



T. C.

ORDU ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞU KARADENİZ BÖLGESİ YAPRAK LAHANA (*Brassica oleracea* var. *acephala*) ÜRETİM ALANLARINDAKİ KİST NEMATODLARI (*Heterodera* spp.)'NİN TESPİTİ VE BULAŞIKLIK DURUMUNUN BELİRLENMESİ

BUĞRA GÜVERCİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ORDU 2024

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; 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.

BUĞRA GÜVERCİN

Bu çalışma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünün B-2205 numaralı projesi ile desteklenmiştir

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

DOĞU KARADENİZ BÖLGESİ YAPRAK LAHANA (*Brassica oleracea* var. *acephala*) ÜRETİM ALANLARINDAKİ KİST NEMATODLARI (*Heterodera* spp.)'NİN TESPİTİ VE BULAŞIKLIK DURUMUNUN BELİRLENMESİ

BUĞRA GÜVERCİN

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 71 SAYFA

Doç. Dr. Faruk AKYAZI

Bu çalışma, Doğu Karadeniz Bölgesi yaprak lahana (*Brassica oleracea* var. *acephala*) üretim alanlarındaki kist nematodları (*Heterodera* spp.)'nin tespiti ve bulaşıklık durumunun belirlenmesi amacıyla 2021-2022 yıllarında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 2021 ve 2022 yıllarında Ordu, Giresun, Trabzon, Rize ve Artvin illerini kapsayan 5 il'e ait 56 ilçeden 77 örnekleme yapılmıştır. Toprak örnekleri yaprak lahana bitkisi kök civarından alınmıştır. Nematodlar, Cobb's elek yöntemi kullanılarak elde edilmiştir. Elde edilen nematodların morfolojik karakterleri ve moleküler analizler kullanılarak teşhisleri gerçekleştirilmiştir. Moleküler analiz için, 28S ribozomal RNA'nın (rRNA) (ITS1, 5.8S, ITS2) gen bölgesini kapsayan ribozomal DNA bölgesi, TW81/AB28 primer setleri kullanılarak ve 28S ribozomal RNA'nın (rRNA) D2-D3 genişleme bölgeleri, D2A/D3B primer setleri kullanılarak amplifiye edilmiştir. Ayrıca *Heterodera carotae* Jones, 1950 için türe özgü primer seti olan (Car-F/Car-R) kullanılarak mitokondriyal DNA'nın (mtDNA) Sitokrom Oksidaz I (cox1) bölgesi kullanılmıştır. Yapılan analizler sonucunda Doğu Karadeniz bölgesi yaprak lahana yetişen alanlarda kist nematodlarından *H. carotae*, *H. cruciferae* Franklin, 1945 ve *H. fici* Kirjanova, 1954 türleri teşhis edilmiştir. Çalışmada yaprak lahana üretimi yapılan alanlarda Giresun ili %35.29'lük bulaşıklık oranı ilk sırada gelmekte olup bunu %21.05 bulaşık oranı ile Trabzon ve Ordu illeri, %13.33 ile Rize ili takip etmiştir. Artvin ilinde ise alınan örneklerden kist nematoduna rastlanmamıştır. Tespit edilen türler içerisinde en yaygın tür %76.4 oranı ile *H. cruciferae* tespit edilmiş olup, bunu %17.6 ile *H. carotae*, %5.8 ile *Heterodera fici* türleri takip etmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yaprak lahana, Kist nematodları, *Heterodera* spp., ITS.

ABSTRACT

DETERMINATION AND DISTRIBUTION OF CYST NEMATODES (*Heterodera* spp.) IN KALE (*Brassica oleracea* var. *acephala*) PRODUCTION AREAS IN EASTERN BLACK SEA REGION OF TÜRKİYE

Buğra GÜVERCİN

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED
SCIENCES

PLANT PROTECTION

MASTER THESIS, 71 PAGES

(SUPERVISOR: Assoc. Prof. Dr. Faruk AKYAZI)

This study was carried out in 2021-2022 in order to detect cyst nematodes (*Heterodera* spp.) in kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) production areas of the Eastern Black Sea Region and to their infestation status. For this purpose, 77 samples were collected from 56 districts covering Ordu, Giresun, Trabzon, Rize and Artvin provinces in 2021 and 2022. Soil samples were taken from around the root of the kale plant. Nematodes were obtained using Cobb's sieve method. The nematodes were identified using morphological characters and molecular analysis. For molecular analysis, the ribosomal DNA region including the gene region of 28S ribosomal RNA (rRNA) (ITS1, 5.8S, ITS2) was amplified using primer sets TW81/AB28 and the D2-D3 expansion segments of 28S ribosomal RNA (rRNA) were amplified using primer sets D2A/D3B. In addition, the Cytochrome Oxidase I (cox1) region of mitochondrial DNA (mtDNA) was used using the species-specific primer set (Car-F/Car-R) for *Heterodera carotae*. As a result of the analysis, cyst nematodes *Heterodera carotae*, *Heterodera cruciferae* and *Heterodera fici* species were identified in the areas where kale grows in the Eastern Black Sea region. In the study, Giresun province was the first with a 35.29% infestation rate in the areas where kale was produced, followed by Trabzon and Ordu provinces with 21.05% infestation rate, and Rize province with a 13.33%. No cyst nematode was found in the samples taken in Artvin province. In the study, among the species detected, the most common species was *H. cruciferae* with 76.4%, followed by *H. carotae* at 17.6%, and *H. fici* at 5.8%.

Keywords: Kale, Cyst nematodes, *Heterodera* spp., ITS.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın tüm aşamalarında hem yardımını hem de manevi olarak yanımda hissettiğim, bu günlere gelmemde önemli katkısı olan değerli hocam Doç. Dr. Faruk AKYAZI'ya çok teşekkür ederim. Değerli katkılarından dolayı tez jürimde bulunan Prof. Dr. Ali GÜNCAN ve Prof. Dr. Sevilhan MENNAN'a teşekkürü borç bilirim.

Çalışmalarım boyunca bilgilerini ve desteklerini benden esirgemeyen Arş. Gör. Yunus Emre ALTUNÇ, Arş. Gör. Uğur Yiğit, Arş. Gör. Mete Soysal, Arş. Gör. Sefa GÜN, Öğr. Gör. Dr. Anıl Fırat FELEK ve Dr. Öğr. Üyesi Umut ATEŞ hocalarıma teşekkür ederim.

Değerli görüşlerini ve desteklerini benden esirgemeyen Doç. Dr. Rana AKYAZI'ya ayrıca teşekkürü borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarımda sürekli yanımda olan Ziraat Yüksek Mühendisi Onur YILMAZ ve Ziraat Mühendisi Burcu ÖZEN'e ayrıca beni yalnız bırakmayan Ziraat Yüksek Mühendisi Yaren GÜREL BİRSEN, Ziraat Yüksek Mühendisi Şaziye KARAYAR, Ziraat Mühendisi Tuğba Nisa BAHAT ve Ziraat Mühendisi Esra KARAMAN'a teşekkür ediyorum.

Beni akademik hayatım boyunca destekleyen, arkamda duran ve motive eden Sibel ŞEN'e ayrıca bir teşekkürü borç bilirim.

Katkılarını hatırlayamadığım ve bana destek olan herkese teşekkür ederim.

Bu güne kadar maddi ve manevi olarak beni destekleyen biricik ailem babam Mahmut GÜVERCİN, annem Behice GÜVERCİN ve abim Barış GÜVERCİN'e en büyük teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİL LİSTESİ	VII
ÇİZELGE LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
3. MATERYAL ve YÖNTEM	10
3.1 Materyal.....	10
3.2 Yöntem	10
3.2.1 Arazi Çalışmaları	10
3.2.2 Laboratuvar Çalışmaları	14
3.2.2.1 Nematodların ekstraksiyonu.....	14
3.2.2.1.1 Dönem larvaların topraktan elde edilmesi	14
3.2.2.1.2 Kist Nematodu dışı bireylerin (Kistlerin) ekstraksiyonu	15
3.2.2.2 Nematodların daimî preparatlarının yapılması	15
3.2.2.2.1 İkinci dönem larvaların preparatının yapılması	15
3.2.2.2.2 Kist nematodu ergininin perineal preparatının yapılması.....	16
3.2.2.3 Elde edilen nematodların morfolojik karakterlerinin tespit edilmesi.....	18
3.2.2.3.1 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizleri	18
3.2.2.4 Moleküler karakterlerin belirlenmesi	21
3.2.2.4.1 DNA Ekstraksiyonu.....	21
3.2.2.4.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile DNA'nın çoğaltılması.....	22
3.2.2.5 Filogenetik analiz	25
3.2.2.6 <i>Heterodera carotae</i> 'nin konukçu testi	25
3.2.2.7 Verilerin Değerlendirilmesi	26
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	27
4.1 Kist nematodlarının örnekleme alanlarındaki popülasyon yoğunluğu ve bulaşıklık durumu	27
4.1.1 <i>Heterodera</i> spp. Morfolojik ve Moleküler karakterlerinin belirlenmesi.....	33
4.1.1.1 <i>Heterodera cruciferae</i> (Franklin, 1945)	34
4.1.1.1.1 Morfolojik karakterleri	34
-2. Dönem larva morfolojisi	34
4.1.1.1.2 Dişinin morfolojik özellikleri.....	37
4.1.1.2 Moleküler Karakterler	38
4.1.1.3 Filogenetik analiz	39
4.2.1.1 <i>Heterodera carotae</i> (Jones, 1950).....	43
4.2.1.1.1 Morfolojik karakterleri	44
-2. Dönem Larva Morfolojisi	44
4.2.1.1.2 Dişinin morfolojik özellikleri.....	46
4.2.1.1.3 Erkeğin morfolojik özellikleri.....	47
4.2.1.1.4 Taramalı elektron mikroskobu (SEM).....	49
4.2.1.2 Moleküler Karakterler	53

4.2.1.3 Filogenetik analiz	53
4.3.1.1 <i>Heterodera fici</i> (Kir'yanova, 1954)	56
4.3.1.1.1 Morfolojik karakterleri	57
-2. Dönem Larva Morfolojisi	57
4.3.1.1.2 Dişinin morfolojik özellikleri.....	59
4.3.1.2 Moleküler Karakterler	60
4.3.1.3 Filogenetik analiz	61
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	66
6. KAYNAKÇA.....	68
ÖZGEÇMİŞ	72

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1 Karadeniz Bölgesinde kara lahana yetiştiriciliği yapılan ve örneklenen iller	11
Şekil 3.2 Yaprak lahana bitkisinin kök çevresinden toprak örneği alınması	13
Şekil 3.3 Cobb elek yöntemi ile topraktan nematodların elde edilmesi	15
Şekil 3.4 Kist nematodu dışısının preparat yapım aşamaları (Barker, 1985)	17
Şekil 3.5 Türlerin fotoğraflanması ve ölçümlerinin yapılması	18
Şekil 3.6 a) Kist ve larvaların syracuse camında osmium tetroksit içerisinde bekletilmesi, b) Yıkama işlemi için hazırlanan kist ve larvalar c) Osmium tetroksit tarafından siyahlaşmış kist ve larvalar	20
Şekil 3.7 Nematodların taralamalı elektron mikroskopunda görüntülenmesi; a) 10 mikron altın kaplanması b) disk üzerinde yerleştirilmesi c) görüntülenmesi	21
Şekil 3.8 DNA'ların a) PCR İle Çoğaltılması, b) Agaroz Jelde (% 1.5'luk) Yürütülmesi, c; d) UV Işınları Altında DNA'ların Bant Büyüklüklerinin Görüntülenmesi	23
Şekil 3.9 <i>Heterodera carotae</i> türünün saf kültürlerinin elde edilmesi	25
Şekil 3.10 Kist nematodu <i>Heterodera</i> spp.'nin yaprak lahana kökleri üzerindeki görünüşü.....	26
Şekil 4.1 Ordu ilinde 100 cm ³ toprakta olgun kist tespit edilen ilçelerdeki kistlerin popülasyon yoğunlukları.....	29
Şekil 4.2 Giresun ilinde 100 cm ³ toprakta olgun kist tespit edilen ilçelerdeki larva ve olgun kistlerin popülasyon yoğunlukları	30
Şekil 4.3 Trabzon ilinde 100 cm ³ toprakta olgun kist tespit edilen ilçelerdeki olgun kistlerin popülasyon yoğunlukları	31
Şekil 4.4 Rize ilinde 100 cm ³ toprakta olgun kist tespit edilen ilçelerdeki olgun kistlerin popülasyon yoğunlukları	32
Şekil 4.5 Artvin ilinde 100 cm ³ toprakta olgun kist tespit edilen ilçelerdeki olgun kistlerin popülasyon yoğunlukları	33
Şekil 4.6 <i>Heterodera cruciferae</i> 'nin doğu karadeniz bölgesinde tespit edildiği yerler	34
Şekil 4.7 <i>Heterodera cruciferae</i> 'nin İnfektif Juvenilinin a: Genel Görünümü, b: Anterior, c: Posterior Bölgesinin Görünümü	35
Şekil 4.8 Kist Nematodu <i>Heterodera cruciferae</i> 'nin a: yumurtası, b: olgun kistlerin toplu görüntüsü, c-d: Olgun dişi perineal yapısının görünüşü	37
Şekil 4.9 <i>Heterodera cruciferae</i> 'nin TW81/AB28 (a) ve D2A/D3B (b) Primerlerinde Vermiş Olduğu Bant Büyüklükleri.....	39
Şekil 4.10 <i>Heterodera cruciferae</i> 'nin ITS bölgesi maximum likelihood filogenetik ağacı.....	40
Şekil 4.11 <i>Heterodera carotae</i> 'nin Doğu Karadeniz Bölgesinde Tespit Edildiği Yerler	43
Şekil 4.12 <i>Heterodera carotae</i> 'nin İnfektif Juvenilinin A: Genel Görünümü, B-C: Anterior, D-E: Posterior Bölgesinin Görünümü.....	44
Şekil 4.13 Kist Nematodu <i>Heterodera carotae</i> 'nin a: yumurtası, b: olgun kistlerin toplu görüntüsü, c-d: Olgun dişi perineal yapısının görünüşü	46

Şekil 4.14 <i>Heterodera carotae</i> 'nin Erkeği A: Genel Görünümü, B-C: Anterior, D-E: Posterior Bölgesinin Görünümü	48
Şekil 4.15 <i>Heterodera carotae</i> kistin SEM fotoğrafları: (a) Kist tüm vücut; (b) Boyun bölgesi; (c), (d), (e), (f) Vulval bölge.	50
Şekil 4.16 <i>Heterodera carotae</i> ikinci dönem larva (J2) SEM fotoğrafları: (a), Baş bölgesi; (b), Dudak bölgesi; (c) yanıl çizgi; (d) Orta gövde; (e) Kuyruk, (f) Arka bölge.	51
Şekil 4.17 <i>Heterodera carotae</i> erkek SEM fotoğrafları: a, b, c: Anterior bölge; d: Orta vücutta lateral alan; e, f, g, h: Posterior bölge.	52
Şekil 4.18 <i>Heterodera carotae</i> 'nin TW81/AB28 (a), D2A/D3B (b) ve Car-f/Car-r Primerlerinde Vermiş Olduğu Bant Büyüklükleri.....	53
Şekil 4.19 <i>Heterodera carotae</i> ITS bölgesi maximum likelihood filogenetik ağacı .	54
Şekil 4.20 <i>Heterodera fici</i> 'nin Doğu Karadeniz Bölgesinde Tespit Edildiği Yerler .	56
Şekil 4.21 <i>Heterodera fici</i> 'nin İnfektif Juvenilinin A: Genel Görünümü, B: Anterior, C: Posterior Bölgesinin Görünümü	57
Şekil 4.22 Kist Nematodu <i>Heterodera fici</i> 'nin a: yumurtası, b: olgun kistlerin toplu görüntüsü, c-d: Olgun dişi perineal yapısının görünüşü	59
Şekil 4.23 <i>Heterodera fici</i> 'nin TW81/AB28 (1-2) ve D2A/D3B (3-4) Primerlerinde Vermiş Olduğu Bant Büyüklükleri.....	61
Şekil 4.24 <i>Heterodera fici</i> ITS bölgesi maximum likelihood filogenetik ağacı.....	62

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 3.1 Doğu Karadeniz Bölgesi karalahana bitkilerinde kist nematodlarının belirlenmesi için örnekleme yapılan yerler	12
Çizelge 3.2 Solüsyon I ve Solüsyon II hazırlanması için gerekli maddeler ve miktarları	16
Çizelge 3.3 Nematod türlerine göre kullanılan primerler	24
Çizelge 3.4 Nematod türlerine göre kullanılan primerler ve uygulanan anelling sıcaklıkları	24
Çizelge 4.1 Toprak elde edilen <i>Heterodera</i> spp. (larva+kist) ve türlerinin 100 cm ³ topraktaki yoğunlukları	28
Çizelge 4.2 <i>Heterodera cruciferae</i> 'nin 2. Dönem Larvasına (J2) Ait Morfometrik ve Allometrik Karakter Özellikleri (µm)	36
Çizelge 4.3 <i>Heterodera cruciferae</i> 'nin Olgun Kist ve Yumurtalarına Ait Morfometrik ve Allometrik Karakter Özellikleri (µm)	38
Çizelge 4.4 <i>Heterodera carotae</i> 'nin 2. Dönem Larvasına (J2) Ait Morfometrik ve Allometrik Karakter Özellikleri (µm)	45
Çizelge 4.5 <i>Heterodera carotae</i> 'nin Olgun Kist ve Yumurtalarına Ait Morfometrik ve Allometrik Karakter Özellikleri (µm)	47
Çizelge 4.6 <i>Heterodera carotae</i> 'nin Erkeğine Ait Morfometrik ve Allometrik Karakter Özellikleri (µm)	49
Çizelge 4.7 <i>Heterodera fici</i> 'nin İnfektif Juvenile Ait Morfometrik ve Allometrik Karakter Özellikleri (µm)	58
Çizelge 4.8 <i>Heterodera fici</i> 'nin Olgun Kist ve Yumurtalarına Ait Morfometrik ve Allometrik Karakter Özellikleri (µm)	60

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

bp	:	Bas Çifti
cm	:	Santimetre
cm³	:	Santimetre Küp
°C	:	Santigrat Derece
dk	:	Dakika
J2	:	Juvenil
µm	:	Mikrometre
µL	:	Mikro Litre
spp.	:	Türler

1. GİRİŞ

Yaprak lahana Brassicaceae (Turpgiller) familyasından olup, bilimsel ismi *Brassica oleracea* var. *acephala*'dır (Öztürk, 2005). Anavatanı Kuzey Avrupa ülkeleri ve Baltık denizi olarak kabul edilir ve yüzlerce yıldır üretimi yapılmaktadır. Avrupa ülkelerinde yıl boyunca, ülkemizde ise sadece bir iki ay hariç tüm yıl boyunca yetişebilen, iki yıllık bir sebzedir (Vural, 2008; Anonim, 2022). Yaprak lahana ilk olarak Avrupa ülkelerine dağılmıştır. Ülkemize ise Yunanistan üzerinden girdiği düşünülmektedir. Yunanistan üzerinden ülkemize giriş yaptığı için anlamı "yenilebilen sebze" kelimesinden gelen lahana ismi verilmiştir (Öztürk, 2005).

Dünyadaki toplam lahana üretimi 104 milyon tondur. Bu üretimin üçte birini Çin üstlenmektedir. Üretimde bu ülkeyi Hindistan, Rusya, Güney Kore, Ukrayna, Endonezya, Japonya, Vietnam, Amerika Birleşik Devletleri, Polonya ve Kenya takip etmektedir (FAO, 2020). Türkiye ise 819 bin ton üretim ile 12. sırada yer almaktadır. Ülkemizde 49.398 bin dekar yaprak lahana üretimi yapılmaktadır. Bölge bazında en fazla yaprak lahana üretimi 41.049 bin dekar ile Karadeniz Bölgesi'nde yapılmaktadır. Karadeniz Bölgesi bu üretime 51.351-ton yaprak lahana ile önemli katkı sağlamaktadır. Bölgemize iller bazında bakıldığında en fazla üretim Giresun'da yapılmakta olup bunu sırasıyla Samsun, Trabzon ve Ordu takip etmektedir (TÜİK, 2021).

Yaprak lahana insan sağlığı açısından çok önemli bir besin maddesidir. C vitamini yönünden oldukça zengin olan yaprak lahana ayrıca A, B, E vitaminleri, kalsiyum, potasyum, kükürt, magnezyum, bakır ve demir açısından da oldukça zengindir. Yapılan araştırmalar sonucunda yaprak lahananın vücuttaki zehirli maddelerin uzaklaştırdığı ve astım, romatizma, siyatik, sarılık ve safra kesesi hastalıklarına karşı iyi bir koruyucu olduğu belirlenmiştir (Anonim, 2021).

Dünya genelinde önemli bir kültür bitkisi olan yaprak lahanada, hastalık, zararlılar ve yabancı otlar nedeniyle ürün kayıpları yaşanmaktadır. Bu kayıpların bir kısmından sorumlu olan bitki zararlıları arasında önemli olanlardan biri de nematodlardır. Yeryüzünde geniş bir yayılıma alanına sahip olan nematodlar, uzun zaman boyunca çok bilinmeyen organizma gruplarından biri olmuştur. Nematodlarla ilgili ilk araştırmalar, 19. yüzyılda kültür bitkilerindeki olumsuz etkilerinin fark

edilmesiyle başlamıştır. Dünya genelinde kültür bitkilerinde önemli bir zarara yol açan nematodlar, yaklaşık %12 oranında ürün kaybına sebep olan önemli bir zararlı grubunu oluşturmakta olup, bu kaybın mali değeri tahminen 100 milyar dolar civarındadır (Sasser, 1988). Holgado ve ark., (2006) tarafından Norveç'te gerçekleştirilen bir araştırmada, Tahıl kist nematodları *Heterodera avenae* Wollenweber, 1924 ve *H. filipjevi* Madzhidov, 1981 ile mücadelede, ırkların belirlenmesi ve dayanıklı tahıl bitkilerinin kullanımının, verimi 1000 kg/ha artırdığı belirtilmiştir. Aynı şekilde, Gardner ve Caswell-Chen (1993), şeker pancarı kist nematodu *Heterodera schachtii* Schmidt, 1871'nin Kaliforniya popülasyonunun lahanada (*Brassica oleracea*), phacelia (*Phacelia tanacetifolia*), karabuğday (*Fagopyrum esculentum*), yağlı tohum turpu (*Raphanus sativus*) ve beyaz hardal (*Sinapis alba*) çeşitleri üzerindeki penetrasyon, gelişim ve üreme süreçlerini gözlemlenmiştir. Konukçu olmayan phacelia dışında, bu bitkilerin tamamının *H. schachtii*'nin ikinci evre larvaları tarafından kolayca penetre edildiğini belirtmişlerdir. Karabuğdayda kist üretiminin düşük olduğunu rapor etmişlerdir (bitki başına <2,5 kist). Beyaz hardal çeşitlerinin çoğunda kist üretiminin orta düzeyde (bitki başına 5-14 kist) olduğunu, lahanada ise yüksek düzeyde (bitki başına 20-110 kist) olduğunu tespit etmişlerdir. *Heterodera schachtii* için 133 gün boyunca gerçekleştirilen mikroplot çalışmaları, phacelia, yağlı tohum turpu ve beyaz hardal çeşitleri için nadas uygulamaları gibi tarım yöntemleriyle karşılaştırıldığında, üreme indeksinin 1.0'dan yüksek olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, bu bitki çeşitlerinin tarla koşullarında *H. schachtii*'nin kontrolü için potansiyel olarak kullanılabileceğini ve bu alanda daha fazla araştırma yapılması gerektiğini önermektedirler. Ülkemizde de kist nematodları ilgili bazı çalışmalar yürütülmüş ve bu bağlamda olarak Yüksel (1966), yaptığı bir çalışmada 1963 yılında Erzurum'daki lahanada *H. cruciferae*'yi ilk kez rapor etmiştir. Aynı yıl içinde, Karadeniz Bölgesi'nde mısır ve bazı narenciye üretim alanlarından yaptığı survey çalışmalarında *H. cruciferae* larvalarının tespit edilmesi üzerine, 1965 yılında gerçekleştirdiği araştırmada Ünye'den Rize'ye kadar olan bölgenin *H. cruciferae* ile enfekte olduğunu bildirmiştir. Ancak, bu bölgelerdeki nematod yoğunluğu ve neden olduğu zarar konusunda kesin bir değerlendirme yapmanın zor olduğunu ifade etmiştir. Ayrıca Mennan ve Aydın (2007), Samsun İli'nde lahanada ekiliş alanlarının yaklaşık % 45'inin, *H. cruciferae* ile enfekte olduğunu tespit etmişlerdir. Bir diğer çalışmada ise

Toktay ve ark., (2022) Niğde ilindeki lahanada üretim alanlarındaki kist nematodlarını moleküler yöntemlerle tanımlayarak tarla kontrolüne yönelik karar verme sürecine destek olacağını bildirmişlerdir. Ribozomal DNA bölgesi (rDNA-ITS) ve sitokrom oksidaz alt ünitesi 1 (mtDNA-COI) dizileri Türkiye'de ilk kez *Heterodera cruciferae*'nin (lahana kist nematodu) tanımlanması için kullanıldığını rapor etmişlerdir.

Dünya'da yaprak lahanada yetiştirilen alanlarda birçok bitki paraziti nematod tespit edilmiştir. Ülkemizde ise yaprak lahanada yetiştiriciliğinin yapıldığı Doğu Karadeniz Bölgesi'nde nematodlarla ilgili geniş çaplı detaylı bir çalışma yapılmamıştır.

Bu çalışmanın amacı, ülkemizde önemli bir üretim potansiyeli bulunan ve Türkiye'de yaprak lahanada yetiştirilen büyük bir kısmının gerçekleştirildiği Doğu Karadeniz Bölgesi'nde problem olan kist nematodlarının dağılışı ve tür tespitlerinin gerçekleştirilmesidir. Çalışma ile Ordu, Giresun, Trabzon, Rize ve Artvin İllerinde yaprak lahanada yayılım gösteren kist nematodlarının bulaşıklık durumu ortaya konularak, kist nematodlarının morfolojik, morfometrik ve moleküler yöntemlerle türleri tespit edilmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Doncaster (1956), Brüksel lahanası, sarı salgam, kolza ve beyaz hardalın kök salgılarının *H. cruciferae* yumurta açılımı üzerindeki etkisini incelemiştir. Çalışmada, bitkilerin tamamının kök salgıları uygulandığında kistlerden larva çıkışının gözlemlendiğini, ancak bu bitkilerin sadece topraklarından elde edilen solüsyonlarda yumurta açılımının azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca, musluk suyuna kıyasla bu farklılığın önemli olduğuna vurgu yapmıştır.

Mulvey (1972), heterodera cinsine ait 53 adet kist nematodunun detaylı incelemesi, bu türlerin tanımlanmasında yeterli olduğunu 39 kist için rapor etmiştir. Taksonomik özelliklerin belirlenmesinde temel bilgiler sunmuştur. Vulva slit, fenestra uzunluğu, underbridge yapısı ve bullaedaki değişiklikler temel alınarak 5 farklı morfolojik gruba ayırmıştır.

Tacconi (1976), *Heterodera carotae*'nin İtalya'nın Veneto bölgesinde yetişen hastalıklı havuçların çevresinden alınan tüm toprak örneklerinde bulunduğunu bildirmiştir. Bir örnekte ayrıca *Heterodera latipons* Franklin, 1969 kistleri de saptamıştır. Havuç köklerinde ise kiste rastlanmadığını rapor etmiştir. Yaklaşık 10 *H. carotae* kisti/100 g toprakta ve sadece bir *H. latipons*/100 g toprakta bulunmuştur. Bu çalışma ile *H. latipons* İtalya'da ilk kez rapor edilmiştir.

McCaan (1981), lahana fidelerinin üzerindeki etkilerini araştırmak üzere iki önemli kist nematodu türü olan *H. cruciferae* ve *H. schachtii* bulaştırmıştır. Araştırma sonucunda, fidelerin büyüme oranını düşürdüğünü tespit etmiştir.

Yüksel (1981), *Heterodera fici*'nin Türkiye'nin Ege Bölgesi'nden incir (*Ficus carica*) ve dişi incir (*Ficus domestica*)'i parazitletiğini ilk kez rapor etmiştir.

Maqbool ve ark., (1987) Pakistan, Belucistan, Saryab'da meyve bahçelerinde yapılan bir araştırmada *F. carica* üzerinde *H. fici* ve *Meloidogyne javanica* Treub, 1885'nin birarada bulunduğunu tespit etmişlerdir. Bitkide zayıf büyüme, yapraklarda sararma ve solmuş kök belirtisi görüldüğünü bildirmişlerdir.

Koshy ve Evans (1986), lahana kist nematodunun yumurta açılımına sıcaklığın etkisini araştırmışlardır. Çalışmalarında, yumurta açılımı için en uygun sıcaklığın

16°C olduğunu belirtirken, yumurta kümeleri için ise 20°C'nin ideal olduğunu bildirmişlerdir.

Harris ve Evans (1988), *H. cruciferae* ile yoğun şekilde bulaşık bir tarlada yetiştirilen üç kışlık yağlı tohum kolza çeşidinin direnç kanıtı göstermediğini bildirmişlerdir.

Subbotin ve ark., (1989) yaptıkları bir çalışmada *H. fici*'nin Abhazya Skaya SSR'nin Shukhona ve Gul'ripsh bölgelerinde *F. carica* köklerinde ve rizosferinde bulunduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca 30.000 yumurta ve larva/100 cm³ 'e varan toprak kontaminasyonları olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışma ile incirdeki *H. fici*, SSCB için ilk kez rapor edilmiştir. Morfolojik ve morfometrik olarak tanımlamaları yapılmıştır.

