunun düştüğünü tespit etmişlerdir. Bölgemizde seracılıkta yapılan domates yetiştiriciliğinde münavebe sisteminin uygun olacağı, üst üste dayanıklı çeşitler yetiştirildiğinde virölent türlerin oluşmaması için münavebe sistemi mutlaka yapılmalıdır.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Moleküler yöntemlerle spesifik primerler kullanılarak yapılan analiz sonucu *M. incognita*, *M. arenaria* ve *M. javanica* türleri için sırasıyla 1200 bp, 420 bp ve 670 bp uzunluğu DNA bandı elde edilmiştir. Bu çalışmada Zijlstra ve ark. (2000)'nın kullanmış oldukları primerler kullanılmış ve aynı uzunlukta DNA bantları elde edilmiştir. Söz konusu çalışma ile bu proje kapsamında elde edilen sonuçlar paralellik göstermektedir. Ülkemizde daha önce moleküler olarak Devran ve ark., (2002)'nin yaptıkları çalışmada *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* ve *M. hapla*'yı tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada ise *M. hapla* tespit edilmemiş ancak Türkiye nematod faunası için yeni bir tür olan *M. chitwoodi* saptanmıştır. Moleküler olarak *M. chitwoodi* türü için Powers ve Harris (1993) primerleri kullanılarak 520 bp uzunluğunda DNA bandı elde edilmiştir. Aynı örnekler 18s1.2 ve 18 sr2b primerleriyle (Powers ve ark., 2005) yapılan çalışmada 636 bp uzunluğunda DNA bandı elde edilmiş ve AluI enzimi ile kesimin sonucunda 350 bp, 115 bp, 85 bp ve 50 bp uzunluğunda DNA bantları elde edilmiştir. Aynı örnekler yine C2F3 ve 1108 primerleri kullanılarak DraI enzimi ile kesimi sonucunda *M. chitwoodi* için 260 bp, 120 bp, 85 bp ve 40 bp uzunluğunda DNA bantları elde edilmiştir. Bu çalışmada Powers ve Harris (1993) ve Powers ve ark. (2005)'nin yaptıkları çalışmada kullanılan primerler kullanılmış ve aynı uzunlukta DNA bantları elde edilmiştir. Bu çalışmalarla ortaya çıkarılan sonuçlar her iki çalışmada elde edilenlerle paralellik göstermektedir.

Patates örneklerinden alınan tüm Kök-ur nematodlarının moleküler ve klasik olarak teşhis sonucunda *M. chitwoodi* olduğu tespit edilmiştir. Nyczepir ve ark. (1982), Amerika'nın Kuzey Kaliforniya, Idaho, Nevada, Oregon ve Washington eyaletlerinde patates (*Solanum tuberosum* L.) üretim alanlarında *Meloidogyne* spp.'nin yayılışını tespit etmek için yaptıkları çalışmada, sürvey kapsamındaki bütün bölgelerde Kök-ur nematodlarının var olduğunu, örneklerin % 83'ünün *M. chitwoodi*, % 11'inin *M. hapla* ve % 6'sının da her iki türü içerdiğini kaydetmişlerdir. Bu çalışmada da patates alanlarında *M. chitwoodi*'nin yaygın olduğu

ortaya konulmuş ve patates alanlarından alınan örneklerin hepsinin *M. chitwoodi* ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir.

M. incognita ve *M. javanica*'nın ise Türkiye genelinde en yaygın ve ekonomik olarak en önemli türler olduğu, *M. arenaria* ve *M. hapla*'nın ender rastlanan türler olduğu bildirilmektedir (Yüksel, 1974; Elekcioglu ve Uygun 1994, Elekcioglu ve ark., 1994; Sögüt ve Elekcioglu, 2000a; Mennan ve Ecevit, 1996). Bu çalışmada elde edilen bulgular dünyadaki diğer çalışmalarla paralellik göstermektedir. Bu araştırmada Türkiye genelinden toplanan Kök-ur nematodları örneklerinin teşhisi sonucu yaygın ve ekonomik olarak önemli dört Kök-ur nematodu türü tespit edilmiştir. Bunlar *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. chitwoodi*'dir.

Adam ve ark. (2007), 194 / 195 ribozomal primerler, Fjav / Rjav *M. javanica*, Far / Rar *M. arenaria*, MI-F/ R *M. incognita* spesifik SCAR primerler ve JMV ribozomal primerlerin başarılı şekilde kullanıldığını, 194 / 195 primerlerin tropikal türleri *M. javanica*, *M. incognita*, *M. arenaria* ve *M. hapla* pozitif kontrol kullanılarak agaroz jelde farklı uzunlukta bant oluşturdıklarını bildirmişlerdir. *M. incognita*'ya spesifik SCAR primerlerden üç çift primer Finc/Rinc (Zijlstra ve ark., 2000), F/R (Dong ve ark., 2001) ve Inc-14k F/R (Randing ve ark., 2002) primerlerinin tek bir *M. incognita* larvasından teşhisde rutin olarak çalışmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada da F/R primerlerinin (Dong ve ark., 2001) *M. incognita*'nın teşhisinde hiç çalışmadığı, Finc/Rinc primerlerinin (Zijlstra ve ark., 2000) bazı *M. incognita*'ları tanıyıp bazılarını teşhis etmediği, ortaya çıkarılmış ve moleküler olarak teşhis edilemeyen türler morfolojik yöntemlerle teşhis edilmiştir. Yine bu çalışmada Fjav/Rjav primerlerinin *M. javanica*, Far/Rar primerlerinin ise *M. arenaria*'nın bazılarını tanımadığı saptanmıştır. Bu primerler tropikal türler üzerinde çalışılarak yapılmıştır. Bu türlerin farklı ırklarının bulunmalarından dolayı aynı türün bazılarını tanıyıp bazılarını tanımaması, bu ırkların farklılığına bağlanabilir.

Kültür bitkilerinin köklerinde irili-ufaklı gal oluşturmaları ile karakterize edilen Kök-ur nematodları bitki paraziti nematodlar içerisinde önemli gruplardan birisini oluşturmaktadır. En son kayıtlara göre günümüze kadar dünyada 80 türü

tespit edilmiş olup (Siddiqi, 2000), konukçu nematod ilişkilerine bağlı olarak bu türlerin çok sayıda konukçu ırkları bulunmaktadır.

Türkiyede yapılan çalışmalarda (Enneli, 1980), İç Anadolu Bölgesi'nde Kök ur nematodları ile bulaşıklık oranının % 10-94 olduğunu, en yaygın türlerinde *M. incognita* (% 93), *M. javanica* (% 2), *M. arenaria* (% 1) olduğunu, Söğüt ve Elekcioğlu (2000), Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Adana, Hatay, İçel ve Batı Akdeniz Bölgesi'nde Antalya ili sebze alanlarında bulunan *Meloidogyne* türleri ve ırklarını tespit etmek amacıyla farklı alanlardan toplanan 38 *Meloidogyne* populasyonunun 21 adedinin *M. javanica* (% 55), 16 adedinin *M. incognita* (% 42), 1 adedinin ise *M. hapla* (% 3) ve *Meloidogyne* populasyonları arasında en baskın olan türün *M. javanica* olduğunu, Kaşkavalcı (1998), Aydın ilinin yazlık sebze yetiştirilen önemli bölgelerinde bulunan Kök-ur nematodlarının türlerini saptamışlar. Kök-ur nematodlarının anal kesitinden yaptıkları teşhiste sırasıyla % 80.06 *M. incognita*, % 14.49 *M. javanica* ve % 5.45'i ise *M. hapla* olarak saptamışlardır.

