

Orijinal araştırma (Original article)

**Güneydoğu Anadolu Bölgesi tahıl alanlarında Tahıl kist nematodu,
Heterodera avenae group türlerinin belirlenmesi¹**

Determination of the cereal cyst nematode species, *Heterodera avenae* group in cereal fields of South East Anatolia

Mustafa İMREN^{2*} Halil TOKTAY² Adem ÖZARSLANDAN²
Julie M. NICOL³ İ. Halil ELEKÇİOĞLU⁴

Summary

The *Heterodere avenae* group includes 12 species that affect roots of cereals and three species [*H. avenae* (Wollenweber, 1924), *H. filipjevi* [(Madzhidov, 1981) Stelter 1984)], *H. latipons* (Franklin 1969)] are among the most economically important cyst nematodes pest to cultivated cereals in different part of Turkey. In this study, morphological and molecular characterization of 14 cereal cyst populations collected in cereal fields of Southeast Anatolia (Gaziantep, Hatay, Kahramanmaraş, Kilis and Mardin) of Turkey were identified. Morphological characters and morphometric measurements of the cysts and second stage juveniles of the isolated populations were studied. Molecular characterization of cereal cyst nematode species showed distinct restriction fragment patterns of the ITS-rDNA following PCR amplification and RFLP digestion with two endonucleases (*Alu I*, *Pst I*). Our results revealed that Hatay populations were identified as *H. avenae* type A, Gaziantep and Kilis populations as *H. latipons*, Kahramanmaraş populations as *H. filipjevi* and Mardin populations as *H. avenae* type A, *H. avenae* type B and *H. latipons*.

Key words: Wheat, *Heterodera avenae*, *H. latipons*, *H. filipjevi*

Özet

Bağday köklerinde kist oluşturarak zarar veren Tahıl kist nematodu grubunun (*Heterodera avenae* group) dünya genelinde 12 farklı türü bilinmekte olup, bunlardan ekonomik olarak önemli üç tür, *H. avenae* (Wollenweber, 1924), *H. filipjevi* [(Madzhidov, 1981) Stelter 1984)] ve *H. latipons* (Franklin, 1969) Türkiye'de tahıl alanlarında bulunmaktadır. Bu çalışmada, Güneydoğu Anadolu Bölgesi (Gaziantep, Hatay, Kahramanmaraş, Kilis ve Mardin) buğday alanlarından alınan 14 farklı Tahıl kist nematodu popülasyonu morfolojik ve moleküller olarak tanımlanmıştır. Klasik yöntemlerle nematodon tanımlanmasında dişi (kist) ve ikinci dönem larvalarının daimi preoperatları hazırlanıp morfometrik ve allometrik ölçümleri yapılmıştır. Moleküller olarak nematodon tanımlanmasında PCR-RFLP teknigi kullanılmıştır. DNA izolasyonu yapılmış, AB 28 ve TW 81 primerleri kullanılarak rDNA'nın ITS bölgesi PCR ile çoğaltılmış ve PCR ürünü endonükleaz enzimlerle (*Alu I*, *Pst I*) kesilerek farklı büyüklükte bantlar elde edilmiştir. Çalışma sonucunda Hatay popülasyonunun *H. avenae* type A, Gaziantep ve Kilis popülasyonları *H. latipons*, Mardin popülasyonu *H. avenae* type A, *H. avenae* type B, *H. latipons* ve Kahramanmaraş popülasyonu ise *H. filipjevi* olarak tanımlanmıştır.

Anahtar sözcükler: Bağday, *Heterodera avenae*, *H. latipons*, *H. filipjevi*

¹ Bu çalışma, 28–30 Haziran 2011 tarihinde Kahramanmaraş'ta düzenlenen "Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresinde sözlü olarak sunulmuş ve "Özet" olarak basılmıştır

² Biyolojik Mücadele Araştırma İstasyon Müdürlüğü P.K. 01321, Yüreğir, Adana

³ CIMMYT (International Maize and Wheat Improvement Centre) P.K.39 06511, Emek, Ankara, Türkiye

⁴ Ç.Ü. Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 01330, Adana

* Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: m.imren37@gmail.com

Alınış (Received): 25.08.2011 Kabul edilis (Accepted): 07.10.2011

Giriş

Tahıllarda birçok hastalık ve zararlı etmen verimde farklı oranlarda kayıplara neden olmaktadır. Zararlılar içerisinde bitki paraziti nematodlar önemli bir yer teşkil etmektedir (Brown et al., 1970; Nicol et al., 2002). Bitki paraziti nematodlar dünya genelinde tahıl üretim alanlarında her yıl ortalama %7-10 oranında verim kaybına neden olmakla birlikte (Sasser, 1987; Whitehead, 1998) zararının popülasyon yoğunluğuna, abiyotik etmenlere özellikle de kuraklığa bağlı olarak bu verim kaybının % 35-40' a kadar ulaşabildiği bildirilmektedir (Williamson & Gleason, 2003). Tahıllarda zararlı bitki paraziti nematodlar; Kök yara nematodları (*Pratylenchus* spp.), Kök ur nematodları (*Meloidogyne* spp.), Soğan sak nematodu (*Ditylencus dipsaci*), Tohum gal nematodu (*Anguina tritici*) ve Tahıl kist nematodları (*Heterodera* spp.) olarak bilinmektedir (Nicol, 2002).

