

**Original araştırma (Original article)**

# **İzmir ve Manisa illerinde bağ alanlarında ekonomik öneme sahip bitki paraziti nematodların morfolojik ve moleküler yöntemlerle tanınması<sup>1</sup>**

Identification of the economically important plant parasitic nematodes in vineyards areas of Izmir and Manisa provinces by morphological and molecular techniques

**İbrahim MISTANOĞLU<sup>2</sup>**

**Galip KAŞKAVALCI<sup>3\*</sup>**

**Zübeyir DEVRAN<sup>2</sup>**

## **Summary**

In the study, economically important nematodes species found in vineyards of Izmir and Manisa provinces were identified using morphological and molecular techniques. A total of 188 plant roots and soil samples belonging to 147 samples from Manisa and 41 samples from Izmir provinces were analyzed. *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1919 (9.52%), *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 (6.35%), *Meloidogyne incognita* (Kafoid & White, 1919) Chitwood, 1949 (3.18%) belonging to root-knot nematodes genus and *Xiphinema pachtaicum* (Tulaganov, 1938) Kirjanova, 1951 (87.30%), *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950 (19.05%) and *Xiphinema italiae* Meyl, 1953 (9.52%) belonging to dagger nematodes were identified by using morphological and molecular techniques. The prevalence and infestation ratio of these species were also high in the region. The results showed that the infestation ratio with root knot nematodes and dagger nematodes were found 34.01% and 31.71% in Manisa and Izmir vineyards, respectively. Our findings also indicated that heavily prevalence of plant parasitic nematodes were existed as 43.48% in the vineyard areas of Salihi district of Manisa and 66.67% in the vineyard area of Torbalı, Urla and Seferihisar districts of Izmir.

**Keywords:** Diagnostic, distribution, grape, *Meloidogyne* spp., *Xiphinema* spp.

## **Özet**

Bu çalışmada, İzmir ve Manisa illeri bağ alanlarında ekonomik olarak önemli olan nematod türleri morfolojik ve moleküler teknikler kullanılarak tanımlanmıştır. Araştırmanın materyalini, İzmir ve Manisa bağ alanlarından alınan, toprak örnekleri, bitki materyalleri ve nematodlar oluşturmuştur. Manisa ilinden 147, İzmir ilinden 41 olmak üzere toplam 188 adet bitki kökü ve toprak örneği analiz edilmiştir. Morfolojik ve moleküler teknikler kullanılarak, kök-ur nematodlarından *Meloidogyne javanica* Treub, 1885) Chitwood, 1919 (%9,52), *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 (%6,35), *Meloidogyne incognita* (Kafoid & White, 1919) Chitwood, 1949 (%3,18) (Tylenchida : Heteroderidae) türleri ve kamalı nematodlardan ise *Xiphinema pachtaicum* (Tulaganov, 1938) Kirjanova, 1951 (%87,30), *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950 (%19,05) ve *Xiphinema italiae* Meyl, 1953 (%9,52) (Dorylaimida: Longidoridae) türleri belirlenmiştir. Ayrıca bu türlerin bölgedeki yaygınlıkları ve bulaşıklık oranları belirlenmiştir. Buna göre Kök-ur ve Kamalı nematodların İzmir ve Manisa bağ alanlarındaki bulaşıklık oranları sırasıyla %34,01 ve %31,71 olarak tespit edilmiştir. Bitki paraziti nematodların yoğun bulaşık olduğu bölgeler, %43,48 oranla Manisa İli Salihi ilçesi ve %66,67 oranla da İzmir İli Torbalı, Urla ve Seferihisar ilçeleri olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Teşhis, yayılış, üzüm, *Meloidogyne* spp., *Xiphinema* spp.

<sup>1</sup> Bu çalışma E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından 30.12.2013 tarihinde kabul edilen ilk yazarın Yüksek lisans tezinin bir kısmından üretilmiştir. Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Komisyonu tarafından desteklenen 2011-ZRF-044 No'lu projenin özeti olup, bir kısmı 03-05 Şubat 2014 tarihinde Antalya'da düzenlenen Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi'nde poster bildiri olarak sunulmuş kısa özeti basılmıştır

<sup>2</sup> Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 07058, Antalya, Türkiye

<sup>3</sup> Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 35100, Bornova, İzmir, Türkiye

\* Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: galip.kaskavalcı@ege.edu.tr

Alınış (Received): 13.03.2015 Kabul ediliş (Accepted): 11.06.2015 Çevrimiçi Yayın Tarihi (Published Online): 22.06.2015

## Giriş

Bağcılık, üzüm üretimini en yüksek kalite ve verimde gerçekleştirebilmek için uygun koşullarda yapılan tarımsal işlemler bütünüdür. Bağcılığın anavatanı Anadolu olmasına rağmen dünyanın birçok yöresine yayılma olanağı bulmuştur. Türkiye, dünyada üzüm üreten ülkeler arasında önemli bir yere sahiptir. Tarımsal üretim çeşitliliği açısından oldukça zengin olan Türkiye’de en önemli ürünlerden birini oluşturan üzüm, toplam meyve üretiminin yaklaşık % 25’ini oluşturmaktadır. Türkiye, 2011 yılı verilerine göre 477.786 ha bağ alanında 4.296.350 ton yaş üzüm üretimi gerçekleştirmiştir (Anonymous, 2011a).

Bitki paraziti nematodlar, bağ alanlarında doğrudan ya da dolaylı olarak zararlara yol açan önemli gruplardandır. Bağ alanlarındaki doğrudan zararlarıyla dikkat çeken Tylenchida takımının Meloidogynidae familyasına dahil nematod türlerinin omcalarda ölümlere neden oldukları (Lamberti et al., 1990) ve karışık populasyonlar halinde buldukları belirlenmiştir (Ertürk & Özkut, 1973; Ferris, 1976). Bağ alanlarında zararlara neden olan bir diğer nematod grubu ise Longidoridae ve Trichodoridae familyalarına bağlı nematod türleridir. Bu nematodlar doğrudan yapmış oldukları zararların yanında virüs vektörü olarak da dolaylı zararlara yol açmaktadırlar (Weischer, 1993). Tüm bitki paraziti nematodların bitkilerde beslenmelerine ve virüs partiküllerini vücutlarına almalarına karşın, virus vektörü olarak tespit edilen nematodlar, *Xiphinema*, *Longidorus*, *Trichodorus* ve *Paratrichodorus* cinslerine ait toplam 305 türden sadece 29 ile sınırlıdır (Brown & Trudgill, 1998). Dünyada bağ üretimi yapılan alanlarda *Xiphinema* cinsine dahil 10’un üzerinde tür bulunduğu belirlenmiştir (Raski, 1988). Farklı ülkelerde bağ alanlarında yapılan çalışmalarda *Xiphinema* cinsine bağlı nematod türlerinin yoğun olarak bulunduğu bildirilmiştir (Barbercheck & Heyns, 1986; Coiro et al., 1989; Arias & Fresno, 1994; Aballay et al., 2009).