Johnson ve Fassuliotis (1984), Dünya genelinde 75 ülkeden elde edilen 1000 adet Kök-ur nematodu populasyonundan % 52'sinin *M. incognita*, % 30'unun *M. javanica*, % 8'inin *M. arenaria*, % 8'inin *M. hapla* olduğunu, geriye kalan % 2'sinin ise diğer türlerin oluşturduğunu, Sasser ve Carter (1985), 70 ülkeden topladıkları 850 populasyon üzerinde yaptıkları çalışmada, toplanan populasyonların % 97'sinde *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. hapla* türleri olduğunu saptamışlardır.

Kök-ur nematodlarının bu zamana kadar 80 den fazla türü tespit edilmiştir (Karssen, 2002) ve dünyadaki geniş yayılımı, bitki paraziti nematodlardan ürün üretiminde en fazla zarar veren Kök-ur nematodlarıdır. Dünya genelinde *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. chitwoodi*, *M. fallax* ve *M. hapla* türleri, % 95 den daha fazla oranda karşılaşılan ve en yaygın türlerdir. Bu türlerin etkisi, onların geniş konukçu yaygınlığından dolayı artmaktadır. En yaygın Kök-ur nematod türlerinin 5500 daha fazla bitki türünde infeksiyon yaptığı saptanmıştır (Trudgill & Blok, 2001). *M. incognita*, *M. javanica* ve *M. arenaria* esas tropikal bölgelerde yaygın iken, *M. chitwoodi*, *M. fallax* ve *M. hapla* daha serin bölgelerde bulunmaktadır. Bu türlerin morfolojik özellikleri benzerdir, teşhis etmekte zordur. Son yıllarda Kök ur nematodların teşhisinde moleküler yöntemler kullanılmaktadır.

Bu yöntem, vulva kesiti gibi morfolojik karakterler kullanılarak yapılan teşhisten daha güvenlidir. Buna rağmen izoenzim analizleri sadece Kök-ur nematodlarının dişilerinden yapılmakta, bir başka ifade ile ikinci dönem larva ve yumurtadan analiz yapılamamaktadır (Esbenshade & Triantaphyllou, 1990). İzoenzim metodunda toprak örneklerinden elde edilen dişiler bu metod için uygun değildir. Bunun için tek bir yumurta kümesinden veya larvadan oluşturulan dişiler kullanılır. Toprakta veya yumurtadan elde edilen ikinci dönem larvaların moleküler teşhisinde daha faydalı olduğu tespit edilmiştir (Powers & Harris, 1993). Çünkü bu yöntem daha hızlı ve daha güvenilir bulunmaktadır. Netice olarak Kök-ur nematodlarının teşhisinde son yıllarda yeni geliştirilen metodlarla tek bir larva kullanılarak yapıldığı görülmektedir. Moleküler teşhis yöntemleri Kök-ur nematodunun ikinci dönem larvaları için bireyler arasında spesifik varyasyonlar çalışılarak yapılmışlardır. Çeşitli moleküler metodlarla nematodlardan DNA elde edilerek türler arasındaki DNA polimorfizmi elde edilmiştir. Örneğin RAPD, SCAR primerler kullanılarak en yaygın Kök-ur nematodlarının teşhisi yapılmaktadır.

PCR metoduyla ilk Kök-ur nematodlarının teşhisini Harris ve ark. (1990) yapmışlardır. Larvadan mitokondriyal DNA elde etmişler ve PCR yaparak başarılı olmuşlardır. Bu metodu daha sonra Powers ve Harris (1993) geliştirmişlerdir. Kök-ur nematodlarından *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla* ve *M. chitwoodi*'yi teşhis etmişlerdir. Cenis (1993) ikinci dönem larvadan RAPD yapmış ve iki ayrı reaksiyonda türe spesifik küçük bantlar bulmuş, fakat reaksiyonun yarısında hiç bant elde edemediğini bildirmiştir. Williamson ve ark., (1997) ikinci dönem larvadan spesifik SCAR primer kullanarak *M. hapla* ve *M. chitwoodi*'yi teşhis etmişlerdir. Rutin analizde bunun yeterli olmadığını bildirilmiştir. Diğer bir gelişme Zijlstra (2000) larva kullanarak SCAR primerlerle *M. hapla*, *M. chitwoodi* ve *M. fallax* türlerini teşhis etmiştir. Meng ve ark. (2004) spesifik SCAR primerlerle *M. incognita*, *M. javanica* ve *M. arenaria*'yı larva kullanarak teşhis etmişlerdir.

Bu çalışmada ise 79 populasyondan 22 adedinde *M. incognita* (bulunma oranı % 28), 21 adedinde *M. arenaria* (bulunma oranı % 27), 28 adedinde *M. javanica* (bulunma oranı % 35) ve 8 adedin *M. chitwoodi* (bulunma oranı % 10) tespit edilmiştir. Yukarıda belirtilen kaynakların sonuçları ile bu çalışmada elde edilen

bulgular yaygın türlerin tespiti yönünden paralellik göstermektedir.

Bu çalışmada elde edilen veriler dayanıklı çeşit yetiştirme, ekim nöbeti gibi nematodlara karşı mücadele yöntemlerine ışık tutacak niteliktedir. Örneğin, *M. javanica* bulunan bir bölgede biber yetiştiriciliğinin önerilmesi (Özarslandan ve Elekcioglu, 2003), *M. hapla* olan yerlerde domateste Mi geni taşıyan dayanıklı çeşitlerin önerilmemesi, yine *M. hapla*'nın yaygın olduğu patates üretim alanlarında buğdayın münavebe bitkisi olarak önerilebileceği vb. tavsiyelerle kimyasal mücadeleye alternatif kontrol yöntemleri bilinçli olarak önerilebilecektir. Yine patates gibi son yıllarda sanayide yoğun kullanılan ve ülke ekonomisinde önemli olan kültür bitkilerinde söz konusu Kök-ur nematodu tür ve popülasyonu (patates için Niğde ve Nevşehirde bulunan *M. chitwoodi* popülasyonu) dikkate alınarak dayanıklı çeşit yetiştirme programlarının yürütülmesi önerilmektedir.

Bu çalışmada ayrıca 8 adet *M. incognita*, 13 adet *M. arenaria* ve 7 adet *M. javanica* popülasyonlarının virülentliği Picasso ve Malike F1 domates çeşitlerinde incelenmiştir. Dayanıklı Malike F1 RN'li domates çeşidinde hiçbir popülasyon gal indeksi 2'den küçük olduğu için dayanıklılığı kıran bir popülasyona rastlanmamıştır. Bu sonuçlar denemeye alınan hiçbir popülasyonun virulent olmadığını göstermektedir. Picasso hassas domates çeşidinde gal indeksi bütün popülasyonlarda 4-5 arasında tespit edilmiş, topraktaki 2. dönem larva sayıları ise 225-3080 arasında birey/bitki olarak tespit edilmiştir. Fakat Malike F1 domates çeşidinde ise bütün popülasyonlarda oluşan gal indeksi 0 – 1,75 arasında tespit edilmiş, topraktaki 2. dönem larva sayıları ise sıfır olarak tespit edilmiştir. Çiftçiye bölgemizde münavebe sistemiyle dayanıklı çeşitleri önermeliyiz. Üst üste dayanıklı çeşitler yetiştirildiği zaman dayanıklılığın kırılabileceğini, virulent popülasyonun oluşabileceği uyarılmalıdır.

