

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**PATATESTE EKONOMİK AÇIDAN ÖNEMLİ OLAN KÖK-UR VE KİST
NEMATODLARININ TANILANMASI İÇİN SNP'E BAĞLI KASP
SİSTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

Mustafa ÇATALKAYA

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

OCAK 2024

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**PATATESTE EKONOMİK AÇIDAN ÖNEMLİ OLAN KÖK-UR VE KİST
NEMATODLARININ TANILANMASI İÇİN SNP'E BAĞLI KASP
SİSTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

Mustafa ÇATALKAYA

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

OCAK 2024

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PATATESTE EKONOMİK AÇIDAN ÖNEMLİ OLAN KÖK-UR VE KİST
NEMATODLARININ TANILANMASI İÇİN SNP'E BAĞLI KASP
SİSTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

Mustafa ÇATALKAYA
BİTKİ KORUMA
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bu tez 11/01/2024 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyir DEVRAN

Prof. Dr. Galip KAŞKAVALCI

Prof. Dr. Uğur GÖZEL

Doç. Dr. İlknur POLAT

Doç. Dr. Fatih DAĞLI

ÖZET

PATATESTE EKONOMİK AÇIDAN ÖNEMLİ OLAN KÖK-UR VE KİST NEMATODLARININ TANILANMASI İÇİN SNP'E BAĞLI KASP SİSTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ

Mustafa ÇATALKAYA

Doktora Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Zübeyir DEVRAN

Ocak 2024; 63 sayfa

Patates dünya nüfusunun beslenmesi için temel gıdalardan birisidir. Patates taze tüketiminin yanı sıra hayvan yemi, tohumluk ve endüstriyel nişasta olarak da kullanılmaktadır. Ekonomik öneme sahip olan patatesin yetiştiriciliğinde pek çok zararlı ve hastalık bulunmaktadır. Patates kist nematodlarından *Globodera rostochiensis*, *Globodera pallida*; kök-ur nematodlarından *Meloidogyne hapla* ve *Meloidogyne chitwoodi* türleri patates bitkisinin ana zararlılarındandır. Bu türler dünya çapında patates üretiminde verim kaybına, market değerinin düşmesine ve üretim alanlarının sınırlanmasına sebebiyet vermektedirler. Karantina analizleri ve mücadele stratejilerinin belirlenebilmesi için bu türlerin doğru ve hızlı bir şekilde tanılanması gerekmektedir.

Bu çalışmada; *G. rostochiensis*, *G. pallida*, *M. hapla* ve *M. chitwoodi* türlerini tanılamak için tek nükleotid polimorfizmlerine (SNP) dayanan KASP (Kompetitive Allele-Specific PCR) tekniği kullanılmıştır. GenBank (NCBI)'asından bu türlere ait diziler kullanılarak her bir tür için spesifik SNP'ler belirlenmiştir. Daha sonra *G. rostochiensis* için KASP-Gr, *G. pallida* için KASP-Gp, *M. hapla* için KASP-NMhp ve *M. chitwoodi* için KASP-Mch primerleri geliştirilmiştir. Geliştirilen primerler bu türleri birbirlerinden ve diğer bitki paraziti nematodlarından başarılı bir şekilde ayırt edebilmiştir. Bu türlerin farklı biyolojik dönemlerinden elde edilen DNA'lar kullanılarak tanılamaları yapılmıştır. *Globodera rostochiensis* ve *G. pallida* türleri tek bir kist üzerinden tanılanabilmiştir. Larva düzeyinde yapılan çalışmalarda *G. rostochiensis* türü için >8 adet larva DNA'sı, *G. pallida* türü için 1 adet larva DNA'sının bu türleri tanılamak için yeterli olduğu belirlenmiştir. *Meloidogyne hapla* türünü tanılamak için geliştirilen KASP-NMhp primerlerinin sadece tek 1 adet larva DNA'sında başarılı bir şekilde çalıştığı tespit edilmiştir. *Meloidogyne chitwoodi* türünü tanılamak için geliştirilen KASP-Mch primerlerinin >20 adet larva DNA'sında çalıştığı belirlenmiştir. Ayrıca, KASP-Mch primerleri, *M. chitwoodi* ile enfekteli patates yumrusunun dokusundan doğrudan izolasyon yapılarak elde edilen DNA'ları başarılı bir şekilde tanılanmıştır.

Geliştirilen primerler, başta karantina laboratuvarları olmak üzere pek çok uygulama laboratuvarında bu türlerin doğru ve hızlı bir şekilde tanılanabilmesinde kullanılabilecektir.

ANAHTAR KELİMELEER: *Globodera rostochiensis*, *G. pallida*, *Meloidogyne hapla*, *M. chitwoodi*, patates, SNP, tanılama

JÜRİ: Prof. Dr. Zübeyir DEVRAN

Prof. Dr. Galip KAŞKAVALCI

Prof. Dr. Uğur GÖZEL

Doç. Dr. İlknur POLAT

Doç. Dr. Fatih DAĞLI



ABSTRACT

DEVELOPMENT OF SNP-DEPENDENT KASP SYSTEM FOR THE IDENTIFICATION OF ECONOMICALLY IMPORTANT ROOT-KNOT AND CYST NEMATODES IN POTATO

Mustafa ÇATALKAYA

PhD Thesis in Plant Production

Supervisor: Prof. Dr. Zübeyir DEVRAN

January 2024; 63 pages

Potato is one of the basic foods for feeding the world's population. In addition to its fresh consumption, potato is also used as animal feed, seed and industrial starch. Cultivation of potato which have economic importance are many pest and diseases. *Globodera rostochiensis*, *Globodera pallida* species from potato cyst nematodes; *Meloidogyne hapla* and *Meloidogyne chitwoodi* species from root-knot nematodes are the pests of potato plants. These species cause loss of productivity in potato production, decrease in market value and limitation of production areas worldwide. These species need to be identified accurately and quickly in order to take quarantine measures and determine management strategies.

In this study, KASP (Kompetitive Allele-Specific PCR) technique based on single nucleotide polymorphisms (SNP) was used to identify the species *G. rostochiensis*, *G. pallida*, *M. hapla* and *M. chitwoodi*. SNPs were determined for each species using the available DNA sequences of these species from GenBank. KASP-Gr, KASP-Gp, KASP-NMhp and KASP-Mch for *G. rostochiensis*, *G. pallida*, *M. hapla* and *M. chitwoodi* were developed, respectively. These primers were able to successfully distinguish *G. rostochiensis*, *G. pallida*, *M. hapla*, *M. chitwoodi* species from each other and from other plant parasitic nematodes. These species were identified using DNA obtained from different biological stages. *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* species were identified from one cyst using KASP-Gr and KASP-Gp primers. Studies conducted at the larval level showed that >8 juvenils DNAs for the *G. rostochiensis* species and 1 juvenile DNA for the *G. pallida* species were sufficient to identify these species. KASP-NMhp primers developed to identify *M. hapla* species were found to work successfully in 1 juvenile DNA. It was determined that the KASP-Mch primers developed to identify *M. chitwoodi* species worked in >20 juvenils DNAs. In addition, KASP-Mch primers successfully identified DNAs obtained by direct isolation from infected potato tuber tissue with *M. chitwoodi*.

The developed primers can be used accurate and quick identification of these species in many laboratories, especially quarantine laboratories.

KEYWORDS: *Globodera rostochiensis*, *G. pallida*, *Meloidogyne hapla*, *M. chitwoodi*, potato, SNP, identification

COMMITTEE: Prof. Dr. Zübeyir DEVRAN
Prof. Dr. Galip KAŞKAVALCI
Prof. Dr. Uğur GÖZEL
Assoc. Prof. Dr. İlknur POLAT
Assoc. Prof. Dr. Fatih DAĞLI



ÖNSÖZ

Patates (*Solanum tuberosum* L.) kökeni Güney Amerika olan; buğday, çeltik ve mısırdan sonra dördüncü en önemli kültür bitkisidir. Patateste verim ve kalite kaybına yol açan en önemli zararlıların başında patates kist nematodları (*Globodera rostochiensis* ve *G. pallida*) ve kök-ur nematodları (*Meloidogyne chitwoodi* ve *M. hapla*) gelmektedir. Bu türler Türkiye’de Bitki Karantinası Yönetmeliğine göre karantina kapsamında bulunmaktadır. Bu nedenle bu türlerin hızlı ve doğru bir şekilde tanılanması nematodların temiz alanlara yayılmasının önlenmesinde ve mücadele yöntemlerinin belirlenmesinde gereklidir. Bu çalışmada *G. rostochiensis*, *G. pallida*, *M. hapla* ve *M. chitwoodi* için SNP’e bağlı KASP primerleri geliştirilerek bu türler; hızlı, güvenilir ve tekrar edilebilir şekilde tanılanmıştır.

Doktora öğrenimim boyunca desteğini esirgemeyerek bana yol gösteren, tez çalışmam boyunca ihtiyaç duyduğum ortamı ve imkanları sağlayan değerli danışmanım Prof. Dr. Zübeyir DEVRAN’a

Doktora tez sürecimde bilgi ve tecrübelerini paylaştıkları, önerileriyle tezime katkı sağlayan Tez İzleme Komitesi Üyeleri Sayın Doç. Dr. İlknur POLAT ve Doç Dr. Fatih DAĞLI’ya

Tez çalışmamda bana destek veren Antalya Zirai Karantina Müdürlüğü Müdür’ü Ekrem ÇETİN’e, Müdür Yrd. Çetin ALGÜN’e, Zir. Müh. Haluk CENGİZ’e ve Dr. Mehmet Masum YARBA’ya

Yurtdışı nematod kültürlerini tedarik etmemde yardımcı olan Toprak Bilimi duayen hocası Prof. Dr. Ahmet Ruhi MERMUT’a

Tez çalışmalarımda kullandığım nematod kültürlerini paylaşan Dr. Hülya DEMİRBAŞ PEHLİVAN’a, Doç. Dr. Halil TOKTAY’a, Zir. Yük. Müh. Gülten KAÇAR AVCI’ya, Doç. Dr. Emre EVLİCE’ye, ANSES Laboratuvarlarına, Dr. Valeria ORLANDO’ya, Niğde Tarım ve Orman İl Müdürlüğü’ne, Nevşehir Tarım ve Orman İl Müdürlüğü’ne, Doç. Dr. Gökhan AYDINLI’ya, Dr. Atilla ÖCAL’a, Doç. Dr. Elif YAVUZASLANOĞLU’na ve Prof. Dr. Mustafa İMREN’e

Tez çalışmam boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Zir. Yük. Müh. Gülsüm UYSAL’a, Dr. Tevfik ÖZALP’e, Zir. Yük. Müh. Ahmet Kaan AKSAK’a, Zir. Müh. Duru EROL’a, Zir. Yük. Müh. Demet BAYINDIR’a, Zir. Müh. Rüya KİŞİ’ye, Zir. Müh. Oğuzhan KİRİŞ ve Zir. Müh. Ümit ONUR’a

Hayatımın her aşamasında benim için herşeye katlanan ve her zaman yanımda olan annem Nermin ÇATALKAYA’ya, babam Mehmet ÇATALKAYA’ya, ablam Sezin AYTUĞ’a ve eniştem Kıvanç AYTUĞ’a teşekkür ederim. Ayrıca, hayatıma girdiği andan itibaren desteğini daima hissettiren sevgili eşim Irmak ÇATALKAYA’ya ve biricik kızım Defne ÇATALKAYA’ya en içten duygularıyla teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vi
AKADEMİK BEYAN	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	4
2.1. Patates Bitkisinin Orijini ve Önemi.....	4
2.2. Patates Kist Nematodlarının Türleri ve Tanılanma Süreci.....	4
2.2.1. <i>Globodera rostochiensis</i> ve <i>Globodera pallida</i> türlerine ait genel bilgiler.....	5
2.2.1.1. Biyolojisi, zararı ve mücadelesi	5
2.2.1.2. Dünya ve Türkiye’deki yaygınlığı	7
2.2.2. <i>Globodera rostochiensis</i> ve <i>Globodera pallida</i> türlerinin tanılanması	8
2.3. Kök-ur Nematodlarının Türleri ve Tanılanma Süreci	12
2.3.1. <i>Meloidogyne hapla</i> ve <i>Meloidogyne chitwoodi</i> türlerine ait genel bilgiler ...	13
2.3.1.1. Biyolojisi, zararı ve mücadelesi	13
2.3.1.2. Dünya ve Türkiye’deki yaygınlığı	15
2.3.2. <i>Meloidogyne hapla</i> ve <i>Meloidogyne chitwoodi</i> ’nin tanılanması	16
2.4. KASP (Kopetitive Allele-Specific PCR) Tekniği	20
3. MATERYAL ve METOT	22
3.1. Materyal.....	22
3.1.1. Nematod popülasyonları	22
3.2. Metot	23
3.2.1. Kök-ur nematodlarının saf kültürlerinin oluşturulması ve çoğaltılması	23
3.2.2. Nematod ekstraksiyonu	24
3.2.3. DNA izolasyonu	25
3.2.4. PCR çalışmaları	26
3.2.5. <i>Globodera rostochiensis</i> ve <i>Globodera pallida</i> türleri için KASP primerlerinin geliştirilmesi	27

3.2.6. <i>Meloidogyne hapla</i> ve <i>Meloidogyne chitwoodi</i> türleri için KASP primerlerinin geliştirilmesi	27
3.2.7. KASP analizleri	28
3.2.7.1. DNA'ların kontrolü	28
3.2.7.2. <i>Globodera rostochiensis</i> 'in tanılanması	28
3.2.7.3. <i>Globodera pallida</i> 'nın tanılanması	29
3.2.7.4. <i>Meloidogyne hapla</i> 'nın tanılanması	29
3.2.7.5. <i>Meloidogyne chitwoodi</i> 'nin tanılanması	30
4. BULGULAR	31
4.1. Klasik PCR Çalışmaları	31
4.1.1. Patates kist nematodlarının PCR ile tanılanması	31
4.1.2. Kök-ur nematodlarının PCR ile tanılanması	31
4.2. DNA'ların KASP İle Kontrolü	33
4.3. <i>Globodera rostochiensis</i> 'in Tanılanması	34
4.4. <i>Globodera pallida</i> 'nın Tanılanması	35
4.5. <i>Meloidogyne hapla</i> 'nın Tanılanması	37
4.6. <i>Meloidogyne chitwoodi</i> 'nin Tanılanması	37
5. TARTIŞMA	40
6. SONUÇLAR	43
7. KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora tezi olarak sunduğum “Patateste Ekonomik Açıdan Önemli Olan Kök-ur ve Kist Nematodlarının Tanılanması İçin SNP’e Bağlı KASP Sistemlerinin Geliştirilmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

11/01/2024

Mustafa ÇATALKAYA



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
°	: Derece
m	: Metre
ha	: Hektar
°C	: Santigrad derece
€	: Euro
g	: Gram
µm	: Mikrometre
ng	: Nanogram
µL	: Mikrolitre
pg	: Pikogram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
µM	: Mikromolar
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
nm	: Nanometre
bp	: Baz çifti
>	: Büyüktür

Kısaltmalar

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
J ₂	: İkinci dönem larva

KASP	: Kompetitive Allele-Specific PCR
LAMP	: Loop-Mediated Isothermal Amplification
PCR	: Polymerase Chain Reaction
QTL	: Quantitative Trait Locus
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphisms
SNP	: Single Nucleotide Polymorphisms
yy.	: Yüzyıl



ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 2.1.** Patates kist nematodlarının morfolojik görünüşleri **a)** *Globodera* tanınması için perinal ölçümler **b)** *G. rostochiensis* ve *G. pallida* türlerinin vulva-anal sırt desenleri **c)** *G. rostochiensis* ve *G. pallida* türlerinin sitiletleri (Fleming ve Powers 1998)9
- Şekil 2.2. (a. ve b.)** *Meloidogyne hapla*'nın perinal kesiti **c)** *Meloidogyne chitwoodi*'nin perinal kesiti (Hunt ve Handoo 2009) 17
- Şekil 3.1. a)** Kök-ur nematodu yumurtalarından J₂ elde edilmesi **b)** *Meloidogyne chitwoodi* ile enfekteli patates yumrularından dişi birey ve yumurta paketinin çıkarılması24
- Şekil 3.2. a)** *Ditylenchus destructor* enfekteli patates dilimlerinin petriye alınması **b)** Kistlerin Fenwick yöntemi ile elde edilmesi 25
- Şekil 4.1.** PITSr3/PITSp4/ITS5 primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünleri. M: Moleküler markör (100 bp DNA ladder, Hibrigen), *G. rostochiensis* örnekleri: 146, Aly, Nge, Nev, Gr-1, Ni163 ve 14-789/2; *G. pallida* örnekleri: 14-789/1, Gpa1 ve 07-998/5 31
- Şekil 4.2.** JMV1/JMV2/JMVhapla primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünleri. M: Moleküler markör (100 bp DNA ladder, Hibrigen), *M. chitwoodi* örnekleri: Nvs, Nde, Mc-2 ve Kon; *M. hapla* örnekleri: Bul-1, Pop 3 ve Dr 31
- Şekil 4.3. a)** Inc-K14-F/Inc-K14-R primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünleri. M: Moleküler markör (100 bp DNA ladder, Hibrigen), *M. incognita* örnekleri: G7 ve V24. **b)** Fjav/Rjav primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünleri. M: Moleküler markör (100 bp DNA ladder, Hibrigen), *M. javanica* örnekleri: Bam-1 ve V28.....32
- Şekil 4.4. a)** Far/Rar primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünleri. M: Moleküler markör (100 bp DNA ladder, Hibrigen), *M. arenaria* örnekleri: K18 ve L1. **b)** Mlf/Mlr primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünleri. M: Moleküler markör (100 bp DNA ladder, Hibrigen), *M. luci* örnekleri: Or-133
- Şekil 4.5.** Üniversal PC2 primerleri ile yapılan KASP çalışması sonrası örneklerin endpoint genotyping okuma görüntüsü. Y eksenindeki pembe noktalar tüm örneklerin floresans okumalarını, orijindeki gri noktalar suyu göstermektedir34
- Şekil 4.6. a)** KASP-Gr primerleri kullanılarak *G. rostochiensis* popülasyonlarının tanınması. Grafikteki X ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-Gr primerleri kullanılarak *G. rostochiensis* örneklerinin floresans okumalarını, Y eksenindeki gri noktalar ise diğer örnekleri ve suyu göstermektedir. **b)** *Globodera rostochiensis* örneklerine ait 1, 2 ve 4 kistin KASP-Gr primerleri ile tanınması. Grafikteki X ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-Gr primerleri kullanılarak *G. rostochiensis* örneklerine ait 1, 2 ve 4 kist DNA'larının floresans okumalarını, Y eksenindeki gri nokta ise suyu göstermektedir. **c)** *Globodera rostochiensis*

örneklerine ait 16 ve 32 larvanın KASP-Gr primerleri ile tespit edilmesi. Grafikteki *X* ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-Gr primerleri kullanılarak *G. rostochiensis* örneklerine ait 16 ve 32 larvanın DNA'larının floresan okumalarını, *Y* eksenindeki gri nokta ise suyu göstermektedir35

Şekil 4.7. a) KASP-Gp primerleri kullanılarak *G. pallida* popülasyonlarının tanılanması. Grafikteki *X* ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-Gp primerleri kullanılarak *G. pallida* örneklerinin floresan okumalarını orijindeki gri noktalar diğer örnekleri ve suyu göstermektedir. **b)** *Globodera pallida* örneklerine ait 1, 2 ve 4 kistin KASP-Gp primerleri ile tespit edilmesi. Grafikteki *X* ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-Gp primerleri kullanılarak *G. pallida* örneklerine ait 1, 2 ve 4 kist DNA'larının floresan okumalarını, orijindeki gri noktalar ise suyu göstermektedir. **c)** *Globodera pallida* örneklerine ait 1, 2 ve 4 larvanın KASP-Gp primerleri ile tespit edilmesi. Grafikteki *X* ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-Gp primerleri kullanılarak *G. pallida* örneklerine ait 1, 2 ve 4 larvanın DNA'larının floresan okumalarını, *Y* eksenindeki gri noktalar ise suyu göstermektedir.....36

Şekil 4.8. a) KASP-NMhp primerleri kullanılarak *M. hapla* popülasyonlarının tanılanması. Grafikteki *X* ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-NMhp primeri kullanılarak *M. hapla* izolatlarının floresan okumalarını, orijindeki gri noktalar diğer izolatları ve suyu göstermektedir. **b)** *Meloidogyne hapla* örneklerine ait 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 larvanın KASP-NMhp primerleri ile tespit edilmesi. Grafikteki *X* ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-NMhp primerleri kullanılarak *M. hapla* örneklerine ait 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 larvanın DNA'larının floresan okumalarını, orijindeki gri noktalar ise suyu göstermektedir.....37

Şekil 4.9. a) KASP-Mch primerleri kullanılarak *M. chitwoodi*'ye özgü *M. chitwoodi* popülasyonlarının tanılanması. Grafikteki *X* ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-Mch primerleri kullanılarak *M. chitwoodi* örneklerinin floresan okumalarını, *Y* eksenindeki gri noktalar diğer örnekleri ve suyu göstermektedir. **b)** *Meloidogyne chitwoodi* örneklerine ait 40 larvanın KASP-Mch primerleri ile tespit edilmesi. Grafikteki *X* ekseninde görünen mavi noktalar KASP-Mch primerleri kullanılarak *M. chitwoodi* örneklerine ait 40 larva DNA'larının floresan okumalarını, *Y* eksenindeki gri noktalar ise suyu göstermektedir **c)** Patates dokusundan elde edilen *M. chitwoodi* örnek DNA'larının KASP-Mch primerleri ile tanılanması. Grafikteki *X* ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-Mch primeri kullanılarak *M. chitwoodi* izolatlarına ait DNA'larının floresan okumalarını, orijindeki gri noktalar ise suyu göstermektedir.....38

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. <i>Globodera rostochiensis</i> ve <i>Globodera pallida</i> kistlerinin morfometrik ölçümleri (Subbotin vd. 2010).....	9
Çizelge 2.2. <i>Globodera rostochiensis</i> ve <i>Globodera pallida</i> türlerinin ikinci dönem larvalarının morfolojileri ve morfometrik ölçümleri (Subbotin vd. 2010).....	9
Çizelge 2.3. <i>Meloidogyne chitwoodi</i> ile <i>Meloidogyne hapla</i> J ₂ morfometrik ölçümleri (Whitehead 1968; Golden vd. 1980)	17
Çizelge 3.1. Çalışmalarda kullanılan bitki paraziti nematodların örnek kodu, konukçusu, orijini ve referansı	22
Çizelge 3.2. İzolatların doğrulanması için kullanılan türe özgü primerlerin adları, dizilimleri, uzunlukları ve referansı	26
Çizelge 3.3. <i>Globodera rostochiensis</i> ve <i>Globodera pallida</i> için geliştirilen KASP primerlerinin adları ve dizileri	27
Çizelge 3.4. <i>Meloidogyne hapla</i> ve <i>Meloidogyne chitwoodi</i> için geliştirilen KASP primerlerinin adları ve dizileri	28

1. GİRİŞ

Önemli bir besin kaynağı olan patates (*Solanum tuberosum* L.), *Solanaceae* (Patlıcangiller) familyasının bir üyesi olup tek yıllık kültür bitkisidir. Güney Amerika orijinli olan patates yaklaşık 150 yıl önce Türkiye'ye girmiş ve Karadeniz'in yaylaları ile Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilmeye başlanmıştır. (Esendal 1990, Çaylak 2002). Günümüzde Türkiye'nin hemen her yerinde yetiştirilen patates, zengin besin değerlerine sahiptir. Patates yumruları, ortalama %15-25 oranında kuru madde içermekte olup karbonhidratlar (nişasta), protein, vitaminler (pantotenik asit, folik asit, C, B1, B3, B6 ve K) ve mineraller (P, Fe, Cu, Mg ve Mn) açısından oldukça zengindir (Günel vd. 2010).

Dünyanın açlık sorununa cevap verebilecek bitkilerden olan patates, ekonomik kayıplara yol açan birçok hastalık etmeni ve zararlı tarafından tehdit edilmektedir. Zararlılar grubu içerisinde yer alan patates kist nematodları ve kök-ur nematodları patatesteki ekonomik kayıp oluşturmaları açısından öne çıkmaktadırlar.

Patates kist nematodları (PKN) içerisinde *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Skarbilovich, 1959 (Tylenchida: Heteroderidae) ve *Globodera pallida* (Stone, 1973) Behrens, 1975 (Tylenchida: Heteroderidae) türleri patatesteki ekonomik kayıplara yol açan yaygın türlerdir (Toktay vd. 2020). Konukçusunun köküne penetre eden kist nematodlarının ikinci dönem larvaları (J₂) bitkinin iletim sisteminde beslenmektedirler. Nematodların etkileşime girdikleri hücreler genişleyerek komşu hücreler ile bağlantılı hale gelirler ve nematodların besin kaynağını oluştururlar. Gelişimini tamamlayan larvalar, olgun dişi bireyler haline geldiklerinde yumurtalarını içlerinde muhafaza edecek şekilde kist formuna dönuşürler (Lilley vd. 2005; Williamson ve Kumar 2006; Abad ve Williamson 2010). Kistler, toprakta konukçusu olmadan 20 yıldan daha fazla bir süre boyunca yumurtalarını muhafaza edebilirler (Mburu vd. 2020). Patates kist nematodları bitkilerde; gelişim geriliği, sararma, solma ve kurumalara neden olurlar (Turner 1996; Turner ve Evans 1998; EPPO 2004). Patates kist nematodlarının dünyadaki patates üretimine %12'den fazla bir oranda kayba neden olduğu bildirilmiştir (Urwin vd. 2000). Türkiye'de patates kist nematodları (*Globodera* spp.) ilk kez Bolu ili Dörtdivan ilçesinde ithal tohumluk üretilen bir tarlada bulunmuş ve bölge karantinaya alınmıştır (Enneli ve Öztürk 1996). Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda İzmir, Nevşehir, Niğde, Afyon ve Bolu illerinde yalnızca *G. rostochiensis* türü tespit edilmiştir (Ulutaş vd. 2012; Özarslandan vd. 2019; Toktay vd. 2020; Altaş vd. 2020; Demirbaş Pehlivan vd. 2020; Evlice vd. 2021).

Zorunlu (obligat) endoparazit organizmalar olan kök-ur nematodları, pek çok bitkide zararlılara neden olan en önemli bitki paraziti nematod grubunu oluşturmaktadır. Kök-ur nematodlarının J₂'leri konukçusunun kılcal köklerinden bitkiye giriş yaptıktan sonra hücreler arasında hareket ederek iletim demetlerine ulaşırlar ve bu bölgedeki hücrelere kendilerini sabitleyerek beslenmeye başlarlar. Beslendikleri bölgelerde çok çekirdekli dev hücreler oluştururlar (Williamson 1998; Abad vd. 2003; Caillaud vd. 2008). Patates yumrusu üzerinde ve kabuğu altında lekelenmelere neden olarak patatesin pazar değerini önemli ölçüde düşürürler ve yoğun enfeksiyonlarda pazarlanmasına olanak tanımazlar (Vovlas 2005). Patates yetiştiriciliğinde özellikle *Meloidogyne chitwoodi* Golden vd., 1980 (Tylenchida: Meloidogynidae), *Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949 (Tylenchida: Meloidogynidae), *Meloidogyne fallax* Karssen, 1996, *Meloidogyne incognita* (Kofoid ve White, 1919) Chitwood, 1949, *Meloidogyne javanica* (Treub,

1885), Chitwood, 1949 ve *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889), Chitwood, 1949 ekonomik olarak önemli türler olarak ön plana çıkmaktadır (Ingham vd. 2000; Vovlas vd. 2005; Hay vd. 2016; Liu ve Grabau 2022; Bacic vd. 2022). *Meloidogyne luci* Carneiro vd., 2014, *Meloidogyne enterolobii* Yang ve Eisenback, 1983, *Meloidogyne hispanica* Hirschmann, 1986, *Meloidogyne minor* Karssen vd., 2004, *Meloidogyne ethiopica* Whitehead, 1968 ve *Meloidogyne inornata* Lordello, 1956 türleri dünyanın farklı bölgelerindeki patates alanlarında tespit edilmiş ve potansiyel riskli türler olarak değerlendirilmiştir (Karssen vd. 2004; Maleita vd. 2012; Onkendi ve Moleleki 2013; Medina vd. 2014; Maleita vd. 2018; Geric Stare vd. 2022). Türkiye’de patates üretimi yapılan alanlarda yürütülen çalışmalarda kök-ur nematod türleri tespit edilmiştir. *Meloidogyne hapla*; Niğde, Nevşehir, Aksaray ve İzmir illerinde tespit edilmiştir (Özarslandan vd. 2005; Kepenekçi vd. 2006; Demirbaş Pehlivan vd. 2020; Evlice 2021). *Meloidogyne chitwoodi*; Niğde, Nevşehir, Aksaray, Isparta, Kayseri, Konya, İzmir, Balıkesir, Kütahya, Manisa ve Bitlis illerinde bulunmuştur (Özarslandan vd. 2009, Devran vd. 2009; Yıldız vd. 2009, Özarslandan ve Elekçioğlu 2010; Ulutaş 2010; Özarslandan vd. 2013, Evlice ve Bayram 2016; Demirbaş Pehlivan 2020; Evlice 2021). *Meloidogyne incognita* ve *M. javanica* İzmir’de tespit edilmiştir (Demirbaş Pehlivan 2020).

Bitki paraziti nematod türlerinin hızlı ve doğru tanılanması karantina önlemleri ve mücadele açısından oldukça önemlidir. Kök-ur nematodlarının ve patates kist nematodlarının ikinci dönem larvalarına ve dişi bireylerine ait morfolojik karakterler ve morfometrik ölçümler kullanılarak tanılanmaktadır (Siddiqi 2000). Ancak, morfolojik karakterlerin ve morfometrik ölçümlerin, kimi durumda tür içi varyasyonlar nedeniyle yetersiz olması, yetişmiş bir taksonomiste gereksinim duyulması, tanılama sürecinin yoğun emek ve zaman alması nedeniyle son yıllarda moleküler teknikler tanılamada yaygın olarak kullanılmaktadır. Kök-ur ve patates kist nematodlarının moleküler tanılanmasında; klasik PCR (Zijlstra 1997; Bulman ve Marshall 1997), Real-time PCR (Zijlstra ve Van Hoof 2006; Nowaczyk vd. 2008; Nyoike vd. 2012; Gamel vd. 2017) ve LAMP (Peng vd. 2017, Zhang ve Gleason 2019; Ahuja vd. 2021; Camacho vd. 2021) teknikleri kullanılmaktadır. Klasik PCR’ın zaman alması ve jel elektroforez aşamalarında hataların olabilmesi; Real-time PCR yönteminde kullanılan SYBR Green I boyasının kimi durumlarda özgül olmayan PCR ürünlerine bağlanabilmesi, prob sistemlerinin ise pahalı olması yeni tanılama tekniklerinin kullanılmasını gerekli kılmaktadır.