Berney ve Bird (1992), 1986 ve 1988 yıllarında, *H. carotae* ve *Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949'nın bulaşıklık seviyesinin boyutunu belirlemek için örnekler almışlardır. Her iki tür de incelenen sekiz ilçenin tamamında bulunmuş, ancak tüm çiftliklerde görülmemiştir. *Heterodera carotae*, incelenen tarlaların %67,4'ünden elde edilmiştir. *Meloidogyne hapla* örneklerin %24,8'inde ve tarlaların %69,8'inde tespit etmişlerdir. Çoğu durumda, *H. carotae* ve *M. hapla*'nın aynı ekim alanında görüldüğünü bildirmişlerdir.

Sasanelli ve D'Addabbo (1992), Sodyum metavanadat çözeltilerinin farklı konsantrasyonlarının (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 ve 1.2 mM) *H. fici* kistlerinden larvana etkilerini, ticari incir kök suyu ve distile su ile karşılaştırmışlardır. Kistler Fenwick aleti ile kurutulmuş topraktan toplanmış ve her biri 50 adet olan gruplar 25 °C ± 1'de inkübe etmişlerdir. Yumurta açılımının en fazla olduğu uygulamanın (%55,5) incir kökü suyunda meydana geldiğini tespit edilmiş ve sodyum metavanadatta maksimum nematod çıkışı 0.6 mM'de meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Gardner ve Caswell-Chen (1993), şeker pancarı kist nematodu *H. schachtii*'nin Kaliforniya popülasyonunun lahana (*Brassica oleracea*), phacelia (*Phacelia tanacetifolia*), karabuğday (*Fagopyrum esculentum*), yağlı tohum turpu (*Raphanus sativus*) ve beyaz hardal (*Sinapis alba*) çeşitleri üzerindeki penetrasyon, gelişim ve üreme süreçlerini araştırmıştır. Konukçu olmayan phacelia dışında, diğer bitkilerin tamamının *H. schachtii*'nin ikinci evre larvaları tarafından kolayca penetre edildiğini

belirtmişlerdir. Karabuğdayda kist üretiminin düşük olduğunu rapor etmişlerdir (bitki başına <2,5 kist). Beyaz hardal çeşitlerinin çoğunda kist üretiminin orta düzeyde (bitki başına 5-14 kist) olduğunu, lahanada ise yüksek düzeyde (bitki başına 20-110 kist) olduğunu tespit etmişlerdir. *Heterodera schachtii* için 133 gün boyunca (yaklaşık olarak 450 derece-gün, baz 8 °C) gerçekleştirilen mikroplot çalışmaları, phacelia, yağlı tohum turpu ve beyaz hardal çeşitleri için nadas uygulamaları gibi tarım yöntemleriyle karşılaştırıldığında, üreme indeksinin 1.0'dan yüksek olduğu belirlenmiş ve bu sonuçlar, bu bitki çeşitlerinin tarla koşullarında *H. schachtii*'nin kontrolü için potansiyel olarak kullanılabileceğini ve bu alanda daha fazla araştırma yapılması gerektiğini önerilmiştir.

Krnjaic ve ark., (1997) *H. fici*'nin Yugoslavya Federal Cumhuriyeti topraklarında Karasal ve Akdeniz iklim koşulları altında açık alanda yetiştirilen incir bitkisi köklerindeki dağılımı ve popülasyon yoğunluğunu araştırdıklarında; 39'u Belgrad'da, 30'u Sırbistan Cumhuriyeti topraklarında, 60'ı Karadağ Cumhuriyeti kıyılarında bulunmaktadır. Belgrad'n bölgesinde incirdeki *H. fici*, incelenen ağaçların %53,84'ünde, Sırbistan Cumhuriyeti topraklarında %13,33'ünde ve Karadağ Cumhuriyeti'nde %28,33'ünde ve incelenen toplam 129 örneğin %32,55'inde bulaşık olduğunu bildirmişlerdir.

Biliavska ve ark., (2007) *H. schachtii*'yi Catania (Sicilya, İtalya) yakınlarındaki bir brokoli tarlasında tespit etmişlerdir. Bulaşık brokoli bitkileri daha küçük, çalılık ve rizomlu olup hastalık belirtileri göstermişlerdir. Kök ve toprak örnekleri üzerinde yapılan laboratuvar incelemeleri, köklerde kist nematodunun farklı gelişim aşamalarının varlığını ortaya koymuş, ergin dişi ve kistlerin köklerdeki popülasyonlarının son derece yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Mennan ve Aydınli (2007), Samsun İli'nde yaptıkları bir çalışmada lahanaya yetiştirilen alanlarda yaklaşık % 45'inin, *H. cruciferae* ile bulaşık olduğunu tespit etmişlerdir.

Mennan ve ark., (2009) 2002-2006 yılları arasında Samsun'da yapılan lahanaya yetiştirme alanlarındaki sürveylerde, 101 tarlanın 45'inin kist nematodları ile enfekte olduğu belirlemişlerdir. En yaygın türlerin *H. cruciferae* (%77,70) ve *Heterodera mediterranea* Vovlas, Inserra & Stone (%20,00) olduğu saptanmıştır. Bunlar ikinci

evre juveniller kullanılarak tespit etmişlerdir. Birlikte bulunduğu ekim alanlarının az sayıda olduğu ve lahana çeşitleri içinden kırmızı baş ve beyaz baş nadir olduğunu belirtmişlerdir. Beyaz ve kırmızı baş lahana çeşitleri, *H. cruciferae* ile eşit oranda (%45,71) enfekte olmuştuğunu ancak lahana, en düşük enfekte olan çeşit olarak rapor etmişlerdir. Çalışmada kırmızı ve beyaz baş lahana ekim alanlarının sırasıyla %77,78 ve %22,22 oranında *H. mediterranea* ile enfekte olduğunu tespit etmişlerdir.

Kabouw ve ark., (2010) yaptıkları bir çalışmada tür içi varyasyonların etkinliğini göstermek üzere dört farklı beyaz lahana (*Brassica oleracea* var. *capitata*) çeşidi üzerinde nematodların bulaşıklığı hakkında çalışmalar yaparak; nematodların en çok glukozinolat ve glukonasturtiin içermeyen *Badger Shipper* çeşidini tercih ettiğini belirtmişlerdir.

Mennan ve Handoo (2012), *H. cruciferae*'nin dokulara verdiği zarar ayrıntılı olarak bilinmediğinden, Karadeniz Bölgesi'nde en çok yetiştirilen ve doğal olarak bu nematodla yaygın bir şekilde bulaşık olan Yalova F1 beyaz baş lahanası çeşidinin histopatolojisini incelemişlerdir. Serada 20 derece ⁰C'de yürütülen araştırmada, duyarlı beyaz baş lahana fideleri 0 (işlenmemiş kontrol) veya 1000 juvenil/300 ml toprak ile inoküle edilerek, bulaştırmalarda 3, 6, 12, 24, 48, 72 saat ve 30 gün sonra, her uygulamadan iki bitki çıkarılmış, mikrodalga tekniği kullanılarak parafine gömülmüş ve daha sonra fotomikrografi ile incelenmiştir. İkinci dönem larvalar kök penetrasyonundan sonra vasküler sisteme geçmiş ve sedanter olarak beslenmeye başladığı bildirmişlerdir. Bu dönemde bitki boyu azalmış ve kılçak kök miktarı artmış ve aynı zamanda toprak üstü belirtiler de gözlenmiştir.

Mennan ve Aydınli (2012), lahana çeşitlerinin *H. cruciferae* (Tylenchida: Heteroderidae)'ye dayanıklılık seviyelerinin değerlendirilmesi ile ıslah programlarında dayanıklılık kaynağı olarak kullanılabilme potansiyelini belirlemişlerdir. Otuz lahana genotipi kontrollü seralarda testlenmiştir. Değerlendirilen genotipler arasından 3'ü hassas, 11'i kısmen hassas, 9'u dayanıklı ve 7'si yüksek oranda dayanıklı olarak tespit edilmiştir. Dayanıklılığın en yüksek olduğu beyaz baş lahana çeşitlerinin 7 tanesi yüksek dayanıklı, 5 tanesi ise dayanıklı olarak bulunmuştur. Yaprak lahanaların % 40'ı dayanıklı, % 60'ı ise kısmen hassas iken, Çin lahanası ve Brüksel lahanası kısmen hassas olarak belirlenmiştir.

Fourie ve ark., (2016) küresel ekim sistemlerinde nematod popülasyonu seviyelerini azaltmada kapsamlı, pratik ve eleştirel bir inceleme yapmışlardır. Bu incelemede Brassicaceae bitkilerinin ekim sistemlerine dahil edilmesi bu alternatiflerden biri olduğunu ve çoğu durumda ekonomik açıdan en önemli üç nematod zararlısının, yani kök-düğüm (Meloidogyne), kist (Heterodera ve Globodera) ve lezyon (Pratylenchus) nematodlarının yanı sıra diğerlerinin yönetiminde etkili olduğu göstermişlerdir.

Madani ve ark., (2018) Ontario (Kanada) ile kuzey ve güney İtalya'daki ticari havuç tarlalarından elde edilen kist nematodları morfolojik ve moleküler incelemeye tabi tutmuşlardır. Kistlerin, erkeklerin ve ikinci evre juvenillerin (J2) morfolojisi nematod türünün Havuç Kist Nematodu (CaCN), *Heterodera carotae* olduğunu gösterdiği rapor etmişlerdir. Tek kistlerden elde edilen Internal Transcribed Spacer (ITS), ribozomal RNA'nın 28S geninin D2-D3 bölgesi, mitokondriyal DNA'nın sitokrom oksidaz I (coxI) ve bir ısı şok proteini geninin (hsp90) dizisi de incelemişlerdir. ITS ve D2-D3 dizileri tüm nematodları *H. carotae* ve goettingiana grubuna ait diğer *Heterodera* spp. ile aynı grupta konumlandırmışlardır.

Kabir ve ark., (2018) *H. schachtii*'nin Kore'de Çin lahanası (*Brassica rapa pekinensis*)'nin önemli ve zararlı bir patojeni olduğunu ve birkaç çalışmada buna karşı potansiyel bir kontrol yöntemi bulmaya çalışmışlardır. Bu çalışma, *Heterodera schachtii*'nin Çin lahanası üzerindeki üreme ve zarar potansiyeline değişen sıcaklıkların etkilerini araştıran ilk çalışmadır. Çin lahanası bitkileri, farklı yoğunluklarda (toprak başına 1, 2 veya 4 larva) *H. schachtii* ile enfekte edilmiş ve üç farklı sıcaklık rejiminde yetiştirilmiştir: sabit (15, 20 veya 25 °C), artan (10, 14 ve 18 °C) ve dalgalanan (pozitif, 16.7–22.0 °C; negatif, 21.5–11.5 °C). Sabit bir sıcaklıkta 30 gün boyunca enfeksiyondan sonra, hem Çin lahanası hem de *H. schachtii* en iyi performansı 20 °C'de sergilemiştir. Ancak, 60 gün sonra enfeksiyondan sonra *H. schachtii*'nin popülasyonu 20 °C'de önemli ölçüde daha yüksek olmuş, ancak lahana büyümesi en iyi 25 °C'de gerçekleşmiştir. Sıcaklık arttıkça, kist ve dişi sayıları önemli ölçüde değişmemiş ve başlangıç sıcaklığı 14 °C'de maksimuma ulaşmıştır. Bununla birlikte, Çin lahanası bitkilerinin yaprak sayısı ve ağırlığı 14 °C'de önemli ölçüde farklılık göstermiştir. Dalgalanan sıcaklıklar altında, sıcaklık düşmeleri *H. schachtii* popülasyonunu azalttığını bildirmişlerdir.

Fanelli ve ark., (2019) Güney İtalya'nın Apulia bölgesindeki ev ve kamu bahçelerinden toplanan *F. carica* köklerinden elde edilen *H. fici*'nin LM ve SEM gözlemlerine dayanan morfo-biyolojilerini ve histopatolojisi tanımlamışlardır. Apulia bölgesi genelinde yetmiş beş lokalite örneklenmiş ve örneklenen lokalitelerin dörtte birinde, 44 ila 180 kist/100 ml toprak arasında değişen popülasyon yoğunluğuna sahip *H. fici* ile istila edilmiş incir kökleri bulunduğunu tespit etmişlerdir. İtalya'daki süs *Ficus spp.* ve ithal bonsai üzerinde *H. fici*'yi tespit etmeye yönelik tüm girişimlerde başarısız olmuşlardır. İtalyan popülasyonunun morfometrik karakterleri, *Heterodera fici* için bildirilen tip ve yeniden tanımlama popülasyonları ile uyumlu olduğunu bildirmişlerdir. ITS, 28S rRNA'nın D2-D3 genişleme alanları ve bu çalışmada yeni elde edilen *H. fici*'nin kısmi 18S rRNA dizileri kullanılarak yapılan moleküler analiz, GenBank veri tabanında bulunan *H. fici*'nin ilgili dizileriyle iyi bir şekilde eşleştirmilerdir. Filogenetik ağaçlar *H. fici*'nin Humuli grubu içinde gruplandırılmasını doğrulamışlardır. *H. fici* embriyojenik gelişimini 25 °C'de 14-16 günde tamamlar ve *Ficus carica* fidelerinin köklerinde istila sonrası gelişim ve olgunluk 25-28 °C'de 64-68 günde tamamladığını rapor etmişlerdir.

Toktay ve ark., (2022) Niğde ilindeki lahana üretim alanlarındaki kist nematodlarını moleküler yöntemlerle tanımlayarak tarla kontrolüne yönelik karar verme sürecine destek olacağını bildirmişlerdir. Ribozomal DNA bölgesi (rDNA-ITS) ve sitokrom oksidaz alt ünite 1 (mtDNA-COI) dizileri Türkiye'de ilk kez *H. cruciferae*'nin (lahana kist nematodu) tanımlanması için kullanıldığını rapor etmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışmanın ana materyalini, Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yaprak lahanaya yetiştirilen beş farklı ilden alınan toprak örnekleri ve bu numunelerden elde edilen kist nematodları oluşturmaktadır.

3.2 Yöntem

Çalışma, arazi ve laboratuvar çalışmaları olmak üzere iki farklı aşamada yürütülmüştür. Arazi çalışmalarında toprak örnekleri toplanırken; laboratuvar çalışmalarında ise ilk aşama topraklardan kistlerin elde edilmesidir. Ayrıca, populasyon yoğunluğu ve 3 farklı yöntem kullanılarak teşhisler gerçekleştirilmiştir.

3.2.1 Arazi Çalışmaları

Doğu Karadeniz Bölgesi Lahana üretim alanlarındaki kist nematodlarını tespit etmek için Ordu, Giresun, Trabzon, Rize ve Artvin olmak üzere 5 farklı ilde surveyler yapılmıştır (Şekil 3.1). Örnekleme 2022-2023 yıllarını kapsayan yaz sezonunda Nisan-Ekim ayları arasında gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.1).

Ordu'dan 19, Giresun'dan 17, Trabzon'dan 19, Rize'den 15, Artvin'den 7 olmak üzere bu illerin ilçelerini kapsayan toplam 77 adet yaprak lahanaya ekim alanından toprak örnekleme yapılmıştır. Toprak örnekleri, Barker ve Nusbaum'un (1971) belirttiği gibi, nematodların toprak içerisinde en yoğun olarak bulunduğu 0-20 cm derinlikten özenle alınmıştır. Örnekler, araziye tam olarak temsil edecek şekilde ekim alanının başı, ortası ve köşeleri farklı noktalardan zikzak şeklinde gezilerek toplanmıştır. İllerdeki örnekleme sayıları üretim alanı büyüklüğü baz alınarak her 500 dekar başına bir örnek olacak şekilde dizayn edilmiş ve nihai olarak 1 kg'lık bir toprak örneği elde edilmiştir. Sonrasında, toprak örnekleri özenle kilitli poşetlere yerleştirilip etiketlendikten sonra direkt güneş ışığına maruz bırakılmadan, +4 °C'de bulunan bir buz kutusunda saklanmış ve aynı gün içerisinde laboratuvara getirilmiştir. (Şekil 3.2).



Şekil 3.1 Karadeniz Bölgesinde kara lahana yetiştiriciliği yapılan ve örneklenen iller

Çizelge 3.1 Doğu Karadeniz Bölgesi yaprak lahanaya bitkilerinde kist nematodlarının belirlenmesi için örnekleme yapılan yerler

İLLER	İlçeler	Kuzey	Güney	
ORDU	1	Perşembe 1	41°02'22.6"N	37°41'41.3"E
	2	Perşembe 2	41°00'58.7"N	37°49'41.2"E
	3	Kabataş	40°44'49.2"N	37°23'56.8"E
	4	Çatalpınar	41°06'28.6"N	37°15'10.1"E
	5	Kumru	40°53'00.5"N	37°16'50.5"E
	6	Gürgentepe 1	40°46'46.0"N	37°36'37.7"E
	7	Gürgentepe 2	40°46'46.2"N	37°36'50.7"E
	8	Ulubey	40°53'01.0"N	37°46'48.4"E
	9	Gölköy	40°41'36.5"N	37°36'33.2"E
	10	Çaybaşı	41°01'23.6"N	37°06'51.3"E
	11	Mesudiye	40°27'14.4"N	37°46'28.6"E
	12	Korgan	40°51'53.6"N	37°27'12.2"E
	13	Altınordu 1	40°58'28.9"N	37°57'51.8"E
	14	Altınordu 2	40°58'35.5"N	37°57'35.5"E
	15	Gülyalı	40°58'03.4"N	38°03'04.7"E
	16	Fatsa 1	40°54'21.2"N	37°31'28.6"E
	17	Fatsa 2	40°58'00.5"N	37°30'16.6"E
	18	Ünye	41°07'09.7"N	37°16'08.3"E
	19	Aybastı	40°42'22.6"N	37°24'43.1"E
GİRESUN	20	Tirebolu 1	40°58'28.2"N	38°45'31.7"E
	21	Tirebolu 2	40°57'25.6"N	38°47'42.0"E
	22	Tirebolu 3	40°57'27.0"N	38°48'18.0"E
	23	Tirebolu 4	40°57'15.5"N	38°48'54.0"E
	24	Tirebolu 5	40°57'16.6"N	38°48'44.3"E
	25	Güce	40°54'50.4"N	38°47'29.4"E
	26	Dereli	40°44'16.7"N	38°27'21.8"E
	27	Eynesil 1	41°03'23.8"N	39°08'42.0"E
	28	Eynesil 2	41°02'23.5"N	39°09'03.0"E
	29	Görele	40°55'07.7"N	38°57'28.1"E
	30	Görele 2	41°01'49.9"N	39°00'52.0"E
	31	Keşap 1	40°54'57.8"N	38°31'15.3"E
	32	Keşap 2	40°53'51.5"N	38°31'30.7"E
	33	Çanakçı	40°55'48.4"N	39°01'15.6"E
	34	Espiye	40°56'34.4"N	38°45'25.9"E
	35	Piraziz	40°57'00.0"N	38°09'06.5"E
	36	Bulancak	40°56'09.5"N	38°11'23.3"E
TRABZON	37	Çarşıbaşı	41°05'32.6"N	39°23'33.7"E
	38	Arsin 1	40°57'12.2"N	39°54'27.7"E
	39	Arsin 2	40°57'13.1"N	39°55'39.6"E
	40	Beşikdüzü	41°02'48.8"N	39°14'37.7"E
	41	Yomra	40°57'16.9"N	39°52'16.3"E
	42	Vakfikebir 1	41°02'49.6"N	39°15'10.1"E
	43	Vakfikebir 2	41°00'23.0"N	39°19'59.5"E
	44	Araklı	40°54'18.4"N	40°03'21.2"E
	45	Sürmene 1	40°54'33.8"N	40°06'39.6"E
	46	Sürmene 2	40°54'45.4"N	40°09'32.4"E
	47	Hayrat	40°54'43.9"N	40°20'58.9"E
	48	Yomra 2	40°57'26.4"N	39°51'05.4"E
	49	Of 1	40°55'35.4"N	40°13'40.8"E
	50	Of 2	40°54'00.0"N	40°16'37.9"E
	51	Of 3	40°49'39.7"N	40°15'55.1"E
	52	Dernekpazarı	40°47'32.3"N	40°16'19.6"E
	53	Akçaabat 1	41°05'29.4"N	39°28'48.0"E
	54	Akçaabat 2	41°02'07.5"N	39°33'24.0"E
	55	Çaykara	40°45'10.6"N	40°14'53.7"E

Çizelge 3.1'in devamı Doğu Karadeniz Bölgesi yaprak lahanana bitkilerinde kist nematodlarının belirlenmesi için örnekleme yapılan yerler

RİZE	56	Çamlıhemşin	41°04'58.1"N	41°02'01.0"E
	57	Güneysu	40°59'46.0"N	40°35'52.4"E
	58	Çayeli 1	41°03'18.0"N	40°37'10.6"E
	59	Çayeli 2	41°03'49.0"N	40°43'02.3"E
	60	Fındıklı	41°14'59.3"N	41°06'49.7"E
	61	Pazar	41°10'15.6"N	40°50'08.9"E
	62	Rize Merkez 1	41°01'29.6"N	40°32'33.7"E
	63	Rize Merkez 2	41°01'50.9"N	40°33'32.4"E
	64	Rize Merkez 3	41°02'59.3"N	40°36'32.8"E
	65	Derepazarı	41°01'15.6"N	40°25'20.6"E
	66	Kalkandere 1	40°57'06.1"N	40°25'21.4"E
	67	Kalkandere 2	40°56'00.6"N	40°26'07.8"E
	68	Hemşin	41°03'19.4"N	40°53'58.6"E
	69	İyidere	40°59'20.4"N	40°20'00.2"E
70	Ardeşen	41°11'15.4"N	40°59'06.0"E	
ARTVİN	71	Arhavi	41°21'02.5"N	41°18'00.0"E
	72	Borçka	41°26'51.0"N	41°42'11.9"E
	73	Hopa	41°23'31.2"N	41°25'37.2"E
	74	Artvin Merkez	41°10'44.4"N	41°49'26.4"E
	75	Artvin Merkez 2	41°10'56.5"N	41°49'43.2"E
	76	Kemalpaşa	41°29'33.4"N	41°32'02.8"E
	77	Kemalpaşa 2	41°28'34.8"N	41°32'21.7"E
Toplam survey sayısı		77		



Şekil 3.2 Yaprak lahanana bitkisinin kök çevresinden toprak örneği alınması

3.2.2 Laboratuvar Çalışmaları

3.2.2.1 Nematodların ekstraksiyonu

3.2.2.1.1 Dönem larvaların topraktan elde edilmesi

Çalışma kapsamında lahana üretim alanlarından alınan toprak içerisinde bulunan kist nematodunun hareketli 2. dönem infektif larvalarının elde edilmesi için Cobb elek + şekerli su ile santrifüj yöntemi kullanılmıştır. İlk olarak, polietilen torba içindeki topraklar homojen bir şekilde karıştırılmıştır. Karışan örnekten 100 cm³ toprak 4 litrelik kaba konularak üzeri su ile tamamlanarak karıştırılmıştır. Kap içerisinde karışım sağlandıktan sonra birkaç dakika beklenmiş, ardından su içeriği kabın üst tarafından sırasıyla 30, 60 ve 500 mesh'lik iç içe geçmiş elekler üzerinden dökülmüştür. Bu işlem, toprağın durumuna bağlı olarak iki veya üç defa tekrarlanmıştır. Eleme işleminde 500 mesh'lik elek içeriği geniş bir petri kabına piset yardımıyla yıkanarak elde edilmiştir. 500 mesh'lik eleği 45° açıyla tutup, piset yardımıyla 50 ml'lik santrifüj tüpü içine yıkanmıştır. Santrifüj cihazına yerleştirilen örnekler, dibe çökmelerini sağlamak amacıyla 4 dakika boyunca 4000 rpm hızında santrifüj edilmiştir. Tüpteki çöken kısmın üstündeki su yavaşça dökülmüş, kalan kısmın üzerine daha önceden hazırlanan şekerli su (454 g şeker/1 L su) 50 ml tamamlanmaya kadar eklenip solüsyon karıştırılmıştır. Bu tüpler yeniden santrifüj cihazına konularak 3000 rpm hızında 2 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüjü tamamlanan tüplerin sıvı kısmı, 500 mesh'lik elek içine dökülerek akar musluk suyunda şekerden arındırılmış ve incelenmek üzere petri kabına yerleştirilmiştir (Şekil 3.3)



Şekil 3.3 Cobb elek yöntemi ile topraktan nematodların elde edilmesi

3.2.2.1.2 Kist Nematodu dışı bireylerin (Kistlerin) ekstraksiyonu

Kistlerin topraktan elde edilmesinde Cobb elek yöntemi kullanılmıştır. İkinci infektif dönem larvaların elde edilmesi işlemi esnasında 60 mesh içeriği petri kabına alınarak kistler, stereo mikroskop altında (Leica S8APO) 40X büyültmede fırça yardımıyla toplanmıştır.

3.2.2.2 Nematodların daimî preparatlarının yapılması

3.2.2.2.1 İkinci dönem larvaların preparatının yapılması

Topraktan elde edilen nematodların ergin dışı kistlerinin perineal kısımları ile bu kistlerden elde edilen yumurtalardan açılan ikinci dönem larvaların Hooper (1986)'da belirtilen metot kullanılarak daimî preparatları yapılmıştır. İkinci dönem larvaların preparatlarının yapım aşamaları aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir;

İlk olarak 1 ml su içindeki nematodlar 65 °C'deki su banyosunda 2 dakika bekletilerek öldürüldü ve ardından 1 ml TAF solüsyonu (7 ml %40'lık formaldehit + 2 ml trietanolamin + 91 ml saf su) eklenerek iki gün boyunca fikse edilmiştir (Southey, 1986).

Fikse edilen nematodların daha sonra daimî preparasyonu yapımına geçilmiştir. İkinci dönem larvaların daimî preparatları Seinhorst, (1959)'a göre gerçekleştirilmiştir. Bu metoda göre fikse edilen nematodlar Çizelge 3.2'de belirtilen solüsyon I içersine alınarak 12 saat süre boyunca 40 °C'de bekletilmiştir. Bu işlem sırasında suyun buharlaşması sağlanmıştır.

Suyun buharlaşmasından sonra Glycerol ile ethanol kalmıştır. Bir sonra ki işlemde Çizelge 3.2'de belirtilen solüsyon II üzerine eklenmiştir. Bu şekilde en az 3 saat olacak şekilde 40 °C'de bekletilmiştir. Bu işlem sonucunda alkolün buharlaşması sağlanmış ve nematodlar saf gliserin içinde kalmıştır.

Lam üzerine 1 damla gliserin damlatılmış ve lamel ile kapatıldıktan sonra, lamelin çevresi renksiz oje ile kapatılmıştır. Preparatların bozulmaması için 50 °C'de 1 gün boyunca ECOCELL C 102533 markalı Etüv'e atılarak preparatların kuruması sağlanmıştır. Daha sonra preparatlar, teşhise hazır halde etiketlenmiş ve preparat kutularına yerleştirilmiştir. Son aşamada örnekler Zeiss marka ışık mikroskobu kullanılarak incelenmiştir.