Türkiye’de farklı bölgelerdeki bağ alanlarında değişik zamanlarda sürveyler yürütülmüş ve bazı bitki paraziti nematodlar belirlenmiştir. Ege Bölgesi tarım alanlarında *Xiphinema* cinsine bağlı yedi farklı nematod türü tanımlanmıştır (Arınç, 1982). Doğu Akdeniz Bölgesi’nde yapılan bir çalışmada bağ alanlarında en yaygın bulunan nematod türlerinin *Xiphinema pachtaicum* (Tulaganov, 1938) Kirjanova, 1951, *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950 ve *Xiphinema italiae* Meyl, 1953 (Dorylaimida: Longidoridae) olduğu tespit edilmiştir (Elekcioğlu & Uygun, 1994).

Bağ üretim verilerine göre, Ege Bölgesi 140.000 ha ve % 29’luk pay ile birinci sırada yer almıştır (Anonymous, 2011b). Bölgede İzmir ve Manisa illeri en önemli üretim alanlarını kapsamaktadır. Bununla birlikte, bu illerde bitki parazit nematodların belirlenmesi üzerine detaylı bir sürvey çalışması şu ana kadar yürütülmemiştir. Çalışmada, Manisa ve İzmir bağ alanlarında ekonomik öneme sahip *Xiphinema* spp. ve *Meloidogyne* spp. cinslerine ait nematodların türlerinin morfolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak tanımlanması ve yaygınlıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Yöntem

### Nematod sürveyi

Çalışma, 2011-2012 yıllarında İzmir ve Manisa illerindeki bağ alanlarında, maksimum örnekleme tarlası sayısı, Bora ve Karaca (1970)’dan değiştirilerek ilin toplam üretim alanının % 3-3,5’u olacak şekilde hesaplanmıştır. Buna göre 188 örnekleme alanından toprak ve bitki kök örnekleri alınmıştır (Çizelge 1).

### Nematodların elde edilmesi

Kök-ur nematodlarının 2. dönem larvaları topraktan, geliştirilmiş Baermann Huni Yöntemi (Hooper, 1986) kullanılarak elde edilmiştir.

Morfolojik teşhislerde kullanılan kök-ur nematodu dişileri asma köklerinden elde edilmesi amacıyla “Blender-Elek-Santrifüj Metodu” (Coolen & D’Herde, 1972) kullanılmıştır. Ancak, hiçbir örnekten dişi Kök-ur nematodu bireyi elde edilememiştir. Bu bitkilere ait topraklardan elde edilen *Meloidogyne* cinsi

nematod larvaları steril topraklara şaşırtılmış olan hassas domates fidelerine (Şimşek F1, Bircan Tohum A.Ş.) bulaştırılmıştır. Bu bitkiler üzerinde gelişmelerini tamamlayıp, ur oluşturmuş olan Kök-ur nematodlarının dişileri stereo binoküler mikroskop altında domates köklerinden tek tek çıkartılarak, vulva ve anüs bölgelerine ait daimi preparatları “Perineal Örneklerin Preparasyon Yöntemi” ne göre hazırlanmıştır (Hartman & Sasser,1985).

*Xiphinema* ve *Longidorus* cinslerine ait bireyler topraktan Baermann Huni ve Cobb Elek Yöntemlerinin farklı bir kombinasyonu ile elde edilmiştir (Flegg, 1967). Elde edilen nematodların tür düzeyindeki morfolojik teşhisleri için Hooper (1986)’a göre daimi preparatları yapılmıştır.

Çizelge 1. İzmir ve Manisa illeri bağ alanlarında incelenen bahçe sayıları

İl	İlçe	Bağ Alanı (da)	Örnek Alınan Tarla Sayısı (adet)
İZMİR	Urla-Seferihisar	7,845	3
	Kemalpaşa	33,400	10
	Menderes	30,520	11
	Menemen	36,140	14
	Torbali	12,310	3
İZMİR İLİ TOPLAMI		120,215	41
MANİSA	Alaşehir	185,960	35
	Merkez	83,455	22
	Salihli	97,224	23
	Sarıgöl	72,000	13
	Saruhanlı	76,465	22
	Turgutlu	82,490	32
MANİSA İLİ TOPLAMI		597,594	147
TOPLAM			188

### Morfolojik ve allometrik yöntemlerle tanımlama

Morfolojik ve Allometrik teşhis çalışmalarında Leica DFC 295 mikroskop’a bağlı video kamera aracılığıyla Leica Application Suite (LAS) Software Version 4.1.0 yazılım programı kullanılmıştır. Kıvrık tüm yapılar “Curvimetre” ile ölçülmüştür.

Çalışmada saptanan Tylenchida takımına bağlı nematod türlerinin sınıflandırmaları ve sinonimleri Siddiqi (2000), Dorylaimida (Longidoridae familyası) takımına bağlı nematod türlerinin sınıflandırmaları ve sinonimleri Hunt (1993) ve Brown & Halbrendt (1997) esas alınarak verilmiştir. Tür teşhisleri standart formüllere göre teşhis anahtarları kullanılarak ilk önce tarafımızdan yapılmış ve daha sonra bu sonuçlar Prof. Dr. İ. Halil ELEKÇİOĞLU (Ç. Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, ADANA) tarafından kontrol edilmiştir.

### Moleküler çalışmalar

#### DNA izolasyonu

Bitki paraziti nematodlara ait yumurta, larva veya ergin dönemlerinden DNA izolasyonu, “DNAeasy Tissue and Blood Kit” (Qiagen) kullanılarak yapılmıştır.

#### Türlere spesifik primerlerle PCR

Kök- ur ve Kamalı nematodların moleküler tanımlanmasında türlere özgü PCR primerleri kullanılmıştır (Çizelge 2). Çalışmalar, 25 µl’ lik (10XPCRBuffer, 0,2 mM dNTP, her bir primerden 0,4 µM, 2 mM MgCl<sub>2</sub>,

20 ng DNA ve 1 ünite Taq DNA Polymerase) reaksiyon hacminde, DNA thermalcycler (Master cycler gradient, Biolab) cihazında gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri % 2,5'lik agaroz jelde 1X Tris-Acetate-EDTA (TAE) Buffer kullanılarak güç kaynağı yardımıyla yürütülmüş ve EtBr ile boyandıktan sonra jel görüntüleme sisteminde fotoğraflanmıştır. Real time PCR'da çalıştırılan XpaF / XpaR primerleri için Real time PCR programı kullanılmıştır.