Buğdayda zararlı nematodlar içerisinde bitkilerin köklerinde kist oluşturmaları ile tanınan Tahıl kist nematodları, *Heterodera avenae* group buğdayın önemli zararlısı konumundadır. Dünyada *Heterodera avenae* group içinde tanımlanmış 12 tür mevcut olup, bunlar arasında da *H. avenae*, *H. latipons*, *H. filipjevi* ve *H. mani* ana zararlı konumundadırlar (Rivoal & Cook, 1993; Nicol et al., 2002). Bu grubun en yaygın türü olan *H. avenae*'nın iki farklı tipine bağlı olarak (*H. avenae* type A, *H. avenae* type B) farklı bölgelere özelleşmiş 13 farklı patotipinin mevcut olduğu belirtilmektedir (Subbotin et al., 2000; Nicol et al., 2004). Türkiye'de farklı bölgelerde Tahıl kist nematodonun üç önemli türünün (*H. filipjevi*, *H. avenae* ve *H. latipons*) bulunduğu, bunlar arasında en yaygın türün *H. filipjevi* olduğu ve bu türlerin dağılımında bölgeler arası farklılıklar olduğu bildirilmiştir (Yüksel, 1973; Rumpenhorst et al., 1996; Subbotin et al., 2003). Güneydoğu Anadolu Bölgesi buğday alanlarında Tahıl kist nematodlarına yönelik bulgular ise oldukça sınırlı düzeydedir. Bu bölgede Suriye sınırında *H. avenae* ve *H. latipons'* un karışık popülasyon halinde bulunduğu (Abidou et al., 2005; İmren et al., 2009; 2010) dair bilgilerin dışında başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Buğdayın önemli gen merkezlerinden biri olan Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde (Mezopotamya) buğdayda bulunan nematod türlerinin araştırılarak nematod faunasının ortaya çıkarılması ve ekonomik zarar yapan türlerle karşı mücadele yöntemlerinin geliştirmesi açısından çok önemlidir. Mezopotamya olarak bilinen bu alanda buğdayın yabani gen kaynakları ve bitki paraziti nematod türlerinin bir arada bulunması sonucu farklı türler ile patotiplerin ortaya çıkma olasılığının yüksek olabileceği düşünülmektedir. Buğday ıslah programlarında dayanıklılık kaynaklarının belirlenebilmesi için de Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde Tahıl kist nematodu türlerinin kesin tür tanılarının yapılması büyük önem arz etmektedir.

Bu çalışmada Türkiye'nin önemli tahıl alanlarından biri olan Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde Tahıl kist nematoduna ait türlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Çalışmanın yürütüldüğü, Gaziantep, Kilis, Hatay, Kahramanmaraş ve Mardin illeri tahıl ekim alanlarında Tahıl kist nematodonun türlerini belirlemek amacıyla 2009 ve 2010 yıllarında hasattan bir ay önce nematod örneklemesi yapılmıştır. Örneklemelerde her bir örnek için örneklemeye alanının 15-20 farklı noktasından toprak burgusu yardımıyla paçal yapılarak alınan 2 kg toprak incelenmek üzere laboratuvara getirilmiştir (Southey, 1986). Toprak ve kök örneklerinden kistlerin elde edilmesinde Fenwick metodunun (1940) modifiye edilmiş biçimi olan Kort cihazı kullanılmıştır (Kort et al., 1960; Shepherd, 1986). Kistler binoküler mikroskop altında toprak, kök ve gübre parçalarından ayrılarak toplanmış ve +4 °C muhafaza edilmiştir.

Morfolojik tanılama

Tahil kist nematodlarının morfolojik olarak tanılanmasında her bir popülasyona ait ikinci dönem larva ve ölmüş ergin dişi bireylerin (kistlerin) sabit preparatları hazırlanmıştır (Hooper, 1986). İkinci dönem larvalara ait vücut uzunluğu, stylet uzunluğu, kuyruk uzunluğu, hyalin uzunluğu, kuyruk uzunluğu/vücut uzunluğu oranı, hyalin uzunluğu/kuyruk uzunluğu oranı ile kistlere ait fenestral uzunluk, semi fenestral genişlik, vulva köprü genişliği, vulva slit uzunluk ölçümleri mikroskopta yapılmıştır (Sharma, 1998; Siddiqi, 2000; Handoo; 2002).

Moleküler (PCR-RFLP) tanılama

DNA izolasyonu: DNA izolasyonunda Maafi (2003)'nin tek kisten DNA izolasyon protokolü esas alınmıştır. Bu metoda göre içerisinde 25 µl ddH₂O bulunan PCR tüpteki (0.2 ml) her bir kist vibro-mikser yardımıyla yaklaşık 2 dk süreyle ezilerek üzerine 25 µl WLB+ (950µl Worm Lysis Buffer WLB- + 10µl beta-mercaptoethanol + 40µl 20mg/ml ProtK) ilave edilmiştir. Karışım 65°C'de 1,5 saat ardından 99°C'de 5dk thermocycle'de inkübe edilerek -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Nematod DNA'larının PCR ile Amplifikasyonu

Nematod genomundaki rDNA'nın 18S ve 26S'lik iki alt bölgesi ile ITS bölgesi forward (TW81:5'-GTTTCCGTAGGTGAAACCTGC-3') ve reverse primerleri (AB28:5'-ATATGCTTAAGTTCAGCGGGT-3') kullanılarak amplike edilmiştir (Joyce et al., 1994). PCR reaksiyonu bir nematod örneğine ait 5 ng/µl DNA, 2,5 µl PCR tampon çözelti, 2 mM MgCl₂, 200 µM dNTP, her primerden 0,4 µM primer, 1 ünite Taq DNA polimeraz ve ddH₂O ile 25 µl tamamlanarak Çizelge 1'teki PCR döngüsüne tabi tutulmuştur (Subbotin et al., 2003; Tanha et al., 2003).

PCR ürünleri Tahil kist nematodu, *Heterodera avenae* gruba ait nematodların ayrimında kullanılan iki farklı endonükleaz enzimi (*Alu* I, *Pst*I) ile 37°C de 3 saat bekletilerek kesim işlemeye tabi tutulmuştur.