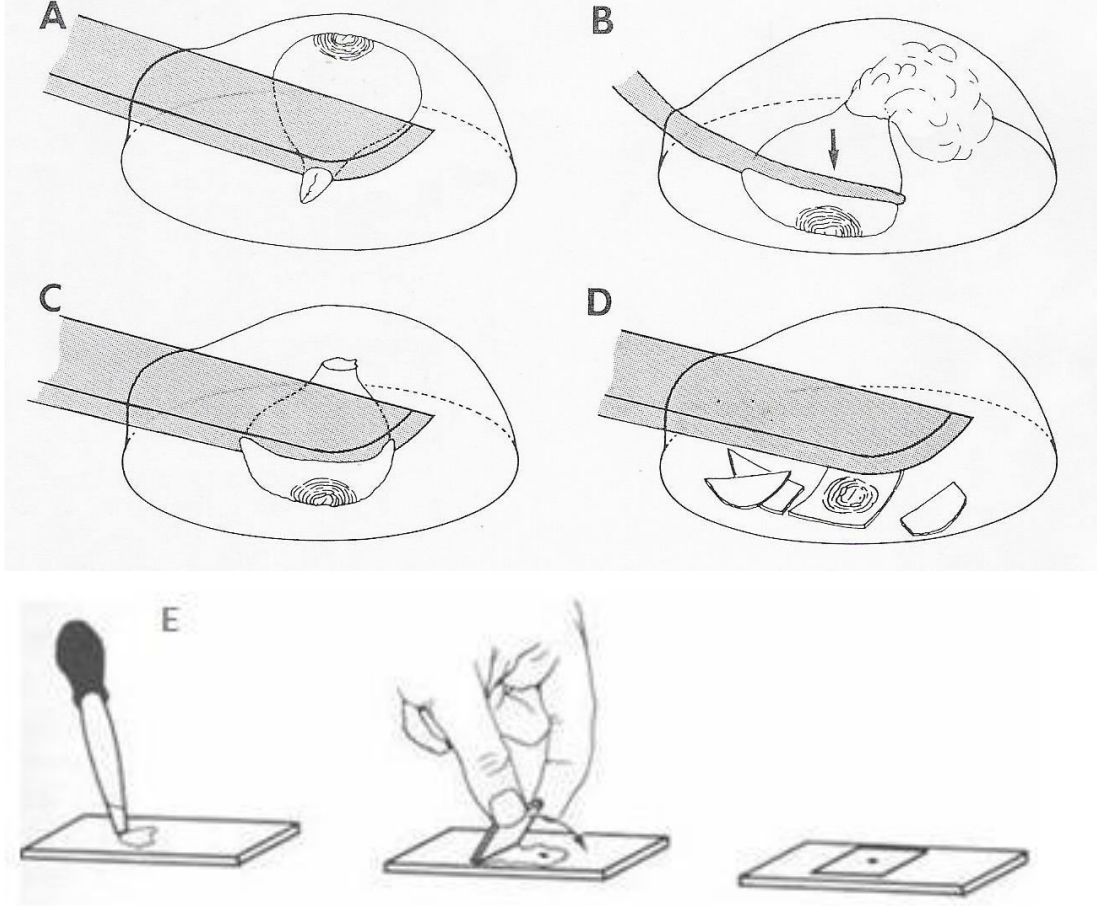
Çizelge 3.2 Solüsyon I ve Solüsyon II hazırlanması için gerekli maddeler ve miktarları

Solüsyon I	
Madde	Miktar
%96 Ethanol	20 kısım
Glycerol	1 kısım
Destile su	79 kısım
Solüsyon II	
%96 Ethanol	95 kısım
Glycerol	5 kısım

3.2.2.2.2 Kist nematodu ergininin perineal preparatının yapılması

Kist nematodlarının dişi bireylerinin perineal bölgelerinin kalıcı preparatları, Taylor ve Netscher (1974) tarafından önerilen ve Hartman ve Sasser (1985) tarafından geliştirilen perineal örneklerin preparasyonu yöntemi uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde elde edilen olgun kist nematodlarının dişi bireyleri bir lam üzerine 1 damla saf su içersine alınarak bistüri yardımı ile tam ortasına denk gelecek şekilde kesilmiştir. Baş bölgesi uzaklaştırılarak sadece kuyruk kısmının saf su içersinde kalması sağlanmıştır. Daha sonra koni şeklinde kalan yarım kistlerin vulval kesitleri, %45'lik laktik asit içersine aktarılarak vücut içeriği boşaltılmak için yumuşak uçlu bir fırça ile zarar vermeden temizlenmiştir. İçerişi boşaltılan kistler, lam üzerine

damlatılmış bir damla gliserin içerisine alınır. Daha sonra üzerine hava kabarcığı oluşmayacak şekilde 45°'lik bir açı ile lamel kapatılmıştır. Son işlem olarak hazır hale gelen preparatlar, tür teşhisin için etiketlenmiş ve preparat kutularına yerleştirilmiştir. (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Kist nematodu dişisinin preparat yapım aşamaları (Barker, 1985)

A: Olgun kist nematodunun dişisi bir damla %45' lik laktik asit içerisine bırakılır. Tam ortasından bistüri yardımı ile kesilir.

B: Dişinin baş kısmı ortamdan uzaklaştırılır ve kalan kuyruk kısmının içeriği temizlenir.

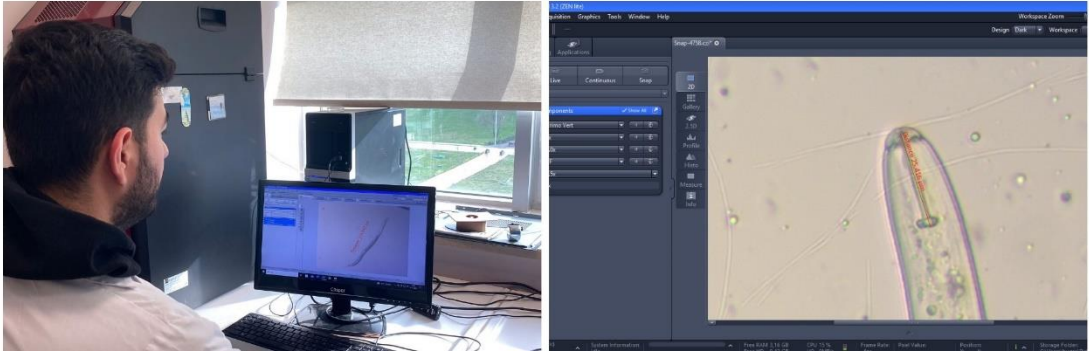
C: Kütikula posterior'dan vücudun 1/3' lük kısmı kalacak biçimde kesilir

D: Vulvanın çevresi küçük bir kare seklinde kırılır.

E: Lam üzerine damlatılmış bir damla gliserin içerisine alınır ve hava kabarcığı oluşmayacak şekilde 45°'lik bir açı ile lamel kapatılır.

3.2.2.3 Elde edilen nematodların morfolojik karakterlerinin tespit edilmesi

Survey sonucunda Cobb elek yöntemi ile topraktan elde edilen kist nematodlarının tür teşhisleri için geçici preparatlar kullanılmıştır. Elde edilen cinsler, literatürde yer alan morfometrik ve morfolojik kriterlere dayanarak tür teşhisine tabi tutulmuştur. Her bir popülasyondan elde edilen nematod kültürlerinden alınan 20 dişi ve varsa 20 erkek, çukur lam içerisindeki suya düzenli bir şekilde yerleştirilmiştir. Lam üzerindeki nematodlar, 50 °C'de 3-5 saniye süreyle hot plate üzerinde tutularak öldürülmüş ve ardından geçici preparatlar hazırlanmıştır (Mutua, 2014). Hazırlanan preparatlardan, ikinci dönem larvaların morfolojik özellikleri, kamera sistemi kullanılarak 20X ve 40X büyütme sağlayan objektiflerle görüntülenip detaylı fotoğrafları çekilmiş, aynı zamanda aşağıdaki bulunan karakterlerin morfometrik ölçümleri dikkatle gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.5).



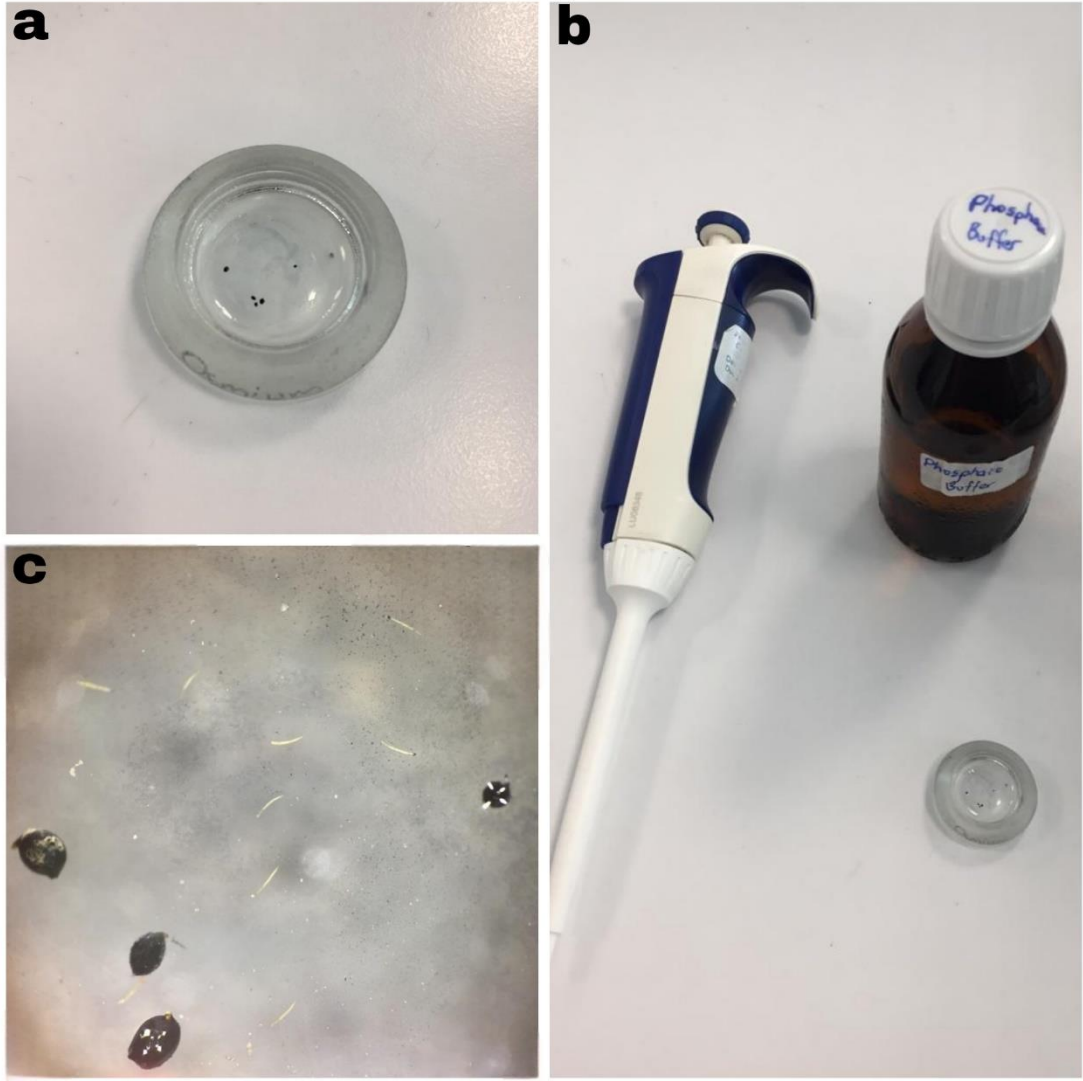
Şekil 3.5 Türlerin fotoğraflanması ve ölçümlerinin yapılması

İkinci dönem larvalarda belirlenen morfolojik karakterler; Vücut uzunluğu (n), DGO, dudak bölgesi çapı, dudak bölgesi yüksekliği, stylet uzunluğu, stylet topuzu yüksekliği, stylet topuzu genişliği, median bulb uzunluğu, median bulb genişliği, median bulb ortasından ön ucu, boşaltım gözeneginin ön ucu, Oesophageal uzunluğu, vücut ortasındaki genişliği, anüsteki vücut genişliği, hyalin bölgede vücut genişliği, kuyruk uzunluğu ve hyalin bölge uzunluğudur. Bu ölçümlere ek olarak, kist için uzunluk, genişlik, fenestral uzunluk, fenestral genişlik, semifenestral yükseklik, underbridge uzunluğu, vulval slit uzunluğu ve erkek için spicula uzunluğu da ölçülmüştür.

3.2.2.3.1 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizleri

Kist formundaki dişiler, ikinci evre juveniller (IJ2s) ve erkekler, Eisenback (1985) tarafından önerilen yöntemlere göre taramalı elektron mikroskobu (SEM) için

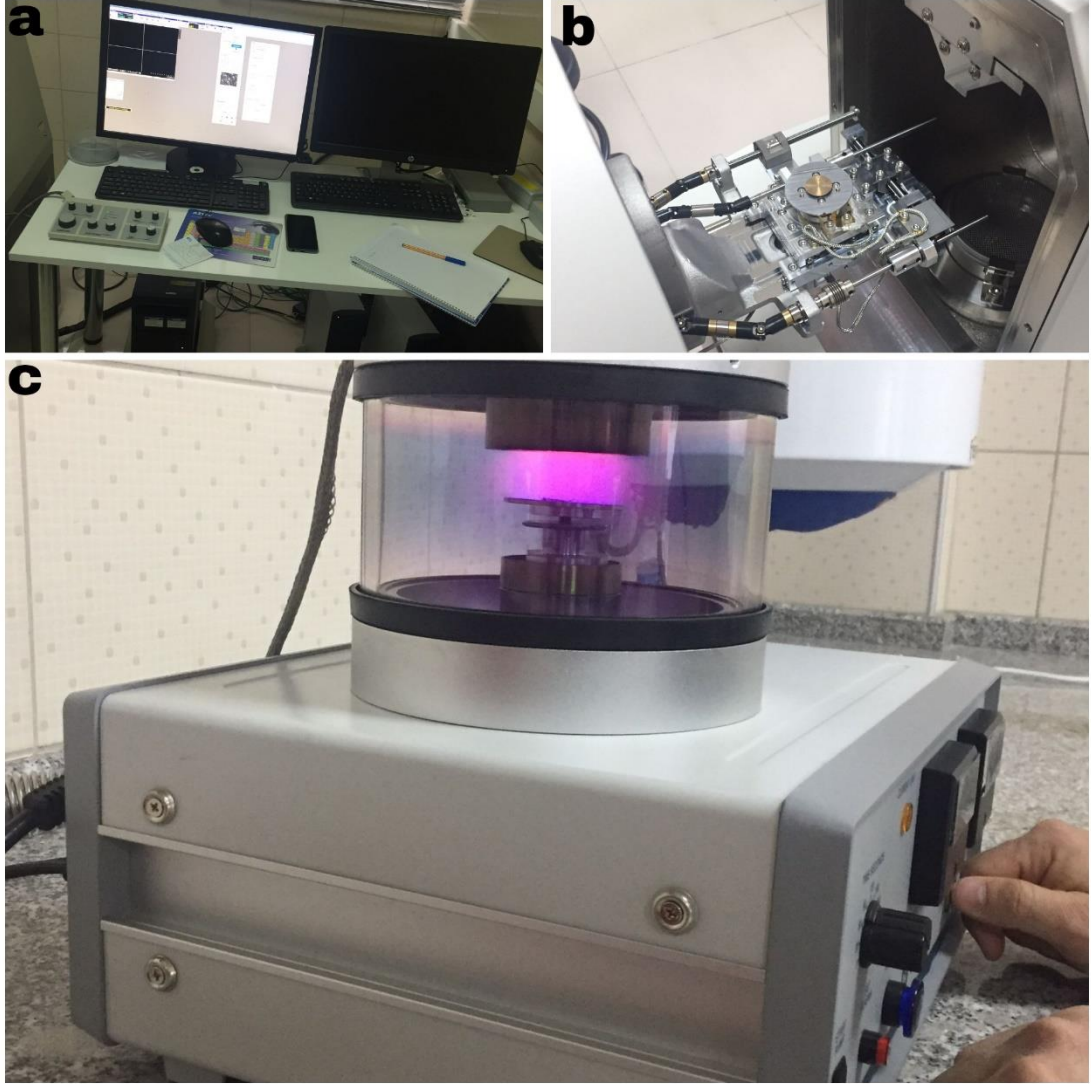
hazırlanmıştır. Bu amaçla, Nematodlar TAF solüsyonu içerisine aktararak fixse edilmiştir. 1 saat boyunca buzdolabında +4°C’de bekletilmiştir. Bekletildikten sonra her 30 dakikada bir olmak üzere 3 defa 0.3 ml, 0.3 ml ve 0.4 ml %6’lık glutaraldehit eklendikten sonra 24 saat buzdolabında +4°C’de bekletilmiştir. Bekleme işleminden sonra nematodlar, nematod iğnesi yardımı ile tek tek fosfat buffer olan bir petri kabına transfer edilmiştir. Nematodların vücutlarındaki kırıntı, parçacıklı ve kirlerin temizlenmesi için petri kabı 2 dakika hafif hafif çalkalanmıştır (Şekil 3.6c). Daha sonra nematodlar buradan cam bir kap içerisinde bulunan çalışma çemberlerine transfer edilmiştir. Çalışma çemberinin üzerinden mikropipet yardımı ile fosfat buffer damlatılarak 5 defa yıkanmıştır (Şekil 3.6b). 10 dakika sonra pipetle cam içerisindeki fosfat çekilip bırakılmıştır. Bu işlem vücut üzerindeki partiküllerin temizlenmesi için 2-3 kez tekrar edilmiştir. Her uygulama sırasında çalışma çemberleri yeni bir petri kabının içerisine alınmıştır. Sonra %10-90 arasında alkol serilerinden geçirilmiştir. Daha sonra çalışma çemberi yeni bir petri kabına alınarak nematodların üzerini kapsayacak şekilde %2’lik osmium tetroksit damlatılmıştır (Şekil 3.6a).



Şekil 3.6 a) Kist ve larvaların syracuse camında osmium tetroksit içerisinde bekletilmesi, b) Yıkama işlemi için hazırlanan kist ve larvalar c) Osmium tetroksit tarafından siyahlaşmış kist ve larvalar

Bu işlemden sonra en az 12 saat bekletilmiştir. Bekleme işlemi sona erdikten sonra osmium tetroksit uzaklaştırılarak, fosfat buffer eklenmiş ve bu işlem 10 dakikada bir eklemek suretiyle 5 defa tekrarlanmıştır. Daha sonra syracuse kabı % 10 ile % 100 arasında alkol serilerinden geçirilerek yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Her bir konsantrasyonda 15 dakika beklenmiştir. En son olarak %100 konsantrasyonda 3 defa yıkama işlemi yapılmıştır. Nematodlar bir nematod iğnesi yardımı ile çift taraflı karbon iletken bant üzerine yerleştirilmiş ve altın otomatik sprej kaplama ile kaplanmıştır (yaklaşık 10 nm kalınlığında). Püskürtme işlemi, 60 s püskürtme süresi için 10 mA DC akım ile SPC-900-C plazma püskürtme kaplayıcı sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.7a). Örnekler, Ordu Üniversitesi, Merkezi Araştırma

Laboratuvarında Hitachi SU1510 taramalı elektron mikroskobu kullanılarak görüntülenmiştir (Akyazı ve ark., 2022) (Şekil 3.7 b-c).



Şekil 3.7 Nematodların taralamalı elektron mikroskobunda görüntülenmesi; a) 10 mikron altın kaplanması b) disk üzerinde yerleştirilmesi c) görüntülenmesi

3.2.2.4 Moleküler karakterlerin belirlenmesi

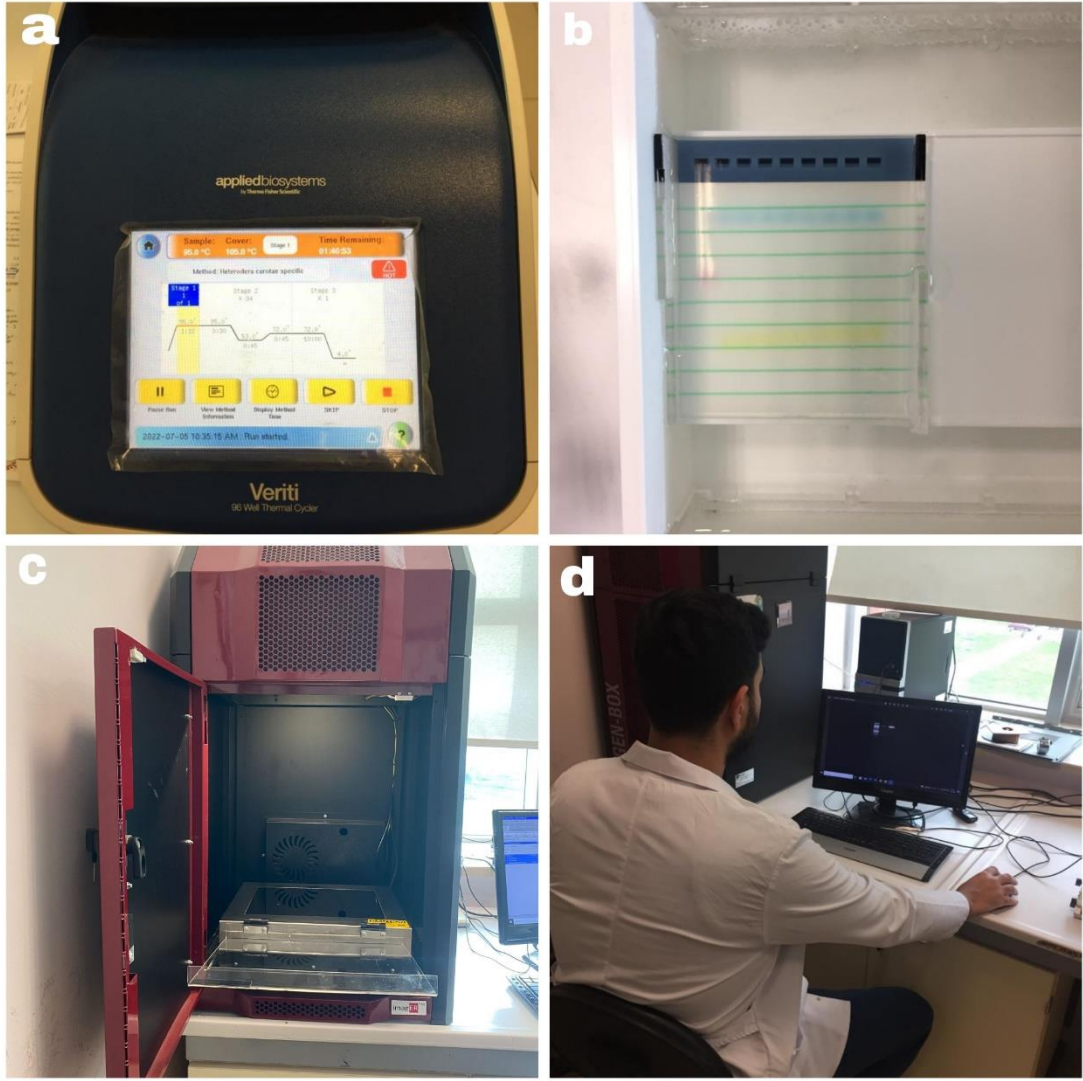
3.2.2.4.1 DNA Ekstraksiyonu

Tek bir kist nematodu içerisinde elde edilen infektif larvalar bir lam üzerine alınarak TE buffer içerisinde temizlenmiştir. Temizlenen infektif larvalar yeni bir lam üzerine 18 µl TE buffer içerisine aktarılmıştır. Nematod iğnesi yardımı ile 3-4 adet infektif larva ezilmiştir. Ezilme işlemi sırasında nematodların içerisinde çıkan genomik DNA, Wang ve diğerleri (1993) tarafından geliştirilen proteinaz K yöntemi kullanılarak izole edilmiştir. Bu süreçte, 1.5 ml'lik bir eppendorff tüpüne 18 µl AE

tamponu, 1 µl %2 Triton X-100 ve 1 µl proteinaz K (20 µg/ml) eklenmiş ve kısa bir süre santifüj edilmiştir. Daha sonra bir gece boyunca -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Ardından, 56 °C'de 60 dakika ve 90 °C'de 10 dakika süreyle ısıtma işlemi uygulanmıştır. Elde edilen karışım oda sıcaklığına soğutulmuş ve elde edilen DNA, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) için kullanılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır.

3.2.2.4.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile DNA'nın çoğaltılması

Heterodera cruciferae, *H. carotae* ve *H. fici* için Internal Transcribed Spacer (ITS1, 5.8S, ITS2) genini kapsayan ribozomal bölge ve 28S ribozomal RNA'nın (rRNA) D2-D3 genişleme segmentleri TW81 (5'- GTT TCC GTA GGT GAA CCT GC -3')/AB28 (5'- ATA TGC TTA AGT TCA GCG GGT-3') (Joyce et al, 1994) ve D2A (5'-ACA AGT ACC GTG AGG GAA AGT TG-3')/D3B (5'- TCG GAA GGA ACC AGC TAC TA- 3') (De Ley et al., 1999) primer setleri kullanılarak çoğaltılmıştır (Şekil 3.8 a-b).



Şekil 3.8 DNA'ların a) PCR İle Çoğaltılması, b) Agaroz Jelde (% 1.5'luk) Yürütülmesi, c; d) UV Işınları Altında DNA'ların Bant Büyüklüklerinin Görüntülenmesi

Ayrıca, *H. carotae* için mitokondriyal DNA'nın (mtDNA) Sitokrom Oksidaz I (cox1) bölgesi, türe özgü primer seti olan Car-F (5'- CTT TGG TTT AAT TAG TTT AAG AG- 3') /Car-R (5'- GAA AAA TAT CTA AAC TAG CG- 3') (Madani et al., 2018) kullanılarak *H. carotae* tanımlamasını netleştirmek için kullanılmıştır (Çizelge 3.3). Termodöngü Veriti™ 96-Well Thermal Cycler (Singapore) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Türe özgü primer seti (Car-F/Car-R) için ısıl döngü reaksiyonları Madani ve diğerleri (2018) tarafından önerildiği şekilde gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.4) (Şekil 3.8 c-d).

Çizelge 3.3 Nematod türlerine göre kullanılan primerler

Heterodera türleri	Primer Kodu	Primer sequences (5'-3')	Kaynaklar
<i>H. carotae</i>	TW81	5'-GTTTCCGTAGGTGAACCTGC-3'	Joyce et al., 1994
<i>H. cruciferae</i>	AB28	5'-ATATGCTTAAGTTCAGCGGGT-3'	
<i>H. fici</i>	D2A	5'-ACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTG-3'	De Ley et al. 1999
	D3B	5'-TCGGAAGGAACCAGCTACTA-3'	
<i>H. carotae</i>	CarF	5'-CTTTGGTTTAATTAGTTTAAGAG-3'	Madani et al., 2018
	CarR	5'-GAAAAATATCTAAACTAGCG-3'	

Çizelge 3.4 Nematod türlerine göre kullanılan primerler ve uygulanan anelling sıcaklıkları

Primer isimleri	Amplifikasyon Durumu		
TW81/AB28	95 °C	4 dk	37 döngü
	94 °C	30 sn	
	56 °C	45 sn	
	72 °C	1 dk	
	72 °C	10 dk	
D2A/D3B	95 °C	4 dk	39 döngü
	94 °C	30 sn	
	57 °C	45 sn	
	72 °C	1 dk	
	72 °C	10 dk	
CarF/CarR	95 °C	3 dk	37 döngü
	95 °C	30 sn	
	53 °C	45 sn	
	72 °C	45 sn	
	72 °C	10 dk	

3.2.2.5 Filogenetik analiz

Filogenetik analizi gerçekleştirmek için, bu çalışmada tanımlanan *H. carotae*, *H. cruciferae* ve *H. fici*'den elde edilen iç transkripsiyonlu spacer (ITS) gen dizilerini kapsayan ribozomal bölge ve NCBI veritabanından GenBank'tan elde edilenler, MEGA 11 yazılımı kullanılarak 30 nükleotid dizisinin çoklu hizalamaları için Clustal W kullanılarak hizalanmıştır (Kumar ve ark. 2016). Evrimsel geçmiş, Tamura-Nei modeline dayalı Maksimum Olabilirlik yöntemi kullanılarak çıkarılmıştır (Tamura ve Nei, 1993). *Xiphinema index* (MZ677016.1) ve *Pratylenchoides nevadensis* (KX789702.1) ITS dizilerine dayalı filogenetik ağacı oluşturmak için dış grup olarak kullanılmıştır (Fayaz ve ark., 2022; Akyazı ve ark., 2023). Filogram 1000 bootstrap replikası kullanılarak oluşturulmuştur.

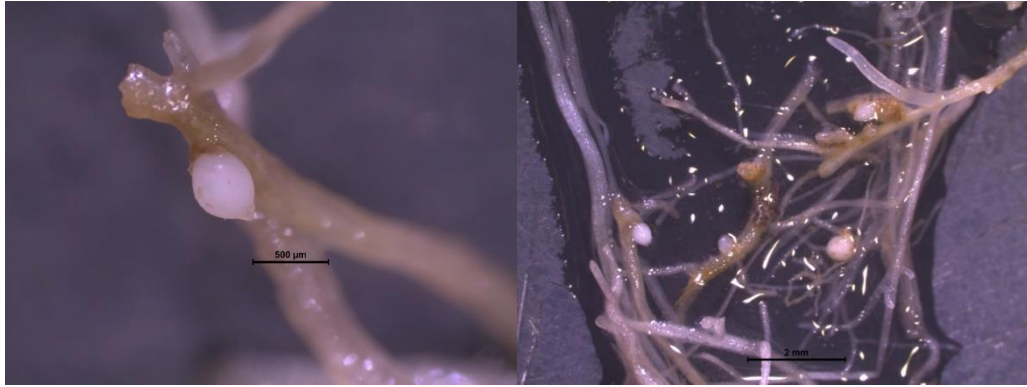
3.2.2.6 *Heterodera carotae*'nin konukçu testi

Araziden alınan toprak örneklerinden elde edilen *H. carotae*'nin konukçu testi, yaprak lahanası bitkisi üzerinde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.9 *Heterodera carotae* türünün saf kültürlerinin elde edilmesi

Bu amaçla 15-20 cm boyunda yetiştirilmiş yaprak lahanası fideleri, elde edilen kistlerden nematodu ile enfekte edilmiştir (Şekil 3.9). Fideler kistlerden elde edilen yaklaşık 1000 yumurta ile bulaştırılmıştır. Aşılama sonrası altmış gün sonra bu fideler üzerinde yetişen dişi nematodların oluşturduğu kistler köklerden toplanarak, *H. carotae*'nin türe özgü spesifik primerleri uygulanmış teşhis edilmiştir (Şekil 3.10).



