FİTOPATOJEN NEMATODLARIN AKTİNOMİSET VE MİKROFUNGUS İZOLATLARI İLE İNHİBİSYONU ÜZERİNE *in vitro* ÇALIŞMALAR

136634

Elif ŞAHİN

Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Tez Yönetmeliği Uyarınca
Biyoloji Anabilim Dalı
Genel Biyoloji Bilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman:
Yrd. Doç. Dr. Mustafa YAMAÇ

136634

Eskişehir
Kasım 2003

Elif ŞAHİN' in YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Fitopatojen nematodların aktinomiset ve mikrofungus izolatları ile inhibisyonu üzerine *in vitro* çalışmalar" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

20/10/2003

Üye: Yrd. Doç. Dr. Mustafa YAMAÇ

Üye: Yrd. Doç. Dr. Semra İLHAN

Üye: Yrd. Doç. Dr. Buket KUNDUHOĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu' nun 23/10/2003 gün ve 2003-16/49 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. M. Selami KILIÇKAYA
Enstitü Müdürü

ÖZET

Dünyada % 10 oranında tahıl ürün kaybına neden olduğu belirlenmiş olan bitki paraziti nematodlardan, tahıl kist nematodu (*Heterodera filipjevi*) ve kök lezyon nematodunun (*Pratylenchus thornei*) Türkiye' de tahıl yetiştirme alanlarında baskın olarak yayılış gösterdiği tespit edilmiştir. Bitki paraziti nematodların kontrolü için yoğun çalışmalar sürdürülmektedir. Bu çalışmalara katkıda bulunmak amacıyla, buğday tarlalarından ve kist örneklerinden aktinomiset ve fungus izolatları elde edilmiştir. Bu izolatların tahıl kist nematodu ve kök lezyon nematoduna karşı inhibitör metabolit üretip üretmediği laboratuvar koşullarında gerçekleştirilen çalışmalarla araştırılmıştır.

Denemeye alınan aktinomiset izolatlarından, 31,02; 31,05; 32,08 ve 33,12 numaralı izolatların tahıl kist nematodu larvalarının hareketliliği üzerinde çalışmanın birinci gününde, sırasıyla, % 52,63; % 52,17; % 65,00 ve % 55,56 oranında inhibisyona neden olduğu belirlenmiştir. Fungus izolatlarından ise, 1.4; 2.3 ve 2.4 numaralı olanların kök lezyon nematodu larvalarının hareketliliği üzerinde, çalışmanın birinci gününde, % 65,52; 91,30 ve 70,00 oranında inhibisyona neden olduğu belirlenmiştir. Yüksek oranda inhibisyon aktivitesine sahip olan aktinomiset izolatları, *Streptomyces* genusu olarak, fungus izolatlarından ikisi ise *Penicillium* genusuna ait *Penicillium verrucosum* Dierckx ve *Penicillium chrysogenum* Thom türleri olarak tayin edilmiştir. 2.4 numaralı izolat ise, spor yapısına sahip olmadığı için tanımlanamamıştır.

SUMMARY

It has been determined that cereal cyst nematode and root lesion nematode which cause to yield loses at the range of 10 % in the world, have dominant distribution in cereal growth area in Turkey. Intensive studies have been carried on control of plant parasitic nematodes. To support this kind of studies actinomycetes and fungus isolation has been carried out from cereal field soil samples and cyst samples. It has been investigated that whether these isolates produce inhibitor metabolite against to cyst nematode and root lesion nematode.

Isolates called as 31.02, 31.05, 32.08 and 33.12 have been found as have activity respectively at the range of 52,63, 52,17, 65,00 and 55,56 % on mobility of cereal cyst nematode larvae at the first day of experiment. From fungus isolates, isolate 1.4, 2.3 and 2.4 have been found as have activity on mobility of root lesion nematode second stage larvae, at the range of 65,52, 91,30 and 70,00 % . Actinomycetes isolates which have high activity have been identified as *Streptomycetes* genus. Two fungi isolates called as 1.4 and 2.3 have been identified as *Penicillium verrucosum* Dierckx and *Penicillium chrysogenum* Thom species. Because of have not any spore, isolate 2.4 can not be identified.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bana verdiği emekler ve çalışmalarımı yönlendirip, bana yol gösterdiği için danışman hocam, Yrd. Doç. Dr. Mustafa YAMAÇ' a en içten teşekkürlerimi sunarım. Gösterdiği yakın ilgi ve destekten dolayı Prof. Dr. Merih KIVANÇ (Anadolu Üniversitesi Biyoloji Bölümü) hocama ve bana emek veren bütün hocalarıma teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım sırasında vermiş oldukları maddi destekten dolayı TÜBİTAK yetkililerine teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarımın gerçekleştirilmesi için Eskişehir Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü laboratuvarları ve diğer olanaklarından yararlanmamı sağlayan tüm Enstitü yetkililerine teşekkür ederim. Tez çalışmaları sırasında, göstermiş olduğu yakın ilgi, literatür desteği ve nematodlar konusunda vermiş olduğu bilgilerden dolayı Dr. Julie NİCOL' e (International Maize and Wheat Improvement Centre) teşekkür ederim. Fungus izolatlarının tayinini gerçekleştiren hocam Yard. Doç. Dr. Semra İLHAN ve arkadaşım Rasime DEMİREL' e teşekkürü bir borç bilirim.

Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü yüksek lisans öğrencileri Gül ERGİNBAŞ, Fatma BİLGİLİ, Hasan KÖSTEKÇİ, Ayşen YILDIRIM, Rasime DEMİREL, Fatma GÖNEN, Meltem KIZILCIK ve lisans öğrencisi Zerrin TETİK' e ihtiyacım olduğunda yardımlarını esirgemedikleri için teşekkür ederim.

Eskişehir Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü fitopatoloji bölümü çalışanları olan , Bölüm Başkanı Ziraat Mühendisi A. Faik YILDIRIM' a literatür katkılarından dolayı, Ziraat Mühendisleri, Aysel YORGANCILAR, Adnan TÜLEK ve Asuman KAPLAN ile laborant Aydın ÇİFTÇİ' ye gösterdikleri ilgi ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
1. GİRİŞ	1
1.1. Bitki Paraziti Nematodlar	6
1. 1. 1. Kök nodül nematodları (*Meloidogyne* spp.)	8
1. 1. 2. Buğday gal nematodu (*Anguina tritici*)	8
1. 1. 3. Tahıl kist nematodları (*Heterodera* spp.)	9
1. 1. 4. Kök lezyon nematodları (*Pratylenchus* spp.)	11
1. 2. Bitki Paraziti Nematodların Kontrolü	14
1. 2. 1. Kültürel uygulamalar	15
1. 2. 2. Kimyasal kontrol	18
1. 2. 3. Biyolojik kontrol	19
1. 2. 3. 1. Predatör organizmalar	19
1. 2. 3. 2. Parazit organizmalar	20
1. 2. 3. 3. İnhibe edici metabolit salgılayan mikroorganizmalar	24
2. MATERYAL ve METODLAR	27
2. 1. Materyal	27
2. 1. 1. Toprak örnekleri	27
2. 1. 2. Besiyeri ve kimyasal maddeler	27
2. 1. 2. 1. Besiyerleri	27
2. 1. 2. 2. Kimyasal maddeler	31
2. 2. Metodlar	32
2. 2. 1. Mikroorganizmaların izolasyonu	32
2. 2. 1. 1. Toprak örneklerinden aktinomisetlerin izolasyonu ve korunması	32
2. 2. 1. 2. Kist örneklerinden fungusların izolasyonu ve korunması	33
2. 2. 2. Test organizmalarının elde edilmesi	34
2. 2. 2. 1. Tahıl kist nematodu (*Heterodera filipjevi*) kistlerinin ve ikinci aşama larvalarının eldesi ve korunması	34

İÇİNDEKİLER (Devam)

Sayfa No

2. 2. 2. 2. Kök lezyon nematodunun (*Pratylenchus thornei*) ikinci aşamadaki larvalarının eldesi ve korunması 36
2. 2. 3. Tahıl kist nematodu (Heterodera filipjevi) ve kök lezyon nematoduna (*Pratylenchus thornei*) karşı aktinomiset ve fungus izolarlarının inhibitör aktivitesinin belirlenmesi 37
2. 2. 3. 1. Aktinomiset izolatları 37
2. 2. 3. 2. Fungus izolatları 38
2. 2. 3. 3. Nematodların ikinci aşamadaki larvalarının test için hazırlanması 38
2. 2. 4. Mikroorganizmaların inhibitör aktivitelerinin belirleneceği test koşulları 37
2. 2. 4. İstatiksel yöntemler 39
2. 2. 5. İnhibitör aktiviteye sahip olduğu belirlenen izolatların tanılanması 39
2. 2. 5. 1. Aktinomiset izolatlarının tanılanması 39
2. 2. 5. 2. Fungus izolatlarının tanılanması 41
3. BULGULAR 42
3. 1. Mikroorganizmaların İzolasyonu 42
3. 1. 1. Aktinomisetlerin izolasyonu 42
3. 1. 2. Fungusların izolasyonu
3. 2. Sıcaklığın Test Organizmalarının Üzerine Etkisi 43
3. 2. 1. Tahıl kist nematodunun (*Heterodera filipjevi*) ikinci aşamadaki larvalarının elde edilmesi 43
3. 2. 2. Kök lezyon nematodunun (*Pratylenchus thornei*) ikinci aşamadaki larvalarının elde edilmesi 47
3. 3. Tahıl Kist Nematodu (*heterodera filipjevi*) ve Kök Lezyon Nematoduna (*pratylenchus thornei*) Karşı Aktinomiset ve Fungus İzolarlarının İnhibitör Aktivitesi 48
3. 3. 1. Aktinomiset izolatlarının kuru hücre ağırlığı 48
3. 3. 2. Fungus izolatlarının kuru hücre ağırlığı 49

İÇİNDEKİLER (Devam)

Sayfa No

3. 3. 3. Aktinomiset izolatlarının tahıl kist nematoduna (*Heterodera filipjevi*) karşı inhibitör aktivitesi 50

3. 3. 4. Fungus izolatlarının tahıl kist nematoduna (*Heterodera filipjevi*) karşı inhibitöraktivitesi 54

3. 3. 5. Aktinomiset izolatlarının kök lezyon nematoduna (*Pratylenchus thornei*) karşı inhibitöraktivitesi 56

3. 3. 6. Fungus izolatlarının kök lezyon nematoduna (*Pratylenchus thornei*) karşı inhibitör aktivitesi 61

3. 4. Aktif İzolatların Tanılanması 62

3. 4. 1. Aktinomiset izolatlarının tanılanması 62

3. 4. 1. 1. Kemotaksonomik özellikler 62

3. 4. 1. 2. Kültürel ve morfolojik özellikler 62

3. 4. 2. Fungus izolatlarının tanılanması 66

4. TARTIŞMA ve SONUÇ 67

4. 1. Mikroorganizmaların İzolasyonu 67

4. 2. Sıcaklığın Test Organizmalarının Üzerine Etkisi 68

4. 2. 1. Tahıl kist nematodu (*Heterodera filipjevi*) ikinci aşama larvalarının elde edilmesi 68

4. 2. 2. Kök lezyon nematodu (*Pratylenchus thornei*) ikinci aşama larvalarının eldesi 69

4. 3. Tahıl Kist Nematodu (*Heterodera filipjevi*) ve Kök Lezyon Nematoduna (*Pratylenchus thornei*) Karşı Aktinomiset ve Fungus İzolatlarının İnhibitör Aktivitesinin Değerlendirilmesi 69

4. 3. 1. Aktinomiset izolatları 69

4. 3. 2. Fungus izolatları 71

4. 4. İzolatların Taksonomik Özellikleri 73

4. 5. Sonuç 74

5. KAYNAKÇA 76

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
1. 1	Türkiye' de buğday üretim bölgeleri	3
1. 2	Orta Anadolu Bölgesi ve geçit bölgelerinin aylık ortalama sıcaklık ve yağış değerleri	3
1. 3	Nematodların hayat devri	6
1. 4	Bitki paraziti bir nematodun vücut kısımları	7
2. 1	Topraktan kistlerin ekstraksiyonunda kullanılan fenwick aletinin şematik çizimi	35
3. 1	Temmuz 2002 tarihlerinde alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerin, 0, 7, 10 ve 18 °C' de haftalık olarak çıkış yapan ortalama toplam larva sayıları	44
3. 2	Şubat 2003 tarihlerinde alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerin, 0, 7, 10 ve 18 °C' de haftalık olarak çıkış yapan ortalama toplam larva sayıları	45
3. 3	Şubat 2003 ve Temmuz 2002 tarihlerinde alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerin yumurta içerikleri ve larva çıkış oranları (%)	46
3. 4	Havuç kültüründen ekstrakte edilen 50 kök lezyon nematodu (*Pratylenchus thornei*) yumurtasının 0, 5, 10 ve 18 °C' de açılan ikinci aşamadaki larvalarının ortalama toplam sayıları	47
3. 5.	31,02, 31,05, 32,08 ve 33,12 numaralı aktinomiset izolatlarının, tahıl kist nematodunun ikinci aşamadaki larvalarını inhibisyon değeri	54
3.6.	31.02 numaralı izolatın ISP 3 (Oat Meal Agar) besiyerinde 14 günlük büyümesi	64
3. 7.	31,05 numaralı izolatın ISP 3 (Oat Meal Agar) besiyerinde 14 günlük büyümesi	64
3. 8.	32,08 numaralı izolatın ISP 3 (Oat Meal Agar) besiyerinde 14 günlük büyümesi	64
3. 9.	31.02 numaralı izolatın İnorganik Tuz – Nişasta Agar ortamında 14 günlük büyümesinde spor zinciri morfolojisi	65
3. 10.	31.05 numaralı izolatın İnorganik Tuz – Nişasta Agar ortamında 14 günlük büyümesinde spor zinciri morfolojisi	65

3. 11. 32.08 numaralı izolatın İnorganik Tuz – Nişasta Agar ortamında 14 günlük büyümesinde spor zinciri morfolojisi 66

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge No	Çizelge Adı	Sayfa No
1. 1	Farklı gelir düzeyine sahip ülkelerde nüfus artışı	1
1. 2	Türkiye' de yıllık tahıl üretiminde buğdayın yeri	2
1. 3	Tarım kesiminde istihdam edilen nüfusun, iktisaden faal nüfus içindeki yeri	2
1. 4	Bitkisel ürünlerin hastalıklar, zararlılar ve yabancı otlarca kayba uğratılan % miktarları	4
1. 5	Buğday, arpa ve küçük taneli tahıllar üzerinde parazit olan kök nodül nematodlarının (*Meloidogyne* spp.) Dünyadaki yayılışı	8
1. 6	Buğday üzerinde parazit olan ekonomik olarak önemli tahıl kist nematodlarının (*Heterodera* spp.) Dünyadaki yayılışı	9
1. 7	Buğday üzerinde parazit olan ekonomik olarak önemli kök lezyon nematodlarının (*Pratylenchus* spp.) Dünyadaki yayılışı	12
1. 8	Buğdayda tahıl kist nematoduna (*Heterodera avenae*) dayanıklılık ıslahında kullanılan genlerin başlıca kaynakları	17
2. 1.	Çalışmada kullanılan çözelti ve kimyasal maddeler	31,32
3. 1.	Fungusların izole edildiği lokaliteler ve besiyerleri	43
3. 2.	Temmuz 2002 tarihlerinde alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerin, 0, 7, 10 ve 18 °C' de haftalık olarak çıkış yapan ortalama toplam larva sayıları	44
3. 3.	Şubat 2003 tarihlerinde alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerin, 0, 7, 10 ve 18 °C' de haftalık olarak çıkış yapan ortalama toplam larva sayıları	45
3. 4.	Temmuz 2002 ve Şubat 2003 tarihlerinde alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerin 0, 7, 10 ve 18 °C' de ortalama toplam yumurta içerikleri ve larvalarının çıkış yüzdeleri	46
3. 5.	Havuç kültüründen ekstrakte edilen 50 kök lezyon nematodu (*Pratylenchus thornei*) yumurtasının 0, 5, 10 ve 18 °C' de açılan ikinci aşamadaki larvalarının ortalama toplam sayısı	47

ÇİZELGELER DİZİNİ (Devam)

Çizelge No	Çizelge Adı	Sayfa No
3. 6.	Aktinomiset izolatlarının kuru hücre ağırlıkları	48, 49
3. 7.	Fungus izolatlarının kuru hücre ağırlıkları	49
3. 8.	Aktinomiset izolatlarının, *Heterodera filipjevi* ikinci aşama larvalarını inhibisyon değerleri	50 - 53
3. 9.	Fungus izolatlarının, *Heterodera filipjevi* ikinci aşama larvalarını inhibisyon değerleri	55
3. 10.	Aktinomiset izolatlarının, kök lezyon nematodunun ikinci aşamadaki larvalarının hareketliliği üzerindeki inhibitör etkisi.	56 - 60
3. 11.	Fungus izolatlarının, kök lezyon nematodunun ikinci aşamadaki larvalarının hareketliliği üzerindeki inhibitör etkisi.	61, 62
3. 12.	31,02, 31,05 ve 32,08 numaralı izolatların bazı kültürel ve morfolojik özellikleri	63

1. GİRİŞ

İstatistiksel araştırmalar dünya nüfusunun giderek arttığını göstermektedir. İki bin otuz yılında dünya nüfusunun 8 milyara ulaşacağı tahmin edilmektedir. (Çizelge 1.1) Bu nüfus artışına paralel olarak insanların temel besin kaynağını oluşturan buğday üretiminin de 584 milyon tondan (1995 – 1999 ortalaması) 860 milyon tona çıkması beklenmektedir. Özellikle nüfus artışının % 84 olduğu, ekonomisi tarıma dayalı olan orta ve düşük – orta gelir düzeyine sahip ülkelerde buğday ihtiyacının gelecek 30 yılda 2.5 kat artacağı tahmin edilmektedir (Marathee and Gomez – MacPherson, 2001).

Çizelge 1. 1. Farklı gelir düzeyine sahip ülkelerde nüfus artışı (Anonim, 1996)

ÜLKELER	YILLARA GÖRE NÜFUS ($x10^6$)		
	1992	2000	2025
Düşük Gelirli Ülkeler			
Hindistan	884	1016	1370
Pakistan	119	148	243
Çin	1162	1255	1471
Mısır	55	63	86
Düşük – Orta Gelirli Ülkeler			
Romanya	23	23	23
Bulgaristan	9	8	8
Türkiye	59	68	92
İran	60	75	126
Suriye	13	17	34
Orta Gelirli Ülkeler			
Brezilya	154	172	224
Yunanistan	10	11	11
Portekiz	10	10	10
Suudi Arabistan	17	22	43
Yüksek Gelirli Ülkeler			
İspanya	39	39	38
İngiltere	58	59	61
İtalya	58	58	54
Hollanda	15	16	16
Fransa	57	59	63
Japonya	124	127	124

Yurdumuzda buğday, halkın temel besin kaynağını oluşturmaktadır ve Türkiye tarımını, dolayısıyla yurt ekonomisini tek başına temsil edebilecek önemde bir tarımsal

ürünümüzdür. Buğdayın, ekilen kültür bitkileri arasında en geniş ekiliş alanına sahip olduğu belirtilmektedir (Anonim, 2001).

İki bin yılı istatistiklerine göre, buğday ekiliş alanı toplam kültür arazisinin % 35,46' sı ve hububat ekiliş alanının ise % 67,32' si kadardır (Anonim, 2001) (Çizelge 1.2).

Çizelge 1. 2. Türkiye' de yıllık tahıl üretiminde buğdayın yeri (Anonim, 2001)

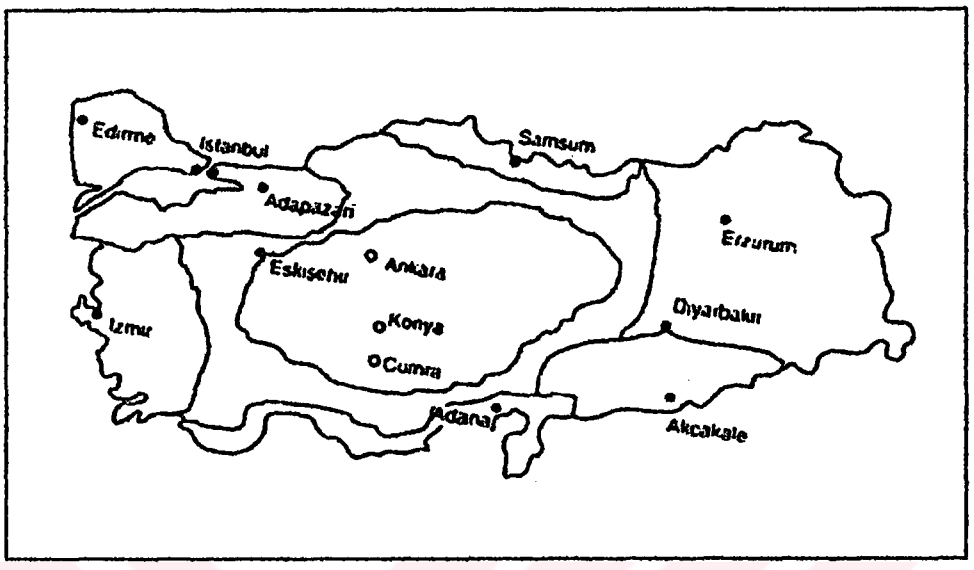
YIL	TOPLAM TAHIL EKİLİŞ (Hektar)	BUĞDAY		
		EKİLİŞ (Hektar)	ÜRETİM (Ton)	VERİM (kg/hektar)
1994	14.144.550	9.800.000	17.500 .000	1786
1995	13.816.470	9.400.000	18.000.000	1915
1996	13.946.030	9.350000	18.500.000	1979
1997	13.972.473	9.340.000	18.650.000	1997
1998	14.074.700	9.400.000	21.000.000	2234
1999	13.925.743	9.380.000	18.000.000	1919
2000	13.962.638	9.400.000	21.000.000	2234

Ülkede ekilen tarla arazisinin yarıdan fazlasının (% 51,48) buğdaya ayrılmış olması, bu kültür bitkisinin ülkemiz için önemini açıkça ortaya koymaktadır. Fakat buğdayın ülkemiz için asıl önemi, halkımızın temel besin maddesini ve geniş bir üretici kitlesinin geçim kaynağını oluşturmasındandır (Çizelge 1.3). Diğer taraftan, ülkemizde 4 milyon tarım işletmesinin 3 milyonluk kısmında buğday üretimi yapılmaktadır. Görüldüğü gibi başta buğday olmak üzere hububat ürünlerinin, ülkemiz için hem ekonomik ve hem de sosyal açıdan taşıdığı önem büyüktür.