Çizelge 1. Nematod DNA'sının AB28 ve TW81 primerleri ile çoğaltıması işleminde döngü aşamaları

Aşama	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
1 - Başlangıç denaturasyonu	94	4 dakika	1
2 ₁ - Denaturasyon	94	60 saniye	35
2 ₂ - Primer bağlanması	60	90 saniye	35
2 ₃ - Uzama	72	120 saniye	35
3 - Final Uzama	72	10 dakika	1

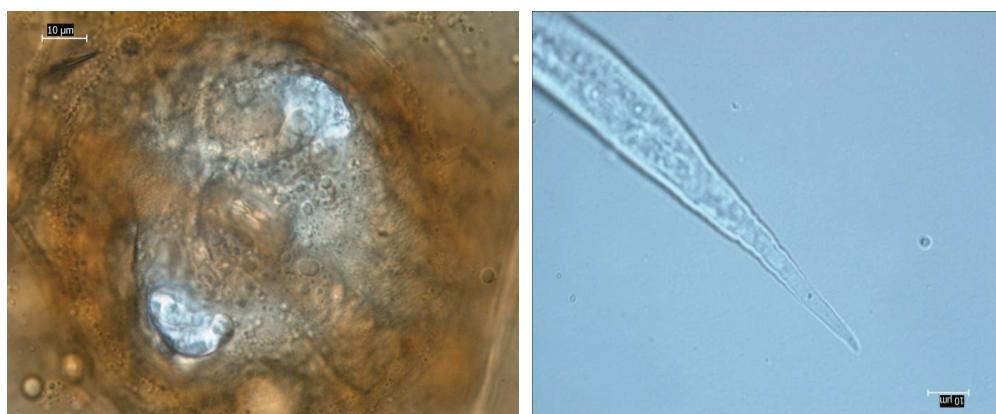
Elektroforez

PCR ürünleri %1.5 agaroz gelde elektroforez (100 V for 40 dk) edilerek 15 dak. etidyum bromid (0.1 µg/ml) çözeltisinde bekletildikten sonra UV transilluminatör yardımı ile görüntülenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir. Kalan PCR ürünler -20 °C muhafaza edilmiştir.

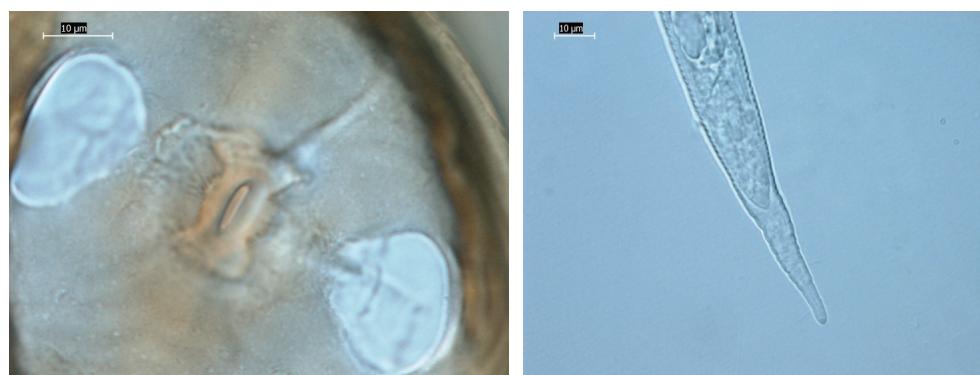
Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Tahıl kist nematodlarının klasik yöntemlerle tanılanması

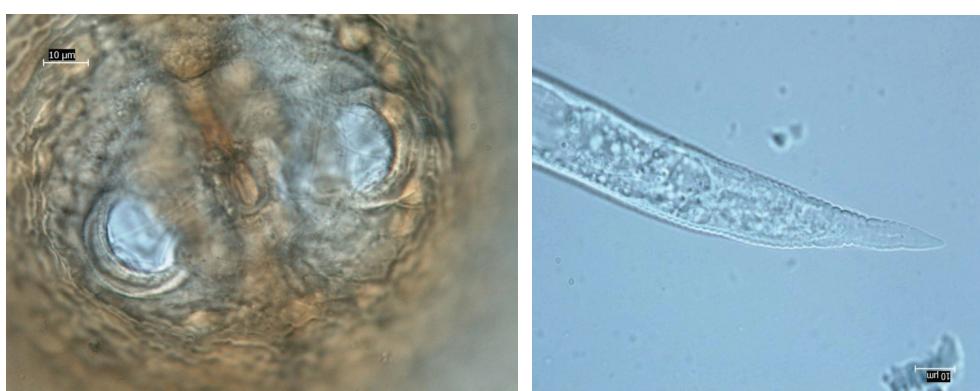
Tahıl kist nematodunun morfolojik olarak tanılanması dışında ikinci dönem larvalarının morfometrik ve allometrik ölçümleri yapılmıştır. Çalışma sonucunda Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde Tahıl kist nematodunun üç farklı türü *H. avenae*, *H. filipjevi* ve *H. latipons* saptanmıştır. Bu türlerin dişi ve larva preperatlarına ait resimler Şekil 1, Şekil 2 ve Şekil 3'te verilmiştir.



Şekil 1. *Heterodera avenae*'nın (Wollenweber, 1924) dişi bireyi ve larvasına ait preparatlar.



Şekil 2. *Heterodera filipjevi*'nin [(Madzhidov, 1981) Stelter, 1984] dişi bireyi ve larvasına ait preparatlar.



Şekil 3. *Heterodera latipons*'un (Franklin, 1969) dişi bireyi ve larvasına ait preparatlar.

Çalışmada saptanan Tahıl kist nematodunun *H. avenae*, *H. filipjevi* ve *H. latipons* türlerine ait dişilerin morfometrik ölçüm sonuçları ve referans değerleri karşılaştırımlı olarak Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. *Heterodera avenae* grup türlerine ait dişilerin bazı ölçümlerinin karşılaştırılması

		Diş Birey (Kist)		
Tür		Fenestral Uzunluk (μm)	Semi Fenestral Uzunluk (μm)	Vulva Köprü Genişliği (μm)
<i>H. avenae</i>	Çalışma Sonuçları	71.36± 1.64 (67.2-75.2)	21.12± 0.59 (19.2-22.4)	12.16± 0.64 (11.2-14.4)
	Subbotin (1999)	48± 1.1 (45-50)	23± 0.6 (20-23)	10.4± 1.5 (7.5-12.5)
	Abidou (2005)	50.41 ± 1.5 (47.12-57)	25.3 ± 1.77 (20.9-34.58)	7.27 ± 0.76 (5.32-9.88)
<i>H. filipjevi</i>	Çalışma Sonuçları	54.08± 4.24 (44.8-67.2)	20.96± 1.34 (16-24)	12.16± 1.50 (7.2-16)
	Subbotin (1999)	50± 1.1 (48-55)	27± 0.5 (25-29)	11.8± 0.7 (9.3-13.3)
	Abidou (2005)	50.41 ± 1.55 (47.12-57)	25.3 ± 1.77 (20.9-34.58)	7.27 ± 0.76 (5.32-9.88)
<i>H. latipons</i>	Çalışma Sonuçları	66.24± 0.64 (64-67.2)	23.04± 1.29 (19.2-25.6)	19.52± 0.59 (17.6-20.8)
	Subbotin (1999)	60± 1.6 (50-70)	23± 0.5 (20-25)	28± 1.2 (23-38)
	Abidou (2005)	61.35 ± 1.79 (45.6-91.2)	19.62 ± 0.56 (14.06-25.8)	15.2-42.56 (34.62 ± 1.46)