Şekil 3.10 Kist nematodu *Heterodera* spp.'nin yaprak lahanası kökleri üzerindeki görünüşü

3.2.2.7 Verilerin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada incelenen ve ölçülen morfolojik karakterler Microsoft Excel ile değerlendirilmiştir. Moleküler çalışmalarda ise sekans sonuçları BioEdit programı ile görüntülenmiştir. Ayrıca filogenetik analizler MEGA11 programı ile oluşturulmuştur.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

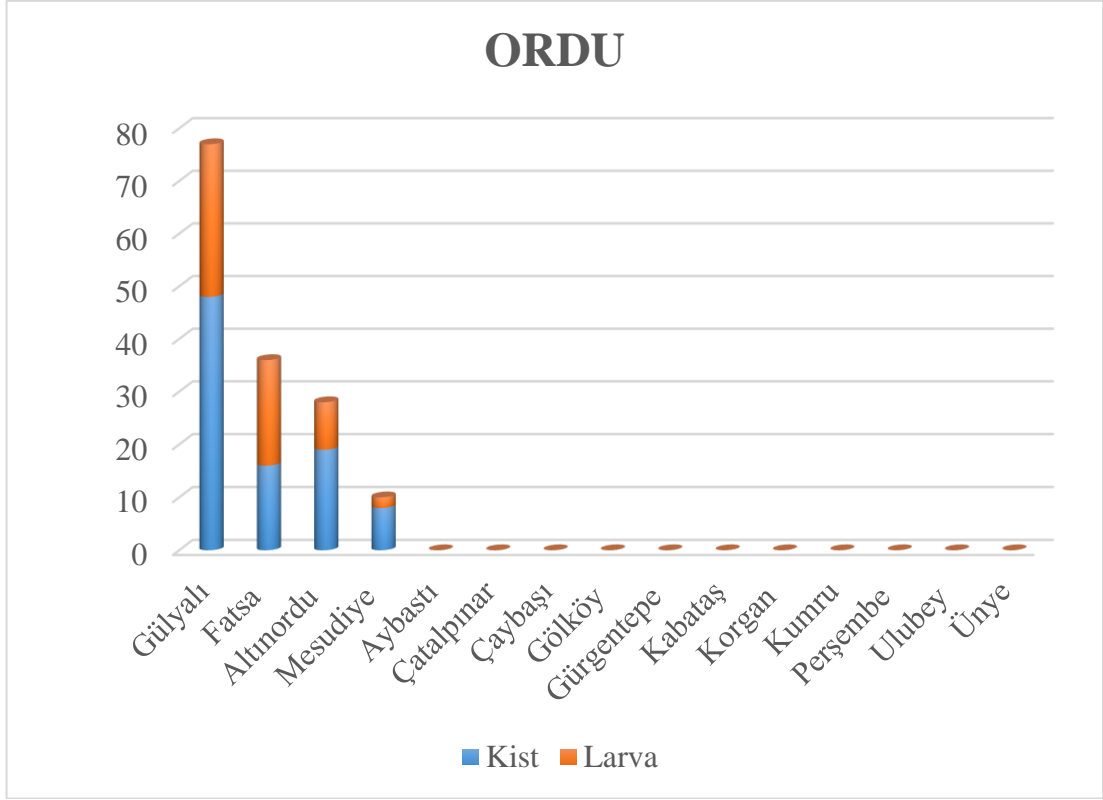
Doğu Karadeniz Bölgesi yaprak lahanası üretimi yapılan Ordu, Giresun, Trabzon, Rize ve Artvin İllerinden toplam 77 toprak örneği alınmıştır (Şekil 4.1). Alınan 77 toprak örneğinden 17 numunenin *Heterodera* spp. cinsi nematodlar ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir. Yapılan teşhis çalışmalarında kist nematodlarından *Heterodera cruciferae*, *Heterodera carotae*, *Heterodera fici* türleri tespit edilmiştir.

4.1 Kist nematodlarının örnekleme alanlarındaki popülasyon yoğunluğu ve bulaşıklık durumu

Tespit edilen *Heterodera* spp. ile bulaşık olan toprak örneklerinde *H. cruciferae* bulunan türler içerisinde %76.47 oranında, *H. carotae* %17.65 oranında, *H. fici* ise %5.88 oranında bulunmuştur. Topraktan alınan nematodların yoğunlukları, 2022-2023 yıllarında her bir lokasyondan alınan 100 cm³/toprak içerisindeki nematodlar sayılarak elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1'de ve grafik olarak sunulmuştur (Şekil 4.1).

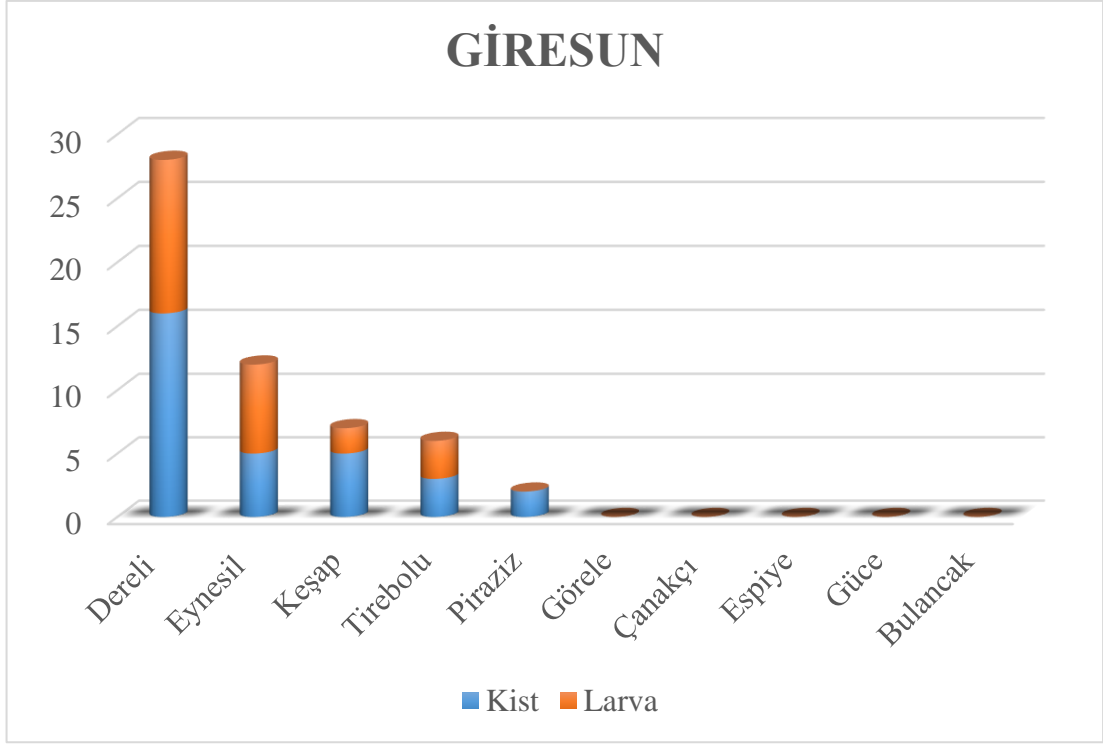
Çizelge 4.1 Toprak elde edilen *Heterodera* spp. (larva+kist) ve türlerinin 100 cm³ topraktaki yoğunlukları

Şehir	İlçe	Kist Sayısı	İnfektif Juveniller (IJ ₂)	Türler
Ordu	Altınordu	38	18	<i>H. cruciferae</i>
	Fatsa	31	40	<i>H. carotae</i>
	Gülyalı	48	29	<i>H. carotae</i>
	Mesudiye	8	2	<i>H. fici</i>
Giresun	Tirebolu-5	18	18	<i>H. cruciferae</i>
	Eynesil-1	4	13	<i>H. carotae</i>
	Eynesil-2	5	2	<i>H. cruciferae</i>
	Keşap-2	9	3	<i>H. cruciferae</i>
	Dereli	16	12	<i>H. cruciferae</i>
	Piraziz	2	0	<i>H. cruciferae</i>
Trabzon	Arsin	6	10	<i>H. cruciferae</i>
	Yomra	2	0	<i>H. cruciferae</i>
	Vakfikebir-1	8	5	<i>H. cruciferae</i>
	Vakfikebir-2	3	3	<i>H. cruciferae</i>
	Akçaabat	7	18	<i>H. cruciferae</i>
Rize	Çamlıhemşin	5	1	<i>H. cruciferae</i>
	Ardeşen	3	0	<i>H. cruciferae</i>



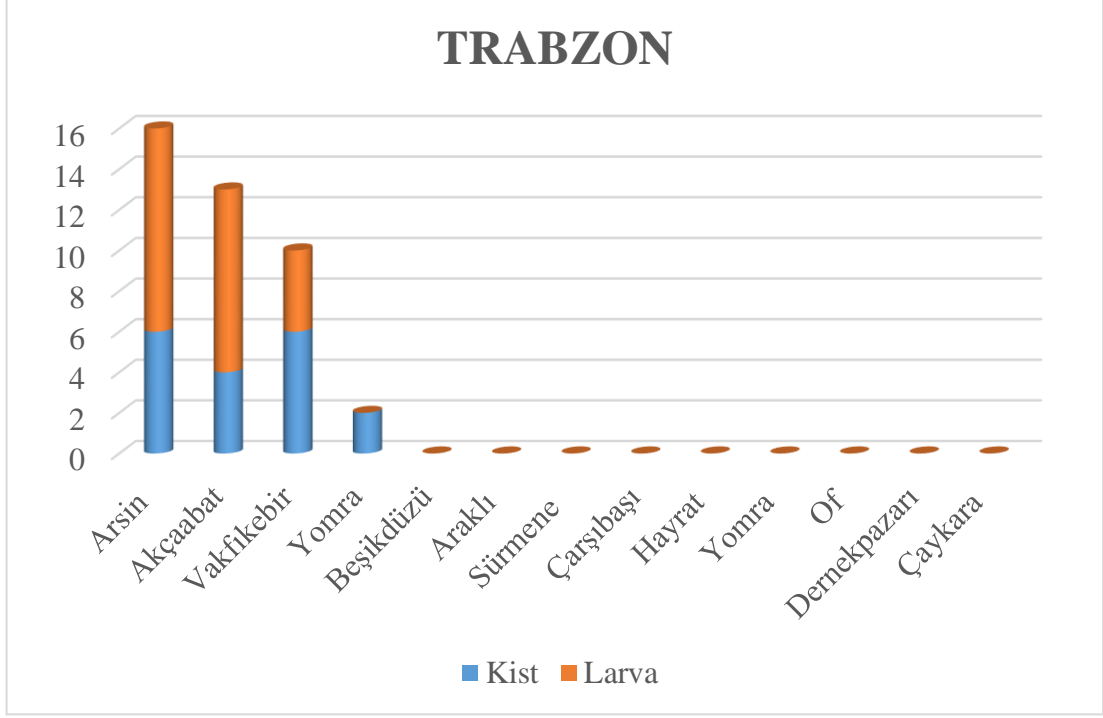
Şekil 4.1 Ordu ilinde 100 cm³ toprakta olgun kist tespit edilen ilçelerdeki kistlerin popülasyon yoğunlukları

Yapılan çalışmada Ordu İli'nin 15 ilçesinden alınan 19 toprak örneğinden 4 tanesinde kist nematoduna rastlanmıştır. Yapılan değerlendirme sonucunda Ordu ilinden alınan yaprak lahanaya yetiştirilen toprakların %21.05'i kist nematodu ile bulaşık olarak belirlenmiştir. Örneklemelerde 2. dönem larva ve kistlerin varlığına yalnızca 4 ilçede rastlanmıştır. Ordu ilinin bu ilçelerinde 100 cm³ toprakta, 29 adet infektif juvenil ve 48 adet kist elde edilerek en yüksek popülasyon Gülyalı ilçesinde tespit edilmiştir. Gülyalı ilçesini Fatsa ilçesi takip etmiş olup 100 cm³ toprakta 20 adet infektif juvenil ve 16 adet kist popülasyonu tespit edilmiştir. Altınordu ilçesinde ise 100 cm³ toprakta 9 adet infektif juvenil ve 19 adet kist popülasyonu belirlenmiştir. En az yoğunluk ise Mesudiye ilçesinde 100 cm³ toprakta 2 adet infektif juvenil ve 8 adet kist popülasyonu tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



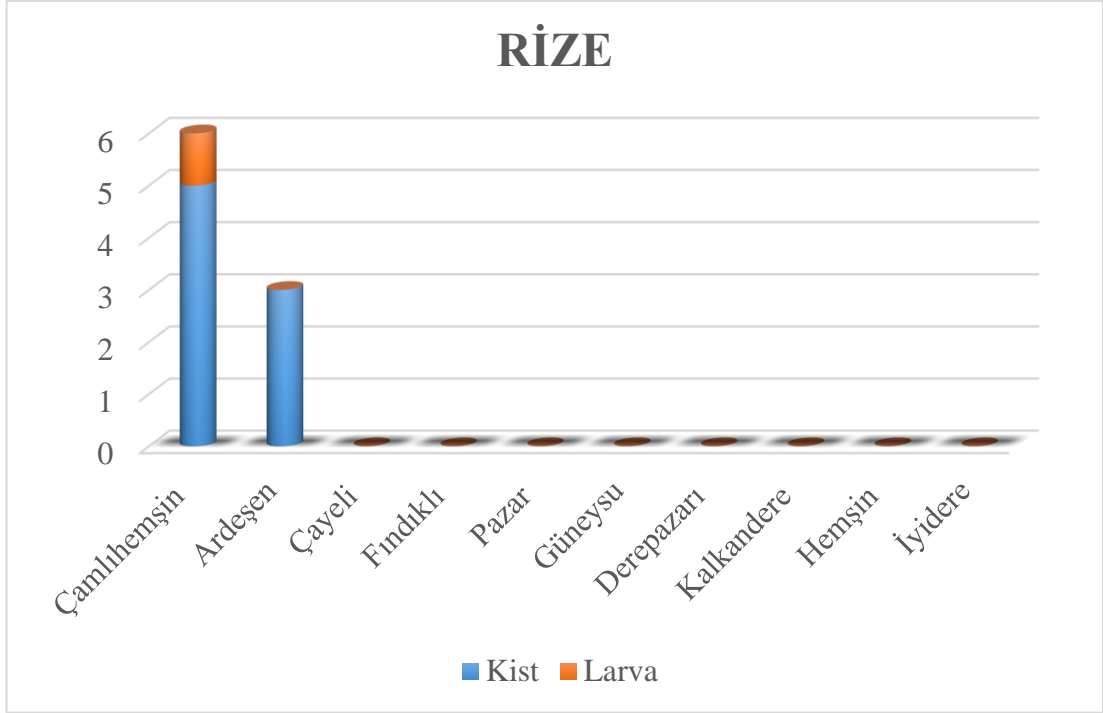
Şekil 4.2 Giresun ilinde 100 cm³ toprakta olgun kist tespit edilen ilçelerdeki larva ve olgun kistlerin popülasyon yoğunlukları

Yapılan çalışmada Giresun İli'nin 10 ilçesinden alınan 17 toprak örneğinden 6 tanesinde kist nematoduna rastlanmıştır. Yapılan değerlendirme sonucunda Giresun ilinden alınan yaprak lahanaya yetiştirilen toprakların %35.29'i kist nematodu ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir. Örneklerde 2. dönem larva ve kistlerin tespiti yalnızca 5 ilçede raslanmıştır. Giresun ilinin bu ilçelerinden 100 cm³ toprakta 12 adet infektif juvenil ve 16 adet kist elde edilerek en yüksek popülasyon Dereli ilçesinde tespit edilmiştir. Dereli ilçesini Eynesil ilçesi takip etmiş olup 100 cm³ toprakta 7 adet infektif juvenil ve 5 adet kist tespit edilmiştir. Keşap ilçesinde ise 100 cm³ toprakta 2 adet infektif juvenil ve 5 adet kist popülasyonu saptanmıştır. Tirebolu ilçesinde 100 cm³ topraktaki kist ve ikinci dönem sayıları 3'tür. En az yoğunluk ise Piraziz ilçesindedir. (2 kist/100 cm³) (Şekil 4.3).



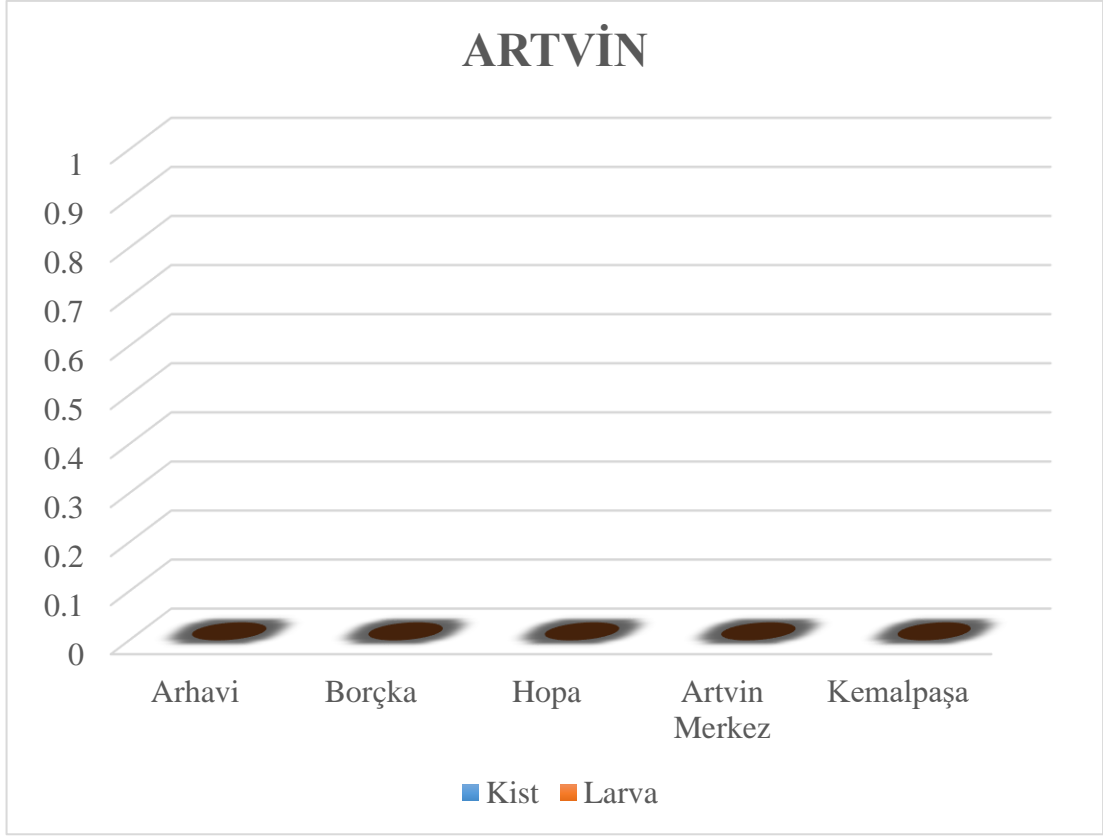
Şekil 4.3 Trabzon ilinde 100 cm³ toprakta olgun kist tespit edilen ilçelerdeki olgun kistlerin popülasyon yoğunlukları

Yapılan çalışmada Trabzon'nun 13 ilçesinden alınan 19 toprak örneğinden 5 tanesinde kist nematoduna rastlanmıştır. Yapılan değerlendirme sonucunda Trabzon ilinden alınan yaprak lahanaya yetiştirilen toprakların %26.31'i kist nematodu ile bulaşık tespit edilmiştir. Toprakta 2. dönem larva ve kistlerin elde edilebildiği ilçe sayısı 4'tür. Trabzon ilinin bu ilçelerinden 100 cm³ toprakta 10 adet infektif juvenil ve 6 adet kist elde edilerek en yüksek popülasyon Arsin ilçesinde tespit edilmiştir. Arsin ilçesini Akçaabat ilçesi takip etmiş olup 100 cm³ toprakta 9 adet infektif juvenil ve 4 adet kist popülasyonu tespit edilmiştir. Vakfikebir ilçesinde ise 100 cm³ toprakta 4 adet infektif juvenil ve 6 adet kist popülasyonu tespit edilmiştir. En az yoğunluk ise 100 cm³ topraktan sadece 2 adet ile Yomra ilçesindedir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 Rize ilinde 100 cm³ toprakta olgun kist tespit edilen ilçelerdeki olgun kistlerin popülasyon yoğunlukları

Yapılan çalışmada Rize İli'nin 10 ilçesinden alınan 15 toprak örneğinden 2 tanesinde kist nematoduna rastlanmıştır. Yapılan değerlendirme sonucunda Rize ilinden alınan yaprak lahanaya yetiştirilen toprakların %13.33'ü kist nematodu ile bulaşık tespit edilmiştir. Toprakta 2. dönem larvaların ve kistlerin tespiti yalnızca 2 ilçede raslanmıştır. Rize ilinin bu ilçelerinden 100 cm³ toprakta 1 adet infektif juvenil ve 5 adet kist elde edilerek en yüksek popülasyon Çamlıhemşin ilçesinde tespit edilmiştir. En az yoğunluk ise Ardeşen ilçesinde 100 cm³ toprakta sadece 3 adet kist popülasyonu tespit edilmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 Artvin ilinde 100 cm³ toprakta olgun kist tespit edilen ilçelerdeki olgun kistlerin popülasyon yoğunlukları

Yapılan çalışmada Artvin İli'nin 5 ilçesinden alınan 7 adet toprak örneğinden hiçbirinde kist nematoduna rastlanmamış olup; yapılan değerlendirme sonucunda Artvin ili yaprak lahanası ekim alanlarının kist nematodu ile bulaşıklık olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.6).

4.1.1 *Heterodera* spp. Morfolojik ve Moleküler karakterlerinin belirlenmesi

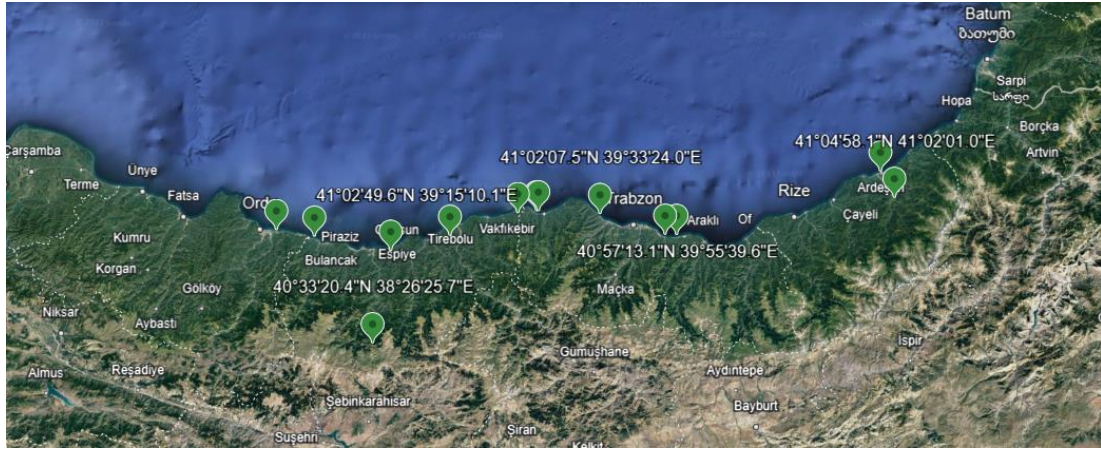
Kist (*Heterodera* spp.) nematodları, vasküler dokularda zarar oluşturan sabit endoparazit beslenmeleri, konukçu bitkide özelleşmiş parazitizm mekanizmaları, yüksek döl verimi ve dişi başına bırakılan yumurta sayısının fazlalığı sebepleriyle ekonomik açıdan en önemli bitki paraziti nematod türlerindedir.

Kist nematodları ikinci dönem larvanın yedi karakteri (vücut uzunluğu, orta gövde genişliği, a, kuyruk uzunluğu, hyalin kuyruk uzunluğu, stylet uzunluğu ve dorsal bez kanalı açıklığı ile stylet tabanı arasındaki mesafe) ve kahverengi kistlerin beş karakteri (underbridge uzunluğu, underbridge genişliği, fenestral uzunluk,

fenestral genişlik, vulva yarık uzunluğu ve ballue varlığı) dahil olmak üzere morfolojik ve morfometrik özellikler kullanılarak ayırt edilmiştir (Handoo, 2002).

4.1.1.1 *Heterodera cruciferae* (Franklin, 1945)

Yapılan çalışmada Ordu ilinde tespit edilen nematodlardan *H. cruciferae*, alınan örneklerin %16.8'inden elde edilmiştir (Şekil 4.7). Ayrıca İlçelere göre karşılaştırıldığında *H. cruciferae*'nin en yüksek yoğunluğu Altınordu ilçesinde 38 olgun kist/100 cm³ ve 18 juvenil/100 cm³ birey tespit edilmiştir.

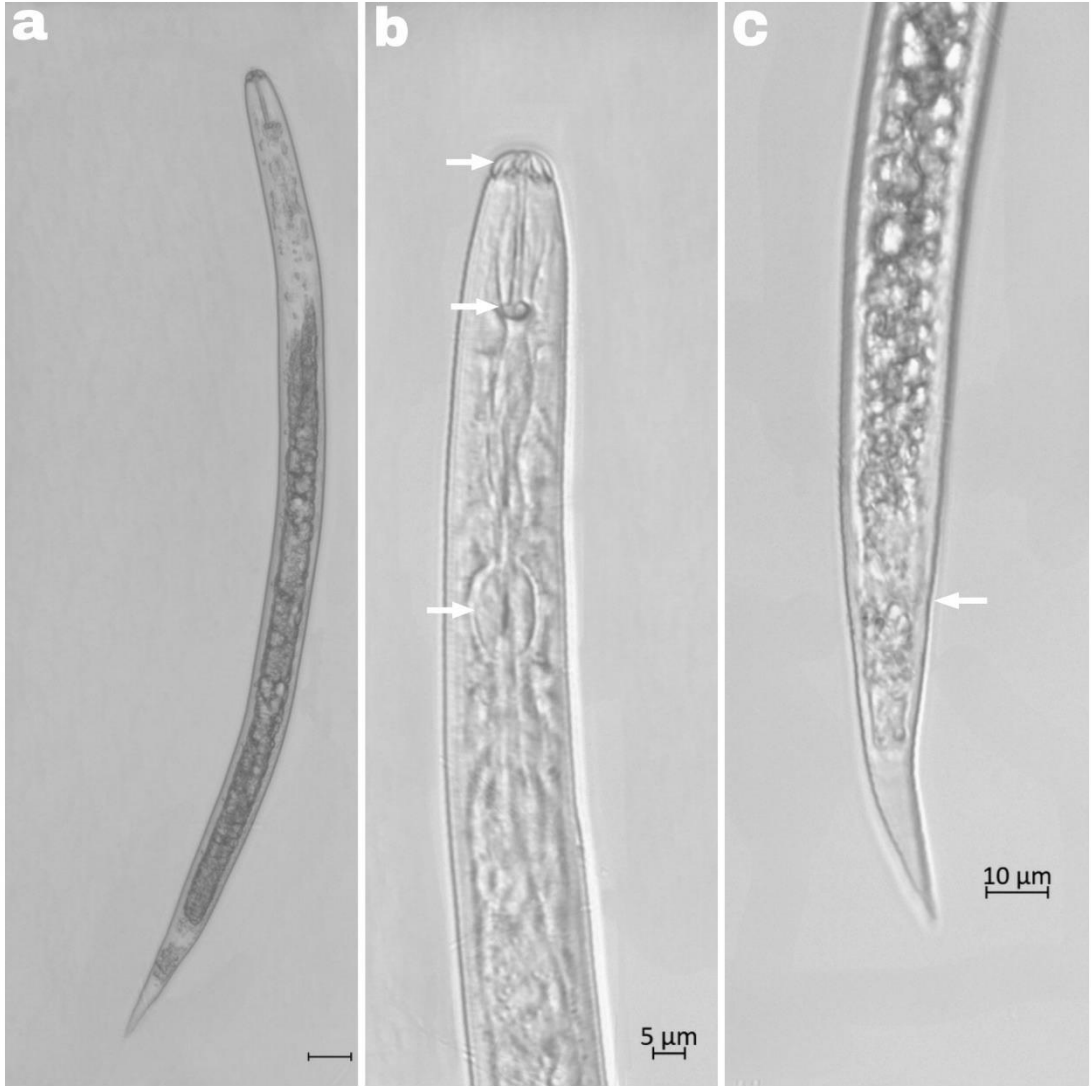


Şekil 4.6 *Heterodera cruciferae*'nin doğu karadeniz bölgesinde tespit edildiği yerler

4.1.1.1.1 Morfolojik karakterleri

-2. Dönem larva morfolojisi

İkinci dönem larvalar, vermiform, yumurta içinde üç kez katlanmaktadır. Baş 3 veya 4 baş halkası ile ofset durumdadır. Stylet güçlü, koni toplam uzunluğun yaklaşık %40'ı kadar, bazal topuzlar büyük, ön yüzü düzden içbükeye kadar uzanmaktadır. Özofagus bezi vücut uzunluğunun yaklaşık %33'üne kadar, arkaya doğru uzanır. Kuyruk düzgün bir şekilde ince yuvarlatılmış bir uca doğru sivrilir, terminal hyalin bölge kuyruk uzunluğunun yaklaşık %50'si kadardır ve stylet uzunluğuna eşittir. Vücutları 412.2 ± 19.8 μm uzunluğundadır (Şekil 4.8a). Stylet gelişmiş ve 23.7 ± 0.7 μm uzunluğundadır. Stylet tokmakları boyu 2.8 ± 0.3 μm , eni 4.9 ± 0.3 μm uzunluğunda olup yuvarlak, küçük ve ölçülmeleri zordur (Şekil 4.8b). Median bulb boyu 9.1 ± 1.2 μm , eni 15.2 ± 1 μm uzunluğunda olup vücut boşluğunu dolduracak şekilde büyüktür. Kuyruk ortalama 46 ± 3 μm uzunluğundadır (Şekil 4.8c). Kuyruk vücut sonuna doğru daralmakta ve sivrilerek sonlanmaktadır. Hyalin bölgesi uzunluğu 25.1 ± 0.8 μm olup oldukça belirgin bir şekilde ihtiva etmektedir (Çizelge 4.2).



