

ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ORDU İLİ KİVİ BAHÇELERİNDE GÖRÜLEN KÖK UR NEMATODU
(*Meloidogyne* spp.) TÜRLERİNİN VE POPULASYON
DALGALANMASININ BELİRLENMESİ

ANIL FIRAT FELEK

Bu tez,
Bitki Koruma Anabilim Dalında
Yüksek Lisans
derecesi için hazırlanmıştır.

ORDU 2013

TEZ ONAY

Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Anıl Fırat FELEK tarafından ve Yrd. Doç. Dr. Faruk AKYAZI danışmanlığında hazırlanan “Ordu ili kivi bahçelerinde görülen kök ur nematodu (*Meloidogyne spp.*) türlerinin ve populasyon dalgalanmasının belirlenmesi” adlı bu tez, jürimiz tarafından 29/03/2013 tarihinde oy birliği /oy çokluğu ile Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Faruk AKYAZI

Başkan : Yrd. Doç. Dr. Faruk AKYAZI
Bitki Koruma Anabilim dalı,
Ordu Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Sevilhan MENNAN
Bitki Koruma Anabilim dalı,
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ali GÜNCAN
Bitki Koruma Anabilim dalı,
Ordu Üniversitesi

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun...19.04.2013...tarih ve 2013.1.135... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışmanın tüm aşamalarında yardımlarından ve bilgilerinden faydalandığım danışmanım Yrd. Doç. Dr. Faruk AKYAZI' ya çok teşekkür ederim, minnettarım.

Örneklemelemlerin yürütülmesinde değerli katkıları olan başta Ordu Tarım il Müdürlüğü olmak üzere, Ünye, İkizce, Ulubey tarım ilçe müdürleri ve çalışanlarına ve Fatsa Ziraat odasına teşekkür ederim. Yine arazi çalışmalarında bana eşlik eden Zir. Müh. Nusret SAHİN, Zir. Yük. Müh. Tuba BAK, Zir. Müh. Murat DİLAVER, Zir. Müh. Anıl DEVECİ ve Araş Gör. Mete SOYSAL'a ayrıca teşekkür ederim. Perşembe ilçesinde zirai ilaç bayii Aytekin AYDIN'a arazi çalışmalarındaki değerli katkıları için teşekkür ederim.

Çalışmaların bir kısmının yürütülmesi için laboratuvar imkanlarını sağlayan Ordu Üniversitesi Biyoloji bölümü öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Zeynep KOLÖREN'e ve yine değerli yardımlarından dolayı Biyolog Onuralp SEFEROĞLU'na teşekkür ederim.

Tez çalışması süresince değerli arkadaşlıklarından dolayı Araştırma görevlileri Mehtap ŞENYURT, Saadet KOÇ GÜLER, M. Akif AÇIKGÖZ, Gürkan DEMİRKOL, Andaç Kutay SAKA, Nursel KARA ve Sezen KULAÇ'a teşekkür ederim.

Ayrıca sürekli olarak maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme çok teşekkür ederim.

Adını hatırlayamadığım, katkı sağlayan herkese teşekkürü borç bilirim.

Özel bir teşekkür olarak:

My special thanks are for Asistant Prof. Dr. Tesfamariam Mekete Mengistu at Entomology and Nematology Department of University of Florida, USA. I have learned the fundamentals of molecular identification methods from him. To open laboratory facilities for thesis is also another kindness, thank you very much for everything in USA. During my time in Florida, I also thank to Dr. Nick Sekora and Entomolog Ruohan Liu for their nice friendship and smile faces.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Anıl Fırat FELEK

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.

ÖZET

ORDU İLİ KİVİ BAHÇELERİNDE GÖRÜLEN KÖK-UR NEMATODU (*Meloidogyne* spp.) TÜRLERİNİN VE POPULASYON DALGALANMASININ BELİRLENMESİ

Anıl Fırat FELEK

Ordu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı, 2013
Yüksek Lisans Tezi, 42 s.

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Faruk AKYAZI

Bu çalışma ile Ordu ili kivi bahçelerinde görülen kök-ur nematodlarının moleküler ve morfolojik metotlarla teşhisi gerçekleştirilmiştir. Teşhise ek olarak, iki ayrı kivi bahçesinde popülasyon dalgalanmaları izlenmiştir. Teşhis için örneklenen kivi bahçelerinden doğrudan elde edilen dişilerden DNA izolasyonu yapılmıştır. İzolasyon sonrasında, sadece ilgili türü tanıma özelliğindeki SCAR primerleri ile moleküler düzeyde tür teşhisi gerçekleştirilmiştir. Morfolojik teşhis için, bahçe popülasyonlarından doğrudan elde edilen dişilerin perineal preparatları kullanılmıştır. Teşhis çalışmaları sonucunda; Ordu iline ait örneklerin tamamında teşhis edilen tür, *Meloidogyne incognita* Kofoid and White 1919'dur. Bu çalışma kivi bitkisi için ülkemizdeki ilk kapsamlı çalışma niteliğindedir. Çalışmanın verileri ışığında; doğrudan bahçe popülasyonlarından elde edilen *Meloidogyne* türleri, bu tez kapsamındaki benzer protokoller kullanılarak, yeni kivi plantasyonları tesis edilmeden önce teşhis edilebilir ve çiftçilere gerekli mücadele tavsiyeleri verilebilir.

Anahtar Kelimeler: Kivi, *Meloidogyne incognita*, Ordu, SCAR primerleri, popülasyon

ABSTRACT

DETERMINATION OF ROOT-KNOT NEMATODE SPECIES (*Meloidogyne* spp.) AND THEIR POPULATION FLUCTUATION RELATING TO KIWIFRUIT ORCHARDS IN ORDU PROVINCE

Anıl Fırat FELEK

University of Ordu
Institute for Graduate Studies in Science and Technology
Department of Plant Protection, 2013
MSc. Thesis, 42 p.

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Faruk AKYAZI

This investigation was conducted to identify root-knot nematodes in Kiwifruit Orchards in Ordu Province of Turkey by means of molecular and morphological methods. In addition to the identification, the population fluctuations were also observed at two different kiwifruit orchards. For identification process, firstly, the females directly obtained from the roots at orchard populations were used for DNA isolation. Then the molecular identification was carried out with an identification key using the species-specific SCAR (sequence characterized amplified region) markers. For the morphological identification, perineal patterns of the females that obtained directly from the orchard populations were used. All samples belonging to the districts of Ordu province were identified as *Meloidogyne incognita* Kofoid and White1919. This is the first detailed investigation in the country for kiwifruit. With the light of this investigation, *Meloidogyne* species in the orchards may be identified by utilizing the similar protocols used in this thesis before establishing new kiwifruit plantation and it would be possible to give management recommendations to farmers after identification of the root-knot species.

Key Words: Kiwifruit, *Meloidogyne incognita*, Ordu, SCAR markers, population

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	I
TEZ BİLDİRİMİ	II
ÖZET	III
ABSTRACT	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
ÇİZELGELER LİSTESİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR	VIII
EK LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
3. MATERYAL ve YÖNTEM	7
3.1. Materyal.....	7
3.1.1. <i>Meloidogyne</i> Cinsinin Sistematikteki Yeri.....	7
3.1.2. Kök-ur Nematodları (<i>Meloidogyne spp.</i>) ve Yaşam Döngüleri.....	7
3.1.3. Zarar Şekilleri ve Bitkilerde Meydana Getirdikleri Belirtiler.....	9
3.2. Yöntem.....	10
3.2.1. Arazi Çalışması.....	10
3.2.1.1. Tür Teşhisleri için Bitki Kök Örneklerinin Alınması.....	11
3.2.1.2. Populasyon Dalgalanması İçin Toprak Örneklerinin Alınması.....	12
3.2.2. Laboratuvar Çalışması.....	13
3.2.2.1. Populasyon Dalgalanması İçin Juvenillerin Topraktan Ekstraksiyonu ve Sayımları.....	13
3.2.2.2. Tür Teşhisleri İçin Bitki Köklerinden Dişi Bireylerin Ekstraksiyonu.....	14
3.2.2.3. Kök-Ur Nematodu Dişi Bireyelerine Ait Genital Preparatların Yapılması ve Teşhisi.....	14
3.2.2.4. Örneklerin Moleküler Yöntemler ile Teşhisleri.....	15
a) DNA İzolasyonu.....	15
b) PCR Reaksiyonu İçin Teşhis Protokolünün Seçimi ve 16	

Uygulanması.....	
c) Primerler için PCR reaksiyonlarının oluşturulması	18
d) PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforez Yöntemi ile Belirlenmesi	20
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	21
4.1. Morfolojik Tür Teşhisi.....	22
4.2. Moleküler Tür Teşhisi.....	23
4.3. Kök-ur Nematodlarının İki Farklı Kivi Bahçesi Topraklarındaki Populasyon Değişimleri.....	27
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	34
6. KAYNAKLAR.....	36
EK LİSTESİ.....	42
ÖZGEÇMİŞ.....	43

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Sekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1.	Kök-ur nematodlarının (<i>Meloidogyne</i>) biyolojisine ait diagram.....	9
Şekil 3.2.	Ordu ili örnekleme yapıldığı ilçeler.....	10
Şekil 3.3.	Populasyon dalgalanması takibi için arazi çalışması.....	12
Şekil 3.4.	Modifiye Baerman tepsi yöntemi ve aşamaları.....	14
Şekil 3.5.	<i>Meloidogyne javanica</i> , <i>M. incognita</i> ve <i>M. arenaria</i> türlerinin her üçü için IGS2 bölgesi.....	16
Şekil 3.6.	Teşhis için önerilen protokol basamakları.....	17
Şekil 4.1.	Ordu ilinde kök-ur nematodu ile bulaşık kivi kökleri.....	21
Şekil 4.2.	<i>Meloidogyne incognita</i> türüne ait genital kesit morfolojileri	22
Şekil 4.3.	Merkez ilçesine ait 3 bahçenin (M1, M2, M3) kök-ur nematodu örneklerine ait PCR ürünleri. A: <i>Meloidogyne</i> türlerinin 5S-18S rDNA genleri arasındaki IGS2 bölgesini çoğaltan primer çiftine (194/195) ait PCR ürünleri (720 bp). B: <i>M. incognita</i> 'ya spesifik SEC1F/SEC1R primerlerine ait PCR ürünleri (502 bp). M: Marker (1kb+), 1-5: M1 bahçesine ait örnekler, 6-10: M2 bahçesine ait örnekler, 11-15: M3 bahçesine ait örnekler, K: su (Kontrol).....	24
Şekil 4.4.	Merkez ilçesine ait 2 bahçenin (M4, M5) kök-ur nematodu örneklerine ait PCR ürünleri. A ve B: <i>Meloidogyne</i> türlerinin 5S-18S rDNA genleri arasındaki IGS2 bölgesini çoğaltan primer çiftine (194/195) ait PCR ürünleri (720 bp). C: <i>M. incognita</i> 'ya spesifik SEC1F/SEC1R primerlerine ait PCR ürünleri (502 bp). M: Marker (1kb+), 1-5: M4 bahçesine ait örnekler, 6-10: M5 bahçesine ait örnekler, K: su (Kontrol).....	24
Şekil 4.5.	Perşembe ilçesine ait tek bir bahçenin (P1) kök-ur nematodu örneklerine ait PCR ürünleri. A: <i>Meloidogyne</i> türlerinin 5S-18S rDNA genleri arasındaki IGS2 bölgesini çoğaltan primer çiftine (194/195) ait PCR ürünleri (720 bp). B: <i>M. incognita</i> 'ya spesifik SEC1F/SEC1R primerlerine ait PCR ürünleri (502 bp). M: Marker (1kb+), 1-5: P1	

	bahçesine ait örnekler, K: su (Kontrol).....	25
Şekil 4.6.	Gülyalı ilçesine ait 3 bahçenin (G1, G2, G3) kök-ur nematodu örneklerine ait PCR ürünleri. A: <i>Meloidogyne</i> türlerinin 5S-18S rDNA genleri arasındaki IGS2 bölgesini çoğaltan primer çiftine (194/195) ait PCR ürünleri (720 bp). B: <i>M. incognita</i> 'ya spesifik SEC1F/SEC1R primerlerine ait PCR ürünleri (502 bp). M: Marker (1kb+), 1-5: G1 bahçesine ait örnekler, 6-10: G2 bahçesine ait örnekler, 11-14: G3 bahçesine ait örnekler, K: su (Kontrol).....	25
Şekil 4.7.	İkizce ilçesine ait 3 bahçenin (İ1, İ2, İ3) kök-ur nematodu örneklerine ait PCR ürünleri. A: <i>Meloidogyne</i> türlerinin 5S-18S rDNA genleri arasındaki IGS2 bölgesini çoğaltan primer çiftine (194/195) ait PCR ürünleri (720 bp). B: <i>M. incognita</i> 'ya spesifik SEC1F/SEC1R primerlerine ait PCR ürünleri (502 bp). M: Marker (1kb+), 1-5: İ1 bahçesine ait örnekler, 6-10: İ2 bahçesine ait örnekler, 11-15: İ3 bahçesine ait örnekler, K: su (Kontrol).....	26
Şekil 4.8.	Ulubey ilçesine ait 3 bahçenin (U1, U2, U3) kök-ur nematodu örneklerine ait PCR ürünleri. A: <i>Meloidogyne</i> türlerinin 5S-18S rDNA genleri arasındaki IGS2 bölgesini çoğaltan primer çiftine (194/195) ait PCR ürünleri (720 bp). B: <i>M. incognita</i> 'ya spesifik SEC1F/SEC1R primerlerine ait PCR ürünleri (502 bp). M: Marker (1kb+), 1-5: U1 bahçesine ait örnekler, 6-10: U2 bahçesine ait örnekler, 11-15: U3 bahçesine ait örnekler, K: su (Kontrol).....	26
Şekil 4.9.	Ünye ilçesine ait 2 bahçenin (Ü1, Ü2) kök-ur nematodu örneklerine ait PCR ürünleri. A: <i>Meloidogyne</i> türlerinin 5S-18S rDNA genleri arasındaki IGS2 bölgesini çoğaltan primer çiftine (194/195) ait PCR ürünleri (720 bp). B: <i>M. incognita</i> 'ya spesifik SEC1F/SEC1R primerlerine ait PCR ürünleri (502 bp). M: Marker (1kb+), 1-4: Ü1 bahçesine ait örnekler, 5-8: Ü2 bahçesine ait örnekler, K: su (Kontrol).....	27
Şekil 4.10.	Ordu ili merkez ilçede popülasyon takibi yapılan iki kivi bahçesine (M4 ve M5) ait popülasyon değerleri ve ölçülen toprak sıcaklıkları grafiği...	29
Şekil 4.11.	Ordu ili için 2011-2012 yılları arasındaki aylık toplam yağış ve aylık ortalama hava sıcaklığı meteoroloji istasyonu değerleri.....	30

ÇİZELGELER LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1.	Örneklemenin yapıldığı Ordu ili ilçeleri ve kivi dikili alan büyüklükleri.....	11
Çizelge 3.2.	Ordu ilinde 2012 yılında kök-ur nematodu popülasyonlarının örneklendiği kivi bahçeleri.....	11
Çizelge 3.3.	Kök-ur nematodlarının teşhisi için kullanılan primerler, primerlere ait sekans dizileri ve beklenen DNA band büyüklükleri.....	17
Çizelge 3.4.	Teşhiste kullanılan bütün primerler için reaksiyon karışım prosedürü.....	18
Çizelge 3.5.	IGS2 bölgesi için PCR prosedürü.....	19
Çizelge 3.6.	<i>Meloidogyne incognita</i> türüne özgü SEC1F/SEC1R primerleri için PCR prosedürü.....	19
Çizelge 3.7.	<i>Meloidogyne arenaria</i> türüne özgü Far/Rar primerleri için PCR prosedürü	19
Çizelge 3.8.	<i>Meloidogyne javanica</i> türüne özgü Fjav/Rjav primerleri için PCR prosedürü.....	20

SİMGELER VE KISALTMALAR

µl	:	Mikro litre
Bp	:	Baz çifti
DNA	:	Deoxyribonucleic acid
dNTP	:	Deoxynucleotide triphosphate
EtBr	:	Ethidium bromide
Kb	:	Kilo base (kilo baz)
PCR	:	Polymerase chain reaction
SCAR	:	Sequence characterized amplified region
TBE	:	Tris-Borate-EDTA

EK LİSTESİ

EK No

Sayfa

EK 1. Örneklerin test çalışmalarına dair sonuçlar 42

1.GİRİŞ

Kivi, Actinidiaceae familyası içerisinde yer almakta ve kültürü yapılan kivi *Actinidia deliciosa* olarak bilinmektedir (Güleryüz ve Aslantaş 1993). Anavatanı Çin olan kivi, 1970'li yıllardan sonra birçok Avrupa ülkesinde yetiştirilmeye başlanmıştır(Anker-Kofoed 2008). Çin, İtalya, Yeni Zelanda, Şili, Yunanistan, Fransa, ABD, İran, Türkiye, Japonya, Portekiz yıllara göre değişen miktarlarda kivi üreten başlıca ülkelerdir (ZhengWang ve ark. 2009, Anonim 2013b). Türkiye'de toplam 29 231 ton kivi üretimi gerçekleştirilmektedir (Anonim 2013b) ve Ordu ilinin üretime katkısı ise 2 436 dekar alandan 5 951 ton meyve üretimi şeklindedir (Anonim 2013c).