Son yıllarda DNA dizisinde tek baza bağlı farklılıklar (Single nükleotid polymorphism, SNP) moleküler çalışmalarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Kompetitive Alle-Specific PCR (KASP), SNP’e bağlı bir moleküler teknik olup floresan rezonans enerji transferini (FRET) temel alınmaktadır. Allellerde belirlenen SNP’lerden primerlerin dizayn edildiği ve bu primerlere bağlanan fluometrik boyaların (HEX ve FAM) ışınmaları ile allellerin birbirlerinden ayrılmasına dayanmaktadır (Kumpatla vd. 2012). KASP; hızlı, güvenilir, tekrarlanabilir ve analiz maliyetinin uygunluğu gibi üstün özelliklere sahip olması sayesinde bitkilerde hastalık etmenlerine ve zararlılara karşı dayanıklılık sağlayan genlerin takip edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Rehrig vd. 2014; Shi vd. 2015; Devran vd. 2016; Zhao vd. 2017; Devran ve Kahveci 2019). KASP tekniği son zamanlarda nematoloji alanında da uygulanmaya başlanmıştır. *Rotylenchus reniformis* Linford ve Oliveira, 1940 popülasyonlarının genetik varyasyonlarını belirlemede (Khanal vd. 2019), *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942

tanılanmasında (Devran ve Göknur 2020) ve ekonomik öneme sahip kök-ur nematodu türlerinden *M. incognita*, *M. javanica* ve *M. arenaria*'nın tanılanmasında (Devran ve Göknur 2023) kullanılmıştır.

Bu tez kapsamında patatesteki ekonomik olarak kayıplara neden olan en önemli nematod türlerinden *G. rostochiensis*, *G. pallida*, *M. chitwoodi* ve *M. hapla*'nın hızlı ve doğru tanınması için SNP'ye bağlı KASP markörleri geliştirilmiş, optimizasyonları ve validasyonları gerçekleştirilmiştir.



2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Patates Bitkisinin Orijini ve Önemi

Kökeni ve çeşitliliğinin ana merkezi Güney Amerika'nın batısı olan patatesin günümüze ait gen havuzuna bakıldığında, Şili'nin 45° güneyinden, Kolombiya'nın 12° kuzey enlemini kapsamaktadır (Hawkes 1990). Patatesin yabani akrabaları çok daha geniş bir dağılım alanına sahiptir. Kuzey Patagonya'dan Güney ABD'ye ve Batı Atacama çölünden Güney Amerika'nın doğusuna kadar yabani çeşitleri görülmektedir (Hijmans vd. 2002; Spooner vd. 2004). 16 yy. sonlarında Güney Amerika kıtasında bulunan Alp dağlarından İspanyol gemiciler tarafından alınan patatesler, İspanya'daki botanik bahçelerine getirilmiştir. Buradan sırası ile İngiltere, İrlanda ve İskoçya olmak üzere Avrupa ülkelerine daha sonra da diğer ülkelere yayılmıştır (Abed ve Demirhan 2018). Patates Türkiye'ye ilk kez 1850 yılında Rusya'dan Kafkasya yoluyla geldiği ve ilk olarak Karadeniz yaylaları ile Doğu Anadolu'da yetiştirildiği belirtilmiştir (Esendal 1990; Çaylak 2002). Patates, 125'ten fazla ülkede deniz seviyesinden 4000 m yüksekliğe kadar çok geniş alanlarda yetiştirilmektedir (Öztürk ve Polat 2017). Günümüzde patates bitkisinin 200 civarında tür, 4.000'den fazla çeşit içerdiği bilinmektedir (Abed ve Demirhan 2018). Türkiye'de oldukça az sayıda ticari çeşit geliştirilmiştir. Yaklaşık 200'e yakın çeşit ise üretim izni almıştır (Karadoğan ve Şanlı 2019).

Patates; içerdiği karbonhidratlar, mineral maddeler ve vitaminler açısından buğday, mısır ve çeltik ile birlikte dört önemli bitkisel kaynaktan birisidir (Altuntaş vd. 2012). İçeriğinde bulunan zengin besin değeri sayesinde FAO tarafından "gizli hazine" olarak tanımlanan patates az gelişmiş ülkelere dengersiz beslenmeden dolayı eksik kalan birçok temel ihtiyacı karşılamaktadır (Anonymous 1; Abed ve Demirhan 2018). Patates yumrularının yaklaşık %50'lik kısmı pişirme, kızartma ve haşlama yapılarak taze tüketim amaçlı geri kalan kısmı işlenmiş patates, hayvan yemi, tohumluk ve endüstriyel nişasta gibi alanlarda tüketilmektedir. Patates endüstriyel nişasta olarak; ilaç, tekstil ve kâğıt sanayinde tutkal olarak pek çok alanda kullanılmaktadır (Abed ve Demirhan 2018).

Dünyada 2021 yılında 1.813.269,4 ha alanda 376.119.974,39 ton patates üretimi, Türkiye'de ise 138.513,00 ha alanda 5.100.000,00 ton üretim gerçekleştirmiştir (Anonymous 2). Türkiye'nin pek çok ilinde patates üretimi yapılmakla birlikte %12,2'lik oran ile en fazla üretim yapılan il Konya olmuştur. Daha sonra sırasıyla Niğde (%11,3), Afyonkarahisar (%11), Kayseri (%10,2), İzmir (%8,8), Aksaray (%6,1), Nevşehir (%5,8), Bitlis (%5,1), Adana (%4,4) ve Sivas (%3,8) illeridir (Anonim 1).

2.2. Patates Kist Nematodlarının Türleri ve Tanılma Süreci

Patates kist nematodları; Nematoda şubesinin, Secernentea sınıfındaki, Tylenchida takımında bulunan Heteroderidae familyasındaki *Globodera* cinsinde yer almaktadır. *Globodera* cinsine ait toplam 13 tür tespit edilmiş olup, bu türler: *Globodera agulhasensis* Knoetze, Swart, Wentzel ve Tiedt, 2017, *Globodera artemisiae* (Eroshenko & Kazachenko, 1972) Behrens, 1975, *Globodera capensis* Knoetze, Swart ve Tiedt, 2013, *Globodera ellingtonae* Handoo, Carta, Skantar ve Chitwood, 2012, *Globodera leptonepia* (Cobb ve Taylor, 1953) Skarbilovich, 1959, *Globodera mali* (Kirjanova ve Borisenko,

1975) Behrens, 1975, *Globodera mexicana* Subbotin, Mundo-Ocampo ve Baldwin, 2010, *Globodera millefolii* (Kirjanova ve Krall, 1965) Behrens, 1975, *Globodera pallida* Stone, 1973, *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Skarbilovich, 1959, *Globodera sandveldensis* Knoetze, Swart, Wentzel ve Tiedt, 2017, *Globodera tabacum* (Lownsbery ve Lownsbery, 1954) Skarbilovich, 1959, and *Globodera zelandica* Wouts, 1984 (Subbotin vd. 2020).

Patates bitkilerinde kist nematodlarının ilk kaydı Kühn (1881) tarafından sunulsa da, o yıllarda tüm kist nematodları *Heterodera schachtii* türü olarak düşünülmüştür. Kist nematodlarının, özellikle patatesten oluşturdıkları zararları ilişkilendiren ilk kişi Zimmermann (1914) olmuştur. O dönemde, konukçu-kist nematodu tür isimleri arasında çok fazla kafa karışıklığı bulunsada Wollenweber (1923) patatesteki kist nematodlarına *H. rostochiensis* ismini vermiştir. Daha sonra Zimmermann (1927) tarafından patates kist nematodlarına *H. schachtii* forma *solani* adı verilmiş, ancak Kemner (1929) tarafından *H. schachtii* spp. *rostochiensis* (Woll.) olarak tekrar adlandırılmıştır. Bu zamana kadar, patates kist nematodları İskoçya'da (Massee 1913) ve İngiltere'nin kuzeyinde (Strachan ve Taylor 1926) iyi bilinse de Wollenweber'in patateslere saldıran ayrı bir tür olarak tanımlaması, Franklin (1940)'nin bu türü diğer kist nematod türlerinden ayıran morfolojik farklılıkları tarif edene kadar kabul görmemiştir. Kabul gördükten sonra Wollenweber'in verdiği isim geri getirilmiştir.

Globodera cinsine ait türler konukçusu olduğu bitkiye yüksek derecede özelleşmişlerdir (Abd-Elgawad 2020). *Globodera* cinsine ait 13 tür içerisinde, 2 tanesi (*G. rostochiensis*, *G. pallida*) en yaygın ve ekonomik önem seviyesi yüksek patates kist nematod türleridir. *Globodera ellingtonae*, *G. leptonepia* ve *G. capensis* türleri patatesten tespit edilmiş ancak patojenitesi ve konukçu aralığı üzerine daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır (Subbotin vd 2010; Abd-Elgawad 2020).

2.2.1. *Globodera rostochiensis* ve *Globodera pallida* türlerine ait genel bilgiler

2.2.1.1. Biyolojisi, zararı ve mücadelesi

Patates kist nematodları (PKN), obligat endoparazit canlılar olup dört larva dönemi geçirdikten sonra olgun bireyler haline gelirler. PKN'lerinin ilk deri değişimleri kistin içerisindeki yumurtalarında meydana gelir. Dormant ikinci dönem larvalar (J₂) yaşam döngülerinin bu evresinde spesifik konukçusunu bekleyerek geçirirler (Perry 2002; Sobczak ve Golinowski 2011). Toprak sıcaklığının 13°C üzerinde seyretmesi ve konukçunun çıkardığı kimyasallarca uyarıldıklarında kistler açılır. Yumurtalarından çıkan J₂'ler konukçusuna yönelirler (Perry 2002; Kaczmarek vd. 2014). Konukçusunun köküne penetre eden J₂'ler, beslenme yerini bulmak için yıkıcı bir şekilde hücrelerden geçerek korteksin iç bölümüne ulaşırlar. Bu aşamada nematodun davranışlarında değişiklik gözlenir. Nematod bir hücreye stiletini sokarak, hücreden gelecek tepkiyi bekler. Eğer protoplast çökerse veya stilet kallus benzeri bir madde ile kaplanmaya başlarsa, nematod stiletini geri çeker. Bu davranış, J₂'nin sondalamasına olumsuz yanıt vermeyen uygun bir hücre bulunana kadar tekrarlanır. Uygun bulunan ilk hücre sinsityal hücre (syncytium cell) haline gelir (Golinowski 1997). Çok çekirdekli büyük bir beslenme yapısı olan sinsityum plasmodesmata'da hücre duvarlarının çözünmesi ile

başlayıp ardından hücre protoplazmalarının birleşimi ile tamamlanır. İlk sinsityal hücreyi çevreleyen hücreler sinsityuma dahil edilir ve ardışık hücre katmanları sinsityumun bir parçası haline gelir. Ayrıca, DNA sentezi indüklenir ve metabolizma artar, bu durum nematod için zengin bir besin kaynağı sağlar. Nematod, bu beslenme bölgesinde birkaç hafta kalır ve yetişkin aşamaya geçinceye kadar 3 deri daha değiştirir. Dişiler, küresel şeklindeki gövdeleri kök yüzeyine çıkana kadar büyümeye devam eder, erkekler vermiform vücut yapısına ulaşarak kökleri terk eder ve dişileri bulmak için seks feromonlarını takip ederler. Döllenen sonra, dişi ölür ve vücut bronzlaşarak yeni nesil yumurtaları çevreleyen bir kist oluşturur (Sobczak ve Golinowski 2011; Jones vd. 2013)

Bu kistler, içerisindeki yumurta ve larvaların 20 yıldan daha fazla bir süre hayatta kalabilmesine imkân sağlamaktadır (Mburu 2020). Konukçusunun olmadığı her yıl larvaların %20-30 oranında azaldığı tespit edilmiştir (Turner 1996). *Globodera rostochiensis* ve *G. pallida*; bitkinin kök gelişimini kısıtlaması, yumru veriminde kayıplara yol açması nedeniyle patatesin dünya çapındaki üretiminde ciddi zararlar meydana getirmektedirler (Phillips 1998). Diğer bitki paraziti nematodlarda (BPN) olduğu gibi, PKN'nın enfeksiyonlarıyla ilişkili semptomlarda da su ve besin alımındaki azalmadan kaynaklı stres durumu ve köklerde yaralanmalar meydana gelmektedir (Abd-Elgawad 2020). Ayrıca, bitkide sararma, solma, yapraklarda ölümler, yumru boyutunun küçülmesi, köklerin aşırı bir şekilde dallanmasına neden olarak tarlada dağınık haldeki bitki öbekleri halinde gözlemlenmektedir (Abd-Elgawad ve Hasabo 1995; EPPO 2017). *Globodera rostochiensis* ve *G. pallida* enfeksiyonu yumruların kalitesini ve ticari değerini düşürmekte olup ayrıca bakteri ve fungus gibi patojenlerinde enfeksiyon oluşturmaya sebebiyet verirler (Lavrova vd. 2017). PKN'nın dünya patates üretiminde ortalama %9'dan fazla kayba yol açtığı düşünülmektedir (Turner ve Rowe 2006). Avrupa'da, PKN'nın neden olduğu verim kaybının 220 € milyon/yıl olduğu bu kayıpların, hafif düzeyden-ürünün tamamen kaybedilmesi arasında bulaşıklık düzeyine bağlı olarak değiştiği belirtilmiştir (Viaene 2016; Lima vd. 2018).

PKN'nın patatesteki ciddi zararlanmalara yol açması bu türleri dünya çapında önemli hale getirmiştir (Bulman ve Marshall 1997). Bu türlerin oluşturdukları ekonomik kayıpları önlemek için kültürel, fiziksel, biyolojik ve kimyasal mücadele yöntemleri tek başına ya da birbirine entegre edilerek uygulanmaktadır (Belair vd. 2016). PKN'na karşı ürün rotasyonu uygulamasının bir yılda ciddi oranda popülasyon düşüşü sağladığı yapılan araştırmalar ile ortaya konmuştur (Belair vd. 2016; Bairwa vd. 2017). Yapılan bir araştırmada ürün rotasyonuna dahil edilen bitki türlerinde kist sayısında farklı düşüşler gözlemlenmiştir. Bunun nedeni olarak ürün rotasyonuna sokulan bitkilerin kök salgılarının kistlerin açılmasını baskıladığı ya da toprakta önceden kalan patates salgıları nedeniyle kendiliğinden açılan kistlerdeki larvaları öldürdüğü düşünülmektedir (Bairwa vd. 2017). PKN'na karşı kültürel mücadele yöntemleri içerisinde dayanıklı çeşit kullanımı önemli bir yer sahibidir. Dayanıklı çeşit kullanımı; PKN'na karşı patatesleri korumanın en ekonomik ve çevre sağlığı açısından en güvenli yöntemi olduğu belirtilmektedir (EPPO 2004). Ancak, dayanıklılık sağlayan genin kullanımı, tarlada bulunan PKN'nun türüne ve patotipine göre değişmektedir. PKN'larına karşı dayanıklılık sağlayan birçok lokus tanımlanmıştır (Gebhardt ve Valkonen 2001). Kısmi dayanıklılık sağlayan QTL bölgeleri çoğunlukla bulunmakta olup, *Globodera* spp.'nin bir ya da birçok patotipine dayanıklılık sağlamaktadır. *Gpa2* geni *G. pallida*'nın Pa2 patotipine (Van Der Voort vd. 1997; Van Der Vossen vd. 2000), *H1* geni *G. rostochiensis*'in Ro1 ve Ro4 patotipine (Gebhardt vd.

1993; Pineda vd. 1993; Niewöhner vd. 1995; Bakker vd. 2004), *GroV1* geni *G. rostochiensis* Ro1 patotipine (Jacobs vd. 1996), *Gro1-4* geni *G. rostochiensis*'in Ro1 ve Ro5 patotipine (Paal vd. 2004) dayanıklılık sağlayan genlerdir. Patates yetiştiriciliğinin geniş alanlarda yapılması solarizasyon uygulamasını zorlaştırırsa da uygulamanın yapıldığı yerlerde önemli sonuçlar alınmıştır. Yapılan bir çalışmada PKN'lerinin çoğalma oranının solarizasyon uygulaması ile %29,9 oranında, sıgır gübresiyle birlikte kullanımında %25,4 oranında düşürüldüğünü belirlemişlerdir (El Hajji ve Horrigue-Raouani 2012). Çevre dostu yaklaşımların önem kazandığı son yıllarda PKN karşı mücadele yöntemleri içinde biyofumigasyon uygulamaları ve biyolojik ajanlar önem kazanmaktadır. (Seenivasan vd. 2007; Ngala vd. 2014). PKN'larına karşı biyolojik mücadelede kullanılmak üzere çeşitli fungal ve bakteriyel ajanların denemeleri yapılmış ve olumlu sonuçlar alındığı bildirilmiştir (Seenivasan vd. 2007; Trifonova 2010; Contina vd. 2017). Ancak, biyolojik ajanlarının tutarsız tarla performansları, yüksek üretim maliyetleri, yetiştiriciler arasında farkındalık eksikliği kullanımını sınırlandırmaktadır. Bu zorluklara rağmen raf ömürleri ve depolanmalarının iyileştirilmesi için yeni formülasyonların bulunması ve etkili yerli izolatların tanılanması, PKN'larına karşı patatesteki biyo-nemasitlerin gelecekteki pazar payını muhtemelen artıracığı düşünülmektedir (Abd-Elgawad 2020; Mhatre vd. 2022). PKN'larının kontrolü için en yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri kimyasal nematisitler olmuştur. Yapılan çeşitli çalışmalarda PKN'larına karşı nematisit uygulamalarının popülasyon yoğunluğunu düşürdüğü ve verimde artış sağladığı bildirilmiştir (Norshie vd. 2016; Kearn vd. 2017). Kimyasal nematisitlerin kullanımı PKN'nin yönetimi için etkili bir strateji olabilir, ancak birçok nematisit insan sağlığı ve çevre için toksik olduğu için kullanımları birçok ülkede yasaklanmış veya kısıtlanmıştır (Chitwood 2003).

2.2.1.2. Dünya ve Türkiye'deki yaygınlığı

Patates kist nematodları, Peru'nun güneyindeki And Dağları bölgesinden köken almış ve insanların faaliyetleri sonucunda dünyanın birçok bölgesine yayılmıştır (Grenier vd. 2010). Enfekteli yumrular ve üzerindeki topraklar aracılığıyla Avrupa'ya 16-17. yüzyıllarda geldiği düşünülen PKN'ları Avrupa'dan başka Güney Amerika, Kuzey Amerika, Asya, Okyanusya ve Afrika'nın patates yetiştirilen bölgelerinde tespit edilmiştir (Anonymous 3). PKN'ları dünyanın ılıman bölgelerinde genel olarak daha çok görülmekle birlikte, tropik ve subtropik bölgelerde de tespit edilmiştir (Abd-Elgawad 2020). *Globodera rostochiensis* ve *G. pallida* türleri Türkiye'nin de dahil olduğu 100'den fazla ülkede karantina kapsamındadır (EPPO 2017).

Türkiye'de patates kist nematodları (*Globodera* spp.) ilk kez Bolu ili Dörtdivan ilçesinde ithal tohumluk üretilen bir tarlada bulunmuş ve bölge karantinaya alınmıştır (Enneli ve Öztürk 1996).

Ulutaş (2010), Ege Bölgesi'ndeki patates alanlarından 2006-2008 yılları arasında yaptıkları sürvey çalışmasında *G. rostochiensis*'e ait popülasyonları İzmir ili Ödemiş ilçesinde tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Özarslandan vd. (2019), Nevşehir ilindeki patates yetiştirme alanlarından, 2014-2015 yılları bahar mevsimlerinde kist nematodu tespiti için aldıkları toprak örneklerinden

elde ettikleri kistlerin *G. rostochiensis* türüne ait olduğunu ve bu sonucun İç Anadolu Bölgesi için ilk kayıt olduğunu belirtmişlerdir.

Altaş vd. (2020), İzmir ili Bozdağ ve Ödemiş ilçelerindeki PKN tespiti için 2017-2018 yılları patates yetiştiriciliği sezonlarında elde ettikleri toprak örneklerinin %96'sının *G. rostochiensis* ile bulaşık olduğunu ayrıca, bulaşık alanlardaki ortalama kist sayısının 0,01-3,70 kist/g toprak olduğunu bildirmişlerdir.

Demirbaş Pehlivan (2020), 2015 yılında İzmir ili patates üretim alanlarında survey çalışmasında elde ettikleri 223 adet toprak örneğinden 32'sinin *G. rostochiensis* türüne ait olduğunu ve popülasyon yoğunluğunun 10 yumurta/g toprak ile ekonomik zarar eşiğinin üstünde olduğunu bildirmişlerdir.

Toktay vd. (2020), İzmir, Niğde ve Nevşehir illerinden topladıkları 35 toprak örneğinden, Niğde'de 18, İzmir'de 4 ve Nevşehir'de 3 adet popülasyonun *G. rostochiensis* türüne ait olduğunu bildirmişlerdir.

Evlice vd. (2021), Niğde, Nevşehir, İzmir, Afyon ve Bolu illerine ait 10 farklı lokasyondan PKN'a ait kist ve J₂'leri elde etmişlerdir. Her iki biyolojik dönemin morfolojik ve morfometrik karakterlerine göre teşhis çalışmalarının sonucunda popülasyonların *G. rostochiensis* türüne ait olduğunu bildirmişlerdir.

2.2.2. *Globodera rostochiensis* ve *Globodera pallida* türlerinin tanınması

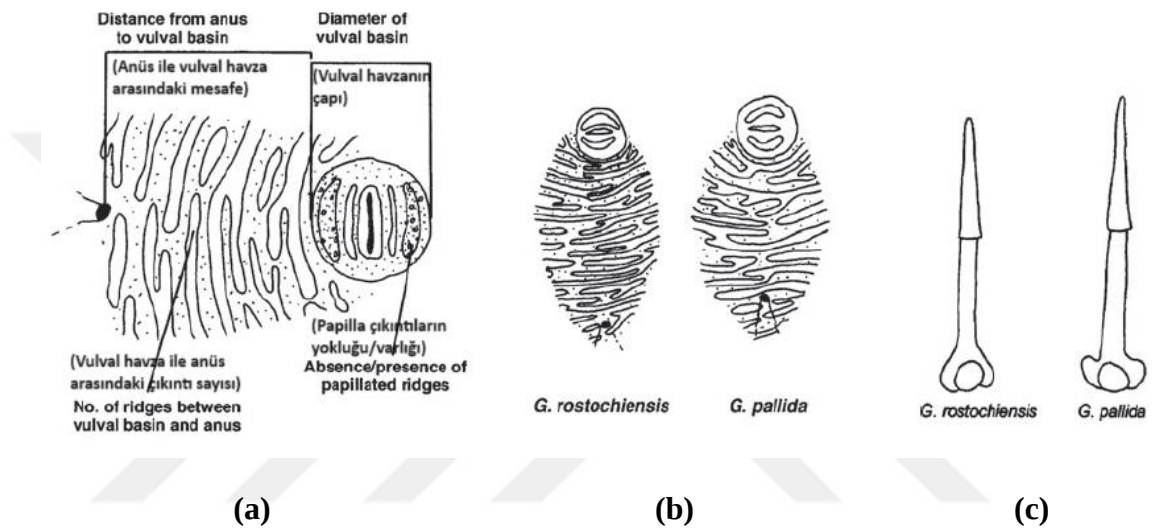
Morfolojik ve morfometrik ölçümler nematodların tanınmasında en yaygın kullanılan yöntemlerdir. Nematodların tanınmasında ilk kez ölçüm standartlarını belirleyen kişi De Man (1980) olmuştur. Nematodlar çeşitli vücut kısımlarının ölçülmesi ve belirli vücut kısımları arasındaki orantısal sonuçlara göre karakterize edilirler (Hooper 1986).

Globodera cinsine ait nematodlar karakteristik yuvarlak kistleri sayesinde Heteroderidae familyasında kist oluşturan diğer cinslerden açık bir şekilde ayırt edilebilmektedir (Den Nijs vd. 2019). Ayrıca, dişi bireylerin yaşam süresi boyunca renk değişimleri tür tanınmasında fikir vermektedir. Dişi bireylerin; beyazdan sarıya ardından kahverengiye dönüşmesi *G. rostochiensis*, beyazdan doğrudan kahverengiye dönüşmesi ise *G. pallida* türünü göstermektedir (EPPO 2013).

Globodera rostochiensis ve *G. pallida* morfolojik karakterleri ve morfometrik ölçümleri açısından oldukça benzer türlerdir (Stone 1973a, b) (Çizelge 2.1). Bu iki türün kistleri arasındaki en büyük tanısal farklılık; perinal alanları, vulva-anüs arasındaki sırt sayısı ve Granek's oranıdır (EPPO 2013) (Şekil 2.1).

Çizelge 2.1. *Globodera rostochiensis* ve *Globodera pallida* kistlerinin morfometrik ölçümleri (Subbotin vd. 2010)

Ölçümler	Kist	
	<i>Globodera rostochiensis</i>	<i>Globodera pallida</i>
Uzunluk (µm)	445 – 690	510 – 675
Genişlik (µm)	382 – 559	451 – 648
Kutikular sırt sayısı	17 – 20	12
Granek's oranı	3,0 – 4,5	2,1 – 2,5
Anus-fenestral kenar mesafesi (µm)	51 – 70	48 – 54



Şekil 2.1. Patates kist nematodlarının morfolojik görünüşleri **a)** *Globodera* tanılaması için perinal ölçümler **b)** *G. rostochiensis* ve *G. pallida* türlerinin vulva-anal sırt desenleri **c)** *G. rostochiensis* ve *G. pallida* türlerinin stiletleri (Fleming ve Powers 1998)

Bu iki türün J₂'lerinin karakteristik özellikleri; stilet uzunlukları ve stilet tokmaklarının şeklidir. Ancak, belirtilen bu özelliklerin her biri için değer aralığı türler arasında örtüşebilmektedir (EPPO 2013) (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. *Globodera rostochiensis* ve *Globodera pallida* türlerinin ikinci dönem larvalarının morfolojileri ve morfometrik ölçümleri (Subbotin vd. 2010)

Ölçümler	İkinci Dönem Larva (J ₂)	
	<i>Globodera rostochiensis</i>	<i>Globodera pallida</i>
Vücut uzunluğu(µm)	392 – 468	452 – 486
Stilet uzunluğu(µm)	20 – 22	23 – 24
Stilet tokmaç şekli	Yuvarlak (Rounded)	Öne doğru (Anteriorly prejected*)
Hiyalin bölgesi	20 – 27	26 – 27
Kuyruk uzunluğu (µm)	44 – 51	50 – 53

Günümüzde nematodların tanılanmasında yaygın olarak morfolojik ve morfometrik ölçümler kullanılmaktadır. Nematodların vücut yapı şekilleri ve bu yapıların aralarındaki ölçümler birlikte değerlendirilerek teşhisler yapılmaktadır (Hooper 1986). *Globodera* cinsindeki türlerin morfolojik tanılanmasında da kist ve J₂ kullanılmaktadır (Siddiqi 2000; Subbotin vd. 2010). Ancak, morfolojik tanılanmanın yoğun emek ve zaman gerektirmesi, uzman taksonomistlere ihtiyaç duyulması ve aynı zamanda nematod türleri arasında morfolojik karakterlerin ve morfometrik ölçümlerin çok yakın olması teşhislerde hatalara yol açabilmektedir (Hunt ve Handoo 2009; Oliveira vd. 2011). Bu nedenle başka bir tanılama yöntemi olan izoenzim fenotiplemesi kullanılarak *Globodera* türlerinin tanılanması için çeşitli çalışmalar yürütülmüştür (Fox ve Atkinson 1984, 1985). Fox ve Atkinson (1985) PKN'nin tanılanması üzerine yaptıkları çalışmada Avrupa'da tespit edilen *G. rostochiensis*'e ait Ro1, Ro2, Ro3, Ro4 ve Ro5 patotipleri ile *G. pallida*'ya ait Pa1, Pa2 ve Pa3 pathotipleri 65 adet enzimin izoelektrik odaklanma (IEF) uygulamasıyla elde edilen fenotiplerin polimorfizimlerini değerlendirmişlerdir. *Globodera rostochiensis* Ro3 patotipinin Glucose oxidase (ECA1.1.3.4) fenotipinde diğer patotiplere göre yüksek bir kantitatif varyasyon gösterdiğini bildirilmiştir. Ayrıca *G. rostochiensis* Ro4 ve Ro5 patotiplerinin Mannose phosphate isomerase (EC 5.3.1.8.) fenotiplerindeki bazı bantların diğer patotiplere göre absorbanlarında farklılık tespit edildiğini belirtmişlerdir.

De Boer vd. (1996) *G. rostochiensis* antijenlerinin fareler üzerinde bağışıklık kazandırılmasından sonra elde ettikleri monoklonal antikorların (MAbs), J₂'lerin bünyelerindeki özel yapılar ile etkileşimlerini floresan mikroskop ile taramışlardır. Subventral özağus bezlerine, vücut duvarlarındaki kas liflerine, genital promordium'a, bağırsak lümenine, hücre nükleusuna ve kutikula yüzeyine bağlanan MAb'ler elde edildiği belirtilmiştir. Subventral bezlere bağlanan MAb'ler *G. pallida* ve *G. tabacum* J₂'lerinde de tespit edildiği ancak *Heterodore glycines*, *H. schactii*, *Meloidogyne hapla* ve *M. incognita*'da türlerinde tespit edilemediği bildirilmiştir. İzoenzim analizlerinin türleri tanılamada yetersiz olması araştırmacıları moleküler tekniklerin kullanılmasına yönlendirmiştir.

Burrows and Perry (1988) *G. pallida* türünü tanılamak için kesilen fragmentlerin uzunluk farklılığı (Restriction Fragment Length Polymorphisms, RFLP) tekniğini kullanmışlardır. *Globodera pallida*'nın genomik DNA'sının klonlarından kütüphane oluşturarak bu kütüphaneden in situ hybridization tekniği ile *G. pallida*'ya özgü fragmentler içeren rekombinant kolonileri seçmişlerdir. *Globodera pallida*'ya özgü klonlardan kimerik plazmitler hazırlayarak dot blot hybridization tekniğine tabi tutmuşlar ve Pa15 ve P16 klonlarından tasarladıkları kimerik plazmitlerin *G. pallida* genomu ile eşleşirken *G. rostochiensis* genomu ile eşleşmediklerini bildirmişlerdir.

Bulman ve Marshall (1997), *G. rostochiensis* ve *G. pallida* türlerini moleküler düzeyde tanılamak için türe özgü PCR primerleri geliştirmişlerdir. ITS1 (Internal Transcribed Spacer) bölgesindeki sekans farklılıklarına göre tasarladıkları primerler (PITSr3 ve PITSp4) ile daha önceden dizayn edilen ITS5 primeri (White vd. 1990) ile kombinasyon yaparak iki türü birbirlerinden ayırmışlardır.