KAYNAKLAR

- ADAM, M. A. M., PHILLIPPS, M. S., BLOK, V. C., 2007. Molecular diagnostic key for identification of single juveniles of seven common and economically important species of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.). *Plant Pathology* 56:190 –197
- AĞDACI, M., 1978. Güney Anadolu Bölgesi'nde Yetiştirilen Kabakgillerde (Cucurbitaceae) Zarar Yapan Kök-ur Nematodu Türleri (*Meloidogyne* spp.)'nin Tespiti ile Zarar Oranları Ve Yayılışları Üzerine Araştırmalar. Adana Bölge Zir. Müc. Araş. Ens. Md. Teknik Bülteni, No. 47.
- BLOK, V. C., PHILLIPS, M. S., AND FARGETTE, M. 1997. Comparison of sequences from the ribosomal DNA intergenic region of *Meloidogyne mayaguensis* and other major tropical root-knot nematodes. *J. Nematol.* 29:16-22.
- BOERMA, H.R. and HUSSEY, R.S., 1992. Breeding Plants for Resistance to Nematodes. *Journal of Nematology* 24 (2): 242-252.
- BROWN, C.R., YANG, C.P., MOJTAHEDI, H., SANTO, G., and MASUELLI, R. 1996. RFLP Analysis of Resistance to Columbia Root-Knot Nematode Derived from *Solanum bulbocastanum* in a BC₂ population. *Theoretical and Applied Genetics* 92: 572-576.
- BUROW, M.D., SIMPSON, C.E., PATTERSON, A.H. and STARR, J.L. 1996. Identification of Peanut (*Arachis hypogea* L.) RAPD Markers Diagnostic of Root-Knot Nematode (*Meloidogyne arenaria* Chitwood) Resistance. *Molecular Breeding* 2: 369-379.
- CASTAGNONE-SERENO P, 2002. Genetic variability of nematodes: a threat to the durability of plant resistance genes *Euphytica* 124, 193–9.
- CENIS, J.L., 1993. Identification of Four Major *Meloidogyne* spp by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD-PCR). *Phytopathology* 83: 76-78.
- COOK, R., EVANS, K., 1987. Resistance and Tolerance. In: Kerry, B.R., Brown, R. H., (ed). *Principles and Practice of Nematode Control in Crop*. Academic

- Press, Australia, pp 179-220.
- DECKER, H. and FRITZSCHE, R., 1991. Resistenz von Kulturpflanzen Gegen Nematoden. Akademie-Verlag-Berlin, pp 340.
- DEVİRAN, Z., GÖZEL, U., SÖĞÜT, M. A., YILDIZ, Ş., ELEKÇİOĞLU, İ.H., 2002. Identification of Root-Knot Nematodes in the Mediterranean Region Of Turkey by Using rDNA and mtDNA Markers. Turk. J. Agric. For 26: 337-341.
- DICE, LEE R., 1945. Measures of the Amount of Ecologic Association Between Species. *Ecology*, July, vol. 26, no. 3, p. 297-302.
- DONG, K., DEAN, R.A., FORTNUM, B.A. and LEWIS, S.A., 2001. Development of PCR Primers to Identify Species of Root-Knot Nematodes: *Meloidogyne arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* and *M. javanica*. Nematropica 31:273-282.
- DONG, K., CHITAMBAR, J., HACKNEY, R., LUNA, R., 2005. Incorporating Molecular Identification of *Meloidogyne* spp. into a Statewide Nematode Survey Nematology Laboratory Plant Pest Diagnostics Branch California Department of Food and Agriculture.
- EISENBACK, J. D., TRIANTA PHYLLIOU, H. H., 1991. Root-knot Nematodes *Meloidogyne* Species and races. In: Nickle, W. R. (ed.). Manual of Agriculturel Nematology. Marcel Dekker Inc: 191-274
- ELEKÇİOĞLU, İ. H. and UYGUN, N., 1994. Occurrence and Distribution of Plant Parasitic Nematodes in Cash Crop in Eastern Mediterranean Phytopathological Union, Kuşadası, Aydın, Türkiye, pp 409-410.
- ELEKÇİOĞLU, İ. H., OHNESORGE, B., LUNG, G., and UYGUN, N., 1994. Plant Parasitic Nematodes in The Mediterranean Region of Turkey. Nematol. Medit., 22:59-63.
- ENNELİ, S. 1980. İç Anadolu Bölgesinde Yetiştirilen Domateslerde Zararlı Kök Ur Nematodu (*Meloidogyne incognita* Chitwood)'un Tanımı, Biyolojisi, Histopatolojisi ve Patojenitesi Üzerinde Araştırmalar. A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi (Basılmamış), Ankara, 129 s.
- ESBENSHADE PR, TRIANTAPHYLLOU AC, 1990. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology* 22, 10-5.

- FASSULIOTIS, G., 1985. The Role of Nematologist in Development of Resistant Cultivars. (Sasser, J.N. and Carter, C.C. editör). An Advanced Treatise on Meloidogyne: Biology and Control. 1: 237
- GARCIA, G.M., STALKER, H.T., SHROEDER, E., and KOCHERT, G. 1996. Identifiatiön of RAPD, SCAR and RFLP Markers Tightly Linked to Nematode Resistance Genes Introgressed from *Arachis cardenasii* into *Arachis hypogea*. Genome 39: 836-845.
- GHEYSEN, G., VAN DER EYCKEN, W., BARTHEL, N., KARIMI, M., and VAN MONTAGU, M., 1996. The Exploitation of Nematode-Responsive Plant Genes in Novel Nematode Control Methods. Pestic. Sci. 47:95-101.
- GRIFFIN, G.D., and JORGENSEN, E.C., 1969. Pathogenicity of the northern root-knot nematode (*Meloidogyne hapla*) to potato. Proceedings of the Helminthological Society of Washington 36:88-92.
- GOLDEN, A.M., O'BANNON, J.H., SANTO, G.S., and FINLEY, A.M., 1980. Description and SEM Observations of *Meloidogyne chitwoodi* n. sp. (Meloidogynidae), a Root-knot Nematode on Potato in the Pacific Northwest. Journal of Nematology 12(4):319-327.
- GÜRDEMİR, E. ve AĞDACI, M. 1975. Güney Anadolu Bölgesi Sebze Seralarında Zarar Yapan Kök-Ur Nematodları (*Meloidogyne* spp.) Üzerinde Sürvey Çalışmaları. Bit. Kor. Bült. 15 (3): 176-181.
- HARRIS TS, SANDAL, L.J., POWERS, TO., 1990. Identification of single *Meloidogyne* juveniles by polymerase chain reaction amplification of mitochondrial DNA. *Journal of Nematology* 22: 518-24.
- HARTMAN, K. M., SASSER, J. N., 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of different host test and perineal pattern morphoplogy. In: Barker, K. R., Carter, C. C., Sasser, J. N., (eds). An Advanced treatise on *Meloidogyne*, Vol. 2. Metholodology. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 69-77.
- HOOPEr, D.J., 1986. Extraction of free living stages from soil. In: Southey, J.F. (ed). Laboratory Methods for Work with Plant Soil Nematodes. Her Majesty's Stationary Office, London: 5-30.