Dünya kivi üretim alanlarında karşılaşılan zararlılar esas olarak kabuklu bitler, yaprak galeri güveleri, tripsler, kırmızı örümcekler ve nematodlardır (Tomkins 1996; Steven ve ark. 1997; El-Borai ve Duncan 2005; Hill ve ark. 2008; McKenna ve ark. 2009). Tropik ve sub-tropik iklim bölgelerinde, özellikle kumlu topraklarda yetiştirilen kültür bitkilerinde, ekonomik olarak büyük zararlara neden olan bitki paraziti nematod gruplarından birisi ve en önemlisi de kök-ur (*Meloidogyne* spp.) nematodlarıdır. Kök-ur nematodları dünya'da geniş bir alana yayılmış, çok polifag türler olmaları nedeniyle üzerinde çeşitli araştırmacılar tarafından çok sayıda araştırmalar yapılmıştır. Günümüze kadar *Meloidogyne* cinsine bağlı 100'ün üzerinde tür tespit edilmiş olup (Karssen ve Moens 2006), en çok karşılaşılan ve ekonomik olarak önemli dört türü ise *Meloidogyne incognita* Kofoid and White, 1919, *M. javanica* Treub, 1885, *M. arenaria* Neal, 1889, *M. hapla* Chitwood 1949'dur (Netscher ve Sikora 1990) ve bu türlerin birçok fizyolojik ırkları bulunmuştur.

Genelde bölge ve özelde ise Ordu ili için yıldan yıla alternatif ürün yaratma çabalarının bir sonucu olarak, kivi üretimi desteklenmekte ve ilgi görmektedir. Kivi, çok yıllık bir kültür bitkisidir. İlk bahçe tesisinden sonra herhangi bir zarar oluşması ya da üretim materyalinin bulaşık olması durumunda, kısa süreler içerisinde sebzelerde olduğu gibi, fide temin edilip tekrar üretime geçiş; zor, pratik olmayan ve maliyetli bir yaklaşım olmaktadır. Ordu ili arazi örneklemeleri gerçekleştirilirken elde edilen bilgiler göstermektedir ki; kivi bahçesi sahibi üreticiler, kivi bitkisi için

kök-ur nematodu varlığından ve zarar potansiyelinden haberdar değildir. Dolayısıyla bu tez; Türkiye ve bölge için kivi bahçelerinde gerçekleştirilen ilk detaylı çalışma niteliğindedir. Diğer yandan bu çalışma ile:

Ordu ili için kivi bahçelerinde zararlı olan kök-ur nematodu türlerinin moleküler ve morfolojik yöntemler ile teşhisini gerçekleştirmek,

Ordu merkez ilçe koşullarında, kök-ur nematodlarının topraktaki populasyon dalgalanmalarını tespit etmek,

Ordu ilinin gelecekteki kivi yetiştiriciliğine katkı sağlanması açısından; kivide kök-ur nematodlarından kaynaklanabilecek problemlerin değerlendirilmesi, çözümü ve nihayetinde verilecek mücadele tavsiyeleri için çalışacak olanlara, kaynak oluşturmak bu tezin amaçlarıdır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Mansilla ve ark. (1988), İspanya'da kivi üretim alanlarının *M. hapla* ile bulaşık olduğunu ve bu kök-ur nematodundan kaynaklı ırların oldukça iri yapıda belirtiler şeklinde görüldüğünü ifade etmektedirler.

DiVito ve ark. (1988), *M. incognita* ırk 1'in Howard kivi çeşidinin kök gelişimini ciddi oranda baskı altına aldığını ve uygun sıcaklık koşullarında (20-28°C) nematodun gelişimini hızla tamamlayıp, birkaç ay içerisinde zarar meydana getirecek populasyon seviyesine ulaştığını ifade etmişlerdir.

Verdejo ve ark. (1990), köklenmiş kivi çeliklerinde yürüttükleri çalışmalarında vesicular-arbuscular mycorrhiza *Glomus etunicatum*'un kivi köklerinde kolonizasyonunun *M. hapla* ve *M. javanica* üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, her iki nematod türünün de üreme oranlarında mikorizal fungusa rağmen herhangi bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir. *M. javanica*, bitkinin vejetatif gelişim ve kök gelişimini azaltmıştır ancak; *Glomus etunicatum*'un köklerde varlığı durumunda, bitkilerin bu nematoda karşı toleransı artmıştır.

Haygood ve ark. (1990), Güney Carolina kıyı şeridinde; kivi yetiştirilen alanlarda yaptıkları çalışma sonucunda, kök-ur nematodlarından *M. incognita*, türünün yaygın olarak bulunduğunu bildirmişlerdir.

Pinochet ve ark. (1990), İspanya'da kivi bitkisinde *M. hapla*'nın populasyon dalgalanmasını araştırmışlar; ocak ve mart aylarında populasyonları en yüksek seviyede tespit etmişlerdir. *M. hapla*'dan kaynaklı zararın minimal düzeyde olduğunu, nematodun yüksek populasyon yoğunluklarında bile bitkinin vejetatif gelişiminde, verim ya da meyve iriliğinde fark edilebilir değişiklik meydana gelmediğini belirtmişlerdir. Bu durumun; dengeli gübreleme, VA mikorizal fungus ile bitki köklerinin yoğun derecede kolonize durumda olması ve rüzgara karşı bitkilerin korunmasının sonucu olarak, bitkide ortaya çıkan tolerans sebebiyle olabileceğini ifade etmişlerdir.

Watson ve ark. (1991), kivi bitkisinde yaptıkları surveyde; kivin kök bölgesinde diğer tespit edilen nematodlara kıyasla en baskın nematod türünün *M. hapla* (% 96)

olduğunu ortaya koymuşlardır. En fazla kök-ur nematodu bireyine, kivi bitkisinin 20-80 cm kök derinliğinde rastlamışlardır.

Mertens ve Stirling (1993), *Paecilomyces lilacinus* ve *Verticillium chlamyosporium* türü fungusların doğal olarak ortamda mevcut populasyonları ile kivi ve bağda yürüttükleri çalışmalarında; bu fungusların, kök-ur nematodlarının parazitleri olduğunu ve *Meloidogyne* yumurtalarının bu fungus populasyonları tarafından büyük oranlarda parazitlendiğini belirtmişlerdir. Çalışmanın kivi ile ilgili kısmında, kök-ur nematodları yumurtalarının erken dönemde bu funguslar tarafından % 23-41 oranında parazitlendiğini ve bu oranın yaz dönemi boyunca % 87'lere kadar çıktığını belirtmişlerdir. Bu durumun, fungal parazitlerin ortamdaki yoğunluğuna ve yaz dönemine ait toprak sıcaklıklarının, fungal parazitlerin baskılayıcı özellikleri üzerinde, yardımcı bir unsur olduğu düşünülmektedirler.

Rocuzzo ve ark. (1993), İtalya'da yürüttükleri çalışmalarında kivi (Hayward çeşidi)'de aylık olarak dişi ve juvenillerin populasyon dalgalanmalarını gözlemlemişlerdir. Köklerdeki dişi kök-ur nematodlarının sayısı, haziran ayından eylül ayına kadar; topraktaki juvenillerin sayısı ise haziran ayından kasım ayına kadar kademeli olarak artış göstermiştir. Bu dönemlerdeki sıcaklıklar ise haziran-eylül periyodunda 15-28°C; eylül-kasım periyodunda ise 15-18°C sıcaklık aralıklarında seyretmiştir. Kasım ayından itibaren dişi ve juvenillerin her ikisinin sayılarında da azalma gözlemlemişlerdir. Yine aynı çalışmada, nematod bireylerini avlama yeteneğindeki funguslar: *Arthrobotrys dactyloides*, *A. oligospora*, *Monacrosporium salinum*, *M. bembicodes* ve nematod yumurta parazitleri olan *Verticillium chlamyosporium* ve *Verticillium balanoides* türleri toprak ve *M. hapla*'nın yumurtalarından izole edilmiştir.

Abelleira ve Mansilla (1993), kivide *M. hapla*'nın populasyon dalgalanmasının, sıcaklık ve yağış miktarıyla ilişkisini incelemişlerdir. Aylara göre sıcaklık ve yağış değerlerini dikkate almışlardır. Üç yıl boyunca yürütülen çalışmada; aylara göre sıcaklıklar, çalışma süresi boyunca kayda değer oranda değişiklik göstermemiştir. Ancak çalışmanın ilk ve üçüncü yılında aylara göre düşen yağış miktarları, ikinci yıla kıyasla daha fazla olmuştur. İkinci yıl içerisinde yağış miktarlarının düşmeye başladığı kış aylarından itibaren, topraktaki *M. hapla* juvenillerinin sayısı hızla

düşmüş ve yıl sonuna kadar yağış miktarı aynı olmasına rağmen, temmuz ayından itibaren artış göstermeye başlamıştır.

Philis (1995), Kıbrıs'ta kivide (*Actinidia deliciosa*) zararlı kök-ur nematodu olarak *M. hapla* türünü belirtmiştir. Bu türün, çalışma boyunca diğer bitkilerde teşhis edilen *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. incognita*'dan farklı olarak 1000 m'lik dağlık bölgede rastlandığını ifade etmişlerdir. *Meloidogyne* türlerinden kaynaklanan zararın, daha çok 10 °C'den yüksek toprak sıcaklıklarının olduğu dönemlerde görüldüğünü belirtmiştir.

Ağı ve ark. (1999), Türkiye'de Marmara bölgesinde; yürüttükleri çalışmada kivi bahçelerinde *M. incognita* ve *M. hapla* türlerine rastlandığı belirtmişlerdir.

Knight (2001), Yeni Zelanda'da yürüttükleri çalışmada, kivi bitkisi için 117 örnekleme alanınının 96'sında *M. hapla* türünün varlığını tespit etmişlerdir.

Kepenekci ve Öztürk (2000), Karadeniz Bölgesinde *Pratylenchoides bacilisemenus* ve *P. camachoí* türlerinin kivi alanlarında bulunduğunu belirtmişlerdir.

Kepenekci (2001), *Meloidogyne* cinsinden farklı olarak; Ordu ilinde kivilerde *Pratylenchoides bacilisemenus* türünün bulunduğunu belirtmiştir.

Nicotra ve ark. (2003), Kök-ur nematodlarına karşı dayanıklılık yönünden *Actinidia arguta*, *A. chinensis* ve *A. deliciosa* kivi türlerinin farklı genotipleri ile yürüttükleri çalışmada *A. deliciosa* kivi çeşidinin farklı genotiplerinin; *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita*, *M. javanica* türlerine karşı dayanıklı olan genotipleri ortaya koymuşlardır.

Carneiro ve ark. (2004), yaygın olarak bulunan dört tür'ün haricinde, Brezilya'da kivi yetiştirilen alanlarda *M. ethiopica* türünü tespit etmişlerdir.

Ma ve ark. (2007), kivi bitkisinde yürüttükleri çalışmalarında *M. hapla* ve *M. javanica* türlerini tespit etmişlerdir. Araştırmanın yürütüldüğü alanlarda en baskın tür olarak *M. hapla* belirlenmiştir. *M. hapla* türünün ikinci dönem juvenillerinin topraktaki populasyonları eylül ayından itibaren artışa geçip, en yüksek yoğunluğuna kış aylarında ulaşmıştır. Toprakta kök-ur nematodlarının larva yoğunluğu 3000 J2/ 300 gr. toprak değerinden yüksek olduğunda ya da bulaşıklığın >70 ur / 1 gr. kök ağırlığı olması durumunda, kivi bitkisinin köklerindeki tahribatın belirgin olduğunu tespit etmişlerdir. Topraktaki larva yoğunluğu artışına bağlı olarak (>10000 J2/ 300

gr. toprak ya da en az 100 ur/ 1 gr. kök ağırlığı), kivi bitkisinde şiddetli biçimde gelişimin gerilediği belirtilmektedir. Nematodların toprak profili içerisinde dikey dağılımı, yüzeyden itibaren ilk 30 cm'lik toprak katmanında (nematodların %91'i) en yoğun olarak olarak gerçekleşmiştir.

Ploetz (2011), *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita*, *M. javanica* türleri için kivi'nin konukçu bitki olduğunu ve diğer patojenlerle sinerjik ilişki içinde olduğunu belirtmişlerdir.

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmanın materyalini, Ordu ili kivi bahçelerinden alınan bitki kök ve toprak örneklerinden elde edilen kök-ur nematodu dişileri ve juvenilleri oluşturmaktadır.

3.1.1. *Meloidogyne* Cinsinin Sistematikteki Yeri

Meloidogyne cinsinin sistematikteki yeri Siddigi (2000), Brands (2007) ve Anonim (2013a)'ya göre:

Alem : Animalia Linnaeus, 1758

Sube : Nematoda Rudolphi, 1808 (Lankester, 1877)

Sınıf : Secernantea Von Linstow, 1905

Takım : Tylenchida Thorne 1949

Familya : Heteroderidae

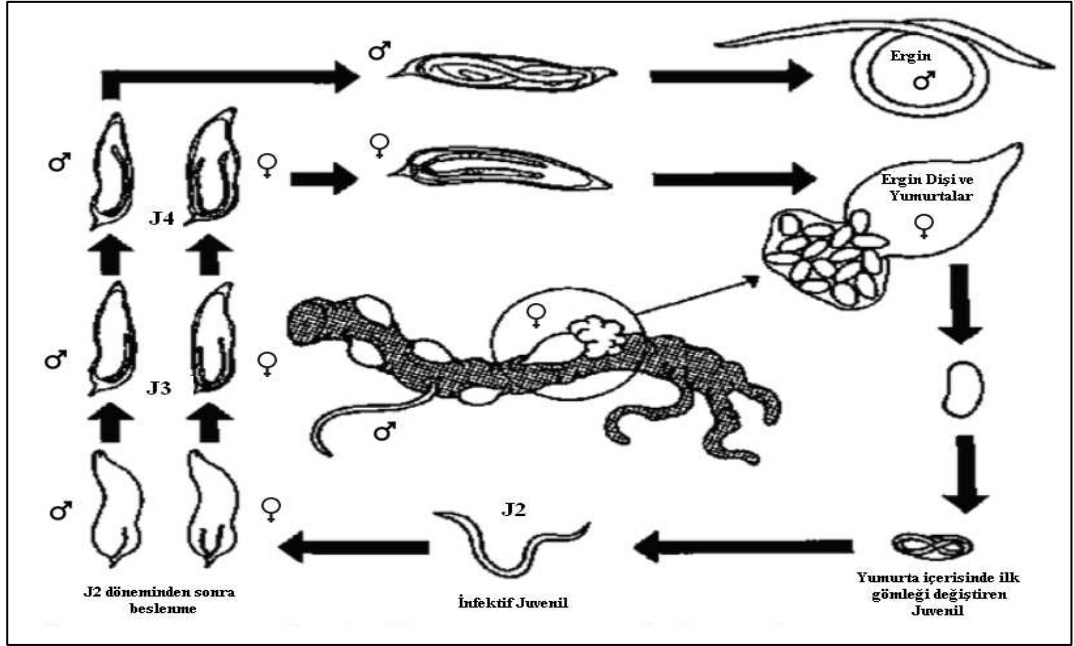
Cins : *Meloidogyne* Goeldi, 1892

Günümüze kadar 100'ün üzerinde kök-ur nematodu türü tanımlanmıştır (Karszen ve Moens 2006). En çok karşılaşılan ve ekonomik olarak önemli dört türü ise *Meloidogyne incognita* Kofoid and White, 1919, *M. javanica* Treub, 1885, *M. arenaria* Neal, 1889, *M. hapla* Chitwood 1949'dır (Netscher ve Sikora 1990).