Şekil 4.7 *Heterodera cruciferae*'nin İnfektif Juvenilinin a: Genel Görünümü, b: Anterior, c: Posterior Bölgesinin Görünümü

Çizelge 4.2 *Heterodera cruciferae*'nin 2. Dönem Larvasına (J2) Ait Morfometrik ve Allometrik Karakter Özellikleri (µm)

	Ort. ± St. S	(Min. – Maks.)	Jabbari ve Niknam, (2008)
n	20		
L	412.3 ±19.8	383.9-455	351 ± 15
a	19.7±0.6	18.9-21.4	20 ± 1.5
b	7±1	6.1-8.4	-
c	9±1	7.2-8.8	8.4 ± 0.7
c'	3.6±0.3	3.1-4.3	4 ± 0.3
DGO	3.7±0.4	3.3-4.4	5-6
Dudak bölgesi eni	8.4±0.6	7.7-8.8	-
Dudak bölgesi uzunluğu	4.5±0.4	3.1-5.4	3-4
Stylet uzunluğu	23.7±0.7	22.4-25.4	21 ± 0.8
Median bulb'in ortasından baş kısma uzaklık	70.9±4.5	56.6-78.7	-
Boşaltım kanalından baş kısma uzaklık	99.1±6.4	56.6-78.7	95-110
Oesophageal uzunluğu	145.3±9.7	120.8-158.6	-
Vücut ortasındaki genişliği	20.9±0.6	20.1-22	-
Anüsteki vücut genişliği	12.8±0.4	12.1-13.6	-
Hyaline bölgesinde ki vücut genişliği	6±0.3	5.3-6.4	-
Kuyruk uzunluğu	46±0.3	42-51.9	41 ± 5
Hyaline bölgesi uzunluğu	25.1±0.8	24.3-26.9	21.3 ± 1.9

*St.S: Standart Sapma

L= Vücut uzunluğu

a = Vücut uzunluğu / Vücutun en geniş yeri

b = Vücut uzunluğu / Baş kısmından median bulb'e kadar olan uzunluk

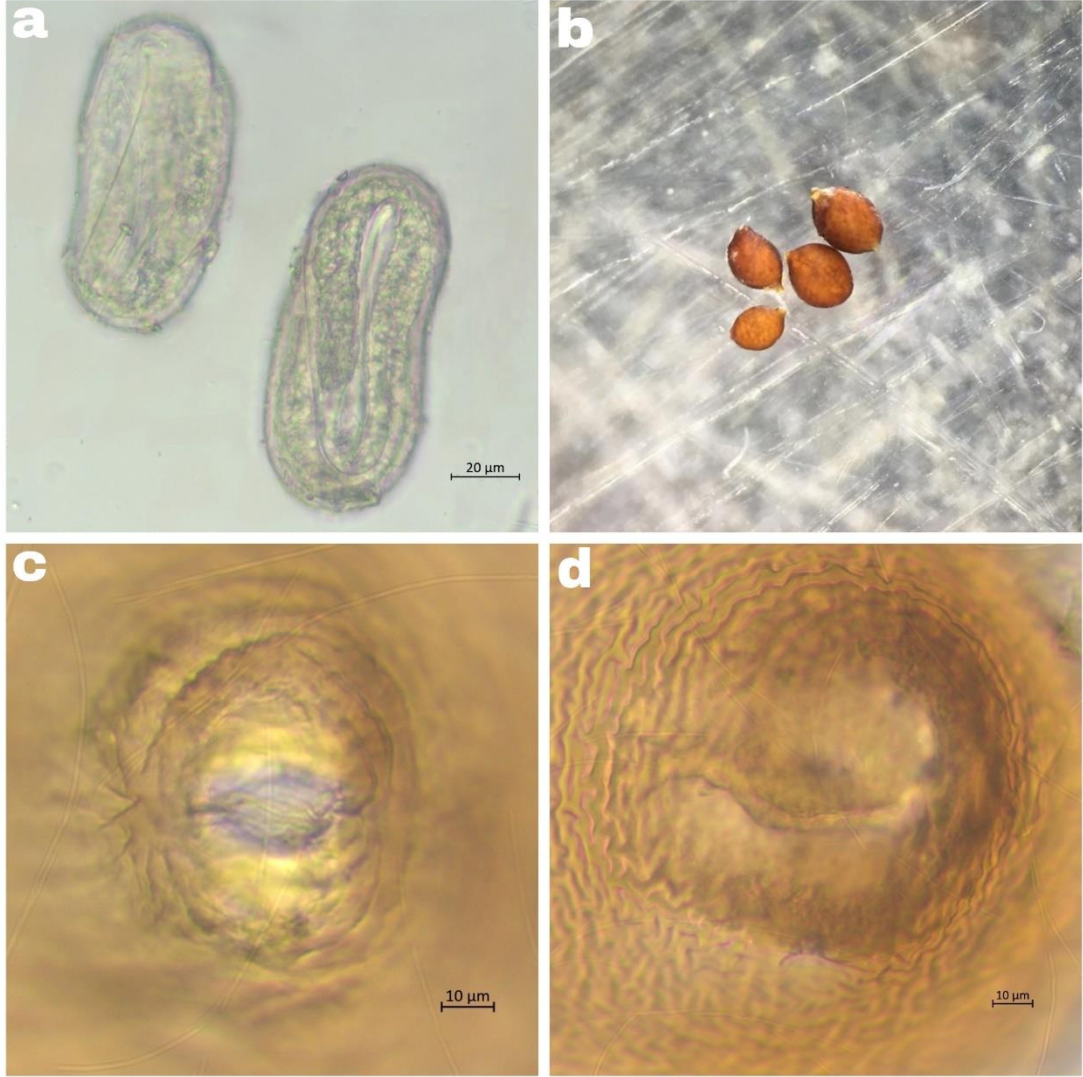
c = Vücut uzunluğu / Kuyruk uzunluğu

c'= Kuyruk uzunluğu / Anüsteki vücut genişliği

Bu çalışmada belirlenen *H. cruciferae*'nin perineal kesitinde gözlemlenen özellikler ile dişinin morfolojik ve morfometrik ölçümleri, daha önce yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında önemli bir farklılık göstermemiştir (Stone ve Rowe, 1976). Larvaya ait ölçümlerde ise Stone ve Rowe, (1976) boy uzunluğunu ortalama 431 µm ve stylet uzunluğunu 24.1 µm olarak bildirmiştir. Aynı şekilde Jabbari ve Niknam, (2008) boy uzunluğunu ortalama 351.1 µm arasında, stylet uzunluğunu ortalama 21 µm olarak rapor etmiştir. Bu çalışmalara ek olarak Jabbari ve ark., (2017) tarafından yapılan çalışmada boy uzunluğunu ortalama 351 µm, kuyruk uzunluğu ortalama 41 µm olarak ölçümleri yapılmıştır. Bu çalışmada yapılan ölçümler, önceki çalışmalarla karşılaştırıldığında benzerlik göstermektedir. Çalışmada çıkan ölçüm sonuçlarının değerleri Stone ve Rowe, (2018)'nin yaptığı çalışmadaki ölçümlere daha yakın olduğu görülmektedir. Ölçümlerdeki bu farkların iklimsel ve bölgesel durumdan kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.1.1.1.2 Dişinin morfolojik özellikleri

Heterodera cruciferae'nin olgun dişilerinde vücut yapısı küresel veya limon şeklindedir (Şekil 4.9b). Kist duvarı sert ve koyu kahverengidir. Olgun dişi bireylerin boyları ortalama $482.9 \pm 73.6 \mu\text{m}$, posterior kısımdaki eni ise ortalama $376.6 \pm 75.4 \mu\text{m}$ 'dir. Yumurtaları ince, uzun ve oval şeklindedir (Şekil 4.9a).



Şekil 4.8 Kist Nematodu *Heterodera cruciferae*'nin a: yumurtası, b: olgun kistlerin toplu görüntüsü, c-d: Olgun dişi perineal yapısının görünüşü

Perineal kesit kist nematodlarının teşhis edilmesinde önemli bir karakterdir. Bu çalışmada kistlerin anal kesit preparasyonu yapılarak, anal kesitlerin vulvat slit, underbridge, fenestral ve semifenestra gibi ayırt edici karakterleri incelenmiştir (Şekil 4.9c-d). Kist nematodlarının vücut yapıları genellikle birbirine çok benzediği için ayrımları oldukça zordur. Olgun kistler nispeten küçük vulval koni ile limon

şeklinde. Kist, dar bir vulval köprü ile ayrılmış, vulva semifenestrat-ambifenestrattır, bullae yoktur, underbridge çok zayıftır.

Çizelge 4.3 *Heterodera cruciferae*'nin Olgun Kist ve Yumurtalarına Ait Morfometrik ve Allometrik Karakter Özellikleri (μm)

	Ort. \pm St. S	Min. – Maks.	Jabbari ve Niknam, (2008)
n	20		
Kist boyu (boyun hariç)	482.9 \pm 73.6	369.3-629.2	505.4 \pm 58.5
Kist eni	376.6 \pm 75.4	273.3-512	398 \pm 63.2
Vulval slit	31.5 \pm 1	-	42.3 \pm 5
Fenestral uzunluğu	33.2 \pm 0.3	-	-
Fenestral eni	39.2 \pm 0.2	-	36.6 \pm 5
Underbridge uzunluğu	58.2 \pm 0.3	53.2-62.8	-
L/W oranı	1.3 \pm 0.2	0.84-1.8	1.3 \pm 0.1
	Ort. \pm St. S	Min. – Maks.	
n	20	-	-
Yumurta boyu	103.9 \pm 4.1	94.5-110.7	-
Yumurta eni	43.8 \pm 2.3	39.7-47.6	-
L/W oranı	2.4 \pm 0.2	1.9-2.8	-

*St.S: Standart Sapma

L: Vucut boyu, W: Vucut eni

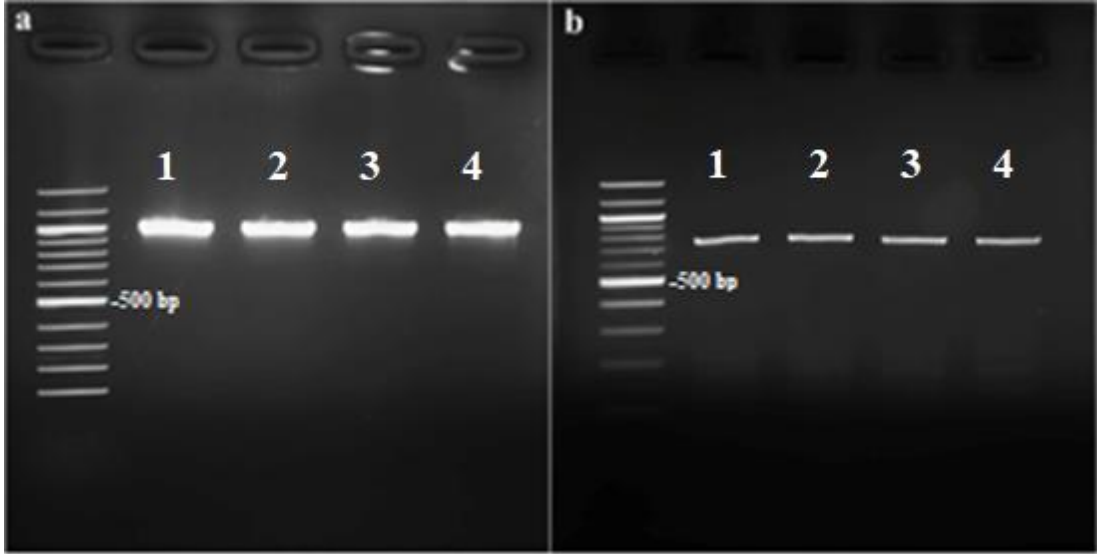
Olgun kistlere ait ölçümlerde ise Jabbari ve Niknam, (2008) boy uzunluğunu 400-609.5 μm olduğunu rapor etmiştir. Benzer şekilde Jabbari ve ark., (2017) boy uzunluğunu ortalama 505 μm , fenestral uzunluğunu ortalama 36.6 μm olarak bildirmiştir. Bu çalışmalara ek olarak Chizhov ve ark., (2009) tarafından yapılan çalışmada boy uzunluğu ortalama 557 μm ve L/W oranını ortalama 1.3 μm olarak ölçülmüştür. Ayrıca Bello ve ark., (1999) boy uzunluğunu ortalama 555 ve fenestral enini 38.4 μm şeklinde bildirmişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen ölçüm sonuçlarının, genel olarak diğer çalışmalara benzerlik gösterdiği, özellikle Jabbari ve Niknam (2008) tarafından yapılan çalışmadaki ölçümlere daha yakın olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3)

4.1.1.2 Moleküler Karakterler

Moleküler karakterlerin tespit edilmesinde, toprak örneklerinden elde edilen kist nematodu dişileri kullanılmıştır. Kist nematodlarının teşhisinde DNA moleküler yöntemlerinden yararlanıldı. DNA moleküler yönteminde *H. cruciferae* için D2A/D3B ve TW81/AB28 primer çiftleri kullanılmış ve PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda elde edilen bant büyüklükleri D2A/D3B primer çifti için yaklaşık 800 bp ve TW81/AB28 primer çifti için yaklaşık

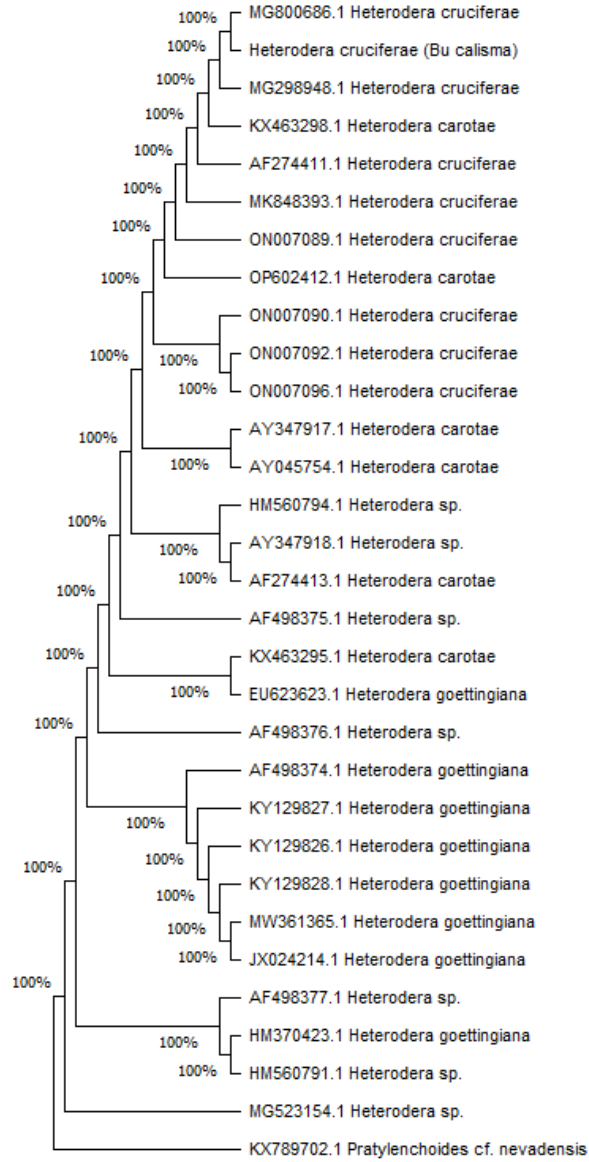
1100 bp olarak saptanmıştır (Şekil 4.10). Cezayir’de tespit edilen MK848393.1 Erişim No’lu *H. cruciferae* ile %99.82 oranında benzerlik ilişkisi olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.9 *Heterodera cruciferae*'nin TW81/AB28 (a) ve D2A/D3B (b) Primerlerinde Verdiği Bant Büyüklükleri

4.1.1.3 Filogenetik analiz

Elde edilen nematodların genomik DNA'larının ITS bölgesi PCR yöntemi ile çoğaltılarak sekans analizine gönderilmiştir (Portugal). Elde edilen sekansların gen bankasındaki daha önce tespit edilen ITS bölgesine ait nükleotit dizilimlerinden faydalanılarak filogenetik ilişkileri incelenmiştir. Bunun için en yüksek akrabalık ilişkisine bağlı (Maximum Likelihood) soyağacı oluşturulmuştur (Şekil 4.11). Bu çalışmadan elde edilen *H. cruciferae*'nin Sırbistandan elde edilen MG298948 ile kardşlık ilişkisine sahip olduğu görülmüştür. Aynı zamanda MG800686 numaralı *H. cruciferae* ile monofiletik grup içerisinde yer aldığı görülmüştür.



Şekil 4.10 *Heterodera cruciferae*'nin ITS bölgesi maximum likelihood filogenetik ağacı

Lahana kist nematodu *H. cruciferae*'nin yaşam döngüsü genel olarak embriyonik ve postembriyonik olmak üzere iki kısımda incelenmiştir. Embriyonik gelişmenin başlangıcında tek hücreli olan yumurta, ardından geometrik bölünmenin devam etmesiyle 2, 4, 8 gibi sayılarla çoğalarak çok hücreli hale gelir. Bölünmelerini tamamladıktan sonra yumurta içinde birinci larva dönemi başlar. Birinci deri değişimi yumurta içinde gerçekleşir ve larva ikinci döneme geçer. Daha sonra ikinci dönem larva yumurta kabuğunu kırarak dışarı çıkar ve kendine uygun bir konukçu arar. Bu aşamadan sonra postembriyonik dönem başlar. İkinci dönem larva genellikle bitkinin kök uçlarından girer, kuyruğu dışarıda kalırken baş kısmı bitki dokusuna girer ve

sabitlenir. Kök içine giren ikinci dönem larva yaklaşık 8 gün içinde üçüncü larva dönemine geçer ve bu aşamada cinsiyet ayrımı yapılamaz. Erkek larvalar üçüncü larva dönemini 6 günde, dördüncü larva dönemini 7 günde tamamlayarak, köke girişlerinden yaklaşık 21 gün sonra ergin hale gelirler. Dişi larvalar ise üçüncü larva döneminden sonra enine büyüyerek limon şekline gelir ve dördüncü larva döneminden sonra erginleşirler. Dişiler yumurtalarını vücutlarının içinde oluşturduktan sonra ölürlere ve yumurtalarıyla birlikte kiste dönüşürler. Bu çalışmada *Heterodera cruciferae* türü tespit edilmiştir. Dünyada yapılan diğer çalışmalara bakıldığında ise *Meloidogyne* spp. (Goeldi, 1892), *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944, *Belonolaimus longicaudatus* (Rau, 1958) gibi bitki paraziti nematodlar ve özellikle *H. cruciferae* (lahana kist nematodu) ve *H. schachtii* (şeker pancarı kist nematodu) kist nematodları lahanada ciddi zararlara neden olduğunu vurgulamışlardır (Bridge ve Starr, 2007; Hallmann ve Meressa, 2018). Jabbari ve Niknam, (2008) 2004-2005 yılları arasında İran'ın Doğu Azerbaycan eyaletinin Tebriz kentindeki sebze tarlalarında bitki paraziti nematod biyoçeşitliliğinin araştırmışlardır. 88 toprak ve kök örneğinden 16 nematod cinsine ait 25 tür tespit etmişlerdir, bunların arasında örnekleme bölgelerinin çoğunda büyük bir kist nematod popülasyonu, *H. cruciferae* olduğunu rapor etmişlerdir. Rusya'da yapılan nematolojik bir araştırma sırasında *H. cruciferae*, Rusya'nın Moskova bölgesindeki Oka Nehri, Ozery ve Serpukhov bölgeleri boyunca lahana yetiştirilen alanlarda tespit etmişlerdir. Bu nematodun Moskova bölgesindeki ilk raporunu bildirmişlerdir. Kolza, rutabaga ve turp bu nematod için ek konukçu bitkiler olarak tanımlamışlardır (Chizhov ve ark., 2009). Harris ve Evans, (1988) *H. cruciferae* ile yoğun şekilde istila edilmiş bir tarlada yetiştirilen üç kışlık yağlı tohum kolza çeşidi, nematoda karşı çeşit direnci kanıtı göstermediği bildirmişlerdir. Karabaş (2014), Türkiye'de patates (*Solanum tuberosum* L.) tarlalarından *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Behrens, kırmızı baş lahana (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* subvar. *rubra* L.) tarlalarından *H. cruciferae* ve şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.) tarlalarından *H. schachtii* kistleri toplanmış ve mantar varlığı açısından incelemiştir. Toplam 136 *H. cruciferae* kistin %37,5'i, tamamı 7 farklı mantar türünden biri veya daha fazlası tarafından kolonize edilmiştir ve 154 *H. schachtii* kistin %38,9'u aynı cinslerden 7 farklı türden biri veya daha fazlası tarafından kolonize ettiğini rapor etmiştir. McCaan (1981), *H. cruciferae* ve *H.*

schachtii'yi farklı lahana tarlalarına (5, 10, 20, 40 veya 80 kist/100 gr toprak) bulaştırmıştır. Nematodların gelişimleri 12, 24 ve 36 gün sonra değerlendirmiştir. Fidelerin kuru ağırlığının yalnızca *H. schachtii* tarafından 12. günde (40 veya 80 kist/100 gr toprak) önemli ölçüde azaldığını belirtmiştir. Ayrıca, 24. ve 36. günlerde her iki türün inokulum miktarının (20, 40 veya 80 kist/100 gr toprak) arttığını ve fidelerin büyüme oranlarının her iki tür tarafından 12-24 ve 24-36 gün aralıklarında azaldığını tespit etmiştir. Sykes ve Winfield, (1966) Hollanda, Lincolnshire'da beş lokasyonda toprak örnekleme yapılan rastgele bir araştırmada yoğun sebze yetiştiriciliği yapılan 100 tarladan 70'inde düzeyde *H. cruciferae* olduğunu göstermişlerdir. Popülasyonlar, tarlaların %20'sinde ölçülebilir ürün hasarına neden olacak kadar büyüklükte olduğunu bildirmişlerdir. Kışlık karnabaharlar üzerinde, *H. cruciferae*'nin başlangıçtaki yoğunluğu ile yakından ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir. Bu tür için toprak örneklerinden kist çıkarmanın dört yöntemi karşılaştırılmış, kistlerin geri kazanılması için güvenilir bir teknik tanımlamışlardır. Ayrıca Shahina ve Maqbool, (1995) Pakistan, Swat'ın dağlık bölgelerinden lahana (*Brassica oleracea* var. *capitata*) ve karnabahar (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) köklerinin etrafındaki topraktan toplanan *H. cruciferae* örnekleri Pakistan'da ilk kez tanımlamışlar ve LM fotomikrografları ile göstermişlerdir. Bir diğer çalışmada Raski, (1952) *H. cruciferae*'yi Kaliforniya yakınlarında, turpgillerin uzun yıllardır yetiştirildiği birçok tarlada tespit etmiştir. Parazitin yaygın olarak görülmesi ve büyük popülasyonlara sahip olması, uzun süredir mevcut olduğunu gösterdiğini bildirmiştir. Bu türü morfolojik temellere ve larvaların *Brassica oleracea* var. *gemmifera* L. köklerinin varlığında yumurtadan çıkma tepkisine göre tanımlamış ancak pancar köklerini tanımlamamıştır.

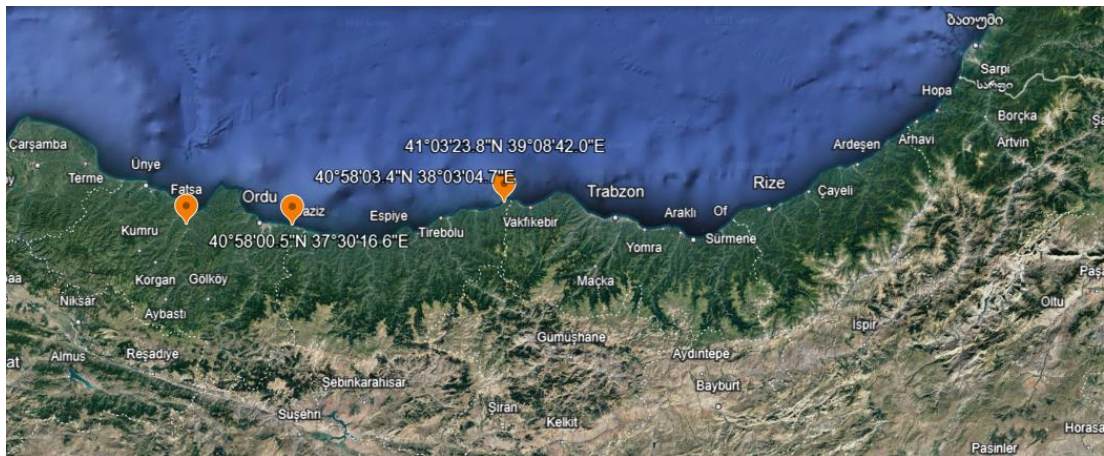
Ülkemizde yapılan diğer çalışmalara bakıldığında ise Toktay ve ark., (2022) Niğde ilindeki lahana üretim alanlarındaki kist nematodlarını moleküler yöntemlerle tanımlamak için Ribozomal DNA bölgesi (rDNA-ITS) ve sitokrom oksidaz alt ünite 1 (mtDNA-COI) dizilerini Türkiye'de ilk kez *H. cruciferae*'nin (lahana kist nematodu) tanımlanması için kullanmışlardır.

Bu araştırmada Samsun bölgesinde *H. cruciferae*'ya karşı dayanıklılık için ıslah programlarına dahil edilme potansiyelleri için lahana çeşitlerinin dayanıklılık seviyesini taramışlardır. Otuz lahana çeşidi kontrollü sera denemelerinde test etmişler

ve 3 çeşit duyarlı, 11 çeşit kısmen duyarlı, 9 çeşit dayanıklı ve 7 çeşit yüksek dirençli olarak tespit etmişlerdir. Beyaz baş lahanası çeşitleri en dayanıklı çeşitler olduğunu; 7'si oldukça dayanıklı ve 5'i dayanıklı ve yaprak lahanalarının %40'ı dayanıklı, %60'ı ise kısmen duyarlı olduğunu Çin lahanası ve Brüksel lahanasının tamamı kısmen duyarlı olarak rapor etmişlerdir (Aydınlı ve Mennan, 2012). Başka bir araştırmada ise Mennan ve ark., (2006) Samsun, Türkiye'de 2002, 2004 ve 2005 yıllarında lahanalarla (*Brassica spp.*) ilişkili kist nematodlarının dağılışı ve bulaşıklık seviyesini incelemek amacıyla bir araştırma yürütmüşlerdir. Toplam 101 toprak ve kök örneği analiz edilmiş ve lahanalarından toplanan toprak örneklerinin %45'inde kist tespit edildiğini bildirmişlerdir. Kistler, kistlerin ve ikinci aşama juvenillerin morfolojisine dayanarak *H. cruciferae* ve *H. mediterranea* olarak tanımlamışlardır. Bu kistlerin %78'i *Heterodera cruciferae*, %20'si *H. mediterranea* ve %2'si hem *H. cruciferae* hem de *H. mediterranea*'dan oluşan karışık bir popülasyona sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Lahana çeşitleri arasında *H. cruciferae* ile en çok enfekte olan kırmızı baş (%71) olmuş, bunu beyaz baş (%58) ve yaprak lahanası (sadece %3) izlemiştir. En yüksek popülasyon seviyesi *H. cruciferae* için beyaz baş lahanası tarlalarında 947 kist/L toprak ve *H. mediterranea* için kırmızı baş lahanası tarlalarında 1160 kist/L toprak olduğunu tespit etmişlerdir.

4.2.1.1 *Heterodera carotae* (Jones, 1950)

Alınan örneklerden *H. carotae* elde edilme oranı sadece % 3,8'dir (Şekil 4.12). Ayrıca İlçelere göre karşılaştırıldığında *H. carotae*'nin en yüksek yoğunluğu Gülyalı ilçesinde 48 olgun kist/100 cm³ ve Fatsa ilçesindedir. (40 larva/100 cm³).