- JACQUET, M., BONGIOVANNI, M., MARTINEZ, M., VERSCHAVE, P., WAJNBERG, E., CASTAGNONE-SERENO, P., 2005. Variation in resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in tomato genotypes bearing the Mi gene. *Plant Pathology*(54):93-99.
- JATALA, P., and BRIDGE, J., 1990. Nematode parasites of root and tuber crops. In: Luc m, Sikora RA, Bridge J, eds. *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. Wallingford, UK: CAB International, 137-180.
- JEPSON, S.B., 1987. Identification of root-knot Nematodes. CAB International, s.265.
- JOHNSON, A.V., FASSULIOTIS, G., 1984. Nematode Parasites of Vegetable Crops. W.R., Nickle. *Plant and Insect Nematodes*. Marcel Deccker Inc., New York and Basel, s. 323-372.
- KARAJEH, M., ABU-GHARBIEH, W., MASOUD, S., 2005. Virulence of root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., on tomato bearing the Mi gene for resistance. *Phytopathol. Mediterr.* (44):24-28.
- KARSSSEN, G. 1996. Description of *Meloidogyne fallax* n. sp., a root-knot nematode from the Netherlands. *Fundamental and Applied Nematology* 19:593-599.
- KARSSSEN, G., 1999. The Plant-Parasitic Nematode Genus *Meloidogyne* Göldi, 1892 (Tylenchida) in EUROPE. Page: 37-40.
- KARSSSEN, G., 2002. *The Plant-Parasitic Nematode Genus Meloidogyne Goldi, 1892 (Tylenchida) in Europe*. Leiden, Netherlands: Brill.
- KAŞKAVALCI, G., 1998. Aydın İli Yazlık Sebze Yetiştirilen Önemli Bölgelerinde Bulunan Kök-Ur Nematodları (*Meloidogyne* spp.)'nın Tanınmaları ve Ekonomik Önemleri Üzerine Araştırmalar. T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü BK-DR-1998-0001.
- LOPEZ-PEREZ, J. A., STRANGE, M.L., KALOSHIAN, I. and PLOEG, A.T., 2006. Differential response of Mi gene resistant tomato rootstocks to root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*). *Crop Protection*(25):382-388.
- LU, Z-X., SOSINSKI, B., REIGHARD, G.L., BAIRD, W.V. and ABBOTT, A.G. 1998. Construction of A Genetic Linkage Map and Identification of AFLP markers for Resistance to Root-Knot Nematodes in Peach Root-Stocks.

Genome 41: 199-208.

- MENG, QP., LONG, H., XU, JH., 2004. PCR assays for rapid and sensitive identification of three major root-knot nematodes, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria*. *Acta Phytopathologica Sinica* 34: 204–10.
- MENNAN, S., ve ECEVIT, O., 1996. Bafra ve Çarşamba Ovaları Yazlık Sebze Ekim Alanlarındaki Kök-ur Nematodları (*Meloidogyne* spp)’nın Biyolojisi, Yayılışı ve Bulaşıklık Oranları Üzerine Araştırmalar. Türkiye III. Entomoloji Kongresi Bildirileri, 700-705 s.
- MENNAN, S., ve ECEVIT, O., 2001. Bafra ve Çarşamba Ovaları’ndan Elde Edilen Bazı *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) (Nemata: Heteroderidae) Populasyonlarında Irk Tespiti. Türkiye Entomoloji Dergisi, 25(1): 33-39.
- MILLIGAN, S.B., BODEAU, J., YAGHOUBI, J., KALOSHIAN, I., and ZABEL, P., 1998. The Root-Knot Resistance Gene Mi from Tomato is a Member of the Leucine Zipper, Nucleotide Binding, Leucine-Rich Repeat Family of Plant Genes. *Plant Cell*, 10: 1307-1321.
- MOLINARI, S. and CARADONNA, S., 2003. Reproduction of natural and selected resistance-breaking *Meloidogyne* populations on near-isogenic tomato lines. *Nematologia Mediterranea*, (Vol. 31) (No. 2) 181-185
- NETSCHER, C., and SIKORA, R.A., 1990. Nematode Parasites on Vegetables. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J. (eds). *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. CAB International, pp 231-283.
- NYCZEPIR, A. P., J. H. O’BANNON, G. S. SANTO, and A. M. FINLEY.1982. Incidence and distinguishing characteristics of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. hapla* in potato from northwestern United States. *Journal of Nematology* 14:347–353.
- ORNAT, C., VERDEJO-LUCAS, S. and SORRIBAS, F. J., 2001. A Population Of *Meloidogyne javanica* in Spain virulent to the Mi resistance gene in tomato. *Plant Dis.* 85:271-276.
- ÖZARSLANDAN, A. ve ELEKCİOĞLU, İ. H., 2003. Bazı Hıyar, Domates Ve Biber Çeşitlerinin Kök-ur Nematodları (*Meloidogyne javanica* Chitwood,

- 1949 ırk-1 ve *M. incognita* Chitwood, 1949 ırk-2) (Nemata: Heteroderidae)'na Karşı Dayanıklılıklarının Araştırılması. Türk. Entomol. Derg., 2003, 27 (4):279-291.
- ÖZTÜZÜN, N. 1970. Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi Kültür Bitkilerine Arız Olan Bitki Paraziti Nematodları Üzerinde Sürvey Çalışmaları. Bit. Kor. Bült. 10 (3): 180-197.
- PETERSON, D. J., AND VRAIN, T. C. 1996. Rapid identification of *Meloidogyne chitwoodi*, *M. hapla*, and *M. fallax* using PCR primers to amplify their ribosomal intergenic spacer. Fundam. Appl. Nematol. 19:601-605.
- PETRILLO, M.D., MATTHEWS, W.C., ROBERTS, P.A., 2006. Dynamics of *Meloidogyne incognita* Virulence to Resistance Genes Rk and Rk² in cowpea. Journal of Nematology 38(1): 90-96.
- POWERS, T.O. and HARRIS, T.S., 1993. A Polymerase Chain Reaction Method for Identification of Five Major *Meloidogyne* species. Journal of Nematology 25:1-6.
- POWERS, T. O., MULLIN, P. G., HARRIS, T.S., SUTTON, L.A., HIGGINS, R.S., 2005. Incorporating Molecular Identification of *Meloidogyne* spp. into a Large-scale Regional Nematode Survey. Journal of Nematology 37(2):226–235.
- RANDIG, O., BONGIOVANNI, M., CASTAGNONE-SERENO, P., 2002. Genetic diversity of root-knot nematodes from Brazil and development of SCAR markers specific for the coffee-damaging species Published on the NRC Research Press Web site at <http://genome.nrc.ca>.
- RANDIG, O., CARNEIRO, R. M.D.G., SERENO, P. C., 2004. Identificação das Principais Espécies de *Meloidogyne* Parasitas do Cafeeiro no Brasil com Marcadores SCAR–Café em Multi *Nematologia Brasileira*, V. 28(1):1-10.
- ROBERTS, PA; MATTHEWS, WC., 1995. Virulence in *Meloidogyne* spp. to resistance in cowpea. *Nematologica*. ;41:336. (Abstr.).
- SASSER, J.N. and CARTER., C.C., 1985. Overview of The International *Meloidogyne* Project, 1974-1984. J.N., Sasser, C.C., Carter (eds). An Advanced Treatise on *Meloidogyne*: Volume 1, Biology and Control. North