Fullaondo vd. (1999), *G. rostochiensis* ve *G. pallida*'nın Avrupa ve Güney Amerika'ya ait 39 popülasyonu üzerinde rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD) tekniğini kullanarak her tür için spesifik bantları tespit etmişlerdir. Bu bantlardan klonlama ve sekanslama işlemleri sonrasında türe özgü

PCR primerleri tasarlamışlardır. Türlerin karışık olduğu örneklerde test ettikleri primerlerinin doğru bir şekilde çalıştıklarını bildirmişlerdir.

Zouhar vd. (2000), *G. rostochiensis* ve *G. pallida* türlerini tanılamak ve birbirlerinden ayırt edebilmek için ITS1 bölgesi ile 5.8S ribozomal RNA gen bölgesi arasından türe özgü PCR primerleri geliştirmişlerdir. Çalışmalarının tek bir kist ve tek bir olgun yumurta ile tanılama yapılabildiğini bildirmişlerdir.

Vejl vd. (2002), *G. rostochiensis* ve *G. pallida* türlerinin tanılanması için sekans bilgileri daha önceden bilinen ITS-1 bölgesinden türe özgü primerler (Fro1-Rro1 ve Fpa2-Rpa1) dizayn etmişlerdir. *G. rostochiensis* için geliştirdikleri primerlerin (Fro1-Rro1) 411 bp'de bant verirken, *G. pallida*'yı tanılayan (Fpa2-Rpa1) primerlerin 239 bp'lik bir ürün oluşturdıklarını bildirmişlerdir.

Bates vd. (2002), *G. rostochiensis* ve *G. pallida*'nın tanılanması için daha önce geliştirilen spesifik primerleri PITSr3 ve PITSp4 (Bullman and Marshall 1997) ile ITS5 primerini (White vd 1990) SYBR Green I boyası kullanarak real time PCR yapmışlardır. Her bir türün floresan ölçümleri sayesinde pig noktalarındaki bağımsız erime sıcaklıklarına (T_m) göre ayırt edebildiklerini ve türlerin farklı kist karışım oranlarının erime sıcaklıklarını hesaplayarak yarı-nicel ölçüm yapabildiklerini bildirmişlerdir.

Madani vd. (2005), *G. pallida* türünü; spesifik primerler PITSr3 ve PITSp4 ile ITS5 primeriyle birlikte ve SYBR green I boyası kullanarak erime eğrisi analizi ile bir adet J_2 'den tanılayabildiklerini bildirmişlerdir.

Toyota vd. (2008), *G. rostochiensis* türünü ITS1 bölgesinden tasarladıkları PCN280f ve PCN398r primerlerini Real Time PCR'da SYBR boyası kullanarak tanılamışlardır. Ayrıca yaptıkları hassasiyet çalışmalarında 1 adet *G. rostochiensis* J_2 larvasını 1000 adet *Caenorhabditis elegans* karışımı içerisinde tespit edebildiklerini bildirmişlerdir.

Nowaczyk vd. (2008), *G. rostochiensis* ve *G. artemisiae* türlerini tanılamak için rDNA'daki dizilim bilgisini kullanarak spesifik primerler ve TaqMan problemleri geliştirmişler ve Real-time cihazında yaptıkları denemelerde bu iki türü ayrı ayrı ve birlikte tek bir türü tanılayacak şekilde optimize etmişlerdir. Ayrıca, ezilmiş bir kistten DNA izolasyonu yapmadan bu türleri tanılayabildiklerini bildirmişlerdir.

Gamel vd. (2017), *G. rostochiensis*, *G. pallida* ve *H. schachtii* türlerini tanılamak için her tür için mikrosatelit kümeler taranarak primerler ve TaqMan problemleri geliştirmişlerdir. *G. rostochiensis* ve *G. pallida* türlerini bir adet J_2 'den tanılayabildiklerini ve ayrıca bu üç türün birlikte karışımından her türün tanılabildiğini belirtmişlerdir.

Ahuja vd. (2021), *G. rostochiensis* türünü LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplification) yöntemine göre ribozomal DNA'nın ITS bölgesinden dizayn ettikleri beş adet spesifik primer ile tanılamışlardır. Yapmış oldukları çalışmada BPN (*Hoplolaimus* sp., *Helicotylenchus* sp., *Pratylenchus* sp., *Xiphinema* sp., *Longidorus* sp., *Trichodorus* sp.) ve EPN (*Steinernema* sp. and *Heterorhabditis* sp.)'dan *G. rostochiensis*'i ayırt edebildiklerini bildirmişlerdir. Reaksiyonun gerçekleştiği tüplerde gün ışığında negatif

örneklerin kahverengi, DNA sentezinin olduğu pozitif örneklerin ise sarı renk ile gözlendiği bildirilmiştir. Ayrıca yaptıkları hassasiyet çalışmalarında yaklaşık 1 femtogram DNA'nın teşhis için yeterli olduğunu belirtmişlerdir.

Camacho vd. (2021), *G. pallida* türünü LAMP yöntemine göre 18S-ITS1-5.8S-ITS2-28S bölgesinden dizayn ettikleri primerler ile tanılamışlardır. Yaptıkları çalışmada analiz süresinin 40 dk'dan daha kısa bir sürede tamamlanabildiğini ve tek bir J₂ ile *G. pallida* türünün tanımlanabildiğini belirtmişlerdir. Ayrıca hassasiyet çalışmalarında 5 ng/μL ile 5 pg/μL arasındaki tüm dilüsyonlarda türün tespit edildiğini ve hedef organizma olmayan *G. rostochiensis*'in 40 J₂ karışımı içerisinde 1 adet *G. pallida* J₂ (Max 1:40) tanımlanabildiğini bildirmişlerdir.

2.3. Kök-ur Nematodlarının Türleri ve Tanılama Süreci

Kök-ur nematodları; Nematoda şubesinin, Secernentea sınıfındaki, Tylenchida takımında bulunan Meloidogynidae familyasındaki *Meloidogyne* cinsinde yer almaktadır (Hunt 1993; Siddiqi 2000). Günümüze kadar kök-ur nematodlarının 105 adet türü tespit edilmiş olup, en yaygın türleri *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. hapla*'dır (Moens vd. 2009; Ghaderi ve Karssen 2020).

Türkiye'de yapılan tür teşhis çalışmalarında ise *M. incognita*, *M. incognita* var. *acrita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. chitwoodi*, *Meloidogyne artiellia* Franklin 1961, *M. luci*, *Meloidogyne exigua* Goeldi 1892, *Meloidogyne thamesi* Chitwood in Chitwood, Specht ve Havis, 1952 (Goodey, 1963) ve *Meloidogyne graminis* (Sledge ve Golden, 1964) Whitehead, 1968 türleri tespit edilmiştir (Diker 1959; Alkan 1962; Bora 1970; Ertürk ve Özkut 1973; Özarslandan vd. 2009; Kepenekçi vd. 2014; İmren vd. 2014; Aydınlı 2018; Uysal vd. 2023).

Meloidogyne Goeldi, 1892 cinsinin taksonomik geçmişi üç periyota ayrılmıştır. İlk periyot 1855-1878 yıllarını kapsamaktadır. Bu dönem, bitkilerin köklerindeki urlar ile nematodlar arasında korelasyonun gözlemlendiği ardından uzunca bir süre kafa karışıklığı içinde geçen bir periyot olmuştur. Kök-ur nematodları 1855 yılından önce bitkilerin köklerinde görülen urlar ile rapor edilse de nedeni bilinmeyen sebeplerden ve diğer organizmalardan kaynaklandığı düşünülerek üzerine gidilmemiştir. Ancak 1855 yılında Miles Joseph Berkeley, İngiltere'nin Nuneham bölgesindeki bir serada hıyar bitkilerinin köklerinde oluşan urları ilk kez kök-ur nematodlarıyla ilişkilendirmiştir. İkinci periyot 1879-1948 yılları dönemidir. Fransız Maxime Cornou tarafından 1879 yılında kök-ur nematodları ilk kez Avrupa'da tespit edilmiştir. Araştırmacı Loire vadisinde *Onobrychis sativa* Lam. (korunga) kökleri üzerinde urları belirlemiştir. Bu periyot farklı nematod türlerinin tespit edildiği ve kök-ur nematodlarının kist nematodları ile aynı cins içerisinde tanımlandığı dönem olmuştur. Son periyot ise kök-ur nematodlarının ayrı bir cinse yerleştirildiği, türlerinin tanımlandığı ve taksonomik makalelerin sayısında patlama yaşandığı canlanma dönemidir (Karssen 2002).

Kök-ur nematodlarının patatesteki zararı ilk kez 1889 yılında Florida'da belirlenmiştir (Neal 1889). Genel olarak kök-ur nematodları patatesten en yüksek potansiyellerine sıcak iklimlerde ulaşmaktadırlar. Ancak bazı türleri soğuk iklimlere

adapte olarak patates üretim alanlarında ciddi zararlar meydana getirmişlerdir (Brodie 1998). Bu türlerden birisi Kuzey kök-ur nematodu olarak da adlandırılan *M. hapla* olup ilk olarak Long Island'da (New York, ABD) bir patates tarlasında tanılanmıştır (Chitwood 1949). Bu kök-ur nematod türü soğuğa dayanabildiği için ılıman bölgelerde görülen en önemli türlerden birisidir (Rusique 2022). Patateste zarar yapan bir diğer önemli tür ise *M. chitwoodi*'dir. Bu tür ilk kez 1980 yılında Quincy'de (Washington, ABD) toplanan patateslerde tespit edilmiştir (Golden vd. 1980). Bu tür EPPO bölgesinde 1980'lerde Hollanda'da tanılanmasına rağmen eski örneklerin gözden geçirilmesi sonucunda bu türün daha eskilere dayanabileceği (1930) ve aradan geçen süre boyunca mevcut olabileceği belirtilmiştir (EPPO 1991).

2.3.1. *Meloidogyne hapla* ve *Meloidogyne chitwoodi* türlerine ait genel bilgiler

2.3.1.1. Biyolojisi, zararı ve mücadelesi

Meloidogyne türleri zorunlu endoparazit bitki parazitleridir. Kök-ur nematodları yumurta ile çoğalır ve dört larva dönemi geçirdikten sonra ergin hale gelirler. Olgun dişiler, yumurtalarını rektal bezlerinden salgıladıkları koruyucu jelatinmsi matrix içerisinde yumurta kümesi halinde taşırlar (Williamson 1998; Siddiqi 2000; Curtis 2007; Abad ve Williamson 2010). Yumurta kümeleri bitki köklerinin yüzeyinde bulunmakla birlikte urlarda ya da bitki dokularında (patates yumruları gibi) gömülü halde bulunabilirler. Yumurta kümeleri 1000'e yakın J₂ içerebilir (Jones 2013). Kök-ur nematodları birinci larva dönemini (J₁) yumurta içinde geçirmekte olup, enfektif olduğu J₂ ise yumurta içinden çıkmaktadırlar (Siddiqi 2000; Abad ve Williamson 2010). İkinci dönem larvalar genellikle kök ucunun arkasından bitkiye penetre ederler. J₂'ler penetrasyonunu kolaylaştırmak için stiletlerini hem fiziksel hasar hem de hücre duvarının selülotik ve pektolitik enzimler salgılayarak parçalanması için kullanırlar (Jones 2013). Bitki köküne giriş yapan J₂'ler hücreler arasında hareket ederek kök ucuna yönelirler. Bu bölgeden meristem dokuya geçerek floem boyunca yukarı doğru ilerleyerek beslenme bölgesine ulaşırlar (Wyss vd. 1992). J₂'ler beslenmeye başladıktan sonra kendilerini sabitletler ve beslenmeleri sonucunda dev hücrelerin meydana gelmesine yol açarlar (Williamson 1998, Abad ve Williamson 2010). Kök yüzeyinde oluşan şişkinlikler ur ya da gal olarak adlandırılmakta olup, bu yapılar dev hücrelerde hiperplasma sonucunda oluşmaktadır (Williamson ve Hussey 1996). Kök-ur nematodları J₃ ve J₄ dönemlerinde iplik şeklini kaybederek şişmeye başlar aynı zamanda stilet fonksiyonlarını kaybettikleri için beslenmeleri de bitmektedir (Siddiqi 2000; Karssen 2002; Jones vd. 2013). Erkek bireyler ipliksi şekillerini alarak kökten ayrılırlar. Ergin dişiler beslenmeye ve genişlemeye devam ederek armut şeklini alırlar (Jones vd. 2013).

Kök-ur nematodları dengesiz cinsiyet oranlarına sahiptirler. Amphimixis'ten zorunlu mitotik partenogeneze kadar değişen olağanüstü çeşitlilikte üreme stratejileri gösterirler. Çoğu tür partenogenetiktir ve erkekler yalnızca olumsuz koşullar altında oluşur (Chitwood ve Perry 2009; Jones vd. 2013). *Meloidogyne* türleri yaşam döngülerini çevre koşullarına bağlı olarak 3-6 hafta arasında tamamlarlar (Abad ve Williamson 2010). Kök-ur nematodlarının döl sayısı; türe, toprak sıcaklığına ve yapısına, konukçuya ve besin ihtiyacının karşılanabilmesine bağlıdır (Karssen ve Moens 2006).

Meloidogyne türleri 3000'den fazla bitkiye zarar verebilmektedirler (Abad vd. 2003; Karssen ve Moens 2006). Bu bitkiler içerisinde bulunan patatesin de verimini, kalitesini ve ekonomik değerini etkilemektedirler. Çoğu zaman, kök-ur nematodlarının patatesin kök sistemini istila etmesi zararsızdır, ancak yumrular gelişmeye başlar başlamaz, enfektif J₂ tarafından istila edilerek hızlı bir gelişme ve yayılma meydana gelir. Patates kökleri ve yumruları erken enfekte olursa, hasattan önce birkaç jenerasyon oluşturabilir. Bu süre genellikle dikimden yaklaşık 110 gün sonrasına denk gelmektedir (Jones vd. 2017). Ancak bu süre, her bir çeşide ve yönetim sistemlerine bağlı olarak değişebilir. Daha sıcak bölgelerde veya sulama sistemi olan kumlu topraklarda patates üretimi, kök-ur nematodları için sıcaklık, toprak yapısı ve nem açısından uygun bir durum oluşturursa enfeksiyonların şiddetinde önemli bir artışa yol açabilmektedir (Jones vd. 2017). Kök-ur nematod enfeksiyonunun neden olduğu kayıplar aşırı durumlarda patates tarlalarında %100'e ulaşabilir. Ayrıca, ekim mevsimi ve toprağın bulaşıklık seviyesinin bir sonucu olarak değişken kayıplar meydana gelir (Gomes 2003).

Kök-ur nematod türleri tropik ve subtropik bölgelerde yetiştirilen patateslerle ilişkili olarak giderek daha fazla tespit edilmektedir. Bu nematod türleri; çeşitlere, uygun iklime ve ekim sırasında mevcut nematod yoğunluğuna bağlı olarak ekonomik önemde ürün kayıplarına neden olmaktadır (Brodie vd. 1993; Vovlas vd. 2005; Moens vd. 2009; Wesemael vd. 2011; Jones vd. 2013; Onkendi ve Moleleki 2013). Çeşitli kök-ur nematod türlerin, dünya çapında çeşitli bölgelerde patates yetiştiriciliği için artan sorunlar olduğu bildirilmiş olup en önemlileri *M. chitwoodi*, *M. hapla*, *M. fallax*, *M. incognita*, *M. javanica* ve *M. arenaria* türleridir (Brodie vd. 1993; Molendijk ve Mulder 1996; Vovlas vd. 2005; Onkendi ve Moleleki 2013; Hay vd. 2016).

Kök-ur nematodlarının patates bitkisinde beslenmeleri sonucunda; yumru miktarında azalmalara ve yumru yüzeyinde kabarcıklı yapı oluşmasına ve yumurta kümelerinin dokularda yol açtığı nekrotik noktalar nedeniyle yumru kalitesinde düşüşe neden olmaktadır (Vovlas vd. 2005). Patateste zarara neden olan kök-ur nematodları içerisinde *M. chitwoodi* ve *M. hapla* türleri ön plana çıkmaktadır. Bununla birlikte, *M. chitwoodi* türünün daha düşük sıcaklıklarda yumurtadan çıkabilmesi ve popülasyonlarının tek bir büyüme mevsiminde hızla artmasından dolayı patates üretiminde daha büyük bir tehdit olduğu belirtilmiştir (Anderson ve Gleason 2023). Ayrıca *M. chitwoodi* patateslerde *M. hapla*'ya kıyasla daha görünür kabuklanmalara neden olmaktadır (Pinkerton vd. 1991; Ingham vd. 2000). Yapılan araştırmalarda yetiştirme sezonu başlangıcında *M. chitwoodi* popülasyonun 1 J₂/250 gr toprakta ve *M. hapla*'nın 50 J₂/100 gr toprakta zarar eşiğinin üzerinde kayıp verdiği bildirilmiştir (Ingram vd. 2000; Markova ve Samaliev 2011). Kök-ur nematodlarının dünya çapında yaygın ve geniş konukçu yelpazesine sahip olması bu gruba ait türlerin mücadelesindeki zorluklarını göstermektedir (Wesemael vd. 2011). Kök-ur nematodlarının tamamen ortadan kaldırması imkânsız olsa da verimli üretimin sürdürülebilmesi için popülasyonunun azaltılması kritik öneme sahiptir (Baidya vd. 2017). Kök-ur nematodlarına karşı ekim nöbeti uygulamaları, tüm dünyada kullanılan yöntemlerden birisidir (Sikora vd. 2005). Ancak bu grubun geniş konukçu dağılımı nedeniyle doğru bitki seçilmesi oldukça zordur. *Meloidogyne chitwoodi*'ye karşı dayanıklı patates çeşitlerinin elde edilmesiyle ilgili birçok araştırma yapılmıştır (Brown vd. 1989; Janssen vd. 1998; Van Der Beek vd. 1998; Brown vd. 2004). Yapılan çalışmalarda dayanıklılık sağlayan genlerinin tespiti, markörlerin geliştirilmesi ve tarla denemelerinin yapılması

şeklinde gerçekleştirilmiştir. (Zhang vd. 2007; Brown vd. 2009; Norshie vd. 2011; Dinh vd. 2014). Bu türe karşı kimyasal mücadele yönteminin başarılı olduğu yapılan araştırmalarda ortaya konmuştur (Ingham 2000; Hafez ve Sundararaj 2006). Ancak çevresel endişelerden dolayı nematisitlerin kullanımına yönelik belirli düzenlemeler getirilmiştir. Nematodlarla mücadelede esas olan nokta temiz alanlara bulaştırılmamasıdır. *Meloidogyne* larvalarının kendi hareketleriyle yılda 1-2 metre yol alabilecekleri bilinmektedir (Tiilikkala vd. 1995). Patateste zarar yapan bu önemli iki türünde insan yoluyla dağılımı doğal yollarla dağılımına göre çok daha önemlidir. Üreticilerin sertifikalı olmayan tohumluk kullanmaları, bulaşık alanlardan gelen alet ekipmanların kullanımı bu zararlıları uzak mesafelere taşınmasına sebebiyet vermektedir.

2.3.1.2. Dünya ve Türkiye'deki yaygınlığı

Meloidogyne hapla, son derece geniş bir alanda dağılım göstermiş olup, özellikle ılıman bölgeler ile tropiklerin daha soğuk, daha yüksek rakımlı alanlarında görülmektedir ve dünyanın 81 ülkesinde varlığı rapor edilmiştir (Anonymous 4). *Meloidogyne chitwoodi* resmi olarak 1980 yılında Quincy, Washington, ABD'deki patateslerde tespit edilmiştir (Golden vd. 1980). Günümüzde Türkiye'nin de dahil olduğu 25 ülkede varlığı rapor edilmiştir (Anonymous 5).

Türkiye'de patateste kök-ur nematodları ilk kez Manisa ilinde tespit edilmiştir. Ancak araştırmacılar kök-ur nematodunun türü hakkında bilgi vermemişlerdir (Borazancı vd. 1985). *Meloidogyne hapla*'nın patateste ilk tespiti ise 2005 yılında Niğde ilinde gerçekleşmiştir. Araştırmacılar patates alanlarından aldıkları toprak, kök ve yumru örneklerinde kök-ur nematodu enfeksiyonu belirlemişlerdir. Uurlu yumrulardan elde ettikleri dişi bireylerin perinal kesitlerini değerlendirdiklerinde zararlının *M. hapla* türüne ait olduğunu bildirmişlerdir (Özarslandan vd. 2005).

Kepenekçi vd. (2006) Niğde, Nevşehir ve Aksaray'daki patates üretim alanlarında kök-ur nematodu ile bulaşık yumrulardan elde ettikleri olgun dişi bireylerin perinal desenlerine göre yaptıkları tanılama çalışmalarında türün *M. hapla*'ya ait olduğunu bildirmişlerdir.

Özarslandan vd. (2007) Türkiye'de ilk kez *M. chitwoodi* 2006 yılında Niğde'de patates yetiştiriciliği yapılan alanlardan alınan örneklerin morfolojik ve moleküler yöntemler kullanarak tanılamışlardır.

Devran vd. (2009) Niğde ilinde patates yetiştirilen 12 farklı lokasyondan aldıkları kök-ur nematod popülasyonlarının moleküler tanılama yöntemlerine göre *M. chitwoodi* türüne ait olduğunu bildirmişlerdir.

Özarslandan ve Elekçioğlu (2010) Niğde ve Nevşehir illerindeki patates üretim alanlarından elde ettikleri kök-ur nematodu popülasyonlarının morfolojik ve moleküler teşhis yöntemlerine göre *M. chitwoodi* türüne ait olduğunu belirtmişlerdir.

Ulutaş (2010) Ege Bölgesindeki patates üretim alanlarındaki bitki paraziti nematodlar üzerine survey çalışmaları sonucu; Balıkesir ili Ayvalık ilçesinde, Kütahya ili

Merkez ve Şaphane ilçelerinde, Manisa ili Demirci, Gördes, Salihli ve Selendi ilçelerinde kök-ur nematodu popülasyonları elde etmişler ve bunların *M. chitwoodi* türüne ait olduklarını bildirmişlerdir.

Yıldız vd. (2009) İzmir ili Ödemiş ilçesindeki patates yetiştiriciliği yapılan alanlardan aldıkları 29 adet toprak örneğinin 11 tanesinin kök-ur nematodu ile bulaşık olduğunu ve moleküler yöntemler kullanarak yapılan tanılama sonucuna göre tüm örneklerin *M. chitwoodi* olduğunu belirtmişlerdir.

Özarslandan vd. (2013) Bitlis ili Ahlat ilçesindeki patates yetiştirilen alanlarda kök-ur nematodu enfekteli yumrular tespit etmişler yaptıkları morfolojik ve moleküler teşhis çalışmaları sonrasında enfekteli yumrulardaki kök-ur nematodu türünün *M. chitwoodi* olduğunu bildirmişler. Bu sonucun Doğu Anadolu Bölgesindeki patates üretim alanlarında *M. chitwoodi* türünün ilk kez bulunduğunu bildirmişlerdir.

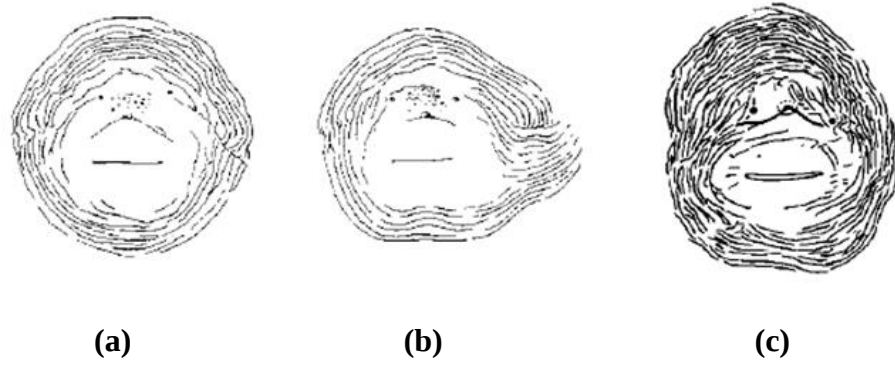
Evlice ve Bayram (2016) İç Anadolu Bölgesindeki patates üretim alanlarındaki *Meloidogyne* türlerini belirlemek için yaptıkları sürvey çalışması sonucu, Niğde (49), Nevşehir (18), Aksaray (2), Isparta (2), Kayseri (1), Konya (1) illerinden toplam 79 adet örnek toplamışlar ve morfolojik ve moleküler teşhis çalışmaları sonucunda tüm örneklerin *M. chitwoodi* türü ile bulaşık olduklarını belirlemişlerdir.

Demirbaş Pehlivan (2020) İzmir ilinin patates üretimi yapılan çalışmaları sonucu elde etmiş olduğu J₂ bireylerinin morfometrik ölçümleri ve PCR çalışmaları sonucunda Ödemiş ilçesinde *M. hapla* ve *M. chitwoodi* türünün, Kiraz ilçesinde ise sadece *M. hapla* türünün bulunduğunu belirtmiştir.

Evlice (2021) 2018-2019 yılları arasında yürüttüğü çalışmada Afyonkarahisar (149), Aksaray (69), Bolu (94), Kayseri (94), Konya (127), Nevşehir (91), Niğde (226) ve Sivas (77) illerinden topladığı 927 adet toprak örneğinden 84'ünün *Meloidogyne* spp. ile bulaşık olduğunu belirtmiştir. Elde ettiği popülasyonları türe özgü primerler ile taradığında; Aksaray, Nevşehir ve Niğde illerinde *M. hapla* ve *M. chitwoodi* türlerinin bulunduğunu Kayseri ilinde ise sadece *M. chitwoodi* türünün tespit edildiğini bildirmiştir.

2.3.2. *Meloidogyne hapla* ve *Meloidogyne chitwoodi*'nin tanınması

Meloidogyne türlerinin teşhisinde en sık kullanılan karakter, yetişkin dişilerin arka vücut bölgesinde yer alan perineal modelin morfolojisidir. Bu bölge; vulva-anüs alanını (perine), kuyruk ucunu, fazmit (phasmid), yanıl çizgileri ve çevreleyen kutiküler çizgileri içermektedir (Hunt ve Handoo 2009) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. (a. ve b.) *Meloidogyne hapla*'nın perinal kesiti c) *Meloidogyne chitwoodi*'nin perinal kesiti (Hunt ve Handoo 2009)

Meloidogyne türlerinin teşhisinde dişi ve ikinci dönem larvaların morfometrik ve allometrik ölçüm kriterlerinin standart formülizasyonu belirlenmiştir. (Siddiqi 2000). Standart formüle göre yapılan farklı çalışmalarda ikinci dönem larva ölçümleri ortaya konulmuştur (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. *Meloidogyne chitwoodi* ile *Meloidogyne hapla* J₂ morfometrik ölçümleri (Whitehead 1968; Golden vd. 1980)

<i>Meloidogyne chitwoodi</i> J ₂ Morfometrik Karakterleri	Golden vd. (1980) Ölçümleri (J ₂ ölçüm birimi (µm) ve standart hata (min-max) (±))
Stilet Uzunluğu	9,9 ± 0.3 (9,0 – 10,3)
Dorsal oesophageal gland (DGO)	3,2 ± 0.2 (2,6 – 3,9)
Kuyruk Uzunluğu	43,0 ± 1.8 (39,0 – 47,0)
Hyaline terminus	11,0 ± 1.0 (8,6 – 13,8)
Vücut Uzunluğu (L)	390,0 ± 16.0 (336,0 – 417,0)
a	27,5 ± 1.2 (24,5 – 29,8)
c	8,9 ± 0.4 (7,9 – 9,6)
<i>Meloidogyne hapla</i>	Whitehead (1968)
Stilet uzunluğu	9,7 ± 0.92 (7,9 – 10,9)
Kuyruk uzunluğu	43,0 ± 4.0 (33,0 – 48,0)
Vücut uzunluğu (L)	337,0 ± 11.4 (312,0 – 355,0)
a	23,9 ± 1.7 (20,1 – 26,6)
c	7,9 ± 0.2 (7,3 – 10,2)

a: Vücut uzunluğu / vücut genişliği, c: Vücut uzunluğu / kuyruk uzunluğu

Kök-ur nematodlarının mikroskobik inceleme yapılarak tanınması zor olup çok büyük deneyim ve taksonomik bilgi gerektirmektedir. (Sapkota 2016). Ayrıca morfolojik karakterlere bağlı olarak yapılan tanılama oldukça zaman almakta ve farklı özelliklerin yakınlığından dolayı türler karıştırılabilmektedir (Devran 2002).

