

Bafra ve Çarşamba Ovaları'ndan elde edilen bazı *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) (Nemata: Heteroderidae) populasyonlarında ırk tespiti

Sevilhan MENNAN*

Osman ECEVİT*

Summary

Race determination on some populations of *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) (Nemata: Heteroderidae) obtained from Bafra and Çarşamba plains (Turkey)

It was determined that, the most common root-knot nematode species is *Meloidogyne incognita* in vegetables growing areas in Bafra and Çarşamba plains. In order to start to determine the races in these regions, samples of 3 populations were tested by North Carolina Differential Host Test. As a result, it was found that root-knot nematode of these populations are belonged to *M. incognita* Race 2.

Key words: *Meloidogyne incognita*, race, Turkey

Anahtar sözcükler: *Meloidogyne incognita*, ırk, Türkiye

Giriş

Meloidogyne Goeldi, 1892 (Nemata: Heteroderidae) (Kökurnematodları) türleri, geniş konukçu dizisine sahip, yüksek oranda ürün kaybına sebep olan, endoparazit türlerdir. Dünyanın tamamında dağılım gösteren bu türlerin tropik bölgelerde patlıcanda % 17-20, kavunda %18-33 ve domateste % 24-28 ürün kaybına sebep oldukları Sasser (1979) tarafından belirtilmiştir.

Türkiye'de Ege, Marmara ve Orta Karadeniz Bölgeleri'nin Kökurnematodları ile bulaşık olduğu Diker (1959) tarafından bildirilmiş olup, tür ayırımı yapılmaksızın bulaşık alanlar listelenmiştir.

* O.M.Ü. Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Samsun

e-mail: smennan@omu.edu.tr

Alınış (Received): 14. 02. 2000

Daha sonraki çalışmalarda ise Iğdır Ovası'nda *Meloidogyne hapla* Chitwood 1949 ve *M. incognita* (Kofoid & White, 1919), Doğu Karadeniz Bölgesi'nde *M. incognita*, Doğu Akdeniz Bölgesi sebze ve muz alanlarında *M. incognita*, *M. javanica* Chitwood, 1949 ve *M. arenaria* (Neal, 1889)'nın tespit edildiği bildirilmektedir (Yüksel, 1966; 1967; Elekçioğlu & Uygun, 1994). Karadeniz Bölgesi'nde yapılan çalışmalarda Bafra Ovası'nın Kökurnematodları ile % 22.2 ve Çarşamba Ovası'nın % 27.2 oranlarında bulaşık olduğu saptanmıştır. Her iki ovada da en yaygın türün % 65 oranı ile *M. incognita* olduğu belirlenmiştir (Mennan & Ecevit, 1996). Söğüt & Elekçioğlu (2000) tarafından Akdeniz Bölgesi sebze alanlarında bulunan *Meloidogyne* türlerinin ırkları belirlenmiş olup, ırklar üzerinde yapılmış başka çalışma mevcut değildir. Oysaki, *M. incognita*'nın farklı konukçularda beslenmesi ile karakterize edilen 4 farklı ırkı mevcuttur. Kökurnematodları ile mücadelede birinci sırada önerilen yöntem, kültürel önlemler arasındaki münavebe uygulamaları ve dayanıklı çeşitlerin kullanılmasıdır. Uygun münavebe önerileri ise, ancak mevcut tür ve ırkların bilinmesi ile mümkündür. Tür ve ırklar bilinmediği takdirde yapılan münavebenin, nematod popülasyonunu arttırabileceği unutulmamalıdır (Hartman & Sasser, 1985). Bu nedenle özellikle münavebe programlarının hazırlanabilmesi için, mevcut ırk veya ırkların neler olduğunun bilinmesi gereklidir. Dünyadaki Kökurnematodları üzerinde yapılan çalışmaların tamamında da, tür ve ırkları mutlaka belirtilmektedir. Örneğin, biyolojik mücadele üzerindeki çalışmasında Siddiqi & Mahmood (1993), *Paecilomyces lilacinus* adlı fungusun, *M. incognita* Irk 3'e karşı en iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Özellikle dayanıklılık çalışmalarında bu konu daha da önemlidir.