Çizelge 1. 3. Tarım kesiminde istihdam edilen nüfusun, iktisaden faal nüfus içindeki yeri (Anonim, 2001)

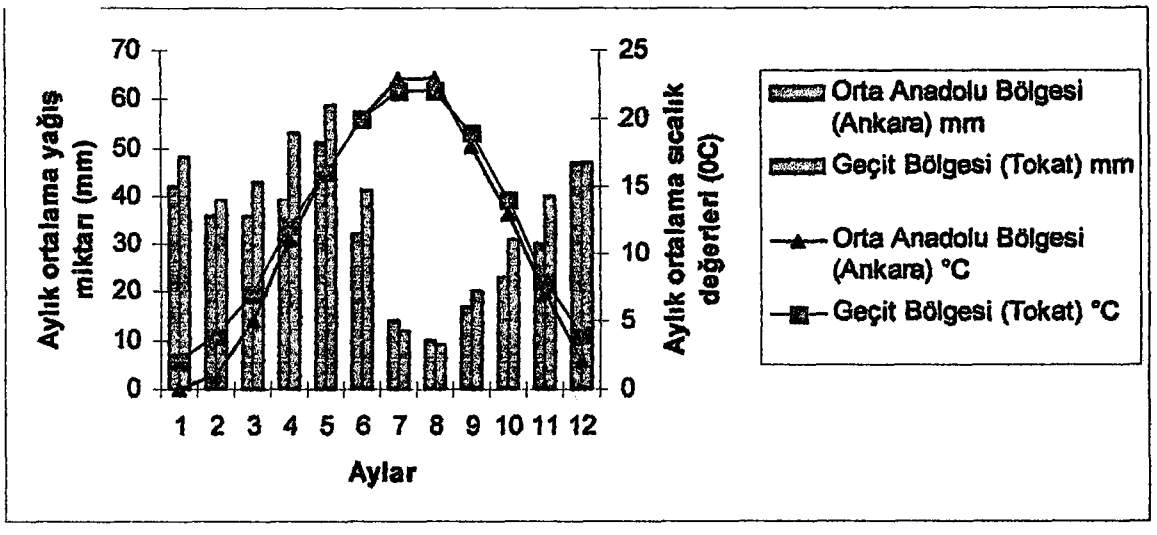
YIL	TOPLAM NÜFUS	İKTİSADEN FAAL NÜFUS	TARIM KESİMİNDEKİ İKTİSADEN FAAL NÜFUS VE ORANI	
			NÜFUS	ORAN
1965	31.391.421	13.557.860	9.750.269	71.92
1970	35.605.176	15.118.887	10.230.496	67.67
1975	40.347.719	17.383.828	11.694.513	67.27
1980	44.736.957	18.522.322	11.104.501	59.95
1985	50.664.458	20.556.786	12.118.533	58.95
1990	56.473.035	23381.893	12.547.796	53.66

Yurdumuzda en fazla buğday üretimi geçiş bölgeleriyle birlikte Orta Anadolu bölgesinde ve daha sonra kıyı bölgelerimizde yapılmaktadır (Şekil 1. 1) ((Zencirci ve. ark. , 1998).



Şekil. 1. 1. Türkiye' de buğday üretim bölgeleri (Zencirci ve ark. , 1998)

Orta Anadolu Bölgesinde iklim koşullarına bağlı olarak, büyük oranda kışlık tahıl üretimi yapılmaktadır. Orta Anadolu bölgesinde ve geçit bölgelerinde kışlar soğuk ve az yağışlı, yazlar ise sıcak ve kurak geçmektedir (Şekil 1. 2) (Zencirci et. al. , 1998).



Şekil 1. 2. Orta Anadolu Bölgesi ve geçit bölgelerinin aylık ortalama sıcaklık ve yağış değerleri (Zencirci ve. ark. , 1998)

Orta Anadolu Bölgesinde esas olarak üç şekilde tahıl üretimi gerçekleştirilmektedir; kuru koşullarda (kıraçta), sulu koşullarda (baraj, gölet, ırmak, kanal ve kuyu gibi su kaynaklarını kullanarak) ve yağışı yeterli koşullarda (mikro klimalar ve geçit alanlarındaki bazı yerlerde). Kuru koşullarda nadas sistemi uygulanarak üretim yapılmaktadır. Bu koşullarda nadas süresince ve üretim yılında tarlada biriktirilen su ancak bir ürünün yetişmesi için yeterli olmaktadır (Kınacı, 2000). Dolayısıyla kuru koşullarda buğday üretimi su stresi altında yapılmaktadır. Su stresi, diğer kök hastalık ve zararlıların etkisiyle birlikte büyük oranda ürün kaybına neden olmaktadır.

Dünyada yetiştirilen kültür bitkilerinde hastalık, zararlılar ve yabancı otların % 35' in üzerinde ürün kayıplarına neden oldukları tahmin edilmektedir (Çizelge 1. 4) (Yeğen, 1987).

Çizelge 1. 4. Bitkisel ürünlerin hastalıklar, zararlılar ve yabancı otlarca kayba uğratılan % miktarları (Yeğen, 1987).

BİTKİSEL ÜRÜNLER	KAYIP %			
	ZARARLILAR	HASTALIKLAR	YABANCI OTLAR	TOPLAM
Buğday	5,0	9,1	9,8	23,9
Pirinç	26,7	8,9	10,8	46,4
Mısır	12,4	9,4	13,0	34,8
Toplam Hububat	14,7	8,9	11,2	34,8
Genel Ortalama Kayıp	13,8	11,6	9,5	34,9

Dünyada olduğu gibi Orta Anadolu bölgesinde de biyotik ve abiyotik faktörler buğday üretimini sınırlandırmaktadır. Bunun yanında Orta Anadolu bölgesinde hastalık ve zararlıların çok fazla etkili olmadıkları ancak hastalık ve zararlı etmenlerinin ekonomik zarar eşiğinin üzerinde bulunması durumunda önemli ekonomik kayıpların gözlendiği belirtilmektedir (Kınacı, 2000).

Orta Anadolu bölgesinde buğday yetiştirme alanlarında, pas, sürme, rastık ve kök çürüklüğü gibi fungal ve viral hastalık etmenlerinin, yabancı otlar ve zararlıların ürün verimini sınırlayan biyotik etmenler olarak belirlenmiştir.

Orta Anadolu bölgesinde başta sarı pas olmak üzere, kahverengi ve kara pas (*Puccinia* spp.) hastalıkları önemli buğday hastalıklarıdır. Bitki yapraklarında ve sapında gelişen sporlar, bitkinin fotosentez alanını daraltarak, buğday tane veriminde düşüşe neden olmaktadır. İlkbaharın serin ve yağışlı geçtiği üretim yıllarında hastalık oranında aşırı artış

görülmektedir. Gerek 79 kadar duyarlı buğday çeşitlerinin ekili olduğu alanlarda önemli ürün kayıpları olmaktadır. Hastalığın kontrolü için dayanıklı çeşitler geliştirilmekte ve kullanılmaktadır.

Etmeni *Tilletia foetida* ve *Tilletia caries* olan sürme hastalığının, Orta Anadolu ve geçiş bölgelerinde 26 ilde % 12,5 – 74, 5 oranında yaygın olduğu belirlenmiştir. Fungus sporlarının buğday başağının içini doldurması nedeniyle ürün kayıplarına ve tohum kalitesinin düşmesine neden olmaktadır. Hastalıklı tanelerden yapılan unlardan beslenen insanlarda ve samandan yapılan yemlerden yiyen hayvanlarda sindirim bozuklukları gözlenmiştir. Hastalığı kontrol altında tutmak için erken veya yazlık ekim, kimyasal ilaçlama ve hastalığa dayanıklı buğday çeşitlerinin geliştirilmesi ve kullanılması önerilmektedir (Yıldırım ve Derin, 1993).

Orta Anadolu Bölgesinde buğday verim kaybına neden olan diğer bir başak hastalığı rastıktır. Konya ve çevresinde genellikle % 1 – 15 oranında verim kaybına neden olduğu tespit edilmiştir. Siyah fungus (*Ustilago nuda tritici*) sporları başağın yerini almaktadır ve tane oluşumu görülmemektedir. Kültürel önlemler ve ilaçlama yapılarak hastalık kontrol altında tutulmaya çalışılmaktadır (Yıldırım ve Derin, 1993).

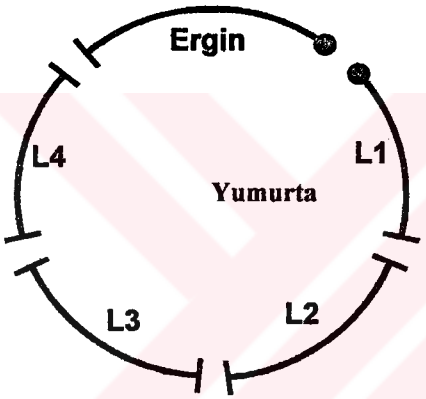
Dünyada bulunan buğday viruslarından arpa sarı cücelik virusu, buğday çizgili mozaik virusu, toprak kökenli buğday mozaik virusu ve buğday sarı mozaik virusu buğdayda önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır. İlk defa 1970 yılında Eskişehir' in Alpu ilçesinde bulunan toprak kökenli buğday mozayik virusunun 1992 – 1998 yılları arasında duyarlı çeşitlerde % 38 – 100 oranında verim kaybına neden olduğu belirlenmiştir (Bolat ve ark. 1999). Buğday virusları genel olarak buğdayda bodurlaşma, yapraklarında sararma ve tanelerde küçülme ve tane sayısında azalmaya neden olmaktadır. Kontrolü için dayanıklı çeşitlerin kullanımı önerilmektedir (Yıldızgördü, 1996).

Diğer taraftan buğday yetiştirme alanlarında gelişen yabancı otlar, buğday bitkisiyle, ışık, yer, su ve mineral bakımından rekabet ederek buğday gelişimini sınırlandırmaktadır. Ayrıca buğday tohumlarına karışarak tohumun kalitesini düşürmektedir. Bazı yabancı otlar bazı hastalık ve zararlılara konukçuluk yaparak da etki göstermektedir (Yıldızgördü, 1996).

Ayrıca, süne (*Eurygaster* spp.), kımıl (*Aelia rostrata*), ekin kambur böceği (*Zabrus* spp.) ve ekin bambul böceği (*Anisoplia* spp.) gibi böcekler, hayat devrelerinin çeşitli aşamalarında, buğday bitkisinin çeşitli kısımlarına saldırarak, önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Yıldırım ve Derin, 1993).

1. 1. Bitki Paraziti Nematodlar

Buğday verim kaybına neden olan zararlılar arasında bitki paraziti nematodlar, önemli bir grubu oluşturmaktadır. Bu grup, hayvanlar alemi içinde deniz, toprak gibi habitatlarda serbest yaşayan ve hayvan paraziti olan gruplar ile birlikte Nematoda şubesi içinde yer almaktadır. Bitki paraziti nematodlar, bütün nematodların % 10 luk bir grubunu oluşturmaktadır ve 300 – 1000 µm uzunluğunda ve 15 – 35 µm genişliğinde silindirik segmentsiz solucanlardır. Gelişimlerini 4 larva aşaması ve ergin olmak üzere 5 aşamada tamamlarlar. Larvalar ve erginin oluşması deri değişimiyle olmaktadır (Şekil 1. 3) (Agrios, 1969).



Şekil. 1. 3. Nematodların hayat devri, L, larva

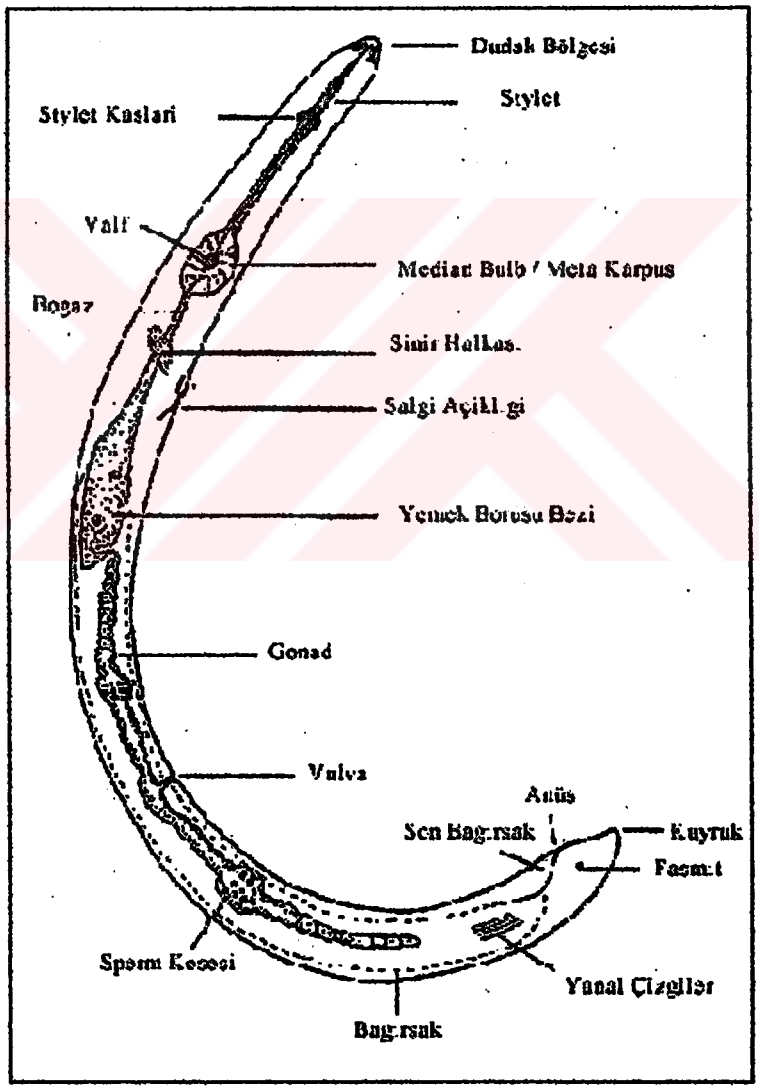
Bitki paraziti nematodları toprakta bulunan parazit olmayan nematodlardan ayıran en önemli karakter, ağızlarında bulunan bitki köklerine penetre olmayı sağlayan "stylet" adı verilen iğne yapısıdır (Şekil 1. 4) (Agrios, 1969).

Bitki paraziti nematodların bitki üzerinde meydana getirdikleri zararlar, yıllık verim kaybı olarak ifade edilmektedir. Ancak, yıllık verim kaybı tam olarak belirlenememektedir. Çünkü, meydana gelen verim kaybı, bitki çeşidi, nematod türü, enfeksiyon düzeyi ve çevresel koşullar gibi bir çok etkene bağımlıdır. Fakat, belirli bir nematod türü için tahminler yapılmaktadır. Yıllık verim kaybının belirlenmesi için tarlada bulunan bitki paraziti nematodların populasyon düzeyi, ürün verimiyle karşılaştırılmaktadır (Kort, 1972). Ekonomik olarak en fazla zarara neden olan *H. avenae* türünün neden olduğu verim kaybı, Pakistan' da, buğdayda % 15 – 20 (Maqbool, 1988), Suudi Arabistan' da, buğdayda % 40

– 92, arpada % 17 – 70 (Ibrahim et. al. , 1999) ve Avustralya' da buğdayda % 25 – 50 ve arpada % 20 (Meagher, 1972) olarak hesaplanmıştır.

Yurdumuzda Konya ilinde *Heterodera filipjevi* ile infekte bir tarlada yapılan bir çalışmada, % 3, 12 oranında verim kaybı gözlenmiştir (Öztürk et. al. , 1999 b).

Dünyada bitki paraziti olarak 2500 tür nematod belirlenmiştir (Nicol, 2002). Küçük taneli tahıllarda parazit olan nematodlardan ekonomik olarak en önemli olanlar, buğday kist nematodu (*Heterodera* spp.), kök yara (lezyon) nematodu (*Pratylenchus* spp.), kök nodül nematodu (*Meloidogyne* spp.), buğday gal nematodu (*Anguina tritici*) ve gövde nematodu (*Ditylenchus dipsaci*) olarak bilinmektedir (Nicol, 2002).



Şekil. 1. 4. Bitki paraziti bir nematodun vücut kısımları (Stirling et. al. , 1999).

1. 1. 1. Kök nodül nematodları (*Meloidogyne* spp.)

Kök nodül nematodlarından sadece *M. naasi* ve *M. artiellia* türlerinin buğday ve arpa üzerinde, kışlık büyüme döneminde önemli kayba neden olduğu belirlenmiştir (Sikora, 1988). Bu türler ılıman iklim ve Akdeniz ikliminin egemen olduğu bölgelerde yaygın olarak görülmüştür (Çizelge. 1. 5). *Meloidogyne* türleri, yumurta kesesi içeren dişilerin oluşumu nedeniyle köklerin üzerinde galerin oluşumuyla zararını göstermektedir. *Meloidogyne naasi*' nin Amerika' nın Kaliforniya eyaletinde % 75 ve *M.* artiellia' nın ise İtalya' da buğday üzerinde % 90 verim kaybına neden olabildiği belirlenmiştir (Allen et. al., 1970; Di Vito and Greco, 1988).

Çizelge 1. 5. Buğday, arpa ve küçük taneli tahıllar üzerinde parazit olan kök nodül nematodlarının (*Meloidogyne* spp.) Dünyadaki yayılışı

NEMATOD TÜRÜ	KONUKÇU BİTKİ	BULUNDUĞU ÜLKELER	REFERANS
Meloidogyne naasi		İngiltere, Belçika, Netherland, Fransa, Almanya, Yugoslavya, İran, Amerika Birleşik Devletleri ve Sovyetler Birliği	Kort, 1972
	Arpa	Malta Adası	Inserra et. al., 1975
	Küçük taneli tahıllar	Yeni Zelanda ve Şile	Jepson, 1987
Meloidogyne artiellia		İtalya, Fransa, Yunanistan ve İspanya	Di Vito and Zacheo, 1987
		Batı Asya	Sikora, 1988
		İsrail	Mor and Cohn, 1989
		Suriye	Mamluk et. al. , 1983
		Batı Sibirya	Shiabova, 1981

1. 1. 2. Buğday gal nematodu (*Anguina tritici*)

Başaklardaki şekil bozuklukları ve sertleşmeyle karakterize edilen buğday gal nematoduna, (*Anguina tritici*) tohum temizleme işlemleri yapılmadan ekim yapılan küçük taneli tahıllarda rastlanmaktadır. Batı Asya, Kuzey Afrika, Hindistan, Çin, Irak, Pakistan, Rusya, Avustralya, Mısır, Brezilya, çoğu Avrupa ülkesi ve Amerika birleşik devletlerinin bazı bölgelerinden rapor edilmiştir (Sikora, 1988 ve Maqbool, 1988). Irak' da buğday üzerinde % 30' un üzerinde verim kaybına neden olduğu belirlenmiştir (Stephan, 1988).

1. 1. 3. Tahıl kist nematodları (*Heterodera* spp.)

Tahıl kist nematodlarının buğday üzerinde parazit olan birçok türü bilinmektedir. Ancak ekonomik kayıplara neden olduğu belirlenen en önemli türler; *Heterodera avenae, H. latipons, H. hordecalis, H. zeae, H. mani, H. pakistanensis, H. bifenestra, H. filipjevi* ve akraba olmayan bir tür olan *Punctodera punctata'* dır. Ekonomik olarak kayıplara neden olan tahıl kist nematodlarının dünya üzerinde yayılışları Çizelge 1. 6' da verilmiştir.

Çizelge 1. 6. Buğday üzerinde parazit olan ekonomik olarak önemli tahıl kist nematodlarının (*Heterodera* spp.) Dünyadaki yayılışı

NEMATOD TÜRÜ	BULUNDUĞU ÜLKELER	REFERANS
Heterodera avenae	Kanada, Güney Afrika, Japonya ve Çoğu Avrupa Ülkesi	Kort, 1972
	Hindistan	Sharma and Swarup, 1984; Sikora, 1998
	Fas, Tunus, Pakistan ve Libya' yı içeren Batı Asya Ülkeleri	Sikora, 1988
	Kuzey Afrika' nın Yarı Kurak Bölgeleri	Sikora, 1988
	Türkiye	Rumpenhorst et. al., 1996
	İsrail ve Avustralya	Kort, 1972
Heterodera latipons	İtalya, Libya ve İsrail	Kort, 1972
	Kıbrıs	Sikora, 1988
	Suriye	Sikora, 1988
	Avrupa	Sabova et. al., 1988
	Türkiye	Rumpenhorst et. al., 1996
Heterodera hordecalis	İsveç, Almanya ve İngiltere	Andersson, 1974; Sturhan, 1982; Cook and York, 1982
Heterodera zeae	Hindistan ve Pakistan	Sharma and Swarup, 1984; Maqbool, 1988
	Irak	Stephan, 1988
Heterodera filipjevi	Rusya	Balakhnina, 1989
	Türkiye	Rumpenhorst et. al., 1996

Yurdumuzda Orta Anadolu bölgesinde % 41, 1 oranında yayılışa sahip olduğu belirlenen kist nematodları, *Heterodera avenae, H. latipons ve H. filipjevi* olarak tayin edilmiştir (Rumpenhorst et. al., 1996).

Kist nematodlarından *Heterodera* türleri üzerine en fazla çalışma *H. aveanae* türü üzerinde yapılmıştır. Diğer türlerin biyolojisi ve ekolojik davranışları hakkındaki bilgiler

sınırlıdır. Dolayısıyla kist nematodları hakkında verilen bilgiler *H. avenae* türüne atfen verilmektedir.

Kist nematodları yılda bir generasyon vermektedir ve hayat devri, bulunduğu ekolojik ve coğrafi koşullara da bağlı olarak konukçu bitkinin hayat devriyle sıkı bir ilişki içindedir. Kist nematodlarının infektif olan ikinci aşamadaki larvaları, kök ucundan bitki köklerine girmektedir ve korteks bölgesi boyunca hareket ederek üzerinde besleneceği hücre üzerine yerleşmektedir. Kist nematodu bu hücrelerle beslenmesi sırasında, salgıladığı maddelerle, beslenmesi için yeterli miktarda maddeyi depolayacak dev hücreler olan "syncytia hücrelerini" oluşturur. Syncytia hücreleri, hücre duvarının yapısının bozulması ve komşu hücrelerin birleşmesiyle oluşmaktadır (Dropkin, 1969). Kist nematodlarının kök içindeki gelişimleri yerleştikleri kök bölgesinde devam etmektedir. Döllenmeden sonra dişiler morfolojik olarak değişime uğramaktadır. Vücutları şişerek limon şeklini almakta ve yumurtalar vücut boşluğunda birikmektedir. Erkekler ise solucan şeklini korumaktadır. Olgun dişiler kökler üzerinde çıplak gözle görülebilmektedir. Dişi öldükten sonra vücut duvarı kalınlaşmakta ve kahverengine dönüşmektedir. Bu şekilde içindeki yumurtaları koruyan dayanıklı bir kist oluşmaktadır (Kort, 1972).

Larvaların kist içinden çıkışında ve bitki köklerini enfeksiyonunda çok sayıda faktör etkilidir. Bunlar, sıcaklık,toprak nemi, kullanılabilir oksijen gibi çevresel koşullar, konukçu bitkinin yetişme periyodu, bitki kök salgıları ve kistin diapozu gibi fiziksel bariyerlerdir. Laboratuvarda *in vitro* olarak yapılan çalışmalarda *H. avenae'* nin Güney Avustralya populasyonuna ait kistlerden 5 – 20 °C' arasında, maksimum 15 °C' de çıkış gözlenmiştir (Banyer and Fisher, 1971). Aynı populasyonla, 10 – 15 °C' de kök salgıları içeren ortamda gerçekleştirilen çalışmada larva çıkışında önemli bir artış gözlenmiştir (Clarke and Perry, 1977). Bununla birlikte kist nematodlarının kök salgılarına karşı reaksiyonları türden türe değişmektedir. Bazı türlerde larvalar spesifik maddelere gereksinim duymaksızın su içerisinde çıkış yaparken, bazı türlerde konukçu bitkinin kök salgıları bulunmaksızın larva çıkışı gözlenmemektedir. Ayrıca kist nematodlarının konukçu spektrumları da geniş oranda farklılık göstermektedir. Örneğin, *Heterodera zeae* türünde konukçu bitkiye akraba olmayan türlerden salınan kök salgılarına cevap olarak da larva çıkış gözlenmektedir. Fakat diğer bitkiler asıl konukçu bitkiden daha az etkilidir. Diğer bir çalışmada ise kistlerin 5 °C' de bekletildikten sonra, kök salgıları içeren sıvı ortama yerleştirilerek 10 °C' de incelenmesi sonucu daha önceki çalışmalarda elde edilenden daha fazla sayıda larva çıkışı gözlenmiştir (Clarke and Perry, 1977). Önceden düşük sıcaklıkta bekletilme işlemi olası bir diapoz durumunun kırılması için gereklidir.