Çizelge 2. Nematodların moleküler tanınmasında kullanılan primerlerin adları, dizileri, fragment büyüklükleri ve referansları

Primer Adı	Nematod Türü	Band Uzunluğu (bp)	Primer Dizisi (5-3)	Kaynaklar
Inc-K14F	<i>M. incognita</i>	399	CCCGCTACACCCTCAACTTC	Randig et al., 2002
Inc-K14R			GGGATGTGTAATGCTCCTG	
Fjav	<i>M. javanica</i>	670	GGTGCGCGATTGAACTGAGC	Zijlstra et al., 2000
Rjav			CAGGCCCTTCAGTGGAAGTATACT	
Far	<i>M. arenaria</i>	420	TCGGCGATAGAGGTAAATGAC	Zijlstra et al., 2000
Rar			TCGGCGATAGACTACAACCT	
I27	<i>X. index</i>	340	GAGTCGTAACGTTTCTCGTCTATCAGG	Wang et al., 2003
ITA26	<i>X. italiae</i>	414	GAAATAAGAACCTGAAAAAGATAGG	
XpaF	<i>X. pachtaicum</i>	80	CTCGCTTAGTAAATGACGGAGAGT	Bu çalışmada geliştirilmiştir
XpaR			TAATCGACCGAGCTATTAAACGA	

## Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Bu çalışmada İzmir ve Manisa illeri merkez ve ilçelerinde bulunan bağ alanlarındaki ekonomik önemi olan bitki paraziti nematod gruplarından Kök-ur ve Kamalı nematod türlerini belirlemek amacıyla bu alanlardan alınan 188 adet toprak-kök örneklerinin analizi yapılmıştır. Tylenchida ve Dorylaimida takımlarına bağlı 2 familya içerisinde sınıflandırılan toplam altı adet nematod türü morfolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak tanımlanmıştır. Sürvey alanının söz konusu nematod türleriyle bulaşıklık durumu belirlenmiştir (Çizelge 3;4);

Çalışmada tespit edilen nematod türleri hakkında bilgiler aşağıda verilmiştir:

Cins: *Meloidogyne* Goeldi, 1892

*Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949

*Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949

*Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949

Cins: *Xiphinema* Cobb, 1913

*Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950

*Xiphinema italiae* Meyl, 1953

*Xiphinema pachtaicum* (Tulaganov, 1938) Kirjanova, 1951

Çizelge 3. *Meloidogyne* spp. ve *Xiphinema* spp. bitki paraziti nematod gruplarının bulaşıklık durumları

İl	İlçe	Sürvey yapılan bağ sayısı (Adet)	<i>Meloidogyne</i> spp. ve <i>Xiphinema</i> spp. ile bulaşık bağ oranı (%)	Temiz bağ oranı (%)
MANİSA	Merkez	22	36,36	63,64
	Saruhanlı	22	36,36	63,64
	Turgutlu	32	18,75	81,25
	Salihli	23	43,48	56,52
	Alaşehir	35	42,86	57,14
	Sarıgöl	13	23,10	76,90
	İL GENELİ	147	34,01	65,99
İZMİR	Kemalpaşa	10	30,00	70,00
	Torbali	3	66,67	33,33
	Menderes	11	9,10	90,90
	Urla - Seferihisar	3	66,67	33,33
	Menemen	14	35,71	64,29
	İL GENELİ	41	31,71	68,29
	BÖLGE GENELİ	188	33,51	66,49

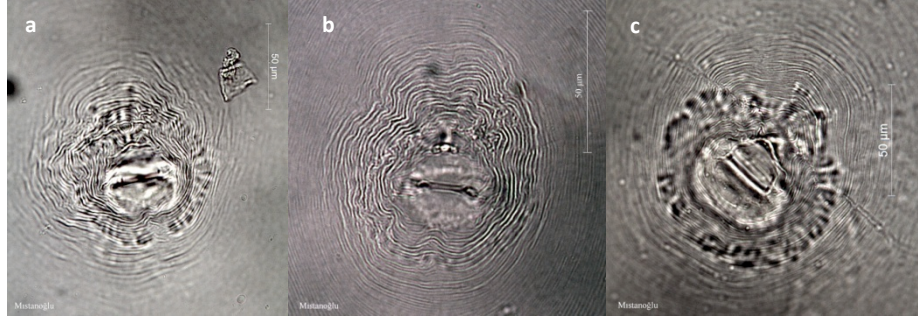
Çizelge 4. *Meloidogyne* ve *Xiphinema* cinslerine dahil türlerin yaygınlık oranları (%)

İl	İlçe	<i>M. arenaria</i>	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	<i>X. index</i>	<i>X. italiae</i>	<i>X. pachtaicum</i>
MANİSA	Merkez	-	-	-	37,50	-	75,00
	Saruhanlı	-	-	-	37,50	-	100,00
	Turgutlu	-	-	-	-	16,67	100,00
	Salihli	-	-	10,00	-	30,00	90,00
	Alaşehir	-	6,67	6,67	26,68	6,67	80,00
	Sarıgöl	33,33	-	33,33	66,67	-	100,00
	İL GENELİ	2,00	2,00	6,00	24,00	10,00	88,00
İZMİR	Kemalpaşa	-	-	-	-	-	100,00
	Torbali	-	-	-	-	-	100,00
	Menderes	-	-	-	-	-	100,00
	Urla - Seferihisar	50,00	-	50,00	-	-	100,00
	Menemen	40,00	20,00	40,00	-	20,00	60,00
	İL GENELİ	23,08	7,69	23,08	-	7,69	84,62
	BÖLGE GENELİ	6,35	3,18	9,52	19,05	9,52	87,30

## Cins: *Meloidogyne* Goeldi, 1892

### Morfolojik tanımlama

Kök-ur nematod türlerinin morfolojik tanımlaması perineal pattern' a göre yapılmıştır. *M. arenaria* perineal şeklin varyasyonu çok yüksektir. Anal kesitlerinde stria'lar dorsal ve lateral olarak dalgalıdan düze kadar değişen şekillerde olabilmektedir (Şekil 2a). "Dorsal arch" adı verilen sırtta ait kemer yüksek olmayıp genellikle yuvarlaktır. Lateral alan belirgin değildir, ancak kutikula üzerindeki kırıklıklarla belirlenebilir. (Williams, 1975). Elde edilen perineal pattern sonuçları Eisenback et al. (1981) ve Williams (1975) çalışmalarına uygunluk göstermiştir.



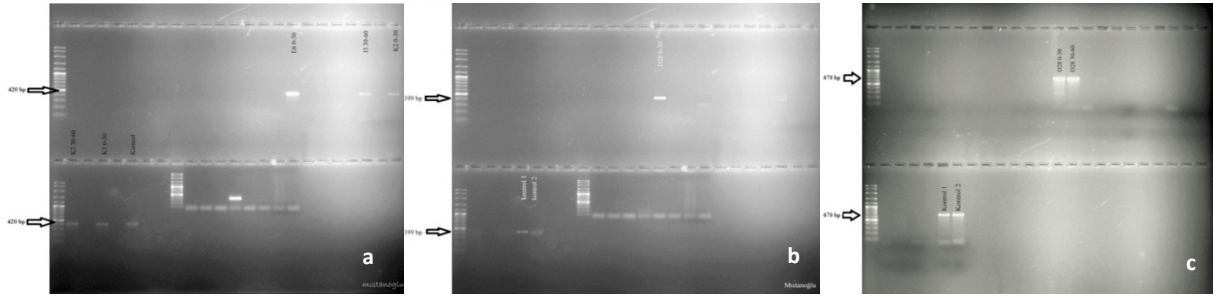
Şekil 2. İzmir ve Manisa illeri bağ alanlarında saptanan *Meloidogyne* spp.'ye ait anal kesitler: a) *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949; b) *Meloidogyne incognita* Kofoid & White, 1919, Chitwood, 1949; c) *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949.