3.1.2. Kök-ur Nematodları (*Meloidogyne* spp.) ve Yaşam Döngüleri

Kök-ur nematodları; geniş konukçu dizileri ve dünya üzerinde hemen her bölgede yayılım göstermeleri sebebiyle, mücadele açısından zor bir canlı grubunu oluşturmaktadır. En uygun mücadele yönteminin seçilebilmesi için, türlerin doğru teşhisinin yanı sıra, bu canlıların yaşam döngülerinin incelenmesi gerekmektedir (Şekil 3.1). Toprak içerisindeki köke giriş yapmamış ikinci dönem juveniller (J2), savunmasız durumdadır ve en kısa süre içinde mümkün olan en uygun konukçuya giriş yapmak durumundadırlar. Dayanıklı olan bitkilere kıyasla, juvenillerin duyarlı

olan konukçu bitkilere daha çok cezp edildikleri bilinmektedir. Köke giriş yaptıktan hemen sonra juveniller (J2) beslenmeye başlarlar, genellikle kök ucuna yakın yerde bulunurlar ve kendilerini sabitleyip gelişmelerine devam etmek üzere kökte ilgili bölgeye ilerlerler. Protoksilem ve protofloem hücrelerinde beslenen juveniller (J2) sebebiyle, bu hücreler 'dev hücreler' olarak anılan iri urlara dönüşürler. Bu hücrelerin oluştuğu yerde nematod artık kendisini hareketsiz konuma getirmekte ve büzüşmüş kese benzeri şekil almak suretiyle irileşmeye başlamaktadır. Uygun koşullar altındaki J2, yaklaşık 14 gün sonra gömlek değiştirmek suretiyle üçüncü döneme (J3) geçer, sonrasında dördüncü dönem (J4) ve bu dönem sonrasında ergin döneme geçilir. J3 den J4 dönemine geçinceye kadarki süre; J2 dönemi içinde geçen süreye ve J4 döneminden ergin döneme geçinceye kadar olan süreye kıyasla daha kısadır ve J3-J4 dönemi arasındaki süre tipik olarak 4-6 gündür. J3 ve J4 dönemlerinde, işlevsel stylet yapısı kaybolmuş ve nematod beslenmemektedir. Erkek bireyler, ortamda buldukları takdirde, iplik formunda (vermiform) bulunurlar ve beslendiklerine dair herhangi bir kanıt bulunmamaktadır. Erkek kök-ur nematodu bireyleri, şartların uygun olmadığı durumlarda dişilere dönüşüp, sonrasında partenogenetik özellikler göstermek suretiyle ortamda bulunabilirler. Özellikle ortamda popülasyonun çok yüksek ve büyük olasılıkla da besinin yeterli olmadığı durumlarda, bu özellik görülmektedir (Moens ve ark. 2009) Diğer taraftan; yumurtalarının da kurak koşullarda hayatta kalabilmesi, kök-ur nematodlarını bitkilerin çok tehlikeli parazitleri konumuna taşımaktadır (Tesorova ve ark. 2003).



Şekil 3.1. Kök-ur nematodlarının (*Meloidogyne*) biyolojisine ait diagram, J2: ikinci dönem juvenil; J3: üçüncü dönem juvenil; J4: dördüncü dönem juvenil (Moens ve ark. 2009; Karssen ve Moens 2006'dan)

3.1.3. Zarar Şekilleri ve Bitkilerde Meydana Getirdikleri Belirtiler

Meloidogyne (Goldi, 1892) cinsine bağlı olan bitki paraziti nematodlar, kök-ur nematodları olarak adlandırılmaktadır. Konukçularına üst düzeyde adapte olmuş, polifag ve obligat bitki parazitleri olarak; dünya genelinde bitkilerin hemen bütün türleriyle beslenmek ve yayılmak suretiyle, ekonomik düzeyde zarar oluşturan önemli bir nematod grubunu olarak ön plana çıkarlar (Moens ve ark. 2009). Bu potansiyelleri sebebiyle, bir kültür bitkisi üzerinde kök-ur nematodlarının yanı sıra diğer birçok nematod türünün zararlı olduğu durumda bile, kök-ur nematodları diğer türlerden potansiyel olarak daha ön planda olmaktadır (Ali ve Pervez 2007).

Kök-ur nematodlarının sebep olduğu zarar epidemik karakterli değildir. Verimde görülen azalma; yıldan yıla, yavaş yavaş ortaya çıkar ve bazı bitkiler herhangi bir belirti göstermeyebilir. Bitkilerin toprak üstü aksamlarında; toprakta besin elementlerinin yeterli bulunması durumunda bile, besin elementi eksikliği ya da kuraklıktan kaynaklı durumlardaki belirtiler gözlenebilir. Yine toprak üstü aksamda yapraklarda sararma, solgunluk, yaprakların küçülmesi ve erken dökülmesi

problemleri görülebilir. Yapraklarda görülen klorozis, bitkinin kalitesini düşürür ve bunun sonucunda şiddetli ürün kaybı yaşanabilir. Bu sayılan belirtiler, nematodların toprakta başlangıçtaki populasyon yoğunluğuna bağlıdır. Toprak altı aksamda görülen tipik belirtiler ise farklı büyüklüklerdeki gallerdir. İleri derecede enfeksiyon durumunda bu galler birleşerek iri sekonder galler meydana getirebilirler. Gallerin boyutu konukçu bitki ve kök-ur nematodunun türüne göre değişmektedir (Kumar ve Jain 2007). Nematod enfeksiyonu aynı zamanda, bitkilerin sekonder patojenler ve abiyotik stres faktörleri açısından daha duyarlı hale gelmeleri ile sonuçlanır (Ganguly ve ark. 2007).

3.2. Yöntem

3.2.1. Arazi Çalışması

Arazi çalışması; Merkez ilçe başta olmak üzere kivi yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı 6 ilçede (Şekil 3.2) ve toplam 17 bahçede gerçekleştirilmiştir. Merkez 5, Perşembe 1, Gülyalı 3, İkizce 3, Ulubey 3, Ünye 2 adet bahçe olmak üzere örnekler alınmıştır.



Şekil.3.2. Ordu ili örneklemenin yapıldığı ilçeler (<http://haritasi.gen.tr/ordu-haritasi.html>)

Çizelge 3.1. Örnekleme yapıldığı Ordu ili ilçeleri ve kivi dikili alan büyüklükleri

İlçeler	Kivi Dikili Alan (dekar)	Örneklenen bahçe sayısı
Merkez	650	5
Perşembe	338	1
Gülyalı	300	3
İkizce	160	3
Ulubey	117	3
Ünye	75	2
TOPLAM	1 640	17

3.2.1.1. Tür Teşhisleri için Bitki Kök Örneklerinin Alınması

Türlerin teşhisini gerçekleştirmek üzere bitki kök örnekleri; Ordu ilinde kivi yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı 6 ilçede (Şekil 3.2.) ve bahçeleri tesadüfen seçmek suretiyle alınmıştır. Bahçenin büyüklüğüne göre 5-10 arasında kivi ağacı rastgele seçilerek, her bir ağacın 4 yönünden, taç izdüşümü dikkate alınarak belkürk ve çapa kullanılarak kök ve toprak örnekleri alınmıştır. Kök ve toprak örnekleri arazide karıştırılmış ve toprak örneği içerisine ağaçların paçal yapılmış bulaşık urlu kökleri ilave edilmiştir. Örnekler polietilen torbalara konulduktan sonra, etiketlenerek, buz içeren kutularda laboratuvara getirilmiş ve sonrasında +4°C 'de muhafaza edilmişlerdir.

Çizelge 3.2. Ordu ilinde 2012 yılında kök-ur nematodu popülasyonlarının örneklendiği kivi bahçeleri

İLÇE	BAHÇE KODU	MEVKİ	BAHÇE SAHİBİ
Merkez	M1	Emen	Sezai KELEŞ
Merkez	M2	Emen	Mustafa KELEŞ
Merkez	M3	Şenocak	Ahmet ÖZER
Merkez	M4	Kayabaşı	Ali BULUT
Merkez	M5	Kayabaşı	Tarık GÜZELHAN
Perşembe	P-1	Merkez	Uğur PİROĞLU
Gülyalı	G-1	Turnasuyu	Nurettin ÖZTÜRK
Gülyalı	G-2	Turnasuyu	Zekeriya KIRDAR

Çizelge 3.2. devamı. Ordu ilinde 2012 yılında kök-ur nematodu popülasyonlarının örneklendiği kivi bahçeleri

Gülyalı	G-3	Turnasuyu	İsmet ÇİÇEK
İkizce	İ-1	Merkez	Erdal KALYONCU
İkizce	İ-2	Merkez	Erdal KALYONCU
İkizce	İ-3	Düzpelit Mah.	İbrahim TÜRKÖZ
Ulubey	U-1	Kömürocağı Mah.	Osman KUTUPOĞLU
Ulubey	U-2	Sokak Mah.	Ünal KAHRAMAN
Ulubey	U-3	Dölbentli Mah.	Ferda Dağ
Ünye	Ü-1	T. İlçe deneme bahçesi	-
Ünye	Ü-2	Ataköy	Muammer YILMAZ

3.2.1.2. Popülasyon Dalgalanması İçin Toprak Örneklerinin Alınması

Topraktaki juvenillerin popülasyon dalgalanmalarını saptamak üzere, merkez ilçede aynı deniz seviyesinde, iki farklı kivi bahçesi seçilmiştir. Toprak örnekleri, hava durumuna göre 15-20 günlük aralıklarla, her bahçeden beş ağaç seçilmek suretiyle alınmıştır. Mart 2011-Ekim 2012 dönemi boyunca toprak örnekleri alınmıştır. Her arazi örneklemeinde; tesadüfen beş ağaç gezilerek her ağacın gövdesinden 30-40 cm mesafeden (Rocuzzo ve ark. 1993), 0-30 cm derinlikten (Örümlü 2003) ve ağaçların her iki yanından bel kürek yardımıyla topraklar alınmıştır. Karıştırılan toprak örneklerinden yaklaşık 1 kg toprak, polietilen torbalara konulup, etiketlenerek, laboratuvara getirilmiştir. GT-300B el tipi sıcaklık ölçer ile toprak sıcaklıkları ölçülmüştür.



Şekil. 3.3. Popülasyon dalgalanması takibi için arazi çalışması

3.2.2. Laboratuvar Çalışması

Laboratuvar çalışması; ekstraksiyon, sayım, preparasyon çalışmaları Ordu Üniversitesinde, tür teşhisi çalışmaları ise Florida Üniversitesi Nematoloji Departmanında (USA) gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.1. Populasyon Dalgalanması İçin Juvenillerin Toprakta Ekstraksiyonu ve Sayımları

Populasyon dalgalanmasının takip edilmesi amacıyla laboratuvara getirilen 1 kg toprak örneğinden, beher yardımıyla 100 cm³ alt toprak örneği alınarak modifiye Baerman tepsi yöntemiyle *Meloidogyne* juvenilleri elde edilmiştir. Bunun için petri kaplarının dip kısmına, petri içine yerleştirilen eleklerin tabana temas edip sudaki oksijen döngüsünü engellemesini önlemek amacıyla, 2-3 mm yüksekliğinde 4 adet adet plastik yükseltici çubuk konulmuştur. Elek içerisine, filtreli kağıt üzerine konulan 100 cm³ toprak alt örneği yerleştirilmiştir. Eleğin yanlarından, petri kabının tabanından itibaren 2/3 kadar kısmını ıslatacak kadar saf su ilave edilmiştir. Bu şekilde, toprak örneği 48 saat bekletilmiştir. Sürenin sonunda, 100 ml'lik cam mezurlar içerisine petri içerisindeki su alınmış ve 6 saat boyunca mezür içerisindeki nematodların oda sıcaklığında dibe çökmesi için beklenmiştir. Daha sonra mezurların üzerindeki su 40 ml ye kadar çekilerek, geri kalan kısım 50 ml'lik falkon tüpü içerisine alınmış ve falcon tüpler de 6 saat süreyle +4 °C dolapta bekletilmiştir. Son olarak falkon tüplerin 10 ml'lik kısmında nematodlar kalacak şekilde, su üstten pastör pipet ile çekilmiştir. Populasyon yoğunluğu; 0,5 ml sıvı pastör pipet ile alındıktan sonra, lam üzerine konulup üzeri 24x60 mm boyutlarındaki lamel ile kapatıldıktan sonra, kök-ur nematodu 2. dönem larvaları sayılmak suretiyle belirlenmiştir. 10 ml'lik alt örneğin tamamı, ışıklı mikroskop altında 40X büyütme derecesinde sayılmıştır. Sayım için Leica DM500 marka ışık mikroskobu kullanılmıştır.



Şekil 3.4. Modifiye Baerman tepsi yöntemi ve aşamaları

3.2.2.2. Tür Teşhisleri İçin Bitki Köklerinden Dişi Bireylerin Ekstraksiyonu

Laboratuvara getirilen kök örnekleri yıkandıktan sonra; DNA izolasyonu için kullanılacak dişi bireyleri ekstrakte etmek için, 1.5 ml'lik santrifüj tüpleri içine saf su konulup, her bir bahçe için toplam 40 adet dişi birey nematod iğnesi yardımıyla köklerden alınmış ve tüp içerisindeki saf suya aktarılmıştır. Tüpler derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Muhafaza edilen bu tüpler buz torbaları ile korunarak Florida Üniversitesi Nematoloji Departmanına götürülmüştür. Eldeki fazla kök örnekleri buzdolabında +4 °C'de bekletilmiştir.

3.2.2.3. Kök-Ur Nematodu Dişi Bireylerine Ait Genital Preparatların Yapılması ve Teşhisi

Morfolojik olarak tür teşhisi için, nematod iğnesi yardımıyla dişiler köklerden ekstrakte edilmiş ve doğrudan TAF ortamına alınıp 24 saat süreyle şeffaf hale gelmeleri için bekletilmiştir. TAF ortamından alınan dişiler, bisturi ve pens yardımıyla anal kısımları kesilip % 45'lik laktik asit içerisinde temizlendikten sonra, bir damla gliserin damlatılmış lam üzerine konularak, üzeri lamel ile kapatılmak suretiyle preparatları yapılmıştır (Taylor ve Netscher 1974). Lamellerin etrafı oje ile kapatılarak teşhis için hazır hale getirilmişlerdir. Teşhisler için Eisenback ve ark. (1981) ve Eisenback (1985)'den yararlanılmıştır.

3.2.2.4. Örneklerin Moleküler Yöntemler ile Teşhisi

a) DNA İzolasyonu

DNeasy Blood & Tissue kit (QIAGEN) kullanılmak suretiyle DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzolasyon kiti içerisindeki kimyasalların kullanım miktarları için çeşitli modifikasyonlara gitmek suretiyle, tamamı aşağıda bahsi geçen sırada olmak üzere DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Her bir bahçe için 4 ya da 5 dişi bireyden DNA izole edilmiştir. Her tüp içerisinde tek bir dişi birey bulunmaktadır.

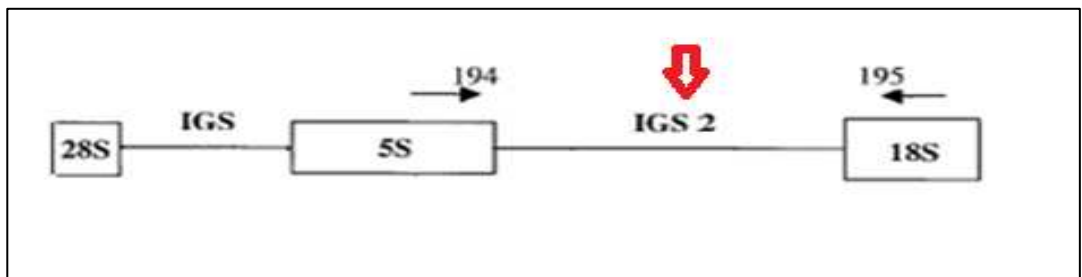
- 1) Boş 1,5 ml'lik santrifüj tüpü içerisine 90 µl ATL buffer eklenmiştir. Sonrasında her tüpte 1 dişi olacak şekilde dişiler tüplere eklenmiştir.
- 2) Sonrasında santrifüj tüplerine 20 µl proteinase K eklenmiş ve 10 sn kadar vorteks'e tabi tutulmuştur. Tüpler 56 °C'de 10-12 saat inkube edilmiştir.
- 3) İkinci gün, inkubasyona tabi tutulan tüpler 5sn vortekslenmiş ve sonrasında 100 µl AL buffer eklenip, vorteks ile iyice karışması sağlanmıştır. Sonrasında % 96-100'lük 100 µl Ethanol eklenmiş ve iyice karışması için tekrar 3 sn vortekse tabi tutulmuştur.
- 4) 3. maddedeki karışım otomatik pipetle alınarak, 2 ml'lik collection tüpü içerisine yerleştirilmiş olan DNeasy Mini spincolumn içerisine aktarılmıştır. Sonrasında santrifüj cihazına dengeli bir şekilde bütün tüpler yerleştirilerek 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Bu işlemin sonunda collection tüpü ve dibindeki buffer vb. atılmıştır.
- 5) Bir önceki basamaktaki DNeasy Mini spincolumn, yeni bir 2 ml'lik collection tüpü içerisine yerleştirilmiş ve üzerine 250 µl AW1 buffer eklendikten sonra 1 dakika süreyle 8000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Bu işlemin sonunda collection tüpü dibindeki buffer vb. ile birlikte atılmıştır.
- 6) Eldeki mevcut DNeasy Mini spincolumn, yeni bir 2 ml'lik collection tüpü içerisine yerleştirilmiş ve üzerine 250 µl AW2 buffer eklendikten sonra 3 dakika süreyle 14000 rpm'de santrifüj edilmek suretiyle DNeasy membranın kurumasına imkan sağlanmıştır. Bu işlemin sonunda collection tüpü dibindeki buffer vb. ile birlikte atılmıştır.
- 7) İlk işlemlerin sonunda DNeasy Mini spincolumn, 1.5 ya da 2 ml'lik santrifüj tüpü içerisine yerleştirilmiş ve 50 µl AE buffer direkt olarak yakın bir şekilde spin

column içindeki membrana püskürtülmüştür. Oda sıcaklığında 1 dakika bekleddikten sonra tekrar 1 dakika süreyle 8000 rpm’de santrifüj edilmiştir.