- Carolina State University raphics, s. 19-24.
- SEINHORST, J.W. 1959. A rapid Method for the Transfer of Nematodes from Fixative to Anhydrous Glycerin. *Nematologica*, 4; 67–69.
- SEMBLAT, J. P., BONGIOVANNI, M., WAJNBERG, E., DALMASSO, A., ABAD, P., SERENO, P. C., 2000. Virulence and molecular diversity of parthenogenetic root- knot nematodes, *Meloidogyne* spp. *Heredity* (84):81-89.
- SIDDIQI, M.R., 2000. Tylenchida Parasites of Plants and Insects. CABI Publishing, CAB International, Wallingford, UK. 2 nd. Editon, s. 805.
- SIJMONS, P.C., ATKINSON, H.J., and WYSS, U., 1994. Parasitic Strategies of Root Nematodes and Associated Host Cell Responses. *Annu. Rev. Phytopathol.* 32:235-259.
- SÖĞÜT, M. A., ELEKCİOĞLU, İ. H., 2000a. Akdeniz Bölgesi'nde sebze alanlarında bulunan *Meloidogyne* Goeldi, 1892 (Nemata: Heteroderidae) türlerinin ırklarının belirlenmesi. *Türk. Entomol. Derg.* 24(1): 33-40.
- SÖĞÜT, M. A., ELEKCİOĞLU, İ. H., 2000b. *Meloidogyne incognita* Chitwood (Nemata: Heteroderidae) ırk-2'nin farklı domates çeşitlerinde bazı biyolojik özellikleri üzerine araştırmalar. *Türk. Entomol. Derg.* 24(2): 113-124.
- STANTON, J., HUGALL, A., AND MORITZ, C. 1997. Nucleotide polymorphisms and an improved PCR-based mtDNA diagnostic for parthenogenetic root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). *Fundam. Appl. Nematol.* 20:261-268.
- TAMULONIS, J.P., LUZZI, B.M., HUSSEY, R.S., PARROTT, W.A., and BOERMA, H.R., 1997a. DNA Marker Analysis of Loci Conferring Resistance to Peanut Root-Knot Nematode in Soybean. *Theoretical and Applied Genetics* 95: 664-670.
- TAMULONIS, J.P., LUZZI, B.M., HUSSEY, R.S., PARROTT, W.A., and BOERMA, H.R., 1997b. DNA Markers Associated with Resistance to Javanese Root-Knot Nematode in Soybean. *Crop Science* 37: 783-788.
- TESAROVA, B., ZOUHAR, M., RYSANEK, P., 2003. Development of PCR for Specific Determination of Root-knot Nematode *Meloidogyne incognita* plant. *Protect. Sci.*, 39: 23-28.

- TRUDGILL, DL., BLOK, VC., 2001. Apomictic polyphagous root knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 39: 53–77.
- TZORTZAKAKIS, E.A., BLOK, V.C., PHILLIPS, M.S., TRUDGILL, D.L., 1999. Variation in root-knot nematode (*Meloidogyne* spp) in Crete in relation to control with resistant tomato and pepper. *Nematology* 1: 499-506.
- TZORTZAKAKIS, E.A., PHILLIPS, M.S., and TRUDGILL, D.L., 2000. Rotational management of *Meloidogyne javanica* in a small scale greenhouse trial in Crete, Greece. *Nematropica* 30: 167-175.
- TZORTZAKAKIS, E. A., ADAM, M. A. M., BLOK, V. C., PARASKEVOPOULOS, C., BOURTZIS, K., 2005. Occurrence of Resistance breaking Populations of Root-knot Nematodes on Tomato in Greece. *European Journal of Plant Pathology* (13):101-105
- UKOSKIT, K., THOMPSON, P.G., WATSON, C.E, LAWRENCE, and G.W. 1997. Identifying a Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Marker Linked to a Gen for Root-Knot Nematode Resistance in Sweet Potato. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 122: 818-821.
- VRAIN, T.C., D.A. WAKARCHUK, A.C. LEVESQUE and I. HAMILTON, 1992. Intraspecific rDNA restriction fragment length polymorphism in the *Xiphinema americanum* group. *Fundamental Applied Nematology*,15: 563-573.
- VRAIN, T.C.,1999. Engineering Natural and Synthetic Resistance for Nematode Management. *Journal of Nematology* 31 (4): 424-436.
- VOVLAS, N., MIFSUD, D., LANDA, B.B., and CASTILLO, P., 2005. Pathogenicity of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on potato. *Plant Pathology* 54:657-664.
- YAGHOobi, J., KALOSHIAN, I., WEN, Y., and WILLIAMSON, V.M., 1995. Mapping a new nematode resistance locus in *Lycopersicon peruvianum*. *Theoretical and Applied Genetics* 91: 457-464.

- YI, H., RUFTY, Y., WERNSMAN, R.C., 1998. Mapping the root-knot nematode resistance gene (Rk) in tobacco with RAPD markers. *Plant Disease* 82: 1319-1322.
- YÜCEL, S., ELEKCİOĞLU, İ.H., ULUDAG, A., CAN, C., GÖZEL, U., SÖĞÜT, M.A., ÖZARSLANDAN, A., AKSOY, E., 2001. The First Year Results Of Methyl Bromide Alternatives In Strawberry, Pepper And Eggplant In The Eastern Mediterranean Part Of Turkey. Annual International Research Conference On Methyl Bromide Alternatives And Emissions Reductions, California 5-9 November 2001, 94:1-4.
- YÜCEL, S., ELEKCİOĞLU, İ.H., ULUDAG, A., CAN, C., SÖĞÜT, M.A., ÖZARSLANDAN, A., AKSOY, E., 2002. The Second Year Results of Methyl Bromide Alternatives In The Eastern Mediterranean. Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, Florida 6-8 November 2002, 10:1-4.
- YÜKSEL, H., 1974. Kök ur Nematodlarının (*Meloidogyne* spp.) Türkiye'deki Durumu ve Bunların Populasyon Problemleri Üzerine Düşünceler. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 5 (1): 83-105.
- ZIJLSTRA, C., LEVER, A. E. M., UENK, B. J., and VAN SILFHOUT, C.H. 1995. Differences Between ITS Region of Isolates of Root-Knot Nematodes *Meloidogyne chitwoodi* and *M. hapla* . *Phytopathology* 85:1231-1237.
- ZIJLSTRA, C. 1997. A fast PCR assay to identify *Meloidogyne hapla*, *M. chitwoodi* and *M. fallax* and to sensitively differentiate them from each other and from *M. incognita* in mixtures. *Fundam. Appl. Nematol.* 20:505-511.
- ZIJLSTRA, C. 2000. Identification of *Meloidogyne chitwoodi*, *M. fallax* ve *M. hapla* Based on SCAR-PCR: A Powerful Way of Enabling Reliable Identification of Population or Individuals that Share Common Traits. *Europeon Journal of Plant Pathology* 106: 283-290.
- ZIJLSTRA, C., DONKERS-VENNE, D.T.H.M., and FARGETTE, M., 2000. Identification of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* Using Sequence Characterised Amplified Region (SCAR) Based PCR Assays. *Nematology* (8):847-853.