Kökurnematodlarının en yaygın 4 türü ve ırklarının teşhisi, konukçu reaksiyonu ile mümkündür. Bu testte pamuk (Delta Pine 16), tütün (NC 95), biber (California Wonder), kavun (Charleston Gray), fıstık (Florunner) ve domates (Rutgers) çeşitleri kullanılmaktadır. Testteki her bitkinin çeşidi belirtilerek, doğabilecek karışıklıklar önlenmeye çalışılmıştır. Bu konukçulardaki dayanıklılık ve hassasiyete göre *M. incognita* popülasyonları 4 farklı ırka ayrılmıştır. Bu test "Kuzey Karolina Konukçu Testi" olarak bilinir (Hartman & Sasser, 1985). Günümüze dek Kökurnematodlarının ırk ayrımı, genetik veya biyokimyasal yollar ile gerçekleştirilememiştir. *M. incognita*'nın ırklarının birbirinden ayrılması, morfolojik ve sitolojik karakterlerle de mümkün olmadığından, geriye kalan tek yol konukçu testidir. Araştırmada, Bafra ve Çarşamba Ovaları domates üretim alanlarından 1998 yılında elde edilen 3 farklı popülasyona bu test uygulanmıştır. Böylece, entansif tarım yapılan bu iki ovada, daha sonra yapılacak çalışmalara temel teşkil edecek şekilde bir başlangıç niteliğinde 3 *M. incognita* popülasyonunun ırkının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırmanın ana materyali Bafra ve Çarşamba Ovaları yazlık sebze ekim alanlarındaki *M. incognita* popülasyonuna ait örneklerdir. Çalışma 1998 ve 1999 yıllarında gerçekleştirilmiştir. Kullanılan metot ise aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir.

İnokulum sağlanması ve teşhisi

Kökürnematodları ile çok bulaşık olduğu bilinen Bafra Ovası'nda 1 ve Çarşamba Ovası'nda 2 domates ekim alanından, bol miktarda urlu kök laboratuvara getirilmiştir. Bu kökler, Franklin & Goodey (1949)'in bildirdiği şekilde asit fuksin ile boyandıktan sonra, dişi bireyler binoküler stereo mikroskop altında ok uçlu iğne yardımı ile çıkarılmıştır. Dişi bireyler preparat yapılıncaya kadar TAF fiksatifinde bekletilmiştir. Bunların genital preparatları Taylor & Netscher (1974)'e göre hazırlanmış ve tür teşhislerinin yapılmasında Eisenback et al. (1981)'dan yararlanılmıştır.

Saf kültür oluşturulması

Yapılan teşhisler sonucunda *M. incognita* ile bulaşık topraklar ve kökler, inokulum olarak seçilmiştir. Bulaşık topraklara hassas Rutgers domates çeşidi fideleri dikilmiş ve topraktaki nematod yoğunluğunu arttırmak amacıyla, bu bölgeden sökülen bulaşık kökler, 2-3 cm'lik parçalar halinde kesilip, blenderden geçirildikten sonra elde edilen solüsyon, dikilen fidelerin kökleri çevresine dökülmüştür.

İndikatör bitki tohumlarının ekimi

M. incognita'nın 4 ırkını ayırt etmede kullanılacak pamuk çeşidi Delta Pine 16, tütün çeşidi NC 95 ve kontrol olarak hassas Rutgers domates çeşitlerinin tohumları, saksılardaki sterilize edilmiş topraklara ekilmiştir (Sasser & Triantaphyllou 1977; Taylor & Sasser, 1978).