Diapoz, doğada meydana gelen mevsimsel değişimlere bir uyum mekanizması olarak geliştirilmiş, kistin içinden yumurtaların çıkışının gözlenmediği bir durgunluk durumudur *İn vitro* koşullarda gerçekleştirilen bu laboratuvar çalışmaları, doğada larvaların kist içinden çıkışının çok sayıda faktörün etkisi altında gerçekleştiğini göstermektedir.

Heterodera latipons' un Suriye populasyonuyla yapılan çalışmalarda, 5 °C' de ön inkübasyondan sonra, 10 °C' de, 8. – 11. haftalar arasında, % 26, 4 oranında olmak üzere en fazla larva çıkışı kayıt edilmiştir. 20 ve 25 °C' de hiç larva çıkışı gözlenmemiştir. Yapılan çalışma, Suriye *H. latipons* kist nematodu populasyonunun larva çıkışının gözlenmesi için 5 °C gibi düşük sıcaklıklara maruz kalması gerektiğini ve larva çıkışının düşük sıcaklıklarda meydana geldiğini göstermektedir (Scholz, 2001).

Kist nematodu larvalarının uygun koşullarda kist içinden çıkışını takiben, bitki köklerine penetrasyonu gerçekleşmektedir. Larvaların kökleri enfeksiyonu genellikle bitkinin ilk gelişim dönemlerinde gözlenmektedir. Larvanın köke giriş noktasında aşırı bir dallanma gözlenmektedir ve enfeksiyon noktasından sonra kök uzaması durmaktadır. Bitki köklerinin uzamasının durması nedeniyle topraktan su ve mineral maddelerin alınımı gerçekleşememektedir. Bunun sonucu olarak yan kök gelişimi ve kardeş oluşumu gerilemektedir. Bitkiler sararmakta ve bodurlaşmaktadır. Tarlada çok ciddi enfeksiyonun bulunduğu bölgeler çıplak toprak parçası olarak gözlenmektedir (Lung, 1992).

1. 1. 4. Kök lezyon nematodları (*Pratylenchus* spp.)

Çoğu zaman tahıl kist nematoduyla birlikte aynı tarlada bulunan kök lezyon nematodlarının, (*Pratylenchus* spp.) Dünyada tahıllar üzerinde önemli kayba neden olan *Pratylenchus thornei, P. neglectus, P. penetrans ve P. crenatus* türleri olmak üzere 4 türü bilinmektedir. *Pratylenchus* türlerinin ılıman iklim kuşağında ve Akdeniz ikliminin hakim olduğu bölgelerde yaygın olarak bulunduğu bildirilmektedir (Çizelge 1.7) (Nicol et. al. , 2003).

Çizelge. 1. 7. Buğday üzerinde parazit olan ekonomik olarak önemli kök lezyon nematodlarının (*Pratylenchus* spp.) Dünyadaki yayılışı

NEMATOD TÜRÜ	BULUNDUĞU ÜLKELER	REFERANS
Pratylenchus thornei	Suriye	Saxena et. al., 1988
	Yugoslavya, Meksika ve Avustralya	Nicol, 2002
	Kanada	Yu, 1997
	İsrail	Orion et. al., 1982
	Fas	Ammati, 1987
	Pakistan ve Hindistan	Maqbool, 1988
	Cezayir	Troccoli et. al., 1992
	İtalya	Lamberti, 1981
	Türkiye	Nicol, 2002
Pratylenchus neglectus	Avustralya	Taylor et. al., 2000
	Kuzey Amerika	Timper and Brodie, 1997
	Avrupa	Lasserre et. al., 1994
	Türkiye	Nicol, 2002
Pratylenchus penetrans	Kanada	Kimpinski et. al., 1989

Yapılan çalışmalarda sera koşullarında inokule edilen *Pratylenchus* nematodu sayısı ile verim kaybı arasında korelasyon bulunamamasına rağmen, tarla koşullarında su ve mineral madde eksikliği gibi diğer sınırlayıcı faktörlerin etkisiyle birlikte önemli zararlar kaydedilmektedir (Kort, 1972). *Pratylenchus thornei*' nin Avustralya' da % 38 – 85 (Thompson and Clewlett, 1986), Meksika' da % 32 (Van Gundy et. al., 1974) ve İsrail' de % 70 (Orion et. al., 1984) oranında verim kaybına neden olduğu tespit edilmiştir. Diğer *Pratylenchus* türlerinin ekonomik zarar potansiyelinin *Pratylenchus thornei* kadar olmamakla birlikte, *Pratylenchus neglectus*' un Avustralya' da % 16 – 23 (Taylor, 2000) ve *Pratylnchus penetrans*' ın Kanada' da % 10 – 19 (Kimpinski et. al., 1989) oranında verim kaybına neden olduğu belirlenmiştir. *Pratylenchus* türlerinin bir bitki gelişim döneminde birden fazla generasyon vermeleri nedeniyle zarar potansiyelleri daha yüksektir. (Nicol, 1991) Kök lezyon nematodlarının dişilerinde, kist nematodlarında olduğu gibi morfolojik bir değişim gerçekleşmemektedir. Erginler, üreme sistemi hariç larvalarla aynı morfolojik yapılara sahiptir. Dolayısıyla bütün gelişim aşamalarında nematodlar, kök hücreleri arasında hareket edebilmekte ve kök korteks hücreleri üzerinde beslenerek hücrelerin ölümüne neden olmaktadır. Sonuç olarak kökler üzerinde kahverengi lezyonlar oluşmaktadır. Kök lezyon nematodlarının bitkiler üzerinde meydana getirdikleri en belirgin hastalık belirtisi kökler üzerindeki kahverengi lezyonlardır. Bitkinin toprak üstü kısımlarında semptomların belirgin olmamasına rağmen, kuraklık ve mineral dengesizliğinin etkisiyle birlikte, köklerde meydana gelen hasarlar bitkide bodurlaşmaya neden olmaktadır (Nicol, 1991).

Bütün larva aşamaları ve ergin köklere saldırabilmektedir. Bazı *Pratylenchus* türlerinde erkekler nadir olarak bulunmaktadır ve dişiler mitotik partenogenesis ile üreme yeteneğine sahiptir. Oluşan yumurtalar tek tek veya küçük gruplar halinde kök içine bırakılmaktadır, daha sonra yumurtalar ya kök içinde açılmaktadır veya parçalanmış kök kısımlarından toprağa geçmektedir. Kök lezyon nematodları kışı ya enfekte köklerin içinde veyakış koşullarına dayanıklı olmayan yumurta içeren dişiler hariç, yumurt, larva veya ergin olarak toprakta geçirmektedir. Kuraklık döneminde ise bir sonraki bitki gelişim dönemine kadar toprakta durgun olarak kalmaktadır (Agrios, 1969).

Siyan ve arkadaşları tarafından (1982) *Pratylenchus thornei*' nin yumurtadan yumurtaya hayat devrinin laboratuvar koşullarında 30 ± 2 °C' de 25 – 29 günde tamamlandığı belirlenmiştir. *Pratylenchus thornei*' nin yumurtalarının farklı sıcaklıklarda embriyolojik gelişimi üzerinde yapılan bir çalışmada, 2. aşamadaki larvaların açılması için optimum sıcaklık 25 °C olarak belirlenmiştir. Yumurtaların 25 °C' de 7 günde açıldıkları gözlenmiştir (Nicol, 1991).

Buğdayın sağlıklı bir şekilde kardeşlenmesi ve oluşan her bir gövdenin başak oluşturmasının desteklenmesi bakımından sağlıklı bir kök sisteminin gelişmesi en önemli etkendir. Köklerde meydana gelen hasarlar, topraktan su ve minerallerin alınmasını engellediği için kardeş oluşumunu ve ana gövdenin sağlıklı gelişimini etkilemektedir. Buğday köklerinde meydana gelen hastalıklar toprakta bulunan organizmaların etkileşimi sonucu oluşturulmaktadır.

Bitki paraziti nematodların, bitki köklerinin koruyucu tabakasını kolaylıkla parçalayabilmeleri nedeniyle, nematodlar tarafından infekte edilmiş kökler çoğunlukla mikroorganizmaların ikincil enfeksiyonlarına maruz kalmaktadır. Sonuç olarak daha şiddetli hastalık etkileri ve verim kaybında artış gözlenmektedir (Powell, 1971). Bir bitki paraziti nematod olan *Heterodera avenae* ve bitki patojeni olan *Rhizoctonia solani*' nin bitki üzerinde birlikte yaptıkları etkiyi belirlemek amacıyla Meagher ve Chambers (1971) tarafından gerçekleştirilen bir sera çalışmasında, iki patojenin birlikte bulunduklarında, kardeşlenme, taze bitki ağırlığı ve uzunluğu, yan kök sayısı ve uzunlukları gibi parametreler bakımından en fazla zararı meydana getirdikleri belirlenmiştir.

Tahıl kist nematodu, *Heterodera latipons* ve kök çürüklüğü etmeni *Bipolaris sorokiniana*' nın arpa üzerinde sinerjistik etkileşiminin gözlenmesi amacıyla, her bir etmenin tek tek ve çeşitli kombinasyonlarda aynı bitki üzerinde birlikte bulundukları gruplardan oluşan bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmada kist nematodunun inokulasyonundan 9 hafta sonra kök çürüklüğü etmeninin verildiği grupta en fazla tane

verim kaybı gözlenmiştir. Dokuz haftalık sürenin, kistin içindeki infektif larvaların çıkışı ve kökleri enfeksiyonu için yeterli olduğu daha önceki çalışmalarla belirlenmiştir. İnokulasyondan sonra *Bipolaris sorokiniana*' nın en fazla bu kombinasyondan izole edilmesi nedeniyle, nematod larvaların köklere girişinin fungus enfeksiyonunu arttırdığı ve bu nedenle en fazla verim kaybı gözlendiği öne sürülmüştür (Scholz, 2001).

Kuru toprak koşullarında inokulum olarak toprakta bulunan *Fusarium* türleri, özellikle, *Fusarium graminearum, Fusarium culmorum* ve daha seyrek olarak *Fusarium avenaceum,* köklere enfekte olduğunda köklerde çürüklük hastalıklarına neden olmaktadır. Nemli ve hafif nemli toprak koşullarında ise, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*' nin neden olduğu fide gücünü etkileyen çökerten hastalığı ve *Rhizoctonia* türlerinin özellikle, *Rhizoctonia solani* ve *R. oryzae* ve *Pythium* türlerinin neden olduğu çürüklük hastalıkları görülmektedir (Yıldızgördü, 1996). Ayrıca, kökler üzerinde kök çürüklüğü etmeni funguslarınkine benzer hasarlar meydana getiren kök lezyon nematodları, (*Pratylenchus* spp.) kök çürüklüğü etmenleri funguslarla birlikte fungus/ nematod kök çürüklüğü hastalık komplexini oluşturmaktadır (Powell, 1971).

1. 2. Bitki Paraziti Nematodların Kontrolü

Nematodların kontrol çalışmalarıyla nematodun populasyon yoğunluğunun, yetiştirilen bitkinin tolerans eşiğinin altında tutularak, ürün verim kaybının önlenmesi amaçlanmaktadır (Andersson, 1982). Populasyon düzeyinin zarar eşiğinin altında tutulması amacıyla, olası kontrol yöntemlerinin yer aldığı kontrol stratejileri geliştirilmektedir. Etkili bir kontrol stratejisi geliştirmek için, nematodun hayat devri, patojenik özellikleri ve diğer patojen organizmalarla interaksiyonları gibi özellikleri göz önünde bulundurulmaktadır (Scholz, 2001). Örneğin, tahıl kist nematodlarının yılda bir generasyon vermesi sebebiyle bitkiler üzerinde zarar genellikle, bitkinin ekim zamanında tarlada bulunan ilk nematod populasyonu tarafından oluşturulmaktadır. Bu nedenle tarladaki ilk populasyon düzeyini bitkinin tolerans düzeyinin altına düşürecek enregre kontrol stratejileri geliştirilmektedir. İlk populasyon düzeyi çok yüksek değilse, kimyasal nematosit uygulamasıyla populasyon düzeyi tolerans eşiğinin altına çekilmektedir. Düşük populasyon düzeyinde ise, nematodlar bitki üzerinde bol miktarda besin bulacaklarından, duyarlı bitkilerin ekilmesi durumunda üreme oranı yükselecektir. Bu durumda rotasyon uygulamasına gidilmesi veya dayanıklı bitkilerin ekiminin yapılması önerilmektedir (Trudgill et. al., 1992).

Nematodların kontrolünde kültürel uygulamalara, kimyasal ve biyolojik kontrol çalışmalarına yer verilmektedir.

1. 2. 1. Kültürel uygulamalar

Nematod populasyonunun kontrol altında tutulması için uygulanan yöntemlerden biri olan, konukçu olmayan bir bitkinin bir veya daha fazla yıl ekimi ile gerçekleştirilen rotasyon uygulamaları, nematodun besin bulamaması nedeniyle populasyonunda düşüşlere neden olmaktadır. Ayrıca, bu amaçla tarla hiçbir ekin ekilmeksizin nadasa da bırakılabilmektedir. Rotasyonda kullanılacak bitkinin seçiminde, rotasyonda kullanılan bitkilerden elde edilecek ürünün, buğdayın tanesi ve sapından sağlanan ekonomik girdiyi karşılayıp karşılamayacağı göz önünde bulundurulmaktadır (Brown, 1984)

Tahıl kist nematodlarının konukçu spektrumunun gramineae familyasına ait bitkilerle sınırlı olması nedeniyle gramineae familyası dışındaki bitkilerle rotasyon uygulamaları gerçekleştirilmektedir. Rotasyonun buğday verimine etkisi üzerine yapılan çalışmalarda, Nadas – buğday veya nadas – buğday – yulaf ekim sisteminin uygulandığı gruplarda tahıl kist nematodunun en fazla zarara neden olduğu gözlenmiştir. Buğday – legüm rotasyonunun uygulandığı bir çalışmada ise buğday veriminde önemli bir artış gözlenmiştir (Griffin, 1984).

Rotasyon sistemi *Pratylenchus* türlerinde başarılı bir şekilde uygulanamamaktadır. Bunun nedeni *Pratylenchus* türlerinin konukçu spektrumunun çok geniş olmasıdır. *Pratylenchus thornei*' nin 18 familyaya ait bitki üzerinde gelişebildiği belirlenmiştir. *Triticum aestivum* ve *Phaseolus lunatus* en iyi konukçular olarak bilinmektedir. Buna karşın nadas uygulamalarıyla *Pratylenchus* populasyonunda düşüşler kayıt edilmiştir. İsrail' de iki yıl üst üste uygulanan nadasın *P. mediterraneus* populasyonunu % 90 oranında düşürdüğü ve buğday veriminde % 40 – 90 oranında artışa neden olduğu belirlenmiştir.(Orion et. al., 1984).

Gübreleme, toprağın mekanik olarak karıştırılması ve ekim zamanının değiştirilmesi gibi agronomik uygulamalar nematodların kontrolünde önemli bir yer tutmaktadır. Ancak bu yöntemlerin ürün verimi ve nematod yoğunluğu üzerindeki etkisinin gözlenmesi uzun süreli incelemeleri gerektirmektedir (Scholz, 2001).

Güney Avustralya' da ortalama yağışın üzerinde yağış alınan yıllarda kullanılabilir azotun, yağmur suyuyla toprağın alt tabakalarına geçmesiyle kist nematodununun meydana getirdiği zarara ek olarak azot eksikliğine bağlı çok şiddetli zarar gözlenmiştir. Bu nedenle

güney Avustralya' da yağmurlu geçen yıllarda azotlu gübrelerin kullanımı önerilmektedir (Brown,1984). Organik materyallerin *Pratylenchus* populasyonuna etkisi üzerinde yapılan çalışmada hasat sonrası saman içeren bir tarlanın pulluklanmasıyla önemli oranda nematod sayısında düşüşe neden olduğu bulunmuştur (Esmenjaud et. al., 1990).

Nematodlarının kontrolünde kullanılan diğer bir yöntem yaz aylarında infekte tarlanın derin bir şekilde pullukla karıştırılmasıdır. Bu yöntemle, toprak yüzeyine çıkan kistlerin yumurtalarının veya hareketli nematodların güneş ve sıcak esen rüzgarların etkisiyle kuruyarak ölmesi sağlanmaktadır. Hindistan' da tahıl kist nematodu ile infekte bir tarlanın, mayıs ve haziran aylarında 1 – 5 defa derin bir şekilde pulluklanarak karıştırılmasının, kist populasyonunda % 9, 3 – 42, 4 oranında düşüşe neden olduğunu belirlenmiştir. Buna bağlı olarak bitki veriminde % 4, 4 – 97, 5 oranında bir artış kaydedilmiştir (Mathur et. al. , 1987). Avustralya' da toprağın pulluklanmasıyla *Pratylenchus neglectus* populasyonunda % 55 düşüş kayıt edilmiştir. Buna bağlı olarak ürün veriminde % 27 oranında artış elde edilmiştir (Nicol, 1991).

Ekim zamanının toprakta nematodların en yoğun bulunduğu döneme göre ayarlanmasıyla, nematodlardan kaynaklanan verim kaybının büyük oranda önlenebileceği gösterilmiştir. Avustralya' da temmuz ayında *Heterodera* spp. infektif larvalarının toprakta en yoğun oranda bulundukları belirlenmiştir. İlk bahar yağmurlarıyla toprağın işlenmeye hazır hale gelmesinden sonra mayıs ayında yapılan erken ekimin, 1 ton/ ha oranında verim artışına neden olduğu belirlenmiştir (Brown,1984). Meksika' da *Pratylenchus* spp. ile infektif bir tarlada kışlık buğdayın ekim zamanında 1 aylık gecikme ile büyük oranda verim artışı meydana geldiği kayıt edilmiştir (Van Gundy et. al., 1974).

Dayanıklı çeşitlerin kullanımı, nematodların kontrolünde diğer yöntemlerle kombinasyonlu olarak en ucuz ve en etkili yöntem olarak görülmektedir. Ancak, dayanıklılık kaynaklarının kullanımı, ülkelerin iklimsel koşulları ve o ülkede bulunan nematod türü ve patotipine bağlıdır. Bu nedenle dayanıklılık kaynaklarının, her ülke koşullarında problem olan nematod türüne karşı reaksiyonları kontrol edilmelidir. Dayanıklılık kaynaklarının araştırılması çalışmalarına gen düzeyinde yapılan moleküler çalışmalar önemli katkı sağlamaktadır. Avustralya' da yapılan çalışmalarda tahıl kist nematodu, *Heterodera avenae'* ye karşı ekmeklik buğday üzerinde 9 tane dayanıklılık geni identifiye edilmiştir. Bu çalışmalar sonucu belirlenen Cre 1, Cre F ve Cre 3 genlerini içeren çeşitler, ıslah çalışmalarında kullanılmak üzere avantajlı hatlar olarak sunulmuştur (Ogbonnaya et. al., 2001). Çizelge 1. 8' de buğdayda *Heterodera avenae'* ye dayanıklılık genlerinin başlıca kaynakları verilmiştir (Nicol, 2002). Dayanıklılık genlerinin

belirlenmesinden sonraki aşamada ıslah çalışmalarına ek olarak, dayanıklılık genlerinin bir bitkiden diğerine aktarılmasıyla dayanıklı bitkilerin geliştirilmesi amacıyla çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada, yabani şeker pancarında *Heterodera schachtii*' ye dayanıklılığı sağlayan $Hs1^{pro-1}$ geni, *Agrobacterium* vektörüyle tütün bitkisine transfer edilerek *Meloidogyne javanica*' ya karşı dayanıklılık elde edilmiştir (Altun et. al., 2001).

Çizelge. 1. 8. Buğdayda tahıl kist nematoduna (*Heterodera avenae*) dayanıklılık ıslahında kullanılan genlerin başlıca kaynakları (Nicol, 2002)

BUĞDAY TÜRÜ	BUĞDAY ÇEŞİDİ VEYA HATTI	BUĞDAYIN MENŞEİ	GENETİK BİLGİ	KULLANILDIĞI ÜLKE
Triticum aestivum	Loros	-	1 dominant gen, 2BL kromozomu üzerinde Cre 1 geni	Avrupa ve Avustralya
	Aus10894	Avustralya		
	Katyil	Avustralya	Ccn 1	Avustralya
	Festiguay	Avustralya	7L? kromozomu üzerinde Cre F geni	Avustralya
	Aus4930= 'Iraq 48'	Irak		Avustralya ve Fransa
Triticum durum	Psathias	-		-
	7654, 7655, Sansome, Khapli	-		Fransa

Konya ilinde kök ve kök boğazı çürüklüğüne neden olan etmenler üzerinde yapılan çalışmada, yörede % 36, 21 oranında hastalığa neden olan 29 farklı fungus bulunduğu ve bu patojenlerin % 5 – 9 oranında tane verimi kaybına neden olduğu belirlenmiştir. Kök ve kök boğazı çürüklüğü etmenlerinden, *Fusarium culmorum, F. moniliforme, Bipolaris sorokiniana, Ophiobolus graminis* ve *Rhizoctonia cerealis'* e karşı dayanıklı çeşitlerin belirlenmesi için yapılan çalışmalarda Enginel 90 ve Kıral 97 arpa çeşitleri ve Tatlıcak97 ve BDMT 19 tritikale çeşit ve çeşit adayı dayanıklı ve orta derecede dayanıklı bulunmuştur (Aktaş ve ark., 1999).

Ekilecek üründe hastalıklara dayanıklılığın yanında, elde edilecek verim de göz önünde bulundurulmaktadır. Bu amaçla ıslah çalışmalarında nematoda dayanıklılık içeren ve yüksek verim veren çeşitlerin geliştirilmesi amaçlanmalıdır.

Ayrıca, devamlı dayanıklı buğday çeşitlerinin kullanımı, nematodun yeni bir patotipinin baskın duruma gelmesine neden olabilmektedir. Bitkinin yeni oluşan patotipe karşı dayanıklılık geni taşımaması durumunda çok fazla verim kaybı gözlenmektedir. Yeni patotipler mutasyonlarla oluşmaktadır veya zaten düşük oranda populasyonun içinde bulunmaktadır. Yeni patotiplerin populasyon içinde baskın duruma gelmesinden sakınmak için, dayanıklı ve hassas çeşitlerin sırayla ekimi veya dayanıklı çeşitlerin gerekli olduğu zaman ekimi önerilmektedir (Andersson, 1982).

1. 2. 2. Kimyasal kontrol

Nematodların kontrolü amacıyla kullanılan kimyasal maddeler, fumigantlar ve nonfumigantlar (nonvolatile) bileşikler olmak üzere iki grup altında toplanabilir. Fumigantlar uçucu bileşikleri içermektedir. Nematodlar ve yumurtaları üzerinde öldürücü oldukları kanıtlanmıştır. Nonfumigantlar nematostatlar olarak da adlandırılmaktadır ve nematodlar üzerinde direkt öldürücü etkileri olmamakla birlikte, çeşitli şekillerde nematodların davranışlarının etkilemektedir. Terbufos (0, 6 kg/ ha), Oxamyl (0, 54 kg/ ha), Aldicarb (0, 375 kg/ha), Carbofuran (0, 4 - 0, 42 kg/ ha) ve ethylene dibromide (EDB) (3, 7 lt/ ha) buğday üzerinde *Heterodera avenae'* ye karşı ticari olarak kullanılması önerilen kimyasal nematositlerdir. Kimyasal nematositler çok pahalı olmaları neniyle büyük tarlalarda kontrol amacıyla tercih edilmemektedir. Ancak küçük çaplı araştırmalarda kullanılmaktadır. Bunun yanında nematositlerin yıkım ürünlerinin toprak suyuna karışarak hedef olmayan organizmalar üzerinde zarara neden olduğu belirlenmiştir. (Hague and Gowen, 1987) *Pratylenchus* türlerinin bir yılda birden fazla generasyon vermesi ve özellikle ağır topraklarda bulunmaları sebebiyle nematositlerin etkili olabilmesi için çok sayıda ve fazla miktarda uygulanması gerekmektedir. Avustralya' da *Pratylenchus* türlerinin en etkili kontrolü, ekimden önce (10 kg/ ha) veya tohum sıralarına granül olarak (2 – 5 kg/ ha) uygulanan Aldicarb (Temik®) ile elde edilmiştir (Nicol, 1991).