Çalışma sonuçları incelendiğinde dişilerin ölçüm değerleri sonuçlarının referans değerleri ile genellikle uyumlu olduğu görülmektedir. Tahıl kist nematodu, *H. avenae*'ya ait dişi bireylerin fenestral uzunluk değerleri ile *H. filipjevi*'nin dişi bireylerin vulva slit uzunluğunun referans değerlerine göre biraz yüksek bulunması morfolojik ölçüm değerlerinin bu türlerin bulunduğu coğrafyaya, beslenme koşulları vb. özelliklere göre değişiklik gösterebileceğini işaret etmektedir.

Çalışmada saptanan Tahıl kist nematodunun *H. avenae*, *H. filipjevi* ve *H. latipons* türlerine ait ikinci dönem larva ölçüm sonuçları ve referans değerleri karşılaştırımlı olarak Çizelge 3'de verilmiştir.

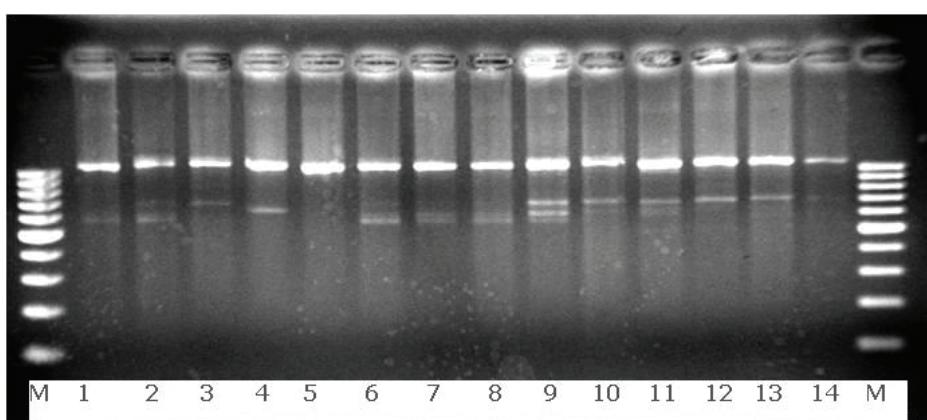
Çalışma sonuçları incelendiğinde ikinci dönem larva ölçüm değerleri ile referans değerlerinin genellikle uyumlu olduğu görülmektedir. Tahıl kist nematodu, *H. avenae*'ya ait larva vücut uzunluğu değerlerinin referans değerlerine göre biraz yüksek bulunması morfolojik ölçüm değerlerinin bu türlerin bulunduğu toprak tipi, yükseklik, diğer klimatolojik değerler, beslenme koşulları vb. özelliklere göre değişiklik gösterebileceğini işaret etmektedir.

Çizelge3. *Heterodera avenae* grup türlerinin ikinci dönem larva ölçüm değerleri

Tür	İkinci dönem Larva				
	Vücut Uzunluğu (µm)	Stylet Uzunluğu (µm)	Kuyruk Uzunluğu (µm)	Hyaline Uzunluğu (µm)	
<i>H. avenae</i>	Çalışma Sonuçları	593 b .6± 2.1 (584-601)	25.6±0.71 (24-28.8)	74.56±0.6 (72-76.8)	48.8±0.51 (48-51.2)
	Subbotin (1999)	553± 6.0 (478-597)	26.4± 0.2 (24.5-28.6)	67± 0.6 (61-74)	41± 0.5 (37-44)
	Abidou (2005)	545.31±3.2 (485-576)	25.08 ± 0.2 (23.56-28)	68.37±0.8 (61.5-80)	45.9± 0.6 (40-53.9)
	Çalışma Sonuçları	516.32±6.2 (476.8-547)	24.24±0.21 (23.2-25.6)	53.92±2.3 (41.6-64)	26.4±1.67 (22.4-40)
	Subbotin (1999)	485± 6.4 (421-552)	23.4± 0.1 (22.4-24.5)	53± 0.7 (43-59)	32± 0.7 (26-38)
	Abidou (2005)	467.4 ± 4.9 (421-586)	24.59± 0.55 (19-27.36)	54.37±0.7 (45.6-61)	32.94±0.8 (21.2-41)
<i>H. filipjevi</i>	Çalışma Sonuçları	475.04± 16.4 (414.4-598.4)	22.96±0.24 (22.4-24)	50.48±1.47 (44.8-60.8)	26±0.62 (23.2-28.8)
	Subbotin (1999)	485± 6.4 (421-552)	23.4± 0.1 (22.4-24.5)	53± 0.7 (43-59)	32± 0.7 (26-38)
	Abidou (2005)	467.48 ± 4.91 (421.5-586.1)	24.59 ± 0.55 (19-27.36)	54.37 ± 0.7 (45.6-60.8)	32.94 ± 0.79 (21.28-41.8)