İnokulumun arttırılması ve inokulum konsantrasyonunun ayarlanması

İnokulum miktarının arttırılması ve inokulum konsantrasyonunun ayarlanmasında Hussey & Barker (1973) tarafından bildirilen yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla bulaşık topraklara ekilen hassas domatesler 60 gün sonra sökülmüştür. Bu bitkilerin kökleri yıkanmış ve 2-3 cm parçalar halinde kesilmiştir. Kesilen kök parçaları % 0,5'lik NaOCl'den 200 ml solüsyon ile doldurulan kapalı bir kap içine konmuş ve 3 dakika süre ile kuvvetlice çalkalanmıştır. Bu çalkalama ile, jelatin yapısındaki matriks çözülmüş, böylece yumurta kümesi içindeki yumurtalar serbest kalmıştır. Bu solüsyon üst üste konmuş 200 ve 500 Meshlik eleklerden geçirilerek, yumurtalar 500 Meshlik elek üzerinde tutulmuştur. Elekler NaOCl'den arındırılmak için yavaş akan musluk suyunda yıkanmıştır. Üzerinde yumurtaların tutulduğu elek, ayrıca 100 ml su ile tersten yıkanmış ve bu su, mezür içine alınmıştır. Sulandırma serileri hazırlanarak, yapılan sayımlar ile, 1 ml'deki yumurta sayısı bulunmuştur. Sulandırma serilerinde sayım 2 kez tekrarlanarak, 2 sayımın ortalaması alınmıştır. Böylelikle hazırlanan stok solüsyon, bulaştırmalarda kullanılmıştır.

İndikatör bitkilerin bulaştırılması ve değerlendirilmesi

Pamuk, tütün ve domates bitkileri 2-4 yapraklı hale geldiklerinde, bitki başına 5000 tane *M. incognita* yumurtası gelecek şekilde bulaştırma yapılmıştır. Deneme 15 tekerrürlü olarak yürütülmüş ve sonuçlar ortalama olarak verilmiştir. Her bitkiden, bulaştırma yapılmayan 15 tanesi kontrol olarak ayrılmıştır.

Bulaştırma işleminden 60 gün sonra bitki kökleri zedelenmeden topraktan sökülüp iyice yıkanmıştır. Kökler, Daykin & Hussey (1985)'in bildirdiği şekilde Phloxin B (15 mg /1 lt) solüsyonu içinde 20 dakika bekletilmiştir. Böylece her bitki kökünde belirgin hale gelen yumurta kümeleri sayılmış ve Cetvel 1'de verilen skalaya göre değerlendirilmiştir.

Bu değerlendirmenin ışığı altında eldeki populasyonların ırkları, Kuzey Karolina Konukçu Testine göre tespit edilmiştir (Cetvel 2) (Hartman & Sasser, 1985).

Cetvel 1. Yumurta kümesi - reaksiyon skalası (Triantaphyllou, 1981; Sasser et al., 1984)

Kökteki yumurta kümesi sayısı	Skala değeri	Sonuç
Yumurta kümesi yok	0	Dayanıklı
1-2	1	Dayanıklı
3-10	2	Dayanıklı
11-30	3	Hassas
31-100	4	Hassas
101-Üstü	5	Hassas

Cetvel 2. Kuzey Karolina konukçu testi (Hartman & Sasser, 1985)

<i>Meloidogyne</i> tür ve ırkları	Test bitkileri					
	Pamuk	Tütün	Biber	Fıstık	Kavun	Domates
<i>M. incognita</i>						
İrk 1	-	-	+	-	+	+
İrk 2	-	+	+	-	+	+
İrk 3	+	-	+	-	+	+
İrk 4	+	+	+	-	+	+
<i>M. arenaria</i>						
İrk 1	-	+	+	+	+	+
İrk 2	-	+	-	-	+	+
<i>M. javanica</i>	+	+	-	-	+	+
<i>M. hapla</i>	-	+	+	+	-	+