Ayrıca Premis Universal (250 ml /100 kg. tohum) ve Dividend 2DS (300 g. /100 kg.) kimyasal ilaçları Konya yöresinde bulunan bütün kök ve kök boğazı çürüklüğü etmenlerine karşı sırasıyla % 65.88 ve % 65.64 oranında etkili bulunmuştur (Aktaş ve ark., 1999).

1. 2. 3. Biyolojik kontrol

Nematodların kontrolünde yer alan kontrol yöntemlerinin çeşitli sakıncaları nedeniyle biyolojik kontrol olanaklarına olan ilgi giderek artmaktadır. Örneğin, toplam pestisit ve herbisit kullanımı içinde % 2, 5' luk paya sahip olan nematositlerin bir kısmı, uygulamalar sırasında insanlara verdikleri zararlar ve yer altı sularında kabul edilemez düzeylerde bulunmaları nedeniyle pazardan çekilmiştir. Bunun yanında, ekin rotasyonu gibi kültürel tekniklerin uygulanışı ekonomik kaygılar nedeniyle sınırlı kalmaktadır. Dayanıklı bitki çeşitlerinin nematod populasyonunu etkili bir şekilde kontrol etmesine karşın, yeni patotiplerin oluşması ve dayanıklılığın kırılması durumunda nematod populasyonunda aşırı yükselmeler görülmektedir. Buna karşın, biyolojik kontrol, hedef organizmalar üzerinde dayanıklılık veya bağışıklığa neden olmazken, hedef olmayan organizmalar üzerinde de zararlı bir etkiye sahip değildir. Ekosistemdeki biyolojik dengenin korunmasına katkı sağlayan biyolojik kontrolde, doğada kendiliğinden bir biyolojik kontrol ajanı üstün duruma gelerek nematod populasyonunu baskılayabilmektedir. Ayrıca belirli bir biyolojik kontrol ajanının fazla miktarda üretilerek toprak ekosistemine inokulasyonuyla da kontrol gerçekleştirilebilmektedir. Bu şekilde gerçekleştirilen biyolojik kontrol, indüklenmiş biyolojik kontrol olarak adlandırılmaktadır (Kerry, 1987).

Gerek indüklenmiş gerekse doğal olarak gerçekleşen biyolojik kontrolde, biyolojik kontrol ajanları, predatör ve parazitik aktiviteleriyle inhibe edici metabolit salgılama yoluyla nematod populasyonu üzerinde etkili olmaktadır (Jatala, 1986). Bu bağlamda, bitki paraziti nematodların biyolojik kontrolünde görev yapan organizmalar; predatör, parazit ve inhibe edici metabolit salgılayan organizmalar olarak gruplandırılabilmektedir.

1. 2. 3. 1. Predatör organizmalar

Bitki paraziti nematodlar üzerinde avlanan nematod, tardigrad, (sakallı hayvancıklar) turbellaria, (sili solucanlar) collembola, (kuyrukla sıçrayanlar) mite, (kene) enchytraeid, (karasal solucanlar) protozoa ve fungus türleri belirlenmiştir. Predatör organizmalar arasında fungusların, bitki paraziti nematodların kontrolünde en önemli yere sahip olduğu belirlenmiştir. Diğer organizmaların ise bitki paraziti nematodların biyolojik kontrolündeki payı tam olarak belirlenememiştir (Jatala, 1986).

Tarım topraklarında bulunan nematodlar üzerinde predatör olarak gelişen 100 tür fungus belirlenmiştir (Jatala, 1986). Predatör funguslar içinde basit özelleşmemiş hiflerden oluşan morfolojik yapıya sahip gruplar bulunduğu gibi, nematod yakalamaya özelleşmiş yapışıcı lop, yapışıcı hifler veya kasılıcı halkalar gibi organlar taşıyan gruplar da bulunmaktadır. Predatör fungusların, yapışıcı madde ve yapılara ek olarak, nematod kutikulasına penetrasyondan önce nematodun ölümünü veya felç olmasını sağlayan toksik maddeler de salgıladıkları tespit edilmiştir (Jatala, 1986). Predatör fungusların aktif olabilmeleri için özel çevresel isteklerinin bulunduğu ve yaşlandıkça aktivitelerinin azaldığı belirlenmiştir. Bu nedenle gerçekleştirilecek kontrol çalışmalarında, predatör fungusun aktif evresi ile nematodların toprakta en fazla bulunduğu zamanın örtüşmesi kontrolün önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Bu durumun göz ardı edildiği bazı çalışmalarda, başarılı kontrol sağlanamamıştır.

Slepetiene ve arkadaşları (1993) tarafından *Arthrobotrys* spp. ile gerçekleştirilen çalışmalarda başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Siddiqui and Mahmood, 1996). Cayrol ve Frankowski (1979) tarafından geliştirilen *Arthrobotrys irregularis'* in çavdar üzerine sardırılmış preparatının Royal 350 adı altında ticari olarak pazarlandığı bildirilmektedir ve 1, 4 ton/ ha oranında ekimden bir ay önce uygulanması önerilmektedir. Cayrol (1983) tarafından, Royal 350 preparatının, *Meloidogyne* spp.' nin domates köklerinde oluşturduğu nodülleri azalttığı ve ürün verimini arttırdığı belirlenmiştir. Ayrıca, Cayrol ve arkadaşları (1978) tarafından *Arthrobotrys robusta* türünün Royal 300 adı altında *Agaricus bisporus* kültür mantarı üzerinde zarara neden olan *Ditylenchus myceliophagus* nematoduna karşı etkili bir ticari preparatı daha geliştirilmiştir (Kerry,1987).

1. 2. 3. 2. Parazit organizmalar

Virus, riketsiya, bakteri ve fungusların bazı türlerinin parazitik aktiviteleriyle nematodların biyolojik kontrolünde yer aldıkları bildirilmektedir.

Bazı bitki virusları ile vektörleri olan nematodlar arasında parazitik bir ilişkinin bulunabileceğine dair çalışmalar yapılmıştır, Ancak, virusların her hangi bir patojenik aktiviteye sahip oldukları tespit edilememiştir. Bakteri benzeri mikroorganizmalar olan riketsiyaların parazitik aktiviteleri üzerinde yapılan çalışmalarda ise, kist nematodlarından *Heterodera goettingiana, Globodera rstochiensis ve Heterodera glycines* türleri üzerinde riketsiyaların intraselüler olarak bulunduğu bildirilmiştir. Ancak, bunların parazitik

aktiviteye sahip oldukları tam olarak açıklanamamıştır (Jatala, 1986). Nematod paraziti olan organizmalar arasında ise, en etkili olan grubu bakteri ve funguslar oluşturmaktadır.

Gram pozitif, flamentli bakterileri içeren *Pasteuria* genusu içinde yer alan *Pasteuria penetrans, Pasteuria thornei* ve *Pasteuria nishizawae* türlerinin bitki parazit nematodlar üzerinde parazitik olduğu belirlenmiştir (Davies and Redden, 1997). Bunlardan, kök nodül nematodlarının (*Meloidogyne* spp.) obligat paraziti olduğu belirlenmiş olan *Pasteuria penetrans,* en önemlisidir. *Pasteuria penetrans* ile kök nodül nematodlarının (*Meloidogyne* spp.) gelişim ve fizyolojisi arasında aktivite zamanı açısından tam bir uyum bulunduğu tespit edilmiştir. Ancak yine de *Pasteuria penetrans*' ın diğer bitki paraziti nematodlar üzerinde parazitik aktivitesinin bulunup bulunmadığının araştırılmasının gerektiği belirtilmektedir (Jatala, 1986). Kök nodül nematodlarına (*Meloidogyne* spp.) ait larvalar üzerinde bulunan *Pasteuria penetrans* sporlarının, nematodun bitki kökünü enfeksiyonundan 8 gün sonra çimlendiği ve dikotomik dallanarak dairesel koloniler oluşturduğu gözlenmiştir. Bu hiflerin gelişmekte olan dişi nematodun vücut boşluğunu doldurarak dişinin ölümüne neden olduğu belirlenmiştir. Dişinin dağılımı sonucu toprağa saçılan sporların diğer bir nematodu enfekte edene kadar uzun süre toprakta canlılığını koruyabildiği bilinmektedir (Mankau, 1980). *Pasteuria penetrans,* sporlarının, uzun süre toprakta konukçu olmaksızın kalabilmesi ve sıcaklık, kuruma ve pestisitlerin etkisine karşı dayanıklı olması nedeniyle ideal bir biyolojik kontrol ajanı olarak görülmektedir.

Pasteuria genusu içinde yer alan *Pasteuria thornei'* nin *Pratylenchus brachyurus* ve *Pasteurias nishizawae'* nin ise kist nematodlarının paraziti olduğu belirlenmiştir (Davies and Redden, 1997).

Nematodların endoparaziti olarak funguslar da, nematod populasyonunun kontrolünde önemli bir potansiyele sahiptir. Endoparazitik funguslar, larva ve hareketli nematodların, hareketsiz dişilerin ve yumurtaların üzerinde parazitik aktivite gösterebilmektedir (Jatala, 1986).

Hareketli nematodlar üzerinde parazit olan fungusların yapışıcı sporları nematod kutikulasına tutunmakta ve daha sonra orada çimlenerek nematodun ölümüne neden olmaktadır. Hareketli nematodlar üzerinde parazit olan funguslar, Chytridiomycetes (*Catenaria* sp.), Oomycetes (*Myzocytium humicola*), Zygomycetes (*Meristacrum asterospermum*), Deuteromycetes (*Harposorium anguillulae*) ve Basidiomycetes (*Nematoctonus* sp.) sınıflarını da içine alan geniş bir grubu oluşturmaktadır (Jatala, 1986). Hareketli nematodlar üzerinde parazit olan fungusların spesifik besinsel istekleri sebebiyle,

konukçu nematod dışında çok sınırlı miselyal gelişim gösterdikleri belirlenmiştir. Bu nedenle biyolojik kontrolde kullanım olanakları sınırlıdır.

Nematophthora gynophila ve *Catenaria auxiliaris*' in hareketsiz dişi nematodlar üzerinde parazit olduğu tespit edilmiştir. Bu fungusların kökler üzerinde dişilerin görülmesinin ardından bir iki gün içinde enfeksiyon gerçekleştirebildikleri ve dişinin turgor basıncını kaybetmesine neden olarak etki gösterdikleri bilinmektedir. Enfeksiyonun ardından oluşan zoosporlar ve kalın duvarlı dinlenme sporlarının dişi nematodun ölümü sonucu toprağa salındığı belirlenmiştir. Sera koşullarında *Nematophthora gynophila*' nın *Heterodera trifoli, H. goettingiana, H. cruciferae* türlerini içeren kist nematodlarını infekte etme yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir. Yapılan bir sörvey çalışmasında tahıl kist nematodu (*Heterodera avenae*) ile enfekte olan tarlaların % 90' ında *Nematophthora gynophila* türünün bulunduğu tespit edilmiştir (Kerry, 1981).

Heterodera ve *Meloidogyne* türlerinde olduğu gibi yumurtaları bir kese içinde bulunan nematod türlerinin yumurtalarının fungus enfeksiyonuna daha açık olduğu belirtilmektedir. Yumurta paraziti olan fungusların yapay ortamlar üzerinde *in vitro* olarak büyütülebileceği ve toprakta saprofit olarak gelişebilme yeteneğine sahip oldukları tespit edilmiştir. Bu özellik, biyolojik kontrolde uygulanacak inokulümü azaltması bakımından bu funguslara bir avantaj sağlamaktadır. Nematod yumurtalarının enfeksiyonunun, genellikle bitki üzerinde bulunan dişilerin içindeyken gerçekleştiği belirlenmiştir. Bu nedenle, nematod populasyonunun yeterli kontrolünün sağlanması amacıyla, fungus yoğunluğunun yeterli düzeye ulaşabilmesi için fungus inokulasyonunun bitki ekiminden önce gerçekleştirilmesinin gerektiği vurgulanmaktadır (Kerry, 1987).

Çeşitli coğrafik bölgelerde bulunan nematodların, kistleri ve yumurtaları üzerinden yapılan izolasyon çalışmalarında, çok çeşitli yumurta paraziti fungus türleri elde edilmeye çalışılmıştır. İzole edilen fungusların büyük bir kısmı saprofit olarak belirlenirken, bir kısmının nematodlar üzerinde parazitik aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Örneğin, Soya fasulyesi kist nematodu (*Heterodera glycines*) ile infekte iki ayrı tarladan iki yıl boyunca 3 – 4 hafta arayla alınan örneklerden elde edilen *Heterodera glycines* kistleri üzerinden yapılan izolasyonlardan yoğunlukla *Fusarium oxysporum, Fusarium solani, Stagonospora heteroderae, Gliocladium roseum, Paraphoma radicina, Pyrenocaeta terrestris, Exophiala pisciphila* ve *Verticillium chlamydosporium* türleri elde edilmiştir. Her iki tarlalada da uzun süredir duyarlı soya fasulyesi yetiştirilmesine rağmen, bir tarlada *Heterodera glycines* populasyonu daha düşük bulunmuştur. Kist populasyonunun yüksek olduğu tarlada *Fusarium solani* ve *Stagonospora, heteroderae* türlerinin baskın olduğu,

buna karşılık kist populasyonunun düşük olduğu tarlada ise *Fusarium oxysporum* ve *Paraphoma radicina* türlerinin baskın olduğu belirlenmiştir. *Fusarium oxysporum* ve *Paraphoma radicina* türlerinin, soya fasulyesi kist nematodu (*Heterodera glycines*) populasyonunu doğal olarak baskı altında tuttuğu görülmektedir (Carris et. al. , 1989).

Yeni Zelanda' nın kuzey adasında yapılan sörvey çalışmasında, yonca kist nematodu (*Heterodera trifolii*) kistlerinden % 30 oranında aktinomiset ve % 70 oranında *Fusarium, Verticillium, Geliocladium, Mortierella, Paecilomyces, Phialophora, Penicillium, Exophiala, Acremonium, Cylindrocrpon* ve *Tricocladium* genuslarına ait funguslar izole edilmiştir. Diğer çalışmalardan farklı olarak, kist nematodları üzerinde ilk defa gram pozitif flamentli bakteriler olan aktinomisetlere dominant olarak rastlanmıştır. Daha önce yapılan izolasyon çalışmalarında kullanılan patates dekstroz agar gibi zengin besiyeri üzerinde hızla gelişen fungusların, göreceli olarak daha yavaş gelişen aktinomisetleri baskılması nedeniyle, daha önceki çalışmalarda kist nematodları üzerinde aktinomisetlere rastlanmamış olabileceği tahmin edilmektedir (Hay and Skipp, 1993).

Yurdumuzda Konya ili hububat ekim alanlarından elde edilen hububat kist nematodlarının (*Heterodera avenae* Wollenweber grubu) kistlerinden yapılan izolasyon çalışmasında, *Fusariella hughesii, Fusarium oxysporum, Fusarium moniliforme, Ulocladium atrum ve Verticillium chlamydosporium* türlerinin yoğun olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Biyolojik kontrol çalışmaları için ümit var olarak görülen *Verticillium chlamydosporium* türünün nematod yumurtalarını parazitleme oranı % 44, 9 olarak bulunmuştur (Öztürk ve ark. , 1999). Kerry ve Crump (1977) tarafından yapılan bir çalışmada da, arpa kökleri üzerinde bulunan dişi kist nematodlarının yumurtalarının % 50' sinin *Verticillium chlamydosporium* tarafından öldürülmüş olduğu tespit edilmiştir.

Nematodların yumurta paraziti olarak önemli bir biyolojik kontrol potansiyeline sahip olan diğer bir fungus, *Paecilomyces lilacinus*' dur. *Paecilomyces lilacinus*' un laboratuvar koşullarında, kök nodül nematodu (*Meloidogyne incognita)* ve patates kist nematodu (*Globodera pallida*) yumurtalarını 5 gün içinde parçaladığı belirlenmiştir. (Jatala, 1986) Fungusun, kistin vulva açıklığından girişini takiben yumurtalar arasında saprofitik olarak çoğaldığı ve yumurtaları parazitlediği belirlenmiştir. Yumurtalara penetrasyon sırasında fungus tarafından bazı sekonder metobolitlerin ve kitinolitik maddelerin salgılandığı da gözlenmiştir (Jatala, 1986). Laboratuvar koşullarında *Paecilomyces lilacinus*' un optimum olarak 25 – 30 °C arasında ve geniş bir pH aralığında gelişebildiği belirlenmiştir (Jatala, 1986). Bu özellikler, bir biyolojik kontrol ajanı olarak *Paecilomyces lilacinus*' un toprak koşullarında rekabet oranını arttırmaktadır.

1. 2. 3. 3. İnhibe edici metabolit salgılayan mikroorganizmalar

Bitki kökleri etrafındaki mikrobiyal aktivitenin çok yüksek olduğu rizosfer tabakasında bulunan bazı mikroorganizmaların, rekabet stratejisinin bir parçası olarak çeşitli toksik metabolitler salgıladıkları bilinmektedir. Bu toksik metabolitlerin bir kısmının bitki paraziti nematodlar üzerinde etkili olabileceği düşüncesiyle gerek laboratuvar gerekse sera koşullarında çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Belirli bir nematod türüne karşı etkili mikrobiyal metobolitlerin araştırılması için yapılan çalışmalarda, o nematodun konukçusu olan bitkinin rizosferinden veya direkt olarak hedef nematod üzerinden izole edilen mikroorganizmalar üzerinde yoğunlaşılmıştır. Örneğin, şeker pancarı kist nematodu (*Heterodera schachtii*) populasyonunun baskılanmış olduğu bir şeker pancarı tarlasından 10 şeker pancarı kökünden 150 rhizobakteri izole edilmiştir. Laboratuar koşullarında gerçekleştirilen çalışmalarda ikinci aşamadaki infektif larvaların kist içinden çıkışının, denemeye alınan 150 rhizobakterinin 139' u tarafından önemli oranda inhibe edildiği; sera koşullarında gerçekleştirilen çalışmalarda ise, test edilen 18 bakterinin 11' inin enfektif larvaların kökleri enfeksiyonunu % 33 – 72 oranında önlediği belirlenmiştir. İzole edilen bakterilerden en etkili olanların başta *Bacillus megaterium* olmak üzere, *Bacillus* türlerine ait olduğu belirlenmiştir (Neipp and Becker, 1999). Ali ve arkadaşları (2002) tarafından, bitki gelişimini uyarıcı ve bitkiyi bakteri ve fungus enfeksiyonlarından koruyan rizosfer bakterisi olan *Pseudomonas* türlerinin, kök nodül nematodunun (*Meloidogyne* spp.) ikinci aşamadaki infektif larvaları üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Test edilen 20 *Pseudomonas* türünden ikisinin kültür sıvısının *in vitro* koşullarda *Meloidogyne javanica'* nın ikinci aşamadaki larvalarının ağır bir şekilde ölümüne neden olduğu bulunmuştur. *Fusarium oxysporum* (Nitao et. al. , 1999) ve *Chaetomium globosum'* un (Nitao et. al. , 2002) kültür sıvılarının kök nodül nematodu (*Meloidogyne incognita*) ve soya fasülyesi kist nematoduna (*Heterodera glycines*) karşı toksik metabolit içerdiği laboratuvar koşullarında gösterilmiştir. Yumurta paraziti olmasıyla önemli bir biyokontrol ajanı olan *Paecilomyces lilacinus'* un 17 nematod türüne karşı toksik bir metabolit salgılayıp salgılamadığı araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda yalnızca Heteroderidae familyasında yer alan *Meloidogyne* ve *Heterodera* türlerine karşı etkili bulunmuştur (Cayrol et. al. , 1989). Kontrollü şartlar altında, bitki ekim zamanında verilen *Streptomyces* genusuna ait aktinomiset izolatlarının kök lezyon nematodunun (*Pratylenchus penetrans*) gelişimini nematod inokulasyonundan 6 hafta sonra büyük oranda indirgediği tespit edilmiştir (Smac

and Kinkel, 2001). Sera koşullarında gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise *Aspergillus niger'* in toksik metabolit salgılaması sonucu kök nodül nematodunun (*Meloidogyne incognita*) kökler üzerinde gal oluşturmasını % 60 oranında kontrol ettiği belirlenmiştir (Zuckerman et. al., 1994). *Streptomyces avermitilis* tarafından üretilen avermektinlerin, tarla koşullarında 0, 16 – 0, 24 kg/ ha konsantrasyonda kök nodül nematodunun (*Meloidogyne incognita*) etkili bir şekilde kontrolünü sağladığı belirlenmiştir (Hague and Gowe, 1987).

Nematodlara karşı inhibitör madde salgılayarak etki gösteren mikroorganizmaların biyolojik kontrol ajanı olarak değerlendirilmesi, ya direkt olarak mikroorganizmanın kullanılması ya da etkili maddenin ayrılıp saflaştırıldıktan sonra kullanıma sunulması şeklinde olmaktadır.

Mikroorganizmaların doğal koşullardaki aktivitesi hakkında fikir edinmek amacıyla laboratuvar koşullarında ön çalışmalar yapılmaktadır. Örneğin, daha önceden *in vitro* olarak yapılan tarama çalışmalarında *Pratylenchus penetrans'* ın larva ve erginlerine karşı nematosidal aktivitesinin bulunduğu tespit edilen *Streptomyces* ve *Bacillus* genuslarına ait aktinomiset ve bakteri izolatlarının sıcaklığa bağlı olarak nematosidal madde üretimlerindeki değişimin belirlenmesi için yapılan çalışmada, 10 ve 15 °C' de üretilen *Bacillus* türlerinin % 60 oranında nematodların ölümüne neden olduğu belirlenirken, 25 °C' de üretilenlerin, nematodların % 30' unu öldürdüğü gözlenmiştir. Aynı şekilde 5, 10 ve 15 °C' de üretilen *Streptomyces* türlerinin % 40 oranında nematodların ölümüne neden olduğu gözlenirken, 25 °C' de geliştirilenlerin % 15 oranında nematodların ölümüne neden oldukları kayıt edilmiştir (Walker et.al. , 1966).