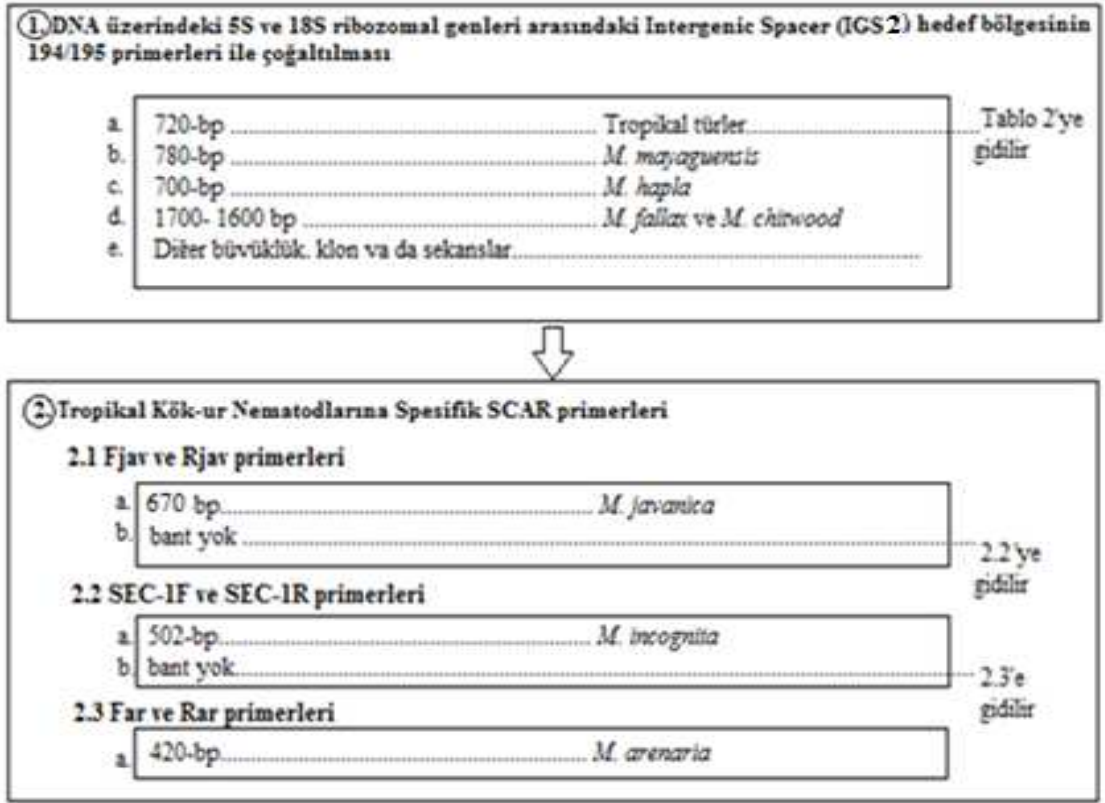
Elde edilen DNA örnekleri santrifüj tüpleri içerisinde -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

b) PCR Reaksiyonu İçin Teşhis Protokolünün Seçimi ve Uygulanması

Türlerin teşhisi için; Adam ve ark. (2007) tarafından hazırlanan kök-ur nematodlarının moleküler teşhisleri için geliştirilen teşhis protokolü kullanılmıştır. Bu protokole ek olarak, Devran ve Söğüt (2009) tarafından Türkiye’deki kök-ur nematodlarının teşhisi için kullanılan primerler de dikkate alınarak; Adam ve ark. (2007) sunmuş olduğu teşhis protokolü üzerinde (Şekil 3.4.), sadece *M. incognita* türüne özgü primerlerden MI-F/MI-R (*M. incognita* için 999-bp band meydana getiren türe özgü SCAR primerleri) yerine, Devran ve Söğüt (2009) tarafından *M. incognita*’nın teşhisi için kullanılan SEC-1F/ SEC-1R primer çifti tercih edilmiştir. Öncelikle tür teşhisi gerçekleştirilecek bahçelere ait DNA örnekleri kullanılarak 5S-18S rDNA ya da IGS2 (Şekil 3.5.) olarak anılan gen bölgesine ait PCR ürünleri, jelde görüntülenmek suretiyle, ilgili band büyüklükleri elde edilmiştir. Bu bölgeyi tanımlayan primerler 194/195 primerleridir. IGS2 bölgesinin *M. javanica*, *M. incognita* ve *M. arenaria* için band büyüklükleri her 3 tür için de 720-bp’dir (Şekil 3.6.). 720-bp’lik band büyüklükleri görüntüledikten sonra türlere özgü spesifik primerler (SCAR) ile devam edilmiştir. Bu primerler *M. javanica* için Fjav/Rjav, *M. incognita* için SEC-1F/SEC-1R, *M.arenaria* için Far/Rar primerleridir. *M. javanica*’ya ait primerden başlamak suretiyle PCR reaksiyonları gerçekleştirilmiştir ve band alınamadığı durumlarda diğer türe ait primerle devam edilmiştir (Şekil 3.6.).



Şekil 3.5. *Meloidogyne javanica*, *M. incognita* ve *M. arenaria* türlerinin her üçü için IGS2 bölgesi



Şekil 3.6. Teşhis için önerilen protokol basamakları

Çizelge 3.3. Kök-ur nematodlarının teşhisi için kullanılan primerler, primerlere ait sekans dizileri ve beklenen DNA band büyüklükleri

Primer adı	Kök-ur nematodu türü	Beklenen DNA band Büyüklüğü (bp)	Primer dizisi (5-3)	Referans
194	Tropical türler (<i>M.javanica</i> , <i>M.incognita</i> , <i>M. arenaria</i>)	720	TTAACTTGCCAGATCGGACG	Blok ve ark. 1997
195			TCTAATGAGCCGTACGC	
Fjav	<i>M. javanica</i>	670	GGTGCGGATTGAACTGAGC	Zijlstra ve ark. 2000
Rjav			CAGGCCCTTCAGTGGA ACTATAC	

Çizelge 3.3.devamı. Kök-ur nematodlarının teşhisi için kullanılan primerler, primerlere ait sekans dizileri ve beklenen DNA band büyüklükleri

SEC1F	<i>M. incognita</i>	502	GGGCAAGTAAGGATGCTCTG	Tesorova ve ark. 2003
SEC1R			CGTGGCTATGAAAGAGGTGC	
Far	<i>M. arenaria</i>	420	TCGGCGATAGAGGTAAATGAC	Zijlstra ve ark. 2000
Rar			TCGGCGATAGACACTACAAACT	

Teşhislerin tamamı Çizelge 3.3. de görülen primerler kullanılmak suretiyle gerçekleştirilmiştir

Çizelge 3.4. Teşhiste kullanılan bütün primerler için reaksiyon karışım prosedürü

Reaksiyon Karışım Komponentleri	
Master Mix.	10 µl
Primer1	0.5 µl
Primer2	0.5 µl
dH ₂ O	4 µl
DNA	5 µl
TOPLAM	20µl

SCAR primerleri olarak anılan: Fjav/Rjav, SEC-1F/SEC-1R, Far/Rar primerleri ve 194-195 primerleri (IGS2 bölgesi için) ile oluşturulan PCR reaksiyonlarının tamamı için yukarıdaki PCR reaksiyon karışımı, 20 µl ye optimize edilmiştir. PCR-reaksiyon karışımı için, Apex marka 2.0Taq RED Master Mix Kit (1.5 mM MgCl₂) kullanılmıştır. Master Mix aynı zamanda, Adenin, Timin, Guanin, Sitozin gibi deoxynucleotidleri (dNTPs) de içerisinde barındırmaktadır.

c) Primerler için PCR reaksiyonlarının oluşturulması

PCR reaksiyonları oluşturulurken Adam ve ark. (2007) ile Devran ve Söğüt (2009)'dan yararlanılmıştır. PCR reaksiyonları için, mevcut primerler ve bahçe örnekleri kullanılarak bir dizi optimizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir (bakınız: Ek-1).

Çizelge 3.5. IGS2 bölgesi için PCR prosedürü (Adam ve ark. 2007, değiştirilerek)

Basamaklar	Sıcaklık(° C)	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç denatürasyonu	94	3 dak.	
Denatürasyon	94	30 sn.	35
Primer bağlanması (annealing)	58	30sn	
Uzama(extension)	72	90sn.	
Final uzama	72	5 dak.	

Çizelge 3.4. 'e ait reaksiyon karışım komponentleri bir araya getirilerek PCR reaksiyonu 194/195 primerleriyle Çizelge 3.5'deki protokole göre, IGS2 bölgesi için gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.6. SEC1F/SEC1R primerleri için PCR prosedürü (Devran ve Söğüt 2009, değiştirilerek)

Basamaklar	Sıcaklık(° C)	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç denatürasyonu	94	3 dak.	
Denatürasyon	94	30 sn.	45
Primer bağlanması (annealing)	54	30sn	
Uzama(extension)	72	90sn.	
Final uzama	72	5 dak.	

Çizelge 3.4.'e ait reaksiyon karışım komponentleri bir araya getirilerek PCR reaksiyonu SEC1F/SEC1R primerleriyle Çizelge 3.6.'deki protokole göre, *M. incognita* türünün teşhis için gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.7. Far/Rar primerleri için PCR prosedürü (Adam ve ark. 2007)

Basamaklar	Sıcaklık(° C)	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç denatürasyonu	94	2 dak.	
Denatürasyon	94	30 sn.	45
Primer bağlanması (annealing)	61	30sn	
Uzama(extension)	72	1 dak.	
Final uzama	72	7 dak.	

Çizelge 3.4.'e ait reaksiyon karışım komponentleri bir araya getirilerek PCR reaksiyonu Far/Rar primerleriyle Çizelge 3.7.'daki protokole göre, *M. arenaria* türünün teşhis için gerçekleştirilmiştir

Çizelge 3.8. Fjav/Rjav primerleri için PCR prosedürü (Adam ve ark. 2007)

Basamaklar	Sıcaklık(° C)	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç denatürasyonu	94	2 dak.	
Denatürasyon	94	30 sn.	45
Primer bağlanması (annealing)	64	30sn	
Uzama(extension)	72	1dak.	
Final uzama	72	7 dak.	

Çizelge 3.4.' e ait reaksiyon karışım komponentleri bir araya getirilerek PCR reaksiyonu Fjav/Rjav primerleriyle Çizelge 3.8.'deki protokole göre, *M. javanica* türünü teşhis için gerçekleştirilmiştir.

d) PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforez Yöntemi ile Belirlenmesi

Bu işlem için, öncelikle 1X yoğunlukta TBE (Apex marka, sıvı) tamponu hazırlanmıştır. 10X TBE'den 10 ml alınarak 500 ml saf su ile tamamlanarak 1X yoğunlukta olan, TBE jel yürütme ortamı elde edilmiştir. Sonrasında 1X TBE tamponu kullanılarak 1.8 gr agaroz (Sigma) / 100 ml 1X TBE olacak şekilde jel hazırlanmıştır.

Jel' e yükleme işlemi için 10 µl PCR ürünü ve 5 µl referans marker (1kb+, QIAGEN marka) kullanılmıştır. PCR ürünleri, elektroforez cihazında (Advance marka, mupid-2plus, submarine electrophoresis system, 120 volt) 30 dakika koşturulmuş ve sonrasında 20 µl / 200 ml saf su olarak hazırlanmış etidyum bromid (Fisher Bioreagents) solüsyonu içerisinde 30 dakika süreyle boyanarak, UV görüntüleme cihazında (UVP marka, High Performance Transilluminator TFM-20 volt, 25 watt) görüntülenerek, jel fotoğrafları (Canon Powershot G9 12.1 megapixel kamera ile) çekilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Ordu ilinde örneklenen kivi bahçelerinin tamamında, kök-ur nematodlarının tipik belirtisi olan ur'lara rastlanmıştır (Şekil 4.1.). Örneklenen populasyonların teşhisi; moleküler düzeyde SCAR primerlerin kullanılması ve bunun yanı sıra, klasik bir yöntem olarak dişilere ait genital kesit morfolojilerinden de yararlanılmak suretiyle gerçekleştirilmiştir. Bulgular neticesinde örneklenen populasyonların tamamı *M. incognita* türü olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.1. Ordu ilinde kök-ur nematodu ile bulaşık kivi kökleri

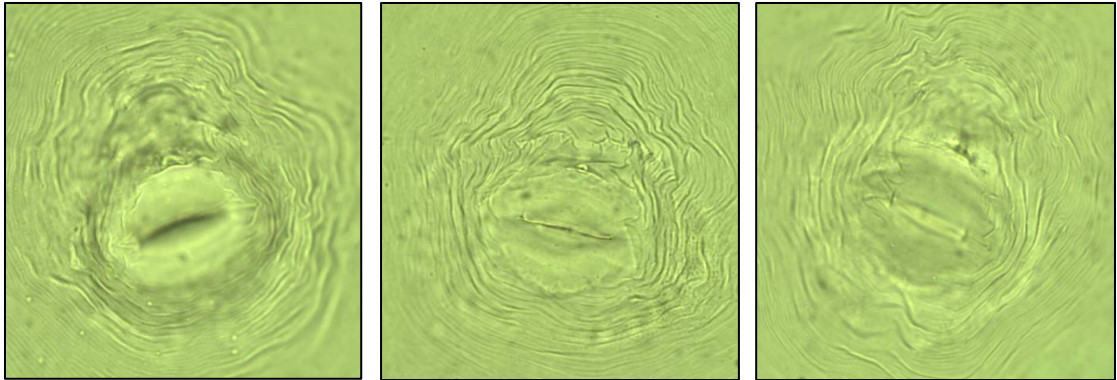
Dünya genelinde yürütülen; uluslararası kök-ur nematodu projesi kapsamında gerçekleştirilen örneklemelede en çok rastlanılan kök-ur nematodu türü *M. incognita* olmuştur (Taylor ve ark. 1982). Benzer şekilde; farklı zamanlarda ulusal düzeyde, çeşitli ülkelerde yürütülen çalışmalarda *M. incognita* türü en yaygın tür olarak bulunmuştur (Khan ve Ahmad 2000, Guzman-Plazola ve ark. 2006, Anwar ve McKenry 2010, Kayani ve ark. 2013). Türkiye'nin farklı bölgelerinde de çeşitli kültür bitkilerinde yürütülen çalışmalarda, *M. incognita*'nın en yaygın tür olduğunu gösteren çok sayıda özgün çalışma mevcuttur (Kaşkavalcı 1998, Örümlü 2003, Katı 2006, Akyazı 2008, Özarslandan 2009). Yüksel (1974); yürüttüğü detaylı çalışmada, Karadeniz, Marmara, Ege, Akdeniz Bölgelerinde kültür bitkilerinde en fazla bulunan türün *M. incognita* olduğunu ifade etmiştir. Özellikle Karadeniz bölgesi için Samsun ilinin doğusunda kalan sahil şeridinde sebze ve meyvelerde, yalnızca *M. incognita*'nın bulunduğunu belirtmiştir. Dolayısıyla, yapılan bu çalışma kapsamında teşhis edilen türün sadece *M. incognita* olması şaşırtıcı değildir. Bu durum *M. incognita* türünün, dünyanın diğer birçok bölgesine ait ekolojik koşullara uyum sağlayan tür

olduğunu göstermektedir. Daha önceki yapılan çalışmalar ışığında *M. incognita*'nın Türkiye'nin farklı bölgelerinde yaygın tür olduğu açıktır.

4.1. Morfolojik Tür Teşhisi

Ordu ili kivi bahçelerinden elde edilen dişilerin incelenen genital kesit morfolojilerinde belirgin, yüksek ve köşeli dorsal arch yapısı gibi tipik karakterler görülmüştür. Dorsal arch bölgesindeki striae'lerin, düzleşmiş yapıdan dalgalı yapıya geçişi görülmüştür. Belirgin olmayan lateral line ve lateral bölgede kesik kesik yapıdaki striae'ler mevcuttur. Ayrıca striae'lerin; belirgin olmayan lateral line bölgesine yakın yerlerde, çatallanmalar meydana getirdiği gözlenmiştir. Bu karakterler; Eisenback ve ark. (1981) ve Eisenback (1985) tarafından sunulan literatür bilgileri ile karşılaştırılarak, incelenen preparatların *M. incognita*'ya ait olduğu tespit edilmiştir. Kök-ur nematodlarının genital kesitlerinde incelenebilecek genel kısımlar Şekil 4.2'de görülmektedir.