+ : Dayanıklı - : Hassas

Sonuçlar ve Tartışma

Kuzey Karolina Konukçu Testi olarak adlandırılan standart yöntemde ırklar tespit edilirken, bitkilerin göstermiş oldukları reaksiyon esas alınır. Bu test ile *Meloidogyne* cinsinin en yaygın olarak bulunan 4 türü ve *M. incognita*'nın 4 farklı ırkı, *M. arenaria*'nın ise 2 farklı ırkı kolaylıkla birbirinden ayırt edilebilmektedir. *M. incognita*'nın 4 ırkını birden ayırt ederken Cetvel 2'de görüldüğü gibi, pamuk ve tütün bitkilerinin kullanılması yeterlidir. Bu nedenle araştırmada, bu iki bitki ile bütün Kökürnematodu tür ve ırklarına hassas olan domates bitkileri kullanılmıştır.

Bu çalışmada, Bafra ve Çarşamba ovalarından alınan her 3 populasyon da aynı reaksiyonlara sebep olduğundan, sonuçlar ortalama olarak toplu halde verilmiştir (Cetvel 3). Ovalardan alınan populasyon örneklerinin domates, pamuk ve tütün bitkilerinde sebep olduğu reaksiyonlar, her bitki için 15 tekerrürün ortalaması alınarak elde edilmiştir.

Cetvel 3. Domates, pamuk ve tütün bitkilerinin *Meloidogyne incognita*'ya gösterdikleri reaksiyonlar

Test bitkileri	Yumurta kümesi/kök		Yum. kümesi-reaksiyon skalası		Konukçu testi	Açıklama
	Bulaşık	Kontrol	Bulaşık	Kontrol		
	Domates (Rutgers)	48.60	---	3.93		
Pamuk (Delta Pine 16)	0	---	0	0	-	Dayanıklı
Tütün (NC 95)	25.66	---	3.33	0	+	Hassas

Teste tabi tutulan domatesin Rutgers çeşidi, Kökurnematodunun tüm ırklarından etkilenen son derece hassas bir bitkidir. Bu bitkide, 1 kökteki yumurta kümesi sayısı ortalama 48.6 ve skala değeri ortalaması 3.93 olarak tespit edilmiştir. Bu değer, *M. incognita*'nın kullanılan domates çeşidinde rahatlıkla beslenip üreyebildiğini göstermektedir. Böylece domates, skala değeri de son derece yüksek olduğundan konukçu testi içinde (+) işareti ile ifade edilmiştir. Pamuk bitkisinde ise tekerrürlerin tümünde, köklerde yumurta kümesine rastlanmamıştır. Başka bir ifadeyle, *M. incognita* kullanılan pamuk çeşidinde beslenememiş ve üreyememiştir. Böylece pamuğun skala değeri (0) olmuş ve konukçu testinde (-) işareti ile ifade edilmiştir. Tütün bitkisinde ise 1 kökte bulunan yumurta kümesi ortalama sayısı 25.66 ve skala değeri ortalaması 3.33 olarak tespit edilmiştir. Böylece denemede kullanılan tütün çeşidi *M. incognita*'ya karşı hassas olarak nitelendirilmiş ve skala değerleri ortalaması da 3.33 olduğundan, konukçu testinde (+) işareti ile ifade edilmiştir. Denemede kullanılan 3 farklı bitki çeşidinin reaksiyonları toplu halde incelendiğinde, pamuk bitkisinin dayanıklı; ancak domates ve tütün bitkilerinin denenen Kökurnematodu populasyonlarına karşı hassas oldukları görülecektir (Cetvel 3). Bu sonuçlar, teste tabi tutulan populasyonların *M. incognita* Irk 2 olduğunu ortaya koymaktadır. Örneklerin *M. incognita* olduklarından emin olmak amacıyla, urlu köklerden dişi bireyler çıkarılarak, genital bölgelerinin preparatları da yapılmış ve teşhis doğrulanmıştır.