Nematodların morfolojik tanınmasından kaynaklanan zorluklar nedeniyle farklı tanılama metodları geliştirilmiştir. Bu metodlardan birisi izoenzim fenotiplemesidir. 1971’li yıllarda *Meloidogyne* türlerinin tanınması için başlayan çalışmalarda belirli bir

Meloidogyne türünün belirli sayıda dışısından alınan ham proteinlerin poliakrilamid-jel elektroforezine tabi tutularak türe özgü enzim fenotipi tespit edilmeye çalışılmıştır. Yapılan çalışmalarda; esteraz, malat dehidrojenaz ve op-gliserofosfat dehidrojenaz fenotiplerinin, *Meloidogyne*'nin en yaygın dört türünün (*M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* ve *M. hapla*)'nın tanımlanmasında yararlı olduğuna dair güçlü bir işaret verdiği bildirilmiştir (Dickson vd. 1971; Hussey vd. 1972). Bu çalışmaların az sayıda popülasyonla yürütülmesi nedeniyle enzim fenotipleri ile *Meloidogyne* türleri arasında kurulan ilişkinin garanti olmadığına karar verilmiştir. Bu nedenle birkaç yıl sonra daha fazla sayıda *Meloidogyne* popülasyonu kullanılarak izoenzim çalışmaları genişletilmiştir (Berge vd. 1975; Dalmasso ve Berge 1978). Ayrıca aynı araştırmacılar akrilamid jel sistemini minyatürleştirerek 2-3 adet dişi bireye ait protein miktarının enzim fenotipi elde edilmesini sağlamışlardır. Ancak, bu sistemde enzimin bir jelden diğer jele göre elektroforetik hareketliliğinde önemli farklılıklar olduğu için araştırmacılar belirli bir enzimin fenotipini çıkarmak için birçok jeli değerlendirmek zorunda kalmışlardır. 1980'li yıllarda ince levha elektroforezisinin disk elektroforezinin yerini almasıyla tek bir dişinin enzim fenotipi çıkarılabildiği aynı zamanda birçok dişinin enzim fenotipi aynı jel üzerinde karşılaştırılabildiği bildirilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda özellikle esteraz enziminin *Meloidogyne* cinsindeki türlerin tanımlanmasında karakter olarak kullanılmasına dair en güçlü kanıt sağladığı bildirilmiştir (Janati vd. 1982). Daha sonra yapılan çalışmada Uluslararası *Meloidogyne* Projesi'nin desteğiyle çeşitli kıtalardaki 65 ülkeden, 16 *Meloidogyne* türünü temsil eden yaklaşık 300 popülasyon, dört enzim sistemi, yani spesifik olmayan esterazlar, malat dehidrojenaz, süperoksit dismutaz ve glutamat-oksaloasetat transaminaz fenotipleri açısından incelenmiştir (Esbenshade ve Triantaphyllou 1985). Yapılan çalışma sonucunda daha önceki çalışmalarda olduğu gibi esterazların ana türlerin tanımlanmasında en yararlı sonuçları verdiği bildirilmiştir. Yaklaşık olarak *M. hapla*'nın %94'ü, *M. incognita*'nın %98'i ve *M. javanica*'nın %100'ü, yalnızca esteraz fenotipleri temelinde tanımlanabildiği belirtilmiştir. Ayrıca, iki ilave esteraz fenotipinin, *M. arenaria*'yı %98-100 doğrulukla tanımladığı gösterilmiştir. Bazı durumlarda iki türün fenotiplerinin benzerliği nedeniyle tanımlamaların kesin olmadığı bildirilmiştir. Kombinasyon halinde düşünüldüğünde iki veya daha fazla enzimin fenotipleri, *Meloidogyne* türlerinin karakterizasyonu için daha da kesinlik sağlayabildiği belirtilmiştir. *M. hapla* ve *M. incognita*'nın esteraz fenotipinde elde edilen tek bant görüntüsü birbirine oldukça yakın olduğundan bu türler karıştırılabileceği düşünülmüştür. Bu iki türü ayırt etmek için Malat dehidrojenaz enzimi kullanılmıştır. Bu enzimin iki tür arasında oluşturduğu çarpıcı fenotipleri sayesinde türler rahatça birbirinden ayrılabilir (Esbenshade ve Triantaphyllou 1985). Yapılan bir diğer çalışmada da *Meloidogyne* türlerini ayırt etmede güvenilir olan ek enzimler değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda glukoz fosfat izomeraz *M. graminicola*'yı *M. chitwoodi*, *M. naasi*, *M. graminis*'ten; *M. hapla*'yı *M. microtyla*'dan; *M. incognita*'yı *M. microcephala*'dan ayırabildiğini, fumarat hidrataz ise *M. naasi*'yi *M. chitwoodi*'den ayırabildiği belirtilmiştir (Esbenshade ve Triantaphyllou 1987).

İzoenzimler, kök-ur nematodlarının dişi bireyleri üzerinden tür tanımlaması sağlayan güvenilir bir yöntemdir. Bununla birlikte bu yöntem J₂'leri tanımlayamaz. Başarılı bir tanımlama için genç, sağlıklı dişiler gerekmektedir. Arazi örnekleri olarak alınan topraklarda J₂ bulunduğu için izoenzim analizi yapılamaz. İzoenzim analizinin yapılabilmesi için bu larvalardan dişi kültürünün elde edilmesi gerekir (Williamson vd. 1997). Ayrıca proteinlerin hücresel ekspresyonu genellikle gelişimsel veya çevresel

etkilere dayanır ve tüm bireylerde veya nematod popülasyonlarında tek tip olarak bulunmayabilir (Hyman 1990).

DNA tabanlı tanılama yöntemleri, belirli bir dönemde bulunan dişi bireye bağlı kalmaması, genom ekspresyonu gibi değişkenlik göstermemesi ve çevresel etkilerden bağımsız çalışması sayesinde önem kazanmıştır (Zijlstra 1995).

Powers ve Harris (1993) *Meloidogyne* türlerini tanılamak için Cytochrome oxidase subunit II geni (COII) ile ribozomal 16s rRNA gen bölgesinden primerler dizayn etmişlerdir. PCR ile elde ettikleri ürünü çeşitli kesim enzimleri ile keserek ve jel elektroforezisinde yürüterek *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica*, *M. hapla*, and *M. chitwoodi* türlerinin tanılamalarını gerçekleştirmişlerdir.

Zijlstra vd. (1997) *M. chitwoodi* ve *M. hapla* türlerinin de dahil olduğu dört *Meloidogyne* türünün rDNA ITS bölgelerinin dizilim analizi sonucu ITS2 bölgesinde her bir türü tanılamak için büyük farklılıklar olduğunu tespit etmişler ve bu bölgeden tasarladıkları primerler ile *M. hapla* ve *M. chitwoodi* türlerini tanılamışlardır. Ayrıca tek bir J₂ DNA'sı ile bu türlerin tanılanabileceğini bildirmişlerdir.

Zijlstra (2000) *M. chitwoodi* ve *M. hapla* türlerinde de dahil olduğu çalışmada RAPD tekniği ile türe özgü fragmentler elde etmişler ve bu fragmentlerden elde ettikleri sekans bilgilerine göre SCAR primerleri tasarlamışlardır. Ayrıca, yaptıkları multiplex PCR çalışması sonucunda *M. chitwoodi*, *M. hapla* ve *M. fallax* türlerini birbirlerinden ayırt edebildiklerini bildirmişlerdir.

Wishart vd. (2002), *M. chitwoodi*, *M. hapla* ve *M. fallax* türlerini tanılamak için 5S ve 18S genleri arasındaki intergenik ayırıcı bölgeyi kullanarak türe özgü primerler geliştirmişler ve bu üç türü karışık halde ve tek bir larva üzerinden tanılayabildiklerini bildirmişlerdir.

Zijlstra ve Van Hoof (2006), *M. chitwoodi* ve *M. fallax* türlerini Real-time PCR'da tanılayabilmek için *Meloidogyne* spp.'nin rDNA-ITS2 bölgesindeki sekans bilgilerine göre primer ve TaqMan problemleri tasarlamışlardır. Çalışmalarında multiplex gerçek zamanlı PCR çalışmalarının 100 fg'lık DNA materyalini kolayca saptayabildiğini böylece standart bir PCR'den en az 10 kat daha hassas olduğunu bildirmişlerdir.

Dong vd. (2013) *M. hapla*'nın tarlada *Panax notoginseng* bitkisinde oluşturduğu zararı tespit etmek için DNA barkodlama yöntemi ile tanılamayı amaçlamışlardır. Bu amaçla *M. hapla*'yı ITS1 ve ITS2 bölgelerinden tasarladıkları iki çift spesifik primer ve SYBR Green boyası kullanarak karışık popülasyon içerisinde *M. hapla* türünü Real-time PCR ile ayırt edebildiklerini belirlemişlerdir. Ayrıca ITS1 ve ITS2 bölgelerindeki kopya sayısının, üç bahçedeki RKN sayılarına benzer bir eğilim sergilediğini belirtmişlerdir. Bu tespitin *M. hapla*'nın tarlalarda verdiği zararı belirlemek için kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Sapkota vd. (2016) *M. hapla*'yı rDNA 5.8S ve ITS2 bölgelerinden tasarladıkları bir çift primer ve TaqMan probu ile tanılamışlardır. Yaptıkları çalışmada topraktan direk DNA ekstraksiyonu yaparak bu türü teşhis edebildiklerini bildirmişlerdir. Toprakta DNA izolasyonun Real-time PCR cihazında hassasiyet denemelerinde; 100 gr toprakta

yaklaşık 125 yumurtanın tutarlı bir şekilde tespit edilebildiğini bu sayede *M. hapla* zarar düzeyinin toprak analizi yoluyla tahmin edebileceğini bildirmişlerdir.

Peng vd. (2017), *M. hapla* türünü tanılamak için LAMP yöntemini kullanmışlar ve bunun için ITS bölgesinden beş adet primeri tasarlamışlardır. LAMP yönteminin klasik PCR yöntemine göre 100 kat daha hassas bir tanılama sağladığını bildirmişlerdir.

Zhang ve Gleason (2019), LAMP yöntemine göre *M. chitwoodi* türünü tanılamak için IGS2-18S rDNA bölgesinden primer geliştirmişler ve LAMP yönteminin klasik PCR yöntemine göre 100 kat daha hassas olduğunu ve 45 dakika içerisinde analizin tamamlandığını bildirmişlerdir.

Anderson ve Gleason (2023) yaptıkları çalışmada *M. chitwoodi*, *M. fallax* ve *M. minor* türlerini tanılamak için primerleri ve moleküler beacons'ları *HSP90* bölgesinden tasarlamışlardır. Yaptıkları Real time PCR çalışması sonucunda üç türün karışık halde ve tek bir J₂ bireyi üzerinden eş zamanlı tanılanabildiğini bildirmişlerdir.

2.4. KASP (Kopetitive Allele-Specific PCR) Tekniği

Tek nükleotid polimorfizmi (SNP) belirteçleri, bireyler arasında en yaygın genetik varyasyonu göstermektedir ve son yıllarda birçok yöntem SNP temellidir. Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları ve melezleme uygulamaları gibi karmaşık genetik özelliklerin incelenme çalışmalarında tercih edilen bir sistemdir (He vd. 2014). SNP'lerin tüm organizmaların genomlarında fazlaca bulunmaları, düşük maliyetli olmaları, yüksek çıktı sağlaması ve diğer belirteçlere kıyasla nispeten düşük mutasyon oranları sayesinde bu SNP'ler ile üretilen belirteçlerin geliştirilmiş tarımsal ürünlerin ve bilimsel problemlerin çözümünde ideal adaylar haline getirmektedir (Zhao ve Boerwinkle 2002; Jenkins ve Gibson 2002; Zhang ve Gerstein 2003; Ragoussis 2006; Perkel 2008; Nijman vd. 2008; Ribaut vd. 2010; Delannay vd. 2012;).

KASP yöntemi, tek bir bialelik SNP'e özgü çoğaltılan ürünün tanılanması için iki floresan kasetin kullanılarak floresan rezonans enerji transferini (FRET) temel almaktadır (Suo vd. 2020). KASP yönteminde süreç alele özgü primerlerden birinin hedef SNP ile eşleşmesi ve ortak olan ters primer ile hedef bölgenin üretildiği PCR aşaması ile başlamaktadır. Bu faz sırasında flor etiketli oligolar, söndürücü etiketli tamamlayıcı oligolarına bağlı kalır ve floresan sinyali üretilmez. PCR süreci ilerledikçe üretilen alele karşılık gelen flor etiketli oligolardan biri de şablona dahil olur ve bu nedenle söndürücü etiketli tamamlayıcısına artık bağlı kalmaz. Flor artık söndürülmediği için uygun floresan sinyali üretilir (He vd. 2014).

Khanal vd. (2019), *Rotylenchulus reniformis*'in Louisiana, Mississippi, Arkansas, South Carolina, Georgia, Hawaii ve Alabama eyaletlerinden elde ettikleri 26 izolatının genetik çeşitliliklerini KASP tekniğini kullanarak taramışlardır. Bu amaçla yaptıkları çalışmada *R. reniformis* izolatlarının tüm genom ekstraksiyonu ve amplifikasyonu yapılarak 162'den fazla SNP tanılandığını bildirmişlerdir. Tespit ettikleri 162 SNP içerisinden belirledikleri 31 adet SNP bölgesinden primer setleri oluşturularak izolatların genomlarını taramışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre Louisiana, Mississippi ve

Arkansas izolatları arasında yedi adet SNP'in, South Carolina, Georgia, Hawaii ve Alabama izolatları arasında sekiz SNP'in genetik farklılık oluşturduğu bildirmişlerdir. Çalışmada tasarladıkları SNP markörlerinin *R. reniformis* türünün kökenini, genetik çeşitliliği ve dağılımını değerlendirmek için yararlı olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca ileride yapılacak dayanıklılık çalışmalarında elde ettikleri bilgilerin ve tasarladıkları markörlerin kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Devran ve Göknur (2020), KASP yöntemine göre *Aphelenchoides besseyi* türünü SSU rDNA bölgesinden tasarladıkları primerler (Ab1) ile tanılamışlar ve yaptıkları çalışmada *A. besseyi* izolatlarını *A. fragariae*, *A. ritzemabolası*, *A. subtenuis* türlerinden ayırt edebildiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca, *A. besseyi*'nin farklı biyolojik dönemlerinde (yumurta, larva, erkek ve dişi birey) KASP yöntemine göre tanılanabildiğini belirtmişlerdir.

Devran ve Göknur (2023), *M. incognita*, *M. javanica* ve *M. arenaria* türlerini tanılamak için WormBase veri bankası kullanarak her bir türe özgü KASP primerleri tasarlamışlar ve ilk kez kendilerinin KASP yönteminde geliştirdikleri yalnızca ileri 1 (forward 1) ve geri (reverse) primerini kullanarak tanılama yapmışlardır.

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Nematod popülasyonları

Çalışmalarda kullanılan nematod türlerine ve bunların izolatlarına ait bilgiler Çizelge 3.1 de listelenmiştir. Örneklerin bir kısmı Bitki Koruma Bölümü Nematoloji laboratuvarındaki kültürlerden bir bölümü ise diğer araştırmacılardan ve uluslararası laboratuvarlardan temin edilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmalarda kullanılan bitki paraziti nematodların örnek kodu, konukçusu, orijini ve referansı

Örnek Kodu	Nematod Türü	Konukçu	Orijin	Referans
Nvs	<i>Meloidogyne chitwoodi</i>	Patates	Derinkuyu, Nevşehir	1
Nde	<i>Meloidogyne chitwoodi</i>	Patates	Kiledere, Niğde	2
Mc-2*	<i>Meloidogyne chitwoodi</i>	Patates	Alay, Niğde	Devran vd. (2009)
Kon*	<i>Meloidogyne chitwoodi</i>	Patates	Konya	3
Bul-1	<i>Meloidogyne hapla</i>	Bilinmiyor	Bulgaristan	4
Pop 3	<i>Meloidogyne hapla</i>	Domates	Birleşik Krallık	5
Dr*	<i>Meloidogyne hapla</i>	Domates	Deregümü, Isparta	6
G7	<i>Meloidogyne incognita</i>	Domates	Gazipaşa, Antalya	Devran ve Söğüt (2009)
V24	<i>Meloidogyne incognita</i>	Domates	Kumluca, Antalya	Mıstanoğlu vd. (2019)
Bam-1	<i>Meloidogyne javanica</i>	Bamya	Kumluca, Antalya	Mıstanoğlu vd. (2019)
V28	<i>Meloidogyne javanica</i>	Domates	Aksu, Antalya	Mıstanoğlu vd. (2019)
K18	<i>Meloidogyne arenaria</i>	Domates	Kumluca, Antalya	Devran ve Söğüt (2009)
L1	<i>Meloidogyne arenaria</i>	Lavanta	Kırklareli	Özalp vd. (2020)
Or-1	<i>Meloidogyne luci</i>	Domates	Ordu	Aydınlı ve Mennan (2019)
Mhis	<i>Meloidogyne hispanica</i>	Bilinmiyor	Bilinmiyor	4
146	<i>Globodera rostochiensis</i>	Patates	Bozdağ, İzmir	7
Aly	<i>Globodera rostochiensis</i>	Patates	Alaylı, Niğde	8
Nge	<i>Globodera rostochiensis</i>	Patates	Hasaköy, Niğde	9
Nev	<i>Globodera rostochiensis</i>	Patates	Derinkuyu, Nevşehir	9
Ni163	<i>Globodera rostochiensis</i>	Patates	Merkez, Niğde	3

Çizelge 3.1'in devamı

14-789/2	<i>Globodera rostochiensis</i>	Patates	İskoçya	10
Gr1	<i>Globodera rostochiensis</i>	Patates	Birleşik Krallık	5
14-789/1	<i>Globodera pallida</i>	Patates	İsviçre	10
07-998/5	<i>Globodera pallida</i>	Patates	Fransa	3
Gpa1	<i>Globodera pallida</i>	Patates	Birleşik Krallık	5
19v132	<i>Ditylenchus destructor</i>	Patates	Çekya	10
K1	<i>Ditylenchus dipsaci</i>	Sarımsak	Morcalı, Karaman	11
KAS 9	<i>Ditylenchus dipsaci</i>	Sarımsak	Kastamonu	12
Hf	<i>Heterodera filipjevi</i>	Bilinmiyor	Bilinmiyor	13
Ha	<i>Heterodera avenae</i>	Bilinmiyor	Bilinmiyor	13
Hl	<i>Heterodera latipons</i>	Bilinmiyor	Bilinmiyor	13

¹ Nevşehir İl Tarım ve Orman Müdürlüğü, Nevşehir, Türkiye

² Niğde İl Tarım ve Orman Müdürlüğü, Niğde, Türkiye

³ Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknoloji Fakültesi, Bitki Kouma Bölümü, Sivas, Türkiye

⁴ Akdeniz Üniversitesi, Bitki Koruma Bölümü, Nematoloji Laboratuvarı, Antalya, Türkiye

⁵ Fera Science Ltd., 65 Gresham St, London, United Kingdom

⁶ Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Isparta, Türkiye

⁷ Adana Biyolojik Mücadele Araştırma Enstitüsü, Adana, Türkiye

⁸ Niğde Patates Araştırma Enstitüsü, Niğde, Türkiye

⁹ Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Ayhan Şahenk Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Bitkisel Üretim ve Teknolojileri, Niğde, Türkiye

¹⁰ ANSES Laboratory, Domaine de la Motte au Vicomte BP 35327-35653 Le Rheu Cedex, Rennes, France

¹¹ Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Organik Tarım Bölümü, Karaman, Türkiye

¹² Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Bitki Sağlığı Bölümü, Yalova, Türkiye

¹³ Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Bolu, Türkiye

* PC2, KASP-NMhp ve KASP-Mch primer çalışmalarında kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Kök-ur nematodlarının saf kültürlerinin oluşturulması ve çoğaltılması

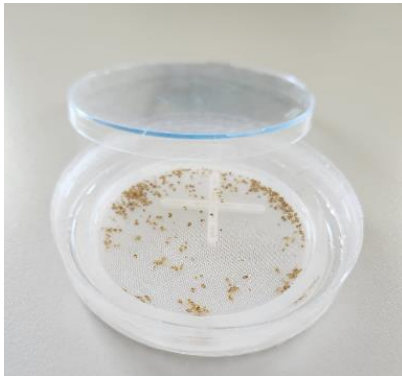
Kök-ur nematodlarının saf kültürlerinin oluşturulması için domates çeşitlerine (Tueza F1 ve Seval F1) ve biber çeşidine (Safran F1) ait fideler, otoklavlanarak sterilize edilmiş kumlu-tınlı toprak karışımı içeren 250 ml'lik saksılara şaşırtılmıştır. Nematod

popülasyonlarının bozulmamış (deforme olmamış) yumurta paketleri seçilerek su dolu 3 ayrı petri kabında sırasıyla yıkanmış ve 2 ml'lik eppendorf tüpüne alınmıştır. Daha sonra bu tek yumurta paketleri 4-5 yapraklı dönemdeki fidelerin boğaz kısmına yakın bir yerinden açılan deliklerden inokülasyon yapılmıştır. İnokülasyon yapılan bitkiler 8 hafta boyunca iklimlendirme odasında, 25°C sıcaklık, %65 nem ve 16:8 saat (Işık-Karanlık) periyodunda yetiştirilmiştir. Bu süre sonunda bitkilerin kökleri gövdesinden kesilerek alınmış ve musluk suyu altında topraklarından arındırıldıktan sonra yumurta kümeleri toplanmıştır. Böylece, çalışmalarda kullanılacak nematoloji kültür koleksiyonunda bulunan kök-ur nematodu izolatlarının saflaştırma işlemleri tamamlanmıştır. Saflaştırma sonucu elde edilen yumurta kümeleri çoğaltma işleminde kullanılmıştır. Tez süresince kültürlerin yenilenmesine ve çoğaltılmasına devam edilmiştir.

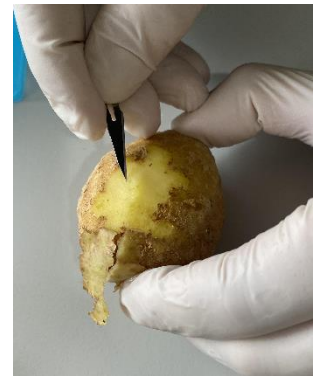
3.2.2. Nematod ekstraksiyonu

Kök-ur nematodlarının yumurta paketlerinden larva elde etmek için elek yöntemi kullanılmıştır. Çapı 9 cm olan petrilerin içerisindeki eleklerle yumurta paketleri koyulmuş ve 24°C sıcaklıkta 48 saat inkübatörde bekletilmiştir (Şekil 3.1a). Yumurta paketlerinden çıkan larvaların geçtiği petri suyu 15 ml'lik falcon tüplere alınarak nematodların dibe çökmesi için 4-6 saat bekletilmiştir. Daha sonra falcon tüplerinin üzerinden su dikkatli bir şekilde alınarak kalan 1 ml su iyice karıştırılmış ve 50 µl su mikro pipet ile çekilerek sayım yapılmıştır.

Meloidogyne chitwoodi ile enfekteli patates yumrularından dişi birey ve yumurta paketi elde etmek için patatesin kabuğu soyulmuştur. Patates dokusu içerisindeki gömülü yerlerden dişi ve yumurta paketleri bir miktar patates dokusuyla birlikte bistöri kullanılarak çıkarılarak, DNA izolasyon işlemine başlanmak üzere tüplere alınmıştır (Uysal ve Devran 2022) (Şekil 3.1b).



(a)



(b)

Şekil 3.1. a) Kök-ur nematodu yumurtalarından J₂ elde edilmesi b) *Meloidogyne chitwoodi* ile enfekteli patates yumrularından dişi birey ve yumurta paketinin çıkarılması

Ditylenchus destructor Thorne, 1945 ile bulaşık patates örneklerinden larva-ergin bireyler elde etmek için geliştirilmiş Baermann Funnel yöntemi kullanılmıştır (Hooper 1986). Bu yöntemde; bulaşık patates yumrusu ince dilimler halinde kesilerek plastik petri

kaplarının içindeki eleklerin yüzeyindeki filtre kâğıtlarının üzerine yerleştirilmiştir. Petri kaplarındaki patates dilimleri tamamen su ile temas edecek şekilde piset kullanılarak su aktarılmıştır. Nematodların suya geçebilmesi için örnekler petrilerde 48 saat bekletilmiştir (Şekil 3.2a). Süre sonunda petri kabındaki su 100 ml'lik mezüre aktarılarak nematodların dibe çökmesi için 24 saat bekletilmiştir. Daha sonra mezürün üstünden suyu alınarak 15 ml'lik falcon tüplerine aktarılmıştır. Falcon tüplerinde 4-6 saat bekletilen numunelerde 1 ml su kalacak şekilde üstten mikropipet ile sular çekilmiştir. En sonunda kalan 1 ml'lik su iyice karıştırılarak 50 µl'lik miktarı lam üstüne alınarak sayım işlemi yapılmıştır.

Toprak numunelerinden patates kist nematodlarına ait kistlerin elde edilmesi için Fenwick yöntemi kullanılmıştır (Fenwick 1940). Aletin içerisindeki hazneye 250 g toprak örneği konulmuştur. Haznenin su giriş bölümüne hortum bağlanarak toprak örnekleri yıkanmıştır. Yıkama işlemi sırasında aletin oluğundan akan sular içerisinde kistlerin elde edilebilmesi için 850 ve 250 µm çapındaki elekler üzerinden geçirilmiştir (Şekil 3.2b). Elek üzerinde biriken toprak taneleri ile karışık haldeki kistler hafif basınçlı suyla beher kaplarına alınmıştır. Üstten aydınlatmalı stereo mikroskop altında kistler toplanmıştır. *Globodera* kistlerinin rahat açılması için lam üzerindeki bir miktar su üzerinde 20 dk bekletilmiştir. Daha sonra lamda bulunan kistler bir iğne aracılığıyla patlatılmıştır. Kistlerden çıkan yumurtaların açılması için 15 dk beklenilmiştir. Yumurtadan çıkan larvalar bir iğne aracılığıyla tek tek toplanmıştır.



(a)



(b)

Şekil 3.2. a) *Ditylenchus destructor* enfekteli patates dilimlerinin petriye alınması b) Kistlerin Fenwick yöntemi ile elde edilmesi

3.2.3. DNA izolasyonu

Çalışmalarda kullanılan nematod türlerinin ergin birey, yumurta, larva ve kistlerinden DNA izolasyonu High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Diagnostics, GmbH Mannheim, Germany) kullanılarak firmanın önerdiği şekilde yapılmıştır.

3.2.4. PCR çalışmaları

Ekonomik öneme sahip kök-ur nematodları ile *Globodera pallida* ve *G. rostochiensis* türlerine özgü primerler kullanılarak doğrulamaları yapılmıştır (Çizelge 3.2). PCR içeriği; 2,5 µL DNA, 2 mM MgCl₂, 200 µM dNTPs, 0,4 µM her bir primer, 2,5 µL 10X PCR buffer, 1 Unit Taq DNA polymerase ve distile sudan oluşan toplam 25 µL hacimde yapılmıştır. PCR döngüsü için yayınlarda belirtilen koşullar kullanılmıştır (Bulman ve Marshall 1997; Wishart vd. 2002; Devran vd. 2009; Maleita vd. 2021; Uysal ve Devran 2022;). PCR ürünleri 1X TAE içerisinde %1,5 agaroz jel kullanılarak yürütülmüş ve Xpert Green DNA Stain boyası kullanılarak UV ışık veren Gel iX Imager (Intas Science, Germany) cihazında görüntülenmiştir.

Çizelge 3.2. İzolatların doğrulanması için kullanılan türe özgü primerlerin adları, dizilimleri, uzunlukları ve referansı

Tür Adı	Primer Adı	Primer Dizisi (5' – 3')	Bant (Bp)	Referans
<i>Globodera rostochiensis</i> <i>Globodera pallida</i>	PITSr3	AGCGCAGACATGCCGCAA	434	Bulman ve Marshall (1997)
	PITSp4	ACAACAGCAATCGTCGAG		
	ITS5	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG	265	White vd. (1990)
<i>Meloidogyne chitwoodi</i> <i>Meloidogyne fallax</i> <i>Meloidogyne hapla</i>	JMV1	GGATGGCGTGCTTTCAAC	540	Wishart vd. (2002)
	JMV2	TTTCCCCTTATGATGTTTACCC	670	
	JMVhapla	AAAAATCCCCTCGAAAAATCCACC	440	
<i>Meloidogyne incognita</i>	Inc-K14-F	GGGATGTGTAAATGCTCCTG	399	Randing vd. (2002)
	Inc-K14-R	CCCGCTACACCCTCAACTTC		
<i>Meloidogyne javanica</i>	Fjav	GGTGCGCGATTGAACTGAGC	670	Zijlstra vd. (2000)
	Rjav	CAGGCCCTTCAGTGGAACATATAC		
<i>Meloidogyne arenaria</i>	Far	TCGGCGATAGAGGTAAATGAC	420	Zijlstra vd. (2000)
	Rar	TCGGCGATAGACACTACAAC		
<i>Meloidogyne luci</i>	Mlf	ACTCCTGCGACCTCATGGCATTTA	771	Maleita vd. (2021)
	Mlr	ACTCCTGCGAACACAACATTTACT		

3.2.5. *Globodera rostochiensis* ve *Globodera pallida* türleri için KASP primerlerinin geliştirilmesi

GenBank (National Center for Biotechnology Information, NCBI)'asından alınan *G. rostochiensis* ve *G. pallida* ya ait DNA dizileri (MT270485.1 ve MN475966.1) Geneious Prime 2019.2 (Biomatters Ltd.) programı kullanılarak hizalanmıştır. Hizalama analizleri sonucunda *G. rostochiensis* ve *G. pallida* türlerini ayırt edebilecek SNP'leri içeren bölgeler Devran ve Göknur (2020)'a göre belirlenmiştir. KASP primerine dönüştürmek üzere firmaya gönderilmiştir. Geliştirilen primerlerin gen bankasında başka türlerle eşleşip-eşlemediğinin kontrolü yapılmıştır. Geliştirilen primerlerin dizileri Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. *Globodera rostochiensis* ve *Globodera pallida* için geliştirilen KASP primerlerinin adları ve dizileri

Tür Adı	Primer Adı	Primer	Primer Dizisi (5' – 3')
<i>Globodera rostochiensis</i>	KASP-Gr	Forward 1	CACAAGCGCAGACATGCCGCAA
		Forward 2	CAAGCGCAGACATGCCGCG
		Common reverse	TCCATGTYGTACGTGCCGTAC
<i>Globodera pallida</i>	KASP-Gp	Forward 1	CACAAGCGCAGACATGCCGCT
		Forward 2	CAAGCGCAGACATGCCGCG
		Common reverse	TCCATGTYGTACGTGCCGTAC

- Tezin savunulmasından önce makalede yayınlanmıştır.

3.2.6. *Meloidogyne hapla* ve *Meloidogyne chitwoodi* türleri için KASP primerlerinin geliştirilmesi

GenBank (National Center for Biotechnology Information, NCBI)'asından alınan *M. hapla*'ya ait DNA dizisi (AY528416.1) Geneious Prime 2019.2 (Biomatters Ltd.) programı kullanılarak kök-ur nematod türleri ve diğer bitki paraziti nematodlarla eşleşme durumu kontrol edilmiştir. Hizalama analizleri sonucunda *M. hapla* türünü diğer kök-ur nematodlarından ve bitki paraziti türlerinden ayırt edebilecek SNP'leri içeren bölgeler Devran ve Göknur (2020)'a göre belirlenmiştir. Önceki çalışmalarda olduğu gibi *M. hapla* türünü KASP tekniği ile tanılamak için iki ileri bir geri primer tasarlanmıştır (Devran ve Göknur 2020; Devran ve Göknur 2023) (Çizelge 3.4).