Meloidogyne türlerinin temel morfolojisi oldukça benzer olup, türleri tanımlamada, birbirleriyle örtüşen ve varyasyon gösteren morfometrik ölçümler tek başına yeterli olmamaktadır (Eisenback ve ark. 1981). Diğer yandan, özellikle tür içi varyasyonlar sebebiyle, bir türü tanımlamada morfometrik ölçülerden ziyade aynı türün farklı dönemlerine (juvenil, erkek ya da dişi) ait türe özgü morfolojik karakterler daha güvenilir olabilmektedir. Bu karakterler: erkek bireyin baş şekli, juvenilin kuyruk şekli, erkek ve dişinin stylet şekli ve dişi için genital kesit morfolojisi şeklindedir (Jepson 1983). Dolayısıyla çalışma kapsamında; dişilerin genital kesit morfolojilerine ait preparatlar, moleküler teşhisi destekleyici olarak kullanılmıştır.

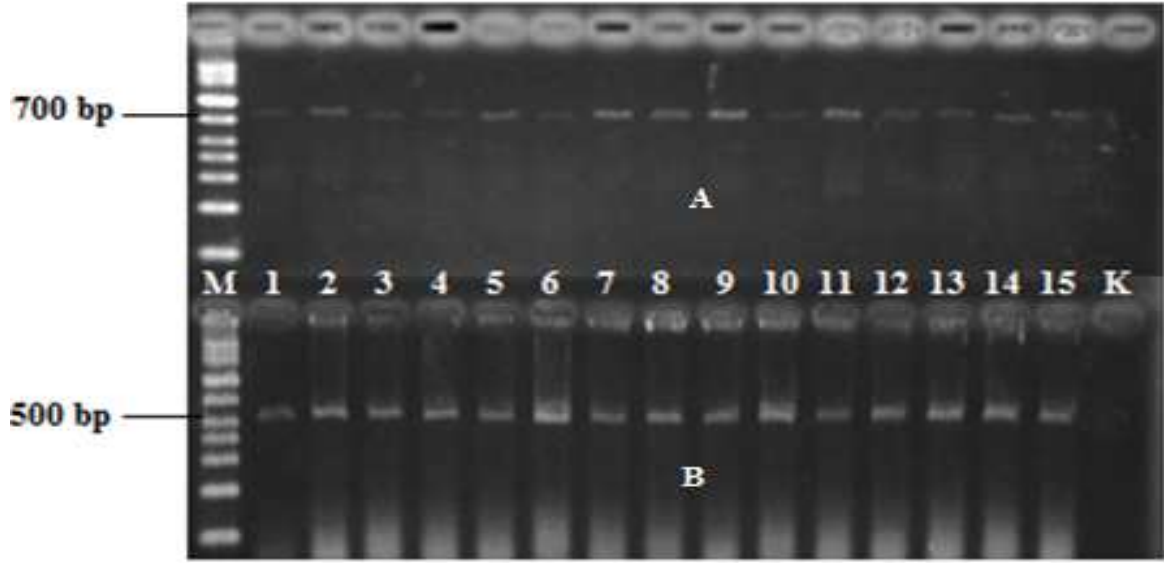


Şekil 4.2. *Meloidogyne incognita* türüne ait genital kesit morfolojileri

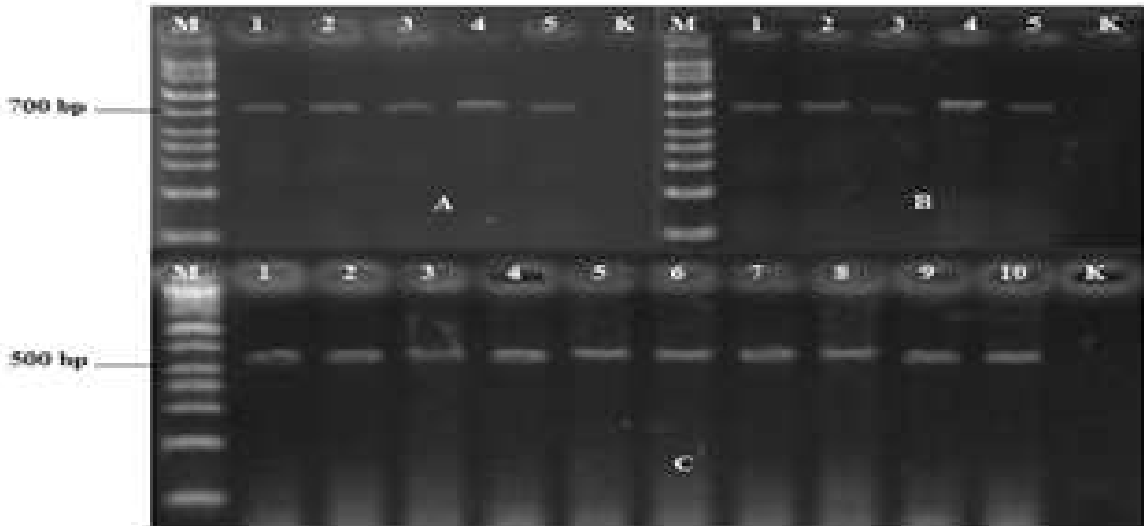
4.2. Moleküler Tür Teşhisi

Ordu ili kivi bahçelerinden elde edilen 17 farklı bahçeye ait populasyonların tamamında; moleküler teşhisler sonucunda rastlanılan tür, *M. incognita* olarak tespit edilmiştir. Moleküler teşhiste; Adam ve ark. (2007) tarafından önerilen teşhis protokolü kapsamında, SCAR primer çiftleri kullanılmadan önce, 194/195 primerleri ile *M. incognita*, *M. javanica* ve *M. arenaria* türlerinin her üçü için DNA üzerinde ortak sayıda nükleotid çiftine sahip olan IGS2 (5S-18S) bölgesi görüntülenmiştir. Bu bölgenin için elde edilen band büyüklüğü 720 bp olarak elde edilmiş ve bu değer Adam ve ark. (2007) ve Wishard ve ark. (2002)'ye uymaktadır. Sonrasında DNA üzerinde sadece türe özgü sekans ya da gen bölgelerini tanıyıp çoğaltma özelliğindeki SCAR primer çiftleri kullanılmıştır. *M. incognita* için SEC-1F/SEC-1R primerleri 502 bp değeri ile literatür bilgilerini (Tesorova ve ark, 2003 ve Devran ve Söğüt, 2009) doğrulamıştır. Dolayısıyla SCAR primerleri için elde edilen band büyüklükleri daha önceki çalışmalar ile örtüşmektedir. *M. javanica* ve *M. arenaria*'ya ait SCAR primerleri ise band vermemiş, sadece *M. incognita* türüne özgü olan SCAR primer çifti SEC-1F/SEC-1R band vermiştir. Bu durum; kivi bahçesi örneklemelerine ait türün, teşhis protokolü ve kullanılan primer çiftlerinin ışığında, yalnızca *M. incognita* olduğunu göstermektedir ve bu türe özgü SCAR primeri band büyüklüğü 502 bp değerindedir. Yapılan bu çalışmada kullanılan teşhis protokolüne benzer şekilde, Garcia ve Sanchez-Puerta (2012) SCAR primer çiftlerini kullanmak suretiyle, *M. arenaria* türünü teşhis etmişlerdir. Dolayısıyla, elde edilen band büyüklüklerine ait değerler ve protokol uygulamaları önceki çalışmalar ile uyumludur (Şekiller: 4.3., 4.4., 4.5., 4.6., 4.7., 4.8., 4.9.).

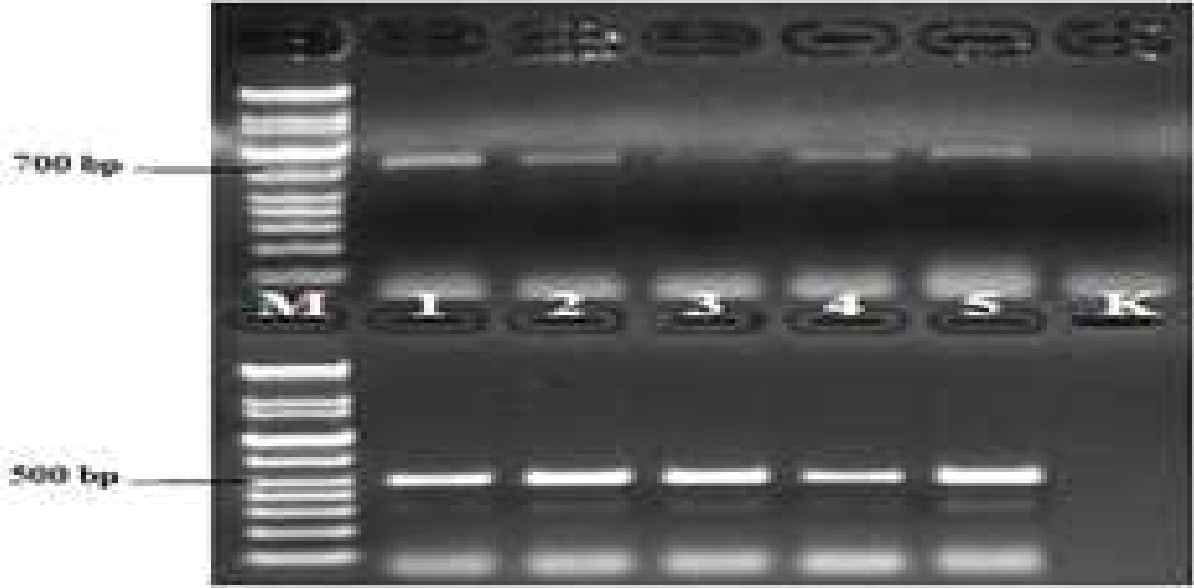
Moleküler yöntemler türleri birbirinden ayırt etmede detaylı, kesin ve yeni yaklaşımlar olup (De Ley ve ark. 2005) rutin uygulamaya imkan veren, hızlı ve güvenilir metodlardır (Oliveira 2011). Bu kolaylıklar, bitkisel materyallerin ihracat ve ithalatı açısından karantina ile ilgili doğru raporların hızla yazılabilmesi ya da teşhis edilen türe uygun mücadele önlemleri üzerinde karar verilebilmesi açısından, önemlidir (Hunt ve Handoo 2009).



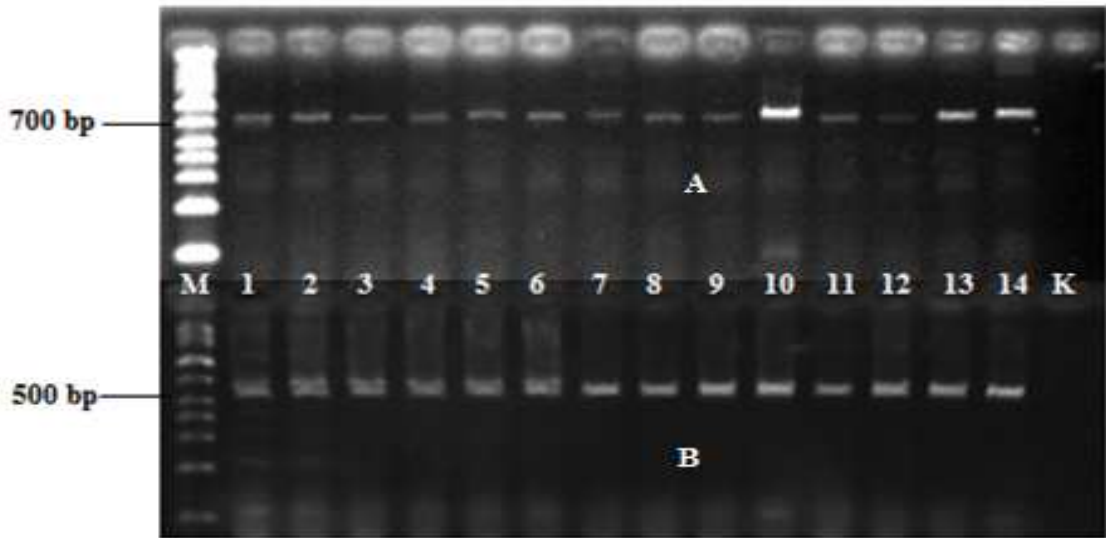
Şekil 4.3. Merkez ilçesine ait 3 bahçenin (M1, M2, M3) kök-ur nematodu örneklerine ait PCR ürünleri. A: *Meloidogyne* türlerinin 5S-18S rDNA genleri arasındaki IGS2 bölgesini çoğaltan primer çiftine (194/195) ait PCR ürünleri (720 bp). B: *M. incognita*'ya spesifik SEC1F/SEC1R primerlerine ait PCR ürünleri (502 bp). M: Marker (1kb+), 1-5: M1 bahçesine ait örnekler, 6-10: M2 bahçesine ait örnekler, 11-15: M3 bahçesine ait örnekler, K: su (Kontrol).



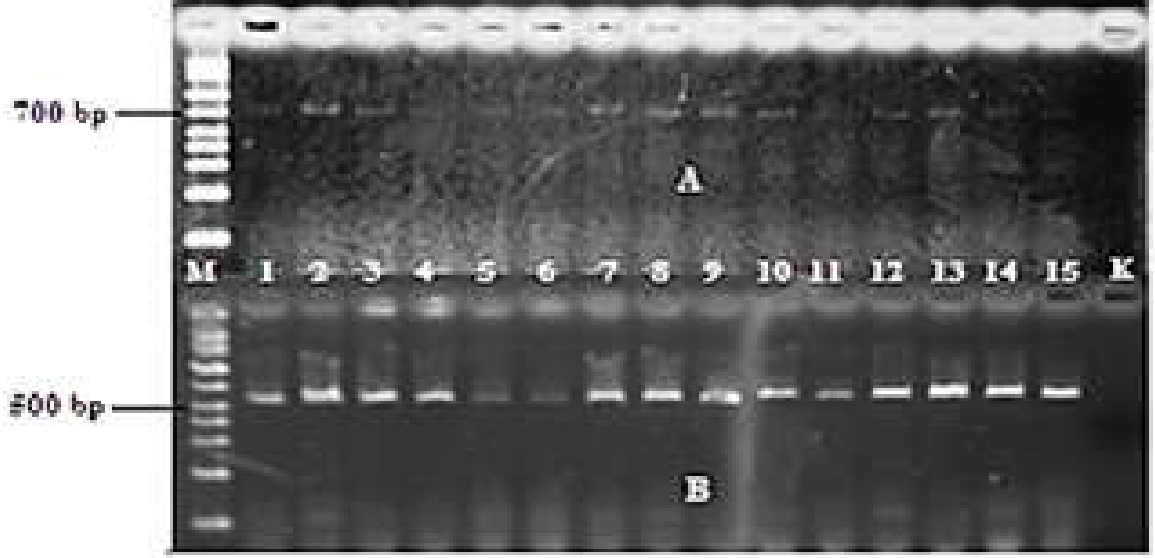
Şekil 4.4. Merkez ilçesine ait 2 bahçenin (M4, M5) kök-ur nematodu örneklerine ait PCR ürünleri. A ve B: *Meloidogyne* türlerinin 5S-18S rDNA genleri arasındaki IGS2 bölgesini çoğaltan primer çiftine (194/195) ait PCR ürünleri (720 bp). C: *M. incognita*'ya spesifik SEC1F/SEC1R primerlerine ait PCR ürünleri (502 bp). M: Marker (1kb+), 1-5: M4 bahçesine ait örnekler, 6-10: M5 bahçesine ait örnekler, K: su (Kontrol).



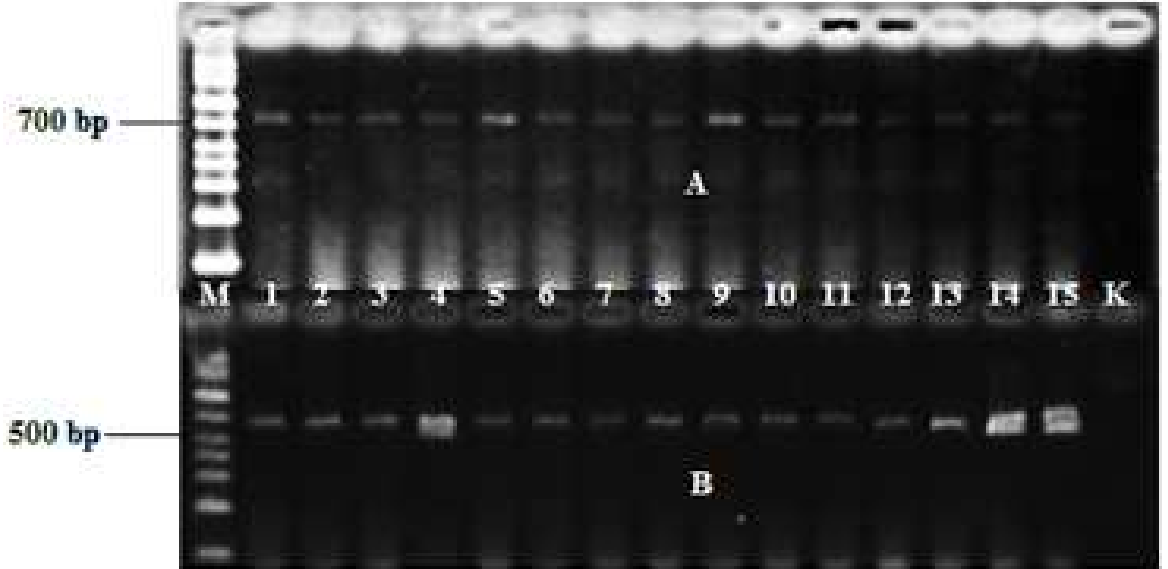
Şekil 4.5. Perşembe ilçesine ait tek bir bahçenin (P1) kök-ur nematodu örneklerine ait PCR ürünleri. A: *Meloidogyne* türlerinin 5S-18S rDNA genleri arasındaki IGS2 bölgesini çoğaltan primer çiftine (194/195) ait PCR ürünleri (720 bp). B: *M. incognita*'ya spesifik SEC1F/SEC1R primerlerine ait PCR ürünleri (502 bp). M: Marker (1kb+), 1-5: P1 bahçesine ait örnekler, K: su (Kontrol).