Mikroorganizmalar tarafından üretilen nematodlara karşı toksik metabolitlerin, ticari preparat olarak biyolojik kontrolde kullanılması durumunda ise metabolitin doğal koşullarda stabil halde kalması istenmektedir. Bu amaçla, elde edilen etkili metabolitin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri araştırılmaktadır. Ali ve arkadaşları (2002) tarafından, kök nodül nematodularının (*Meloidogyne* spp.) ikinci aşamadaki infektif larvaları üzerinde etkili olduğu belirlenen bir *Pseudomonas* strainininin fermentasyon sıvısının bazı fiziksel özellikleri incelenmiştir. Bu amaçla sıvı ortamda üretilen bakterinin kültür filtratı çeşitli uygulamalara maruz bırakıldıktan sonra nematosidal özellikleri için *in vitro* olarak test edilmiştir. Bu çalışmalar sonucu, nematosidal bileşiğin, yüksek sıcaklığa, yüksek pH' a ve kurumaya karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Çok sayıda biyolojik kontrol ajanı henüz çiftçilerin kullanabileceği ticari preparat haline getirilememiştir. Bunun nedeni, etkili biyolojik kontrol ajanlarının kütle halinde

üretimi, formülasyonu, tarla koşullarında test edilmesi, patentinin alınması, pazarlanması ve dağıtılması gibi aşamalarda başarılı olunamamasıdır. Ayrıca, biyolojik kontrol ajanlarının tarla koşullarında etkinliğini etkileyen çok sayıda biyotik ve abiyotik faktör bulunmaktadır. Biyolojik kontrol ajanının etkinliğini etkileyen biyotik faktörler, hedef olmayan organizmalarla interaksiyonar, biyolojik kontrol ajanının toprakta kolonizasyon yeteneği, hedef nematodun ilk populasyon yoğunluğu ve konukçu bitkinin hedef nematoda duyarlılığı ve abiyotik faktörler, iklim, sıcaklık, pH ve rizosfer tabakasındaki organik madde olarak sıralanabilir. Bu etkenlere bağlı olarak biyolojik kontrol ajanı tarla koşullarında değişken sonuçlar verebilmektedir. Bunu önlemek amacıyla, iki ya da daha fazla biyolojik kontrol ajanının birlikte uygulanması önerilmektedir (Meyer and Roberts, 2002). Böylece, farklı etki mekanizmasına ve farklı etkinlik zamanına sahip mikroorganizmaların kombinasyonu ile biyolojik kontrolün etkinliği arttırılmaktadır. Ayrıca, farklı biyolojik kontrol ajanları birlikte uygulandığında, farklı nematod türlerine karşı geniş spektrumlu bir aktivite de elde edilebilmektedir. Dube ve Smart Jr, (1987) tarla koşullarında, kök nodül nematodu (*Meloidogyne incognita*) populasyonunun, *Paecilomyces lilacinus* ve *Pasteuria penetrans*' ın birlikte uygulandığı çalışmada, tek tek uygulandıklarından daha etkili bir şekilde kontrol altında tutulduğunu gözlemiştir.

Sonuç olarak, nematod populasyonunun baskılanmış olduğu tarlalardan, etkili biyolojik kontrol ajanlarının elde edilmesi için, izolasyon ve sırasıyla laboratuvar ve sera koşullarında antogonistik aktivite taranması çalışmalarına hız verilmelidir. Bu çalışmalar sonucunda başarılı bulunan biyolojik kontrol ajanlarının, bitki paraziti nematodların kontrolünde pratik olarak uygulama olanağı bulmasını sağlamak amacıyla, çok miktarda üretimleri gerekmektedir. Bu amaçla etkin kütle üretim metodları geliştirilmelidir. Bu aşamadan sonra tarla koşullarında biyolojik kontrol ajanların etkinliğini arttırmak için uygun stratejilerin uygulanması üzerinde yoğunlaşılmalıdır.

Biyolojik kontrol çalışmalarının ilk basamağı olarak değerlendirilebilecek bu çalışmada, Türkiye' de tahıl yetiştirme alanlarında yayılış gösterdiği tespit edilen bitki paraziti nematodlardan, tahıl kist nematodu ve kök lezyon nematoduna karşı sırasıyla, buğday tarla topraklarından ve tahıl kist nematodu kistleri yüzeyinden izole edilen aktinomiset ve fungus izolatlarının inhibitör aktiviteye sahip olup olmadıkları araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE METODLAR

2.1. Materyal

2. 1. 1. Toprak örnekleri

Çalışmada test mikroorganizması olarak kullanılan aktinomiset izolatlarının izolasyonu amacıyla toprak örnekleri, Eskişehir ili sınırları içinde yer alan buğday tarlalarından toprağın yüzey kısmından steril bir spatül ile plastik poşetlerin içine alınmıştır.

Test mikroorganizması olarak kullanılmak üzere tahıl kist nematodu (*Heterodera filipjevi*) kistleri üzerinden fungus kültürlerinin izolasyonu amacıyla kistlerin elde edildiği topraklar, Konya Karapınar, Ankara Haymana ve Eskişehir Çifteler ilçelerinden, tahıl kist nematodu ile enfekte olduğu daha önceden belirlenmiş olan buğday tarlasından 20 cm toprak derinliğinden 2 cm çapında demir çubuk ile plastik poşetlerin içine alınmıştır.

Çalışmalarda deney organizması olarak kullanılan *Heterodera filipjevi* kistlerinin elde edilmesi amacıyla toprak örnekleri ise, Konya Karapınar ilçesinden alınmıştır.

2. 1. 2. Besiyerleri ve kimyasal maddeler

2. 1. 2. 1. Besiyerleri

Çalışmada kullanılan besiyerleri, içerikleri distile suda çözülüp, gerektiğinde pH ayarlaması yapılarak hazırlanmış ve otoklavda 1, 1 atmosfer basınç altında 121 °C' de 15 dakika steril edilmiştir.

Besiyeri 1: Yeast extract – Malt Extract Agar (ISP 2)

Yeast extract	4, 00 g
Malt extract	10, 00 g
Glukoz	4, 00 g
Agar	20, 00 g
Distile su	1000 ml
pH	7, 3

Besiyeri, Williams ve Cross (1971), Goodfellow ve Williams (1983) ve Mc Carthy ve Williams (1990) tarafından önerildiği üzere sterilizasyondan sonra 50 şer µg/ ml siklohekzimid ve nistatin antibiyotikleri eklenerek aktinomisetlerin izolasyon çalışmasında kullanılmıştır. (Yamaç, 1997)

Besiyeri 2: Yarı Kuvvetli Tripton Yeast Extract Agar

Tripton	2, 50 g
Yeast Extract	1, 50 g
Agar	15, 00 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri, topraktan aktinomisetlerin ve tahıl kist nematodu (*H. filipjevi*) kistlerinin yüzeyinden fungusların izolasyon çalışmalarında ve izole edilen aktinomisetlerin korunmasında kullanılmıştır. (Yamaç, 1997)

Besiyeri 3: Gliserol Yeast Extract Agar

Gliserol	5. 00 g
Pepton	5, 00 g
K_2HPO_4	1,00 g
Yeast Extract	2, 00 g
Agar	15, 00 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri aktinomisetlerin topraktan izolasyon çalışmasında kullanılmıştır. (Yamaç, 1997)

Besiyeri 4: Patates Dekstroz Agar

Patates	200, 00 g
Glukoz	20, 00 g
Agar	15, 00 g
Distile su	1000 ml

On µg/ ml oranında oksitetrasiklin antibiyotiği (Hay and Skipp, 1993) içeren ortam, patatesin distile su içinde kaynatılarak özütünün diğer besiyeri bileşenleriyle karıştırılmasıyla hazırlanmış ve kist örneklerinden izole edilen fungusların korunmasında kullanılmıştır. (Morgan – Jones et. al., 1981; Meyer et. al., 1990)

Besiyeri 5: Su Agarı

Agar	15, 00 g
Distile su	1000 ml

On µg/ ml oranında oksitetrasiklin antibiyotiği içeren ortam, kist örneklerinden fungus izolasyonunda kullanılmıştır. (Hay and Skipp, 1993; Öztürk ve ark., 1999 a)

Besiyeri 6: Aktinomiset İnhibitör Aktivite Belirleme Ortamı

Glukoz	10, 00 g
Biyosoyase	7, 00 g
$CaCO_3$	1, 00 g
Distile su	1000 ml
pH	7, 6

Besiyeri, aktinomiset izolatlarının, tahıl kist nematodu ve kök lezyon nematoduna karşı inhibitör aktivitesinin belirlenmesi çalışmasında aktinomisetlerin geliştirilme ortamı olarak kullanılmıştır. (Walker et. al., 1966)

Besiyeri 7: Patates Dekstroz Broth

Patates	200, 00 g
Glukoz	20, 00 g
Distile su	1000 ml

Ortam bileşiminde bulunan patatesin, distile su içinde kaynatılarak süzülmesinin ardından elde edilen özütü kullanılmıştır. Besiyeri, fungus izolatlarının, tahıl kist nematodu

ve kök lezyon nematoduna karşı inhibitör aktivitesinin belirlenmesi çalışmasında fungusların geliştirme ortamı olarak kullanılmıştır. (Nitao et. al., 1999; Nitao et. al., 2002)

Besiyeri 8: Tripton Yeast Extract Broth (ISP 1)

Tripton	5, 00 g
Yeast Extract	3, 00 g
Distile su	1000 ml
pH	7, 0 – 7, 2

Besiyeri, diaminopimelik asit profili belirlenecek olan aktinomiset izolatlarının geliştirilme ortamı olarak kullanılmıştır. (Yamaç, 1997)

Besiyeri 9: Oatmeal Agar (ISP 3)

Yulaf unu (Oat Meal)	20, 00 g
Shirling and Gottlieb iz element çözeltisi*	1, 00 ml
Agar	15, 00 g
Distile su	1000 ml
pH	7.2

* İz Element Çözeltisi (Shirling and Gottlieb, 1966)

$FeSO_4 . 7H_2O$	0, 10 g
$MnCl_2 . 4H_2O$	0, 10 g
$ZnSO_2 . 7H_2O$	0, 10 g
Distile su	100 ml

Besiyeri aktinomiset izolatlarının kültürel özelliklerinin belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır. Besiyerinin hazırlanması için, 20.00 g yulaf unu 1000 ml distile su içerisinde 20 dakika kaynatılmış ve tülbent bezinden süzülmüştür. Süzülen sıvının hacmi distile su ile 1000 ml' ye tamamlanmış ve 1 ml iz element solusyonu ilave edilmiştir. Besiyeri, pH sı 7.2 ye ayarlandıktan sonra100 °C' de buhar altında sterilize edilmiştir. (Yamaç, 1997)

Besiyeri 10: İnorganik tuz – nişasta Agar (ISP 4)

Çözünür Nişasta	10, 00 g
K_2HPO_4	1, 00 g
$MgSO_4 . 7H_2O$	1, 00 g
NaCl	1, 00 g
$(NH_4)_2SO_4$	2, 00 g
$CaCO_3$	2, 00 g
Shirling and Gottlieb iz element çözeltisi	1, 00 ml
Agar	15, 00 g
Distile su	1000 ml
pH	7, 0 – 7, 4

Aktinomiset izolatlarının kültürel ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesinde kullanılan besiyeri, az miktarda soğuk distile su içinde nişastanın çözülmesi ve diğer besiyeri bileşenlerinin de eklenmesinden sonra hacmin 1000 ml tamamlanması ve ortamın sterilize edilmesiyle hazırlanmıştır. (Yamaç, 1997)

2. 1. 2. 2. Kimyasal maddeler

Çalışmanın çeşitli aşamalarında kullanılan çözelti ve kimyasal maddeler çizelge 2. 1' de verilmiştir.

Çizelge 2. 1. Çalışmada kullanılan çözelti ve kimyasal maddeler

Kimyasal Maddenin Adı	Kullanım Amacı	Üretici Firma ve Katolog Numarası
8 – hidroksi quinoline	Tahıl kist nematodu ikinci aşama larvalarının eldesinde fungus gelişim inhibitörü	Sigma – W34,700- 0
Avermectin (İvomec) (% 1)	Mikroorganizmaların inhibitör aktivite çalışmalarında pozitif kontrol	TOPKİM – Topkapı İlaç Premiks Sanayi ve Ticaret A. Ş.
NaOCl (Sodyum hipo klorid) (% 0, 3 ve 0, 5)	Kistlerin ve larvaların yüzey sterilizasyonu	Aksiyon Çamaşır Suyu (% 53 NaOCl içerikli)
Guars' s New Blue R Boyası (% 0, 5)	Ölü ve canlı larvaların ayırt edilmesi	

Çizelge 2. 1. Çalışmada kullanılan çözelti ve kimyasal maddeler (Devam)

Kimyasal Maddenin Adı	Kullanım Amacı	Üretici Firma ve Katolog Numarası
HCl (6 N ve 10 N)	DAP Analizi	Merck
Mikrokristal Selüloz	DAP Analizi	Merck 2330
DL-α-ε-diaminopimelik asit	DAP Analizi	Sigma 1377
Metanol	DAP Analizi	Merck
Piridin	DAP Analizi	Merck
Asetonik ninhidrin (% 0, 2)	DAP Analizi	Merck

2. 2. Metodlar

2. 2. 1. İnhibitör mikroorganizmaların izolasyonu

Tahıl kist nematodu ve kök lezyon nematodunun ikinci aşamadaki larvalarına karşı inhibitör aktiviteleri araştırılacak olan aktinomiset kültürleri Eskişehir ili sınırları içinde yer alan buğday tarlalarından, fungus kültürleri ise Konya – Karapınar' dan Temmuz 2002 tarihinde, Ankara – Haymana ve Eskişehir – Çifteler ilçelerinden Aralık 2002 tarihlerinde tahıl kist nematodu ile infekte tarlalardan alınan toprak örneklerinden izole edilmiştir.

2. 2. 1. 1. Toprak örneklerinden aktinomisetlerin izolasyonu ve korunması

1. Toprak örneklerinden aktinomisetlerin izolasyonu

Toprak örnekleri izolasyon çalışmasından önce topraktaki aktinomiset içeriğinin zenginleşmesi ve vejatatif yapıdaki bakterilerin sayısının düşürülmesi amacıyla, Williams and Cross (1971) ve Korn – Wendish and Kutzner (1992) tarafından önerildiği üzere, % 1 (g/ g) oranında $CaCO_3$ ile 25 °C' de 1 hafta muamele edilmiştir. (Yamaç, 1997) Daha sonra, toprak örneklerinden seyreltme plaka ve direkt serpme tekniklerinden biri veya her ikisi kullanılarak izolasyon gerçekleştirilmiştir.

A. Seyreltme Plaka Tekniği

Crawford (1978) tarafından tarif edilmiş ve Phelan et. al. (1979) tarafından modifiye edilmiş olan bu yönteme göre, 25 g toprak örneği, steril distile su ile $10^3 - 10^6$ oranında seyreltilerek 60 °C' de 5 dk. bekletilmiştir. Böylece vejetatif bakteri sayısının azaltılması amaçlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan seyreltmelerden steril petri kaplarına 1' er ml aktarılarak üzerine 45 °C' ye kadar soğutulmuş besiyeri 1, 2, 3 eklenmiştir. 27 °C' de 7 – 14 günlük inkübasyon sırasında elde edilen aktinomiset kolonileri saflaştırılarak uygun biçimde saklanmıştır. (Yamaç, 1997)

B. Direkt Serpme Yöntemi

Williams ve Cross (1971) tarafından önerilen bu yönteme göre aktinomiset izolasyonu amacıyla, toz halindeki toprak partikülleri direkt olarak besiyeri 1, 2, 3' ün üzerine serpilmiştir. 27 °C' de 7 – 14 gün inkübasyon sırasında gelişen aktinomiset kolonileri saflaştırılarak uygun biçimde saklanmıştır. (Yamaç, 1997)

2. Toprak örneklerinden izole edilen aktinomisetlerin korunması

Elde edilen aktinomiset izolatları, elde edildikleri lokaliteler ve izolasyon sırasını içeren ikili kod sistemiyle adlandırıldıktan sonra, Phelan et. al. (1979) tarafından önerildiği üzere, besiyeri 2 üzerinde sporlanmış kültürler olarak 4 °C' de buzdolabında korunmuştur. (Yamaç, 1997)

2. 2. 1. 2. Kist örneklerinden fungusların izolasyonu ve korunması

1. Kist örneklerinden fungusların izolasyonu

Kist örneklerin, Hay ve Skipp (1993) tarafından önerildiği şekilde, 15 ml % 0, 3' lük NaOCl solüsyonu ile 2 dk muamele edilerek ve bol steril distile su ile yıkanarak yüzey sterilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Daha sonra yüzeyi sterilize edilmiş kist örnekleri besiyeri 2, 4 ve 5 üzerine yerleştirilerek 25 °C' de 7 – 14 gün süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sırasında gelişen koloniler antibiyotik içermeyen besiyeri 4' e aktarılarak saflaştırılmış ve uygun şekilde saklanmıştır. (Hay and Skipp, 1993; Morgan – Jones et. al., 1981; Meyer et. al., 1990)

2. Kist örneklerinden izole edilen fungusların korunması

Elde edilen fungus izolatları, elde edildikleri lokaliteler ve izolasyon sırasına göre kodlanarak besiyeri 4 içeren tüpler içinde 4 °C' de buzdolabında saklanmıştır.

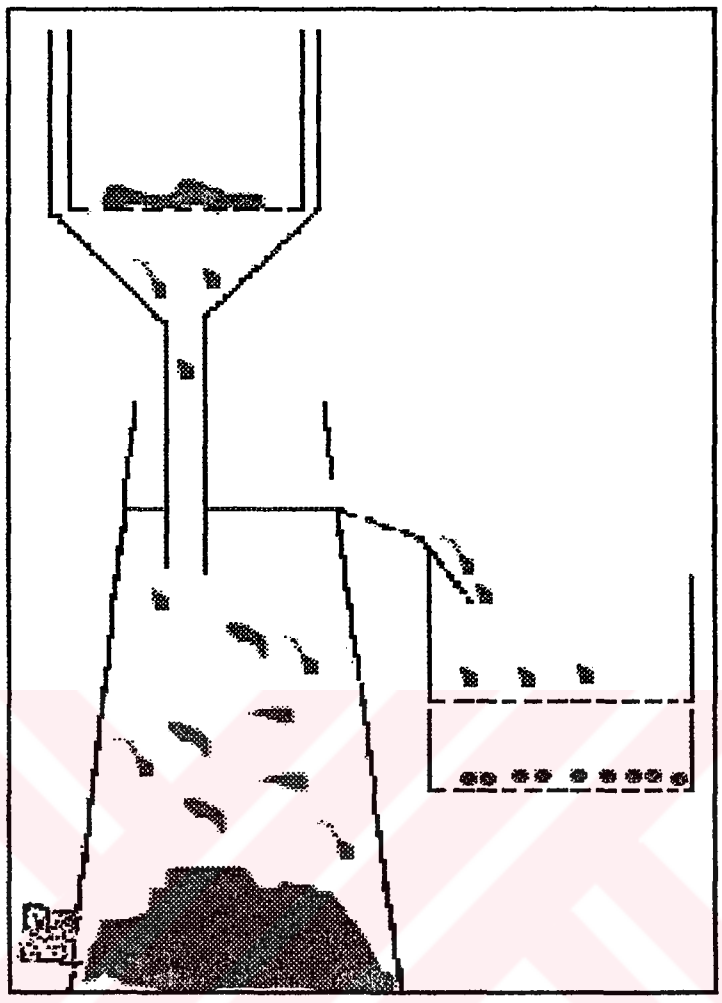
2. 2. 2. Test organizmalarının elde edilmesi

2. 2. 2. 1. Tahıl kist nematodu (*Heterodera filipjevi*) kistlerinin ve ikinci aşama larvalarının eldesi ve korunması

İnhibitör aktivite çalışmalarında test organizması olarak kullanılacak tahıl kist nematodu ikinci aşamadaki infektif larvalarının elde edilmesi amacıyla, infekte bir tarladan alınan topraklardan ekstrakte edilen kistler kullanılmıştır. Kistlerin, 18 °C' de 8 – hidroksi kinolin solusyonu içinde 6 günlük inkübasyonuyla larvaların kist dışına çıkışı sağlanmıştır.

1. Tahıl kist nematodu kistlerinin eldesi

İnhibitör aktivite çalışmalarında kullanılacak olan larvaların elde edildiği kistlerin çok miktarda elde edilmesi amacıyla, yaklaşık 500 gram toprak örneği, Stirling ve arkadaşları (1999) tarafından tarif edilen fenwick yöntemiyle ekstrakte edilmiştir. Fenwick yöntemine göre, şekil 2. 1' de görülen fenwick aletinin üst kısmında bulunan eleğin üzerine toprak örneği yerleştirilerek sabit debide su ile yavaş yavaş yıkanmıştır. Aletin içinde, su ile sürekli devreden toprakta bulunan kistler hafif olmaları nedeniyle su ile birlikte akarken toprak partikülleri aletin dibine çökmüştür. Akan su sırasıyla 850 ve 250 µm çapında gözeneklere sahip eleklerden geçirilerek, kistler 250 µm çapında gözeneklere sahip eleğin üzerinde bitki ve gübre parçalarıyla birlikte tutulmuştur. Kistler, bu karışım içinden, 3x' lük büyütmede binoküler mikroskop altında ayrılmıştır.



Şekil 2. 1. Topraktan kistlerin ekstraksiyonunda kullanılan fenwick aletinin şematik çizimi (Stirling et. al. , 1999)

2. Tahıl kist nematodu (*Heterodera filipjevi*) kistlerinin korunması

Elde edilen kistler, kullanılıncaya kadar, 1 ml' lik eppendorf tüplerinde fungal kontaminasyon gelişimini önleyici 5 ppm konsantrasyonda 8 – hidroksi quinoline solüsyonu içinde (Evans, kişisel iletişim) buzdolabında saklanmıştır.

3. Tahıl kist nematodu (*Heterodera filipjevi*) ikinci aşama larvalarının eldesi

Tahıl kist nematodununun ikinci aşama larvaları, kist içinde bulunan yumurtaların uygun sıcaklıkta açılarak kist dışına çıkışıyla elde edilmiştir. Larvaların elde edileceği kistler ve kistlerin inkübasyon sıcaklığının belirlenmesi amacıyla ön çalışmalar

gerçekleştirilmiştir. İkinci aşamadaki larvaların eldesinde kullanılacak kistlerin ve inkübasyon sıcaklığının belirlenmesi için Temmuz 2002 ve Şubat 2003 tarihlerinde alınmış topraklardan ekstrakte edilen kistler, fungal gelişimi önlemek için 5 ppm konsantrasyonda 8 – hidroksi quinoline solüsyonu içinde, 6 paralel halinde her bir paralelde bir kist olacak şekilde, 0, 7, 10 ve 18 °C' de inkübe edilmiştir ve larvaların çıkışı haftalık olarak incelenmiştir. (Mokabili et. al., 2001)

4. Tahıl kist nematodu (*Heterodera filipjevi*) ikinci aşama larvalarının korunması

Elde edilen ikinci aşamadaki larvalar, inhibitör aktivite çalışmasında kullanılmak üzere biriktirilerek küçük petri kabında, distile su içerisinde 4 °C' de buzdolabında korunmuştur.

2. 2. 2. 2. Kök lezyon nematodunun (*Pratylenchus thornei*) ikinci aşamadaki larvalarının eldesi ve korunması

İnhibitör aktivite çalışmalarında test organizması olarak kullanılacak olan kök lezyon nematodunun ikinci aşamadaki larvaları, steril olarak laboratuvar koşullarında havuç diskleri üzerinde üretilen nematodun yumurtalarının steril su içinde uygun sıcaklıkta açılmasıyla elde edilmiştir.

1. Kök lezyon nematodunun (*Pratylenchus thornei*) havuç kültüründen ekstraksiyonu

Saf kültür olarak, steril havuç diskleri üzerinde geliştirilmekte olan kök lezyon nematodunun ergin, larva ve yumurtaları, bir havuç diskinin steril bir bistüri yardımıyla küçük parçalar halinde kesilmesi ve 2 saat steril distile su içerisinde bekletilmesiyle ekstrakte edilmiştir. (Walker et al., 1966)

2. Kök lezyon nematodunun (*Pratylenchus thornei*) ikinci aşamadaki larvalarının elde edilmesi

Kök lezyon nematodunun ikinci aşamadaki larvalarının elde edilmesi amacıyla, havuç kültüründen ekstrakte edilen kök lezyon nematodunun bütün gelişim aşamalarını içeren distile su, 40 µm por çapındaki bir elekten süzülerek yumurtaların ayrılması sağlanmıştır. İnhibitör aktivite çalışmalarında kullanılmak üzere ikinci aşamadaki larvalar, yumurtaların uygun sıcaklıkta açılmasıyla elde edilmiştir. Yumurtaların açılması için uygun sıcaklık ve süre ise Nicol (1991) tarafından bildirilen metoda dayanılarak, bir ön çalışma ile belirlenmiştir. Sıfır, 5, 10 ve 18 °C olmak üzere 4 farklı sıcaklıkta, 5 parelelden

oluşan ve her bir paralelde 50 yumurta içeren bu çalışmada yumurtaların açılması günlük olarak incelenmiştir.