GenBank (National Center for Biotechnology Information, NCBI)'asından alınan *M. chitwoodi*'ye ait DNA dizileri (KP901059.1) Geneious Prime 2019.2 (Biomatters Ltd.) programı kullanılarak başta kök-ur nematod türleri ve diğer bitki paraziti nematodlara ait dizilerle karşılaştırılmıştır. Hizalama analizleri sonucunda *M. chitwoodi* türünü diğer kök-ur nematodlarından ve bitki paraziti türlerinden ayırt edebilecek SNP'leri içeren bölgeler Devran ve Göknur (2020)'a göre belirlenmiştir. *Meloidogyne chitwoodi* türünü KASP tekniği ile tanılamak için önceki çalışmalarda olduğu gibi iki ileri bir geri primer tasarlanmıştır (Devran ve Göknur, 2020; Devran ve Göknur, 2023) (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. *Meloidogyne hapla* ve *Meloidogyne chitwoodi* için geliştirilen KASP primerlerinin adları ve dizileri

Tür Adı	Primer Adı	Primer	Primer Dizisi (5' – 3')
<i>Meloidogyne hapla</i>	KASP-NMhp	Forward 1	GCGTCATCGTCACCTCAAAACAC
		Forward 2	GCGTCATCGTCACCTCAAAACAA
		Common reverse	CCCATTGATGGCAGTCGTCGTCAT
<i>Meloidogyne chitwoodi</i>	KASP-Mch	Forward 1	AAATAAAGCATATTTGATACA AATATTTATTCA
		Forward 2	AAATAAAGCATATTTGATACA AATATTTATTTCG
		Common reverse	CAAAGCGAAAGCTTTTAATTTTAT ATTGTA

3.2.7. KASP analizleri

3.2.7.1. DNA'ların kontrolü

KASP denemelerinde kullanılan tüm izolatlara ait DNA'lar, Devran ve Gökür (2020) tarafından geliştirilen universal KASP primerleri PC2 kullanılarak kontrol edilmiştir. PCR reaksiyonu hacmi toplam 20 µL olacak şekilde; DNA (2,5 µL), KASP Master Mix (10 µL), PC2 Primer Mix (0,28 µL) ve distile su (7,22 µL) kullanılmıştır. KASP analizleri, LightCycler® 480 II (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) Real-Time PCR cihazında 61-55°C touchdown protokolüne göre (<https://biosearch-cdn.azureedge.net/assetsv6/KASP-thermal-cycling-conditions-all-protocols.pdf>) gerçekleştirilmiş ve sonuçlar endpoint genotyping analizine tabi tutulmuştur. Floresan sinyalleri FAM (465-510 nm) ve HEX (533-580 nm) uyarma/emisyon dalga boyları ayarlanarak ölçülmüştür.

3.2.7.2. *Globodera rostochiensis*'in tanınması

Globodera rostochiensis izolatları geliştirilen türe özgü KASP-Gr primerleri kullanılarak tanınmıştır. Bunun için *G. rostochiensis* türüne ait 7, diğer nematod türlerine ait 21 izolat KASP analizine tabi tutulmuştur. Çalışmalarda sistemin daha iyi gruplandırma yapabilmesi için *G. rostochiensis* popülasyonlarından izole edilen DNA'lar tekrarlı olarak kullanılmıştır. Toplam KASP PCR reaksiyon hacmi 20 µL olacak şekilde; DNA (2,5 µL), KASP Master Mix (12 µL), KASP-Gr Primer Mix (0,28 µL) ve distile su (5,22 µL)'den oluşturulmuştur. Geliştirilen primerler ön çalışmada 3 farklı KASP programında (61-55°C touchdown, 68-62°C touchdown and 2-Step 57°C) denenmiş ve primerlerin en iyi çalıştığı 61-55°C touchdown protokolü seçilmiştir. Böylece örneklerin analizi, 61-55°C touchdown protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. LightCycler® 480 II (Roche) cihazında endpoint genotyping analizi sonucunda okumalar yapılmıştır. Ayrıca KASP-Gr primerinin en düşük kist ve larva sayısında etkinliğinin değerlendirilmesi için aynı koşullarda *G. rostochiensis* izolatlarının 1, 2 ve 4 kistten ve farklı sayılardaki J₂'lerden (1, 2, 4, 8, 16 ve 32) izole edilen DNA'lar ayrı ayrı KASP analizine tabi

tutulmuştur. Bunun için KASP PCR reaksiyonları 20 µL içericek şekilde; DNA (3,5 µL), KASP Master Mix (10 µL), KASP-Gr Primer Mix (0,28 µL) ve didestile su (6,22 µL)'dan hazırlanmış ve reaksiyonlar yukarıda belirtildiği koşullarda gerçekleştirilmiştir. Larva sayıları için yapılan çalışmada Devran ve Göknur (2023) geliştirdiği yaklaşıma göre KASP-Gr primerler setinden forward 1 ve reverse primer birlikte kullanılarak ve 61-55°C touchdown protokolünde 26 döngü yerine 29 döngü kullanılarak larvaların tanılanması yapılmıştır.

3.2.7.3. *Globodera pallida*'nın tanılanması

Globodera pallida izolatları türe özgü geliştirilen KASP-Gp primerleri kullanılarak tanılanmıştır. Bunun için *G. pallida* türüne ait 3, diğer nematod türlerine ait 25 izolat KASP analizine tabi tutulmuştur. Çalışmalarda sistemin daha iyi gruplandırma yapabilmesi için *G. pallida* popülasyonlarından izole edilen DNA'lar tekrarlı olarak kullanılmıştır. Toplam KASP PCR reaksiyonu 20 µL hacim olacak şekilde; DNA (2,5 µL), KASP Master Mix (10 µL), KASP-Gp Primer Mix (0,28 µL) ve didestile su (7,22 µL)'dan hazırlanmıştır. Geliştirilen primerler ön çalışmada 3 farklı KASP programında (61-55°C touchdown, 68-62°C touchdown and 2-Step 57°C) denenmiş ve primerlerin en iyi çalıştığı 61-55°C touchdown protokolü seçilmiştir. Böylece örneklerin analizi, 61-55°C touchdown protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. LightCycler® 480 II (Roche) cihazında endpoint genotyping analizi sonucunda okumalar yapılmıştır. Ayrıca KASP-Gp primerinin en düşük kist ve larva sayısındaki etkinliğinin değerlendirilmesi için aynı koşullarda 1, 2 ve 4 adet kist ve larvadan izole edilen DNA'lar ayrı ayrı KASP analizine tabi tutulmuştur. Kistlerden izole edilen toplam KASP PCR reaksiyonu 20 µL içericek şekilde; DNA (3,5 µL), KASP Master Mix (12 µL), KASP-Gp Primer Mix (0,28 µL) ve didestile su (4,22 µL)'dan hazırlanmıştır ve reaksiyonlar yukarıda belirtildiği koşullarda gerçekleştirilmiştir. Larva tespiti için kurulan KASP PCR reaksiyonu 20 µL olacak şekilde DNA (5 µL), KASP Master Mix (12 µL), KASP-Gp Primer Mix (0,28 µL) ve didestile su (2,72 µL)'dan hazırlanmıştır ve reaksiyonlar yukarıda belirtildiği koşullarda gerçekleştirilmiştir. Yalnızca kist ve larva tespiti için yapılan PCR'lar 61-55°C touchdown protokolünde 26 döngü yerine 29 döngü yapılmıştır.

3.2.7.4. *Meloidogyne hapla*'nın tanılanması

Meloidogyne hapla izolatları türe özgü geliştirilen KASP-NMhp primerleri kullanılarak tanılanmıştır. Bunun için *M. hapla* türüne ait 3, diğer nematod türlerine ait 28 izolat KASP analizine tabi tutulmuştur. Çalışmalarda sistemin daha iyi gruplandırma yapabilmesi için *M. hapla* popülasyonlarından izole edilen DNA'lar tekrarlı olarak kullanılmıştır. Toplam KASP PCR reaksiyonu 20 µL hacim olacak şekilde; DNA (2,5 µL), KASP Master Mix (10 µL), KASP-NMhp Primer Mix (0,28 µL) ve didestile su (7,22 µL)'dan hazırlanmıştır. Geliştirilen primerler ön çalışmada 3 farklı KASP programında (61-55°C touchdown, 68-62°C touchdown and 2-Step 57°C) denenmiş ve primerlerin en iyi çalıştığı 61-55°C touchdown protokolü seçilmiştir. Böylece örneklerin analizi, 61-55°C touchdown protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. LightCycler® 480 II (Roche) cihazında endpoint genotyping analizi sonucunda okumalar yapılmıştır. Ayrıca

KASP-NMhp primerlerinin en düşük larva sayısında etkinliğini belirlemek için; 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 adet *M. hapla* J₂ larvadan elde edilen DNA'lar kullanılarak aynı miktar ve koşullarda KASP analizine tabi tutulmuştur. Yalnızca 61-55°C touchdown protokolünde 26 döngü yerine 29 döngü kullanılarak PCR yapılmıştır.

3.2.7.5. *Meloidogyne chitwoodi*'nin tanınması

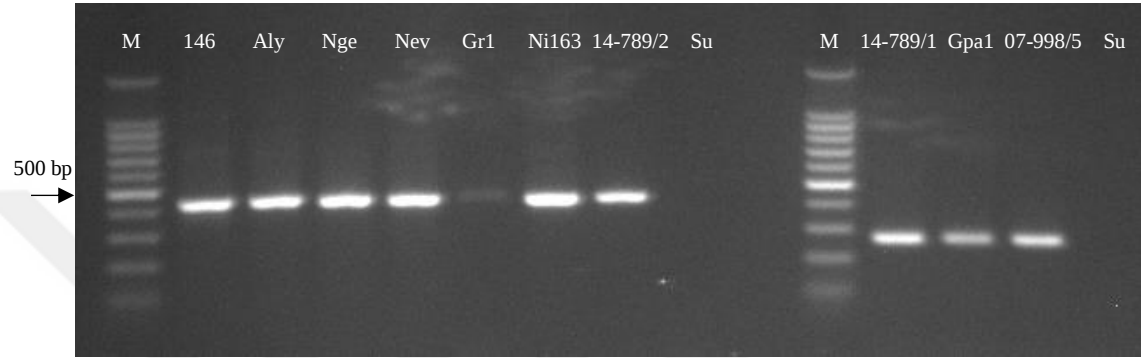
Meloidogyne chitwoodi izolatları türe özgü geliştirilen KASP-Mch primerleri kullanılarak tanınmıştır. Bunun için *M. chitwoodi* türüne ait 4, diğer nematod türlerine ait 27 izolat KASP analizine tabi tutulmuştur. Çalışmalarda sistemin daha iyi gruplandırma yapabilmesi için *M. chitwoodi* popülasyonlarından izole edilen DNA'lar tekrarlı olarak kullanılmıştır. Toplam KASP PCR reaksiyonu 20 µL hacim olacak şekilde; DNA (2,5 µL), KASP Master Mix (10 µL), KASP-Mch Primer Mix (0,28 µL) ve didestile su (7,22 µL)'dan hazırlanmıştır. Geliştirilen primerler ön çalışmada 3 farklı KASP programında (61-55°C touchdown, 68-62°C touchdown and 2-Step 57°C) denenmiş ve primerlerin en iyi çalıştığı 61-55°C touchdown protokolü seçilmiştir. Böylece örneklerin analizi, 61-55°C touchdown protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. LightCycler® 480 II (Roche) cihazında endpoint genotyping analizi sonucunda okumalar yapılmıştır. PCR çalışmalarında 26 döngü yerine 29 döngü yapılmıştır. Çalışmada KASP-Mch primerleri 1, 2, 4, 10, 20 ve 40 adet *M. chitwoodi* J₂ larvadan elde edilen DNA'lar ve *M. chitwoodi* ile enfekteli patates yumrularından nematod ekstraksiyonu yapılmadan doğrudan elde edilen DNA'lar ile yukarıda belirtilen aynı miktar ve koşullarda ayrı ayrı KASP analizine tabi tutulmuştur. Bu örnekler ayrıca Devran ve Göknur (2023) geliştirdiği yaklaşım kullanılarak KASP-Mch primerler setinden forward 1 ve reverse primer birlikte kullanılmış, 61-55°C touchdown protokolünde 26 döngü yerine 29 döngüde PCR gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Klasik PCR Çalışmaları

4.1.1. Patates kist nematodlarının PCR ile tanınması

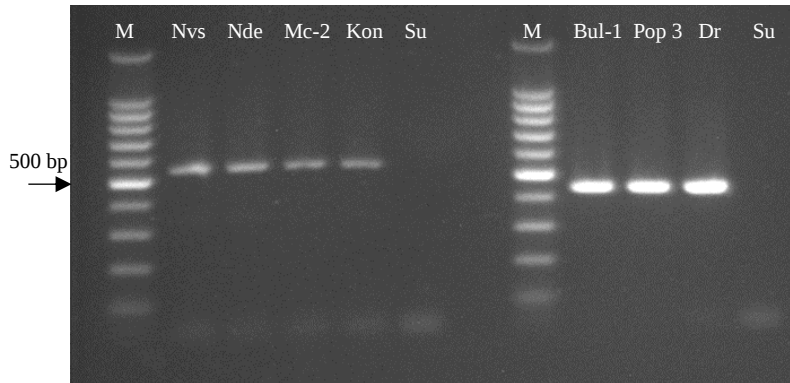
Globodera rostochiensis ve *G. pallida*'ya ait örneklerin moleküler doğrulanması PITSr3/PITSp4/ITS5 primerleri kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri beklenildiği gibi *G. rostochiensis* örneklerinde yaklaşık olarak 434 bp, *G. pallida* örneklerinde ise yaklaşık 265 bp tespit edilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. PITSr3/PITSp4/ITS5 primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünleri. M: Moleküler markör (100 bp DNA ladder, Hibrigen), *G. rostochiensis* örnekleri: 146, Aly, Nge, Nev, Gr-1, Ni163 ve 14-789/2; *G. pallida* örnekleri: 14-789/1, Gpa1 ve 07-998/5

4.1.2. Kök-ur nematodlarının PCR ile tanınması

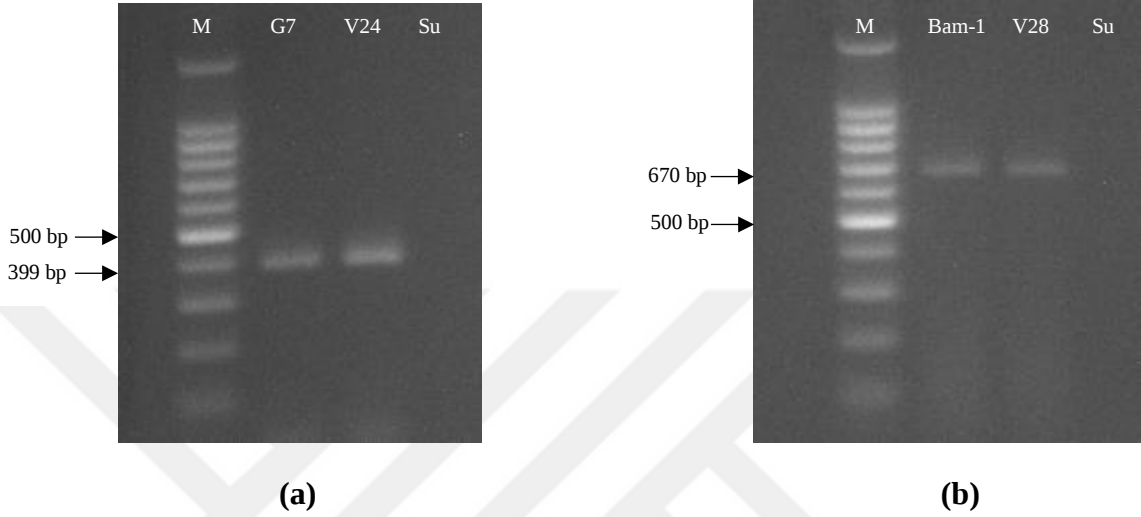
Meloidogyne chitwoodi ve *M. hapla*'ya ait örneklerin moleküler olarak teyit edilmesi JMV1/JMV2/JMVhapla primerleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Beklenildiği gibi *M. chitwoodi* örnekleri için yaklaşık olarak 540 bp, *M. hapla* örnekleri için ise yaklaşık olarak 440 bp DNA fragmentleri elde edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. JMV1/JMV2/JMVhapla primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünleri. M: Moleküler markör (100 bp DNA ladder, Hibrigen), *M. chitwoodi* örnekleri: Nvs, Nde, Mc-2 ve Kon; *M. hapla* örnekleri: Bul-1, Pop 3 ve Dr

Meloidogyne incognita'ya ait örneklerin moleküler doğrulanması Inc-K14-F/Inc-K14-R primerleri kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri beklenildiği gibi yaklaşık 399 bp tespit edilmiştir (Şekil 4.3a).

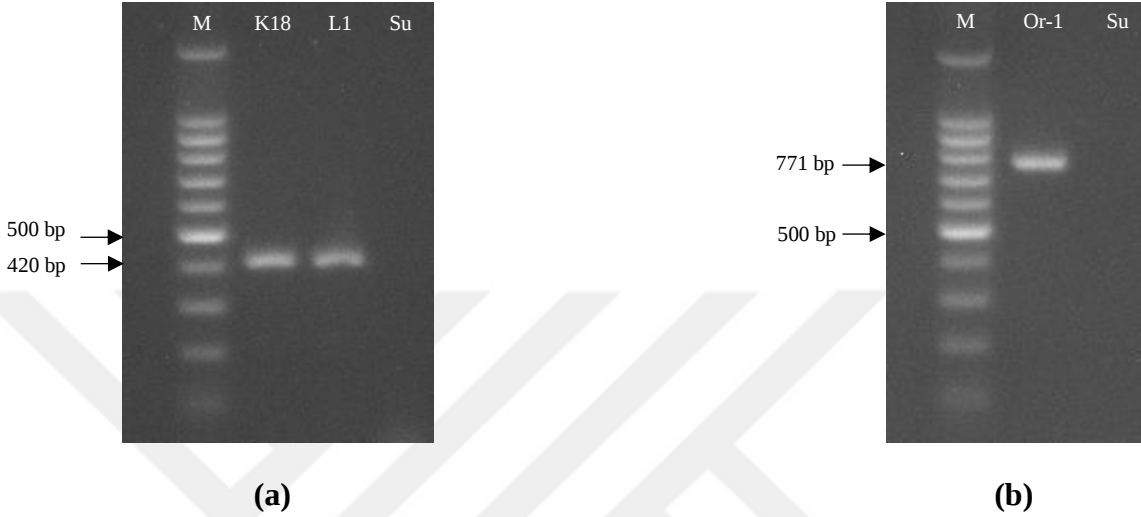
Meloidogyne javanica'ya ait örneklerin moleküler olarak teyit edilmesi Fjav/Rjav primerleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Beklenildiği gibi PCR ürünleri yaklaşık olarak 670 bp'de DNA fragmentleri vermiştir (Şekil 4.3b).



Şekil 4.3. a) Inc-K14-F/Inc-K14-R primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünleri. M: Moleküler markör (100 bp DNA ladder, Hibrigen), *M. incognita* örnekleri: G7 ve V24. **b)** Fjav/Rjav primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünleri. M: Moleküler markör (100 bp DNA ladder, Hibrigen), *M. javanica* örnekleri: Bam-1 ve V28

Meloidogyne arenaria'ya ait örneklerin moleküler tanılanması Far/Rar primerleri kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri beklenildiği gibi yaklaşık olarak 420 bp tespit edilmiştir (Şekil 4.4a).

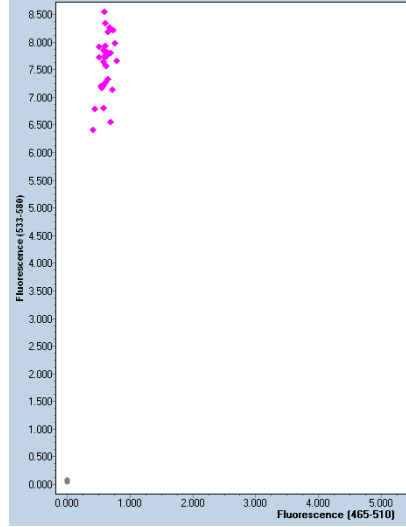
Meloidogyne luci'ye ait örneklerin moleküler olarak teyit edilmesi Mlf/Mlr primerleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Beklenildiği gibi PCR ürünleri yaklaşık olarak 771 bp'de elde edilmiştir (Şekil 4.4b).



Şekil 4.4. a) Far/Rar primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünleri. M: Moleküler markör (100 bp DNA ladder, Hibrigen), *M. arenaria* örnekleri: K18 ve L1. **b)** Mlf/Mlr primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünleri. M: Moleküler markör (100 bp DNA ladder, Hibrigen), *M. luci* örnekleri: Or-1

4.2. DNA'ların KASP İle Kontrolü

KASP çalışmalarında kullanılacak tüm örneklerin DNA'ları universal PC2 primerleri kullanılarak KASP analizine tabi tutulmuştur. Endpoint genotyping analizi sonucunda; çalışmanın ana materyallerini oluşturan *G. rostochiensis*, *G. pallida*, *M. chitwoodi* ve *M. hapla* ile negatif kontrol olarak kullanılan diğer bitki paraziti nematod DNA'ları HEX boyasının floresan ışımaya verileri doğrultusunda pembe noktalar, suya ait 2 örnek ise herhangi bir ışımaya elde edilemediği için gri noktalar oluşturmıştır (Şekil 4.5). KASP analiz sonuçları, tüm örnekler için DNA'ların KASP çalışmaları için uygun olduğunu göstermiştir.



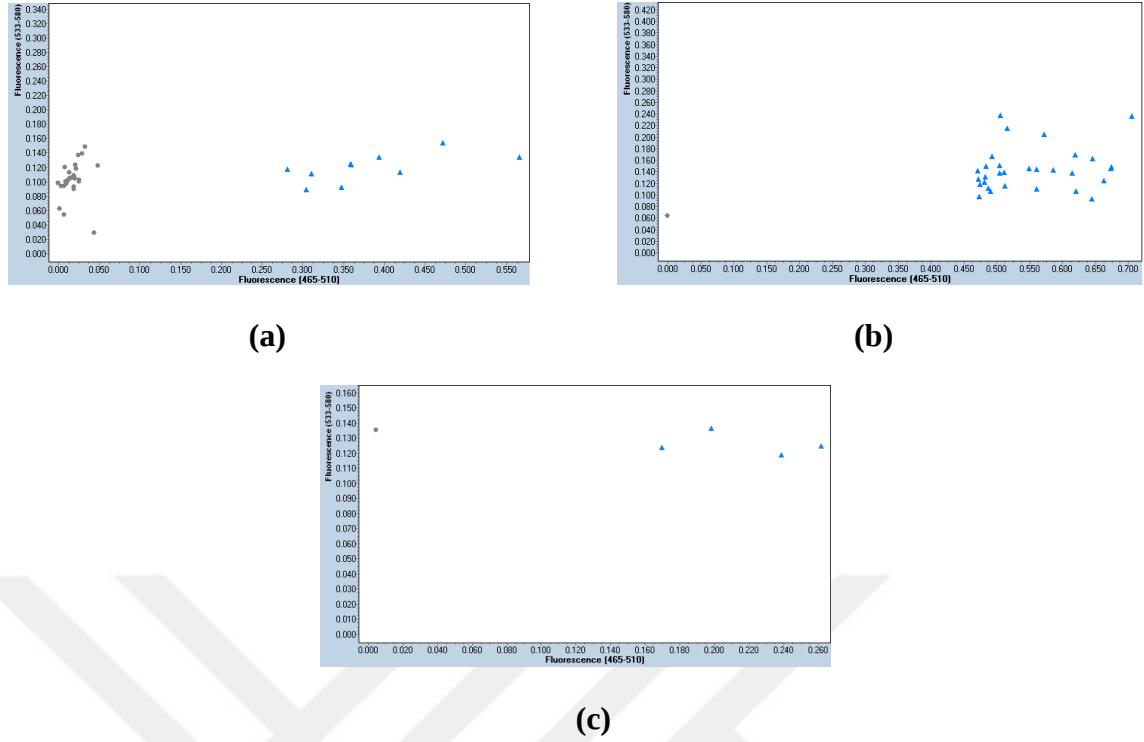
Şekil 4.5. Üniversal PC2 primerleri ile yapılan KASP çalışması sonrası örneklerin endpoint genotyping okuma görüntüsü. Y eksenindeki pembe noktalar tüm örneklerin floresans okumalarını, orijindeki gri noktalar suyu göstermektedir

4.3. *Globodera rostochiensis*'in Tanınması

Globodera rostochiensis türüne özgü geliştirilen KASP-Gr primerlerinin KASP prosedürüne göre analizleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan *G. rostochiensis*'e ait 7 örnek (146, Aly, Nge, Nev, Gr-1, Ni163 ve 14-2789/2), *G. pallida*'ya ait 3 örnekten ve diğer bitki paraziti nematod türlerine ait 18 örnekten net bir şekilde ayırt edilmiştir. Çalışmanın bu setinde çoklu kistlerden izolasyon yapılarak elde edilen DNA'lar kullanılmıştır. KASP çalışmalarında sistemin güvenilirliğini artırmak için *G. rostochiensis* türüne ait örnekler, analizlerde tekerrürlü olarak kullanılmıştır. Endpoint genotyping analizi sonucunda tüm *G. rostochiensis* örnekleri FAM boyasının floresan ışığa verileri doğrultusunda mavi üçgenler şeklinde, diğer bitki paraziti nematodlara ait örnekler ve sular yeterli ışığa oluşturamadığı için gri noktalar şeklinde gözlenmiştir (Şekil 4.6a).

Globodera rostochiensis türüne ait 1, 2 ve 4 adet kistten izole edilen DNA'lar KASP PCR analizine tabi tutulmuştur. Analiz sonucuna göre; 1, 2 ve 4 kistten elde edilen DNA'ların hepsi başarılı bir şekilde çoğalmış ve ışığa vermiştir. Endpoint genotyping analiz sonucu; 1 adet kistten elde edilen DNA'nın KASP analizlerinde türün tanınması için yeterli olduğunu göstermiştir (Şekil 4.6b).

Larva sayılarına göre izolasyonu yapılan örneklerde rutin KASP protokolüne göre sonuç elde edilememiştir. KASP-Gr primer seti içinden forward 1 ve reverse primer birlikte kullanılarak ve 61-55°C touchdown protokolünde 26 döngü yerine 29 döngü yapılarak larvaların tanınması gerçekleştirilmiştir. Burada sistem, >8 larvadan izolasyon yapılan örnekleri ayırabildiği görülmüştür (Şekil 4.6c).



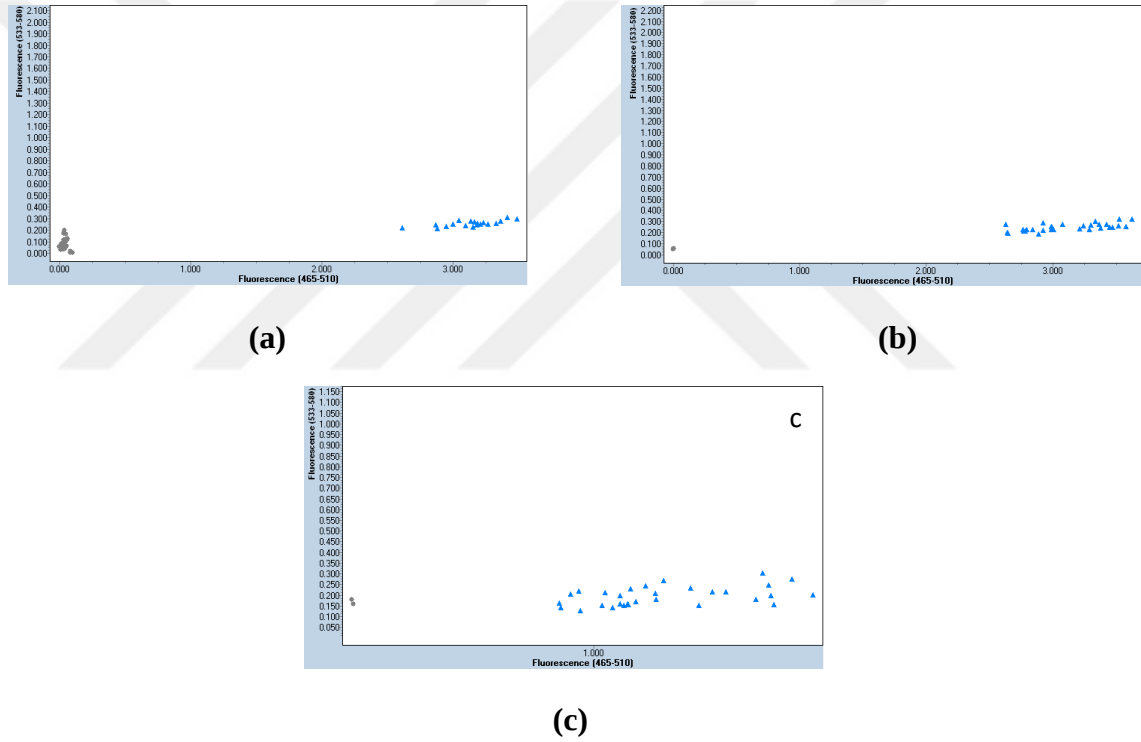
Şekil 4.6. a) KASP-Gr primerleri kullanılarak *G. rostochiensis* popülasyonlarının tanılanması. Grafikteki X ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-Gr primerleri kullanılarak *G. rostochiensis* örneklerinin floresan okumalarını, Y eksenindeki gri noktalar ise diğer örnekleri ve suyu göstermektedir. b) *Globodera rostochiensis* örneklerine ait 1, 2 ve 4 kist KASP-Gr primerleri ile tanılanması. Grafikteki X ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-Gr primerleri kullanılarak *G. rostochiensis* örneklerine ait 1, 2 ve 4 kist DNA'larının floresan okumalarını, Y eksenindeki gri nokta ise suyu göstermektedir. c) *Globodera rostochiensis* örneklerine ait 16 ve 32 larvanın KASP-Gr primerleri ile tespit edilmesi. Grafikteki X ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-Gr primerleri kullanılarak *G. rostochiensis* örneklerine ait 16 ve 32 larvanın DNA'larının floresan okumalarını, Y eksenindeki gri nokta ise suyu göstermektedir

4.4. *Globodera pallida*'nın Tanınması

Globodera pallida türüne özgü geliştirilen KASP-Gp primerlerinin KASP prosedürüne göre analizleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan *G. pallida*'ya ait 3 örnek (14-789/1, Gpa1 ve 07-998/5), *G. rostochiensis*'e ait 7 örnekten ve diğer bitki paraziti nematod türlerine ait 18 örnekten net bir şekilde ayırt edilmiştir. Çalışmanın bu setinde çoklu kistlerden izolasyonu yapılarak elde edilen DNA'lar kullanılmıştır. KASP çalışmalarında sistemin güvenilirliğini artırmak için *G. pallida* türüne ait örnekler tekerrürlü olarak kullanılmıştır. Endpoint genotyping analizi sonucunda tüm *G. pallida* örnekleri FAM boyasının floresan ışımaya verileri doğrultusunda mavi üçgenler şeklinde, diğer bitki paraziti nematodlara ait örnekler ve sular yeterli ışımaya oluşturamadığı için gri noktalar şeklinde gözlenmiştir (Şekil 4.7a).

Globodera pallida türüne ait 1, 2 ve 4 adet kistten izolasyonu yapılan DNA'lar KASP analizine tabi tutulmuştur. Rutin KASP protokolünde istenen sonuç elde edilemediğinden, PCR döngüsünde ufak bir değişiklik yapılarak (protokolde belirtilen 26 döngü yerine 29 döngü) analizler gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucuna göre; 1, 2 ve 4 kistten elde edilen DNA'ların hepsi başarılı bir şekilde çoğalmış ve ışıma vermiştir. Endpoint genotyping analiz sonucu; 1 adet kistten elde edilen DNA'nın KASP analizlerinde türün tanınması için yeterli olduğunu göstermiştir (Şekil 4.7b).