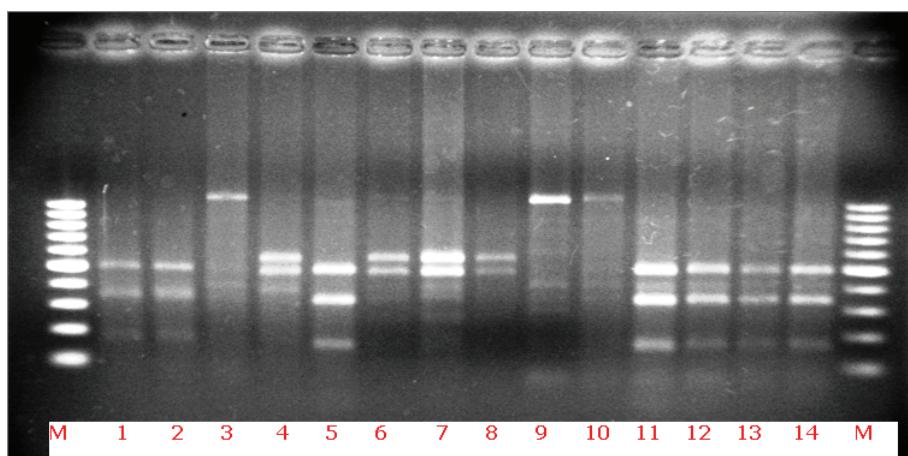
Tahıl kist nematodlarının moleküler yöntemlerle tanılanması:

Tahıl kist nematodlarına ait rDNA'nın ITS bölgesi ile 18S ve 26S iki alt bölgenin AB28 ve TW81 primerleri ile amplifikasyonunda DNA 1200 bp tek bir bant vermektedir (Subbotin, 1999; Rivoal, 2003; Madani et al., 2004). Çalışmada kullanılan 14 adet *Heterodera* popülasyonununa ait DNA'nın belirtilen büyülüklükte bant verdiği görülmüştür (Şekil 4).



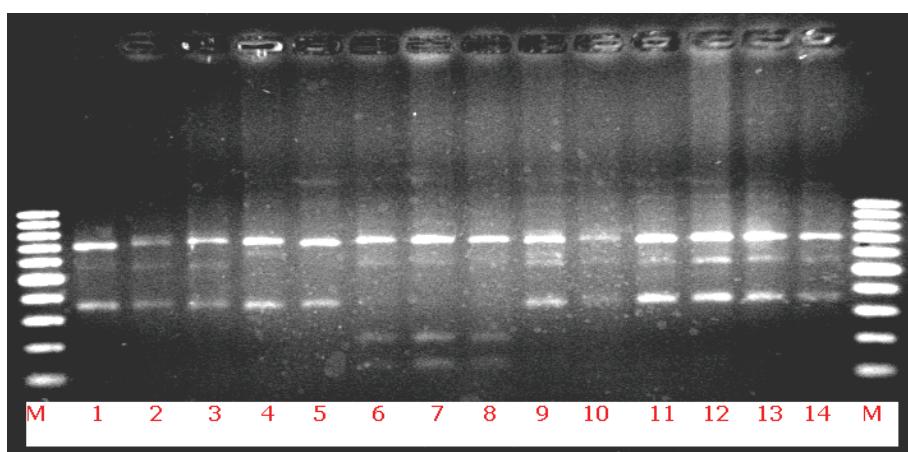
Şekil 4. Tahıl kist nematodu popülasyonlarına ait DNA'nın 1200 bp oluşturduğu bant görüntüsü. M, 100 bp DNA ladder.

PCR ürünü farklı iki farklı endonükleaz enzimi ile kesilerek Tahıl kist nematoduna ait türlerin moleküler olarak tanılanması yapılmıştır. *Alu* I endonükleaz enzimi *H. avenae* type A ve *H. latipons*'un ayırt edilmesinde; *Pst* I endonükleaz enzimi ise *H. filipjevi*'nin ve *H. avenae* type B'nin ayırt edilmesinde kullanılmaktadır. *Alu* I endonükleaz enziminin *H. avenae* type A' ait DNA'yı 1060 bp'de kestiği, *H. latipons*'a ait DNA'yı 180 bp, 350bp ve 420 bp'de olmak üzere 3 farklı noktada kestiği bildirilmektedir (Subbotin, 1999, 2000; Tanha, 2003; Madani et al., 2004). Nitekim, PCR ürünleri *Alu* I enzimi ile kesildiğinde 1, 2, 5, 11, 12, 13, 14 nolu örneklerin 180 bp, 350bp ve 420 bp'de olmak üzere 3 farklı büyülükte bant oluşması sonucu bu popülasyonlar *H. latipons* olarak tanımlanmıştır (Şekil 5). Burada 3, 9, ve 10 nolu örneklerin 1060 bp büyülükte tek bant oluşturması sonucu bu popülasyonlar *H. avenae* type A olarak kaydedilmiştir (Şekil 5). Ayrıca 4, 6, 7 ve 8 nolu örneklerin *Alu* I enzimi ile kesildiğinde 500bp ve 560 bp olmak üzere 2 farklı noktada bant oluşturduğu görülmüştür.



Şekil 5. Tahıl kist nematodu popülasyonlarına ait PCR ürününün *Alu* I Enzimi ile kesim görüntüsü. M, 100 bp DNA ladder.

Pst I enziminin ise *H. filipjevi*'ye ait DNA'yı 130 bp, 211 bp ve 712 bp'de kestiği, *H. avenae* type B'ye ait DNA'yı ise 566 bp ve 483 bp'de kestiği bildirilmektedir (Subbotin, 1999, 2000; Tanha, 2003; Madani et al., 2004). Bu kapsamda 4, 6, 7 ve 8 nolu örneklerden *H. filipjevi* ve *H. avenae* type B'yi ayırt etmek için PCR ürünleri farklı bir endonükleaz enzimi olan *Pst* I ile kesilmiştir. Enzimle kesim sonucu 4 numaralı örneğin 566 bp ve 483 bp büyülüğünde bant oluşması sonucu bu popülasyon *H. avenae* type B; 6, 7 ve 8 nolu örneklerin ise 130 bp, 211 bp ve 712 bp büyülüğünde bant oluşması sonucu *H. filipjevi* olarak tanımlanmıştır (Şekil 6).



Şekil 6. Tahıl kist nematodu popülasyonlarına ait PCR ürününün *Pst* I Enzimi ile kesim görüntüsü. M, 100 bp DNA ladder.

Bu çalışmada ele alınan 14 adet popülasyona ait teşhis sonuçları, bulunduğu alanlar ve konukçuları Çizelge 4'te belirtilmiştir.