*Meloidogyne incognita* anal kesitlerinde stria'lar çok yakın aralıklarla yerleşmiş, özellikle dorsal ve lateral olarak çok dalgalıdan düze kadar değişen şekillerde olup bazen zigzaglar çizmektedir (Şekil 2b). "Dorsal arch" adı verilen sırtta ait kemer oldukça yüksek kare şeklinde olup, bazen yuvarlaklaşabilmektedir. Lateral alan belirgin değildir, ancak kutikula üzerindeki çizgiler lateralde kırıklıklarla belirlenebilir. Genellikle bu uçlar çatallanabilmekte ve bu çizgiler vulval ağıza doğru yönelmektedir (Williams, 1973). Elde edilen perineal pattern sonuçları Eisenback et al. (1981) ve Williams (1973) çalışmaları ile paralellik göstermiştir.

*Meloidogyne javanica* anal kesitleri, genel olarak yuvarlaktan ovale kadar değişmekle beraber, bazen armut şeklinde de olabilir (Şekil 2c). Stria' lar düz veya dalgalı olabilmektedir. En tipik özelliği, lateral alanların her iki tarafından bir çift belirgin çizgiyle ayrılmış olmasıdır. Böylece oluşan anal kesit sırt ve karın bölgesi olarak belirgin bir şekilde ayırt edilebilmektedir. Lateral alan kuyruktan itibaren belirli bir uzaklığa kadar görülebilirse de boyun bölgesine kadar uzanamaz. Sırtta ait kemer yuvarlak, hafifçe yüksek, bazen de sırt tarafına doğru basılmış ve yassılaştığı durumdadır. Phasmid'ler genellikle belirgindir (Williams, 1972). Elde edilen perineal pattern sonuçları Eisenback et al. (1981) ve Williams (1972) çalışmalarına benzer bulunmuştur.

### Moleküler tanımlama

Kök-ur nematodlarının teşhisi türlere özgü primerlerle yapılmıştır. *M. arenaria* bireylerinin tanımlanmasında Far ve Rar primerleri kullanılmıştır. Bu primerlerin, pozitif olan örneklerde 420 bp'da bant oluşturdukları saptanmıştır (Şekil 3a). Zijlstra et al. (2000), dört farklı *M. arenaria* popülasyonu kullanarak yaptıkları çalışmada, tüm örneklerde 420 bp spesifik DNA bandını elde etmişlerdir. Benzer diğer bir çalışmada Kök-ur nematodlarının moleküler olarak tek bireyden tanımlanması için teşhis anahtarlarının oluşturulması amacıyla üç farklı *M. arenaria* popülasyonu kullanılmış ve bu örneklerde 420 bp DNA bandı elde edilmiştir (Adam et al., 2007). Devran & Söğüt (2009), Far / Rar primerleri ile yapmış oldukları moleküler çalışmada 7 farklı *M. arenaria* örneğinde 420 bp DNA bandını belirlemişlerdir. Bizim sonuçlarımız önceki çalışmalarla paralellik göstermiştir.



Şekil 3. İzmir ve Manisa illeri bağ alanlarında saptanan *Meloidogyne* spp.'ye ait DNA bant görüntüsü: a) *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949; b) *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949; c) *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 (Kontrol örneği Devran & Söğüt (2009) çalışmasından alınmıştır).

*Meloidogyne incognita*'nın moleküler tanımlanmasında, Inc-K14F ve Inc-K14R primerleri kullanılmıştır. Bu primerlerin, pozitif olan örneklerde yaklaşık 400 bp uzunlukta DNA bandı oluşturdukları saptanmıştır (Şekil 3b). Randig et al. (2002), Inc-K14F ve Inc-K14R primerleri kullanarak dört farklı *M. incognita* popülasyonunda yaklaşık 400 bp DNA bandını elde etmişlerdir. Bir diğer çalışmada Devran & Söğüt (2009), 60 farklı *M. incognita* popülasyonu üzerinde yapılan çalışmada beklenen DNA bandını elde etmişlerdir. Bizim bulgularımız önceki araştırma sonuçlarıyla uyumluluk göstermiştir.

*Meloidogyne javanica*'nın moleküler teşhisinde Fjav ve Rjav primerleri kullanılmıştır. Bu primerlerin, pozitif olan örneklerde yaklaşık 670 bp'da bant oluşturdukları saptanmıştır (Şekil 3c). Fjav ve Rjav primerleri kullanılarak yapılan moleküler çalışmalarda *M. javanica*'ya ait popülasyonlarda 670 baz DNA bandı elde edilmiştir (Zijlstra et al., 2000; Tzortzakakis et al., 2005). Batı Akdeniz Bölgesi'nde Kök-ur nematodu türlerinin moleküler tanımlanmaları amacıyla yürütülen çalışmada *M. javanica*'ya ait 28 popülasyonun tamamında beklenen 670 bp DNA bandını elde etmişlerdir (Devran & Söğüt, 2009). Bizim sonuçlarımız önceki araştırma sonuçlarıyla benzerlik göstermiştir.

### Morfolojik ve moleküler tanımlamaların karşılaştırılması

Bu çalışmada türler, morfolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak tanımlanmıştır. *M. arenaria*'ya ait dört popülasyonun dördü hem morfolojik hem de moleküler, *M. incognita*'ya ait iki popülasyonun, biri hem morfolojik hem de moleküler, diğeri ise yalnızca morfolojik; *M. javanica*'ya ait altı popülasyonun biri hem morfolojik hem de moleküler, beşi ise yalnızca morfolojik yöntemler kullanılarak tanımlanmıştır.

### Cins: *Xiphinema* Cobb, 1913

#### Morfolojik tanımlama

*Xiphinema* cinsine bağlı türlerin morfolojik tanımlamaları, morfometrik ölçüm sonuçlarına göre yapılmıştır. Buna göre, *X. index* bireylerinde, vücut uzamış silindirik şekilde olup yaklaşık 3 mm uzunluğundadır. Dudak bölgesi yarım küre şeklindedir. Odontostylet güçlü, 126 µm uzunlukta ve iğne şeklindedir. Odontophore ortalama olarak 70µm uzunlukta ve 3 geniş basal yakaya sahiptir. "Basal ring" dudak başlangıcından 108 µm uzaklıktadır. Oesophageal bulb vücut genişliğinin yaklaşık 2,5 katı uzunluğundadır. Vulva vücudun yaklaşık olarak %38–40'luk bölümünde yer almaktadır. Yumurtalıklar çifttir. Kuyruk meme şeklinde, anüs bölgesi vücut genişliğinin 1–1,3 katı kadar uzunlukta ve konveks şeklindedir (Heyns, 1971) (Şekil 4, Çizelge 5). Çalışmada elde edilen verilerin önceki yapılan Heyns (1971) ve Arınç (1982) çalışmalarıyla genellikle uyum gösterdiği saptanmıştır.