Globodera pallida türüne ait 1, 2 ve 4 adet larvadan izolasyon yapılan DNA'lar KASP analizine tabi tutulmuştur. Rutin protokolde istenen sonuç elde edilmediğinden, PCR döngüsünde ufak bir değişiklik yapılarak (protokolde belirtilen 26 döngü yerine 29 döngü) analizler gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucuna göre; 1, 2 ve 4 larvadan elde edilen DNA'ların hepsi başarılı bir şekilde çoğalmış ve ışıma vermiştir. Endpoint genotyping analiz sonucu; 1 adet larvadan elde edilen DNA'nın KASP analizlerinde türün tanınması için yeterli olduğunu göstermiştir (Şekil 4.7c).

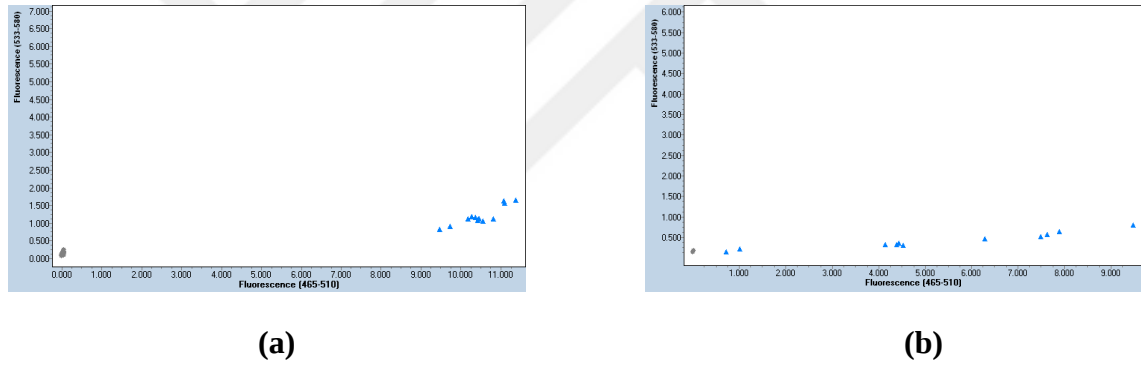


Şekil 4.7. a) KASP-Gp primerleri kullanılarak *G. pallida* popülasyonlarının tanınması. Grafikteki X ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-Gp primerleri kullanılarak *G. pallida* örneklerinin floresan okumalarını orijindeki gri noktalar diğer örnekleri ve suyu göstermektedir. **b)** *Globodera pallida* örneklerine ait 1, 2 ve 4 kistin KASP-Gp primerleri ile tespit edilmesi. Grafikteki X ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-Gp primerleri kullanılarak *G. pallida* örneklerine ait 1, 2 ve 4 kist DNA'larının floresan okumalarını, orijindeki gri noktalar ise suyu göstermektedir. **c)** *Globodera pallida* örneklerine ait 1, 2 ve 4 larvanın KASP-Gp primerleri ile tespit edilmesi. Grafikteki X ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-Gp primerleri kullanılarak *G. pallida* örneklerine ait 1, 2 ve 4 larvanın DNA'larının floresan okumalarını, Y eksenindeki gri noktalar ise suyu göstermektedir

4.5. *Meloidogyne hapla*'nın Tanılanması

Meloidogyne hapla türüne özgü geliştirilen KASP-NMhp primerlerinin KASP prosedürüne göre denemeleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan *M. hapla*'ya ait 3 örnek (Bul-1, Pop 3 ve Dr), *M. chitwoodi*'ye ait 4 örnekten ve diğer bitki paraziti nematod türlerine ait 24 örnekten başarılı bir şekilde ayırt edilmiştir (Şekil 4.8a). Çalışmanın bu setinde çok sayıda larvadan izolasyon yapılarak elde edilen DNA'lar kullanılmıştır. KASP çalışmalarında sistemin güvenilirliğini artırmak için *M. hapla* türüne ait örnekler tekerrürlü olarak kullanılmıştır. Endpoint genotyping analizi sonucunda tüm *M. hapla* örnekleri FAM boyasının floresan ışına verileri doğrultusunda mavi üçgenler şeklinde, diğer bitki paraziti nematodlara ait örnekler ve sular yeterli ışına elde edilemediği için beklendiği gibi gri noktalar şeklinde gözlenmiştir (Şekil 4.8a).

Meloidogyne hapla türüne ait 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 adet larvadan izole edilen DNA'lar KASP analizine tabi tutulmuştur. Rutin protokolde istenen sonuç elde edilmediğinden, PCR döngüsünde ufak bir değişiklik yapılarak (protokolde belirtilen 26 döngü yerine 29 döngü) analizler gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucuna göre; 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 adet larvadan elde edilen DNA'ların hepsi başarılı bir şekilde çoğalmış ve ışına vermiştir. Endpoint genotyping analiz sonucu; 1 adet larvadan elde edilen DNA'nın KASP analizlerinde türün tanılanması için yeterli olduğunu göstermiştir (Şekil 4.8b).

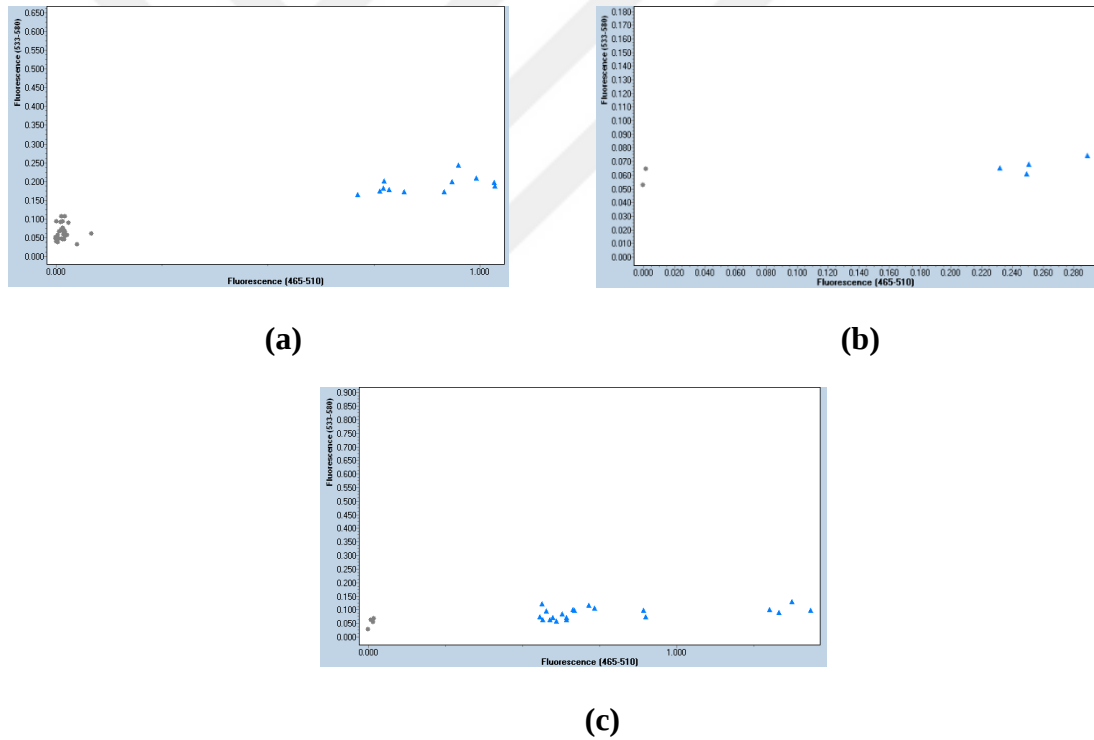


Şekil 4.8. a) KASP-NMhp primerleri kullanılarak *M. hapla* popülasyonlarının tanılanması. Grafikteki X ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-NMhp primeri kullanılarak *M. hapla* izolatlarının floresan okumalarını, orijindeki gri noktalar diğer izolatları ve suyu göstermektedir. **b)** *Meloidogyne hapla* örneklerine ait 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 larvanın KASP-NMhp primerleri ile tespit edilmesi. Grafikteki X ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-NMhp primerleri kullanılarak *M. hapla* örneklerine ait 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 larvanın DNA'larının floresan okumalarını, orijindeki gri noktalar ise suyu göstermektedir

4.6. *Meloidogyne chitwoodi*'nin Tanılanması

Meloidogyne chitwoodi türüne özgü geliştirilen KASP-Mch primerleri KASP analizine tabi tutulmuştur. Rutin KASP protokolünde istenen sonuç elde edilemediğinden, PCR döngüsünde ufak bir değişiklik yapılarak (protokolde belirtilen 26 döngü yerine 29 döngü) analizler gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan *M.*

chitwoodi'ye ait 4 örnek (Nvs, Nde, Mc-2 ve Kon), *M. hapla*'ya ait 3 örnekten ve diğer bitki paraziti nematod türlerine ait 24 örnekten başarılı bir şekilde ayırt edilmiştir. Çalışmanın bu setinde çok sayıda larvadan izolasyon yapılarak elde edilen DNA'lar kullanılmıştır. KASP çalışmalarında sistemin güvenilirliğini artırmak için *M. chitwoodi* türüne ait örnekler tekerrürlü olarak kullanılmıştır. Endpoint genotyping analizi sonucunda tüm *M. chitwoodi* örnekleri FAM boyasının floresan ışımaya verileri doğrultusunda mavi üçgenler şeklinde, diğer bitki paraziti nematodlara ait örnekler ve sular yeterli ışımaya elde edilemediği için gri noktalar şeklinde gözlenmiştir (Şekil 4.9a). Çalışmada 1, 2, 4, 10, 20 ve 40 adet *M. chitwoodi* J₂ larvasından elde edilen DNA'lar ve *M. chitwoodi* ile enfekteli patates yumrusunun dokusundan doğrudan izolasyonu yapılarak elde edilen DNA'lar KASP-Mch primerleriyle rutin KASP protokolünde çalışmadığı görülmüştür. Burada iki değişiklik yapılarak KASP analizi yürütülmüştür. Birincisi Devran ve Göknur (2023) geliştirdiği yaklaşım olan yalnızca forward 1 ve reverse primerlerinin birlikte kullanılmasıdır. İkincisi, 61-55°C touchdown protokolünde 26 döngü yerine 29 döngü ile PCR'nin gerçekleştirilmesidir. Burada sistemin, >20 larvadan izolasyon yapılan örnekleri ayırabildiği görülmüştür (Şekil 4.9b). Ayrıca, patates dokusundan nematod ekstraksiyonu yapılmadan elde edilen total DNA ile *M. chitwoodi* türü tanımlanmıştır (Şekil 4.9c).



Şekil 4.9. a) KASP-Mch primerleri kullanılarak *M. chitwoodi*'ye özgü *M. chitwoodi* popülasyonlarının tanınması. Grafikteki X ekseninde görünen mavi üçgenler KASP-Mch primerleri kullanılarak *M. chitwoodi* örneklerinin floresan okumalarını, Y eksenindeki gri noktalar diğer örnekleri ve suyu göstermektedir. **b)** *Meloidogyne chitwoodi* örneklerine ait 40 larvanın KASP-Mch primerleri ile tespit edilmesi. Grafikteki X ekseninde görünen mavi noktalar KASP-Mch primerleri kullanılarak *M. chitwoodi* örneklerine ait 40 larva DNA'larının floresan okumalarını, Y eksenindeki gri noktalar ise suyu göstermektedir **c)** Patates dokusundan elde edilen *M. chitwoodi* örnek DNA'larının KASP-Mch primerleri ile tanınması. Grafikteki X ekseninde görünen mavi üçgenler

KASP-Mch primeri kullanılarak *M. chitwoodi* izolatlarına ait DNA'larının floresan okumalarını, orijindeki gri noktalar ise suyu göstermektedir.



5. TARTIŞMA

Patates yapısında içerdiği bol miktarda karbonhidrat, protein, vitamin ve mineral maddeler sayesinde dünya nüfusunun beslenmesinde temel ürünlerden birisidir (Abed ve Demirhan 2018). Ekonomik önemi yüksek olan patatesin yetiştiriciliğinde kayıplara yol açan pek çok hastalık ve zararlı bulunmaktadır. Zararlılar grubu içerisinde özellikle patates kist nematodları (*G. rostochiensis* ve *G. pallida*) ve kök-ur nematodları (*Meloidogyne* spp.) en önde gelmektedirler.

Patates kist nematodları, patates üretiminde dünya çapında ekonomik zararlar vermekte olup, aynı zamanda 20 yıl boyunca kist halinde toprakta varlıklarını sürdürmektedirler (Mburu 2020). Bu türün yumurtaları kist içerisinde uzun süre hayatta kalmaları nedeniyle bulaştıkları tarlalarda patates üretimini yıllarca sınırlamaktadırlar. Patates üretimini engelleyecek kadar önem arz eden patates kist nematodları Türkiye'nin de dahil olduğu 100'den fazla ülkede karantinaya tabi tutulmaktadır (Hockland vd. 2006). Bu nedenle bu türlerin hızlı ve doğru bir şekilde tanınması ithalat, ihracat ve iç karantinada yaşanabilecek bulaşıklıkların önlenmesinde ayrıca uygulanacak mücadele stratejilerinin başarıya ulaştırılmasında oldukça önemlidir.

Patates kist nematodları, geliştirilen primer setleri ile klasik PCR yöntemlerine göre önceki çalışmalarda tanınmıştır (Bulman ve Marshall 1997; Fullaondo vd. 1999; Vej1 vd. 2002). Bu çalışmada *G. rostochiensis* ve *G. pallida* popülasyonlarının moleküler olarak doğrulamaları PITSr3/PITSp4/ITS5 (Bulman ve Marshall 1997) primerleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar *G. rostochiensis* ve *G. pallida* için bu türe özgü primerler kullanarak yapılan önceki çalışmalarla uyumlu bulunmuştur (Bulman ve Marshall 1997; Skantar vd. 2011; Mwangi vd. 2015). Klasik PCR yöntemlerinin zaman alması, jel elektroforez aşamalarında hataların olabilmesi yeni tekniklerin kullanılmasını gerekli kılmıştır. Bu nedenle, yeni tekniklerden olan Real-time PCR'a bağlı yöntemler patates kist nematodlarının moleküler tanınmasında kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden birisi çift sarmal halindeki DNA zincirine bağlanan boyaların (SYBR Green I vb.) kullanımınıdır. SYBR Green I boyası kullanılarak *G. rostochiensis* ve *G. pallida* türleri yapılan çalışmalarla tanınmıştır (Madani vd. 2005; Toyota vd. 2008). Bu yöntemin uygulamasında kimi durumlarda primerlerin DNA'ya spesifik olarak bağlanmaması nedeniyle prob'a dayalı yöntemler (TaqMan prob vb.) kullanılarak bitki paraziti nematodlarının daha spesifik tanılamaları yapılmaktadır (Cao vd. 2005; Nowaczyk vd. 2008; De Haan vd. 2014). Bu kapsamda *G. rostochiensis* ve *G. pallida* türleri için TaqMan problemleri geliştirilmiş ve spesifik tanılamaları gerçekleştirilmiştir (Nowaczyk vd. 2008; Gamel vd. 2017). Bununla birlikte prob sistemlerinin pahalı olması nedeniyle başka tekniklerin PKN'nı tanılamada kullanılması üzerine çalışmalar yapılmıştır. Bu tekniklerden birisi de LAMP olup, *G. rostochiensis* ve *G. pallida* türlerinin tanınabildiği bu teknik ile gösterilmiştir (Ahuja vd. 2021; Camacho vd. 2021). Son yıllarda tek baza bağlı farklılıklar (SNP) moleküler çalışmalarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bilindiği üzere KASP tekniği çoğunlukla bitkiler üzerine yürütülen çalışmalarda kullanılmaktadır (Rehrig vd. 2014; Shi vd. 2015; Devran ve Kahveci 2019). Son yıllarda bitki paraziti nematodlarının tanınmasına yönelik çalışmalarda da KASP tekniğinin kullanılmaya başladığı rapor edilmiştir. Devran ve Göknur (2020), farklı lokasyonlardaki çeltik üretim alanlarından toplanan *A. besseyi* izolatlarının tanınmasında KASP tekniğini kullanmışlardır. Devran ve Göknur (2023) *Meloidogyne* cinsinin dünyada en yaygın türleri olan *M. incognita*, *M. javanica* ve *M.*

arenaria türlerini geliştirdikleri KASP primerleri ile tanılamışlardır. Bu çalışmada, PKN'lerinin tanılanması için KASP tekniği kullanılmıştır. Bu çalışmada öncelikle tüm örneklerin KASP analizleri için uygunluğunu kontrol etmek için DNA'lar evrensel PC2 primerleri (Devran ve Göknur 2020) kullanılarak kontrol edilmiş ve DNA'ların beklenildiği gibi çok iyi çalıştığı ve KASP analizleri için uygun olduğu belirlenmiştir. Daha sonra *G. rostochiensis* ve *G. pallida* türlerine özgü geliştirilen KASP-Gr ve KASP-Gp primerleri, bu türlerin çoklu kistlerinden elde edilen DNA'ları tüm uygulamalarda başarılı bir şekilde çoğaltmıştır. Elde edilen sonuçlar geliştirilen bu primerlerin iki türü birbirlerinden ve diğer bitki paraziti nematod türlerden başarılı şekilde ayırabildiğini göstermiştir. *Globodera rostochiensis*'in 1 kistten izolasyon yapılan DNA'ları rutin 61-55°C touchdown KASP protokolünde çalışmıştır. *Globodera pallida*'da ise 1 kistten elde edilen DNA'lar 61-55°C touchdown protokolünde döngü sayısı artırılarak (26 döngü yerine 29 döngü) başarılı bir şekilde çalıştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar, geliştirilen KASP primerlerinin sadece 1 kistten elde edilen DNA'lar kullanılarak hızlı ve doğru bir şekilde tanımlanabileceğini gösterilmiştir. *Globodera rostochiensis*'e ait larvaların tanımlanmasında rutin KASP primer setinin (üçlü primer setinin) sonuç vermediği görülmüş bu durumda Devran ve Göknur (2023)'ün modifiye ettiği KASP protokolü (yalnızca forward 1 ile reverse primerlerinin birlikte kullanılması) ve PCR döngü sayısı (26 döngü yerine 29 döngü) artırılarak denenmiştir. *Globodera rostochiensis* izolatlarında >8 larvadan elde edilen DNA'ların çalıştığı görülmüştür. *Globodera pallida*'ya ait larvaların tanımlanmasında ise yalnızca PCR döngü sayısı artırılarak (26 döngü yerine 29 döngü) 1 larvanın başarılı şekilde tanımlandığı belirlenmiştir. Yukarıda belirtilen farklılıklar DNA izolasyon kitinden, geliştirilen primerlerin gen bölgelerinden, genin kopya sayısından ve primerlerin dizilimlerinden kaynaklanmış olabilir.

Patates üretiminde ekonomik zarara neden olan bir diğer nematod grubu da kök-ur nematodlarıdır. Dünya çapında yapılan araştırmalarda çeşitli *Meloidogyne* türlerinin patates üzerinde zararlar oluşturduğu tespit edilmiştir (Ingham vd. 2000; Karssen vd. 2004; Vovlas vd. 2005; Maleita vd. 2012; Onkendi ve Moleleki 2013; Medina vd. 2014; Hay vd. 2016; Maleita vd. 2018; Geric Stare vd. 2022; Liu ve Grabau, 2022; Bacic 2022). Bu türler, patates bitkisinin sadece gelişimini engellemeyip aynı zamanda patates yumruları üzerinde oluşturdukları urlar nedeniyle ürünün market değerini de düşürmektedirler (Vovlas vd. 2005). Türkiye'de yapılan araştırmalarda şimdiye kadar *M. hapla*, *M. chitwoodi*, *M. incognita* ve *M. javanica* türleri tespit edilmiş olup özellikle *M. hapla* ve *M. chitwoodi* türleri Türkiye'deki patates yetiştiriciliği yapılan alanlarda en sık tespit edilen türler olarak belirlenmiştir (Özarslandan vd. 2005; Kepenekçi vd. 2006; Özarslandan vd. 2009; Özarslandan ve Elekçioğlu 2010; Ulutaş 2010; Özarslandan vd. 2013; Evlice ve Bayram 2016; Demirbaş Pehlivan vd. 2020; Evlice 2021). *Meloidogyne hapla* ve *M. chitwoodi*'nin patates yetiştiriciliği yapılan alanlardaki yaygınlığı, serin iklim koşullarına adapte olmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Türkiye'de *M. hapla* türü patates dışında domates, hıyar, biber, patlıcan, kivi, pepino, maydanoz gibi farklı bitki türlerinde de tespit edildiği bildirilmiştir (Özarslandan vd. 2005; Akyazı vd. 2012, 2017; Uysal vd. 2017; Yılmaz vd. 2023). *Meloidogyne hapla*'nın özelleştiği konukçu sayısının fazla olması nedeniyle bu türün doğru ve hızlı bir şekilde tanılanması karantina önlemleri ve mücadele stratejileri açısından oldukça önemlidir. *Meloidogyne hapla* türü, hedef satelit DNA'lar, ITS ve COII bölgelerinden geliştirilen primerler ile SCAR yöntemi kullanılarak klasik PCR ile tanılanmıştır (Piotte vd. 1995; Castagnone-Sereno vd. 1995; Zijlstra 1997, 2000; Handoo vd. 2005; Nyoike vd. 2012). Bu çalışmada *M. hapla*

popülasyonlarının doğrulanması için JMV1/JMV2/JMVhapla primerleri kullanılmış ve elde edilen sonuçlar önceki çalışmalarla uyumlu bulunmuştur (Wishart vd. 2002; Adam vd. 2007; Evlice 2021). Bu türün tanılanması için klasik PCR kullanılabilir olmasına rağmen bazen DNA dizilerindeki baz değişiklikleri yanlış sonuçların oluşmasına yol açmaktadır. Bu nedenle *M. hapla* türünü tanılamak için yeni moleküler tekniklerden olan TaqMan problemleri (Sapkota vd. 2016) ve LAMP primerleri (Peng vd. 2017) geliştirilmiştir. Bu çalışmada yeni moleküler tekniklerden biri olan KASP tekniği kullanılarak *M. hapla* türü tanılanmıştır. Geliştirilen KASP-NMhp primerleri çoklu larvadan izolasyonu yapılan DNA'lar kullanıldığında beklendiği gibi sadece *M. hapla* izolatlarında başarılı bir şekilde çalışmış, diğer bitki paraziti nematod türlerinde herhangi bir ışına vermemiştir. Elde edilen sonuçlar, KASP-NMhp primerlerinin *M. hapla* izolatlarını diğer kök-ur nematodlarından ve diğer bitki paraziti nematod türlerinden etkili bir şekilde ayırt edebildiğini göstermiştir. Ayrıca, *M. hapla*'nın 1 J₂'den izole edilen DNA'lar KASP-NMhp primerleriyle 61-55°C touchdown KASP protokolünde yalnızca PCR döngü sayısı artırılarak (26 döngü yerine 29 döngü) başarılı ve etkin bir şekilde çalışmıştır. Bu türün tanılanması için 1 J₂'nin yeterli olduğu belirlenmiştir.

Columbia kök-ur nematodu (*M. chitwoodi*) düşük sıcaklıklarda yumurtadan çıkarak üretim sezonu boyunca popülasyonunu hızla arttırmakta dolayısıyla patates üretiminde büyük bir tehditte yol açmaktadır (Anderson ve Gleason 2023). *Meloidogyne chitwoodi* Avrupa Birliği karantina zararlısı olarak sınıflandırılmış ve 2000/29/EC (EC 2000) sayılı konsey direktifinin EK I, Bölüm A, Kısım 2'de listelenmiştir. *Meloidogyne chitwoodi* türü *M. hapla*'ya kıyasla patates yumruları üzerinde daha fazla urlanmalara neden olmaktadır (Pinkerton vd. 1991; Ingham vd. 2000). Bu urlanmalar patates yüzeyinin engebeli-bozuk görünmesine sebebiyet vermektedir. Ayrıca, dişi bireyin bulunduğu yumru eti etrafında koyu lekelenmeler meydana gelmektedir. Bu görsel kusurlar patatesin pazar değerini önemli ölçüde azaltmaktadır (Ingham vd. 2000; Anderson ve Gleason 2023). Patates üretim alanlarında ekonomik kayıplara yol açan bu türün tanılanması için çeşitli primerler geliştirilmiştir. Bu primerler klasik PCR (Powers 1993; Williamson vd. 1997; Zijlstra 1997, 2000; Wishart vd. 2002), Real-time PCR (Zijlstra ve Van Hoof 2006; De Haan vd. 2014; Anderson ve Gleason 2023) ve LAMP (Zhang ve Gleason, 2019) tekniklerine özgü olarak geliştirilmiştir. Bu çalışmada *M. chitwoodi* popülasyonlarının doğrulanması için JMV1/JMV2/JMVhapla primerleri (Wishart vd. 2002) kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar daha önce bu primerler kullanılarak yapılan tanılama çalışmaları ile uyumlu bulunmuştur (Wishart vd. 2002; Adam vd. 2007; Devran vd. 2009; Onkendi 2012; Evlice 2021). Bu çalışmada *M. chitwoodi* türünü tanılamak için KASP-Mch primerleri geliştirilmiştir. *Meloidogyne chitwoodi*'ye ait çoklu larvalardan elde edilen DNA'lar kullanılarak ve PCR döngü sayısı artırılarak (26 döngü yerine 29 döngü) bu tür diğer kök-ur nematodlarından ve bitki paraziti nematodlarından başarılı bir şekilde ayırt edilebilmiştir. Çalışmada *M. chitwoodi* J₂ larvasından elde edilen DNA'lar ve *M. chitwoodi* ile enfekteli patates yumrusunun dokusundan doğrudan izolasyon yapılarak elde edilen DNA'lar KASP-Mch primerleriyle rutin KASP protokolünde çalışmamıştır. Bu durumda aynı örnekler, Devran ve Göknur (2023)'ün geliştirdiği yaklaşım kullanılarak KASP-Mch primerler setinden forward 1 ve reverse primer birlikte kullanılarak ve 61-55°C touchdown protokolünde 26 döngü yerine 29 döngü kullanılarak tanılanmıştır. Böylece >20 adet larva DNA'ları ve *M. chitwoodi* ile enfekteli patates yumru dokusundan doğrudan izolasyon yapılarak elde edilen DNA'lar ile *M. chitwoodi* türünün KASP çalışmasıyla tanılanabileceği gösterilmiştir.

6. SONUÇLAR

Patates; değişik iklim koşullarına adaptasyonu, önemli besin değerlerine sahip olması ve yüksek verimliliği sayesinde yaygın bir şekilde yetiştiriciliği yapılmaktadır (Yılmaz vd. 2006; Kılıçer 2019). Patates, insanların gıda ihtiyaçlarını karşılayan bir besin kaynağı olmasının yanı sıra hayvan yemi ve tohumluk olarak da kullanılmaktadır (Öztürk ve Polat 2017; Kadakoğlu 2021). Geniş bir kullanım yelpazesine sahip olan patatesin yetiştiriciliğini kısıtlayan önemli hastalık ve zararlıları bulunmaktadır. Zararlılar grubu içerisinde patates kist nematodları (*G. rostochiensis*, *G. pallida*) ve kök-ur nematodları (*M. chitwoodi* ve *M. hapla*) en başta gelen zararlılar arasındadır. Bu türler Bitki Karantina Yönetmeliği'nde bulunmakta olup, yayılımlarını sınırlandırabilmek ve etkin bir şekilde mücadele yöntemi ortaya koyabilmek için, güvenilir ve hızlı bir şekilde tanılanması gerekmektedir. Bu amaçla günümüze kadar çeşitli araştırmacılar tarafından bu türler klasik PCR (Bulman ve Marshall 1997; Zijlstra 2000; Vejl vd. 2002; Wishart vd. 2002), Real-time PCR (Madani vd. 2005; Zijlstra ve Van Hoof 2006; Toyota vd. 2008; Nowaczyk vd. 2008; De Haan vd. 2014; Sapkota vd. 2016; Gamel vd. 2017) ve LAMP yöntemleri (Peng vd. 2017; Zhang ve Gleason, 2019; Ahuja vd. 2021; Camacho vd. 2021) kullanılarak tanılanmıştır.

Yeni bir moleküler sistem olan KASP, alle-özümlü oligo uzaması ve floresans rezonans enerji transferine (FRET) dayanan bir genotipleme sistemidir (Kumpatla vd. 2012; Semagn vd. 2014). Bu yöntem bitkilerde dayanıklılık genlerinin seleksiyonunda ve haritalanmasında yaygın şekilde kullanılmaktadır (Shi vd. 2015; Holdsworth ve Mazourek 2015; Devran vd. 2016; Devran ve Kahveci 2019). Son yıllarda bitki paraziti nematodlarının tanılanmalarında da kullanılmaya başlanmıştır (Devran ve Gökner 2020, 2023).

Bu çalışmada KASP tekniği kullanılarak patates kist nematodları içerisinde en önemli iki tür olan *G. rostochiensis* ve *G. pallida* türleri tanılanmıştır. Bu türleri tanılamak için geliştirilen KASP-Gr ve KASP-Gp primerleri bu türleri birbirlerinden ve diğer nematod türlerinden ayırt edebilmiştir. Ayrıca bu türlerin tanılanmaları için 1 adet kist DNA'sının yeterli olduğu tespit edilmiştir. Larva düzeyinde yapılan KASP çalışmalarında; KASP-Gr primerinin *G. rostochiensis* türünü tanılamak için >8 adet J₂, KASP-Gp primerlerinin ise 1 adet *G. pallida* larva DNA'sının yeterli olduğu belirlenmiştir.

Patatesin yanı sıra pek çok kültür bitkisinde ekonomik zarar oluşturduğu belirlenen *M. hapla* türü de ilk kez bu çalışmada KASP tekniği kullanılarak tanılanmıştır. *Meloidogyne hapla* türüne özgü geliştirilen KASP-NMhp primerleri ile bu tür, diğer kök-ur nematodlarından ve bitki paraziti türlerinden ayırt etmiştir. Ayrıca, KASP-NMhp primerinin *M. hapla*'nın 1 adet larvasından elde edilen DNA miktarıyla bu türü tanılamayabildiği belirlenmiştir.

Patates üretiminde büyük tehdit oluşturan *M. chitwoodi* için geliştirilen KASP-Mch primerleri bu türe ait popülasyonları diğer *Meloidogyne* türlerinden ve bitki paraziti nematodlardan ayırt edilebilmiştir. Ayrıca KASP-Mch primerlerinin, *M. chitwoodi* enfekteli patates yumrularından herhangi bir ekstraksiyon yöntemi kullanmadan elde edilen total DNA ile bu türü tanılayabildiği belirlenmiştir. Larva düzeyinde yapılan

çalışmalarda KASP-Mch primerinin etkin bir şekilde çalışması için >20 adet J₂ DNA'sının gerekli olduğu tespit edilmiştir.