Çizelge 4. Çalışmada kullanılan popülasyonlara ait bilgiler

No	Tür	Lokasyon	Örnek Koordinatları	Konukçu	PCR/ RFLP
1	<i>H.latipons</i>	Mardin-Şenyurt Merkez	37° 02' 912 K 40° 39' 736 D	Arpa	+
2	<i>H.latipons</i>	Mardin -Şenyurt Lefkoşe	37° 05' 767 K 40° 39' 686 D	Arpa	+
3	<i>H.avenae</i> Type A	Mardin-Kızıltepe Nusaybin Yolu	37° 07' 38 K 40° 56' 42 D	Buğday	+
4	<i>H.avenae</i> Type B	Mardin-Nusaybin Merkez	37° 06' 19 K 41° 05' 02 D	Buğday	+
5	<i>H.latipons</i>	Mardin-Nusaybin Sulak	37° 06' 41 K 41° 02' 39 D	Buğday	+
6	<i>H.filipjevi</i>	K.Maraş-Elbistan Göksunyolu	38° 11' 14 K 36° 50' 05 D	Buğday	+
7	<i>H.filipjevi</i>	K.Maraş-Elbistan Büyükyapalak	38° 18' 22 K 37° 15' 25 D	Buğday	+
8	<i>H.filipjevi</i>	K.Maraş-Elbistan Büyükyapalak	38° 17' 29 K 37° 15' 53 D	Buğday	+
9	<i>H.avenae</i> Type A	Hatay-Reyhanlı Beşarslan	36° 13' 27 K 36° 80' 18 D	Buğday	+
10	<i>H.avenae</i> Type A	Hatay-Reyhanlı Hacipaşa	36° 08' 21 K 36° 22' 15 D	Buğday	+
11	<i>H.latipons</i>	Kilis-Elbeyli Alahan	36° 40' 10 K 37° 26' 53 D	Buğday	+
12	<i>H.latipons</i>	Kilis-Elbeyli Çıldıroba	36° 39' 03 K 37° 25' 18 D	Buğday	+
13	<i>H.latipons</i>	G.Antep-Karkamış Akçaköy	36° 48' 27 K 37° 52' 33 D	Buğday	+
14	<i>H.latipons</i>	G.Antep-Karkamış Arikderesi	36° 48' 52 K 37° 50' 40 D	Buğday	+

Dünya genelinde buğdayda gelişip çoğalan 4 önemli Tahıl kist nematodu türünden (*Heterodera avenae*, *H. filipjevi*, *H. latipons* ve *H. mani*) (Rivoal & Cook, 1993; Nicol, 2002) 3 tanesinin, *H. avenae*, *H. filipjevi* ve *H. latipons*'un Güney Doğu Anadolu Bölgesi tahlil ekim alanlarında bulunduğu saptanmıştır.

Türkiye'de Orta Anadolu Bölgesi hububat ekim alanlarında Tahıl kist nematodunun *H. filipjevi* türünün yaygın ve yoğun olarak bulunduğu bildirilirken (Rumpenhorst et al., 1996; Subbotin et al., 2003; Şahin et al., 2009), çalışmanın yürütüldüğü Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde ise Tahıl kist nematodunun *H. avenae* ve *H. latipons* türlerinin olduğu ve karışık popülasyon halinde bulunduğu saptanmıştır. *H. filipjevi*'nin ise bu bölgede Kahramanmaraş ilinin rakımı yüksek olan alanlarında (Elbistan) bulunduğu belirlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ışığında Türkiye'de tahlil yetiştirilen bölgeler arasında Tahıl kist nematodu türlerinin dağılımının farklılık gösterdiği anlaşılmaktadır. Bu türlerin yaygınlığının tam olarak ortaya çıkarılması için, Güneydoğu Bölgesi koşullarında yürütülen bu ilk survey çalışmasının daha fazla örneklemme ile genişletilerek yapılması ve sonuçlarının karşılaştırılması önerilmektedir. Zira nematodlarla mücadelede bulaştıktan sonra zararının yok edilmesi çok zor olup, karantina tedbirlerinin üzerinde önemle durulmalıdır. Bulaşık toprağın temiz yerlere taşınması için gerekli önlemler alınmalıdır. Bulaşık alanların tespiti amacıyla yapılacak surveylerde; bulaşık alanları belirlemek üzere

hububatın süt ve sarı olum dönemlerinde köklerde kist kontrolleri, bulaşık tarlalardaki yoğunlukları belirlemek amacıyla hasat sonrası alınan toprak örneklerinde kist ve bu kistlerden elde edilen yumurta ve larva sayımları yapılmalıdır.

Tahıl kist nematodları mücadelede dayanıklı çeşit ve hatların kullanılması en ekonomik ve yaygın kullanılan mücadele yöntemi olarak bilinmektedir (Andersen, 1982; Nicol, 2002). Zira dayanıklı çeşitlerin kullanımı mücadele maliyetini düşürmesi ve çevre dostu olmasından dolayı tercih edilmektedir (Nicol et al., 2005; Schmidt et al., 2005; Zwart et al., 2005). Hastalık ve zararlılara dayanıklı gen kaynaklarının doğada çoğunlukla bitkilerin yabani formlarında bulunduğu ve melezleme çalışmaları ile kültür formlarına aktarıldığı bilinmektedir (Boerma & Hussey, 1992). Bu bağlamda Tahıl kist nematodlarına karşı dayanıklılık sağlayan 9 farklı *Cre* geni buğdayın yabani formlarından buğdaya aktarılmıştır (Ogbonnaya, 2001a,b; Barloy et al., 2007). Türkiye'nin yabani buğday genotipleri bakımından gen merkezi olduğu düşünüldüğünde, yabani buğday türlerinin Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki Tahıl kist nematodu türlerine karşı dayanıklılıklarının araştırılması bilimsel açıdan çok önemli görülmektedir. Zira dayanıklılık kaynaklarının nematodon türlerine veya aynı türün patotiplerine olan etkisi farklı olabilmektedir. Nitekim, Tahıl kist nematoduna karşı dayanıklı kaynaklarından biri olan *Cre3* geni, *H. avenae*'nın Avrupa ve Afrika popülasyonlarına karşı oldukça etkili olurken, Avustralya ve Asya popülasyonlarına karşı etkili olmadığı bildirilmektedir (Rivoal et al., 2001; Mokabli et al., 2002). Türkiye'de daha önce yapılan çalışmalarla Orta Anadolu Bölgesi'nde yaygın bulunan *H. filipjevi*' ye karşı ulusal ve uluslararası buğday genotiplerinin dayanıklılık veya tolerans düzeyleri araştırılmış ve ümit var sonuçlar elde edilmiştir (Nicol et al., 2009). Aynı şekilde Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki Tahıl kist nematodu türlerine karşı buğday ıslah programlarında dayanıklı çeşitlerin geliştirilebilmesi için, ulusal ve uluslararası buğday genotiplerinin burada bulunan türlerle ve patotiplerine karşı dayanıklılığının araştırılması gerekmektedir. Özellikle ulusal çeşit ve hatların Tahıl kist nematoduna karşı dayanıklılığının araştırılması çalışmaları kapsamında yerel çeşitlerde ve buğdayın yabani türlerinde dayanıklılık konusundaki bilgiler bilim dünyası için büyük önem taşiyacaktır. Buradan elde edilecek bilgiler yalnızca Türkiye için değil tüm dünyada buğday ıslah programlarında kullanılabilecektir.