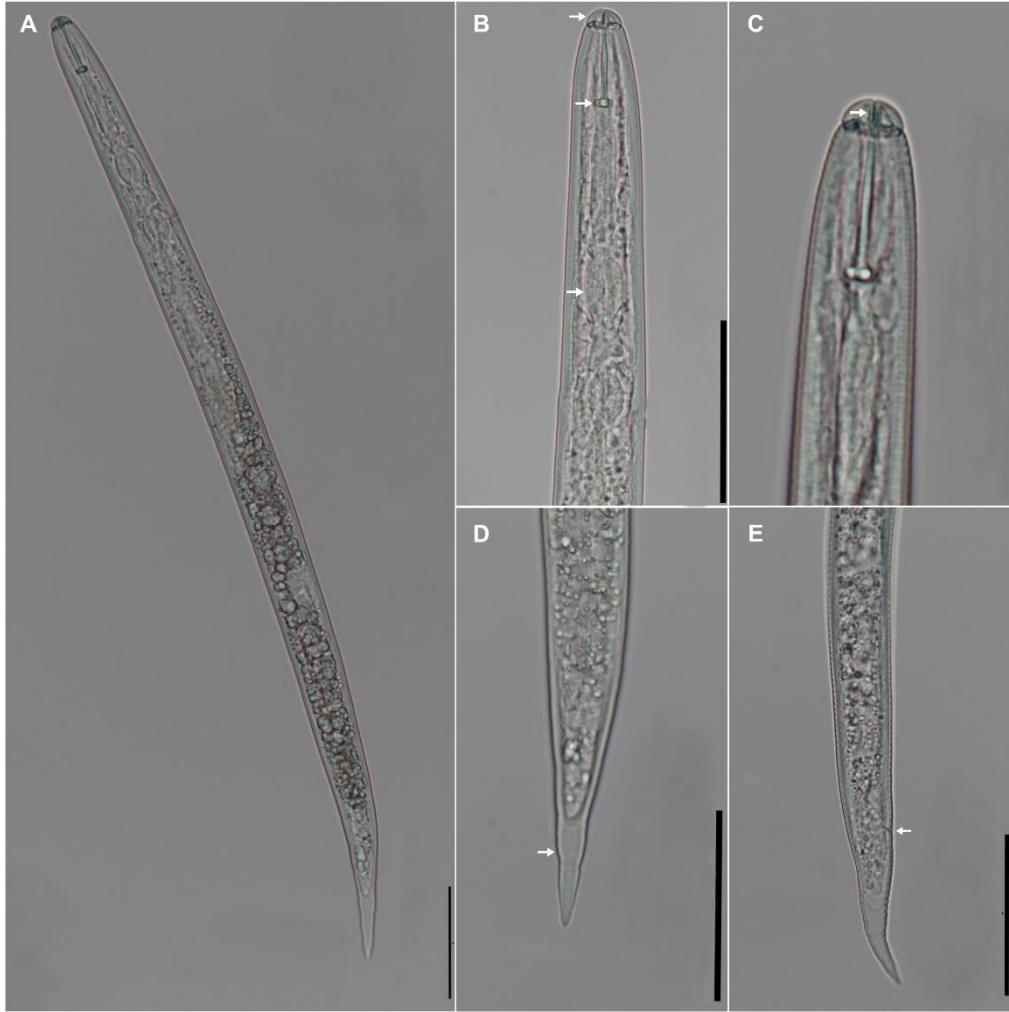


Şekil 4.11 *Heterodera carotae*'nin Doğu Karadeniz Bölgesinde Tespit Edildiği Yerler

4.2.1.1.1 Morfolojik karakterleri

-2. Dönem Larva Morfolojisi

Vermiform ve vücut incedir. İkinci evre juveniller yumurta içinde dört kez katlanır (Şekil 4.14a). Vücut uzunluğu 442 μm , vücut çapı 21.6 μm (vücudun ortasında), anüste 13.6 μm ve hyalin bölgesinde 7.6 μm 'dir. Sefalik bölgede medial dudaklar ve labial disk belirsizdir (Çizelge 4.4). Dudak bölgesi 7.8-10.4 μm çapında ve 3.6-4.9 μm yüksekliğindedir. Sefalik çerçeve iyi gelişmiş, yoğun sklerotize. Stylet çok güçlü 22.9-26.9 μm , stylet topuzları yuvarlak (Şekil 3.13c). Medyan ampul oval, belirgin kapakçıklıdır. Boşaltım gözeneginin (EP) konumu ön uçtan itibaren 89,5-112,7 μm arasında değişmektedir (Şekil 4.13b). Faringeal bezler uzamış, posteriora sivrilmiş, ventralde bağırsakla örtüşmektedir. Yanal alan üç bant oluşturan dört kesiklidir. Kuyruk, belirgin terminal hyalin kısmı ile akut konikdir (Şekil 4.13d-e).



Şekil 4.12 *Heterodera carotae*'nin İnfektif Juvenilinin A: Genel Görünümü, B-C: Anterior, D-E: Posterior Bölgesinin Görünümü

Çizelge 4.4 *Heterodera carotae*'nin 2. Dönem Larvasına (J2) Ait Morfometrik ve Allometrik Karakter Özellikleri (µm)

	Ort. ± St. S	Min.-Max.	Escobar-Avila ve ark., (2018) Ort.
n	20		30
L	442 ±15.2	410.5-469.2	394
a	20.5±0.6	19.6-21.8	18.9
b	7.1±1	6.1-8.5	-
c	8±0	7.2-8.8	8.2
c'	4±0.2	3.6-4.4	3.7
DGO	5.1±0.4	4.1-5.8	5
Dudak bölgesi eni	9±0.6	7.8-10.4	9
Dudak bölgesi uzunluğu	4.3±0.4	(3.6-4.9	5
Stylet uzunluğu	24.8±1.1	22.9-26.9	25
Median bulb'in ortasından baş kısma mesafe	70.9±4.5	56.6-78.7	-
Boşaltım kanalından baş kısma mesafe	99.1±6.4	56.6-78.7	87
Oesophageal uzunluğu	145.3±9.7	120.8-158.6	131
Vücut ortasındaki genişliği	21.6±0.5	20.6-22.4	21
Anüsteki vücut genişliği	13.6±0.4	12.9-14.4	13
Hyaline bölgesinde ki vücut genişliği	7.6±0.5	6.6-8.4	8
Kuyruk uzunluğu	55±2.4	49.3-59	48
Hyaline bölgesi uzunluğu	29.9±2.8	23.8-34.6	26

*St.S: Standart Sapma

L= Vücut uzunluğu

a = Vücut uzunluğu / Vücutun en geniş yeri

b = Vücut uzunluğu / Baş kısmından median bulb'in ortasına kadar olan uzunluk

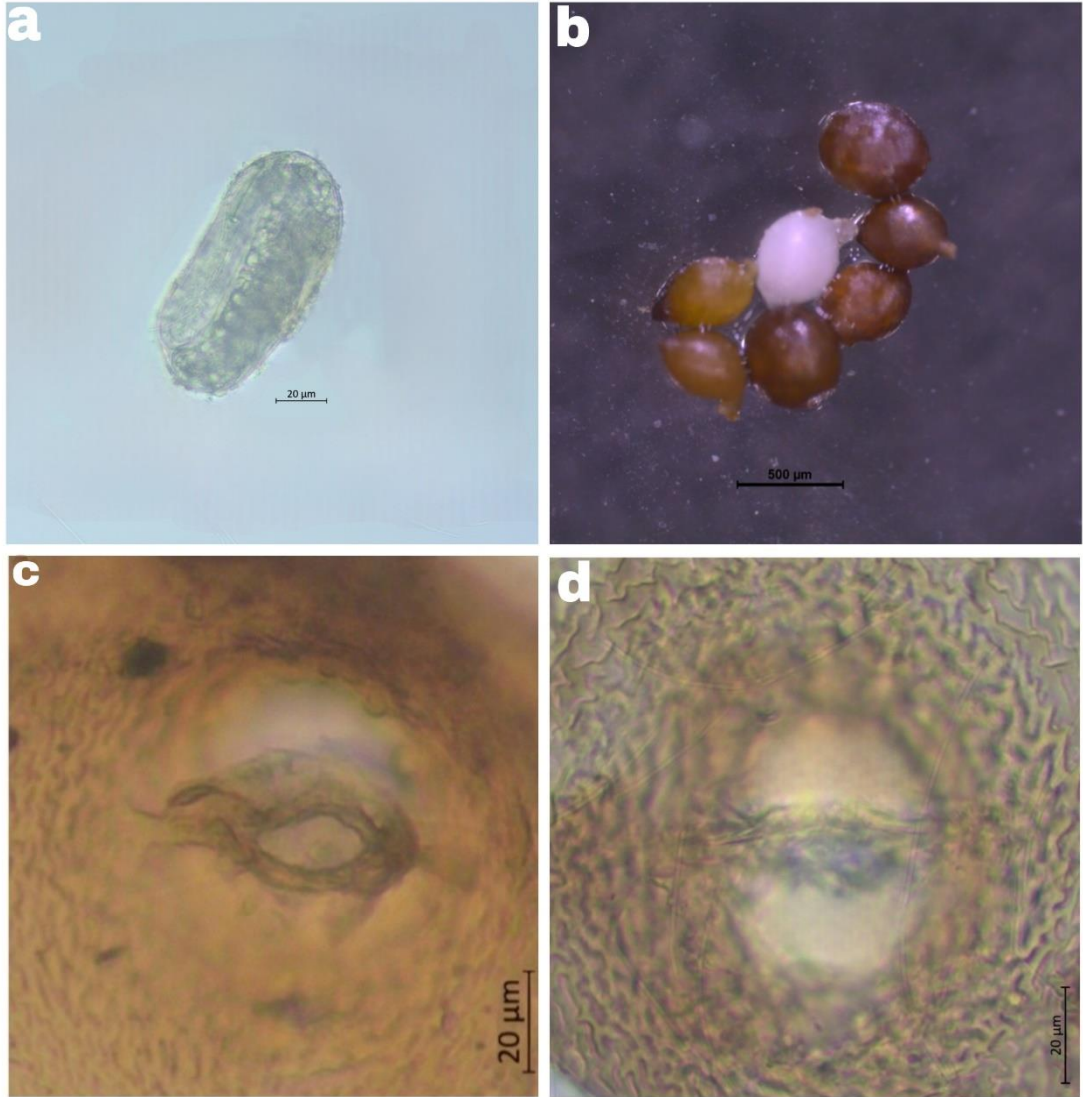
c = Vücut uzunluğu / Kuyruk uzunluğu

c' = Kuyruk uzunluğu / Anüsteki vücut genişliği

Bu araştırmada tespit edilen *H. carotae*'nin perineal kesitinde gözlemlenen özellikler ile dişinin morfolojik ve morfometrik ölçümleri, önceki çalışmalarla kıyaslandığında belirgin bir farklılık göstermemiştir. (Shubane, A. R. vd., 2021). Larvaya ait ölçümlerde ise Jones, (1950) boy uzunluğunu ortalama 453.8 olarak bildirmiştir. Aynı şekilde Mathews, (1975) boy uzunluğunu 375-452 µm arasında, stylet uzunluğunu 22-25 µm olarak rapor etmiştir. Bu çalışmalara ek olarak Madani ve ark., (2018) tarafından yapılan çalışmada hyalin bölgesi uzunluğu 26 µm, kuyruk uzunluğu 40.4-51 µm ve vücut ortasındaki genişliği ise 19.5-24 µm olarak ölçülmüştür. Bu çalışmada yapılan ölçümler, önceki çalışmalarla karşılaştırıldığında benzerlik göstermektedir. Çalışmada çıkan ölçüm sonuçlarının değerleri Escobar-Avila ve ark., (2018)'nin araştırmasında ölçümlere yakın olduğu görülmektedir. Ölçümlerdeki bu farklılıkların konukçu bitki, iklimsel ve bölgesel durumdan kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.2.1.1.2 Dişinin morfolojik özellikleri

Heterodera carotae'nin olgun dişlerinde vücut yapısı küresel veya limon şeklindedir (Şekil 4.14b). Kist duvarı sert ve koyu kahverengidir. Olgun dişi bireylerin boyları ortalama $469 \pm 39.1 \mu\text{m}$, posterior kısımdaki eni ise ortalama $375.7 \pm 41.9 \mu\text{m}$ 'dir (Şekil 4.15). Yumurtaları ince, uzun ve ovaldir (Şekil 4.14a).



Şekil 4.13 Kist Nematodu *Heterodera carotae*'nin a: yumurtası, b: olgun kistlerin toplu görüntüsü, c-d: Olgun dişi perineal yapısının görünüşü

Kist nematodlarının teşhisi için önemli bir kriter olan perineal bölge preparatları hazırlanmış ve fotoğraflanmıştır (Şekil 4.14c). Vulva semifenestrat-ambifenestrattır, balluesuzdur, underbridge çok zayıftır (Şekil 4.14d).

Çizelge 4.5 *Heterodera carotae*'nin Olgun Kist ve Yumurtalarına Ait Morfometrik ve Allometrik Karakter Özellikleri (µm)

	Ort. ± St. S	Min. – Maks.	Escobar-Avila ve ark., (2018) Ort.
n	20		30
Kist boyu (boyun hariç)	469±39.1	396.2-549.6	423
Kist eni	375.7±41.9	303-450.5	331
Vulval slit	40.3±3	44.5-37.5	48
Fenestral uzunluğu	38.3±1.2	37-39.9	44
Fenestral eni	44.3±4.8	38.5-50.2	50
Underbridge uzunluğu	84.8±8.9	66-94.6	-
L/W oranı	1.3±0.1	1.1-1.5	1.28
	Ort. ± St. S	Min. – Maks.	
n	20		
Yumurta boyu	100.9±3.9	91.4-108.8	-
Yumurta eni	44.1±2	38.8-47.2	-
L/W oranı	2.3±0.1	2.1-2.5	-

*St.S: Standart Sapma

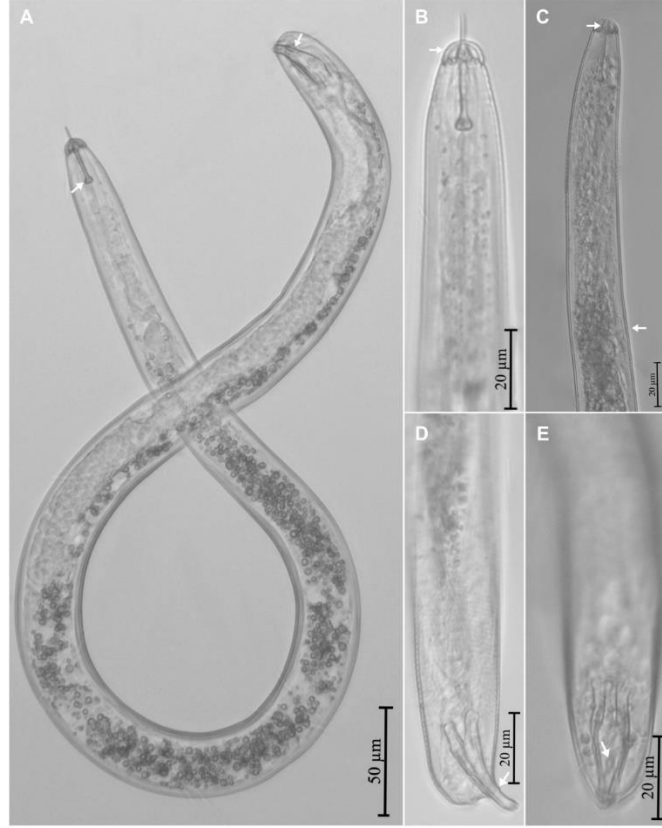
L: Vucut boyu, W: Vucut eni

Olgun kistlere ait ölçümlerde ise Jones, (1950) boy uzunluğunu 210-680 µm olarak bildirmiştir. Aynı şekilde Mathews, (1975) boy uzunluğunu 218-625 µm, enini ortalama 408 µm olarak saptamıştır. Bu çalışmalara ek olarak Escobar-Avila ve ark., (2018) tarafından yapılan çalışmada boy uzunluğu ortalama 423 µm ve L/W oranını ortalama 1.28 µm olarak ölçülmüştür. Ayrıca Madani ve ark., (2018) boy uzunluğunu ortalama 438.3 µm şeklinde bildirmişlerdir. Bu çalışmada yapılan ölçümlerin, genel olarak önceki çalışmalarla benzerlik gösterdiği ve özellikle Madani ve ark., (2018) araştırmasındaki ölçüm değerlerine daha yakın olduğu belirlenmiştir. Yumurtalara ait ölçümlerde ise Madani ve ark., (2018) boy uzunluğunu ortalama 107.3 µm, en uzunluğunu ortalama 49.7 µm ve L/W oranını ortalama 2.1 µm olarak bildirmiştir. Ölçümlere bakıldığında ölçümlerin birbirine yakın ve benzer olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.5).

4.2.1.1.3 Erkeğin morfolojik özellikleri

Bu çalışmada saptanan *H. carotae*'nin erkek bireylerinde gözlemlenen karakterlerinin morfolojik ve morfometrik ölçümleri daha önce yapılan çalışmalara bakıldığında büyük bir farklılık görülmemiştir (Shubane, vd., 2021). Erkekler için ölçümlerde Jones, (1950) boy uzunluğunu ortalama 1119 µm olarak bildirmiştir (Şekil 4.15a). Aynı şekilde Mathews, (1975) boy uzunluğunu 1090-1220 µm arasında, stylet uzunluğunu 31-38 µm olarak rapor etmiştir (Şekil 4.15b-c). Bu çalışmalara ek olarak Escobar-Avila ve ark., (2018) tarafından yapılan çalışmada spicula uzunluğu 36 µm

ve vücut ortasında ki genişliği ise 26-36 μm olarak ölçülmüştür (Şekil 4.15d-e). Bu çalışmada yapılan ölçümlerin, önceki araştırmalarla büyük ölçüde uyumlu olduğu, nispeten çıkan ölçüm sonuçlarının değerleri Escobar-Avila ve ark., (2018)'nin araştırmasında ki ölçümlerle farklılık olmadığı görülmektedir. Ölçümlerdeki bu farkların konukçu bitki, iklimsel ve bölgesel durumdan kaynaklandığı düşünülmektedir (Çizelge 4.6).



Şekil 4.14 *Heterodera carotae*'nin Erkeği A: Genel Görünümü, B-C: Anterior, D-E: Posterior Bölgesinin Görünümü

Çizelge 4.6 *Heterodera carotae*'nin Erkeğine Ait Morfometrik ve Allometrik Karakter Özellikleri (µm)

	Ort. ± St. S	Min.-Max	Escobar-Avila ve ark., (2018) Ort.
n	9		30
L	1076.4 ± 82,7	(1013.3-1216.3)	1180
a	35.8 ± 2.4	33.4–39.4	37
b	6.7 ± 0	6.3–7.2	6.7
c	8 ± 0	7.2-8.8	-
c'	4 ± 0.2	3.6-4.4	-
DGO		4.1-5.8	5
Dudak bölgesi genişliği	11.2 ± 0.8	10.4–12.4	11
Dudak bölgesi yüksekliği	6.6 ± 0.4	6–7	5
Styilet uzunluğu	29.7 ± 0.3	29.2–30.1	32
Ön uçtan medyan bulb kapakçığına	95.7 ± 3.4	90.4–99.4	103
Ön uçtan boşaltım kanalına	149.4 ± 2.3	146.1-152.5	157
Oesophageal uzunluğu	161.3 ± 4.3	156–168	175
Orta gövdede gövde çapı	30.1 ± 0.7	29-30.9	32
Spicula uzunluğu	36.3 ± 0.7	35.4–37.2	36

*St.S: Standart Sapma

L= Vücut uzunluğu

a = Vücut uzunluğu / Vücudun en geniş yeri

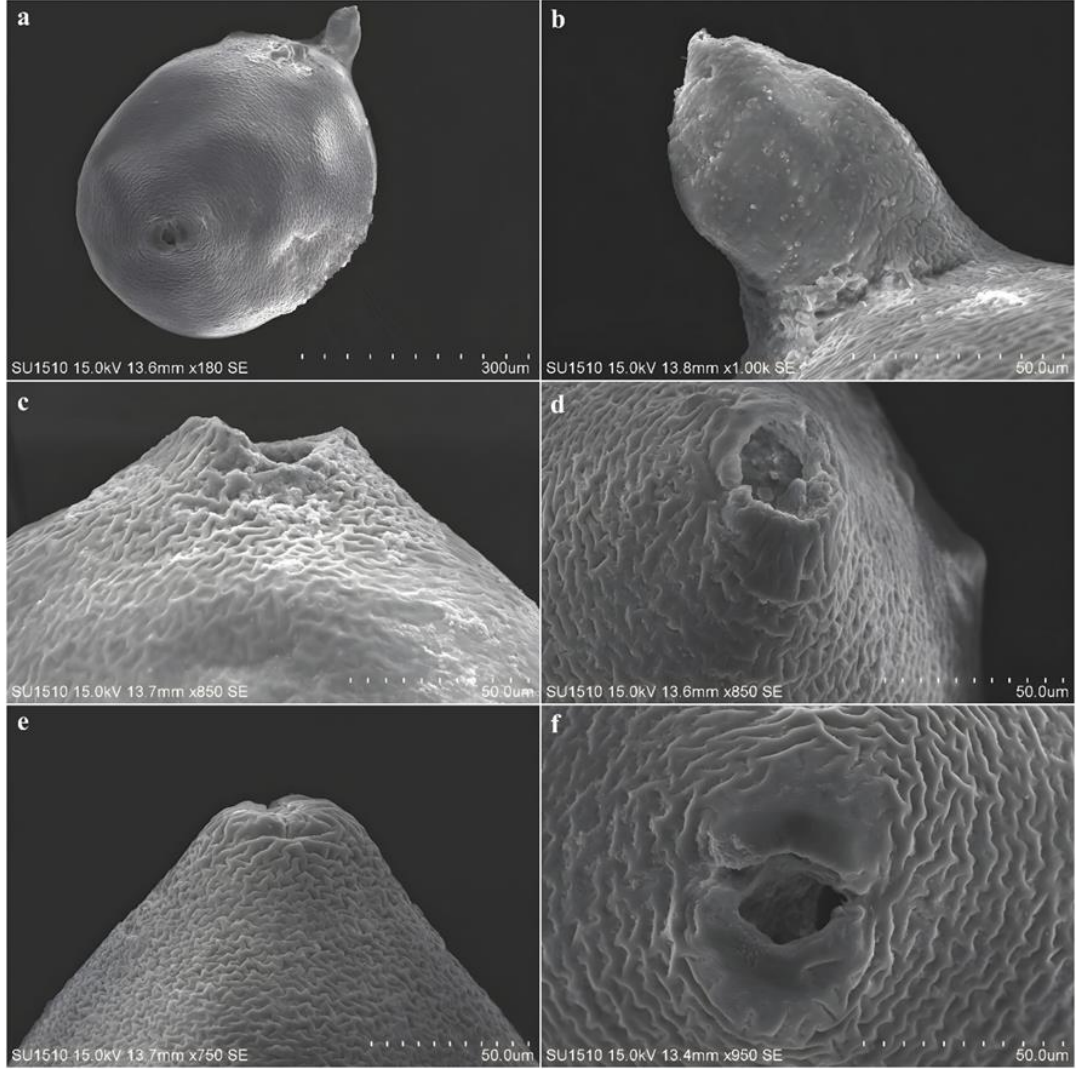
b = Vücut uzunluğu / Baş kısmından metacorpuse kadar olan uzunluk

c = Vücut uzunluğu / Kuyruk uzunluğu

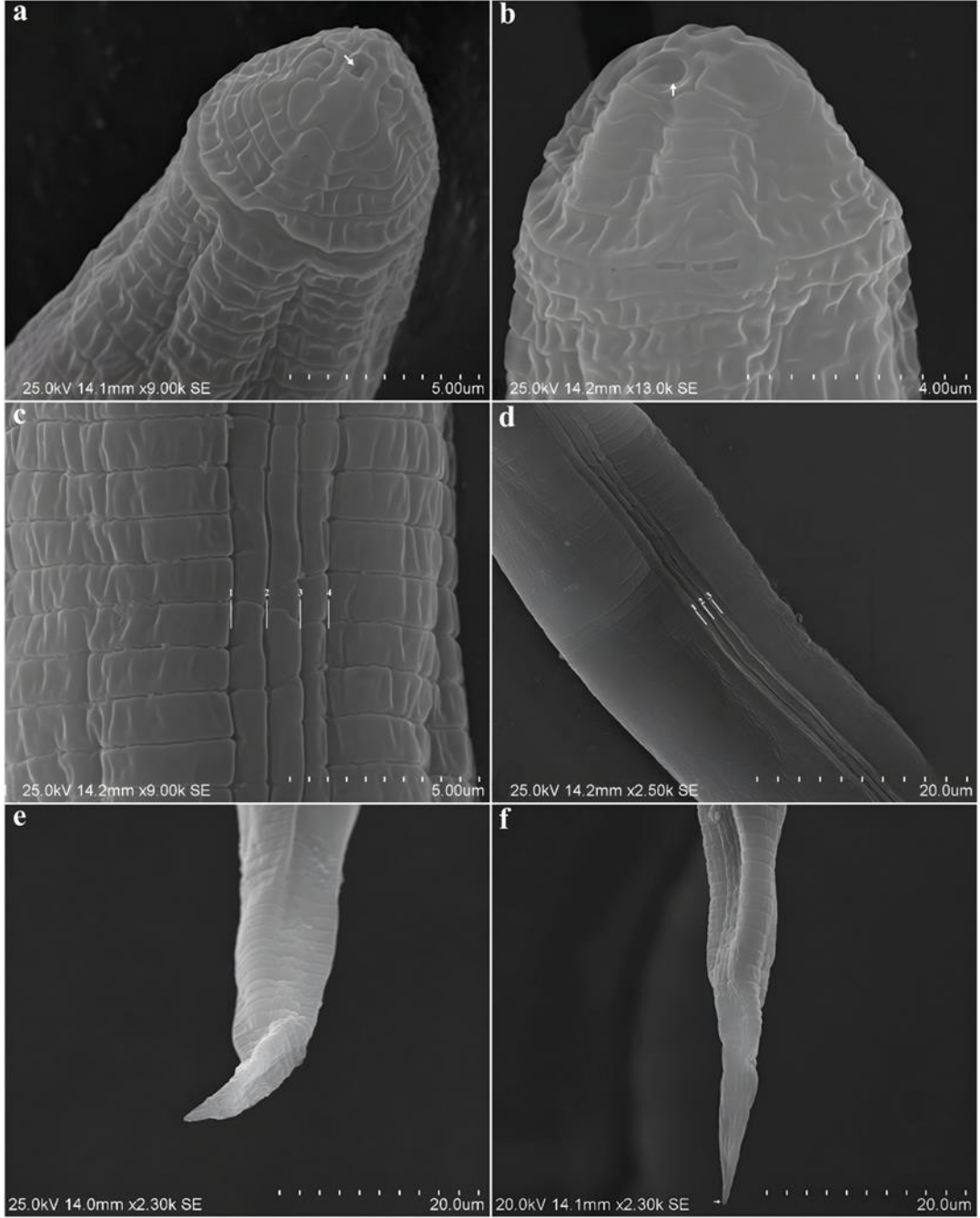
c' = Kuyruk uzunluğu / Anüsteki vücut genişliği

4.2.1.1.4 Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Kist vulval konisinin temel morfolojik özellikleri şekil 4.16a-d'de gösterilmiştir. Duvar deseni düzensiz zig-zag çizgilerden oluşmaktadır. Vulval yarı net bir şekilde görülmektedir (Şekil 4.16e-f).

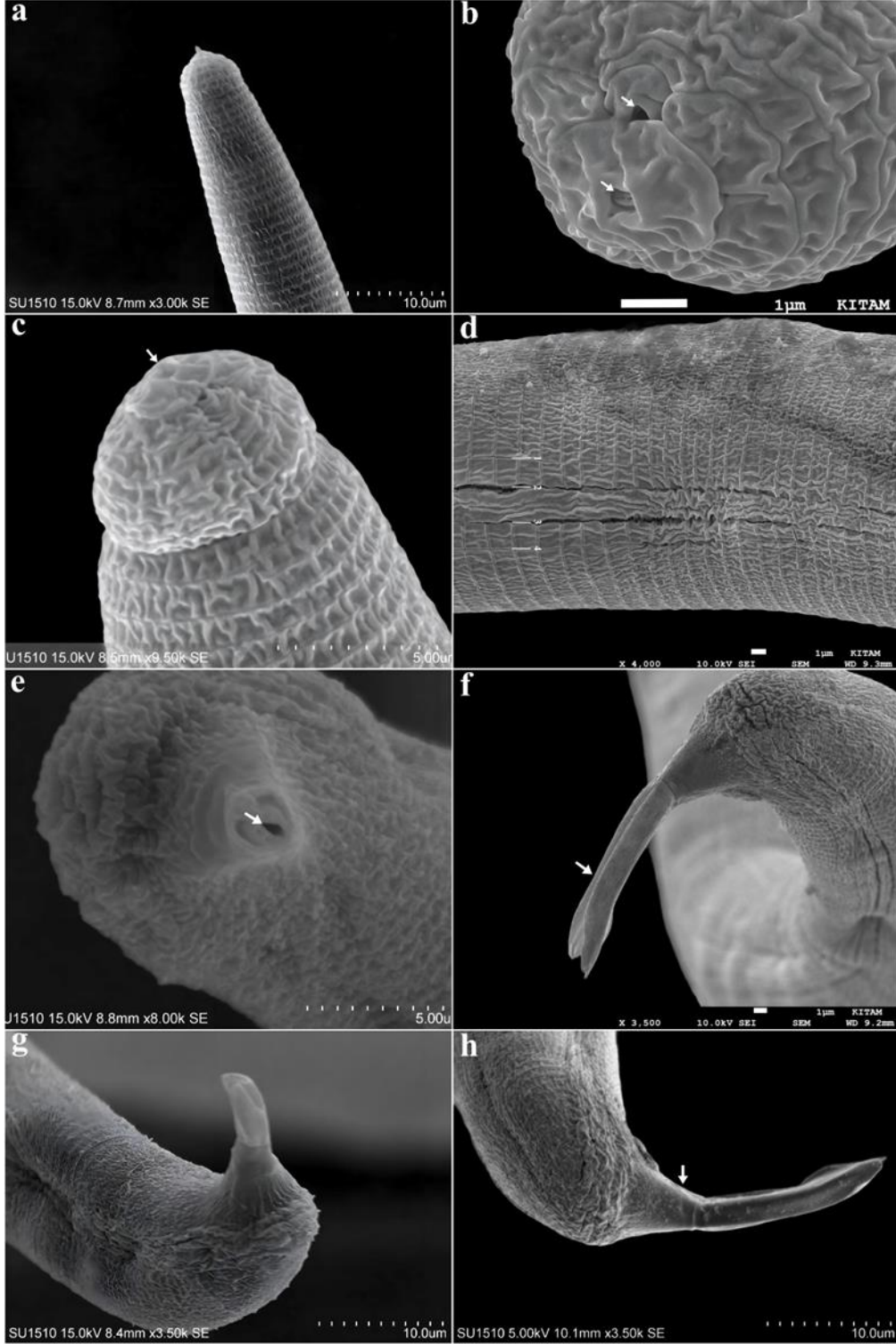


Şekil 4.15 *Heterodera carotae* kistin SEM fotoğrafları: (a) Kist tüm vücut; (b) Boyun bölgesi; (c), (d), (e), (f) Vulval bölge.