Globodera rostochiensis, *G. pallida*, *M. hapla* ve *M. chitwoodi* türleri patates üretimini kısıtlayan karantina zararlıları olduklarından doğru tanılanmaları oldukça önemlidir. Ayrıca üretim alanlarında bulaşıklık durumlarının belirlenmesi, yaygınlıklarının önlenmesi ve doğru zamanda mücadele stratejilerinin oluşturulması için bu türlerin doğru ve hızlı tanılanması çok önemlidir. Bu çalışma kapsamında geliştirilen türe özgü KASP primerleri bu türlerin karantina laboratuvarları başta olmak üzere pek çok laboratuvar da hızlı ve doğru bir şekilde tanılanmasında etkin bir şekilde kullanılabilecektir.



7. KAYNAKLAR

- Abad, P., Favery, B., Rosso, M.N. and Castagnone-sereno, P. 2003. Root-knot nematode parasitism and host response: Molecular basis of a sophisticated interaction. *Molecular Plant Pathology*, 4 (4): 217-224.
- Abad, P. and Williamson, V.M. 2010. Plant nematode interaction: a sophisticated dialogue. *Advances in Botanical Research*, 53: 147-192.
- Abd-Elgawad, M.M.M. and Hasabo, S.A. 1995. Spatial distribution of the phytonematode community in Egyptian berseem clover fields. *Fundamental and Applied Nematology*, 18: 329-334.
- Abd-Elgawad, M.M.M. 2020. Biological control agents in the integrated nematode management of potato in Egypt. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30: 1-13.
- Abed M.M. ve Demirhan, B. 2018. Patates bitkisine (*Solanum tuberosum* L.) genel bir bakış. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 1 (1): 1-9.
- Adam, M.A.M., Phillips, M.S. and Blok, V.C. 2007. Molecular diagnostic key for identification of single juveniles of seven common and economically important species of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.). *Plant Pathology*, 56: 190-197.
- Ahuja, A., Joshi, V., Singh, G., Kundu, A., Bhat, C.G., Kumar, S., Rao U. and Somvanshi, V.S. 2021. Rapid and sensitive detection of potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* by loop-mediated isothermal amplification assay. *3 Biotech*, 11 (294): 1-8.
- Akyazı, F., Han, H., Cetintaş, R and Felek, A.F. 2012. First report of root-knot nematodes, *Meloidogyne arenaria* and *M. hapla* (Nemata: Meloidogynidae) from pepino in Turkey. *Nematologia Mediterranea*, 40 (2): 107-110.
- Akyazı, F., Joseph, S., Felek, A.F. and Mekete, T. 2017. Mitochondrial haplotype-based identification of root-knot nematodes, *Meloidogyne arenaria* and *Meloidogyne hapla*, infecting kiwifruit in Turkey. *Nematropica*, 47 (1): 34-48.
- Alkan, B. 1962. Türkiye'nin Zararlı Nematod Faunası Üzerinde İlk İncelemeler. *Bitki Koruma Bülteni*, 2 (12):17-25.
- Altaş, A., Evlice, E., Özer G., Dababat, A. and İmren, M. 2020. Identification, distribution and genetic diversity of *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Skarbilovich, 1959 (Tylenchida: Heteroderidae) populations in Turkey. *Turkish Journal of Entomology*, 44 (3): 385-397.
- Altuntaş, E., Yılmaz, G., Dulger, E. and Karan Y.B. 2012. Patates yumrularının bazı fiziksel özellikleri. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 1: 42-49.
- Anderson, S.D. and Gleason, C.A. 2023. A molecular beacon real-time polymerase chain reaction assay for the identification of *M. chitwoodi*, *M. fallax*, and *M. minor*. *Frontiers in Plant Science*, 14: 1096239.
- Anonim 1: Türkiye'de en çok patates üreten iller <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1> [Son erişim Tarihi: 04.11.2023].

- Anonymous 1: New light on a hidden treasure 2008; <http://www.fao.org/potato-2008/pdf/IYPbook-en.pdf> [Son Erişim Tarihi: 29.03.2018].
- Anonymous 2: World potato production in 2021. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> [Son erişim tarihi: 03.10.2021].
- Anonymous 3: EPPO Global Database. *Globodera pallida*. <https://gd.eppo.int/taxon/HETDRO/distribution> [Son Erişim Tarihi: 30.11.2023]
- Anonymous 4: Meloidogyne hapla (root knot nematode) <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.33244#REF-DDB-141993> [Son Erişim Tarihi: 30.11.2023].
- Anonymous 5: *Meloidogyne chitwoodi* (columbia root-knot nematode) <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.33235> [Son Erişim Tarihi: 01.12.2023].
- Aydınlı, G. 2018. Detection of the root-knot nematode *Meloidogyne luci* Carneiro et al., 2014 (Tylenchida: Meloidogynidae) in vegetable fields of Samsun Province, Turkey. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 42 (3): 229-237.
- Aydınlı, G. and Mennan, S. 2019. Reproduction of root-knot nematode isolates from the middle Black Sea Region of Turkey on tomato with *Mi-1.2* resistance gene. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 43 (4): 417-427.
- Bacic J., Bosnic D., Samardzic J., Avdalovic R., Stefanovic V.M. and Kusic-Tisma J. 2022. Occurrence of root-knot nematode *Meloidogyne arenaria* in the potato field in Serbia. *Ratarstvo Povrtarstvo*, 59 (2): 51-55.
- Baidya, S., Timila, R.D., KC, R.B., Manandhar, H.K. and Manandhar, C. 2017. Management of root-knot nematode on tomato through grafting root stock of *Solanum sisymbriifolium*. *Journal of Nepal Agricultural Research Council*, 3: 27-31.
- Bairwa, A., Venkatasalam, E.P., Umamaheswari, R., Sudha, R. and Singh, B.P. 2017. Effect of cultural practices on potato cyst nematode population dynamics and potato tuber yield. *Indian Journal of Horticulture*, 74 (1): 91-96.
- Bakker, E., Achenbach, U., Bakker, J., van Vliet, J., Peleman, J., Segers, B., van der Heijden, S., van der Linde, P., Graveland, R., Hutten, R., van Eck, H., Coppoolse, E., van der Vossen, E., Bakker, J. and Goverse, A. 2004. A high-resolution map of the *H1* locus harbouring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Theoretical and Applied Genetics*, 109: 146-152.
- Bates, J.A., Taylor, E.J., Gans, P.T. and Thomas, J.E. 2002. Determination of relative proportions of *Globodera* species in mixed populations of potato cyst nematodes using PCR product melting peak analysis. *Molecular Plant Pathology*, 3 (3): 153-161.
- Belair, G., Dauphinais, N. and Mimee, B. 2016. Evaluation of cultural methods for the management of the golden nematode (*Globodera rostochiensis*) in Quebec, Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 38 (2): 209-217.
- Berge, J.B. and A. Dalmasso. 1975. Caracteristiques biochimiques de quelques populations de *Meloidogyne hapla* et *Meloidogyne* spp. *Cahiers de l'Ofrice de la Recherche Scientifique et Technique Outre Mer Serie Biologie*, 10: 263-271.

- Bora, A. 1970. Karadeniz Bölgesi Bitki Parazit Nematodlarının Tür ve Yayılış Alanlarının Tesbiti ve İlaçlı Mücadele İmkânları Üzerinde Araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 10 (1): 53-71.
- Borazancı, N., Arınç, Y., Özkut, S. and Çınarlı I. 1985. Nematological researches done in Turkey in last twenty years (Son yıllarda Türkiye’de yapılan nematolojik çalışmalar). Ministry of Agriculture and Rural Affairs, General Directorate of Protection and Control, Bornova Plant Protection Research Institute. Research reports, 3: 13-21.
- Brodie B.B., Evans K. and Franco, J. 1993. Nematode parasites of potatoes. In: Evans, K., Trudgill, D.L. and Webster, J.M. (Ed.), *Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 87-132.
- Brodie, B.B. 1998. Potato. In: Baker, K.R., Pederson, G.A. and Windham G.L. (Ed.), *Plant and Nematode Interactions*. American Society of Agronomy, Madison, WI, pp. 567-593.
- Brown, C.R., Mojtahedi, H. and Santo, G.S. 1989. Comparison of reproductive efficiency of *Meloidogyne chitwoodi* on *Solanum bulbocastanum* in soil and *in vitro* tests. *Plant Disease*, 73: 957-959.
- Brown C.R., Mojtahedi H. and Bamburg J. 2004. Evaluation of *Solanum fendleri* as a source of resistance to *Meloidogyne chitwoodi*. *American Journal of Potato Research*, 81: 415-419.
- Brown, C.R., Mojtahedi, H., Zhang, L.H. and Riga, E. 2009. Independent resistant reactions expressed in root and tuber of potato breeding lines with introgressed resistance to *Meloidogyne chitwoodi*. *Phytopathology*, 99: 1085-1089.
- Bulman, S.R. and Marshall, J.W. 1997. Differentiation of Australasian potato cyst nematode (PCN) populations using the polymerase chain reaction (PCR). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 25 (2): 123-129.
- Burrows, P.R. and Perry, R.N. 1988. Two cloned DNA fragments which differentiate *Globodera pallida* from *G. rostochiensis*. *Revue de Nematologie*, 11: 441-445.
- Caillaud, M.C., Dubreuil, G., Quentin, M., Perfus-Barbeoch, L., Lecomte, P., de Almeida Engler, J., Abad, P., Rosso, M.N. and Favery, B. 2008. Root-knot nematodes manipulate plant cell functions during a compatible interaction. *Journal of Plant Physiology*, 165: 104-113.
- Camacho, M.J., Inácio, M.L., Mota, M. and de Andrade, E. 2021. Development and validation of a loop-mediated isothermal amplification diagnostic method to detect the quarantine potato pale cyst nematode, *Globodera pallida*. *Pathogens*, 10 (744): 1-16.
- Cao, A.X., Liu, X.Z., Zhu, S.F. Lu, B.S. 2005. Detection of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, using a real-time polymerase chain reaction assay. *Phytopathology*, 95: (5), 566-571.
- Carneiro, R.M.D.G., Correa V.R., Almeida, M.R.A., Gomes, A.C.M.M., Deimi, A.M., Castagnone-Sereno, P. and Karssen, G. 2014. *Meloidogyne luci* n. sp. (Nematoda: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitising different crops in Brazil, Chile and Iran. *Nematology*, 16 (3): 289-301.

- Castagnone-Sereno, P., Esparrago, G., Abad, G., Leroy, F. and Bongiovanni, M. 1995. Satellite DNA as a target for PCR specific detection of the plant-parasitic nematode *Meloidogyne hapla*. *Current Genetics*, 28: 566-570.
- Chitwood, B.G. 1949. 'Root-knot nematodes'. Part 1. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. *Proceedings of the Helminthological society of Washington*, 16 (2): 90-114.
- Chitwood, D.J. 2003. Nematicides. In: Plimmer, J.R., Gammon, D.W. and Ragsdale, N.N. (Ed.), *Encyclopedia of Agrochemicals*, Vol.3. John Wiley & Sons, New York, pp. 1104–1015.
- Chitwood, D.J. and Perry, R.N. 2009. Reproduction, physiology and biochemistry. In: Perry, R.N., Moens, M. and Starr, J.L. (Ed.), *Root-Knot Nematodes*. Oxfordshire: CAB International, Wallingford, pp. 182-200.
- Christie, J.R. 1942. A Description of *Aphelenchoides besseyi* n. sp. the summer-drawf nematode of strawberries, with commence on the identify of *Aphelenchoides subtenuis* (Cobb, 1962) and *Aphelenchoides hodsoni* (Goodey, 1935). *Proceeding of Helminthological Society of Washington*, 9: 82-84.
- Contina, J.B., Dandurand, L.M. and Knudsen, G.R. 2017. Use of GFP-tagged *Trichoderma harzianum* as a tool to study the biological control of the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Applied Soil Ecology*, 115: 31-37.
- Curtis, R.H.C. 2007. Plant parasitic nematode proteins and host-parasite interaction. *Briefings in Functional Genomics and Proteomics*, 6 (1): 50-58.
- Çaylak, Ö. 2002. Ham yumru kalitesini belirleyen faktörler. In: Şimşek, Y. (Ed.), *Patates Tarımı*. Kar Tarım, Ankara, pp. 104-110.
- Dalmasso, A. and J.B. Berge. 1978. Molecular polymorphism and phylogenetic relationship in some *Meloidogyne* spp.: Application to the taxonomy of *Meloidogyne*. *Journal of Nematology*, 10: 323-332.
- De Boer, J.M., Overmars, H.A., Pomp, R., Davis, E.L., Zilverentant, J.F., Goverse, A., Smant, G., Stokkermans, J.P.W.G., Hussey, R.S., Gommers, F.J., Bakker, J. and Schots, A. 1996. Production and characterization of monoclonal antibodies to antigens from second-stage juveniles of the potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*. *Fundamental and Applied Nematology*, 19 (6): 545-554.
- De Haan, E., Dekker, C., Tameling, W., Den Nijs, L., Van Den Bovenkamp, G. and Kooman- Gersmann, M. 2014. The MeloTuber Test: a real-time TaqMan® PCR-based assay to detect the root-knot nematodes *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax* directly in potato tubers. *EPPO Bulletin*, 44 (2): 166-175.
- Delannay, X., McLaren, G. and Ribaut, J.M. 2012. Fostering molecular breeding in developing countries. *Molecular Breeding*, 29: 857-873.
- De Man, J.G. 1880. Die Eingheimischen, frei in der reinen erde und im süssen wasser lebends Nematoden. *Tijdschrift der Nederlandsche Dierkundige Vereeniging*, 5: 1-104.
- Demirbaş Pehlivan H. 2020. İzmir ili patates üretim alanlarında patates kist nematodları (*Globodera* spp.) ve kök-ur nematodları (*Meloidogyne* spp.) türlerinin yaygınlığı, yoğunluğu ve ırklarının tespiti, çeşit veya hat reaksiyonları ile dayanıklılık

- genlerinin moleküler işaretçilerle saptanması. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, 149 s.
- Demirtaş Pehlivan, H., Kaşkavalcı, G., Uludamar, E.B.K., Toktay, H. and Elekçioğlu, H. 2020. Identification and prevalence of potato cyst nematodes and root-knot nematodes in the potato production areas of İzmir Province, Turkey. *Turkish Journal of Entomology*, 44 (2): 259-272.
- Den Nijs, L., Camilleri, M., Diakaki, M., Schenk, M. and Vos, S. 2019. Pest survey card on *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. *EFSA Supporting Publications*, 16 (2): 1566E.
- Devran, Z., Gözel, U., Söğüt, M., Yıldız, Ş. and Elekçioğlu, İ.H. 2002. Identification of root-knot nematodes in the Mediterranean region of Turkey by using rDNA and mtDNA markers. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 26 (6): 337-341.
- Devran, Z., Mutlu, N., Özarslandan, A. and Elekçioğlu, İ.H. 2009. Identification and genetic diversity of *Meloidogyne chitwoodi* in potato production areas of Turkey. *Nematropica*, 39 (1): 75-83.
- Devran, Z. and Söğüt, M.A. 2009. Distribution and identification of root-knot nematodes from Turkey. *Journal of Nematology*, 41 (2): 128-133.
- Devran, Z., Göknur, A. and Mesci, L. 2016. Development of molecular markers for the *Mi-1* gene in tomato using the KASP genotyping assay. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 57: 156-160.
- Devran, Z. and Kahveci, E. 2019. Development and validation of a user-friendly KASP marker for the *Sw-5* locus in tomato. *Australasian Plant Pathology*, 48: 503-507.
- Devran, Z. and Göknur, A. 2020. Development and validation of a SNP-based KASP assay for rapid identification of *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942. *Crop Protection*, 136: 1-6.
- Devran, Z. and Göknur, A. 2023. Molecular diagnosis and differentiation of *Meloidogyne arenaria*, *Meloidogyne javanica* and *Meloidogyne incognita* using SNP-based KASP assays. *Crop Protection*, 174: 1-7.
- Dickson, D.W., Huisinigh, D. and Sasser, J.N. 1971. Dehydrogenases, acid and alkaline phosphatases, and esterases for chemotaxonomy of selected *Meloidogyne*, *Ditylenchus*, *Heterodera* and *Aphelenchus* spp. *Journal of Nematology*, 3: 1-16.
- Diker, T. 1959. Nebat Parazit Nematodları. Mars T. ve S.A.Ş. Matbaası: 70, Ankara, 98 s.
- Dinh, P.T.Y., Brown, C.R. and Elling, A.A. 2014. RNA Interference of effector gene Mc16D10L confers resistance against *Meloidogyne chitwoodi* in Arabidopsis and Potato. *Phytopathology*, 104: 1098-1106.
- Dong, L., Yao, H., Li, Q., Song, J., Li, Y., Luo, H. and Chen, S. 2013. Investigation and integrated molecular diagnosis of root-knot nematodes in *Panax notoginseng* root in the field. *European journal of plant pathology*, 137: 667-675.
- EC 2000. Council Directive 2000/29/EC of May 2000 on protective measures against the introduction into the Community of organisms harmful to plants or plant products

- and against their spread within the Community. *Official Journal of the European Communities*, 43: L169.
- El Hajji, L. and Horrigne-Raouani, N. 2012. Efficiency of Solarization and incorporation of cattle manure in management of *Meloidogyne javanica* (Treub.) Chitwood and *Globodera pallida* (Stone) Behrens associated with potato. *Pest Technologies*, 6: 75-78.
- Enneli, S. ve Öztürk, G. 1996. Orta Anadolu Bölgesinde patateslerde zarar yapan, önemli bitki paraziti nematodlar, Türkiye 3. Entomoloji Kongresi Bildirileri, ss. 396-403, 24-28 Eylül 1996, Ankara.
- EPPO 1991. *Meloidogyne chitwoodi* present in Netherlands. *FAO Plant Protection Bulletin* 39: 187.
- EPPO 2004. Diagnostic protocols for regulated pests. *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. *EPPO Bulletin*, 34: 309-314.
- EPPO 2013. *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida* Specific scope PM 7/40 (3). *OEPP/EPPO Bulletin*, 43 (1): 119-138.
- EPPO 2017. *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida* PM 7/40 (4). *EPPO Bulletin*, 47: 174-197.
- Ertürk, H. ve Özkut, S. 1973. Ege Bölgesi Şartlarında Kök-Ur Nematodlarına Dayanıklı Asma Anacı Araştırılması. IV. Bilim Kongresi, 5-8 Kasım, Ankara.
- Esbenshade, P.R. and A. C. Triantaphyllou. 1985. Electrophoretic methods for the study of rootknot nematode enzymes. In: Barker, K.R., Carter, C.C. and Sasser, J.N. (Ed.), An advanced treatise on *Meloidogyne*, vol. 2. Methodology. Raleigh: North Carolina State University Graphics, pp. 115-123.
- Esbenshade, P.R. and Triantaphyllou, A.C. 1987. Enzymatic relationships and evolution in the genus *Meloidogyne* (Nematoda: Tylenchida). *Journal of Nematology*, t9: 8-18.
- Esendal, E. 1990. Nişasta Şeker Bitkileri ve Islahı. *OMÜ Ziraat Fakültesi Genel Yayınları*, 1: 221.
- Evlice, E. and Bayram, Ş. 2016. Identification of root-knot nematode species (*Meloidogyne* spp.) (Nemata: Meloidogynidae) in the potato fields of Central Anatolia (Turkey) using molecular and morphological methods. *Turkish Bulletin of Entomology*, 6 (4): 339-347.
- Evlice, E. 2021. Current occurrence and prevalence of root-knot nematodes species, *Meloidogyne* spp. Goeldi, 1892 (Tylenchida: Meloidogynidae) in ware potato fields of Turkey. *Turkish Journal of Entomology*, 45 (2): 217-228.
- Evlice, E., Yatkın, G., Öcal A., Güvel, C. and Toktay, H. 2021. Türkiye'deki Altın Kist Nematodu (*Globodera rostochiensis*) Popülasyonlarının Morfolojik Tanımlanması. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, (3): 747-758.
- Fenwick, D.W. 1940. Methods for the recovery and counting of cysts of *Heterodera schachtii* from soil. *Journal of Helminthology*, 18: 155-172
- Fleming, C.C. and Powers, T.O. 1998. Potato cyst nematode diagnostics: morphology, differential hosts and biochemical techniques. In: Marks, R.J. and Brodie, B.B.

- (Ed.), Potato Cyst Nematodes, Biology, Distribution and Control. CAB International, Wallingford (GB), pp. 91-114.
- Fox, P.C. and Atkinson, H.J. 1984. Isoelectric focusing of general protein and specific enzymes from pathotypes of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Parasitology*, 88 (1): 131-139.
- Fox, P.C. and Atkinson, H.J. 1985. Enzyme variation in pathotypes of the potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Parasitology*, 91 (3): 499-506.
- Franklin, M.T. 1940. On the identification of strains of *Heterodera schachtii*. *Journal of Helminthology*, 18: 63-84.
- Franklin, M.T. 1961. A British root-knot nematode, *Meloidogyne artiellia* n. sp. *Journal of Helminthology*, 35 (S1): 85-92.
- Fullaondo, A., Barrena, E., Viribay, M., Barrena, I., Salazar, A. and Ritter, E. 1999. Identification of potato cyst nematode species *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* by PCR using specific primer combinations. *Nematology*, 1 (2): 157-163.
- Gamel, S., Letort, A., Fouville, D., Folcher, L. and Grenier, E. 2017. Development and validation of real-time PCR assays based on novel molecular markers for the simultaneous detection and identification of *Globodera pallida*, *G. rostochiensis* and *Heterodera schachtii*. *Nematology*, 19 (7): 789-804.
- Gebhardt, C., Mugniery, D., Ritter, E., Salamini, F. and Bonnel, E. 1993. Identification of RFLP markers closely linked to the *H1* gene conferring resistance to *Globodera rostochiensis* in potato. *Theoretical and Applied Genetics*, 85: 541-544.
- Gebhardt, C. and Valkonen, J.P.T. 2001. Organization of genes controlling disease resistance in the potato genome. *Annual Review of Phytopathology*, 39: 79-102.
- Geric Stare, B., Susic, N., Starovic, M. and Sirca, S. 2022. Potato (*Solanum tuberosum*) – a new host for the root-knot nematode *Meloidogyne inornata*. *Phytopathologia Mediterranea* 61(1): 165-168.
- Ghaderi, R. and Karssen, G. 2020. An updated checklist of *Meloidogyne* Göldi, 1887 species, with a diagnostic compendium for second-stage juveniles and males. *Journal of Crop Protection*, 9:183-193.
- Golden, A.M., O'Bannon, J.H., Santo, G.S. and Finley, A.M. 1980. Description and SEM observations of *Meloidogyne chitwoodi* n. sp. (Meloidogynidae), a root-knot nematode on potato in the Pacific Northwest. *Journal of nematology*, 12 (4): 319-327.
- Golinowski, W., Sobczak, M., Kurek, W. and Grymaszewska, G. 1997. The structure of syncytia. In: Fenoll, C., Grundler, F.M.W. and Ohl, S. (Ed.), Cellular and Molecular Aspects of Plant–Nematode Interactions. Dordrecht: Kluwer Academic, pp. 80-97.
- Gomes, C.B. and Souza, R.M. 2003. Doenças causadas por nematoides. In: Pereira, A.S. and Daniels, J. (Ed.), O cultivo da batata na região sul do Brasil. 1st ed. Brasília, Brazil: Embrapa, pp. 321-349.

- Grenier, E., Fournet, S., Petit, E. and Anthoine, G.A. 2010. A cyst nematode 'species factory' called the Andes. *Nematology*, 12: 163-169.
- Günel, E., Çalışkan, M.E., Kuşman, N., Tugrul, K.M., Yılmaz, T.A., Ağırnaslıgil, T. And Onaran, H., 2010. Nişasta ve şeker bitkileri üretimi. Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, ss. 377-396, 11-15 Ocak, Ankara.
- Hafez, S.L. and Sundararaj, P. 2006. Evaluation of fumigant and non-fumigant nematicides for the control of *Meloidogyne chitwoodi* on potato. *Nematologia Mediterranea*, 34: 147-149.
- Handoo, Z.A., Skantar, A.M., Carta, L.K. and Schmitt, D.P. 2005. Morphological and molecular evaluation of a *Meloidogyne hapla* population damaging coffee (*Coffea arabica*) in Maui, Hawaii. *Journal of Nematology*, 37: 136-145.
- Hawkes, J.G. 1990. The Potato: Evolution, Biodiversity and Genetic Resources. Belhaven Press, London, 259 p.
- Hay, F.S., Ophel-Keller K., Hartley D.M. and Pethybridge, S.J. 2016. Prediction of potato tuber damage by root-knot nematodes using quantitative DNA assay of soil. *Plant Disease*, 100: 592-600.
- He, C., Holme, J. and Anthony, J. 2014. SNP genotyping: the KASP assay. *Crop breeding: methods and protocols*, 75-86.
- Hijmans, R.J., Spooner, D.M., Salas, A.R., Guarino, L. and De la Cruz, J. 2002. Atlas of Wild Potatoes. International Plant Genetic Resources Institute, Rome.
- Hirschmann, H. 1986. *Meloidogyne hispanica* n. sp. (Nematoda: Meloidogynidae), the 'Seville root-knot nematode'. *Journal of Nematology*, 18: 520.
- Hockland, S., Inserra, R.N., Millar, L. and Lehman, P.S. 2006. International plant health-putting legislation into practice. In: Perry, R.N. and Moens, M. (Ed.) Plant nematology, 2nd edition. CAB International, Wallingford, UK, pp. 327-345.
- Holdsworth, W.L. and Mazourek, M. 2015. Development of user-friendly markers for the pvr1 and Bs3 disease resistance genes in pepper. *Molecular Breeding*, 35: 1-5.
- Hooper, D.J. 1986. Extraction of free living stages from soil. In: Southey, J.F. (Ed.) Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. Her Majesty's Stationary Office, London, pp. 5-30.
- Hunt, D.J. 1993. Aphelenchida, longidoridae and trichodoridae: their systematics and bionomics. CAB International, Wallingford, UK., 368 p.
- Hunt, D. and Handoo, Z. 2009. Taxonomy, identification and principal species. In: Perry, R.N., Moens, M. and Star, J.L. (Ed.), Root Knot Nematodes. CABI, Wallingford, pp. 55-97.
- Hussey, R.S., Sasser, J.N. and Huisinigh, D. 1972. Disc-electrophoretic studies of soluble proteins and enzymes of *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria*. *Journal of Nematology*, 4: 183-189.
- Hyman, B.C. 1990. Molecular diagnosis of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology*, 22 (1): 24-30.

- Ingham R.E., Hamm P.B., Williams R.E. and Swanson, W.H. 2000. Control of *meloidogyne chitwoodi* in potato with fumigant and nonfumigant nematicides. *The society of nematologists*, 32 (4S): 556-565.
- İmren, M., Özarslandan, A., Kasapoğlu, E.C., Toktay, H. ve Elekcioglu, İ.H. 2014. Türkiye buğday faunası için yeni bir tür, *Meloidogyne artiellia* (Franklin)'nın morfolojik ve moleküler yöntemlerle tanımlanması. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 38 (2): 189-196.
- Jacobs, J.M.E., van Eck, H.J., Horsman, K., Arens, P.F.P., Verkerk- Bakker, B., Jacobsen, E., Pereira, A. and Stiekema, W.J. 1996. Mapping of resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* from the wild potato species *Solanum vernei*. *Molecular Breeding*, 2: 51-60.
- Janati, A., Berge, J.B., Triantaphyllou, A.C. and Dalmasso, A. 1982. Nouvelles donnees sur l'utilisation des isoesterases pour l'identification des *Meloidogyne*. *Revue de Nematologie*, 5: 147-154.
- Janssen, G.J.W., Scholten, O.E., van Norel, A. and Hoogendoorn, J. 1998. Selection of virulence in *Meloidogyne chitwoodi* to resistance in the wild potato *Solanum fendleri*. *European Journal of Plant Pathology*, 104: 645-651.
- Jenkins, S. and Gibson, N. 2002. High-throughput SNP genotyping. *Comparative and Functional Genomics*, 3: 57-66
- Jones, J.T., Haegeman, A., Danchin, E.G., Gaur, H.S., Helder, J., Jones, M.G., Kikuchi T., Manzanilla-Lopez R., Palmares-Rius J.E., Wesemael W.M.L. and Perry, R.N. 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 14 (9): 946-961.
- Jones, R.K., Storey, S.G., Knoetze, R. and Fourie, H. 2017. Nematode pests of potato and other vegetable crops. *Nematology in South Africa: a view from the 21st Century*, pp. 231-260.
- Kaczmarek, A., MacKenzie, K., Kettle, Ha and Blok, V.C. 2014. Influence of soil temperature on *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. *Phytopathologia Mediterranea*, 53 (3): 396-405.
- Kadakoğlu, B. 2021. Afyonkarahisar İlinde Patates Üretiminin Teknik ve Ekonomik Etkinliğinin Analizi. Yüksek Lisans Tezi, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Isparta, 144 s.
- Karadoğan, T. ve Şanlı, A. 2019. Patates yetiştiriciliğindeki güncel gelişmeler. 4th International Anatolian Agriculture, Food, Environment and Biology Congress, ss. 9-14, 20-22 Nisan, Afyonkarahisar.
- Karssen, G. 1996. Description of *Meloidogyne fallax* n. sp. (Nematoda: Heteroderidae), a root-knot nematode from The Netherlands. *Fundamental and applied Nematology*, 19 (6): 593-600.
- Karssen, G. 2002. The plant parasitic nematode genus *Meloidogyne* Göldi, 1892 (Tylenchida) in Europe. Brill, Leiden, The Netherlands, 161 p.
- Karssen, G., Bolk, R. J., Van Aelst, A., van den Beld, I., Kox, L., Korthals, G., Molendijk L., Zijlstra C., Van Hoof R. and Cook, R. 2004. Description of *Meloidogyne minor*

- n. sp.(Nematoda: Meloidogynidae), a root-knot nematode associated with yellow patch disease in golf courses. *Nematology*, 6 (1): 59-72.
- Karssen, G. and Moens, M. 2006. Root-knot nematodes. In: Perry, R.N. and Moens, M. (Ed.), *Plant Nematology*. CABI, London, pp: 59-90.
- Kearn, J., Lilley, C., Urwin, P., O'Connor, V. and Holden-Dye, L. 2017. Progressive metabolic impairment underlies the novel nematicidal action of fluensulfone on the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 142: 83-90.
- Kemner, N.A. 1929. Potatisnematoden eller potatisalen (*Heterodera schachtii* subsp. *rostochiensis* Woll.) och dess framträdande i Sverige. *Meddelande N:o 355 frdn Centralanstalten för försöksväsendet på jordbruksområdet. Lantbruksentomologiska avdelningen N:o 56*.
- Kepenekçi, İ., Toktay, H. and Özarslandan, A. 2006. Potato (*Solanum tuberosum* L.) fig (*Ficus* spp.) and mulberry (*Morus* spp.) new host records of root-knot nematodes in Turkey. *Pakistan Journal of Nematology*, 24 (2): 217-219.
- Kepenekçi, İ., Evlice, E. ve Öztürk, G. 2014. Ülkemiz örtü altı sebze üretiminde sorun olan yeni bir kök-ur nematodu türü (*Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887) ve diğer kök-ur nematodu türleri. *Bitki Koruma Bülteni*, 54 (1): 1-9.
- Khanal, C., Kularathna, M.T., Ray, J.D., Stetina, S.R., McGawley, E.C. and Overstreet, C. 2019. Single nucleotide polymorphism analysis using KASP assay reveals genetic variability in *Rotylenchulus reniformis*. *Plant disease*, 103 (8): 1835-1842.
- Kılıçer, E. 2019. Patates Üreticiliği Yapan Çiftçilerin Üretim Maliyetlerine İlişkin Algılarını Belirlemeye Yönelik Bir Araştırma: Niğde İli Örneği. *MANAS Sosyal Araştırmalar Dergisi*, 8 (4): 3399-3415.
- Kumpatla, S.P. 2012. Genomics-assisted plant breeding in the 21st century: technological advances and progress. Scienceweb academic papers collection.
- Kühn, J. 1881. Die Ergebnisse der Versuche zur Ermittlung der Ursache der Rübenmüdigkeit und zur Erforschung der Natur der Nematoden. *Ber. physiol. Lab. Univ. Halle*, No 3, pp. 1-153.
- Lavrova, V.V., Matveeva, E.M. and Zinovieva, S.V. 2017. Expression of genes, encoded defense proteins, in potato plants infected with the cyst-forming nematode *Globodera rostochiensis* (Wollenweber 1923) Behrens, 1975 and modulation of their activity during short-term exposure to low temperatures. *Biology Bulletin*, 44: 128-136.
- Lilley, C.E., Atkinson, H.J. and Urwin, P.E. 2005. Molecular aspects of cyst nematodes. *Molecular Plant Pathology*, 6: 577-588.
- Lima, F.S.O., Mattos, V.S., Silva, E.S., Carvalho, M.A.S., Teixeira, R.A., Silva, J.C. and Correa, V.R. 2018. Nematodes affecting potato and sustainable practices for their management. In: Yıldız M. (Ed.), *Potato: From Incas to All Over the World*. Intech Open, London, pp. 107-124.