- XU, J., NARABU, T., MIZUKUBO, T., HIBI, T., 2001. A molecular marker correlated with selected virulence against the tomato resistance gene *Mi* in *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, and *M. arenaria*. *Phytopathology* (91):377-382.
- WAEYENBERGE, L. and MOENS, M., 2001. *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax* in Belgium. *Nematol. Medit.* 29:91-97.
- WHITEHEAD, A. G., 1968. Taxonomy of *Meloidogyne* (Nematodea :Heteroderidae) with descriptions of four new species. *Trans. of Zool. Soc. Lond.* 31:263-401.
- WILLIAMSON, V. and HUSSEY, R.S., 1996. Nematode Pathogenesis and Resistance in Plants. *The Plant Cell.* 8: 1735-1745.
- WILLIAMSON, VM., CASWELL-CHEN, EP., WESTERDAHL, BB., WU, FF., CARYL, G., 1997. A PCR assay to identify and distinguish single juveniles of *Meloidogyne hapla* and *M. chitwoodi*. *Journal of Nematology* 29, 9–15.
- WISHART, J., PHILLIPS, M. S., and BLOK, V. C., 2002. Ribosomal intergenic spacer: A polymerase chain reaction diagnostic for *Meloidogyne chitwoodi*, *M. fallax*, and *M. hapla*. *Phytopathology* 92:884-892.

ÖZGEÇMİŞ

1972 yılında Kozan'nın Poskabasakal köyünde doğdu. İlk ve orta öğretimini Kozan'da tamamladı. Lise öğrenimini yatılı Erzincan Laborant Meslek Lisesinde 1992 yılında tamamladı. 1992-1994 yıllarında İstanbul Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nde laborant olarak görev yaptı. 1994 Yılında Adana Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne atandı. 1994 yılında Ç. Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nü kazandı. Ç. Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nden 1998 Bahar döneminde mezun oldu. Adana Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden 1999 yılında Adana Ziraat Mücadele Araştırma Enstitüsü'ne Ziraat Mühendisi olarak tayin oldu. 2002 Yılında nematoloji dalında Yüksek lisansını bitirdi. Halen bu enstitüde nematoloji laboratuvarında görev yapmaktadır.

2004 yılında metilbromidin alternatifleri konusunda İtalya'da, Yine 2004 yılında karantina nematodlarının teşhisi konusunda Hollanda Bitki Koruma servisinde kurslara katılmıştır. 2008 yılında Slovenya'da COST toplantısına katıldı.

EKLER

Ek Çizelge 1. Moleküler olarak tanımlanmayan sadece morfolojik olarak tanımlanan populasyonlar

Sıra No	İl	Konukçu Bitki	
33-Mc-1	Mersin	Muz(<i>Musa cavendish</i>)	<i>M. incognita</i>
33-Sm-1	Mersin	Patlıcan(<i>S. melongena</i>)	<i>M. incognita</i>
31-Sl-1	Hatay	Domates(<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. incognita</i>
31-Sl-2	Hatay	Domates(<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. javanica</i>
31-Cs-1	Hatay	Hıyar(<i>C. sativus</i>)	<i>M. incognita</i>
09-Cs-2	Aydın	Hıyar(<i>C. sativus</i>)	<i>M. javanica</i>
10-Sl-1	Balıkesir	Domates(<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. javanica</i>
34-Sl-1	İstanbul	Domates(<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. javanica</i>
34-Sl-2	İstanbul	Domates(<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. incognita</i>
32-Cs-1	Isparta	Hıyar(<i>C. sativus</i>)	<i>M. javanica</i>
15-Sl-1	Burdur	Domates(<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. arenaria</i>
52-Sl-1	Ordu	Domates(<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. incognita</i>
57-Sl-1	Sinop	Domates(<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. incognita</i>
19-Sl-1	Çorum	Domates(<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. arenaria</i>
73-Sl-1	Şırnak	Domates(<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. javanica</i>
02-Sl-2	Adıyaman1	Domates(<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. incognita</i>
27-Os-1	G.Antep	Zeytin (<i>O. sativa</i>)	<i>M. javanica</i>
44-Sl-1	Malatya	Domates (<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. arenaria</i>
21-Sl-2	Diyarbakır Bismil	Domates(<i>S. lycopersicum</i>)	<i>M. javanica</i>
M. ja	Kontrol		<i>M. javanica</i>

Ek Çizelge 2. Moleküler olarak teşhis edilmeyen populasyonların ikinci dönem larva ölçümleri

Karakterler	27-Os-1	44-Sl-1	M. ja	21-Sl-2	32-Cs-1	33-Sm-1	19-Sl-1
Vücut uzunluğu (µm)	421,5 ± 9,1 (388,8 – 457,60)	412,2 ± 7 (387,2 – 427,2)	428 ± 5,2 (416 – 451,2)	427,4 ± 2,6 (417,6 – 438,4)	372,8 ± 3,7 (352 – 3,84)	425,6 ± 4,44 (412,80-440)	420,8 ± 4,64 (401,60-440)
Vücut genişliği (µm)	13,03 ± 0,15 (12,80-13,60)	13,8 ± 0,3 (12,80 – 14,40)	13,47 ± 0,30 (12,80 - 14,40)	13,9 ± 0,2 (12,80 – 14,40)	12,80 ± 0,18 (12 – 13,60)	12,96 ± 0,30 (12,00-13,60)	13,10 ± 0,15 (12,80 – 13,60)
Stilet tokmakçığı seviyesinde vücut genişliği (µm)	8,80 ± 0,25 (8-9,60)	8,96 ± 0,16 (8,80 – 9,60)	9,20 ± 0,20 (8,80 – 9,60)	9,00 ± 0,13 (8,80 – 9,60)	8,46 ± 0,16 (8,00- 8,80)	8,96 ± 0,16 (8,80 – 9,60)	8,80 ± 0,15 (8,00 – 9,60)
S-E pore seviyesinde (µm)	12,46± 0,16 (12-12,80)	12,96 ± 0,30 (12- 13,60)	12,80 ± 0,0 (12,80 - 12,80)	13,10 ± 0,26 (12,00 – 14,40)	12,23 ± 0,23 (11,20-12,80)	12,32 ± 0,20 (12,00-12,80)	12,10 ± 0,18 (11,20 – 12,80)
Anüs seviyesinde vücut genişliği (µm)	9,37 ± 0,29 (8-10,40)	10,08 ± 0,32 (9,60 – 11,20)	9,20 ± 0,27 (8,00 – 9,60)	9,40 ± 0,33 (8,00 – 11,20)	10,06 ± 0,24 (9,60 – 11,20)	9,12 ± 0,48 (7,20 – 9,60)	8,90 ± 0,18 (8,00 – 9,60)
Stilet uzunluğu (µm)	10,97 ± 0,15 (10,40 – 11,20)	10,72 ± 0,20 (10,40 – 11,20)	10,93 ± 0,27 (10,40 – 12,00)	10,80 ± 0,15 (10,40 – 11,20)	10,51± 0,32 (9,60- 11,20)	11,52 ± 0,32 (10,40-12,00)	10,40 ± 0,21 (9,60- 11,20)
DGO (dorsal özefagus bezi) (µm)	3,43 ± 0,23 (3,20- 4,80)	3,20 ± 0,0 (3,20-3,20)	3,60 ± 0,20 (3,20 – 4,00)	3,20 ± 0,0 (3,20 – 3,20)	2,57 ± 0,11 (2,40 – 3,00)	3,20 ± 0,0 (3,20- 3,20)	4,20 ± 0,25 (3,20- 4,80)
Kuyruk uzunluğu (µm)	50,97 ± 1,73 (43,20-57,60)	50,56 ± 0,82 (48 – 52,80)	53,60 ± 0,36 (52,80 – 54,40)	46,60 ± 1,37 (41,60 – 51,20)	42,06 ± 0,49 (40 -44)	46,88 ± 1,06 (44,00-49,60)	49,80 ± 0,71 (46,40 – 52,80)