Şekil 4.16 *Heterodera carotae* ikinci dönem larva (J2) SEM fotoğraları: (a), Baş bölgesi; (b), Dudak bölgesi; (c) yanıl çizgi; (d) Orta gövde; (e) Kuyruk, (f) Arka bölge.

Cephalic framework yoğun şekilde sklerotize olarak gelişmiştir. Baş dört belirsiz post-labial halka ile hafifçe ofset durumdadır (Şekil 4.17a-b). İncefalik bölgesi medial dudaklar ve labial disk belirsizdir. Üç banttıan oluşıan ve dört kesik ile yanıl alana sahiptir (Şekil 4.17c-d). Kuyruk akut koniktir ve terminal hiyalin kısmı baskındır (Şekil 4.17e-f)



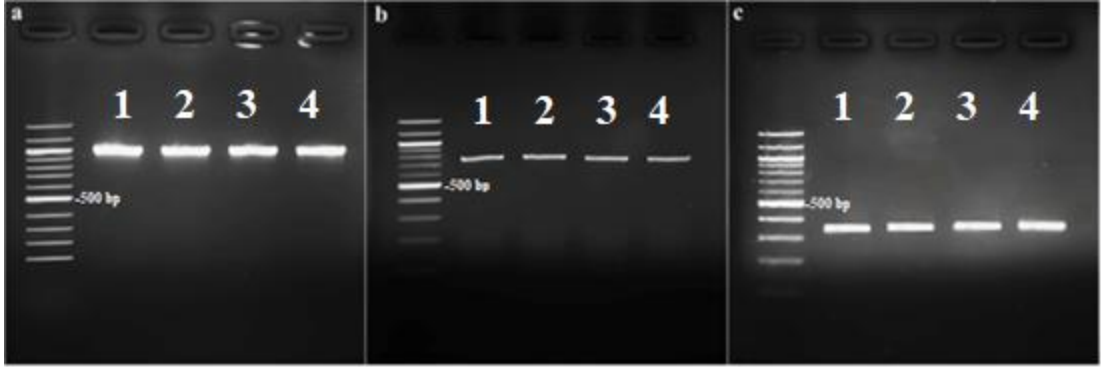
Şekil 4.17 *Heterodera carotae* erkek SEM fotoğrafları: a, b, c: Anterior bölge; d: Orta vücutta lateral alan; e, f, g, h: Posterior bölge.

Baş ofset durumdadır. Labial disk hafif oval, 6-8 belirsiz post-labialannüllüden oluşmaktadır. Yanal alan üç bant oluşturan dört kesiklidir, dış bantlar izoledir. Yanal çizgiler başın arkasından başlar ve kuyruğun ucuna kadar devam eder. Spikula kavisli,

ön kısmı şişkin, orta kısmı boru şeklinde ve arka kısmı kıvrımlıdır. Gubernaculum hafif kavislidir (Şekil 4.18f-g-h)

4.2.1.2 Moleküler Karakterler

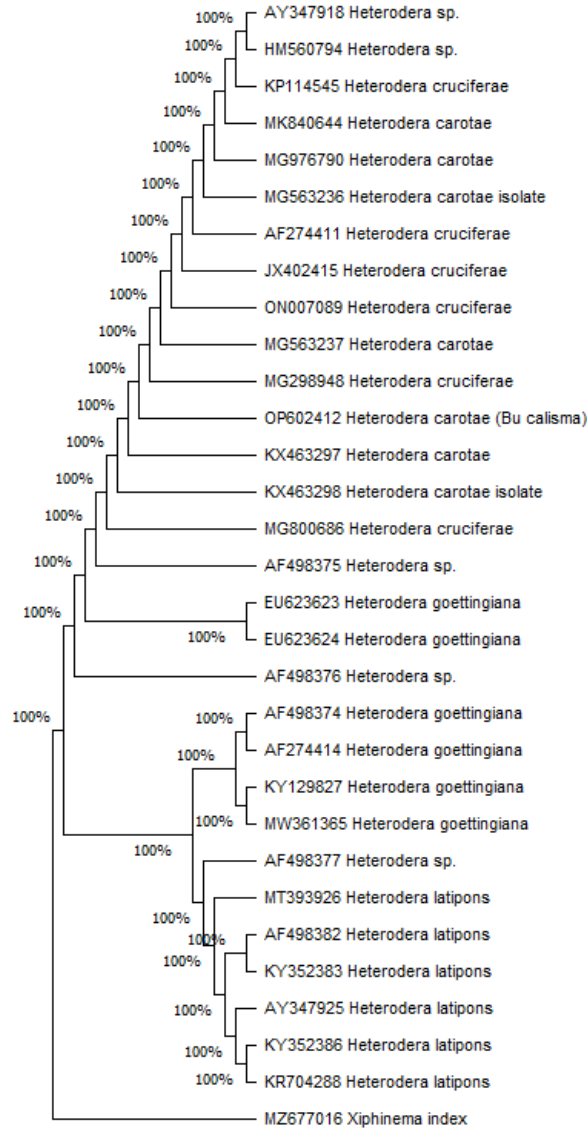
Moleküler karakterlerin tespit edilmesinde, toprak örneklerinden elde edilen kist nematodu dişileri kullanıldı. Kist nematodlarının teşhisinde DNA moleküler yöntemlerinden yararlanıldı. DNA moleküler yöntemi için *Heterodera carotae* için D2A/D3B ve TW81/AB28 primer çiftleri kullanılarak PCR işlemi yapılmıştır. Ayrıca, türe özgü primer seti Car-F/Car-R kullanılarak mitokondriyal DNA'nın (mtDNA) Sitokrom Oksidaz I (cox1) bölgesi tanımlamayı netleştirmek için kullanılmıştır. Analiz sonucunda elde edilen bant büyüklükleri D2A/D3B primer çifti için yaklaşık 800 bp, TW81/AB28 primer çifti için yaklaşık 1100 bp ve Car-F/Car-R specific primer çifti için yaklaşık 350 bp tespit edilmiştir (Şekil 4.20). Türkiye'de tespit edilen MG298948 erişim numaralı *H. carotae* ile %99.72 benzer olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.18 *Heterodera carotae*'nin TW81/AB28 (a), D2A/D3B (b) ve Car-f/Car-r Primerlerinde Vermiş Olduğu Bant Büyüklükleri

4.2.1.3 Filogenetik analiz

Elde edilen nematodların genomik DNA'larının ITS bölgesi PCR yöntemi ile çoğaltılarak sekans analizine gönderilmiştir (Portugal). Elde edilen sekansların gen bankasındaki daha önce tespit edilen ITS bölgesine ait nükleotit dizilimlerinden faydalanılarak filogenetik ilişkileri belirlenmiştir. Bunun için en yüksek akrabalık ilişkisine bağlı (Maximum Likelihood) soyağacı ilişkisi saptanmıştır (Şekil 4.21). Kanada'dan elde edilen KX463297 erişim numaralı *H. carotae* ile kardeşlik ilişkisine sahip olduğu görülmüştür.



Şekil 4.19 *Heterodera carotae* ITS bölgesi maximum likelihood filogenetik ağacı

Havuç kist nematodu (*Heterodera carotae*) yaşam döngüsü yumurta, dört larva evresinden meydana gelmektedir (Subbotin ve ark., 2010). Olgun dişiler 500 ila 700 yumurta üretme kapasitesine sahiptir (Subbotin ve ark., 2010). Buna göre Sharma & Sharma (1998)'a göre nematodlar yumurtalarını oluşturan bir kist içinde tutarlar olgun dişinin kütikülünden elde edilir. Bu yaşam döngüsünün hareketsiz aşamasıdır (Turner & Subbotin, 2013). Aktif kısım, ikinci evre juvenilin (J2) kist veya yumurta kesesini oluşturan jelatinimsi matris içindeyken yumurtadan çıkmasıyla başlar (Subbotin ve ark., 2010). Yumurtadan çıktıktan sonra J2, fenestral bölge veya dişinin kökten

ayrıldığı boyun gibi doğal açıklıklardan kisti terk eder. Toprağa salınan ikinci evre larvalar hemen uygun bir konukçu aramaya başlar. Bir hayatta kalma stratejisi olarak, tüm J2'ler aynı anda yumurtadan çıkmaz (Turner & Subbotin, 2013).

Kist nematodlarında diyapoz ve sessizlik kombinasyonu nedeniyle konukçu bitkinin yokluğunda toprakta 20 yıldan fazla yaşayabilir (örn, *Globodera rostochiensis* Wollenweber, 1923) (Subbotin ve ark., 2010). J2 kök sistemine girer, pericycle'a göç eder ve beslenme bölgesinin oluşturulacağı uygun bir hücre seçmeye devam eder (Turner & Subbotin 2013). Beslenme bölgesini oluşturduktan sonra, ikinci dönem larva ergin aşamasına ulaşmak için üç aşamadan geçer (Subbotin ve ark., 2010). Kist oluşturan nematodlar cinsel olarak dimorfiktir (Subbotin ve ark., 2010), yani erkek ve dişi birbirinden açıkça ayrılabilen iki formda bulunur (Abercrombie ve ark., 1992). İkinci evre juveniller erkek ya da dişi bir ergine dönüşebilir. J2'nin üçüncü evre larvaya dönüşmesi sıcaklığa bağlı olarak yaklaşık 7 gün sürer (Turner & Subbotin, 2013). Dördüncü aşamada genç dişi kökün korteksini yırtar ve vulvanın oluşumu erkeğin üreme sistemine erişimini sağlar. Vermiform erkekler dişi ile benzer oranda gelişir, ancak erkekler beslenmez ve toprakta sadece kısa bir süre yaşar. Kist oluşturan nematodların yumurtadan yumurtaya tüm yaşam döngüsü yaklaşık 30 günde tamamlanabilir, ancak çevresel koşulların yanı sıra belirli kist nematod türünün bitki konukçusuyla senkronizasyonuna bağlıdır (Turner & Subbotin, 2013).

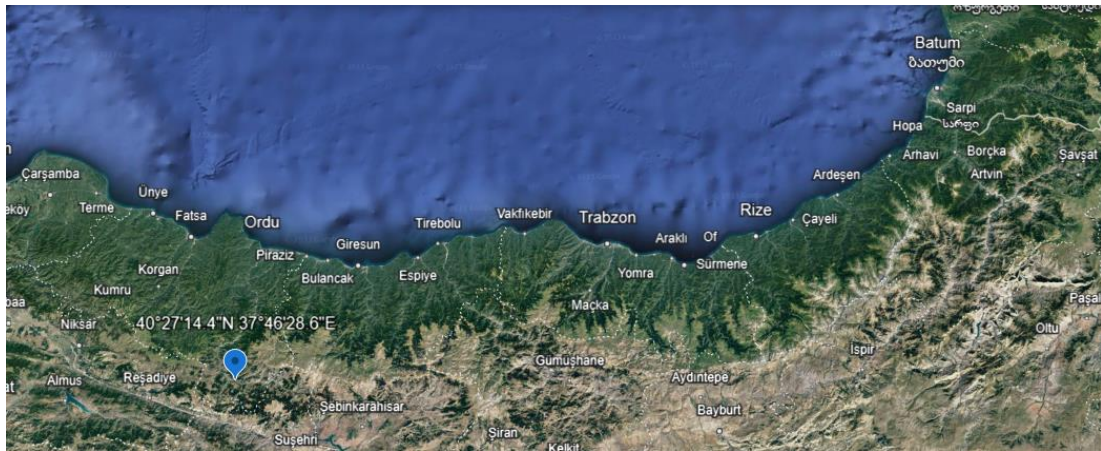
Bu çalışmada *H. carotae* türü yaprak lahanası bitkisinde tespit edilmiştir. Dünyada yapılan diğer çalışmalara bakıldığında ise bu nematod, havucu (*Daucus carota* ve *D. pulcherrima*) içeren çok dar bir konukçu aralığına sahip olduğunu bildirilmiştir. Bu tür bitkilerde düzensiz büyüme, sarımsı yapraklar, kloroz, bodur büyüme, solmuş bitkiler, kazık kök çürümesi ve erken odunlaşma gibi zararlara neden olduğu ve bu zararlardan, etkilenen havuçları pazarlanamaz hale geldiği vurgulanmıştır (Anonim, 2019). Bu tür İtalya'da havuç üretiminde önemli verim kayıplarına neden olduğu bildirilmiştir. Havuçlarda yaklaşık %20 ila 90 verim kaybına neden olabileceğini rapor etmişlerdir (Greco ve ark., 1994). Bu tür ilk olarak Jones (1950) tarafından İspanya'da (Isle of Ely) havuç (*Daucus carota* subsp. *sativus*) topraklarında bulunmuş olsa da, *Daucus carota* L. (yabani ve kültür), *Daucus pulcherrimus* K., *Torilis arvensis* (hedgearsley) ve *Torilis lepyophylla* L. üzerinde de bulunduğu kaydedilmiştir (Yu ve ark, 2017; Goodey et al., 1965; Escobar-Avila et al.,

2018) Bu tür ayrıca Avrupa, Hindistan, Kıbrıs, Güney Afrika, Kuzey Amerika ve Meksika'dan havuç üzerinde rapor edilmiştir (Berney and Bird, 1992; Subbotin et al., 2010; Escobar-Avila et al., 2018, Shubane et al., 2021).

Ülkemizde yapılan diğer çalışmalara bakıldığında ise Guvercin ve Akyazi, (2023) Türkiye'nin Karadeniz bölgesinde lahanalar (*Brassica oleracea* var. *acephala*) yetiştirilen alanlardan survey çalışması yapmışlardır. Elde ettikleri kist nematodlarını morfolojik ve moleküler analize tabi tutmuşlardır. Moleküler analiz için, sırasıyla TW81/AB28 ve D2A/D3B primer setlerini, internal transcribed spacers (ITS1, 5.8S, ITS2) genini kapsayan ribozomal DNA bölgesi ve 28S ribozomal RNA'nın (rRNA) D2-D3 genişleme segmentleri çoğalmışlardır. Ayrıca, mitokondriyal DNA'nın (mtDNA) Sitokrom Oksidaz I (cox1) bölgesi, türe özgü primer seti (Car-F/Car-R) kullanılarak tanımlamayı netleştirmişlerdir. PCR ürünü dizilenmiş ve ardından GenBank veri tabanında bulunan *Heterodera* türlerinin dizileri ile karşılaştırmışlardır. Türkiye popülasyonu dizilerinin NCBI BLAST analizi, GenBank'ta kayıtlı *Heterodera carotae* Jones 1950 dizileri ile %99,82 benzerlik gösterdiğini vurgulamışlardır. Bu türün Türkiye'de tespit edilen ilk *H. carotae* raporu olduğunu bildirmişlerdir.

4.3.1.1 *Heterodera fici* (Kir'yanova, 1954)

Tespit edilen nematodlardan *Heterodera fici*, toplam örneklerin %1.2'sinde tespit edilmiştir (Şekil 4.22). Buna ek olarak tek bir İlçe de tespit edilmiştir. Mesudiye ilçesinde 2 olgun kist/100 cm³ (Şekil 4.25) ve 8 infektif juvenil/100 cm³ (Şekil 4.24) birey tespit edilmiştir.



Şekil 4.20 *Heterodera fici*'nin Doğu Karadeniz Bölgesinde Tespit Edildiği Yerler

4.3.1.1.1 Morfolojik karakterleri

-2. Dönem Larva Morfolojisi

İkinci dönem larvalarını elde etmek amacıyla olgun kist nematodları toplanmış, *H. fici*'ye ait tek bir olgun dişi alınmış ve içerisinde ki larvaların vücut ölçümleri yapılmıştır. İkinci evre juveniller arkaya doğru sivrilir. Stylet iyi gelişmiş, bazal topuzlar yuvarlak, hafifçe öne doğru yönelmiş. Kuyruk sivrilir, hyalin terminali kuyruk uzunluğunun yaklaşık yarısı kadardır. İkinci evre juveniller (n = 20) morfometrik karakterleri: vücut uzunluğu ortalama 422.9 μm (Şekil 4.23a), stylet uzunluğu ortalama 21.9 μm (Şekil 4.23a), vücut ortasındaki genişliği 21.4 μm , kuyruk uzunluğu 59.6 μm ve hyalin kısmı 28.8 μm olarak ölçülmüştür (Şekil 4.23c).



Şekil 4.21 *Heterodera fici*'nin İnfektif Juvenilinin A: Genel Görünümü, B: Anterior, C: Posterior Bölgesinin Görünümü

Çizelge 4.7 *Heterodera fici*'nin İnfektif Juveniline Ait Morfometrik ve Allometrik Karakter Özellikleri (µm)

	Ort. ± St. S	Min. – Maks.	Sun ve ark., (2017) Ort.
n	20		16
L	422.9 ±15.9	377.9-455.8	440.9 ±20
a	21.1±1	18.1-22.9	20.3 ±2.3
b	6.9±0.9	6.2-8.2	-
c	7.6±0.4	6.5-8.1	-
c'	4.5±0.4	3.9-6.4	3.8±0.3
Dudak bölgesi eni	9.7±0.5	8.6-11.2	-
Dudak bölgesi uzunluğu	3.6±0.4	2.5-4.4	-
Styilet uzunluğu	21.9±1.5	19.2-22.9	23.2 ±0.4
Median bulb'in ortasından baş kısma mesafe	72±4.7	64.6-82.5	71.8 ±4.5
Boşaltım kanalından baş kısma mesafe	97.6±6.1	86.7-114.3	-
Vücut ortasındaki genişliği	21.4±0.5	19.4-22.7	21.9 ±2
Anüsteki vücut genişliği	13.6±0.5	12.2-13.8	14.4 ±1.5
Hyaline bölgesinde ki vücut genişliği	7.5±0.6	6.9-8.2	-
Kuyruk uzunluğu	59.6±2.1	51-61.5	54.6 ±2.9
Hyaline bölgesi uzunluğu	28.8±2.6	22.8-32.1	23.7 ±2.9

*St.S: Standart Sapma

L= Vücut uzunluğu

a = Vücut uzunluğu / Vücudun en geniş yeri

b = Vücut uzunluğu / Baş kısmından median bulb'in ortasına kadar olan uzunluk

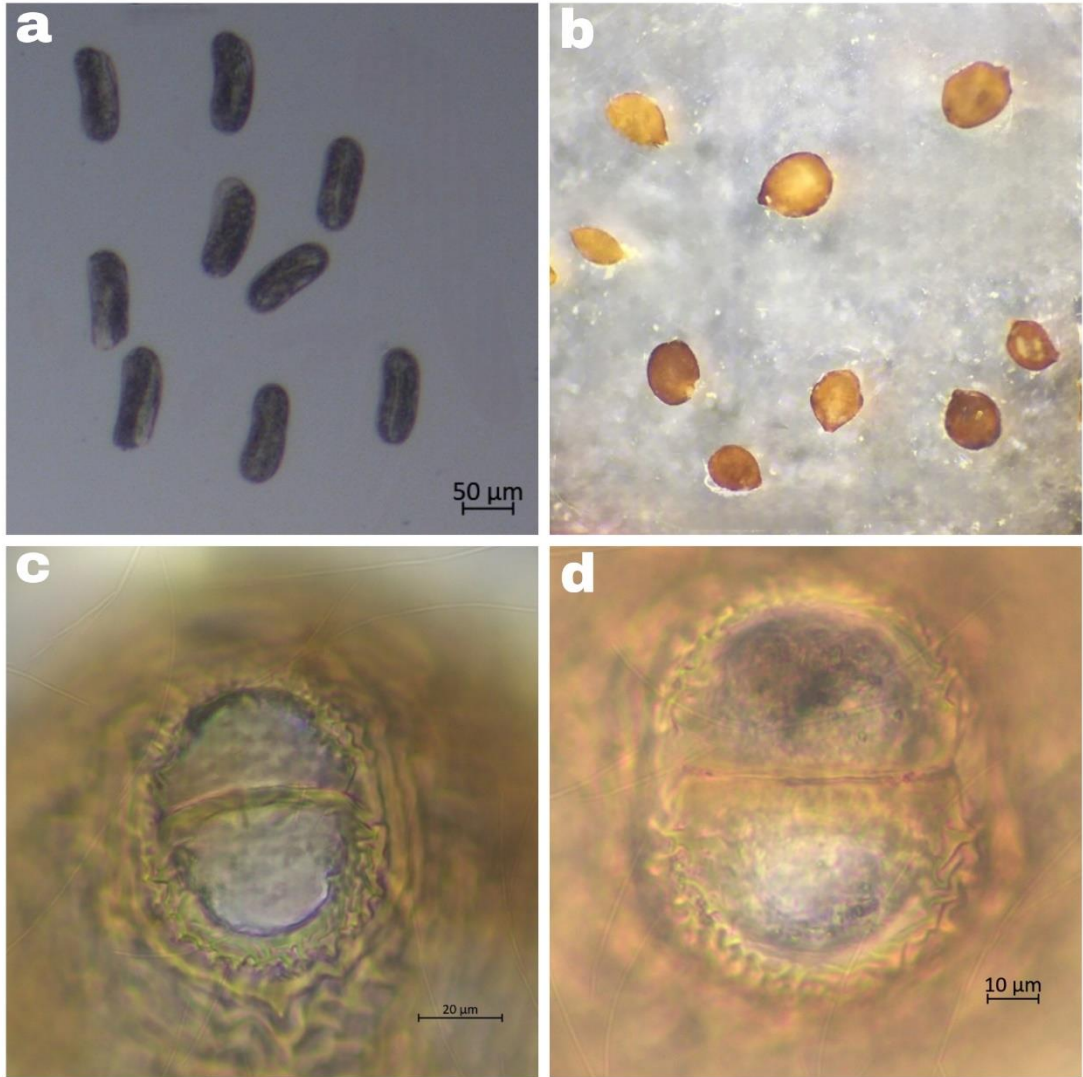
c = Vücut uzunluğu / Kuyruk uzunluğu

c'= Kuyruk uzunluğu / Anüsteki vücut genişliği

Bu araştırmada belirlenen *H. fici*'nin perineal kesitinde gözlemlenen özellikler ile dışının morfolojik ve morfometrik ölçümleri, daha önce yapılan çalışmalarla kıyaslandığında büyük bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.7) (Kirjanova, 1954). Larvaya ait ölçümlerde ise Sun ve ark., (2017) boy uzunluğunu ortalama 440.9 µm, kuyruk uzunluğunu 54.6 µm ve styilet uzunluğunu ortalama 23.2 µm olarak bildirmiştir. Aynı şekilde Kirjanova, (1954) boy uzunluğunu ortalama 402 µm olarak rapor etmiştir. Bu çalışmalara ek olarak Wouts ve Weischer, (1977) tarafından yapılan çalışmada kuyruk uzunluğu ortalama 51 µm, Dudak bölgesi uzunluğu 4.1 µm, Dudak bölgesi enini 8.7 µm ve styilet uzunluğu ise ortalama 23.2 µm olarak ölçülmüştür. Bu çalışmada yapılan ölçümler, önceki çalışmalarla karşılaştırıldığında benzerlik göstermektedir. Çalışmada çıkan ölçüm sonuçlarının değerleri Wouts ve Weischer, (1977)'in araştırmasındaki ölçümlere daha yakın olduğu gözlemlenmiştir. Ölçümlerdeki bu farkların konukçu bitki, iklimsel ve bölgesel durumdan kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3.1.1.2 Dişinin morfolojik özellikleri

Olgun kistlere ait ölçümlerde ise Kirjanova, (1954) boy uzunluğunu 320-770 μm olarak bildirmiştir. Bu çalışmada yapılan ölçümlerin benzerlik gösterdiği, nispeten çıkan ölçüm sonuçlarının değerleri Kirjanova, (1954)'nın yaptığı çalışmadaki ölçümlere yakın olduğu görülmektedir. Yumurtalara ait ölçümlerde ise Kirjanova, (1954) boy uzunluğunu 93-104 μm , en uzunluğunu 38-58 μm ve L/W oranını ortalama 2 μm olarak bildirmiştir. Ölçümlere bakıldığında ölçümlerin birbirine yakın ve benzer olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.8).



Şekil 4.22 Kist Nematodu *Heterodera fici*'nin a: yumurtası, b: olgun kistlerin toplu görüntüsü, c-d: Olgun dişi perineal yapısının görünüşü

Perineal kesit kist nematodlarının teşhis edilmesinde önemli bir karakterdir. Bu çalışmada kistlerin anal kesit preparasyonu yapılarak, anal kesitlerin vulvat slit,

underbridge, fenestral ve semifenestra gibi ayırt edici karakterleri incelenmiştir. Survey sonrasında alınan toprak numunelerinden olgun dişi bireyler elde edilmiştir. Kist nematodlarının vücut yapıları genellikle birbirine çok benzediği için ayrımları oldukça zordur. Bu yüzden kist nematodlarının teşhisi için önemli bir kriter olan perineal bölge preparatları hazırlanmış ve fotoğraflanmıştır. Vulva semifenestrat-ambifenestrattır, vulval slit net, ballue var veya yok, underbridge zayıftır (Şekil 4.24).

Çizelge 4.8 *Heterodera fici*'nin Olgun Kist ve Yumurtalarına Ait Morfometrik ve Allometrik Karakter Özellikleri (µm)

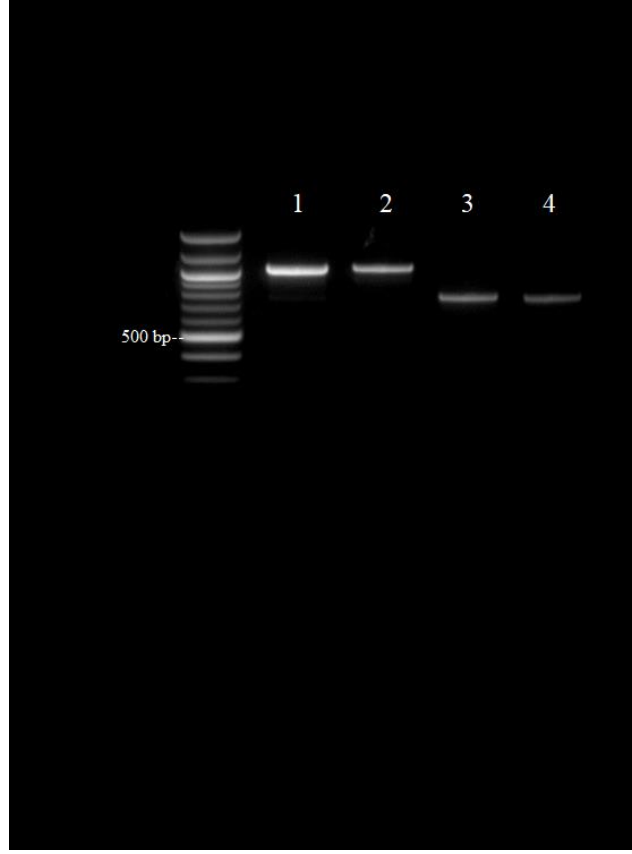
	Ort. ± St. S	Min. – Maks.	Sun ve ark., (2017) Ort.
n	4		3
Kist boyu (boyun hariç)	489±43	396.2-659.7	608.7 ±91.6
Kist eni	397.6±51.7	303-497.5	395.3 ±40.9
Vulval slit	44.3±3.3	37.5-50.5	50.7 ±1.2
Fenestral uzunluğu	42.3±1.4	37.4-49	35.3 ±4
Fenestral eni	49.3±4.9	38.5-58.2	57.3 ±2.9
Underbridge uzunluğu	73.3±6.9	66-94.6	-
L/W oranı	1.3±0.2	1.1-1.5	1.3 ±0.2
Yumurta	Ort. ± St. S	Min. – Maks.	
n	20		
Yumurta boyu	102.9±4	92.7-107.8	-
Yumurta eni	42.1±1.9	37.1-46.2	-
L/W oranı	2.1±0.1	2-2.4	-

*St.S: Standart Sapma

L: Vucut boyu, W: Vucut eni

4.3.1.2 Moleküler Karakterler

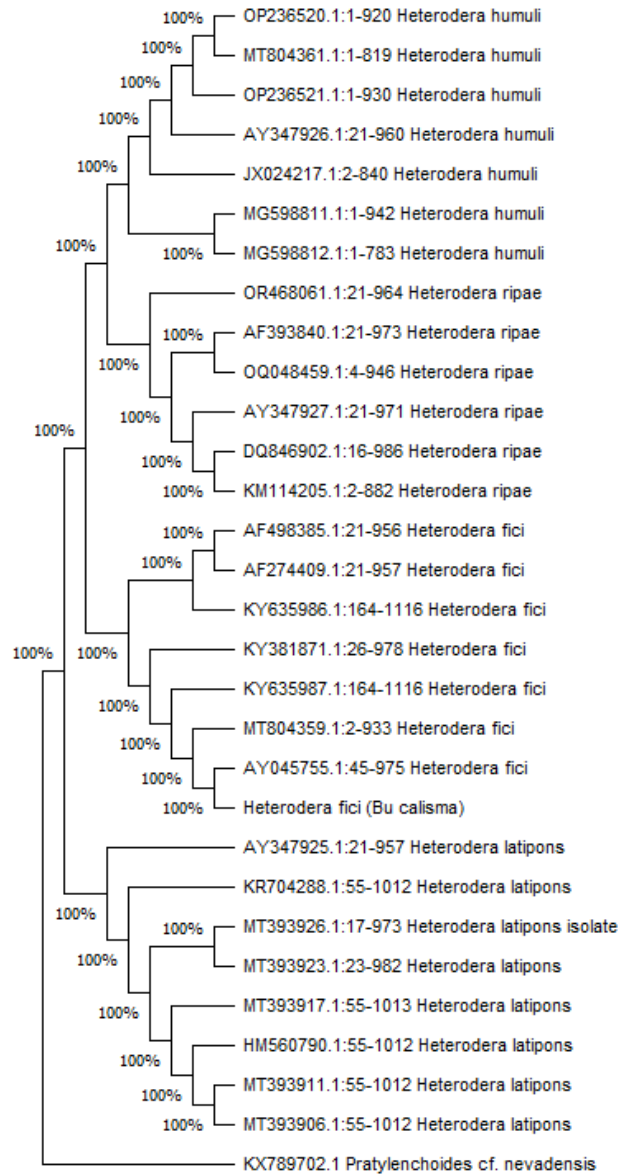
Moleküler karakterlerin tespit edilmesinde, toprak örneklerinden elde edilen tek bir kist nematodu içerisinde elde edilen larvalar kullanılmıştır. Kist nematodlarının teşhisinde DNA moleküler yöntemlerinden yararlanıldı. DNA moleküler yöntemi için *Heterodera fici* için D2A/D3B ve TW81/AB28 primer çiftleri uygulanarak PCR işlemi yapılmıştır. Analiz sonucunda bulunan bant büyüklükleri D2A/D3B primer çifti için yaklaşık 800 bp ve TW81/AB28 primer çifti için yaklaşık 1100 bp değeri elde edilmiştir (Şekil 4.25). İtalya'da incir bitkisinde tespit edilen AY045755 erişim numaralı *H. fici* ile % 100 benzer olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.23 *Heterodera fici*'nin TW81/AB28 (1-2) ve D2A/D3B (3-4) Primerlerinde Vermiş Olduğu Bant Büyüklükleri

4.3.1.3 Filogenetik analiz

Elde edilen nematodların genomik DNA'larının ITS bölgesi PCR yöntemi ile çoğaltılarak sekans analizine gönderilmiştir (Portugal). Elde edilen sekansların gen bankasındaki daha önce tespit edilen ITS bölgesine ait nükleotit dizilimlerinden faydalanılarak filogenetik ilişkileri incelenmiştir. Bunun için en yüksek akrabalık ilişkisine bağlı (Maximum Likelihood) soyağacı ilişkisi incelenmiştir (Şekil 4.26). Analiz sonucunda bu çalışmadan elde edilen tür İtalya'da incirlerden elde edilen *H. fici* (AY045755) ile kardeşlik ilişkisine sahip olduğu görülmüştür.