Yararlanılan Kaynaklar

- Abidou, H., A. El-Ahmed, J. M. Nicol, N. Bolat, R. Rivoal & A. Yahyaoui, 2005. Occurrence and distribution of species of the *Heterodera avenae* group in Syria and Turkey. *Nematologia Mediterranea*, 33: 197-203.
- Andersen, S. & K. Andersen, 1982. Suggestions for determination and terminology of pathotypes and genes for resistance in cyst-forming nematodes, especially *Heterodera avenae*. *EPPO Bulletin*, 12: 379-386.
- Barloy, D., J. Lemoine, P. Abelard, A. M.Tanguy, R. Rivoal & J. Jahier, 2007. Marker-assisted pyramiding of two cereal cyst nematode resistance genes from *Aegilops variabilis* in wheat. *Molecular Breeding*, 20: 31-40.
- Boerma, H. R. & R. S. Hussey, 1992. Breeding plants for resistance to nematodes. *Journal of Nematology*, 24 (2): 242-252.
- Brown, R. H. & J. W. Meager, 1970. Resistance in cereals to the cyst nematode (*Heterodera avenae*) in Victoria. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, 10: 360 – 365.
- Fenwick, D. W., 1940. Methods for the recovery and counting of cysts *Heterodera schachtii* from soil. *Journal of Helminthology*, 18: 155–172.
- Handoo, Z. A., 2002. Key and compendium to species of the *Heterodera avenae* group (Nematoda: Heteroderidae). *Journal of Nematology*, 34: 250-262.
- Hooper, D. J., 1986. "Extraction of Free Living Stages from Soil, 5–30". In: *Labarotory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes* (Ed. J. F. Southey). Her Majesty's Stationery Office, London, 202 pp.
- İmren, M., H. Toktay, A.Öcal, J. M. Nicol, & İ. H. Elekçioğlu, 2009. "Occurrence of cereal cyst nematode, *Heterodera avenae*, in Southeast Anatolia, Turkey, 10-11". *Proceedings of the First Workshop of the International Cereal Cyst Nematode Initiative* (21-23 October 2009, Antalya, Turkey), Yayın No: 1.