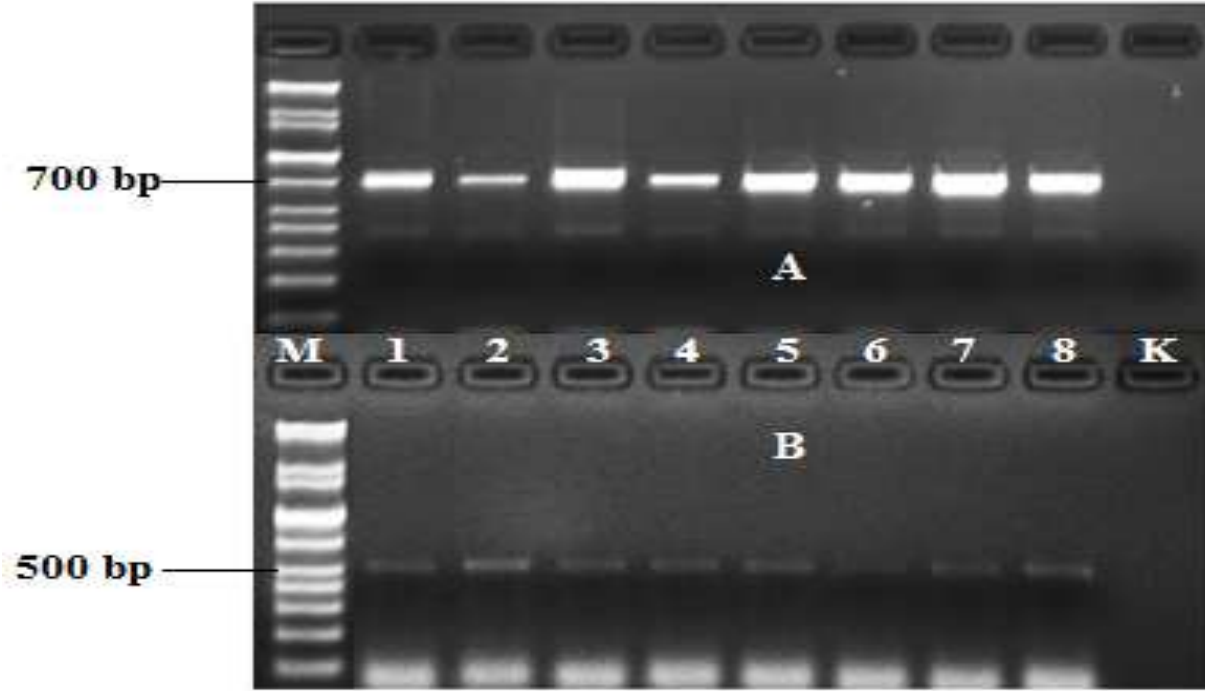
Şekil 4.6. Gülyalı ilçesine ait 3 bahçenin (G1, G2, G3) kök-ur nematodu örneklerine ait PCR ürünleri. A: *Meloidogyne* türlerinin 5S-18S rDNA genleri arasındaki IGS2 bölgesini çoğaltan primer çiftine (194/195) ait PCR ürünleri (720 bp). B: *M. incognita*'ya spesifik SEC1F/SEC1R primerlerine ait PCR ürünleri (502 bp). M: Marker (1kb+), 1-5: G1 bahçesine ait örnekler, 6-10: G2 bahçesine ait örnekler, 11-14: G3 bahçesine ait örnekler, K: su (Kontrol).



Şekil 4.7. İkizce ilçesine ait 3 bahçenin (İ1, İ2, İ3) kök-ur nematodu örneklerine ait PCR ürünleri. A: *Meloidogyne* türlerinin 5S-18S rDNA genleri arasındaki IGS2 bölgesini çoğaltan primer çiftine (194/195) ait PCR ürünleri (720 bp). B: *M. incognita*'ya spesifik SEC1F/SEC1R primerlerine ait PCR ürünleri (502 bp). M: Marker (1kb+), 1-5: İ1 bahçesine ait örnekler, 6-10: İ2 bahçesine ait örnekler, 11-15: İ3 bahçesine ait örnekler, K: su (Kontrol).



Şekil 4.8. Ulubey ilçesine ait 3 bahçenin (U1, U2, U3) kök-ur nematodu örneklerine ait PCR ürünleri. A: *Meloidogyne* türlerinin 5S-18S rDNA genleri arasındaki IGS2 bölgesini çoğaltan primer çiftine (194/195) ait PCR ürünleri (720 bp). B: *M. incognita*'ya spesifik SEC1F/SEC1R primerlerine ait PCR ürünleri (502 bp). M: Marker (1kb+), 1-5: U1 bahçesine ait örnekler, 6-10: U2 bahçesine ait örnekler, 11-15: U3 bahçesine ait örnekler, K: su (Kontrol).



Şekil 4.9. Ünye ilçesine ait 2 bahçenin (Ü1, Ü2) kök-ur nematodu örneklerine ait PCR ürünleri. A: *Meloidogyne* türlerinin 5S-18S rDNA genleri arasındaki IGS2 bölgesini çoğaltan primer çiftine (194/195) ait PCR ürünleri (720 bp). B: *M. incognita*'ya spesifik SEC1F/SEC1R primerlerine ait PCR ürünleri (502 bp). M: Marker (1kb+), 1-4: Ü1 bahçesine ait örnekler, 5-8: Ü2 bahçesine ait örnekler, K: su (Kontrol).

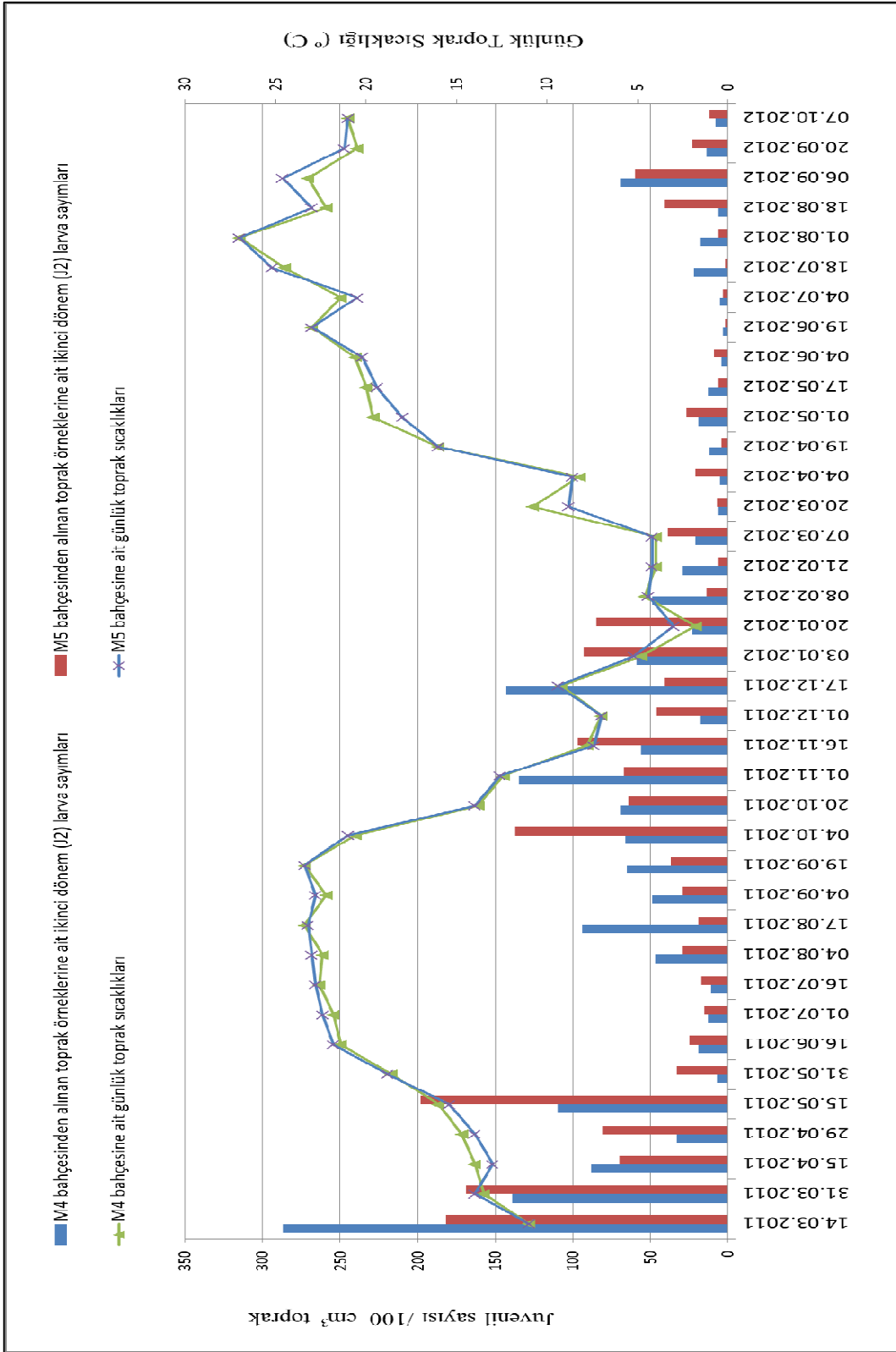
4.3. Kök-ur Nematodlarının İki Farklı Kivi Bahçesi Topraklarındaki Populasyon Değişimleri

Kivi yetiştiriciliği için zararlı konumundaki kök-ur nematodu türleri, diğer ülkelerde çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur. Bu çalışmaların bazıları; kök-ur nematodunun teşhisi olabildiği gibi, diğer bazı çalışmalar da kök-ur nematodlarının populasyon dalgalanmaları ile ilgili olanlardır. Bu çalışma ile Ordu ili kivi yetiştiriciliği için kök-ur nematodlarının teşhisi ve populasyon dalgalanması takibi gerçekleştirilmiş olup, ülkemiz için bu yönde ilk çalışma niteliğindedir. Ordu ilinde; populasyon dalgalanmasının izlendiği her iki bahçedeki kök-ur nematodu türü, *M. incognita* olarak teşhis edilmiştir. Bu türün, aynı yükseltideki iki kivi bahçesindeki populasyon dalgalanması 20 aylık süre boyunca takip edilmiştir. Nematodlardan kaynaklı verim kayıplarının daha iyi anlaşılabilmesi (Divito ve ark. 1988, Ma ve ark. 2007) ve uygun mücadele yöntem ya da önlemleri üzerine karar verilebilmesi

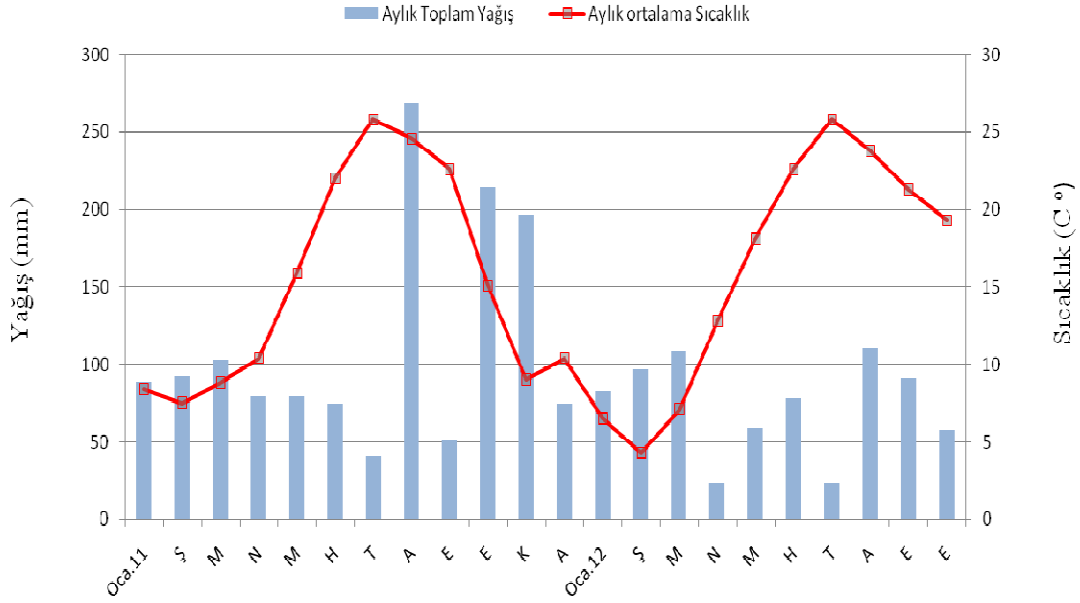
açısından (Pinochet ve ark. 1990); doğru tür teşhisinin yanı sıra, nematodlara ait populasyon dalgalanmaları ve bunun yoğunluğuna dair bilgiler, faydalı olacaktır.

Populasyon dalgalanmasının takibi esnasında kullanılan veriler: Ordu ili meteoroloji istasyonundan alınan aylık toplam yağış (mm), aylık ortalama hava sıcaklığı (°C), populasyon takibi için örneklerin alındığı gün el tipi toprak termometresi ile ölçülen günlük toprak sıcaklıkları (°C) ve aynı yükseltideki iki ayrı kivi bahçesine ait topraktaki juvenil sayıları/100 cm³ toprak şeklindeki verilerdir. 2011 Mart-2012 Ekim ayı boyunca 20 aylık döneme ait veriler kullanılmıştır.

Verilere bakıldığında; meteoroloji istasyonundan alınan aylık ortalama hava sıcaklığı ile ölçülen günlük toprak sıcaklıklarına ait çizgi grafikleri dalgalanmalarının, birbirine oldukça yakın olarak oluştuğu görülmektedir. Aylık toplam yağış değerlerine bakıldığında; 2011 yılı içerisinde 2012 yılına kıyasla, aylara göre yağış miktarları genel olarak daha yüksek değerlerdedir. Populasyon dalgalanması ile ilgili verilerde ise; izlenen her iki bahçede populasyonun, sayımın başladığı Mart 2011 tarihinden itibaren altışar aylık üç döneme ayrıldığında, mevsimsel olarak birbirleri ile örtüşecek şekilde değişmeler gösterdiği görülmektedir. Bu durum; bahçelerin yükselti olarak benzer seviyede ve aynı ilçede seçilmiş olmasının, sonuçlar üzerinde benzer etkiler meydana getirebileceği fikrini vermektedir.