Şekil 4.24 *Heterodera fici* ITS bölgesi maximum likelihood filogenetik ağacı

İncir kist nematodu (*Heterodera fici*) dişisi, armut veya limon şeklinde bir yapıya sahiptir ve ortalama boyu 1.4 mm kadardır. Erkeği iplik formundadır. Dişiler, bitkilerin köklerinde stiletleri ile beslenerek yaşarlar, ancak köklerde ur oluşturmazlar. Dişiler, kılcal kökler üzerinde özellikle baş kısmı kök noktasına kadar uzanır. Öldüklerinde, bedenlerinin dış tabakası kalınlaşır ve koyu kahverengi kistler haline gelerek yumurtaları korur. Toprağa geçişini sağlayan kistlerin içinde 100 ila 230 arasında yumurta bulunur. Kistler, toprakta 6-10 yıl boyunca kalabilir ve uygun koşullarda yumurtadan çıkan ikinci dönem larvalar, konukçu bitkinin köklerine geçerek zarar verirler. İkinci dönem larva nematodun en aktif dönemidir. Larvalar kök

ucunun biraz gerisinden kökü delerek içeri girerler. Konukçu kökünde beslenerek ergin hale gelirler. Olgunlaşan erkek ve dişiler, başları kök içinde olarak beslenmelerine devam ederler, bir süre sonra erkekler toprağa geçer. Çiftleşen dişilerde yumurtalar gelişerek renk koyulaşır ve vücutları yumurta ile dolan dişi öler ve yumurtaları koruyan dayanıklı kist şeklini alır ve diğer nesilleri vermek üzere toprağa geçer.

Bu çalışmada *H. fici* türü yaprak lahana topraklarında tespit edilmiştir. Bu durum yaprak lahana üzerinde *H. fici*'nin yeni bir konukçu olabileceğini ortaya çıkarmaktadır. Dünyada yapılan diğer çalışmalara bakıldığında ise incir kist nematodu, *H. fici*, ilk olarak 1954 yılında Kirjanova tarafından Harbin, Çin Halk Cumhuriyeti'ndeki kauçuk bitkisi (*Ficus elastica* Roxb.) köklerinden tanımlanmıştır (Kirjanova, 1954). Daha sonra Mulvey ve Golden bu kist nematodunun Amerika Birleşik Devletleri'nde Kaliforniya, Florida ve Virginia'dan; Brezilya, Avustralya, Almanya, İtalya, Polonya, Güney Afrika, İspanya, Türkiye, SSCB ve Yugoslavya'dan bilinen yayılışını özetlemiştir. Pakistan'da, Quetta, Saryab'daki bir meyve bahçesinde 1986 yılında yapılan bir araştırma sırasında, *H. fici*'nin incir (*Ficus carica* L.) bitkilerinin köklerinde yoğun bir şekilde parazitlendiği ve bu bitkilerde büyüme geriliği ve yapraklarda sararma belirtileri görüldüğü rapor etmişlerdir. (Mulvey, 1972; Mulvey ve ark., 1983). *H. fici*, incir bitkileri üzerinde zararlı bir türdür ve yoğun istila büyümenin gecikmesine ve yaprakların sararmasına neden olabileceğini bildirmiştir (Maqbool, 1987). Vito ve Sasanelli, (1990) *H. fici*'nin larva ve kistlerinin ortaya çıkışı, %2 doğal ve yapay kuluçka maddelerinde 24°C'de 7 haftalık bir süre boyunca bir büyüme kabinde araştırmışlardır. Kistler ticari incir köklerinden toplamışlar ve her biri 100'lük partiler süs veya ticari incir kökleri, pikrolonik asit, sodyummetavanadat, çinko klorür, çinko sülfat veya damıtılmış suda inkübe etmişlerdir. Ticari incir kök suyunda (%97), süs inciri kök suyuna (%45) kıyasla daha fazla larva ortaya çıktığını bildirmişlerdir. Sodyum metavanadatta çıkış %64, çinko klorürde %40 ve çinko sülfatta %27 olmuş ve pikrolonik asitteki çıkışın çok düşükü (%5) olduğunu rapor etmişlerdir. Sasanelli ve D'Addabbo, (1992) Sodyum metavanadat çözeltilerinin farklı konsantrasyonlarının (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 ve 1.2 mM) *H. fici* kistlerinden larva çıkışı üzerindeki etkisi, ticari incir kök suyu ve distile su ile karşılaştırmışlardır. Kistler Fenwick tenekesi ile kurutulmuş topraktan toplanmış ve her biri 50 adet olan gruplar

25 °C ± 1'de yedi hafta boyunca kuluçka maddesi içinde inkübe etmişlerdir. En büyük çıkış (%55,5) incir kökü suyunda meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Sodyum metavanadatta maksimum nematod çıkışı 0.6 mM'de meydana geldiğini bildirmişlerdir. Ayrıca Subbotin ve ark., (1989) yaptıkları bir çalışmada *H. fici* 1987 yılında Abhazya Skaya SSR'nin Shukhona ve Gul'ripsh bölgelerinde *F. carica*'nın köklerinde ve rizosferinde bulunduğunu belirtmişlerdir. Bazı odaklarda 30 000 yumurta ve larva/100 cm³ 'e varan toprak kontaminasyonları olduğunu tespit etmişlerdir. Yabani incirdeki *H. fici*, SSCB için ilk kez rapor edilmiştir. Erginler, larvalar ve yumurtalar tanımlanmıştır. Fanelli ve ark., (2019) Güney İtalya'nın Apulia bölgesindeki ev ve kamu bahçelerinden toplanan *F. carica* köklerinden izole edilen *Heterodera fici*'nin LM ve SEM gözlemlerine dayanan morfo-biyolojilerini ve histopatolojisi tanımlamışlardır. Apulia bölgesi genelinde yetmiş beş lokalite örneklenmiş ve örneklenen lokalitelerin dörtte birinde, 44 ila 180 kist/100 ml toprak arasında değişen popülasyon yoğunluğuna sahip *H. fici* ile istila edilmiş incir kökleri bulunduğunu tespit etmişlerdir. İtalya'daki süs *Ficus spp.* ve ithal bonsai üzerinde *H. fici*'yi tespit etmeye yönelik tüm girişimlerde başarısız olmuşlardır. İtalyan popülasyonunun morfolojik karakterleri, *H. fici* için bildirilen tip ve yeniden tanımlama popülasyonlarınıninkilerle uyumlu olduğunu bildirmişlerdir. ITS, 28S rRNA'nın D2-D3 genişleme alanları ve bu çalışmada yeni elde edilen *H. fici*'nin kısmi 18S rRNA dizileri kullanılarak yapılan moleküler analiz, GenBank veri tabanında bulunan *H. fici*'nin ilgili dizileriyle iyi bir şekilde eşleştirmişlerdir. Filogenetik ağaçlar *H. fici*'nin Humuli grubu içinde gruplandırılmasını doğrulamışlardır. *H. fici* embriyojenik gelişimini 25 °C'de 14-16 günde tamamlar ve *F. carica* fidelerinin köklerinde istila sonrası gelişim ve olgunluk 25-28 °C'de 64-68 günde tamamladığını rapor etmişlerdir.

Ülkemizde yapılan diğer çalışmalara bakıldığında ise Türkiye'nin Ege Bölgesi'nden yapılan bir çalışmada *H. fici*'nin, *F. carica* ve *F. domestica*'yı parazitlediğini ilk kez bildirmiştir (Yuksel, 1981). Başka bir çalışmada ise Akşit ve Çakmak, (2022) Türkiye'deki incir ağaçlarının kök, gövde, sürgün, yaprak ve meyvelerinden beslenen artropodlar ve nematodlar ile ilgili güncel literatür gözden geçirmişlerdir. *H. fici* dahil olmak üzere 10 nematod türünü incir ağaçlarıyla ilişkilendirmişlerdir. Bu çalışmada yer alan bütün zararlıların yüksek popülasyonlara

ulaştığında ekonomik açıdan zararlı ve kontrol gerektiren türler olduğunu vurgulamışlardır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Ordu, Giresun, Trabzon, Rize ve Artvin illerinde, yaprak lahanaya üretiminin yoğun olarak yapıldığı ilçelerde bu çalışma Doğu Karadeniz Bölgesi'nde 2022 ve 2023 yıllarını kapsayan yaprak lahanaya üretim alanlarında bu araştırma gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışma sonucunda bölgede yaprak lahanaya üretim *Heterodera cruciferae* (%16.8), *Heterodera carotae* (%3.8) ve *Heterodera fici* (%1.2) türleri teşhisleri belirlenmiştir. Araştırma, yaprak lahanaya üretim bölgelerinde en sık karşılaşılan nematodların sırasıyla *H. cruciferae*, *H. carotae* ve *H. fici* olduğunu ortaya koymuştur.

Çalışma ile ülkemizde yaprak lahanaya bitkisinde ve rizosferinde ilk kez konukçu olarak türlerin tespit edilmesine olanak sağlamıştır. Bu bulgu, Doğu Karadeniz Bölgesi'nin nematod tür çeşitliliği bakımından farklı araştırmaların yapılması gerekmektedir.

Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yapılan araştırma sonucunda karalaharaya üretilen alanların %22,07'si *Heterodera* spp. ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Ordu ilinden alınan yaprak lahanaya yetiştirilen toprakların %21.05'i kist nematodu ile bulaşık olarak belirlenmiştir. Ordu ilinde 100 cm³ toprakta 29 adet infektif juvenil ve 48 adet kist elde edilerek en yüksek popülasyon Gülyalı ilçesinde tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra en az yoğunluk ise Mesudiye ilçesinde 100 cm³ toprakta 2 adet infektif juvenil ve 8 adet kist popülasyonu belirlenmiştir. Giresun ilinden alınan yaprak lahanaya yetiştirilen toprakların %35.29'i kist nematodu ile bulaşık tespit edilmiştir. Giresun ilinde ise en yüksek popülasyon 100 cm³ toprakta 12 adet infektif juvenil ve 16 adet kist elde edilerek en yüksek popülasyon Dereli ilçesinde tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra en az yoğunluk ise Piraziz ilçesinde 100 cm³ toprakta sadece 2 adet kist popülasyonu tespit edilmiştir. Trabzon ilinden alınan yaprak lahanaya yetiştirilen toprakların %26.31'i kist nematodu ile bulaşık tespit edilmiştir. Trabzon iline bakıldığında ise 100 cm³ toprakta 10 adet infektif juvenil ve 6 adet kist elde edilerek en yüksek popülasyon Arsin ilçesinde tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra en az yoğunluk ise Yomra ilçesinde 100 cm³ toprakta sadece 2 adet kist popülasyonu tespit edilmiştir. Toprakta 2. dönem larvaların ve kistlerin tespiti yalnızca 2 ilçede raslanmıştır. Alınan numuneler sonucunda Rize ilinden alınan yaprak lahanaya yetiştirilen toprakların %13.33'ü kist nematodu ile bulaşık tespit edilmiştir Rize iline bakıldığında bu ilçelerden 100 cm³

toprakta 1 adet infektif juvenil ve 5 adet kist elde edilerek en yüksek popülasyon Çamlıhemşin ilçesinde tespit edilmiştir. En az yoğunluk ise Ardeşen ilçesinde 100 cm³ toprakta sadece 3 adet kist popülasyonu belirlenmiştir. Alınan numuneler sonucunda Artvin ilinden alınan yaprak lahanaya yetiştirilen toprakların kist nematodu ile bulaşıklık olmadığı tespit edilmiştir.

Ekonomik açıdan önemli nematodların başında ikinci sırada gelen kist nematodları, yaprak lahanada önemli düzeyde verim kaybına yol açabilen bir potansiyele sahiptir. Kist nematodlarının hızlı çoğalma kabiliyetleri yüksektir. Bu araştırmada, üretimin sürekliliği göz önüne alındığında gelecekte üretim açısından potansiyel bir tehdit oluşturma riski yüksektir. Yaprak lahanaya üretim alanlarında kist nematodlarına karşı mücadele çalışmaları gerçekleştirilmelidir. Zararlılarla mücadele stratejileri arasında, iklim koşulları dikkate alınarak fiziksel mücadele yöntemleri uygulanabilir. Buna ek olarak, kimyasal savaşım alanında ruhsatlı nematisitler kullanılarak sağlanabilir. Bu durum, ülkemizin diğer bölgelerinde yaprak lahanaya yetiştirilen alanlarda nematodlarla ilgili araştırmalarımızı artırmamız gerektiğini göstermektedir.

Çalışma sonuçlarına göre belirlenen kist nematodları, dünya genelinde birçok tarım bitkisinde önemli verim kayıplarına sebep olduğu bilinen bir gerçektir. Özellikle ülkemizde yaprak lahanaya üretimi yapılan alanlarda da benzer düzeyde verim kayıpları oluşabileceği düşünülmektedir.

Çalışma sonucuna bakılacak olursa nematodlarla mücadeledeki zorluklar göz önüne alındığında, bölgedeki zararlı nematodların doğru bir şekilde tespiti, bu nematodlarla etkili bir mücadele stratejisinin geliştirilmesi açısından büyük bir öneme sahiptir. Bu bağlamda, zararlı nematod türlerinin belirlenmesi, mücadele yöntemlerinin planlanması ve uygulanması, tarımsal üretimde sağlıklı bir verim elde etmek adına kritik bir adım olacaktır.

6. KAYNAKÇA

- Akyazi, F., Yılmaz, O., & Güvercin, B. (2022). Morphological and molecular characterization of a new record *Pratylenchoides nevadensis* Talavera and Tobar, 1996 from wheat in Turkey, and its comparison with other world populations. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 129(2), 313-324.
- Akşit, T., & Çakmak, İ. (2022). Arthropod Pests and Nematodes Associated with *Ficus carica* in Turkey.
- Anonim, (2019). *Heterodera carotae*. <http://nemaplex.ucdavis.edu>
- Anonim, (2021). Karalahananın Faydaları Nelerdir. <https://npistanbul.com>
- Anonim, (2022). Lahana Yetistiriciligi. <https://www.e-fidancim.com/Lahana-Yetistiriciligi,DP-127.html>-(Erişim Tarihi: 15.09.2022).
- Aydınlı, G., & Mennan, S. (2012). Screening resistance level of Brassicaceae plants to cabbage cyst nematode, *Heterodera cruciferae* Franklin, 1945 (Tylenchida: Heteroderidae). *Turkish Journal of Entomology*, 36(1), 3-10.
- Barker, KR., & Nusbaum, CJ. (1971). Diagnostic and advisory programs. *Plant Parasitic Nematodes*, 1, 281-301.
- Barker, KR. (1985). Nematode extraction and bioassays. Volume II: Methodology, 75, 19-35.
- Berney, MF., & Bird, GW. (1992). Distribution of *Heterodera carotae* and *Meloidogyne* hapla in Michigan carrot production. *Journal of Nematology*, 24(4S), 776.
- Chizhov, VN., Pridannikov, MV., Nasonova, LV., & Subbotin, SA. (2009). *Heterodera cruciferae* Franklin, 1945, of Brassica oleraceae L. from floodland fields in the Moscow region, Russia. *Russian Journal of Nematology*, 17(2), 107-113.
- De Ley, P., Felix, MA., Frisse, L., Nadler, S., Sternberg, P., & Thomas, WK. (1999). Molecular and morphological characterisation of two reproductively isolated species with mirror-image anatomy (Nematoda: Cephalobidae). *Nematology*, 1(6), 591-612.
- Di Vito, M., & Sasanelli, N. (1990). The effect of natural and artificial hatching agents on the emergence of juveniles of *Heterodera fici*. *Nematologia Mediterranea*, 55-57.
- Doncaster, CC. (1956). Some Observations on The Hatching Responses of The Cabbage-Root Eelworm, *Heterodera Cruciferae* Franklin. *Annals of Applied Biology*, 44(2), 283-291.
- Eisenback JD. (1985) Techniques for preparing nematodes for scanning electron microscopy. In: Barker KR, Carter GG, Sasser JN (eds) An advanced treatise on Meloidogyne, Volume II: Methodology. Department of Plant Pathology, North Carolina State University, Raleigh, U.S.A., pp 79–105.
- Escobar-Avila, I. M., López-Villegas, EÓ., Subbotin, SA., & Tovar-Soto, A. (2018). First Report of Carrot Cyst Nematode in Mexico: Morphological, Molecular

- Characterization, and Host Range Study. *Journal of Nematology*, 50(2), 229-242.
- Fanelli, E., Vovlas, A., Santoro, S., Troccoli, A., Lucarelli, G., Trisciuzzi, N., & De Luca, F. (2019). Integrative diagnosis, biological observations, and histopathology of the fig cyst nematode *Heterodera fici* Kirjanova (1954) associated with *Ficus carica* L. in southern Italy. *ZooKeys*, (824), 1-19.
- Fayaz, M., Moghadam, EM., & Tehrani, AAF. (2022). Morphological and molecular characterisation of *Xiphinema index* populations in vineyards from Southwestern Iran. *Russian Journal of Nematology*, 30(1), 11-17.
- Fourie, H., Ahuja, P., Lammers, J., & Daneel, M. (2016). Brassicaceae-based management strategies as an alternative to combat nematode pests: A synopsis. *Crop Protection*, 80, 21-41.
- Gardner, J., & Caswell-Chen, EP. (1993). Penetration, development, and reproduction of *Heterodera schachtii* on *Fagopyrum esculentum*, *Phacelia tanacetifolia*, *Raphanus sativus*, *Sinapis alba* and *Brassica oleracea*. *Journal of Nematology*, 25(4), 695.
- Goodey, JB., Franklin, MT., & Hooper, DJ. (1965). T. Goodey's 'The nematode parasites of plants catalogued under their hosts'.
- Greco, N., Volvas, N., Troccoli, A., & Inserra, RN. (2002). The Mediterranean cereal cyst nematode, *Heterodera latipons*: a menace to cool season cereals of the United States, nematology circular 221. Florida department of agriculture and conservation services division of plant industry.
- Guvercin, B., & Akyazi, F. (2023). First Report of Carrot Cyst Nematode *Heterodera carotae* Jones 1950 from a New Host *Brassica oleracea* var. *acephala* DC in Türkiye: Comparison of Morphological and Morphometrical Characters with World Populations. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3227662/v1>
- Handoo, ZA. (2002). A key and compendium to species of the *Heterodera avenae* group (Nematoda: Heteroderidae). *Journal of Nematology*, 34(3), 250.
- Harris, PGW., & Evans, K. (1988). Field investigation of the responses to nematicide treatment of three winter oilseed rape cultivars infested by *Heterodera cruciferae*. *Crop protection*, 7(2), 137-142.
- Hartman, KM., & Sasser, J. N. (1985). Identification of Meloidogyne species on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology. Dept. of Plant Pathology. North Carolina State Univ.
- Holgado, R., Andersson, S., & Magnusson, C. (2006). Management of cereal cyst nematodes, *Heterodera spp.*, in Norway. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 71(3), 639-645.
- Hooper, DJ., 1986. Extraction of free-living stages from soil. In: Southey, J.F. (ed). *Laboratory Methods for Work with Plant Soil Nematodes*. Her Majesty's Stationary Office, London, 5-30 pp.
- Jabbari, H., & Niknam, G. (2008). SEM observations and morphometrics of the cabbage cyst nematode, *Heterodera cruciferae* Franklin, 1945, collected where

- Brassica spp. are grown in Tabriz, Iran. *Turkish Journal of Zoology*, 32(3), 253-262.
- Jones, FGW. (1950). Observations on the beet eelworm and other cyst-forming species of Heterodera. *Annals of Applied Biology*, 37(3), 407-440.
- Joyce SA, Burnell AM & Powers TO (1994) Characterization of Heterorhabditis isolates by PCR amplification of segments of mtDNA and rDNA genes. *Journal of Nematology*, 26, 260-270.
- Kabouw, P., van der Putten, WH., van Dam, NM., & Biere, A. (2010). Effects of intraspecific variation in white cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) on soil organisms. *Plant and Soil*, 336, 509-518.
- Karakaş, M. (2014). Fungi associated with cysts of *Globodera rostochiensis*, *Heterodera cruciferae* and *Heterodera schachii* (Nematoda: Heteroderidae). *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 4(1), 10-16.
- Koshy, PK., & Evans, K. (1986). Hatching from cysts and egg sacs of *Heterodera cruciferae* and effects of temperature on hatching and development on oilseed rape. *Annals of applied biology*, 109(1), 163-171.
- Krnjaic, D., Krnjaic, S., & Bacic, J. (1997). Distribution and population density of fig cyst nematode (*Heterodera fici* Kirjanova) at the territory of Fed. Rep. Yugoslavia, Zastita bilja (Yugoslavia), *Plant Protection*, 48 (4), 245-251.
- Madani, M., Palomares-Rius, JE., Vovlas, N., Castillo, P., & Tenuta, M. (2018). Integrative diagnosis of carrot cyst nematode (*Heterodera carotae*) using morphology and several molecular markers for an accurate identification. *European Journal of Plant Pathology*, 150, 1023-1039.
- Maqbool, MA., Qasim, M., & Zarina, B. (1987). New record of *Heterodera fici* Kirjanova, 1954 and *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 on *Ficus carica* L. *Pakistan Journal of Nematology*, 5(1), 49-50.
- Mennan, S., Handoo, Z., & Ecevit, O. (2006). Distribuion and infestation rates of cyst nematodes (*Heterodera* spp.) in cabbage-growing areas in Samsun. In Meeting Abstract (pp. 130-131).
- Mennan S. & Aydınli G., (2007). Lahana Kist Nematodu (*Heterodera cruciferae* Franklin) (Nemata: Tylenchida: Heteroderidae)'nun Yumurta Açılımını Etkileyen Bazı Faktörler Üzerinde Bir Araştırma. Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi 27-29, Isparta. 80.
- Mennan, S., Handoo, Z., & Ecevit, O. (2009). Samsun ili lahana ekim alanlarındaki kist nematodları (Tylenchida: Heteroderidae) ının yayılışı ve bulaşıklık derecesi. *Turkish Journal of Entomology*, 33(4), 289-303.
- Mennan, S., & Handoo, ZA. (2012). *Heterodera cruciferae* Franklin, 1945 (Tylenchida: Heteroderidae) ile bulaşık *Brassica oleracea* var. *capitata* subvar. *alba*'nın histopatojisi. *Turkish Journal of Entomology*, 36(3), 301-310.
- Moltmann, E., 1988. Kairomone im wurzelexsudat von getreide: Ihre bedeutung für die wirtsfindung der infektionslarven des 34 getreidezystenaelchens *Heterodera avenae* (wollenw.) und ihre charakterisierung. Hohenheim University, 148 pp.

- Mutua, PM. (2014). Isolation and screening of endophytic fusarium oxysporum for biological control of nematodes in tissue culture bananas. Doktora Tezi, Jomo Kenyatta Universitesi, Agriculture and Technology, Kenya.
- Raski, DJ. (1952). The first record of the brassica-root nematode in the United States. *Plant Disease Reporter*, 36(11), 438-439.
- Sasanelli, N., & D'Addabbo, T. (1992). The hatching response of *Heterodera fici* to different concentrations of sodium metavanadate solutions. *Nematologia Mediterranea*, 3-4.
- Sasser, JN. (1988). perspective on nematode problems worldwide. In Nematodes parasitic to cereals and legumes in temperate semi-arid regions: proceedings of a workshop held at Larnaca, 1-12.
- Shahina, F., & Maqbool, M. A. (1995). Occurrence of *Heterodera cruciferae* Franklin, 1945 (Nematoda: Heteroderidae) in District Swat, Pakistan. *Pakistan Journal of Nematology*, 13(1), 1-7.
- Shubane, AR., Swart, A., Knoetze, R., Tiedt, L. R., & Fourie, H. (2021). Characterization of *Heterodera carotae* from the Tarlton area, South Africa, and determination of its life cycle under field conditions: a baseline study. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 128, 1637-1655.
- Southey, JF. (1986). Laboratory methods for work with plant and soil nematodes.
- Subbotin, SA., Kruchina, SN., & Chizhov, V. N. (1989). *Heterodera fici*, a parasite of figs in Abkhazia. Byulleten'Vsesoyuznogo Instituta Gel'mintologii im. KI Skryabina, (50), 127-128.
- Sun, F., Henry, N., & Yu, Q. (2017). First report of the fig cyst nematode, *Heterodera fici* Kirjanova, on fig tree, *Ficus carica*, in Ontario, Canada. *Journal of Nematology*, 49, 131-132.
- Sykes, GB., & Winfield, AL. (1966). Studies on brassica cyst nematode *Heterodera cruciferae*. *Nematologica*, 12(4), 530-538.
- Taylor, DP., & Netscher, C. (1974). An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. *Nematologica*, 20 (2), 268-269.
- Toktay, H., Akyol, BG., Evlice, E., & İmren, M. (2022). Molecular characterization of *Heterodera cruciferae* Franklin, 1945 from cabbage fields in Niğde province, Turkey. *Molecular Biology Reports*, 49(12), 11557-11562.
- Vural, H. (2008). Lahana Yetiştiriciliği. <https://www.gencziraat.com/Bahce-Bitkileri/Lahana-Yetistiriciligi-12.html>-(Erişim Tarihi: 28.10.2022)
- Yuksel, H. S. (1981). *Heterodera fici* Kirjanova 1954 in Aegean Region. *Journal of Turkish Phytopathology*, 10(1), 45-51.
- Yu, Q., Ponomareva, E., Van Dyk, D., McDonald, MR., Sun, F., Madani, M., & Tenuta, M. (2017). First report of the carrot cyst nematode (*Heterodera carotae*) from carrot fields in Ontario, Canada. *Plant Disease*, 101(6), 1056-1056.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Buğra GÜVERCİN
Doğum Yeri	
Uyuşuğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	
E-Posta Adresi	

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Fakülte	Ziraat Fakültesi
Bölümü	Bitki Koruma
Mezuniyet Yılı	20.07.2020

Yüksek Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Bitki Koruma Anabilim Dalı
Mezuniyet Tarihi	Tarih girmek için tıklayın veya dokununuz.

Yayımlar
Güvercin, B., & Akyazı, F. (2024). Occurrence and distribution of cyst nematodes, <i>Heterodera spp.</i> (Tylenchida: Heteroderidae) associated with black cabbage, <i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i> L.(Brassicales: Brassicaceae) in the Eastern Black Sea Region of Türkiye. Turkish Journal of Entomology, 48(2), 139-154.
Güvercin, B., Akyazi, F. (2023). Fauna of Plant Parasitic Nematodes in World Hazelnut Soils 13. Uluslararası Tarım, Hayvancılık ve Kırsal Kalkınma Kongresi.
Güvercin, B., Akyazi, F. (2023). Occurrence and Distribution of Plant-Parasitic Nematodes Associated with Cabbage (<i>Brassica Oleracea</i> Var. <i>Acephala</i> Dc) in Eastern Black Sea Region of Türkiye. 9th International Agriculture Congress.
Akyazı, F., Güvercin, B., & Yılmaz, O. (2022). Morphological and Molecular Characterization of <i>Rotylenchulus borealis</i> Loof and Oostenbrink, 1962 from Turkey. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 9(2), 244-255.
Akyazi, F., Yılmaz, O., & Güvercin, B. (2022). Morphological and molecular characterization of a new record <i>Pratylenchoides nevadensis</i> Talavera and Tobar, 1996 from wheat in Turkey, and its comparison with other world populations. Journal of Plant Diseases and Protection, 129(2), 313-324.