- İmren, M., H. Toktay, A. Özarslan, A. Öcal, J. M. Nicol & İ. H. Elekçioğlu, 2009. "Occurrence of cereal cyst nematode, *Heterodera avenae*, in Southeast Anatolia, Turkey, 82-87". Proceedings of the First Workshop of the International Cereal Cyst Nematode Initiative (21-23 October 2009, Antalya, Tukey), Yayın No: 1.
- İmren, M., A. Özarslan, H. Toktay, A. Öcal, İ. H. Elekçioğlu, A. Dababat, & J. Nicol, 2010. "Preliminary survey study on *Heterodera* species in some provinces of Southeast Anatolia region of Turkey, 82-87. 30th European Society of Nematologist (19-23 September 2010, Vienna, Austria), Yayın No: 30.
- Joyce, S. A., D. F. Reid & J. Curran, 1994. "Application of Polymerase Chain Reaction (PCR) Methods to the Identification of Entomopathogenic Nematodes, 178-187". In: Genetics of Entomopathogenic Nematode-Bacterium Complexes (Eds: A.M. Burnell, R.U. Ehlers & J.P. Masson). European Commission Directorate-General XII, Science, Research and Development Environment Research Programme, Kildare, Ireland, 277s.
- Kort, J., 1960. A technique for the extraction of *Heterodera* cysts from wet soil and for the estimation of their egg and larval content. Verslagen en Medelingen Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen, 233: 3-7.
- Madani, M., N. Vovlas, P. Castillo, S. A. Subbotin & M. Moens, 2004. Molecular characterization of cyst nematode species (*Heterodera* spp.) from the Mediterranean basin using RFLPs and sequences of ITS-rDNA. Journal of Phytopathology, 152: 229-234.
- Mokabli, A., S. Valette, J. P. Gauthier & R. Rivoal, 2002. Variation in virulence of Cereal cyst nematode populations from North Africa and Asia. Nematology, 4 (4): 521 – 525.
- Nicol, J. M., 2002. "Important Nematode Pests, 345–366". In: Bread Wheat: Improvement and Production (Eds.: B. C. Curtis, S. Rajaram & H. Gomez Macpherson), FAO Publisher, Rome, 140 pp.
- Nicol, J. M., R. Rivoal, N. Bolat, H. Aktas, H. Braun, M. Mergoum, A. F. Yıldırım, A. Bagcı, İ.H. Elekçioğlu & A. Yahyaoui, 2002. Frequency and diversity of the cyst an lesion nematodes on wheat in the Turkish Central Anatolian Plateau. Nematology, 4: 383-443.
- Nicol, J. M., R. Rivoal, S. Taylor & M. Zaharieva, 2004 .Global importance of cyst (*Heterodera* spp.) and Lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) on cereals: yield loss, population dynamics, use of host resistance and Integration of molecular tools. Nematology Monographs and Perspectives, 2: 233-251.
- Nicol, J. M., N. Bolat, A. Bağcı, R.T. Trethowan, M. William, H. Hekimhan, A. F. Yıldırım, E. Şahin, İ. H. Elekçioğlu, H. Toktay, B. Tunalı, A. Hede, S. Taner, H. J. Braun, M. Van Ginkel, M. Keser, Z. Arisoy, A. Yorgancılar, A. Tülek, D. Erdurmuş, O. Büyük & M. Aydoğdu, 2005. The international breeding strategy for the incorporation of resistance in bread wheat against the soil borne pathogens (Dryland Root Rot and Cyst and Lesion Nematodes) using conventional and molecular tools. 7th International Wheat Congress, Mar del Plata, Argentina.
- Ogbonnaya, F. C., N. C. Subrahmanyam, O. Mouillet, J.De Majnik, H. A. Eagles, J. S. Brown, R. F. Eastwood, J. Kollmorgen, R. Apples & E. S. Lagudah, 2001a. Diagnostic DNA markers for cereal cyst nematode resistance in bread Wheat. Australian Journal of Agricultural Resources, 52: 1367 – 1374.
- Ogbonnaya, F. C., S. Seah, A. Delibes, J. Jahier, I. Lopez-Brana, R. F. Eastwood & E. S. Lagudah, 2001b. Molecular genetic characterization of nematode resistance from *Aegilops ventricosa* and its derivatives in wheat. Theoretical Application Genetics, 102: 623–629.
- Rivoal, R. & R. Cook, 1993. "Nematode Pests of Cereals, 259-303". In: Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture (Eds: K. Evans, D.L. Trudgill & J.M. Webster) Simon Fraser University, Canada, 648 pp.
- Rivoal, R., S. Bekal, S. Valette, J. P. Gauthier, M. Bel Hadj Fradj, A. Mokabli, J. Jahier, J. M. Nicol & A. Yahyaoui, 2001. Variation in reproductive capacity and virulence on different genotypes and resistance genes of Triticeae, in the cereal cyst nematode species complex. Nematology, 3 (6): 581 – 592.
- Rivoal, R., S. Valette, S. Bekal, J. P. Gauthier & A. Yahyaoui. 2003. Genetic and phenotypic diversity in the graminaceous cyst nematode complex, inferred from PCR-RFLP of ribosomal DNA and morphometric analysis. European Journal of Plant Pathology, 109: 227–241.
- Rumpenhorst, H. J., İ. H. Elekçioğlu, D. Sturhan, G. Öztürk & S. Enneli, 1996. The cereal cyst nematode *Heterodera filipjevi* (Madzhidov) in Turkey. Nematologia Mediterranea, 24: 135-138.
- Sasser, J. N., 1987. "A Perspective on Nematode Problems Worldwide, 1–12". In: Nematode Parasitic to Cereals and Legumes in Temperate Semi-arid Regions (Eds: M.C. Saxena, R.A. Sikora & J.P. Sarivastava). Proceedings of a workshop held at, (1–5 March 1987, Larnaca, Cyprus). Aleppo, Syria, 217 pp.
- Schmidt, A. L., C. L. McIntyre, J. Thompson, N. P. Seymour & C. J. Liu, 2005. Quantitative trait loci for Root lesion nematode (*Pratylenchus thornei*) resistance in middle-eastern landraces and their potential for introgression into Australian bread wheat. Australian Journal of Agricultural Research, 56: 1059-1068.

- Sharma, S. B., 1998. The Cyst Nematodes, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, 452s.
- Shepherd, A. M., 1986. "Extraction and estimation of cyst nematodes, 51-58". In: Labarotory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes (Ed. J. F. Southey). Her Majesty's Stationery Office, London, 202 pp.
- Siddiqi, M. R., 2000. Tylenchida Parasites of Plants and Insects. Cabi Publishing, UK, 833 pp.
- Southey, J. F., 1986. "Principles of Sampling for Nematodes, 1-4". In: Labarotory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes (Ed. J.F. Southey). Her Majesty's Stationery Office, London, 202 pp.
- Subbotin, S. A., L. Waeyenberge, I A. Molokanova & M. Moens, 1999. Identification of *Heterodera avenae* group species by mophometrics and rDNA-RFLPs. Nematology, 1: 195-207.
- Subbotin, S. A., L. Waeyenberge & M. Moens, 2000a. Identification of cyst forming nematodes of the genus *Heterodera* (Nematoda: Heteroderidae) based on the ribosomal DNA-RFLP. Nematology, 2: 153-164.
- Subbotin, S. A., D. Sturhan, H. J. Rumpenhorst & M. Moens, 2003. Molecular and morphological characterization of the *Heterodera avenae* species complex (Tylenchida: Heteroderidae). Nematology, 5: 515-538.
- Şahin, E., J. M. Nicol, İ. H. Elekçioğlu, Ö. Yorgancılar, A. F. Yıldırım, A. Tülek, H. Hekimhan, A. Yorgancılar, A. T. Kılıç, N. Bolat & G. Erginbaş-Orakçı, 2009. "Frequency and Diversity of Cereal Nematodes on the Central Anatolian Plateau of Turkey, 100-105". In: Cereal Cyst Nematodes: Status, Research and Outlook (Eds. I.T. Riley, J. M. Nicol & A. A. Dababat) Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü, Emek, Ankara 244s..
- Tanha, M. T., S. A. Subbotin, M. Moens, 2003. Molecular identification of cyst-forming nematodes (Heteroderidae) from Iran and a phylogeny based on ITS-rDNA sequences. Nematology, 5: 99–111.
- Yüksel, H., 1973. Studies on the morphological and biological differences of *Heterodera* species (Nematoda: Heteroderidae) in Turkey. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 4: 53–71.
- Zwart, R. S., J. P. Thompson & I. D. Godwin, 2005. Identification of quantitative trait loci for resistance to two species of Root-lesion nematode (*Pratylenchus thornei* and *P. neglectus*) in wheat. Australian Journal of Agricultural Research, 56: 345-352.
- Whitehead, A. G., 1998. Plant Nematode Control. CAB International, Wellingford, UK, 384 pp.
- Williamson, V. M & C. A. Gleason, 2003. Plant-nematode interactions. Current Opinion in Plant Biololgy, 6(4): 327-333.