Şekil. 4.10. Ordu ili merkez ilçede populasyon takibi yapılan iki kivi bahçesine (M4 ve M5) ait populasyon değerleri ve ölçülen toprak sıcaklıkları grafiği



Şekil 4.11. Ordu ili için 2011-2012 yılları arasındaki aylık toplam yağış ve aylık ortalama hava sıcaklığı meteoroloji istasyonu değerleri

Altı aylık dönemler kendi içerisinde incelendiğinde ise; Mart ayındaki ilk sayımda populasyon yoğunlukları M4 bahçesi için 287 juvenil /100 cm³ ve M5 bahçesi için 182 juvenil /100 cm³ olarak sayılmış olup ölçülen toprak sıcaklığı her iki bahçe için 11 °C olarak ölçülmüştür. İlk altı ay içerisinde Mart 2011-Mayıs 2011 dönemi boyunca, her iki bahçedeki populasyon, azalarak devam etmiştir ve bu azalma esnasında bu aylara denk gelen toplam yağışlar da azalmaya başlarken, aylık ortalama sıcaklık ve günlük ölçülen toprak sıcaklıkları artarak devam etmiştir. Toplam yağışlarda meydana gelen azalmalar, söz konusu aylar için büyük farklılıklar şeklinde değildir. Sıcaklık artışları Mart ayından itibaren görülmeye başlamıştır, dolayısıyla bahar dönemi olması sebebiyle bitkide kök gelişimi faaliyetlerinin de başlaması ve sıcaklık artışıyla birlikte açılan nematod bireylerinin köke giriş yapmasıyla birlikte, söz konusu üç aylık dönemde, her iki bahçedeki populasyonun azalma eğilimine girdiği düşünülebilir. Kök-ur nematodlarının çoğunun yumurta açılımı gerçekleştikten sonra, konukçu bitkinin olmadığı durumlarda daha kısa süre ortamda dayanabilme özellikleri (Trudgill 1997) sebebiyle; bitkide kök gelişiminin aktif olabileceği bahar aylarında hemen köke giriş yaptığı fikrine varılmıştır. Ancak Mayıs ortası ölçümlerinde her iki bahçenin populasyon yoğunlukları M4 bahçesi 110 juvenil /100 cm³ ve M5 bahçesi 198 juvenil /100 cm³ olarak sayılmıştır ve toprak

sıcaklıkları 16°C civarında ölçülmüştür. Dolayısıyla, azalmayı takiben her iki bahçede de bir artış görülmüştür. Mayıs ayı sonu itibariyle ve haziran, temmuz aylarında ise her iki bahçeye ait populasyon yoğunlukları ciddi oranda düşmüştür ve mayıs ayı sonu itibariyle populasyonlar M4 bahçesi 7 juvenil /100 cm³ ve M5 bahçesi 33 juvenil /100 cm³ olarak sayılmıştır. Temmuz ayı son sayımları, M4 bahçesi 11 juvenil /100 cm³ ve M5 bahçesi 17 juvenil /100 cm³ olarak sayılmıştır ve toprak sıcaklıkları 23°C olarak ölçülmüştür. Dolayısıyla bu düşüşün; önceki aylardaki köke girişler ve haziran ile temmuz aylarında sıcaklık değerleri artarak devam ederken, yağışların azalmaya başlaması ve temmuz döneminde önceki aylara göre toplam yağışın % 50 oranında azalması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Artarak devam eden sıcaklıklar, evaporasyonla topraktan suyu artan oranda uzaklaştıracak ve % 50 oranında daha az düşen yağış ise nematod yumurtaları üzerinde sıcaklığın etkisini stres olarak artıracaktır. İlk altı aylık dönemin son ayı ağustosta ise toprak sıcaklık değerleri benzer olarak devam etmiş ve 20 °C'nin üzerinde gerçekleşmiştir. Aylık ortalama hava sıcaklığı da grafikten görüleceği gibi 24 °C civarındadır. Ancak Ağustos ayında Temmuz ayının yaklaşık yedi katı daha fazla toplam yağış görülmüştür ve ağustos ayına bakıldığında her iki bahçedeki populasyon yoğunluklarının; mayıs, haziran ve temmuz aylarına kıyasla genel olarak artma eğilimine girdiği görülmektedir. Dolayısıyla sıcaklığın yeterli olması ve ortamdaki ani nem artışına bağlı olarak yumurtaların açılması, beraberinde bu artış eğilimini her iki populasyon için meydana getirmiş olabilir. Ağustos, Ekim, Kasım 2011 aylarındaki yağışlar ani ve pik değerlerdeki yağışlardır. Pinochet ve ark. (1990)'nın belirttiğine göre ani yağışları takip eden dönemlerde populasyonlar, kısa süreler içerisinde ciddi artış gösterebilmektedir. Ağustos-Ekim aylarına ve sonrasına bakıldığında bu durumun benzer olduğu görülmektedir ve populasyonlar dalgalanma göstermiştir.

İkinci altı aylık dönemde ise ağustos ayında başlayan populasyonlardaki artış durumunun; Eylül, Ekim ve Kasım aylarında da devam ettiği görülmektedir. Ağustos ayı içerisindeki pik değerdeki toplam yağışın Eylül ayı içindeki yumurta açılımı üzerinde etkisi olacağı düşünülebilir. Çünkü ağustos ayı toplam yağış değerinin pik değer olması, aylık ortalama hava sıcaklığının eylül ayında ağustos ayına benzer şekilde devam etmesi ve yine toprak sıcaklık değerlerinin eylül ayı sonuna kadar çok

fazla değişmemesi durumu, evaporasyonla su kaybını çok fazla etkilemeyecektir. Beraberinde yeterli sıcaklık etkisi de devam ettiğinden, eylül ayında da yumurtaların açılması ile birlikte populasyonların artma eğiliminde olduğu fikrine varılmıştır. Populasyonlar; ekim ayının ilk haftasında M5 populasyonu 137 juvenil /100 cm³, kasım ayının ilk haftasında ise M4 populasyonu 135 juvenil /100 cm³ olmak üzere, ardışık olarak farklı aylarda ani artışlar göstermişlerdir. Kasım ayı ortasında B populasyonu yine ani bir artış göstermiş ve sonrasında aralık ayının ilk haftasında heriki populasyon da aniden düşmüştür ve M4 populasyonu 18 juvenil /100 cm³, M5 populasyonu ise 46 juvenil /100 cm³ olarak sayılmıştır. Bu ani düşüşlerin, toprak ve hava sıcaklık değerlerinin; kasım ayının ortalarından itibaren 10 °C'nin altında devam etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Aralık ayının ortalarından itibaren populasyonlar ikinci altı aylık dönemin sonu olan şubat ayının ilk haftasına kadar, özellikle M5 populasyonun iki defa, M4 populasyonu ise bir kez olmak üzere belirgin artışlar göstermişlerdir. Sonrasında şubat ayı ortasındaki sayımdan itibaren her iki populasyonda ciddi azalış göstermiştir ve bu azalışın ocak 2012'nin başlangıcından itibaren toprak ve hava sıcaklık değerlerinin 5 °C civarında ve altında seyretmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Son altı aylık periyodun başlangıcı olan mart 2012'den sonra yağış değerleri bir önceki yılın aynı dönemine daha düşük olarak gerçekleşmiştir ve sıcaklık değerleri de bir önceki yılın aynı dönemine göre birkaç derece üstünde gerçekleşmiştir. Ancak 2012 yılı için ocak, şubat ve mart aylarındaki 5 °C civarı ve bazen altındaki toprak ve hava sıcaklıklarının mart ayının ortalarından itibaren yumurta açılımını geciktirmek suretiyle sonraki aylar üzerindeki toplam etkisiyle ve nisan ayındaki toplam yağıştaki ani düşüş; ve yine köke girişler ile birlikte her iki populasyona ait değerler ciddi oranda düşmüş olabilir. Mart ayında M4 populasyonu 21 juvenil/100 cm³ ve M5 populasyonu ise 39 juvenil /100 cm³ olarak sayılmıştır ve toprak sıcaklığı değerleri de bir önceki yıl mart ayına göre oldukça düşük olarak 4 °C civarında ölçülmüştür. Bu düşük populasyonlar Mart, Nisan, Mayıs ve Haziran ve Temmuz 2012 ayları boyunca devam etmiştir. Bu aylardaki populasyon değişimleri bir önceki yılın haziran ve temmuz ayları ile benzerdir ve düşük olarak gözlenmiştir. Yine bir önceki yılın haziran ve temmuz ayları toplam yağışları ve hava sıcaklık değerleri birbirine yakın değerlerdedir. Ancak bir önceki yılın mayıs ayı ortasında her iki populasyon da

oldukça yüksek değerlerde olmalarına rağmen 2012 Mayıs ayının başlangıç ve ortalarındaki sayımlarda her iki populasyon da oldukça dūřüktür. Bir önceki yıla benzer olarak, Aęustos 2012’de toplam yağışta ani bir artış görölmüş ve populasyonlar Aęustos ayı ortalarından itibaren artış eğilimine girmişlerdir. Eylül ve Ekim 2012 aylarında her iki populasyonda bir önceki yılın aynı dönemine, özellikle kasım ayında, ciddi oranda dūřmüřtür. Bu dūřüřün sebebi, her ne kadar toprak sıcaklıkları yumurta açılımı için yeterli olsa da, toplam yağışların bir önceki yıla göre dūřük geręekleřmesi sebebiyle olabileceği dūřünölmektedir.

Bu çalışma ile incelenen sıcaklık ve nem parametrelerinin yanı sıra, diğer birçok faktör nematodların populasyon dalgalanmaları yada değişimlerini etkilemektedir. Bu faktörler: konukçu bitki, nematodların ırkları ve populasyon genetiği; fiziksel faktörler olarak toprak tekstürü, edafik faktörler ile rekabet, predatörler, parazitler ve zirai işlemler şeklinde belirtilmektedir (Mcsorley 1998).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışma ile Ordu ili kivi üretim alanlarında görülen kök-ur nematodlarının teşhisleri yapılmış ve bunun yanı sıra seçilen iki bahçede topraktaki ikinci dönem larvaların (J2) mevsimsel populasyon dalgalanmaları izlenmiştir. Arazi çalışmaları süresince seçilen 17 adet kivi bahçesinin tamamının kök-ur nematodu ile bulaşık olduğu görülmüştür. Örneklenen populasyonların teşhisinde; doğrudan kivi köklerinden elde edilen dişi bireyler kullanılmak suretiyle morfolojik ve moleküler yöntemler uygulanmıştır. Çalışma kapsamında moleküler teşhisi destekleyici olması açısından, genital kesit morfolojisine dair preparatlara başvurmak suretiyle, *M.incognita* türünün teşhisi morfolojik düzeyde gerçekleştirilmiştir ve incelenen kesit morfolojilerine ait preparatlar *M. incognita* türü için sunulan literatür bilgileri ile uyumlu olduğu görülmüştür. Moleküler teşhiste ise DNA üzerinde uygun gen bölgeleri hedef alınarak, PCR reaksiyonu sonucunda hedef alınan bölge ya da bölgelerin jel üzerindeki band büyüklüklerinden yola çıkmak suretiyle, moleküler düzeyde tür teşhisleri gerçekleştirilmiştir. Moleküler teşhiste; saf nematod kültürü elde edilmeksizin; doğrudan arazideki bitki köklerinden ekstrakte edilen dişi bireyler kullanılmak suretiyle, tür teşhisleri gerçekleştirilmiştir. Bu yönüyle zaman yönünden avantaj sağlamaktadır. Diğer taraftan; sadece özgü olduğu türün teşhisini gerçekleştirmeye olanak sağlayan spesifik-primerlerin (SCAR primerleri) varlığı, güvenilir sonuçları kolayca vermektedir. Dolayısıyla; bu çalışma kapsamında dişi bireyleri kullanmak suretiyle, türlere özgü olan SCAR primer çiftlerinden yararlanılarak tür teşhisleri gerçekleştirilmiştir. Moleküler teşhiste; türe spesifik SCAR primer çiftleri kullanılmadan önce, 194/195 primerleri ile *M. incognita*, *M. javanica* ve *M. arenaria* türlerinin her üçü için rDNA üzerinde ortak sayıda nükleotid çiftine sahip olan IGS2 (5S-18S) bölgesi görüntülenmiştir ve bu bölge için band büyüklüğü 720 bp değerinde elde edilmiştir. Sonrasında DNA üzerinde sadece türe özgü sekans ya da gen bölgelerini tanıyıp çoğaltma özelliğindeki SCAR primer çiftleri kullanılmıştır. *M. incognita* için SEC-1F/SEC-1R primerleri 502 bp değerinde band büyüklüğünü vermiştir. *M. arenaria* ve *M. javanica* türlerine spesifik (SCAR) olan primerler, sırasıyla Far/Rar ve Fjav/Rjav, band vermemiştir. Bunun neticesinde teşhis edilen tür *M. incognita* 'dır. Elde edilen band büyüklüğü değerleri literatür ile uymaktadır.

Ayrıca bu çalışma ile Ordu ili merkez ilçeye bağlı iki ayrı kivi bahçesinde, 20 ay boyunca *M.incognita*'nın popülasyon dalgalanması izlenmiştir. Uygun mücadele yöntem ya da yöntemlerinin seçimi için türlerin doğru olarak teşhis edilmesinin yanı sıra; bitkilerde nematodlardan kaynaklı verim kayıplarının değerlendirilebilmesi ve mücadeleye başlama zamanı ile ilgili kararlarda, ortamda bulunan nematodların popülasyon yoğunluk ve değişimlerine dair bilgiler yararlı olacaktır. Ancak, uzun yıllar ortalama popülasyon sayım ve dalgalanmalarına dair verilerin elde edilmesi gerekmektedir. Böylelikle; uzun yıllara dair sonuçlardan yola çıkılarak, belirli aylar ya da dönemler seçilmek suretiyle mücadelede daha net zamanlar seçilebilir.

Kök-ur nematodları; konukçu dizisi oldukça geniş, ekolojiye adaptasyon yetenekleri yüksek, karmaşık biyolojileri sayesinde dünyada tarım yapılan hemen her alanda görülebilen ve bazen % 100'e varan oranlarda zarar oluşturan organizmalardır. Bu organizmalar ile mücadele zor ve maliyetlidir. Bu çalışma ile sunulan literatür bilgileri ve çalışmanın özgün sonuçlarından yararlanmak suretiyle aşağıdaki şekilde tavsiyelerde bulunulabilir.

1. Yeni tesis edilecek kivi bahçelerinde dikimden önce arziden toprak örnekleri alınarak mutlaka kök-ur nematodu yönünden incelenmesi yapılmalıdır.
2. Sıcaklığın yüksek olduğu aylarda toprağın sürülerek, topraktaki nematodların kuraklık stresine maruz kalması sağlanabilir.
3. Diğer taraftan boş arazi için solarizasyon seçenekleri de değerlendirilebilir. Ancak solarizasyon güneş enerjisinin yeterli ve uzun vadeli olduğu bölgelerde tercih edilmelidir.
4. Topraktaki başlangıç popülasyonunu düşürmek adına, boş arazideki kök-ur nematodu yoğunluğu da dikkate alınarak kivi fidanı dikimi öncesi kimyasal mücadeleye başvurulabilir. Özellikle bölge için yıllar bazında popülasyon dalgalanmaları izlenmiş ve en yoğun oldukları dönemler periyodik olarak biliniyorsa, bu dönemlerde ilaçlama ile popülasyonlar düşürülebilir.
5. Nihai olarak kök-ur nematodlarından temiz, adına doğru ve kök-ur nematodlarına dayanıklı üretim materyali ya da anaç ile üretime başlanabilir.

6. KAYNAKLAR

- Abelleira, A., Mansilla, J.P. 1993. Seguimiento poblacional de *Meloidogyne hapla* Chitwood en Kiwi (*Actinidia deliciosa* (A. Chev.) Liang & Ferguson). Boletín de Sanidad Vegetal Plagas, 19: 295-302.
- Adam, M.A.M., Phillips, 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.
- Ağı, Y., Efe, E., etin, G., Yalın, T., Ergun, M.E. 1999. Studies on the determination of parasitic nematode species of kiwi (*Actinidia deliciosa*) in the Marmara and West Black Sea Region, their spread, intensity, and their chemical control. 1998-1999 annual report. (Editör: Özelkök, S.), sf: 29, Pub. No. 133, Atatürk Central Horticultural Research Institute, Yalova.
- Akyazı, F. 2008. Tokat ili sebze alanlarında görülen kök-ur nematod türleri (*Meloidogyne* spp.)'nin belirlenmesi ve mücadelesinde bazı bitki ekstraktlarının kullanılabilirliği. Doktora tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Tokat.
- Ali, S.S., Pervez R. 2007. Eco-friendly management of phytonematodes in Pulses: Eco-friendly management of Phytonematodes, Ed: Rajvasnshi, I., Sharma, G.L., Oxford Book Company, India, pp: 1-26.
- Anker-Kofoed, E. 2008. A quantitative analysis of trade-related issues in the global kiwifruit industry. A joint master programme at Lincoln University, Canterbury, New Zealand and University of Agricultural Sciences (SLU), Uppsala, Sweden. Master thesis, Lincoln University, Canterbury, New Zealand.
- Anonim.2013a.<http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Heteroderidae/classification/>
- Anonim.2013b. FAO 2011 yılı verileri. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> (Erişim tarihi: 25.01.2013)
- Anonim. 2013c. TÜİK 2011 yılı verileri. <http://rapor.tuik.gov.tr>. (Erişim Tarihi: 29.03.2013).
- Anwar, S.A., McKenry, M.V. 2010. Incidence and reproduction of *Meloidogyne incognita* on vegetable crop genotypes. Pakistan Journal of Zoology, 42: 135-141.
- Blok, V.C., Phillips, M.S., Fargette, M. 1997. Comparison of sequences from the ribosomal DNA intergenic region of *Meloidogyne mayaguensis* and other major tropical root-knot nematodes. Journal of Nematology 29: 16-22.