Çizelge 5. *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950'in farklı popülasyonlarına ait ergin dişilerinin morфометrik ölçüm değerlerinin karşılaştırılması

	Bu çalışmaya göre	Heyns (1971)	Arınç (1982)
n	11	10	18
L (mm)	3,03 (2,17–3,33)	3,25 (2,87 –3,58)	3,1 (2,6–3,6)
a	66,74 (61,9–74,28)	57 (54–61)	58,5 (43,9–71,3)
b	7,36 (5,32–10,62)	6,6 (6,2–8)	7 (6,2–7,9)
c	71,51 (48,2–86,93)	88 (72–98)	75 (60,8–90,9)
c'	1,24 (1,01–1,51)	0,9 (0,7–1,1)	1 (0,7–1,3)
Odontostylet (µm)	120,79 (86,11–145)	129 (123–134)	106,9 (91,8–145,8)
Odontophore (µm)	69,07 (53,5–86,7)	78 (74–81)	104,7 (72,9–148,5)
Kuyruk (µm)	40,26 (25–50,7)	-	42 (35,1–48,6)
V (%)	41,32 (33,96–48,81)	41 (40–42)	40,4 (38,3–43)

Şekil 4. *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950 'e ait a) baş ve özofagus bölgesi, b) vulva bölgesi, c) kuyruk bölgesi.

*Xiphinema italicae* bireylerinde vücut ince olup yaklaşık 3 mm uzunluğundadır. Dudak bölgesi hafif yuvarlaklaşmış ve 10–12 µm genişliğindedir. Odontostylet tabanı çatallanmış yaklaşık 95 µm uzunlukta ve iğne şeklindedir. Odontophore yaklaşık olarak 60 µm uzunlukta ve 8–11 µm genişlikte, 3 basal yakaya sahiptir. “Basal ring” dudak başlangıcından 81 µm uzaklıktadır. Vulva vücudun orta kısmının biraz ön bölümünde yer almakta, yumurtalıklar vulvadan iki yana yayılmaktadır. Kuyruk, anüs bölgesi vücut genişliğinin, 2,8–4,3 katı kadar uzunlukta ve konik şekilde uzamaktadır (Martelli et al., 1966) (Şekil 5, Çizelge 6). Çalışmada elde edilen verilerin önceki yapılan Martelli et al. (1966), Arınç (1982) ve Elekçioğlu (1992) çalışmalarıyla genellikle uyumluluk göstermiştir.

Çizelge 6. *Xiphinema italicae* Meyl, 1953'nin farklı popülasyonlarına ait ergin dişilerinin morфометrik ölçüm değerlerinin karşılaştırılması

	Bu çalışmaya göre	Martelli et al. (1966)	Arınç (1982)	Elekçioğlu (1992)
n	7	12	16	1
L (mm)	3,1 (2,81–3,5)	3,04 (2,65–3,47)	2,8 (2,5–3,1)	2,86
a	102,1 (90,84–112,02)	97,0 (84–109)	87,7 (69,8–97,8)	97,0
b	7,46 (6,32–8,58)	8,1 (7,5–8,8)	7,6 (6,7–8,5)	7,8
c	33,29 (30,15–38,84)	42,0 (38–47)	35,5 (30,6–39,8)	37,0
c'	4,62 (3,81–5)	3,5 (3,2–3,9)	4 (3,1–4,7)	3,8
Odontostylet (µm)	97,94 (87,7–112,3)	94,0 (87–99)	89,2 (70,2–118,8)	96
Odontophore (µm)	63,39 (58,5–71,2)	57,0 (55–58)	67,6 (40,5–91,8)	51,0
Kuyruk (µm)	92,6 (84,1–100,3)	-	81,7 (75,6–89,1)	79,0
V (%)	45,92 (42,28–47,88)	45 (43–48)	45,2 (43,3–47,5)	46





Şekil 5. *Xiphinema italiae* Meyl, 1953' ye ait a) baş ve özofagus bölgesi, b) vulva bölgesi, c) kuyruk bölgesi.

*Xiphinema pachtaicum* bireylerinde vücut silindirik şekilde olup kademeli olarak incelmekte ve "C" şeklini alarak yaklaşık 2mm uzunluğa ulaşmaktadır. Dudak bölgesi düğme şeklinde olup 9,6 µ genişliğindedir. Odontostylet güçlü, 83 µ uzunlukta, Odontophore ise basal yakayla birlikte 50 µ uzunlukta. Vulva, yarık şeklinde ve vücudun ortasında yer almaktadır. "Basal ring" dudak başlangıcından 78 µ uzaklıktadır. Oesophagus, Basal bulba birlikte tüm vücudun üçte birini kaplamaktadır. Yumurtalıklar bir çifttir. Kuyruk daralmış konik şekilli 26 µ uzunluğundadır (Siddiqi & Lamberti, 1977) (Şekil 6., Çizelge 7). Çalışmada elde edilen verilerin önceki yapılan Lamberti & Martelli (1971), Arınç (1982) ve Elekçioğlu (1992) çalışmalarıyla genellikle paralel olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 7. *Xiphinema pachtaicum* (Tulaganov, 1938) Kirjanova, 1951'un farklı popülasyonlarına ait ergin dişilerinin morфометrik ölçüm değerlerinin karşılaştırılması

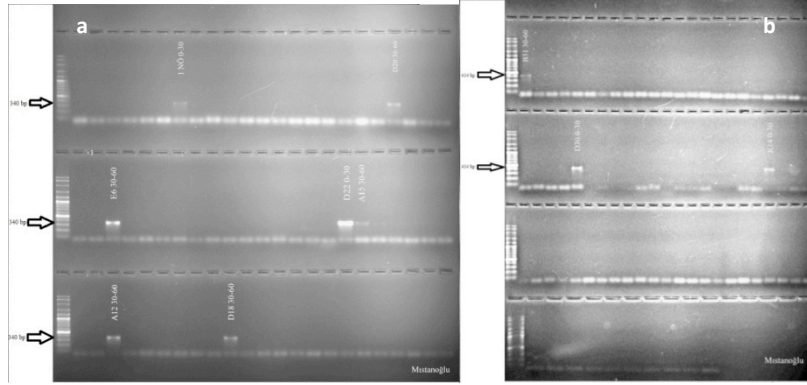
	Bu çalışmaya göre	Lamberti & Martelli (1971)	Arınç (1982)	Elekçioğlu (1992)
n	15	10	30	10
L (mm)	2,02 (1,41–2,3)	1,8 (1,5–2,1)	1,9 (1,6–2,2)	1,71 (1,55–1,85)
a	74,47 (52,1–114,26)	56 (50–63)	64,2 (46,6–73,1)	67 (61–79)
b	7,34 (4,71–9,26)	6,5 (4,7–7,5)	6,2 (5–8,4)	7,1 (5,6–8,3)
c	63,94 (42,22–78,09)	57 (47–67)	59,2 (46,4–78,2)	60 (54–67)
c'	1,82 (1,51–2,43)	1,7 (1,5–2,1)	1,7 (1,1–2,3)	1,6 (1,6–2,1)
Odontostylet (µm)	91,72 (73,7–114)	87 (70–99)	71,3 (59,4–94,5)	80 (70–88)
Odontophore (µm)	52,01 (41–69,3)	48 (42–51)	68,6 (43,2–81)	46 (37–50)
Kuyruk (µm)	31,98 (27,75–37)	–	33,9 (27–72,9)	–
V (%)	56,66 (53,62–60,8)	57 (55–58)	59,1 (54,9–62,1)	57 (55–59)