Dünyanın bir çok bölgelerindeki tarım alanlarında yapılan çalışmalarda da, *M. incognita* Irk 1, 2, 3 ve 4'ün dağılımının sırasıyla %71, %12, %15 ve % 2' olduğu bulunmuştur (Triantaphyllou, 1979; 1981). Uzun yıllar sürdürülen Uluslararası *Meloidogyne* Projesi (I. M. P.) içinde incelenen 1000 kadar populasyondan, 523'ünün *M. incognita*, bunlar içinden de 62'sinin Irk 2 olduğu belirlenmiştir (Sasser & Carter, 1982). Bu projede ayrıca, ırkların tespitinin gerekliliği üzerinde durulmuştur. Türkiye'de de Akdeniz Bölgesi sebze alanlarında incelemeye alınan 16 *M. incognita* populasyonundan % 69'unun Irk 2 ve % 25'inin ise Irk 4 olduğu tespit edilmiştir (Söğüt & Elekçioğlu, 2000).

Bu araştırma, Bafra ve Çarşamba Ovalarında en yaygın Kökurnematodu türü olan **M. incognita**'nın 3 adet popülasyonu üzerinde yürütülmüş olup, bir başlangıç çalışması niteliğindedir. Denemeye alınan 3 popülasyonun da **M. incognita** Irk 2 oldukları saptanmıştır. Bu çalışmayı takiben fazla sayıda örnek alınarak, ovadaki değişik ırklara sahip olan **M. javanica** türü de çalışmaya eklenerek, her iki ovadaki Kökurnematodu ırklarının saptanması gereklidir. Bu nedenlerle araştırma, sonraki çalışmalara yol gösterecek ilk adım özelliğinde olup, aynı doğrultuda devam edilmesinde yarar görülmektedir.

Teşekkür

Irk denemesinin yapılabilmesi için gerekli olan standart tütün (NC 95) tohumlarını kısa bir süre içinde gönderen Prof. Barker (North Carolina University, Plant Pathology Department, USA)'a ve Delta Pine 16 Pamuk tohumlarını gönderen Delta & Pine Land Company (Mississippi, USA) yetkililerine içtenlikle teşekkür ederiz.

Özet

Bafra ve Çarşamba ovaları, sebze alanlarında en yaygın Kökurnematodu türü olan **Meloidogyne incognita**'nın 3 adet popülasyonuna, yörede mevcut ırk veya ırkların saptanmasına bir başlangıç olarak standart "Kuzey Karolina Konukçu Testi" uygulanmıştır. Araştırmanın sonucunda, ovalardan elde edilen her 3 popülasyonun da **M. incognita** Irk 2 olduğu tespit edilmiştir.

Literatür

- Daykin, M.E. & R.S. Hussey, 1985. Staining and Histopathological Techniques in Nematology. "39-49". An Advanced Treatise on **Meloidogyne**, vol II, Methodology, Eds.: K.R. Barker, C.C. Carter & J.N. Sasser. North Carolina State Uni. Graphics, 223 pp.
- Diker, T., 1959. Nebat Parazit Nematodları. Türkiye Şeker Fabrikaları A. Ş. Neşriyatı, No:70, 102 s.
- Eisenback, J.D., H. Hirschmann, J.N. Sasser & A.C. Triantaphyllou, 1981. A guide to the four most common species of root-knot nematodes (**Meloidogyne** spp.) with a pictorial key. Coop. Publ. of the Dep. of Plant Pathology and Genetics, North Carolina State University & The United State Agency For International Development, Raleigh, North Carolina. 111 pp.
- Elekçioğlu, İ.H. & N. Uygun, 1994. Occurrence and distribution of plant parasitic nematodes in cash crops in eastern Mediterranean Region of Türkiye. Proc. of 9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, Kuşadası, Aydın, Türkiye: 409-410.
- Franklin, M.T. & J.B. Goodey, 1949. A cotton blue lactophenol technique for mounting plant parasitic nematodes. **J. Helmit.**, **23**: 175-178.
- Hartman, K.M. & J.N. Sasser, 1985. Identification of **Meloidogyne** species on the basis of differential host test and perineal pattern morphology, "69-79". An Advanced Treatise on **Meloidogyne**, vol II, Methodology, Eds.: K.R. Barker, C.C. Carter & J.N. Sasser. North Carolina State Uni. Graphics, 223 pp.
- Hussey, R.S. & K.R. Barker, 1973. A comparison of methods of collecting inocula of **Meloidogyne** spp. including a new technique. **Plant Dis Rep.**, **57**: 1925-1928.