- Brands, S. J., 2007. *Systema Naturae 2000*. Amsterdam, The Netherlands.
- Carneiro, R.M.D.G., Randig, O., Almeida, M.R.A., Gomes, A.C.M.M. 2004. Additional information on *Meloidogyne ethiopica* Whitehead, 1968 (Tylenchida: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitising kiwi fruit and grape-vine from Brazil and Chilei. *Nematology*, 6: 109-123.
- De Ley, P., De Ley, I.T., Morris, K., Abebe E., Mundo-Ocampo, M., Yoder, M., Heras, J., Waumann, D., Rocha-Olivares, A., Burr, A.H.J. , Baldwin, J.G., Thomas, W.K. 2005. An integrated approach to fast and informative morphological vouchering of nematodes for applications in molecular barcoding. *Philosophical Transactions of Royal Society*. . *Philosophical Transactions of Royal Society B*, 360: 1945–1958.
- Devran, Z., Söğüt, M.A. 2009. Distribution and identification of root-knot nematodes from Turkey. *Journal of Nematology*, 41: 128–133.
- Di Vito, M., Vovlas, N., Simeone, A.M. 1988. Effect of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on the growth of kiwi (*Actinidia deliciosa*) in pots. *Advances in Horticultural Science* 2, 109–112.
- Eisenback , J.D., Hirschmann, H., Sasser, J.N., Triantaphyllou A.C. 1981. A guide to the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* Spp.) With A Pictorial Key. Cooperative Publication of The Departments of Plant Pathology and Genetics North Carolina State University and The United States Agency for International Development, Raleigh, North Carolina, pp:48.
- Eisenback, J.D. 1985. Diagnostic characters useful in the identification of the four most common species of rootknot nematodes (*Meloidogyne* spp.): An advanced treatise on *Meloidogyne*, vol. 1. biology and control, Ed: Sasser, J. N. and Carter, C. C., North Carolina State University Graphics, Raleigh, pp. 95-112.
- El-Borai, F.E., Duncan, L.W. 2005. Nematode parasites of subtropical and tropical fruit tree Crops: Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, 2nd Edition, Ed: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J., CABI Publishing, UK, pp: 467-492.
- Ganguly, A.K, Kamra, A., Somasekhar, N. 2007. Role of nematodes in agro-ecosystem Management: Eco-friendly management of phytonematodes, Ed: Rajvasnshi, I., Sharma, G.L., Oxford Book Company, India, pp: 212-219.
- Garcia, L.E., Sanchez-Puerta, M.V. 2012. Characterization of a root-knot nematode Population of *Meloidogyne arenaria* from Tupungato (Mendoza, Argentina). *Journal of Nematology*, 44: 291–301.
- Guzman-Plazola, R.A., Navas, J.D.J., Caswell-Chen, E., Zavaleta-Mejía, E., del Prado-Vera, I.C. 2006. Spatial distribution of *Meloidogyne* species and races

in the tomato (*Lycopersicon esculentum* mill.) producing region of morelos, Mexico. *Nematropica*, 36: 215-229.

Güleryüz, M., Aslantaş, R. 1993. Dünya kivi (*Actinidia deliciosa*) üretimi ve ülkemizde yetiştirme imkanları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 24: 120-132.

Haygood R.A., Saunders, J.A., Miller, R.W. 1990. Widespread occurrence of *Meloidogyne incognita* on kiwifruit in the coastal areas of South Carolina. *Plant Disease* 74:81. *Disease Note*. (http://www.apsnet.org/publications/PlantDisease/BackIssues/Documents/1990Abstracts/PD_74_81F.htm).

Hill, M. G., Mauchline, N.A., Stannard, K.A. 2008. Predicting armoured scale insect (Homoptera: Diaspididae) phenology on kiwifruit (*Actinidia* sp.). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 36: 253-262.

Hunt, D. J. and Zafar A. Handoo, 2009. Taxonomy, identification and principal species: Root Knot Nematodes, Ed: Perry, R.N., Moens, M., Starr, J. L., MPG Books Group, UK, pp: 55-97.

Jepson, S.B. 1983. Identification of *Meloidogyne*: a general assessment and a comparison of male morphology using light microscopy, with a key to 24 species. *Revue Nématol.* 6: 291-309.

Kaşkavalcı, G. 1998. Aydın ili'nin yazlık sebze yetiştirilen önemli bölgelerinde bulunan kök-ur nematodları (*Meloidogyne* spp.)'nın tanımları ve ekonomik önemleri üzerinde araştırmalar. Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi - Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.

Katı, T. 2006. Samsun ili bafra ve çarşamba ilçeleri seralarındaki kök-ur nematodları (Nematoda: Meloidogynidae: *Meloidogyne* spp.) tür ve ırklarının tespiti ile yayılış ve bulaşıklık oranları üzerinde araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen bilimleri enstitüsü, Samsun.

Kayani, M.Z., Mukhtar, T., Hussain, M.A., Ul-Haque, M.I. 2013. Infestation assessment of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) associated with cucumber in the Pothowar region of Pakistan. *Crop Protection* 47: 49-54.

Karssen, G., Moens, M. 2006. Root-knot nematodes: Plant nematology, Ed: Perry, R. N., Moens, M., Wallingford, UK, CABI Publishing, pp: 59-90.

Kepenekçi, İ., Öztürk, G. 2000. Türkiye nernatod faunası için *Pratylenchoides* Winslow, 1958 (Nernatoda: Pratylenchidae) cinsine bağlı iki yeni tür. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 24: 125-132.

Kepenekci, İ. 2001. Plant parasitic nematodes of Tylenchida (Nematoda) associated with walnuts (*Juglans regia* L.) and chestnuts (*Castanea sativa* Miller) orchards in the Black Sea Region. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 7:101-105.

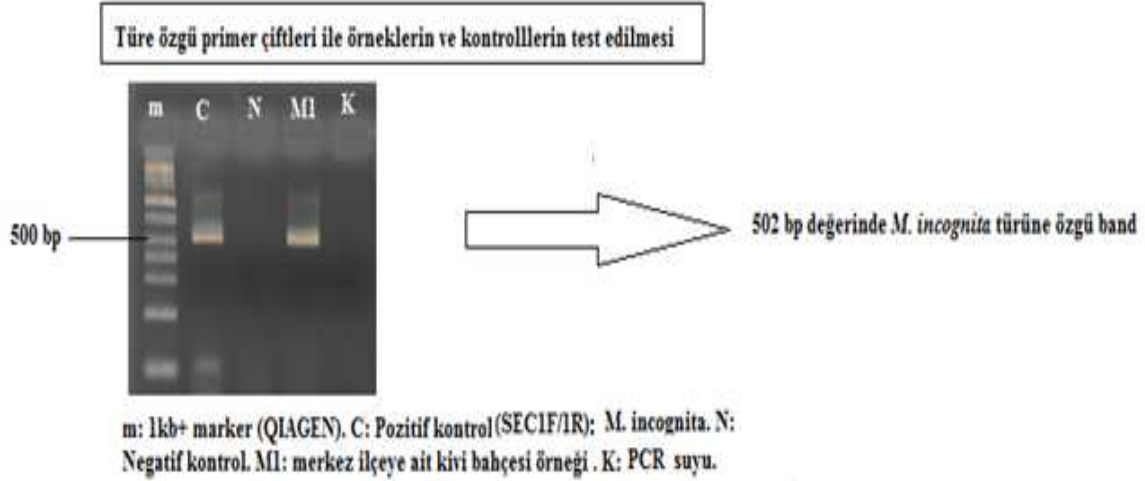
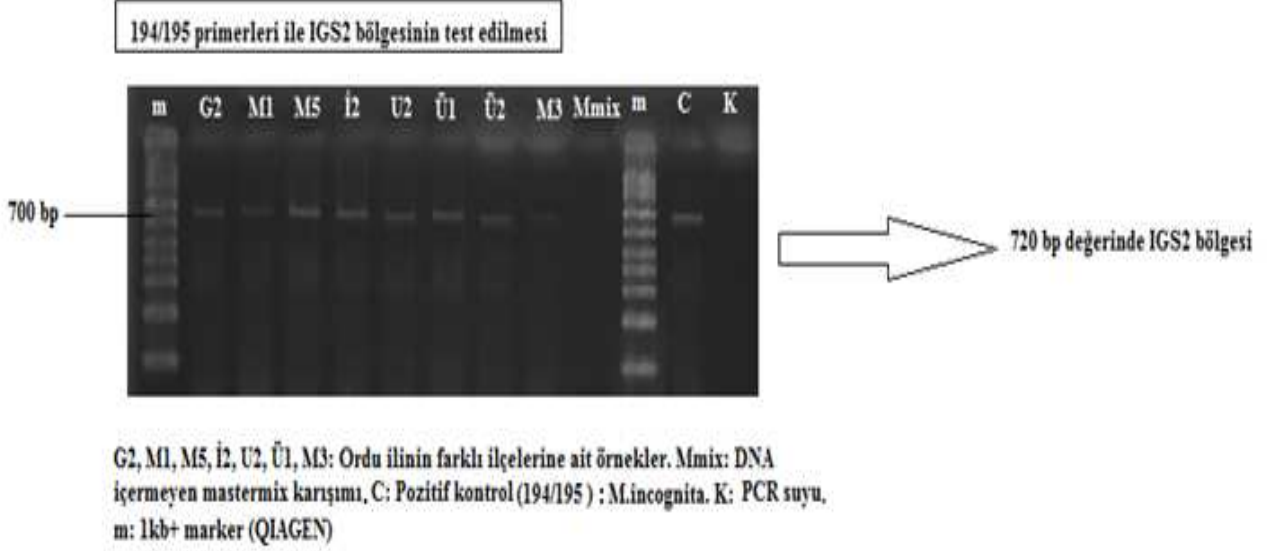
- Khan, H., Ahmad, R. 2000. Geographical distribution and frequency of occurrence of Root-Knot Nematodes in Punjab–Pakistan. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2: 354-355.
- Knight, K.W.L. 2001. Plant parasitic nematodes associated with six subtropical crops in New Zealand. *New Zealand, Journal of Crop and Horticultural Science*, 29: 267-275.
- Kumar A., Jain, R.K. 2007. Nematode problems in vegetable crops: Eco-friendly management of phytonematodes, Ed: Rajvasnshi, I. ve Sharma, G.L., Oxford Book Company, India, pp:27-46.
- Ma, K.C., Jo, Y.S., Kim, B.H., Lim, D.G. 2007. Seasonal occurrence and aspects of root-knot nematodes in major kiwifruit cultivation areas of Korea. 753: VI International Symposium on Kiwifruit, Rotorua (New Zealand). *Acta Horticulturae (ISHS)* 753: 719-724.
- Mansilla, J.P., Vázquez, R.A., Abelleira, A., Salinero, M.C. 1988. Problemática fitosanitaria de la *Actinidia* en Galicia. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 14: 279-293.
- Mckenna, C.E., Dobson, S.J., Phare, J.M. 2009. The insect pest complex of *Actinidia arguta* kiwifruit, New Zealand, *Plant Protection* 62: 262-267.
- McSorley, R. 1998. Population dynamics. American society of agronomy, crop science society of America, soil science society of America, 677 S. Segoe Rd., Madison, WI 53711, USA. *Plant and nematode interactions*, agronomy monograph no. 36.
- Mertens, M.C.A., Stirling, G. R. 1993. Parasitism of *Meloidogyne* spp. on grape and kiwifruit by the fungal egg parasites *Paecilomyces lilacinus* and *Verticillium chlamyosporium*. *Nematologica*, 39: 400-410.
- Moens, M., Perry, R.N., Starr, J.L. 2009. *Meloidogyne* species – a diverse group of novel and important plant parasites: Root Knot Nematodes, Ed: Perry, R.N., Moens, M., Starr, J. L., MPG Books Group, UK, pp: 1-17.
- Nicotra, A., Simeone, A.M., Di Vito, M. 2003. Research on kiwifruit source of genetic resistance to root-knot and lesion nematodes. V International Symposium on Kiwifruit, Wuhan (China). *Acta Horticulturae. (ISHS)* 610: 449-453.
- Netscher, C., Sikora, R.A. 1990. Nematode parasites on vegetables: Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, 2nd Edition, Ed: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J., CABI Publishing, UK, pp: 231-283.
- Oliveira, C.M.G., Monteiro, A.R., Blok, V.C. 2011. Morphological and molecular diagnostics for plant-parasitic nematodes: working together to get the identification done. *Tropical Plant Pathology*, 36: 065-073.

- Örümlü, A.E. 2003. Bademli (Ödemiş-İZMİR) beldesi meyve fidanlıklarındaki nematolojik sorunlar üzerinde araştırmalar. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, İzmir.
- Özarslandan, A. 2009. Türkiye'nin farklı bölgelerinden alınan kök-ur nematodu türlerinin (*Meloidogyne* spp.) tanısı ve bazı kök-ur nematodu populasyonlarının virülemlüğünün belirlenmesi. Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Pinochet, J., Verdejo, S., Soler, A. 1990. Observations on the seasonal fluctuation of *Meloidogyne hapla* on kiwi (*Actinidia deliosa*) in Spain. *Nematropica*, 20: 31-37.
- Philis, J. 1995. An up-dated list of plant parasitic nematodes from cyprus and their economic importance. *Nematologia Mediterranea*, 23: 307-314.
- Ploetz, R.C. 2011. Tropical fruit crops and the diseases that affect their production. tropical biology and conservation management, Vol:III. (<http://www.eolss.net/ebooks/Sample%20Chapters/C20/E6-142-TA-05.pdf> (Erişim tarihi: 25.01.2012)).
- Rocuzzo, G., Ciancio, A., Bonsignore, R. 1993. Population density and soil antagonists of *Meloidogyne hapla* infecting kiwi in southern Italy. *Fundamental & Applied Nematology*, 16: 151-154.
- Siddiqi, M. R. 2000. Tylenchida, parasites of plants and insects. St. Albans, England, 100-101, 369-374.
- Steven, D., Valenzuela, L., Gonzalez, R.H. 1997. Kiwifruit pests in Chile. III International Symposium on kiwifruit, Thessaloniki (Greece). *Acta Horticulturae*, (ISHS) 444: 773-778.
- Taylor, D.P., Netscher, C. 1974. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. *Nematologica*, 20: 268-269.
- Taylor, A.L. Sasser, J.N., Nelson, L.A. 1982. Relationship of climate and soil characteristics to geographical distribution of *Meloidogyne* species in agricultural soils. International Meloidogyne Project. Cooperative Publication of The Department of Plant Pathology, North Carolina State University and the United States Agency For International Development. Designed and Printed by North Carolina State University Graphics Raleigh, North Carolina 27650 United States of America, pp:65.
- Tesarova, B., Zouhar, M., Rysanek, P. 2003. Development of PCR for specific determination of root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Plant Protection Science*, 39: 23-28.
- Trudgill, D.L. 1997. Parthenogenetic root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.); how can these biotrophic endoparasites have such an enormous host range. *Plant Pathology*, 46: 26-32.

- Tomkins, A.R. 1996. Pest control on kiwifruit with an insecticidal soap. New Zealand Plant Protection Society, Proc. 49th N.Z. Plant Protection Conference, Nelson, New Zealand, 49: 6-11.
- Watson, R.N., Wilson, E.A., Masden, R.S. 1991. Distribution of plant-parasitic nematodes in rhizosphere of kiwifruit. II International Symposium on Kiwifruit, New Zealand. Acta Horticulturae, (ISHS) 297:537-544.
- Wishart, J., Phillips, M.S., Blok, V.C., 2002. Ribosomal intergenic spacer: A polymerase chain reaction diagnostic for *Meloidogyne chitwoodi*, *M. fallax*, and *M. hapla*. Phytopathology, 92: 884-892.
- Verdejo, S., Calvet, C., Pinochet, J. 1990. Efecto de la Micorrización en Kiwi infestado por los Nematodos *Meloidogyne hapla* y *M. javanica*. Boletín de Sanidad Vegetal Plagas, 16: 619-624.
- Yüksel, H. 1974. Kök-ur nematodlarının (*Meloidogyne* spp) Türkiye'deki durumu ve bunların populasyon problemleri üzerinde düşünceler. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 5: 83-105.
- ZhengWang, J., HongWen, H., CaiHong, Z., ZhongHui, Z.; ShengMei, W. 2009. The development of the chinese kiwifruit industry. IX Convegno Nazionale dell'Actinidia, Viterbo-Latina, Italia, 6-8 Ottobre 2009. Italus Hortus, 16: 245-251.
- Zijlstra, C., Donkers-venne, D.T.H.M., Fargette, M. 2000. Identification of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M.arenaria* using sequence characterised amplified region (SCAR) based PCR assays. Nematology, 2: 847-853.

EK LİSTESİ

EK-1. Örneklerin test çalışmalarına dair sonuçlar



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Anıl Fırat FELEK
Doğum Yeri : GÖLBAŞI
Doğum Tarihi : 1986
Yabancı Dili : İngilizce
E-mail : anilfelek@hotmail.com
İletişim Bilgileri : Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi/Bitki Koruma Bölümü

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/ Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Ziraat Mühendisliği/Bitki Koruma	Ege Üniversitesi	2009
Y. Lisans	Bitki Koruma	Ordu Üniversitesi	2012
Y. Lisans	Bitki Koruma Bölümü- Araştırma Görevlisi	Ordu Üniversitesi	00.02.2012- 00.02.2013