Ek Çizelge 2.'nin devamı

Karakterler	27-Os-1	44-SI-1	M. ja	21-SI-2	32-Cs-1	33-Sm-1	19-SI-1
Kuyruk ucu (hyalin) uzunluğu(µm)	12,80 ± 0,35 (11,20 – 14,40)	14,08 ± 0,60 (12,80 – 16,00)	14,27 ± 0,38 (12,80 – 15,20)	11,40 ± 0,13 (11,20 – 12,00)	10,63 ± 0,29 (9,60 – 11,20)	12,16 ± 0,3 (11,20 – 12,80)	13,10 ± 0,3 (12,00 – 14,40)
Anüs-genital primordium arası (µm)	108,34 ± 3,2 (96-121,6)	96,64 ± 1,65 (92,80 – 100,80)	117,07 ± 1,7 (112 – 121,6)	111 ± 2,2 (102,40- 120)	99,89 ± 2,34 (89,60 – 107,20)	97,28 ± 0,6 (96,00- 99,20)	106,8 ± 1,98 (96- 112)
a	32,4 ± 0,7 (29,65- 35)	29,30 ± 0,68 (28,47 – 32,50)	31,84 ± 0,8 (29,11 – 33,8)	30,80 ± 0,49 (29,22 – 33,0)	29,14 ± 0,29 (27,53 – 30,00)	32,89 ± 0,68 (31,18 – 34,40)	32,14 ± 0,35 (30,24 – 33,38)
b'	6,5 ± 0,15 (5,65 – 6,92)	6,41 ± 0,11 (6,21 – 6,77)	6,69 ± 0,02 (6,63 – 6,75)	6,81 ± 0,08 (6,53 – 7,13)	6,07 ± 0,07 (5,85 – 6,47)	6,46 ± 0,04 (6,29 – 6,55)	6,40 ± 0,06 (6,12 – 6,63)
c	8,3 ± 0,2 (7,59 – 9,33)	8,20 ± 0,11 (7,81 – 8,50)	7,99 ± 0,08 (7,65 – 8,29)	9,22 ± 0,3 (8,28 – 10,12)	8,87 ± 0,08 (8,47 – 9,06)	9,09 ± 0,13 (8,83 – 9,43)	8,39 ± 0,05 (8,16 – 8,57)
c'	3,9 ± 0,14 (3,38- 4,57)	3,62 ± 0,20 (3,10 – 4,00)	3,77 ± 0,11 (3,58 – 4,25)	4,09 ± 0,13 (3,47 – 4,57)	3,98 ± 0,14 (3,57 – 4,50)	3,86 ± 0,05 (3,73 – 4,00)	3,76 ± 0,1 (3,22 – 4,13)
(S-P pore/L) X 100	20,05 ± 0,44 (19,23 – 22,63)	20,43 ± 0,23 (19,62 – 21,07)	19,01 ± 0,12 (18,79 – 19,47)	19,28 ± 0,33 (17,71 – 20,31)	20,36 ± 0,23 (19,15 – 20,94)	20,08 ± 0,27 (19,40 – 20,83)	19,22 ± 0,2 (18,55 – 19,92)

Çizelge 3. Moleküler olarak teşhis edilmeyen populasyonların ikinci dönem larva ölçümleri

Karakterler	15-SI-1	31-SI-1	57-SI-1	10-SI-1	34-SI-2	52-SI-1
Vücut uzunluğu (µm)	454,72 ± 6,98 (432 – 473,6)	396,27 ± 5,6 (382,4 – 416)	374,93 ± 2,79 (364,80 – 384)	445,71 ± 2,6 (436,80 – 456)	388,27 ± 4 (376 – 401,60)	367,36 ± 6,5 (350,40 – 388,80)
Vücut genişliği (µm)	13,28 ± 0,2 (12,80 – 13,60)	13,07 ± 0,17 (12,80- 13,60)	13,60 ± 0,21 (12,80 – 14,40)	13,03 ± 0,15 (12,80 – 13,60)	12,67 ± 0,13 (12,00 – 12,80)	13,28 ± 0,2 (12,80 – 13,60)
Stilet tokmakçığı seviyesinde vücut genişliği (µm)	9,44 ± 0,16 (8,80 – 9,60)	8,80 ± 0,0 (8,80- 8,80)	9,33 ± 0,17 (8,80 – 9,60)	9,03 ± 0,15 (8,80 – 9,60)	9,07 ± 0,27 (8,00- 9,60)	8,80 ± 0,25 (8,00 – 9,60)
S-E pore seviyesinde (µm)	12,80 ± 0,25 (12,00 – 13,60)	12,53 ± 0,17 (12,00- 12,80)	12,93 ± 0,13 (12,80 – 13,60)	12,57 ± 0,15 (12,00 – 12,80)	12,00 ± 0,36 (11,20 – 13,60)	12,16 ± 0,3 (11,20 – 12,80)
Anüs seviyesinde vücut genişliği (µm)	9,28 ± 0,32 (8,80 – 10,40)	9,47 ± 0,38 (8,00 – 10,40)	9,47 ± 0,25 (8,80 – 10,40)	8,91 ± 0,27 (8,00 – 9,60)	9,33 ± 0,27 (8,00 – 9,60)	9,76 ± 0,16 (9,60 – 10,40)
Stilet uzunluğu (µm)	11,36 ± 0,16 (11,20 – 12,00)	10,53 ± 0,13 (10,40 – 11,20)	10,67 ± 0,17 (10,40 – 11,20)	11,43 ± 0,23 (10,40 – 12,00)	10,93 ± 0,27 (10,40 – 12,00)	10,88 ± 0,19 (10,40 – 11,20)
DGO (dorsal özefagus bezi) (µm)	4,48 ± 0,2 (4,00 – 4,80)	2,40 ± 0,0 (2,40-2,40)	2,59 ± 0,08 (2,40 – 2,88)	4,57 ± 0,15 (4,00 – 4,80)	2,50 ± 0,1 (2,40 -3,00)	2,40 ± 0,0 (2,40 -2,40)
Kuyruk uzunluğu (µm)	52,48 ± 1,18 (49,60 – 54,40)	49,33 ± 1,13 (44,80 – 52,80)	42,13 ± 0,34 (41,60 – 43,20)	53,03 ± 1,18 (49,60 – 57,60)	46,67 ± 1,4 (41,60 – 49,60)	42,56 ± 0,99 (40,80 – 46,40)