Şekil 6. *Xiphinema pachtaicum* (Tulaganov, 1938) Kirjanova, 1951'a ait a) baş ve özofagus bölgesi, b) vulva bölgesi, c) kuyruk bölgesi.

### Moleküler tanımlama

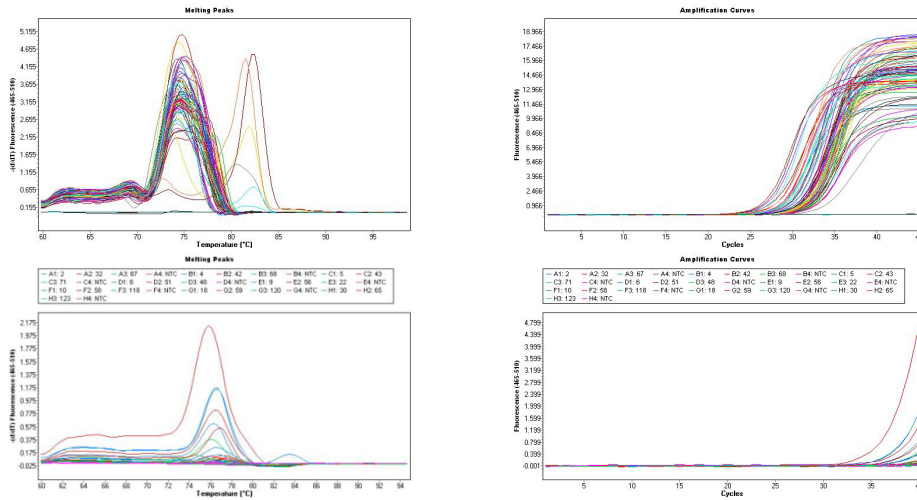
*Xiphinema* cinsine bağlı nematodların teşhisi türlere özgü primerlerle yapılmıştır. *X. index* türünün moleküler teşhisinde I27 ve A-ITS1 primerleri kullanılmıştır. Bu primerlerin, pozitif olan örneklerde 340 bp' da bant oluşturdukları saptanmıştır (Şekil 7a). Bu sonuç, *Xiphinema* cinsi nematodların moleküler olarak tanımlanması amacıyla yapılan ve yedi farklı *X. index* izolatıyla çalışılan Wang et al. (2003)'in çalışmasının bulgularıyla uyumluluk göstermiştir.



Şekil 7. İzmir ve Manisa illeri bağ alanlarında saptanan *Xiphinema* spp. bulunan örneklerle ait DNA bant görüntüsü: a) *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950; b) *Xiphinema italiae* Meyl, 1953.

*Xiphinema italiae* türünün moleküler teşhisinde ITA26 ve A-ITS1 primerleri kullanılmıştır. Bu primerlerin, pozitif olan örneklerde 414 bp'da bant oluşturdukları saptanmıştır (Şekil 7 b). Bu bulgular, *Xiphinema* cinsi nematodların moleküler olarak tanımlanması amacıyla yürütülen çalışmada elde edilen sonuçlarla uyumluluk göstermiştir (Wang et al., 2003).

*Xiphinema pachtaicum* türünün moleküler olarak tanımlanması Real Time PCR yöntemiyle yapılmıştır. Türün teşhisinde XpaF ve XpaR primerleri kullanılmıştır. Bu primerler ilk kez bu çalışma kapsamında dizayn edilmiş ve pozitif örneklerde 80 bp'da DNA bandı oluşturdukları belirlenmiştir. Bu uzunluğu PCR'da net olarak gözlemlenmenin güçlüğünden dolayı Real-time PCR'da SYBR GREEN Master Mix kullanılarak çalışılmıştır. Sonuçlar erime (melting) analiz eğrilerine göre değerlendirilmiştir (Şekil 8).



Şekil 8. *Xiphinema pachtaicum* (Tulaganov, 1938) Kirjanova, 1951 bulunan örneklerle ait Real time PCR sonuç eğrileri.

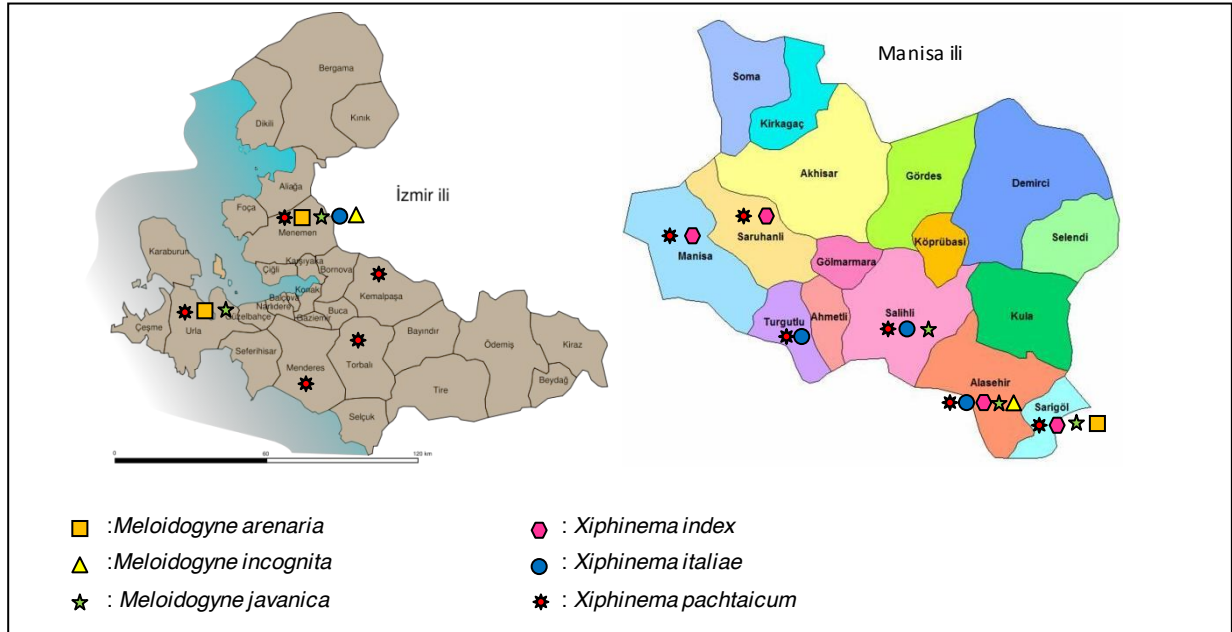
### Morfolojik ve moleküler tanımlamaların karşılaştırılması

Bu çalışmada türler, morfolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak tanımlanmıştır. *X. index*'e ait 12 popülasyonun altısı hem morfolojik hem de moleküler, altısı ise yalnızca morfolojik; *X. italiae*'ya ait altı popülasyonun, üçü hem morfolojik hem de moleküler, üçü ise yalnızca morfolojik; *X. pachtaicum*'a ait 55 popülasyonun 48'i hem morfolojik hem de moleküler, yedisi ise yalnızca morfolojik yöntemler kullanılarak tanımlanmıştır.