- Mennan, S. & O. Ecevit, 1996. Bafra ve Çarşamba Ovaları yazlık sebze üretim alanlarındaki kökürnematomları (*Meloidogyne* spp.)'nın biyolojisi, yayılışı ve bulaşıklılık oranları üzerinde araştırmalar. Türkiye III. Entomoloji Kongresi (24-28 Eylül, 1996, Ankara) Bildirileri, 700-709.
- Sasser, J.N. & A.C. Triantaphyllou, 1977. Identification of *Meloidogyne* species & races. **J. Nematol.**, **9**: 283.
- Sasser, J.N., 1979. Economic importance of *Meloidogyne* in tropical countries. In: Root-Knot nematodes (*Meloidogyne* species) systematics, biology and control, Eds.: Lamberti, F. & C.E. Taylor. London, Newyork, Academic Press. 477 pp.
- Sasser, J.N. & C.C. Carter, 1982. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.): Identification, morphological and physiological variation, host range, ecology and control. 21-32.
- Sasser, J.N., C.C. Carter & K.M. Hartman, 1984. Standardization of Host Suitability Studies and Reporting of Resistance to Root-Knot nematodes. A Coop. Publ. of the Dep. of Plant Pathology & the U.S. Agency for Int. Development North Carolina State Uni. Raleigh. 7 pp.
- Siddiqi, Z.A. & I. Mahmood, 1993. Integrated control of root-rot disease complex of chickpea by fungal filtrates and green manuring. **Nematologia Mediterranea**, **21** (2): 161-164.
- Söğüt, M.A. & İ.H. Elekçioğlu, 2000. Akdeniz Bölgesi'nde sebze alanlarında bulunan *Meloidogyne* Goeldi, 1892 (Nemata: Heteroderidae) türlerinin ırklarının belirlenmesi, **Türk. entomol. derg.**, **24** (1): 33-40.
- Taylor, D.P. & C. Netscher, 1974. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. **Nematologica**, **20**: 268-269.
- Taylor, D.P. & J.N. Sasser, 1978. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). Coop. Publ. of the Dep. Plant Pathology, North Carolina State University & U.S. Agency Int. Dev., Raleigh, N.C., 111 pp.
- Triantaphyllou, A.C., 1979. "Cytogenetics of Root-Knot nematodes, 85-109", Root-Knot Nematodes: systematics, biology and control, Eds.: F. Lamberti & C.E. Taylor. Academic Press, NewYork. 477 pp.
- Triantaphyllou, A. C., 1981. Oogenesis and chromosomes of parthenogenetik root-knot nematodes *Meloidogyne incognita*. **J. Nematol.**, **13**: 95-104.
- Yüksel, H., 1966. Doğu Karadeniz Kıyı Bölgesinde Bulunan *Meloidogyne incognita*, *Heterodera cruciferae* ve *Tylenchulus semipenetrans*'in Bazı Önemli Devreleri Üzerinde Morfolojik Çalışmalar. Atatürk Ün. Ziraat Fak., Zirai Araş. Enstitüsü, Araştırma Bülteni, No. 15, 21 s.
- Yüksel, H., 1967. İğdır Ovasında İlk Defa Bulunan *Meloidogyne hapla* ve Bunun *Meloidogyne incognita*'nın Kanatlı Varyasyonundan Ayırt Edici Özellikleri. Atatürk Ün. Ziraat Fak., Zirai Araş. Enstitüsü, Araştırma Bülteni, No.17, 20 s.