3. Kök lezyon nematodunun (*Pratylenchus thornei*) ikinci aşamadaki larvalarının korunması

İnhibitör aktivite belirleme çalışmalarında kullanılmak üzere ikinci aşamadaki larvaların biriktirilmesi sırasında elde edilen larvalar, 4 °C' de buzdolabında korunmuştur.

2. 2. 3. Tahıl kist nematodu (*Heterodera filipjevi*) ve kök lezyon nematoduna (*Pratylenchus thornei*) karşı aktinomiset ve fungus izolarlarının inhibitör aktivitesinin belirlenmesi

Mikroorganizmaların nematodlara karşı inhibitör metabolit salgılama özelliğinin belirlenmesi için, Walker ve ark. (1966); Cayrol ve ark. (1989); Nitao ve ark. (1999 ve 2002); tarafından önerilen metoda göre, mikroorganizmaların kültür sıvılarının, nematodların ikinci aşamadaki larvalarına karşı etkileri araştırılmıştır.

2. 2. 3. 1. Aktinomiset izolatları

1. Kültür Koşulları

İnhibitör aktiviteleri araştırılacak olan aktinomiset izolatları, Walker ve ark. (1966) tarafından önerildiği şekilde, 20 ml besiyeri 6 içeren 100 ml' lik erlenlerde 27 °C' de 100 rpm' de çalkalamalı olarak 7gün geliştirilmiştir.

2. Aktinomiset kültür sıvılarının hazırlanması ve kuru hücre ağırlığının belirlenmesi

Aktinomiset kültür sıvılarının elde edilmesi için, inkübasyon süresi sonunda fermentasyon sıvısı steril olarak, 15 000 rpm' de 20 dakika santrifüjlenmiştir. (Nitao et. al. , 1999) Santrifüj tüpünün hücre içermeyen üst kısmından 6 ml kültür sıvısı, inhibitör aktivite çalışmalarında kullanılmak üzere, steril şişelerin içine aktarılmıştır. Dipteki hücre kısmı, 40 °C' de kurutulup tartılarak kuru hücre ağırlığı olarak değerlendirilmiştir. (Walker et. al. , 1966)

2. 2. 3. 2. Fungus izolatları

1. Kültür Koşulları

Fungus izolatları, Nitao et. al. (1999) ve Nitao et. al. (2002) tarafından önerildiği şekilde, 20 ml besiyeri 7 içeren 100 ml' lik erlenlerde 25 °C' de 150 rpm' de çalkalamalı olarak 7 gün inkübe edilmiştir.

2. Fungus kültür sıvılarının hazırlanması ve kuru hücre ağırlığının belirlenmesi

İnkübasyon süresinin sonunda fermentasyon sıvısı, 15 000 rpm' de 20 dakika santrifüjlenmiştir. (Nitao et. al. , 1999) Hücre içermeyen üst kısımdan 6 ml kültür sıvısı, inhibitör aktivite çalışmalarında kullanmak üzere steril şişelerin içine alınmıştır. Dipteki hücre kısmı, 40 °C' de kurutulup tartılarak kuru hücre ağırlığı olarak değerlendirilmiştir. (Walker et. al. , 1966)

2. 2. 3. 3. Nematodların ikinci aşamadaki larvalarının test için hazırlanması

Her iki nematod türünden elde edilen ikinci aşamadaki larvalar, Nitao ve arkadaşları (1999) tarafından belirtildiği üzere öncelikle % 0, 5' lik sodyum hipoklorit içerisinde 3 dakika bekletilmek suretiyle sterilize edilmiştir. Daha sonra, bol miktarda steril su ile yıkanarak 0, 1 ml, çalışmanın gerçekleştirileceği steril kuyucuklara yerleştirilmiştir.

2. 2. 3. 4. Mikroorganizmaların inhibitör aktivitelerinin belirlendiği test koşulları

Yaklaşık olarak 0,1 ml' sinde 25 larva içeren solüsyondan, her bir izolat için 4 paralel olarak 0, 1' er ml 24 kuyucuklu nunklon doku kültürü plaklarına pipetlenmiştir. Her bir kuyucuktaki 0, 1 ml larva solüsyonu üzerine, steril olarak 0, 5 ml aktinomiset ya da fungus kültür sıvısı eklenmiştir. Negatif kontrol olarak, kültür içermeyen steril besiyeri kullanılmıştır. Plaklar 18 °C' de 3 gün inkübe edilmiştir. Çalışmanın başlangıcından itibaren, 1. , 2. ve 3. günde plaklar kontrol edilerek hareketsiz ve düz pozisyonda olan toplam larva sayısı belirlenmiştir. (Cayrol et. al. , 1989) Üçüncü günde yapılan kontrollerde, negatif kontroldeki hareketsiz larva sayısından fazla hareketsiz larva bulunan izolatların kültür sıvıları bir pipetle çekilerek larvaların ölü olup olmadığının belirlenmesi amacıyla, larvaların üzerine 0, 5 ml % 0, 5' lik New Blue R boyası eklenmiştir. Boya solüsyonu kuyucukların içinde 2 saat bekletildikten sonra çekilmiş ve distile su eklenerek larvalar incelenmiştir. Shepherd (1962) tarafından ölü *Heterodera* genusuna ait larvaların boyayı emmesi sonucu, çoğunlukla koyu mor ve siyah renkte, bazı durumlarda ise soluk

leylak renginde görüldüğü belirlenmiştir. Buna göre ölü larvaların belirtilen renklerde gözlenmesi beklenmiştir.

Mikroorganizmaların denemeye alınan nematod türleri üzerindeki inhibitör potansiyellerinin karşılaştırılması amacıyla Hague ve Goven (1987) tarafından kök nodül nematodları üzerinde $3x10^{-4}$ g/ml konsantrasyonda etkili olduğu belirtilen, insektisidal bir bileşik olan avermektin, önerilen konsantrasyonda tahıl kist nematodu ve kök lezyon nematodunun ikinci aşama larvaları üzerinde pozitif kontrol olarak denemeya alınmıştır.

2. 2. 4. İstatiksel yöntemler

Tahıl kist nematodu ile yapılan ön çalışmalar sırasında larva çıkış oranları ve kistlerin yumurta içeriklerinin karşılaştırılmasında, istatistiksel olarak önemli bir farklılığın bulunup bulunmadığının değerlendirilmesi, tek yönlü ANOVA analizi ve Tukey testi ile gerçekleştirilmiştir.

2. 2. 5. İnhibitör aktiviteye sahip olduğu belirlenen izolatların tanılanması

2. 2. 5. 1. Aktinomiset izolatlarının tanılanması

İnhibitör aktiviteye sahip olduğu belirlenen aktinomiset izolatları kemotaksonomik, kültürel ve morfolojik özelliklerine dayalı olarak cins seviyesinde tanılanmıştır. (Yamaç, 1997)

1. Kemotaksonomik metodlar

Aktinomiset izolatlarının tanılanması amacıyla, üretilip analize hazırlanan izolatların hücre çeperi diaminopimelik asit tipi, ince tabaka kromotografisiyle standarda karşı incelenerek belirlenmiştir. (Yamaç, 1997)

A. Hücrelerin çoğaltılması ve analize hazırlaması

Hücre çeper analizi yapılacak izolatlar, 27 °C' de 150 rpm çalkalama hızında 7 gün süreyle geliştirilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda gelişen hücreler 1600 gx de santrifüjelenerek toplanmıştır. Hücreler, distile su ile yıkanarak tekrar santrifüjlenmiştir. Elde edilen hücreler etüvde kurutulmuştur. Kurutulmuş hücrelerin 50 mg' ı 6 N HCl ile ağzı alev ile kapatılmış bir cam tüpün içinde, 100 °C' de 18 saat süreyle hücre çeperinde bulunan amino asitlerin serbest bırakılması için hidroliz edilmiştir. Hidrolizat, Schiecher & Schuell 589 filtre kağıdından filtre edilmiş ve 2 defa 1 ml distile su ile yıkanmıştır. Elde

edilen filtrat, 65 °C' de rotary evaporatörde kurutulmuştur. HCl kokusu uzaklaşana kadar, 1ml distile su ile yıkama ve kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kuru ekstrakt 0, 3 ml distile suda çözülerek, eppedorf tüpü içerisine aktarılmıştır. Hidrolizat, içerisindeki partiküllerin uzaklaştırılması için 5000 rpm' de 10 dakika santrifüjlenmiş ve analize hazır hale getirilmiştir. (Yamaç, 1997)

B. İnce tabaka kromotografisi

Aktinomiset örneklerinin diaminopimelik asit profili, standart DL-α-ε-diaminopimelik asit (Sigma 1377) ile ince tabaka kromotografisi üzerinde karşılaştırılarak belirlenmiştir. Bu amaçla, 0, 3 mm kalınlığında mikrokristal selüloz (Merck 2330) dökülmüş 20 x 20 cm boyutlarındaki plakalara, 5' er µl örnek ve DL-α-ε-diaminopimelik asit emdirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan plakalar, metanol: su: 10 N HCl: Pridin (80: 17, 5: 2, 5: 10 ml/ml) çözücü karışımı içerisinde 3 – 4 saat geliştirilmiştir. Süre sonunda kurutulan plakalar üzerine % 0, 2' lik asetonik ninhidrin püskürtülerek 100 °C' de 5 dakika kurutulmuştur. Diaminopimelik asitler, grimsi yeşil ve 24 saat sonra da sarı renkte gözlenmiştir. (Yamaç, 1997)

2. Kültürel ve morfolojik metodlar

Aktinomiset izolatlarının tanılanması amacıyla, izolatların, havasal spor kitlesi ve substrat miseli ve spor zinciri morfolojisi, substrat miselinin fragmentasyonu ve sklerot oluşumu gibi morfolojik özellikleri incelenmiştir. (Yamaç, 1997)

A. Kültürel metodlar

Besiyeri 9 ve 10' da geliştirilen 14 günlük aktinomiset izolatlarının havasal spor kitlesi ve substrat miseli renkleri çıplak göz ile incelenerek belirlenmiştir. (Yamaç, 1997)

B. Morfolojik metodlar

Aktinomiset izolatlarının spor zinciri morfolojisi, substrat miselinin fragmentasyonu ve sklerot oluşumu gibi morfolojik özellikleri, besiyeri 9 ve 10' da geliştirilen 14 günlük kültürlerin Prior B 3000 ışık mikroskobunda incelenmesiyle belirlenmiştir. Spor zinciri morfolojisinin belirlenmesinde, Pridham ve arkadaşları (1958) ile Shirling ve Gottlieb (1966) tarafından belirlenen kategorilere bağlı kalınmıştır. (Yamaç, 1997)

2. 2. 5. 2. Fungus izolatlarının tanılanması

Test edilen nematod türleri üzerinde en fazla inhibitör aktiviteye sahip olduğu tespit edilen fungus izolatları, Pitt, (1979) kaynağına dayalı olarak, kültürel ve morfolojik özelliklerine göre, Osmangazi Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Yard. Doc. Dr. Semra İLHAN ve Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora öğrencisi Rasime DEMİREL tarafından tayin edilmiştir.

3. BULGULAR

Mikroorganizmaların bitki paraziti nematodlara karşı inhibitör aktivitelerinin araştırıldığı bu çalışmada kullanılmak üzere, bölüm 2. 2. 1. 1' de belirtilen yöntemler kullanılarak, daha önceden, 51 lokaliteden izole edilen 153 aktinomiset izolatı seçilmiştir. Ayrıca, 3 lokaliteden elde edilen yaklaşık 100 kist örneğinden, bölüm 2. 2. 1. 2' de belirtilen yöntem kullanılarak, 26 fungus izolatı elde edilmiştir. Bölüm 2. 2. 2' de belirtildiği şekilde, test organizması olan larvaların, elde edilmesi için optimum koşullar belirlenmiştir. Aktinomiset ve fungus izolatlarının tahıl kist nematodu ve kök lezyon nematodunun ikinci aşama larvalarına karşı inhibitör etkilerinin sıvı ortamda belirlenmesi için gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda, çalışmanın birinci gününde en az % 52,17 oranında, tahıl kist nematodu ikinci aşama larvalarının hareketliliğini inhibe eden 4 aktinomiset izolatı ve kök lezyon nematodu ikinci aşama larvalarının hareketliliğini en az % 65,52 oranında inhibe eden 3 fungus izolatı aktif olarak belirlenmiştir. Aktif olarak belirlenen aktinomiset ve fungus izolatlarının kültürel ve morfolojik özelliklerine dayanarak tanılanması gerçekleştirilmiştir.

3. 1. Mikroorganizmaların İzolasyonu

3. 1. 1. Aktinomiset izolasyonu

Eskişehir ili sınırları içerisinde bulunan buğday tarlalarından 51 lokaliteden, bölüm 2. 2. 1. 1' de belirtilen yöntemlerin biri veya birkaçı kullanılarak yapılan izolasyon çalışmasında 153 aktinomiset izolatı elde edilmiştir.

3. 1. 2. Fungusların izolasyonu

Toplam olarak üç ayrı lokaliteden 26 fungus izolatı elde edilmiştir. İzolatların 13 tanesi Karapınar (Konya), 7 tanesi Çifteler (Eskişehir) ve 6 tanesi Haymana (Ankara) lokalitesinden elde edilmiştir. Besiyeri 2' den 6, besiyeri 4' den 16 ve besiyeri 5' den 4 izolat elde edilmiştir. Fungusların izole edildiği lokaliteler ve besiyerleri çizelge 3. 1' de verilmiştir.

Çizelge 3. 1. Fungusların izole edildiği lokaliteler ve besiyerleri

Fungus İzolat Kodları	Toprak Örneğinin Alındığı Lokalite	İzolasyon Besiyeri
1, 1	Konya Karapınar	Besiyeri 2
1, 2	Konya Karapınar	Besiyeri 2
1, 3	Konya Karapınar	Besiyeri 2
1, 4	Konya Karapınar	Besiyeri 4
1, 5	Konya Karapınar	Besiyeri 4
1, 6	Konya Karapınar	Besiyeri 2
1, 7	Konya Karapınar	Besiyeri 4
1, 8	Konya Karapınar	Besiyeri 4
1, 9	Konya Karapınar	Besiyeri 2
1, 10	Konya Karapınar	Besiyeri 4
1, 11	Konya Karapınar	Besiyeri 4
1, 12	Konya Karapınar	Besiyeri 2
1, 13	Konya Karapınar	Besiyeri 5
2, 1	Eskişehir Çifteler	Besiyeri 4
2, 2	Eskişehir Çifteler	Besiyeri 5
2, 3	Eskişehir Çifteler	Besiyeri 4
2, 4	Eskişehir Çifteler	Besiyeri 4
2, 5	Eskişehir Çifteler	Besiyeri 4
2, 6	Eskişehir Çifteler	Besiyeri 4
2, 7	Eskişehir Çifteler	Besiyeri 5
3, 1	Ankara Haymana	Besiyeri 4
3, 2	Ankara Haymana	Besiyeri 4
3, 3	Ankara Haymana	Besiyeri 4
3, 4	Ankara Haymana	Besiyeri 4
3, 5	Ankara Haymana	Besiyeri 4
3, 6	Ankara Haymana	Besiyeri 5

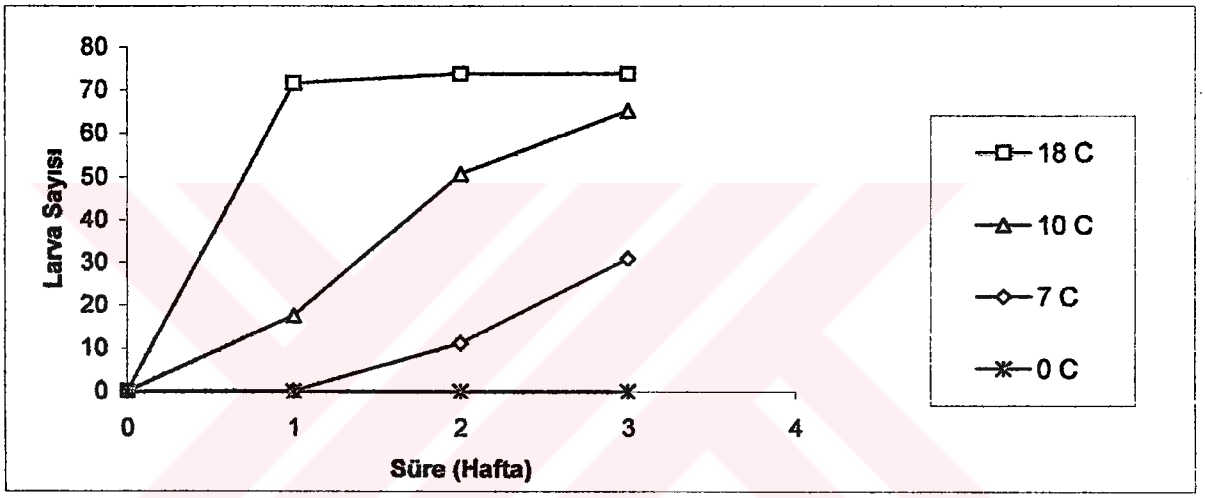
3. 2. Sıcaklığın Test Organizmalarının Üzerine Etkisi

3. 2. 1. Tahıl kist nematodunun (*Heterodera filipjevi*) ikinci aşamadaki larvalarının elde edilmesi

Temmuz 2002 tarihinde alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerin içinden 0, 7, 10 ve 18 °C' de larvaların çıkışlarının haftalık olarak izlenmesi sonucunda, en fazla larva çıkışı, 18 °C' de bulunan kist örneklerinde gözlenmiştir. Larva çıkış oranı sıcaklık düşüş oranına paralel olarak azalmıştır. Çıkış yapan ortalama toplam larva sayıları çizelge 3. 2 ve şekil 3. 1' de görülmektedir.

Çizelge. 3. 2. Temmuz 2002 tarihlerinde alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerin, 0, 7, 10 ve 18 °C' de haftalık olarak çıkış yapan ortalama toplam larva sayıları

Süre (Hafta)	Sıcaklık (°C)			
	0	7	10	18
0	0	0	0	0
1	0	0	18	72
2	0	11	51	74
3	0	31	65	74

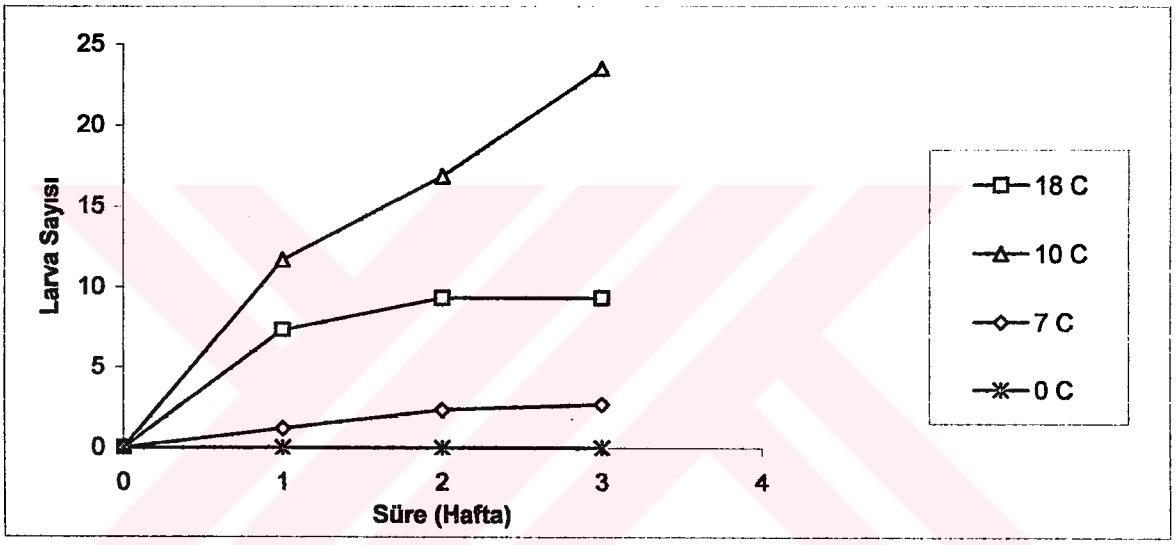


Şekil. 3. 1. Temmuz 2002 tarihlerinde alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerin, 0, 7, 10 ve 18 °C' de haftalık olarak çıkış yapan ortalama toplam larva sayıları

Şubat 2003 tarihinde alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerden, 0, 7, 10 ve 18 °C' de larvaların çıkışlarının haftalık olarak gözlenmesi sonucunda, en fazla larva çıkışının 10 °C' de meydana geldiği gözlenmiştir. Daha sonra sırasıyla, 18 ve 7 °C' de en fazla larva çıkışı gözlenmiştir. Sıfır °C' de larva çıkışı gözlenmemiştir. Kistlerin içinden haftalık olarak çıkan larvaların ortalama toplam sayıları çizelge 3. 3. ve şekil 3. 2' de verilmiştir.

Çizelge 3. 3. Şubat 2003 tarihlerinde alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerin, 0, 7, 10 ve 18 °C' de haftalık olarak çıkış yapan ortalama toplam larva sayıları

Süre (Hafta)	Sıcaklık (°C)			
	0	7	10	18
0	0	0	0	0
1	0	1	12	7
2	0	2	17	9
3	0	3	24	9

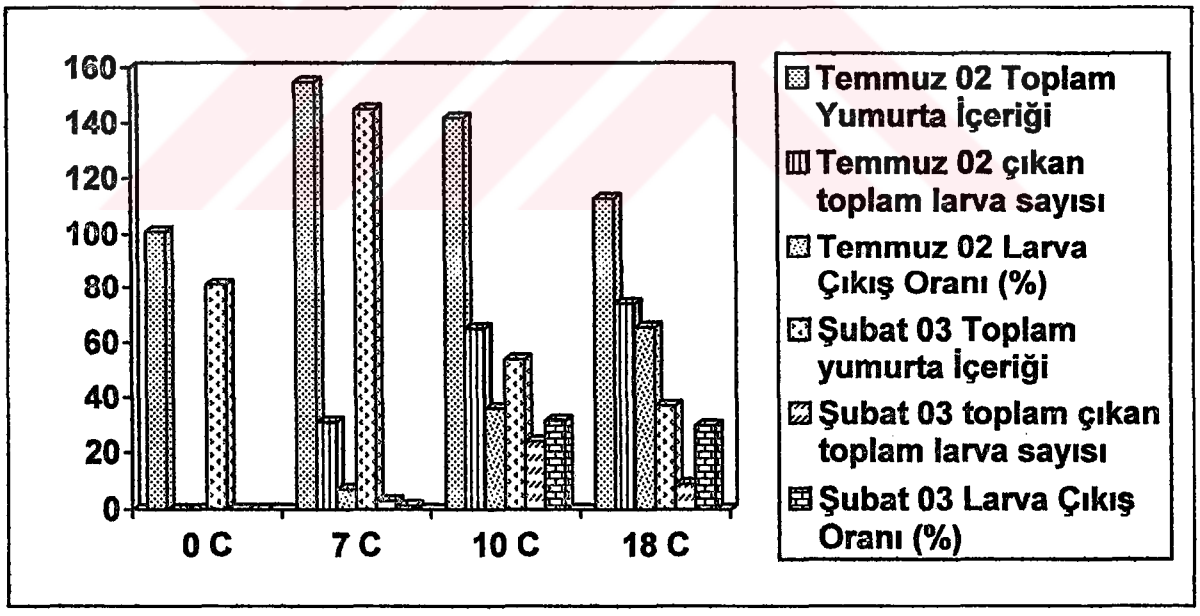


Şekil. 3. 2. Şubat 2003 tarihlerinde alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerin, 0, 7, 10 ve 18 °C' de haftalık olarak çıkış yapan ortalama toplam larva sayıları

Temmuz 2002 ve Şubat 2003 tarihlerinde alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerin, 0, 7, 10 ve 18 °C' de ortalama toplam yumurta içerikleri ve larvalarının çıkış yüzdeleri bakımından karşılaştırılması çizelge 3. 4 ve şekil 3. 3' de verilmiştir. Temmuz 2002 ve Şubat 2003 tarihlerinde alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerin yumurta içerikleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir. ($P<0.01$) Ancak, Temmuz 2002 ayına ait kistlerin yumurta içeriğinin daha fazla olduğu görülmektedir (çizelge 3. 4 ve şekil 3. 3).