### *Meloidogyne* ve *Xiphinema* türlerinin yaygınlıkları

Bu çalışmada, *M. arenaria*, Manisa ili Sarıgöl ilçesinde 1 adet, İzmir ili Urla ilçesinde bir adet ve Menemen ilçesinde iki adet olmak üzere survey yapılan toplam 188 bağ alanının dördünde tespit edilmiştir. *M. incognita*, Manisa ili, Alaşehir ilçesinde bir adet ve İzmir ili Menemen ilçesinde bir adet olmak üzere survey yapılan toplam 188 bağ alanının ikisinde belirlenmiştir. *M. javanica* ise, Manisa ili Salihli ilçesinde bir adet, Alaşehir ilçesinde bir adet Sarıgöl ilçesinde bir adet; İzmir ili Urla ilçesinde bir adet, Menemen ilçesinde iki adet olmak üzere survey yapılan toplam 188 bağ alanının altısında tespit edilmiştir (Şekil 9).

Bu çalışmada, *X. index*, Manisa ili, Merkez ilçesinde üç adet, Alaşehir ilçesinde dört adet, Sarıgöl ilçesinde iki adet ve Saruhanlı ilçesinde üç adet olmak üzere survey yapılan toplam 188 bağ alanının 12'sinde tespit edilmiştir. *X. italiae*; Manisa ili, Turgutlu ve Alaşehir ilçelerinde 1'er adet, Salihli ilçesinde üç adet; İzmir ili Menemen ilçesinde bir adet olmak üzere survey yapılan toplam 188 bağ alanının altısında belirlenmiştir. *X. pachtaicum* ise; Manisa ili, Merkez ilçesinde altı adet, Saruhanlı ilçesinde sekiz adet, Turgutlu ilçesinde altı adet, Salihli ilçesinde dokuz adet, Alaşehir ilçesinde 12 adet, Sarıgöl ilçesinde üç adet; İzmir ili, Kemalpaşa ilçesinde üç adet, Torbalı ilçesinde iki adet, Mendere ilçesinde bir adet, Urla ilçesinde iki adet ve Menemen ilçesinde üç adet olmak üzere survey yapılan toplam 188 bağ alanının 55'inde tespit edilmiştir (Şekil 9).



Şekil 9. İzmir ve Manisa illeri bağ alanlarının Kamalı ve Kök-ur nematod türleriyle bulaşıklık haritası.

Çalışmada bazı örneklerde morfolojik ve moleküler tanımlama sonuçları birbirlerinden farklılık göstermiştir. Bu farklılıklar, örnek alınan alanlarda tespit edilen türlerin karışık popülasyonlardan oluşmasından veya tanımlamaların saf kültür örnekleri üzerinde yürütülmemiş olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Kök-ur ve kamalı nematodlar ile bulaşıklığın görüldüğü bağ alanlarının sulak alanlara olan yakınlıkları ve bu alanlarda belirli dönemlerde görülen su baskınları, söz konusu nematodların bu sayede geniş alanlara yayılmış olabileceği olasılığını arttırmaktadır. Bölgede asma fidan üretimi, farklı özelliklere (geleneksel, modern vb.) sahip tesislerde yürütülmektedir. Bu tesisler, çoğunlukla nematodların tespit edildiği alanlarda (Salihli, Alaşehir vb.) faaliyet göstermektedir. Bu nedenle söz konusu tesislerde nematoddan ari fidan üretim kurallarına özen gösterilmesi gerekmektedir. Aksi takdirde nematod bulaşıklığı görülen fidanların temiz bağ alanlarında kullanılması nematodların geniş alanlara yayılma riskini arttırmaktadır.

## Teşekkür

Çalışmanın tüm aşamalarında tecrübe, bilgi ve desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. İbrahim Halil ELEKÇİOĞLU (Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Adana)'na, ayrıca arazi çalışmalarındaki destek ve yardımlarından dolayı Dr. Serkan ÖNDER (Manisa Bağcılık Araştırma İstasyonu, Manisa), Zir. Yük. Müh. Aydın PEÇEN (Diyarbakır Ziraat Mücadele Araştırma İstasyonu Müdürlüğü, Diyarbakır) ve Metin CEYHAN (Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İzmir)'a ayrıca çalışmayı 2011-ZRF-044 No'lu proje ile finansal olarak destekleyen Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na teşekkür ederiz.