Ek Çizelge 3.'ün devamı

Karakterler	15-SI-1	31-SI-1	57-SI-1	10-SI-1	34-SI-2	52-SI-1
Kuyruk ucu (hyalin) uzunluğu(μm)	13,44 ± 0,3 (12,80 – 14,40)	11,07 ± 0,13 (10,40 – 11,20)	10,13 ± 0,34 (9,60 – 11,20)	13,71 ± 0,41 (12,80 – 15,20)	11,20 ± 0,21 (10,40 – 12,00)	10,56 ± 0,47 (9,60 – 12,00)
Anüs-genital primordium arası (μm)	123,84 ± 3,7 (113,6 – 136)	99,20 ± 2,55 (91,20 – 107,20)	97,87 ± 2,2 (91,20 – 104)	119,77 ± 2,19 (110,40 – 128)	100,53 ± 1,87 (94,40 – 107,20)	99,20 ± 2,9 (92,80 – 108,80)
a	34,26 ± 0,57 (33,18 – 36,25)	30,35 ± 0,53 (28,59 – 32,50)	27,59 ± 0,35 (26,67 – 29)	34,23 ± 0,34 (32,90 – 35,60)	30,67 ± 0,31 (29,38 – 31,47)	27,69 ± 0,66 (25,77 – 29,13)
b'	6,76 ± 0,23 (6,28 – 7,65)	6,46 ± 0,06 (6,23 – 6,67)	6,33 ± 0,04 (6,16 – 6,49)	6,46 ± 0,07 (6,21 – 6,74)	6,20 ± 0,06 (5,88 – 6,31)	6,21 ± 0,1 (6,00 – 6,57)
c	8,67 ± 0,13 (8,32 – 9,10)	8,05 ± 0,16 (7,59 – 8,61)	8,89 ± 0,06 (8,67 – 9,15)	8,43 ± 0,15 (7,92 – 8,97)	8,36 ± 0,26 (7,87 – 9,29)	8,64 ± 0,11 (8,38 – 8,94)
c'	3,91 ± 0,1 (3,65 – 4,25)	4,46 ± 0,06 (4,29 – 4,71)	4,18 ± 0,13 (3,71 – 4,50)	3,88 ± 0,06 (3,68 – 4,25)	4,18 ± 0,17 (3,60 – 4,62)	4,06 ± 0,19 (3,47 – 4,46)
(S-P pore/L) X 100	18,31 ± 0,64 (15,90 – 19,63)	20,06 ± 0,25 (19,50 – 20,99)	19,85 ± 0,23 (18,90 – 20,51)	18,98 ± 0,19 (18,02 – 19,64)	20,19 ± 0,12 (19,92 – 20,58)	20,56 ± 0,51 (19,31 – 22,22)

Ek Çizelge 4. Moleküler olarak teşhis edilmeyen populasyonların ikinci dönem larva ölçümleri

Karakterler	09-Cs-2	02-Sl-2	31-Sl-2	73-Sl-1	33-Mc-1	31-Cs-1
Vücut uzunluğu (µm)	456,53 ± 4,5 (441,6- 470,4)	384,80 ± 2,3 (374,4 – 390,4)	333 ± 5,96 (304 – 355,20)	427,84 ± 4,1 (412,8 – 435,2)	437,71 ± 3 (422,40- 448)	413,3 ± 4,2 (400 – 427)
Vücut genişliği (µm)	13,47 ± 0,32 (12,80-14,40)	13,73 ± 0,25 (12,80 – 14,40)	11,90 ± 0,24 (11,20 – 12,80)	13,28 ± 0,2 (12,80 – 13,60)	13,26 ± 0,16 (12,80 – 13,60)	13,20 ± 0,18 (12,80 – 13,60)
Stilet tokmakçığı seviyesinde vücut genişliği (µm)	9,33 ± 0,17 (8,80 – 9,60)	8,80 ± 0,0 (8,80 – 8,80)	8,50 ± 0,15 (8,00 – 8,80)	9,12 ± 0,2 (8,80 -9,60)	9,37 ± 0,15 (8,80 – 9,60)	8,67 ± 0,25 (8,00- 9,60)
S-E pore seviyesinde (µm)	12,3 ± 0,13 (12,80 – 13,60)	12,93 ± 0,13 (12,80 – 13,60)	11,20 ± 0,15 (10,40 - 12,00)	12,96 ± 0,16 (12,80 – 13,60)	13,14 ± 0,16 (12,80 – 13,60)	12,93 ± 0,13 (12,80 – 13,60)
Anüs seviyesinde vücut genişliği (µm)	9,33 ± 0,17 (8,80 – 9,60)	8,93 ± 0,13 (8,80 – 9,60)	9,00 ± 0,3 (8,00 - 10,40)	9,12 ± 0,32 (8,80 – 10,40)	9,71 ± 0,11 (9,60 – 10,40)	9,73 ± 0,13 (9,60 – 10,40)
Stilet uzunluğu (µm)	11,47 ± 0,17 (11,20 – 12,00)	10,53 ± 0,25 (9,60 – 11,20)	10,40 ± 0,21 (9,60 – 11,20)	11,68 ± 0,32 (11,20 – 12,80)	10,97 ± 0,15 (10,40 – 11,20)	10,93 ± 0,17 (10,40 – 11,20)

Ek Çizelge 4.'ün devamı

Karakterler	09-Cs-2	02-SI-2	31-SI-2	73-SI-1	33-Mc-1	31-Cs-1
DGO (dorsal özefagus bezi) (µm)	3,60 ± 0,18 (3,20 – 4,00)	2,61 ± 0,09 (2,40 – 2,88)	2,40 ± 0,0 (2,40 – 2,40)	3,36 ± 0,16 (3,20 -4,00)	3,89 ± 0,11 (3,20 – 4,00)	2,50 ± 0,1 (2,40 – 3,00)
Kuyruk uzunluğu (µm)	55,20 ± 1,1 (51,20 – 57,60)	42,40 ± 0,51 (40,00 – 43,20)	41,30 ± 0,56 (40,00 – 44,00)	52,16 ± 0,64 (51,20 – 54,40)	53,26 ± 1,25 (49,60 – 57,60)	48,20 ± 0,46 (46,40 – 49,60)
Kuyruk ucu (hyalin) uzunluğu(µm)	13,87 ± 0,4 (12,80 – 15,20)	11,07 ± 0,13 (10,40 – 11,20)	9,60 ± 0,3 (8,00 – 11,20)	13,28 ± 0,32 (12,80 - 14,40)	12,91 ± 0,37 (11,20- 13,60)	10,67 ± 0,34 (9,60 – 12,00)
Anüs-genital primordium arası (µm)	108 ± 2,9 (97,60- 115,2)	96 ± 3,5 (88 – 107,2)	87,80 ± 2,2 (78,40 – 96,00)	107,52 ± 3,97 (97,60 – 118,40)	115,89 ± 2,2 (107,20- 123,20)	104,27± 1,95 (99,20 – 110,40)
a	34,03 ± 1,08 (30,67 – 36,75)	28,07 ± 0,6 (26 – 30,25)	28,04 ± 0,63 (25,25 – 30,71)	32,25 ± 0,69 (30,35 – 33,88)	33,05 ± 0,5 (31,06 – 34,50)	31,34 ± 0,43 (29,65 – 32,50)
b'	6,46 ± 0,05 (6,27 – 6,64)	6,22 ± 0,05 (6,00 – 6,42)	6,24 ± 0,1 (5,80 – 6,67)	6,37 ± 0,05 (6,19 – 6,45)	6,18 ± 0,06 (5,87 – 6,37)	6,72 ± 0,09 (6,30 – 6,90)
c	8,28 ± 0,08 (8,08 - 8,63)	9,08 ± 0,07 (8,93 – 9,36)	8,06 ± 0,08 (7,60 – 8,28)	8,20 ± 0,09 (7,97 – 8,50)	8,24 ± 0,18 (7,67 – 8,81)	8,56 ± 0,09 (8,33 – 8,93)
c'	3,99 ± 0,13 (3,56 - 4,38)	3,84 ± 0,01 (3,79 – 3,86)	4,32 ± 0,11 (3,93- 5,00)	3,94 ± 0,09 (3,56- 4,13)	4,14 ± 0,12 (3,65 – 4,71)	4,54 ± 0,11 (4,13 – 4,83)
(S-P pore/L) X 100	19,17 ± 0,18 (18,60 – 19,71)	20,31 ± 0,5 (18,44 – 21,49)	20,81 ± 0,29 (19,55 – 22,11)	19,67 ± 0,11 (19,38 – 19,93)	19,79 ± 0,19 (19,34 – 20,83)	19,68 ± 0,17 (19,08 – 20,24)