Çizelge 3. 4. Temmuz 2002 ve Şubat 2003 tarihlerinde alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerin 0, 7, 10 ve 18 °C' de ortalama toplam yumurta içerikleri ve larvalarının çıkış yüzdeleri

	Sıcaklık (°C)			
	0	7	10	18
Temmuz 02 toplam Yumurta İçeriği	101	155	142	113
Temmuz 02 çıkan toplam larva sayısı	0	31	65	74
Temmuz 02 Larva Çıkış Oranı (%)	0	7,1	35,9	65,5
Şubat 03 toplam yumurta İçeriği	81	145	54	37
Şubat 03 toplam çıkan toplam larva sayısı	0	3	24	9
Şubat 03 Larva Çıkış Oranı (%)	0	1,4	31,5	29,7



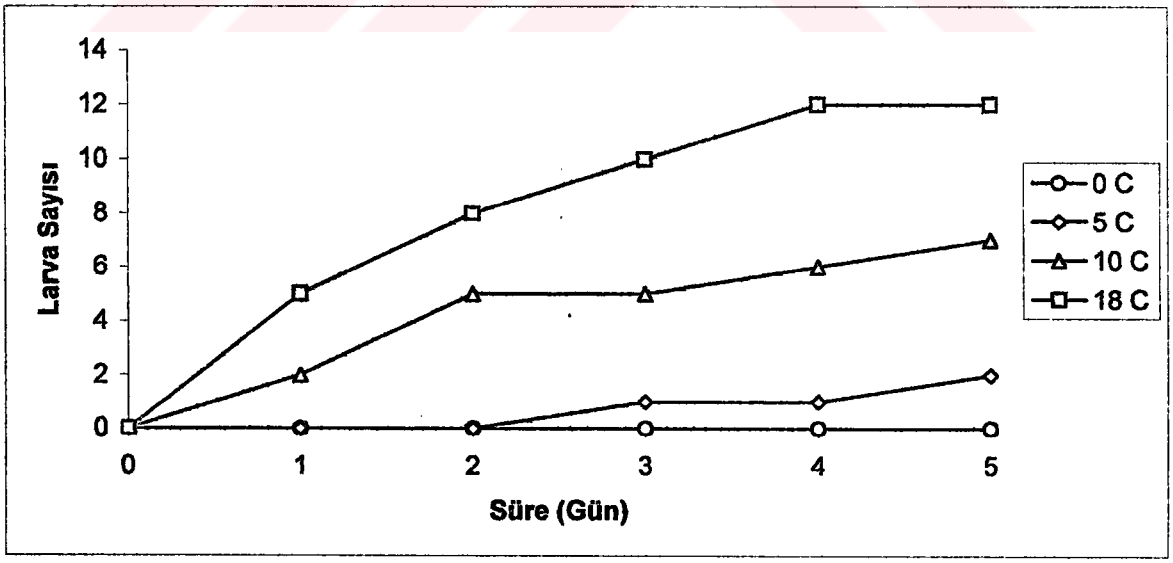
Şekil. 3. 3. Şubat 2003 ve Temmuz 2002 tarihlerinde alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerin yumurta içerikleri ve 3. haftada larva çıkış oranları (%)

3. 2. 2. Kök lezyon nematodunun (*Pratylenchus thornei*) ikinci aşamadaki larvalarının elde edilmesi

Havuç kültüründen ekstrakte edilen kök lezyon nematoduna ait yerleştirilen 50 yumurtadan, 0, 7, 10 ve 18 °C' de haftalık olarak açılan larvalarının ortalama toplam sayıları çizelge 3. 5. ve şekil 3. 4' de görülmektedir.

Çizelge. 3. 5. Havuç kültüründen ekstrakte edilen 50 kök lezyon nematodu (*Pratylenchus thornei*) yumurtasının 0, 5, 10 ve 18 °C' dc açılan ikinci aşamadaki larvalarının ortalama toplam sayısı

Süre (Gün)	Sıcaklık (°C)			
	0	5	10	18
1	0	0	2	5
2	0	0	5	8
3	0	1	5	10
4	0	1	6	12
5	0	2	7	12



Şekil. 3. 4. Havuç kültüründen ekstrakte edilen 50 kök lezyon nematodu (*Pratylenchus thornei*) yumurtasının 0, 5, 10 ve 18 °C' de açılan ikinci aşamadaki larvalarının ortalama toplam sayıları

3. 3. Tahıl Kist Nematodu (*Heterodera filipjevi*) ve Kök Lezyon Nematoduna (*Pratylenchus thornei*) Karşı Aktinomiset ve Fungus İzolarlarının İnhibitörAktivitesi

3. 3. 1. Aktinomiset izolatlarının kuru hücre ağırlığı

Aktinomiset izolatlarının, 20 ml besiyeri 6' da 27 °C' de 100 rpm' de üretilen hücrelerinin kuru ağırlıkları çizelge 3. 6' da verilmiştir.

Çizelge. 3. 6. Aktinomiset izolatlarının kuru hücre ağırlıkları

İzolat Numarası	Kuru Hücre Ağırlığı (g/100 ml)	İzolat Numarası	Kuru Hücre Ağırlığı (g/100 ml)	İzolat Numarası	Kuru Hücre Ağırlığı (g/100 ml)
2,01	0,0500	31,17	0,1620	42,04	0,1885
2,04	0,0500	31,22	0,1580	42,06	0,1345
2,06	0,0430	31,23	0,1070	43,01	0,1415
2,07	0,1000	31,24	0,1195	43,14	0,1735
2,08	0,1500	32,01	0,0555	43,29	0,2495
2,09	0,1000	32,04	0,0755	44,04	0,2570
2,10	0,1000	32,05	7,6260	44,05	0,1545
2,11	0,0340	32,08	0,0005	44,10	0,2150
2,12	0,0450	32,09	0,1495	44,11	0,3155
5,00	0,0440	33,01	0,0005	46,01	0,1570
5,04	0,0640	33,02	0,1975	46,04	0,2265
6,01	0,0500	33,03	0,2505	48,04	0,3770
7,02	0,0530	33,04	0,1870	93,01	0,2195
7,05	0,0350	33,05	0,1445	93,02	0,2590
10,02	0,0785	33,06	0,1885	98,03	0,2545
10,03	0,0505	33,07	0,1450	98,04	0,3900
10,04	0,0605	33,09	0,1545	98,06	0,4475
10,05	0,0775	33,10	0,1615	100,06	0,3040
10,06	0,0960	33,11	0,2495	102,03	0,2740
10,09	0,1285	33,12	0,3285	102,05	0,8710
11,04	0,0465	33,13	0,2615	104,02	0,3105
12, 0	0,0095	34,00	0,2455	104,03	0,1575
12,01	0,0300	34,01	0,2190	105,01	0,2580
12,02	0,0890	34,07	0,2115	105,02	0,2245
12,03	0,0115	34,08	0,2255	105,04	0,2345
12,04	0,9460	35,02	0,3905	108,01	0,4270
12,05	0,0005	35,03	0,2435	108,03	0,1290
12,06	0,0005	36,01	0,0423	110,02	0,0449
12,07	0,0005	36,02	0,0451	110,03	0,0469
13,03	0,0005	36,05	0,0781	111,03	0,0854
13,06	0,0365	36,07	0,0487	111,04	0,0258

Çizelge. 3. 6. Aktinomiset izolatlarının kuru hücre ağırlıkları (Devam)

İzolat Numarası	Kuru Hücre Ağırlığı (g/100 ml)	İzolat Numarası	Kuru Hücre Ağırlığ (g/100 ml)	İzolat Numarası	Kuru Hücre Ağırlığı (g/100 ml)
14,05	0,0665	36,09	0,2405	111,05	0,3705
19,04	0,0005	36,10	0,2645	111,07	0,2980
19,06	1,0690	37,02	0,3410	112,03	0,2210
21,01	0,2830	37,04	0,1440	113,01	0,3630
22,02	0,2505	37,05	0,2145	113,03	0,3580
23,05	0,3630	37,06	0,2090	114,01	0,2740
25,03	0,2770	37,10	0,1805	115,01	0,2335
25,05	0,0735	38,05	0,4250	115,02	0,0005
26,05	0,1985	38,06	0,3630	115,03	0,4130
26,07	0,3200	39,00	0,1660	121,01	0,1880
30,01	0,1500	39,02	0,1065	121,02	0,3865
30,02	0,2515	39,03	0,2500	122,03	0,4195
30,03	0,0635	39,05	0,2160	123,01	0,1525
31,02	0,2175	39,06	1,2720	123,06	0,4480
31,03	0,1635	39,08	0,1675	124,01	0,3705
31,05	0,2010	40,03	0,1035	124,08	0,3890
31,07	0,3065	41,03	0,1635	125,02	0,4245
31,11	0,2210	41,05	0,1925	125,06	0,2635
31,14	0,1060	41,06	0,1005	130,02	0,2320
31,15	0,0405	41,07	0,2000	130,05	0,3315

3. 3. 2. Fungus izolatlarının kuru hücre ağırlığı

Fungus izolatlarının, 20 ml besiyeri 7' de 25 °C' de 150 rpm' de üretilen hücrelerinin, kuru ağırlıkları çizelge 3. 7' de verilmiştir.

Çizelge. 3. 7. Fungus izolatlarının kuru hücre ağırlıkları

İzolat Numarası	Kuru Hücre Ağırlığı (g/100 ml)	İzolat Numarası	Kuru Hücre Ağırlığı (g/100 ml)	İzolat Numarası	Kuru Hücre Ağırlığı (g/100 ml)
1,01	0,5290	1,10	0,5180	2,06	0,0005
1,02	0,4670	1,11	0,4180	2,07	0,4480
1,03	0,5305	1,12	0,4765	3,01	0,2960
1,04	0,5725	1,13	0,3560	3,02	0,6680
1,05	0,3215	2,01	0,2280	3,03	0,3520
1,06	0,8095	2,02	0,4240	3,04	0,6280
1,07	0,5535	2,03	0,5750	3,05	0,3310
1,08	0,4325	2,04	0,3880	3,06	0,6810
1,09	0,3860	2,05	0,3100		

3. 3. 3. Aktinomiset izolatlarının tahıl kist nematoduna (*Heterodera filipjevi*) karşı inhibitör aktivitesi

Çalışmada, 43 lokaliteden elde edilen 126 aktinomiset izolatının, sıvı ortamda geliştirilerek santrifüjlendikten sora elde edilen kültür sıvısının, tahıl kist nematodunun ikinci aşamadaki larvalarının hareketliliği üzerindeki inhibitör etkisi, çalışmanın birinci ve 3. gününde ortalama hareketsiz larva sayısı ve yüzde hareketsiz larva oranı olarak belirlenmiştir (Çizelge, 3, 8; şekil 3. 5). Ayrıca negatif kontrol olan besiyerinde ve pozitif kontrol olarak kullanılan $3x10^{-4}$ g/ml konsantrasyondaki avermektinde meydana gelen inhibisyon oranları çizelge 3. 8' de belirtilmiştir.

Çizelge 3. 8. Aktinomiset izolatlarının, *Heterodera filipjevi* ikinci aşama larvalarını inhibisyon değerleri

İzolat Numarası	Yerleştirilen ortalama larva sayısı	Birinci günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Birinci günde % ortalama hareketsiz larva oranı	Üçüncü günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Üçüncü günde % ortalama hareketsiz larva oranı
Avermektin (İvomec) ($3x10^{-4}$ g/ml)	21	21	100,00	21	100,00
Negatif Kontrol	26	0	0,00	2	34,62
2,10	24	0	0,00	9	37,50
42,04	25	4	16,00	6	24,00
Negatif Kontrol	26	0	0	2	7,69
2,01	29	0	0	6	20,69
2,04	14	3	21,43	2	14,29
2,06	14	1	7,14	0	0,00
2,07	16	2	12,50	2	12,50
2,08	9	2	22,22	2	22,22
2,09	14	1	7,14	1	7,14
2,11	14	2	14,29	1	7,14
2,12	13	4	30,77	1	7,69
5,00	10	2	20,00	0	0,00
5,04	11	1	9,09	1	9,09
6,10	14	3	21,43	1	7,14
7,02	11	2	18,18	1	9,09
7,05	8	2	25,00	1	12,50
39,02	11	2	18,18	1	9,09

Çizelge 3. 8. Aktinomiset izolatlarının, *Heterodera filipjevi* ikinci aşama larvalarını inhibisyon değerleri (Devam)

İzolat Numarası	Yerleştirilen ortalama larva sayısı	Birinci günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Birinci günde % ortalama hareketsiz larva oranı	Üçüncü günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Üçüncü günde % ortalama hareketsiz larva oranı
30,01	15	5	33,33	6	40,00
30,02	14	4	28,57	7	50,00
Negatif Kontrol	29	6	20,69	9	31,03
30,03	15	4	26,67	6	40,00
31,02	19	10	52,63	10	52,63
31,03	26	9	34,62	9	34,62
31,05	23	12	52,17	10	43,48
31,07	27	12	44,44	14	51,85
31,11	28	8	28,57	13	46,43
31,14	26	6	23,08	7	26,92
31,15	22	5	22,73	8	36,36
31,17	31	7	22,58	14	45,16
31,22	24	2	8,33	14	58,33
31,24	26	3	11,54	12	46,15
32,01	24	5	20,83	14	58,33
32,08	20	13	65,00	7	35,00
33,06	25	8	32,00	13	52,00
Negatif Kontrol	43	8	18,60	16	37,21
32,09	32	12	37,50	32	100,00
33,07	41	7	17,07	41	100,00
33,09	34	8	23,53	32	94,12
33,10	40	7	17,50	40	100,00
33,11	35	8	22,86	22	62,86
33,12	36	20	55,56	21	58,33
33,13	38	14	36,84	19	50,00
34,00	39	19	48,72	17	43,59
34,01	35	8	22,86	30	85,71
34,07	38	14	36,84	14	36,84
34,08	46	13	28,26	36	78,26
35,02	30	9	30,00	21	70,00
35,03	34	14	41,18	14	41,18
36,01	35	11	31,43	11	31,43
36,02	40	10	25,00	14	35,00
36,07	34	6	17,65	17	50,00
36,09	42	7	16,67	17	40,48
36,10	46	21	45,65	12	26,09
37,04	37	15	40,54	14	37,84

Çizelge 3. 8. Aktinomiset izolatlarının, *Heterodera filipjevi* ikinci aşama larvalarını inhibisyon değerleri (Devam)

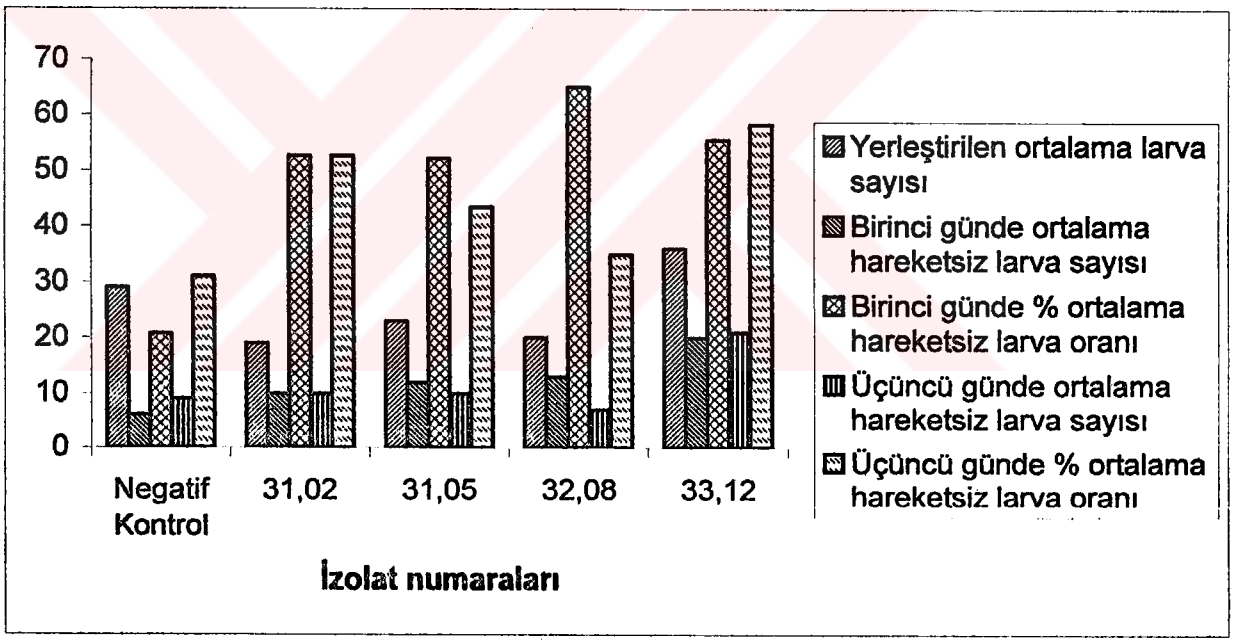
İzolat Numarası	Yerleştirilen ortalama larva sayısı	Birinci günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Birinci günde % ortalama hareketsiz larva oranı	Üçüncü günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Üçüncü günde % ortalama hareketsiz larva oranı
37,05	48	17	35,42	13	27,08
37,06	45	11	24,44	29	64,44
37,10	39	15	38,46	26	66,67
38,05	48	15	31,25	36	75,00
38,06	33	9	27,27	9	27,27
39,03	37	14	37,84	16	43,24
39,05	42	16	38,10	29	69,05
39,08	38	10	26,32	16	42,11
40,03	35	10	28,57	17	48,57
41,03	36	10	27,78	17	47,22
Negatif Kontrol	18	0	0,00	0	0,00
26,05	32	0	0,00	1	3,13
32,04	25	0	0,00	0	0,00
39,06	32	1	3,13	0	0,00
41,05	27	0	0,00	0	0,00
41,07	22	0	0,00	0	0,00
43,01	28	0	0,00	1	3,57
44,10	16	1	6,25	0	0,00
44,11	15	0	0,00	0	0,00
32,05	43	1	2,33	12	27,91
41,06	49	1	2,04	19	38,78
42,06	40	3	7,50	16	40,00
43,14	47	2	4,26	15	31,91
43,29	56	1	1,79	16	28,57
44,04	43	0	0,00	14	32,56
44,05	55	1	1,82	6	10,91
46,01	35	10	28,57	10	28,57
46,04	54	4	7,41	16	29,63
48,04	53	0	0,00	18	33,96
21,01	64	6	9,38	21	32,81
22,02	55	3	5,45	7	12,73
23,05	53	18	33,96	33	62,26
25,03	65	1	1,54	11	16,92
26,07	58	.	.	35	60,34
36,05	78	10	12,82	36	46,15
37,02	37	14	37,84	37	100,00

Çizelge 3. 8. Aktinomiset izolatlarının, *Heterodera filipjevi* ikinci aşama larvalarını inhibisyon değerleri (Devam)

İzolat Numarası	Yerleştirilen ortalama larva sayısı	Birinci günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Birinci günde % ortalama hareketsiz larva oranı	Üçüncü günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Üçüncü günde % ortalama hareketsiz larva oranı
39,00	73	1	1,37	27	36,99
93,01	75	20	26,67	31	41,33
98,06	58	3	5,17	29	50,00
102,03	54	19	35,19	43	79,63
102,05	55	12	21,82	31	56,36
104,02	51	10	19,61	20	39,22
104,03	38	17	44,74	18	47,37
108,03	29	8	27,59	15	51,72
111,05	22	6	27,27	14	63,64
113,01	27	7	25,93	22	81,48
115,03	28	12	42,86	17	60,71
122,03	35	5	14,29	30	85,71
123,06	42,	13	30,95	28	66,67
124,01	32	9	28,13	20	62,50
125,02	38	9	23,68	29	76,32
130,05	34	7	20,59	12	35,29
Negatif Kontrol	36	6	16,67	6	16,67
93,02	26	12	46,15	16	61,54
98,03	30	7	23,33	17	56,67
98,04	36	11	30,56	9	25,00
100,04	37	18	48,65	11	29,73
100,06	35	14	40,00	13	37,14
105,01	34	11	32,35	11	32,35
105,02	34	12	35,29	7	20,59
106,02	37	13	35,14	24	64,86
108,01	27	6	22,22	20	74,07
110,02	31	6	19,35	13	41,94
110,03	30	12	40,00	19	63,33
111,03	18	8	44,44	7	38,89
111,04	32	12	37,50	9	28,13
111,07	29	12	41,38	10	34,48
112,03	36	17	47,22	17	47,22
113,03	34	6	17,65	12	35,29
114,01	110	11	10,00	9	8,18
115,01	39	8	20,51	13	33,33

Aktinomiset izolatlarının tahıl kist nematodunun ikinci aşamadaki larvaları üzerinde birinci gündeki inhibisyon aktivitelerine göre yapılan değerlendirmede, 31,02, 31,05, 32,08 ve 33,12 numaralı izoatların sırasıyla, % 52,63, % 52,17, % 65,00 ve % 55,56 oranında inhibisyona neden oldukları belirlenmiştir. Üçüncü günde yapılan gözlemlerde, 31,05 ve 32,08 numaralı izolatlatlarda larvaların hareketsizlik oranında bir düşüş gözlenmiş, 31,02 numaralı izolatta bir değişme gözlenmezken, 33,12 numaralı izolatta larvaların hareketsizlik oranının arttığı kayıt edilmiştir.

Ayrıca, 32,09, 33,07, 33,10 ve 37,02 numaralı izolatların birinci günde larvaların hareketliliğini önemli oranda etkilemediği ancak çalışmanın 3. gününde larvaların hareketliliğini % 100 oranında inhibe ettiği belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan avermektinin, çalışmanın birinci ve üçüncü gününde larvaların hareketliliğini % 100 oranında inhibe ettiği tespit edilmiştir.



Şekil. 3. 5. 31,02; 31,05; 32,08 ve 33,12 numaralı aktinomiset izolatlarının, tahıl kist nematodunun ikinci aşamadaki larvalarını inhibisyon değeri

3. 3. 4. Fungus izolatlarının tahıl kist nematoduna (*Heterodera filipjevi*) karşı inhibitör aktivitesi

Çalışmada, 3 lokaliteden elde edilen 26 fungus izolatının, sıvı ortamda geliştirilerek santrifüjlendikten sora elde edilen kültür sıvısının, tahıl kist nematodunun ikinci aşamadaki larvalarının hareketliliği üzerindeki inhibitör etkisi, çalışmanın birinci ve 3.

gününde ortalama hareketsiz larva sayısı ve yüzde hareketsiz larva oranı olarak belirlenmiştir (Çizelge. 3. 9).