## Yararlanılan Kaynaklar

- Aballay, E., P. Persson & A. Martensson, 2009. Plant-parasitic nematodes in Chilean vineyards. *Nematropica*, 39: 85-97.
- Adam, M.A.M., M.S. Phillips & V.C. Blok, 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.
- Anonymous, 2011a. FAOSTAT Bitkisel Üretim İstatistikleri. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor> (Erişim tarihi: Temmuz 2012).
- Anonymous, 2011b. TÜİK Bitkisel Üretim İstatistikleri. <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> (Erişim tarihi: Temmuz 2012).
- Arıncı, Y., 1982. Ege Bölgesi Bağ Alanlarında Zararlı Olan *Xiphinema* Türleri (Nematoda: Longidoridae), Yayılışı, Konukçuları ve Zararları Üzerinde Araştırmalar. İzmir Bölge Ziraat Mücadele Araştırma Enstitüsü, Araştırma Eserleri Serisi:41, İzmir, 83 s.
- Arias, M. & J. Fresno, 1994. Agroecological characterization of *Xiphinema index* in Spain. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 24: 403-411.
- Barbercheck, M. & J. Heyns, 1986. Occurrence of *Xiphinema* in South Africa plant improvement vineyards. *Phytophylactica*, 18: 59-61.
- Bora, T. & İ. Karaca, 1970. Kültür Bitkilerinde Hastalığın ve Zararın Ölçülmesi. Ege Üniversitesi Yardımcı Ders Kitabı, Yayın No: 167, E.Ü. Matbaası, Bornova-İzmir, 43s.
- Brown, D.J.F. & J.M. Halbrecht, 1997. "Identification of *Xiphinema* Species (Nematoda: Dorylaimidae), 177-222". In: An Introduction to Virus Vector Nematodes and Their Associated Viruses. (Ed: M.S.N. De A Santos, I.M. de O. Abrantes, D.J.F. Brown, R.M. Lemos). Grafica de Coimbra Lda, Santos, Portugal, 535p.
- Brown, D.J.F. & D.L. Trudgill, 1998. "Nematode Transmission of Plant Viruses: A 30 year perspective 121-125". *Host Pathogen Interactions & Crop Protection*, SCRI Annual Report, 233 pp.
- Coiro, M.I., T.J.W. Alphey & A. Agostinelli, 1989. Distribution of Trichodorids in the vineyards of the province of Trento (Northeastern Italy). *Nematologia Mediterranea*, 17: 45-53.
- Coolen, W.A. & C.J. D'Herde, 1972. A Method for the Quantitative Extraction of Nematodes from Plant Tissue. Publication of the State Nematology and Entomology Research Station, Merelbeke, Belgium, pp. 77.
- Devran, Z. & M.A. Söğüt, 2009. Distribution and identification of Root-knot nematodes from Turkey. *Journal of Nematology*, 41 (2): 128-133.
- 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* Species) with a Pictorial Key. A Coop. Publ. Depts. Plant Pathol. and Genetics and U.S. Agency for International Development, Raleigh, NC, pp. 52.
- Elekçioğlu, İ.H., 1992. Untersuchungen zum Auftreten and zur Verbreitung Phytoparasitaerer Nematoden in den Landwirtschaftlichen Hauptkulturen des Ostmediterranean Gebietes der Türkei. (Doğu Akdeniz Bölgesi Önemli Kültür Bitkilerindeki Nematod Türleri ve Bölgedeki Dağılımları Üzerinde Araştırmalar). *Plits*, 10(5), pp. 120.
- Elekçioğlu, İ.H. & N. Uygun, 1994. "Occurrence and distribution of plant parasitic nematodes in cash crop in Eastern Mediterranean Region of Turkey, 409-410". *Proc. of 9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*, Kuşadası, Aydın, Türkiye.
- Ertürk, H. & S. Özkut, 1973. "Ege Bölgesi şartlarında Kök-ur nematodlarına dayanıklı asma anacı araştırılması, 1-7". IV. Bilim Kongresi, 5-8 Kasım 1973, Ankara.
- Ferris, H., 1976. Observation on the distribution of *Meloidogyne* spp. in a vineyard Soil. *Journal of Nematology*, 8 (2): 183-184.

- Flegg, J.J.M., 1967. Extraction of *Xiphinema* and *Longidorus* species from soil by a modification of Cobb's decanting sieving technique. *Annals of Applied Biology* 60: 429-437
- Hartman, K.M. & J.N. Sasser, 1985. "Identification of *Meloidogyne* Species on The Basis of Differential Host Test and Perineal Pattern Morphology, 69–77 pp". In: *An Advanced Treatise on Meloidogyne*, Vol. II. Methodology. (Eds: Barker, K.R., C.C. Carter & J.N. Sasser). Printed by North Carolina State University Graphics, Raleigh, North Carolina, pp. 223.
- Heyns, J., 1971. *Xiphinema index*. C.I.H. Descriptions of Plant-Parasitic Nematodes. Set 3 No: 45, pp. 4.
- Hooper, D.J., 1986. Extraction of Free Living Stages from Soil, 5–30. (Ed: Southey, J.F.) In: *Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes*. Her Majesty's Stationery Office, London, 148p.
- Hunt, D.J., 1993. Aphelenchida, Longidoridae and Trichodoridae: Their Systematics and Bionomics. CAB International, CABI Publishing, Wallingford, UK. pp. 384.
- Lamberti, F. & G.P. Martelli, 1971. Notes on *Xiphinema mediterraneum* (Nematoda: Longidoridae). *Nematologica*, 17: 75-81.
- Lamberti, F., N. Vovlas & H.J. Hugo, 1990. Damage by *Meloidogyne javanica* on Vines in South Africa. *Nematologia Mediterranea*, 18:1-3.
- Martelli, G.P., E. Cohn & A. Dalmaso, 1966. A redescription of *Xiphinema italiae* Meyl, 1953 and its relationship to *Xiphinema arenarium* Luc et Dalmaso, 1963 and *Xiphinema conurum* Siddiqi, 1964. *Nematologica*, 12: 183-194.
- Randig, O., M. Bongiovanni, R.M.D.G. Carneiro & P. Castagnone-Sereno, 2002. Genetic diversity of Root-knot nematodes from Brazil and development of SCAR marker specific for the coffee damaging species. *Genome*, 45: 862-870.
- Raski, D.J., 1988. Dagger and Needle Nematodes, 56-59. (Eds: Pearson, R.C. & A.C. Goheen) In: *Compendium of Grape Diseases*. American Phytopathological Society Press, St Paul, Minnesota. 93 p.
- Siddiqi, M.R. & F. Lamberti, 1977. *Xiphinema mediterraneum* Martelli & Lamberti, A junior synonym of *X. pachtaicum* (Tulaganov) Kirjanova. *Nematologia Mediterranea*, 5: 133-135.
- Siddiqi, M.R., 2000. *Tylenchida Parasites of Plants and Insects*. CABI Publishing, UK, pp. 833.
- Tzortzakakis, E.A., M.A.M. Adam, V.C. Blok, C. Paraskevopoulos & K. Bourtzis, 2005. Occurrence of resistance-breaking populations of Root-knot nematodes on tomato in Greece, *European Journal of Plant Pathology*, 113: 101-105.
- Wang, X., N. Bosselut, C. Castagnone, R. Voisin, P. Abad & D. Esmenjaud, 2003. Multiplex polymerase chain reaction identification of single individuals of the longidorid nematodes *Xiphinema index*, *X. diversicaudatum*, *X. vuitinezi* and *X. italiae* using specific primers from ribosomal genes. *Phytopathology*, 93: 160–166.
- Weischer, B., 1993. Nematode-Virus Interactions, 217-231 pp. In: *Nematode Interactions* (Ed: Khan, M.W.). Chapman and Hall, London, Glasgow, New York, Tokyo, Melbourne, Madras, 377 p.
- Williams, K.J.O., 1972. *Meloidogyne javanica*. C.I.H. Descriptions of Plant-Parasitic Nematodes. Set 1 No: 3, pp 4.
- Williams, K.J.O., 1973. *Meloidogyne incognita*. C.I.H. Descriptions of Plant-Parasitic Nematodes. Set 2 No: 18, pp 4.
- Williams, K.J.O., 1975. *Meloidogyne arenaria*. C.I.H. Descriptions of Plant-Parasitic Nematodes. Set 5 No: 62, pp 4.
- Zijlstra, C., D.T.H.M. Donkers - Venne & M. Fargette, 2000. Identification of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* using sequence characterized amplified region (SCAR) based PCR assays. *Nematology*, 2: 847- 853.