- Linford, M.B. and Oliveira, J.M. 1940. *Rotylenchulus reniformis*, nov. gen. n. sp., a nematode parasite of roots. *Proceeding of the Helminthological Society of Washington*, 7: 35-42.
- Liu, C. and Grabau, Z. 2022. *Meloidogyne incognita* management using fumigant and non-fumigant nematicides on sweet potato. *Journal of nematology*, 54: 1-15.
- Lordello, L.G.E. 1956. *Meloidogyne inornata* sp. n., a serious pest of soybean in the State of Sao Paulo, Brazil (Nematoda, Heterodendae). *Revista Brasileira de Biologia*, 16 (1): 65-70.
- Madani, M., Subbotin, S.A. and Moens, M. 2005. Quantitative detection of the potato cyst nematode, *Globodera pallida*, and the beet cyst nematode, *Heterodera schachtii*, using real-time PCR with SYBR green I dye. *Molecular and cellular probes*, 19 (2): 81-86.
- Maleita, C.M.N., Curtis, R.H.C., Powers, S.J. and Abrantes, I. 2012. Host status of cultivated plants to *Meloidogyne hispanica*. *European Journal of Plant Pathology*, 133: 449-460.
- Maleita, C., Esteves, I., Cardoso, J.M.S., Cunha, M. J., Carneiro, R.M.D.G. and Abrantes, I. 2018. *Meloidogyne luci*, a new root-knot nematode parasitizing potato in Portugal. *Plant Pathology*, 67 (2): 366-376.
- Maleita, C., Cardoso, J.M., Rusinque, L., Esteves, I. and Abrantes, I. 2021. Species-specific molecular detection of the root knot nematode *Meloidogyne luci*. *Biology*, 10 (775): 1-10.
- Markova, D. and Samaliev, H. 2011. Pathogenicity of the root-knot nematode *Meloidogyne hapla* on Potato in Bulgaria. *Agricultural Science*, 3: 71-77.
- Massee, G. 1913. Nematodes or eelworms. *Bulletin of Miscellaneous Information (Royal Botanic Gardens, Kew)*. 9 (1913): 343-351.
- Mburu, H., Cortada, L., Haukeland, S., Ronno, W., Nyongesa, M., Kinyua, Z., Bargul J.L. and Coyne, D. 2020. Potato cyst nematodes: a new threat to potato production in East Africa. *Frontiers in Plant Science*, 11: 670.
- Medina, I.L., Coila, V.H.C., Gomes, C.B., Pereira, A.S. and Nazareno, N.R.X. 2014. *Meloidogyne ethiopica* report in Parana state, Brazil, and reaction of potato cultivars to root-knot nematode. *Horticultura Brasileira*, 32: 482-485.
- Mhatre, P.H., Divya, K.L., Venkatasalam, E.P., Watpade, S., Bairwa, A. and Patil, J. 2022. Management of potato cyst nematodes with special focus on biological control and trap cropping strategies. *Pest Management Science*, 78 (9): 3746-3759.
- Mistanoğlu, İ., Özalp, T. and Devran, Z. 2019. The efficacy of molecular markers associated with virulence in root-knot nematodes. *Nematology*, 22 (2): 147-154.
- Moens, M., Perry, R.N. and Starr, J.L. 2009. *Meloidogyne* species – A diverse group of novel and important plant parasites. In: Perry, R.N., Moens, M. Starr, J.L. (Ed.), *Root Knot Nematodes*. CAB International, Wallingford, UK, pp.1-17.

- Molendijk, L.P.G. and Mulder, A. 1996. The Netherlands, nematodes and potatoes: old problems are here again. *Potato Research*, 39 (4): 471-477.
- Mwangi, J.M., Kariuki, G.M., Waceke, J.W. and Grundler, F.M. 2015. First report of *Globodera rostochiensis* infesting potatoes in Kenya. *New Disease Reports*, 31: 18.
- Neal, J.C. 1889. The root-knot disease of the peach, orange and other plants in Florida, due to the work of *Anguillula*. U.S. Dept. of Agriculture, Division of Entomology: Washington, DC, USA, 1889.
- Ngala, B.M., Haydock, P.P., Woods, S. and Back, M.A. 2014. Biofumigation with *Brassica juncea*, *Raphanus sativus* and *Eruca sativa* for the management of field populations of the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Pest Management Science*, 71 (5): 759-769.
- Niewöhner, J., Salamini, F. and Gebhardt, C. 1995. Development of PCR assays diagnostic for RFLP marker alleles closely linked to alleles *Gro1* and *H1*, conferring resistance to the root cyst nematode *Globodera rostochiensis* in potato. *Molecular Breeding*, 1: 65-78.
- Nijman, I.J., Kuipers, S., Verheul, M., Guryev, V. and Cuppen, E. 2008. A genome-wide SNP panel for mapping and association studies in the rat. *BMC Genomics*, 9 (95): 1-9.
- Norshie, P.M., Been, T.H. and Schomaker, C.H. 2011. Estimation of partial resistance in potato genotypes against *Meloidogyne chitwoodi*. *Nematology*, 13: 477-489.
- Norshie, P.M., Grove, I.G. and Back, M.A. 2016. Field evaluation of the nematicide fluensulfone for control of the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Pest management science*, 72 (10): 2001-2007.
- Nowaczyk, K., Dobosz, R., Kornobis, S. and Obrepalska-Stepłowska, A. 2008. TaqMan REAL-Time PCR-based approach for differentiation between *Globodera rostochiensis* (golden nematode) and *Globodera artemisiae* species. *Parasitology Research*, 103: 577-581.
- Nyoi, T.W., Mekete, T., McSorley, R., Weibelzahl-Karigi, E. and Liburd, O.E. 2012. Confirmation of *Meloidogyne hapla* on strawberry in florida using molecular and morphological techniques. *Nematropica*, 42 (2): 253-259.
- Oliveira, C.M.G., Monteiro, A.R. and Blok, V.C. 2011. Morphological and molecular diagnostics for plant parasitic nematodes: Working together to get the identification done. *Tropical Plant Pathology*, 36 (2): 65-73.
- Onkendi, E.M. 2012. Molecular characterization of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) parasitizing potatoes (*Solanum tuberosum*) in South Africa. PhD Thesis, University of Pretoria, 123 p.
- Onkendi, E.M. and Moleleki, L.N. 2013. Distribution and genetic diversity of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in potatoes from South Africa. *Plant pathology*, 62 (5): 1184-1192.
- Özalp, T., Konül, G., Ayyıldız, O., Tülek, A., Devran, Z. 2020. First report of root-knot nematode, *Meloidogyne arenaria* on lavender in Turkey. *Journal of Nematology*, 52: 1-3.

- Özarslandan, A., Söğüt, M.A. ve Elekçioğlu, İ.H. 2005. Türkiye’de *Meloidogyne hapla*’nın yeni bir konukçusu. *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 9 (3): 63-64.
- Özarslandan, A., Mutlu, N., Devran, Z. and Elekçioğlu, İ.H. 2007. Türkiye’de Patates Yetiştiriciliğinde Çok Önemli Yeni Bir Tür: *Meloidogyne chitwoodi* (Goeldi, 1892, Nemata: Heteroderidae). II. *Bitki Koruma Kongresi*, ss. 77, 27-29 Ağustos, Isparta.
- Özarslandan A., Devran, Z., Mutlu, N. and Elekçioğlu İ. H. 2009. First report of columbia root-knot nematode (*Meloidogyne chitwoodi*) in potato in Turkey. *Plant Disease*, 93 (3): 316.
- Özarslandan, A. ve Elekçioğlu, İ.H. 2010. Türkiye'nin farklı alanlarından alınan Kök-ur nematodu türlerinin (*Meloidogyne* spp.) (Nemata: Meloidogynidae) moleküler ve morfolojik tanılama ile belirlenmesi. *Türkiye entomoloji dergisi*, 34 (3): 323-335.
- Özarslandan, A., İmren, M., Öcal, A. ve Elekçioğlu, İ.H. 2013. Bitlis ili patates üretim alanlarında kök-ur nematodu (*Meloidogyne chitwoodi* Golden, O’Bannon, Santo et Finley, 1980)’nun saptanması. *Turkish Journal of Entomology*, 37 (3): 389-396.
- Özarslandan, A., Dinçer, D., Bozbuga, R., İmren, M. and Elekçioğlu, İ.H. 2019. A Study on the Presence of Potato Cyst Nematodes: *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Skarbilovich, 1959 and *Globodera pallida* Stone 1973 (Tylenchida: Heteroderidae) in Nevşehir Province, Turkey. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 6 (2): 125-129.
- Öztürk, E. ve Polat, T. 2017. Tohumluk patates yetiştiriciliği ve önemi. *Alinteri Journal of Agricultural Sciences*, 32 (1): 99-104.
- Paal, J., Henselewski, H., Muth, J., Meksem, K., Menéndez, C.M., Salamini, F., Ballvora, A. and Gebhardt, C. 2004. Molecular cloning of the potato *Gro1-4* gene conferring resistance to pathotype Ro1 of the root cyst nematode *Globodera rostochiensis*, based on a candidate gene approach. *The Plant Journal*, 38: 285-297.
- Peng, H., Long, H., Huang, W., Liu, J., Cui, J., Kong, L., Hu X., Gu J. and Peng, D. 2017. Rapid, simple and direct detection of *Meloidogyne hapla* from infected root galls using loop-mediated isothermal amplification combined with FTA technology. *Scientific Reports*, 7: 1-11.
- Perkel, J. 2008. SNP genotyping: six Technologies that keyed a revolution. *Nat Methods*, 5: 447-453.
- Perry, R.N. 2002. Hatching. In: Lee, D.L. (Ed.), *The Biology of Nematodes*, Taylor and Francis, London, pp. 147-169.
- Phillips, M.S., Trudgill, D.L., Hackett, C.A., Hancock, M., Holliday, J.M. and Spaul, A.M. 1998. A basis for predictive modelling of the relationship of potato yields to population density of the potato cyst nematode, *Globodera pallida*. *Journal of Agricultural Sciences*, 130: 45-51.
- Pineda, O., Bonierbale, M.W., Plaisted, R.L., Brodie, B.B. and Tanksley, S.D. 1993. Identification of RFLP markers linked to the *H1* gene conferring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Genome*, 36: 152-156.

- Pinkerton, J.N., Santo, G.S. and Mojtahedi, H. 1991. Population dynamics of *Meloidogyne chitwoodi* on russet Burbank potatoes in relation to degree-day accumulation. *Journal of Nematology*, 23: 283-290.
- Piotte, C., Castagnone-Sereno, P., Bongiovanni, M., Dalmasso, A. and Abad, P. 1995. Analysis of a satellite DNA from *Meloidogyne hapla* and its use as a diagnostic probe. *Phytopathology*, 85: 458-462.
- Powers, T.O. and Harris, T.S. 1993. A polymerase chain reaction method for identification of five major *Meloidogyne* species. *Journal of nematology*, 25 (1): 1-6.
- Ragoussis, J. 2006. Genotyping Technologies for all. *Drug Discovery Today: Technologies*, 3: 115-122.
- Randing, O., Bongiovanni, M., Carneiro, R.M.D.G. and Castagnone-Sereno, P. 2002. Genetic diversity of root-knot nematodes from Brazil and development of SCAR marker specific for the coffee damaging species. *Genome*, 45 (5): 862-870.
- Rehrig, W.Z., Ashrafi, H., Hill, T., Prince, J. and Van Deynze, A. 2014. *CaDMR1* cosegregates with QTL *Pc5.1* for resistance to *Phytophthora capsici* in pepper (*Capsicum annuum*). *The Plant Genome*, 7 (2): 1-12.
- Ribaut J-M., De Vicente M.C. and Delannay, X. 2010. Molecular breeding in developing countries: challenges and perspectives. *Current Opinion in Plant Biology*, 13 (2): 213-218.
- Rusique, L., Nóbrega, F., Serra, C. and Inácio, M.L. 2022. The Northern root-knot nematode *Meloidogyne hapla*: new host records in Portugal. *Biology*, 11 (1567): 1-9.
- Sapkota, R., Skantar, A. M. and Nicolaisen, M. 2016. A TaqMan real-time PCR assay for detection of *Meloidogyne hapla* in root galls and in soil. *Nematology*, 18: 147-154.
- Seenivasan, N., Devrajan, K. and Selvaraj, N. 2007. Management of potato cyst nematodes, *Globodera* spp. through biological control. *Indian Journal of Nematology*, 37 (1): 27-29.
- Semagn, K., Babu, R., Hearne, S. and Olsen, M. 2014. Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement. *Molecular Breeding*, 33: 1-14.
- Shi, Z., Liu, S., Noe, J., Arelli, P., Meksem, K., and Li, Z. 2015. SNP identification and marker assay development for high-throughput selection of soybean cyst nematode resistance. *BMC genomics*, 16: 1-12.
- Siddiqi, M.R. 2000. Tylenchida Parasites of Plants and Insects. CABI Publishing, UK, pp. 833.
- Sikora, R.A., Bridge J. and Star, J.L. 2005. Management Practices: an Overview of Integrated Nematode Management Technologies. In: Luc, M., Sikora, R.A. and Bridge, J. (Ed.), Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. CABI Publishing, London, pp. 793-825.

- Skantar A.M. Handoo, Z.A., Zasada, I.A., Ingham, R.E., Carta, L.K. and Chitwood, D.J. 2011. Morphological and molecular characterization of *Globodera* populations from Oregon and Idaho. *Phytopathology*, 101 (4): 480-491.
- Sobczak, M. and Golinowski, W. 2011. Cyst Nematodes and Syncytia. In: Jones, J., Gheysen, G. and Fenoll, C. (Ed.), *Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions*. Springer, Heidelberg, pp. 61-82.
- Spooner, D.M., van der Berg, R.G., Rodríguez, A., Bamberg, J., Hijmans, R.J. and Lara Cabrera, S.I. 2004. Wild potatoes (*Solanum* section *Petota*, Solanaceae) of North and Central America. *Systematic Botany Monographs*, 68: 1-209.
- Stone, A.R. 1973a. CIH Descriptions of Plant-Parasitic Nematodes No 16 *Globodera rostochiensis*. CAB International, Wallingford (GB).
- Stone, A.R. 1973b. CIH Descriptions of Plant-Parasitic Nematodes No 15 *Globodera pallida*. CAB International, Wallingford (GB).
- Strachan, J. and Taylor, T.H. 1926. Potato eelworm. *Journal of the Ministry of Agriculture and Fisheries*, 3: 941-947.
- Subbotin, S.A., Mundo-Ocampo, M. and Baldwin, J.G. 2010. Systematics of Cyst Nematodes (Nematoda: Heteroderinae). *Nematology Monographs & Perspectives*, 8B. Brill, The Netherlands, pp. 512.
- Subbotin, S.A., Franco, J., Knoetze, R., Roubtsova, T.V., Bostock, R.M. and Del Prado Vera, I.C. 2020. DNA barcoding, phylogeny and phylogeography of the cyst nematode species from the genus *Globodera* (Tylenchida: Heteroderidae). *Nematology*, 22: 269-297.
- Suo, W., Shi, X., Xu, S., Li, X. and Lin, Y. 2020. Towards low cost, multiplex clinical genotyping: 4-fluorescent Kompetitive Allele-Specific PCR and its application on pharmacogenetics. *Plos One*, 15: (3): e0230445.
- Thorne, G. 1945. *Ditylenchus destructor*, n.sp., the potato rot nematode, and *Ditylenchus dipsaci* (Kühn, 1857) Filipjev, 1936, the teasel nematode (Nematoda: Tylenchidae). *Proceedings Helminthological Society of Washington*, 12: 27-34.
- Tiilikkala, K., Carter, T., Heikinheimo, M. and Venäläinen, A. 1995. Pest risk analysis of *Meloidogyne chitwoodi* for Finland. *EPPO Bulletin*, 25 (3): 419-435.
- Toktay, H., Evlice, E., İmren, M., Özer, G., Ali, M.A. and Dababat, A. 2020. Characterization of potato golden cyst nematode populations (*Globodera rostochiensis*) in Turkey. *International Journal of Agricultural & Biology*, 23 (6): 1095-1100.
- Toyota, K., Shirakashi, T., Sato, E., Wada, S. and Min, Y.Y. 2008. Development of a real-time PCR method for the potato-cyst nematode *Globodera rostochiensis* and the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Soil Science and Plant Nutrition*, 54 (1): 72-76.
- Trifonova, Z.T. 2010. Studies on the efficacy of some bacteria and fungi for control of *Globodera rostochiensis*. *Journal of Agricultural Sciences (Belgrade)*, 55 (1): 37-44.

- Turner, S.J. 1996. Population decline of potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis*, *G. pallida*) in field soils in Northern Ireland, *Annals Applied Biology*, 129: 315-322.
- Turner, S.J. and Evans, K. 1998. The origins, global distribution and biology of potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis* (Woll.) and *Globodera pallida* Stone). In: Marks, R.J. and Brodie, B.B. (Ed.), *Potato Cyst Nematodes. Biology, distribution and control*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 7-26.
- Turner, S.J. and Rowe, J.A. 2006 Cyst nematodes. In: Perry, R.N. and Moens, M. (Ed.), *Plant Nematology*. Oxfordshire: CAB International, Wallingford, pp. 90-122.
- Ulutaş, E. 2010. Ege Bölgesi Patates Üretim Alanlarında Bulunan Önemli Bitki Paraziti Nematodların Belirlenmesi ve Bitki Gelişimine Etkileri. Doktora tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, 91 s.
- Ulutaş, E., Özarslandan, A., Kaşkavalcı, G. ve Elekcioglu, İ.H. 2012. Ege Bölgesi patates alanlarında *Globodera rostochiensis* Wollenweber, 1923' in moleküler yöntemlerle saptanması. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 36 (1): 155-160.
- Urwin, P.E., Green, J. and Atkinson, H.J. 2000. Resistance to *Globodera* spp. in transgenic *Solanum tuberosum* cv. Desiree that express proteinase inhibitors. *Aspects of Applied Biology*, 59: 27-32.
- Uysal, G., Söğüt, M.A. and Elekçioglu, İ.H. 2017. Identification and distribution of root-knot nematode species (*Meloidogyne* spp.) in vegetable growing areas of lakes region in Turkey. *Turkish Journal of Entomology*, 41 (1): 105-122.
- Uysal, G. and Devran, Z. 2022. A rapid molecular identification method for *Meloidogyne chitwoodi* from potato tubers without using nematode extraction methods. *Journal of Phytopathology*, 170: 753-757.
- Uysal, G., Mistanoglu, I. and Devran, Z. 2023. Genetic variation and identification of *Meloidogyne graminis* populations from golf fields in Antalya province of Türkiye. *Journal of Phytopathology*, 171: 291-299.
- Van der Beek J.G., Poleij L.M., Zijlstra C., Janssen R. and Janssen G.J.W. 1998. Variation in virulence within *Meloidogyne chitwoodi*, *M. fallax*, and *M. hapla* on *Solanum* spp. *Phytopathology*, 88: 658-665.
- Van der Voort, J.R., Wolters, P., Folkertsma, R., Hutten, R., Van Zandvoort, P., Vinke, H., Kanyuka, K., Bendahmane, A., Jacobsen, E., Janssen, R. and Bakker, J. 1997. Mapping of the cyst nematode resistance locus *Gpa2* in potato using a strategy based on comigrating AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 95: 874-880.
- Van der Vossen, E.A.G., van der Voort, J.R., Kanyuka, K., Bendahmane, A., Sandbrink, H., Baulcombe, D.C., Bakker, J., Stiekema, W.J. and Klein-Lankhorst, R.M. 2000. Homologues of a single resistance-gene cluster in potato confer resistance to distinct pathogens: a virus and a nematode. *The Plant Journal*, 23: 567-576.
- Vejl, P., Skupinová, S., Sedlák, P. and Domkarova, J. 2002. Identification of PCN species (*Globodera rostochiensis*, *G. pallida*) by using of ITS-1 region's polymorphism. *Rostlinna Vyroba*, 48 (11): 486-489.

- Viaene, N. 2016. Ring testing of diagnostic methods for the identification of potato cyst nematodes and assessing resistance of potato cultivars. Poster at the Report of the Joint EEC-EPPO Workshop on Euphresco, (Moscow: Eurasian Economic Commission (EEC) and the European and Mediterranean Plant Protection Organisation (EPPO)).
- Vovlas, N., Mifsud D., Landa B.B. and Castillo, P. 2005. Pathogenicity of the root knot nematode *Meloidogyne javanica* on potato. *Plant Pathology*, 54: 657-664.
- Wesemael, W.M.L., Viaene, N. and Moens, M. 2011. Root knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Europe. *Nematology*, 13: 3-16.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innes, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. and White, T.J. (Ed.), PCR protocols: a guide to methods and applications. San Diego, Academic Press, pp. 315-322.
- Whitehead, A.G. 1968. Taxonomy of *Meloidogyne* (Nematodea: Heteroderidae) with descriptions of four new species. *Transactions of the Zoological Society of London*, 31: 263-401.
- Williamson, V.M. and Hussey, R.S. 1996. Nematode pathogenesis and resistance in plants. *The Plant Cell*, 8: 1735-1745.
- Williamson, V.M., Caswell-Chen, E.P., Westerdahl, B.B., Wu, F.F. and Caryl, G. 1997. A PCR assay to identify and distinguish single juveniles of *Meloidogyne hapla* and *M. chitwoodi*. *Journal of Nematology*, 29 (1): 9-15.
- Williamson, V.M., 1998. Root-knot nematode resistance genes in tomato and their potential for future use. *Annual Review of Phytopathology*, 36: 277-293.
- Williamson, V.M. and Kumar, A. 2006. Nematode resistance in plants: the battle underground. *TRENDS in Genetics*, 22 (7): 396-403.
- Wishart, J., Phillips, M.S. and Blok, V.C. 2002. Ribosomal intergenic spacer: a polymerase chain reaction diagnostic for *Meloidogyne chitwoodi*, *M. fallax*, and *M. hapla*. *Phytopathology*, 92 (8): 884-892.
- Wollenweber, H.W. 1923. Krankheiten und Beschädigungen der Kartoffel. *Arbeiten des Forschungsdienst für Kartoffelbau*, 7: 1-56.
- Wyss, U., Grundler, F.M. and Munch, A., 1992. The parasitic behaviour of second-stage juveniles of *Meloidogyne incognita* in roots of *Arabidopsis thaliana*. *Nematologica*, 38 (1): 98-111.
- Yang, B. and Eisenback, J.D. 1983. *Meloidogyne enterolobii* n. sp. (Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing pacara earpod tree in China. *Journal of Nematology*, 15 (3): 381-391.
- Yıldız, V., Güneş, Ç., Bulun, N. ve Gözel, U. 2009. Ödemiş (İzmir) ilçesi patates üretim alanlarında tespit edilen kökür nematodu: *Meloidogyne chitwoodi* (Goeldi, 1892, Nemata: Heteroderidae). III. Bitki Koruma Kongresi, ss 93, 15-18 Temmuz, Van.
- Yılmaz, H., Demircan, V. ve Erel, G. 2006. Bazı Önemli Patates Üreticisi İllerde Patates Üretim Maliyeti ve Gelirinin Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1 (1): 22-32.

- Yılmaz, A., Çakmak, T. and Gözel, U. 2023. First report of root-knot nematode *Meloidogyne hapla* (Chitwood, 1949)(Nematoda Meloidogynidae) on *Petroselinum crispum* (Mill.) Nym. ex AW Hill) in Turkey. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 26 (6): 1312-1316.
- Zhang, Z. and Gerstein, M. 2003. Patterns of nucleotide substitution, insertion and deletion in the human genome inferred from pseudogenes. *Nucleic Acids Research*, 31: 5338-5348.
- Zhang L.H., Mojtahedi H., Kuang H., Baker B. and Brown C.R. 2007. Marker-Assisted selection of Columbia root-knot nematode resistance introgressed from *Solanum bulbocastanum*. *Crop Science*, 47: 2021-2026.
- Zhang, L. and Gleason, C. 2019. Loop-mediated isothermal amplification for the diagnostic detection of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. *Plant Disease*, 103 (1): 12-18.
- Zhao Z and Boerwinkle, E. 2002. Neighboring-nucleotide effects on single nucleotide polymorphisms: a study of 2.6 million polymorphisms across the human genome. *Genome Research*, 12:1679-1686.
- Zhao, S., Li, A., Li, C., Xia, H., Zhao, C., Zhang, Y., Hou, L. and Wang, X. 2017. Development and application of KASP marker for high throughput detection of *AhFAD2* mutation in peanut. *Electronic Journal of Biotechnology*, 25: 9-12.
- Zijlstra, C., Lever, A.E.M., Uenk, B.J. and Van Silfhout, C.H. 1995. Differences between ITS regions of isolates of root-knot nematodes *Meloidogyne hapla* and *M. chitwoodi*. *Phytopathology*, 85 (10): 1231-1237.
- Zijlstra, C. 1997. A fast PCR assay to identify *Meloidogyne hapla*, *M. chitwoodi*, and *M. fallax*, and to sensitively differentiate them from each other and from *M. incognita* in mixtures. *Fundamental applied Nematology* 20 (5): 505-511.
- Zijlstra, C. 2000. Identification of *Meloidogyne chitwoodi*, *M. fallax* and *M. hapla* based on SCAR-PCR: a powerful way of enabling reliable identification of populations or individuals that share common traits. *European Journal of Plant Pathology*, 106: 283-290.
- Zijlstra, C., Donkers-Venne, D.T.H.M. and Fargette, M. 2000. Identification of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* using Sequence Characterized Amplified Region (SCAR) based PCR assays. *Nematology*, 2 (8): 847-853.
- Zijlstra, C. and Van Hoof, R.A. 2006. A multiplex real-time polymerase chain reaction (TaqMan) assay for the simultaneous detection of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. *Phytopathology*, 96: 1255-1262.
- Zimmermann, H. 1914. Bericht der Hauptstelle für Pflanzenschutz. In: Mecklenberg-Schwerin und Mecklenberg-Strelitz für das Jahr in 1913. Mitteilungen der landwirtschaftlichen VersuchsStation, Rostock, pp. 73-75.
- Zimmermann, H. 1927. Versuche über die Kartoffelnematoden (*Heterodera schachtii*, forma *solani*). *Arbeiten des Forschungsdienst für Kartoffelbau*, 8 (1927): 151-154.

Zouhar, M., Ryšánek, P. and Kočová, M. 2000. Detection and differentiation of the potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida* by PCR. *Plant Protection Science*, 36 (3): 81-84.



ÖZGEÇMİŞ

Mustafa ÇATALKAYA

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora 2017-2024	Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, Antalya
Yüksek Lisans 2014-2017	Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, Antalya
Lisans 2004-2009	Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Antalya

MESLEK VE İDARİ GÖREVLER

Uzman 2016-	Antalya Zirai Karantina Müdürlüğü, Antalya
Mühendis 2013-2016	Serik İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü, Antalya

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- 1- Çatalkaya, M., Göknur, A. and Devran, Z. 2024. Rapid identification of *Meloidogyne hapla* by KASP assay. *Crop Protection*, <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2024.106600>
- 2- Çatalkaya, M., Göknur, A. and Devran, Z. 2023. Development of SNP-based assays for identification of *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 130: 1041-1048.
- 3- Çatalkaya, M. and Devran, Z. 2019. Integrated management of *Mi-1* virulent *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 (Tylenchida: Meloidogynidae) in greenhouse tomatoes. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 42 (2): 157-169.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1- Çatalkaya, M. and Devran, Z. 2017. Örtü altı domates yetiştiriciliğinde *Mi-1* virulent *Meloidogyne incognita* popülasyonunun takibi. XIII. Uluslararası Katılımlı Ekoloji ve Çevre Kongresi (UKECEK), 12-15 Eylül 2017, Edirne, Türkiye, s. 403.

2- Çatalkaya, M. and Devran, Z. 2017. *Mi-1* virulent kök-ur nematod popülasyonlarına karşı mücadele yöntemlerinin etkinliğinin incelenmesi. XIII. Uluslararası Katılımlı Ekoloji ve Çevre Kongresi (UKECEK), 12-15 Eylül 2017, Edirne, Türkiye, s. 397.