Çizelge 3. 9. Fungus izolatlarının, *Heterodera filipjevi* ikinci aşama larvalarını inhibisyon değerleri

İzolat Numarası	Yerleştirilen ortalama larva sayısı	Birinci günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Birinci günde % ortalama hareketsiz larva oranı	Üçüncü günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Üçüncü günde % ortalama hareketsiz larva oranı
Avermektin (İvomec) ($3x10^{-4}$ g/ml)	21	21	100	21	100
Negatif Kontrol	44	0	0,00	4	9,09
1,01	33	8	24,24	20	60,61
1,02	36	9	25,00	11	30,56
1,03	38	4	10,53	5	13,16
1,04	28	3	10,71	14	50,00
1,05	26	2	7,69	5	19,23
1,06	26	3	11,54	7	26,92
1,07	26	3	11,54	1	3,85
1,08	28	0	0,00	4	14,29
1,09	27	0	0,00	8	29,63
1,10	24	2	8,33	9	37,50
1,11	26	3	11,54	12	46,15
1,12	29	1	3,45	2	6,90
1,13	11	3	27,27	3	27,27
2,01	30	1	3,33	8	26,67
2,02	27	1	3,70	8	29,63
2,03	32	3	9,38	16	50,00
2,04	27	5	18,52	14	51,85
2,05	30	1	3,33	10	33,33
2,06	28	4	14,29	18	64,29
2,07	13	1	7,69	5	38,46
3,01	32	0	0,00	0	0,00
3,02	34	2	5,88	8	23,53
3,03	29	1	3,45	9	31,03
3,04	22	0	0,00	8	36,36
3,05	19	1	5,26	5	26,32
3,06	14	3	21,43	4	28,57

Fungus izolatlarının çalışmanın birinci gününde tahıl kist nematodu larvalarının hareketliliğini en fazla % 27,27 oranında inhibe ettikleri ve 3. günde yapılan gözlemlerde de en fazla % 64,29 oranında inhibisyonun meydana geldiği belirlenmiştir.

3. 3. 5. Aktinomiset izolatlarının kök lezyon nematoduna (*Pratylenchus thornei*) karşı inhibitör aktivitesi

Elli bir lokaliteden elde edilen 153 aktinomiset izolatlarının kök lezyon nematodunun (*Pratylenchus thornei*) ikinci aşamadaki larvaları üzerindeki inhibitör etkisi, çalışmanın birinci ve üçüncü gününde ortalama hareketsiz larva sayısı ve yüzde ortalama hareketsiz larva oranı olarak belirlenmiştir (Çizelge. 3. 10).

Çizelge. 3. 10. Aktinomiset izolatlarının, kök lezyon nematodunun ikinci aşamadaki larvalarının hareketliliği üzerindeki inhibitör etkisi.

İzolat Numarası	Yerleştirilen ortalama larva sayısı	Birinci günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Birinci günde % ortalama hareketsiz larva oranı	Üçüncü günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Üçüncü günde % ortalama hareketsiz larva oranı
Avermektin (İvomec) ($3x10^{-4}$ g/ml)	29	17	58,62	22	75,86
Negatif Kontrol	25	0	0,00	2	8,00
2,01	22	4	18,18	2	9,09
2,04	26	5	19,23	3	11,54
2,06	16	2	12,50	3	18,75
2,07	20	8	40,00	2	10,00
2,08	13	3	23,08	2	15,38
2,09	16	1	6,25	5	31,25
2,10	18	3	16,67	13	72,22
39,02	17	3	17,65	3	17,65
42,04	21	5	23,81	6	28,57
Negatif Kontrol	23	1	4,35	1	4,35
2,11	21	2	9,52	1	4,76
2,12	14	1	7,14	1	7,14
5,00	14	0	0,00	1	7,14
5,04	19	1	5,26	0	0,00
6,10	20	0	0,00	1	5,00
7,02	11	0	0,00	0	0,00
7,05	14	0	0,00	3	21,43
10,02	13	0	0,00	1	7,69
10,03	14	0	0,00	0	0,00

Çizelge. 3. 10. Aktinomiset izolatlarının, kök lezyon nematodunun ikinci aşamadaki larvalarının hareketliliği üzerindeki inhibitör etkisi (Devam)

İzolat Numarası	Yerleştirilen ortalama larva sayısı	Birinci günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Birinci günde % ortalama hareketsiz larva oranı	Üçüncü günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Üçüncü günde % ortalama hareketsiz larva oranı
Negatif Kontrol	35	0	0,00	0	0,00
10,04	52	0	0,00	0	0,00
10,05	50	1	2,00	1	2,00
10,06	52	0	0,00	0	0,00
10,09	35	0	0,00	0	0,00
11,04	58	0	0,00	0	0,00
12,00	48	0	0,00	0	0,00
12,01	42	0	0,00	0	0,00
12,02	37	0	0,00	0	0,00
12,03	39	1	2,56	0	0,00
12,04	30	0	0,00	0	0,00
12,05	33	1	3,03	0	0,00
12,06	46	1	2,17	0	0,00
12,07	44	0	0,00	0	0,00
13,03	39	1	2,56	0	0,00
13,06	45	0	0,00	0	0,00
14,05	43	0	0,00	0	0,00
19,04	44	1	2,27	0	0,00
19,06	35	0	0,00	0	0,00
25,05	31	0	0,00	0	0,00
33,01	31	0	0,00	0	0,00
33,02	33	0	0,00	0	0,00
33,03	37	0	0,00	0	0,00
33,04	35	1	2,86	0	0,00
33,05	46	1	2,17	0	0,00
30,01	60	6	10,00	3	5,00
30,02	57	9	15,79	10	17,54
30,03	63	7	11,11	2	3,17
31,02	49	10	20,41	6	12,24
31,03	59	11	18,64	6	10,17
31,05	53	3	5,66	10	18,87
31,07	36	2	5,56	11	30,56
31,11	46	10	21,74	6	13,04
31,14	40	8	20,00	2	5,00
31,15	50	6	12,00	2	4,00
31,17	41	10	24,39	5	12,20

Çizelge. 3. 10. Aktinomiset izolatlarının, kök lezyon nematodunun ikinci aşamadaki larvalarının hareketliliği üzerindeki inhibitör etkisi (Devam)

İzolat Numarası	Yerleştirilen ortalama larva sayısı	Birinci günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Birinci günde % ortalama hareketsiz larva oranı	Üçüncü günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Üçüncü günde % ortalama hareketsiz larva oranı
31,22	44	7	15,91	5	11,36
31,23	35	6	17,14	2	5,71
31,24	34	3	8,82	5	14,71
32,01	31	4	12,90	4	12,90
32,08	22	3	13,64	14	63,64
33,06	39	5	12,82	3	7,69
33,07	37	6	16,22	2	5,41
33,09	46	6	13,04	4	8,70
33,10	52	6	11,54	5	9,62
33,11	60	5	8,33	2	3,33
33,12	43	2	4,65	7	16,28
33,13	54	7	12,96	3	5,56
34,00	45	8	17,78	11	24,44
Negatif Kontrol	35	0	0,00	2	5,71
32,09	19	0	0,00	4	21,05
34,01	22	1	4,55	2	9,09
34,07	15	0	0,00	0	0,00
34,08	15	1	6,67	1	6,67
35,02	18	1	5,56	0	0,00
35,03	21	0	0,00	0	0,00
36,01	26	1	3,85	0	0,00
36,02	24	0	0,00	0	0,00
36,07	24	0	0,00	0	0,00
36,09	22	1	4,55	0	0,00
36,10	25	0	0,00	0	0,00
37,04	21	0	0,00	1	4,76
37,05	29	0	0,00	0	0,00
37,06	26	1	3,85	0	0,00
37,10	29	0	0,00	0	0,00
38,05	28	3	10,71	0	0,00
38,06	31	0	0,00	0	0,00
39,03	25	1	4,00	0	0,00
39,05	17	0	0,00	0	0,00
39,08	21	0	0,00	0	0,00
40,03	16	1	6,25	0	0,00
41,03	21	0	0,00	0	0,00

Çizelge. 3. 10. Aktinomiset izolatlarının, kök lezyon nematodunun ikinci aşamadaki larvalarının hareketliliği üzerindeki inhibitör etkisi (Devam)

İzolat Numarası	Yerleştirilen ortalama larva sayısı	Birinci günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Birinci günde % ortalama hareketsiz larva oranı	Üçüncü günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Üçüncü günde % ortalama hareketsiz larva oranı
26,05	33	1	3,03	1	3,03
32,04	34	0	0,00	1	2,94
39,06	31	0	0,00	0	0,00
41,05	33	2	6,06	1	3,03
41,07	30	0	0,00	1	3,33
43,01	37	0	0,00	0	0,00
44,10	31	0	0,00	1	3,23
44,11	30	1	3,33	1	3,33
32,05	52	0	0,00	0	0,00
41,06	39	0	0,00	1	2,56
42,06	29	0	0,00	0	0,00
43,14	43	0	0,00	1	2,33
43,29	40	0	0,00	0	0,00
44,04	39	0	0,00	1	2,56
44,05	46	0	0,00	0	0,00
46,01	46	0	0,00	1	2,17
46,04	74	0	0,00	0	0,00
48,04	60	0	0,00	0	0,00
Negatif Kontrol	66	0	0,00	1	1,52
21,01	76	0	0,00	0	0,00
22,02	56	0	0,00	0	0,00
23,05	91	0	0,00	0	0,00
25,03	68	1	1,47	1	1,47
26,07	84	3	3,57	0	0,00
36,05	75	0	0,00	2	2,67
37,02	66	0	0,00	0	0,00
39,00	74	0	0,00	0	0,00
93,01	65	0	0,00	0	0,00
98,06	50	0	0,00	1	2,00
102,03	74	0	0,00	0	0,00
102,05	55	0	0,00	0	0,00
104,02	43	0	0,00	0	0,00
104,03	52	0	0,00	0	0,00
108,03	49	0	0,00	0	0,00

Çizelge. 3. 10. Aktinomiset izolatlarının, kök lezyon nematodunun ikinci aşamadaki larvalarının hareketliliği üzerindeki inhibitör etkisi (Devam)

İzolat Numarası	Yerleştirilen ortalama larva sayısı	Birinci günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Birinci günde % ortalama hareketsiz larva oranı	Üçüncü günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Üçüncü günde % ortalama hareketsiz larva oranı
111,03	60	0	0,00	0	0,00
111,05	52	0	0,00	0	0,00
113,01	61	0	0,00	0	0,00
115,03	73	0	0,00	0	0,00
122,03	69	0	0,00	0	0,00
123,06	92	0	0,00	0	0,00
124,01	53	0	0,00	0	0,00
125,02	52	0	0,00	1	1,92
130,05	58	0	0,00	1	1,72
Negatif Kontrol	49	0	0,00	0	0,00
93,02	19	0	0,00	0	0,00
98,03	25	0	0,00	0	0,00
98,04	37	1	2,70	0	0,00
100,04	25	0	0,00	0	0,00
100,06	30	1	3,33	0	0,00
105,01	41	0	0,00	0	0,00
105,02	35	0	0,00	0	0,00
106,02	38	0	0,00	0	0,00
108,01	34	1	2,94	0	0,00
108,02	39	0	0,00	0	0,00
110,02	34	1	2,94	0	0,00
110,03	62	1	1,61	0	0,00
111,04	24	3	12,50	11	45,83
111,07	24	1	4,17	3	12,50
112,03	22	1	4,55	8	36,36
113,03	29	1	3,45	0	0,00
114,01	21	2	9,52	6	28,57
115,01	19	2	10,53	12	63,16
115,02	20	1	5,00	9	45,00
121,01	23	2	8,70	7	30,43
121,02	28	2	7,14	1	3,57

3. 3. 6. Fungus izolatlarının kök lezyon nematoduna (*Pratylenchus thornei*) karşı inhibitör aktivitesi

Üç lokaliteden elde edilen 26 fungus izolatının kültür sıvısının, kök lezyon nematodunun (*Pratylenchus thornei*) ikinci aşamadaki larvalarının hareketliliği üzerindeki inhibitör etkisi, çalışmanın birinci ve 3. gününde ortalama hareketsiz larva sayısı ve yüzde hareketsiz larva oranı olarak belirlenmiştir (Çizelge. 3. 11).

Çizelge 3. 11. Fungus izolatlarının, kök lezyon nematodunun ikinci aşamadaki larvalarının hareketliliği üzerindeki inhibitör etkisi.

İzolat Numarası	Yerleştirilen ortalama larva sayısı	Birinci günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Birinci günde % ortalama hareketsiz larva oranı	Üçüncü günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Üçüncü günde % ortalama hareketsiz larva oranı
Avermektin (İvomec) ($3x10^{-4}$ g/ml)	29	17	58,62	22	75,86
Negatif Kontrol	14	0	0,00	0	0,00
1,1	41	1	2,44	0	0,00
1,2	32	1	3,13	0	0,00
1,3	41	1	2,44	0	0,00
1,4	29	19	65,52	20	68,97
1,5	39	1	2,56	1	2,56
1,6	43	1	2,33	8	18,60
1,8	26	1	3,85	4	15,38
1,9	27	0	0,00	1	3,70
1,10	29	2	6,90	1	3,45
1,11	28	1	3,57	0	0,00
1,12	27	1	3,70	1	3,70
2,1	20	1	5,00	2	10,00
2,2	26	0	0,00	0	0,00
2,3	23	21	91,30	16	69,57
2,4	20	14	70,00	17	85,00
2,5	19	2	10,53	0	0,00
2,6	24	4	16,67	19	79,17
3,1	19	0	0,00	0	0,00
3,2	15	4	26,67	7	46,67
3,3	16	0	0,00	0	0,00

Çizelge 3. 11. Fungus izolatlarının, kök lezyon nematodunun ikinci aşamadaki larvalarının hareketliliği üzerindeki inhibitör etkisi (Devam)

İzolat Numarası	Yerleştirilen ortalama larva sayısı	Birinci günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Birinci günde % ortalama hareketsiz larva oranı	Üçüncü günde ortalama hareketsiz larva sayısı	Üçüncü günde % ortalama hareketsiz larva oranı
Negatif Kontrol	46	0	0,00	0	0,00
3,4	42	0	0,00	0	0,00
3,5	45	0	0,00	0	0,00
1,7	7	0	0,00	0	0,00
Negatif Kontrol	29	3	10,34	11	37,93
1,13	26	0	0,00	1	3,85
2,07	33	2	6,06	0	0,00
3,06	18	1	5,56	1	5,56

3. 4. Aktif İzolatların Tanılanması

3. 4. 1. Aktinomiset izolatlarının tanılanması

3. 4. 1. 1. Kemotaksonomik özellikler

Denemeye alınan aktinomiset izolatlarının hücre çeperi diaminopimelik asit (DAP) analizi, bölüm 2. 2. 5. 1' de belirtilen yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda izolatların diaminopimelik asit tipleri L tipi olarak belirlenmiştir.

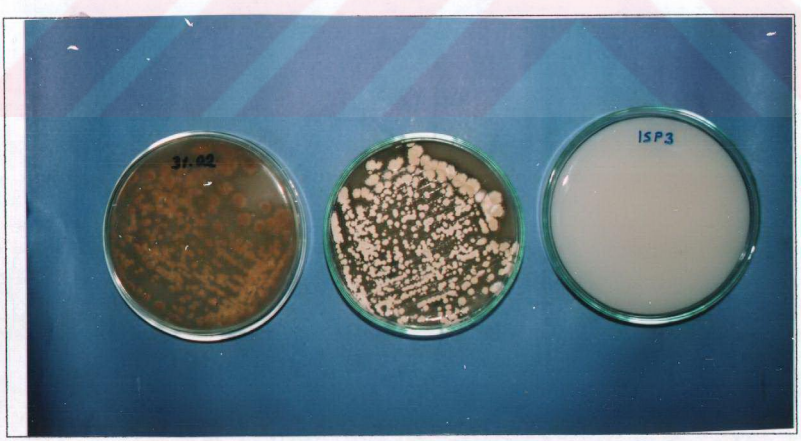
3. 4. 1. 2. Kültürel ve morfolojik özellikler

Antogonistik aktiviteleri bakımından seçilen, 31,02, 31,05 ve 32,08 numaralı aktinomiset izolatlarının, ISP 3 ve ISP 4 besiyerleri üzerindeki kültürel ve morfolojik özellikleri çizelge 3.12' de sunulmuştur. İzolatların ISP 3 besiyerinde belirlenen havasal misel ve substrat miseli renkleri, şekil 3. 6 - 3. 8' de; spor zinciri morfolojileri ise 3. 9 – 3. 11' de görsel olarak sunulmuştur.

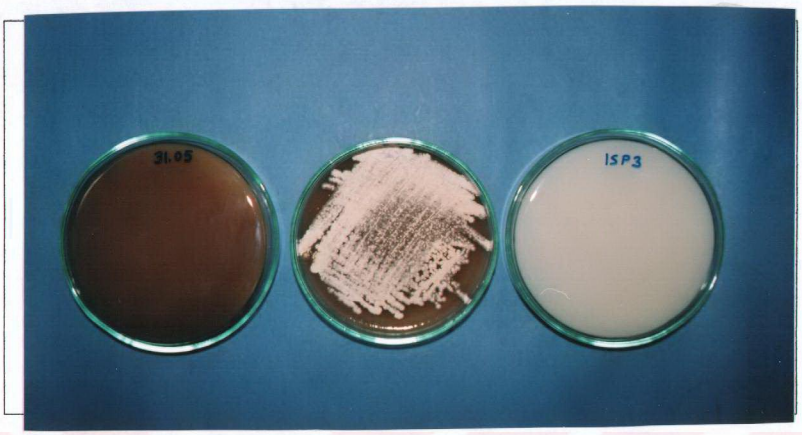
Çizelge 3. 12. 31,02, 31,05 ve 32,08 numaralı izolatların bazı kültürel ve morfolojik özellikleri

Özellik / İzolat Numarası	Besiyeri	Büyüme*	Havasal Misel Rengi	Substrat Miseli Rengi	Çözünür Pigment Rengi
31,02	ISP 3	Zayıf	Yeşil	Yeşil	Yeşil
	ISP 4	İyi	Yeşil	Yeşil	Yeşil
31,05	ISP 3	İyi	Beyaz	Kahverengi	Yeşilimsi Kahverengi
	ISP 4	İyi	Yeşil	Yeşil	Yeşil
32,08	ISP 3	İyi	Açık Yeşil	Beyaz	Açık Yeşil
	ISP 4	İyi	Açık Yeşil	Kahverengi	Yeşil

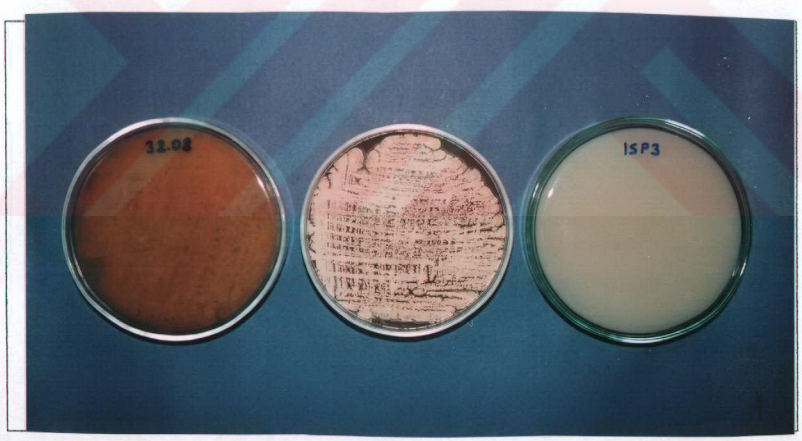
* iyi ya da zayıf



Şekil 3.6. 31.02 numaralı izolatın ISP 3 (Oat Meal Agar) besiyerinde 14 günlük büyümesi A. Kontrol, B. Havasal Spor Kitlesi, C. Substrat Miseli



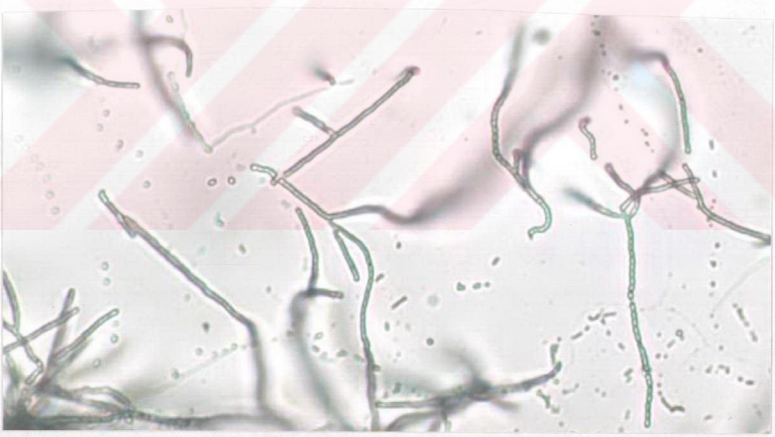
Şekil 3. 7. 31,05 numaralı izolatın ISP 3 (Oat Meal Agar) besiyerinde 14 günlük büyümesi
A. Kontrol, B. Havasal Spor Kitlesi, C. Substrat Miseli



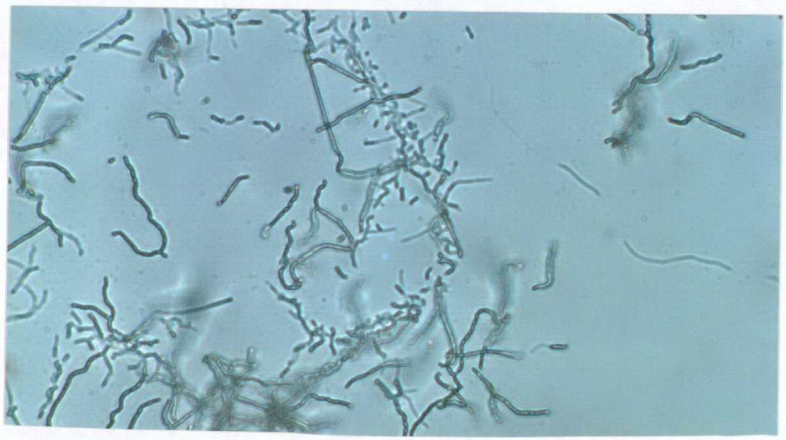
Şekil 3. 8. 32,08 numaralı izolatın ISP 3 (Oat Meal Agar) besiyerinde 14 günlük büyümesi
A. Kontrol, B. Havasal Spor Kitlesi, C. Substrat Miseli



Şekil 3. 9. 31.02 numaralı izolatın İnorganik Tuz – Nişasta Agar ortamında 14 günlük büyümesinde spor zinciri morfolojisi



Şekil 3. 10. 31.05 numaralı izolatın İnorganik Tuz – Nişasta Agar ortamında 14 günlük büyümesinde spor zinciri morfolojisi



Şekil 3. 11. 32.08 numaralı izolatın İnorganik Tuz – Nişasta Agar ortamında 14 günlük büyümesinde spor zinciri morfolojisi

Elde edilen kemotaksonomik ve morfolojik verilerin ve konu ile ilgili literatürlerin incelenmesi sonucunda izolatlarımızın tümünün *Streptomyces* cinsine ait olduklarını belirlemiş bulunmaktayız.

3. 4. 2. Fungus izolatlarının tanılanması

Fungus izolatlarının kültür sıvıları ile gerçekleştirilen inhibitör aktivite çalışmalarıda, kök lezyon nematoduna (*Pratylenchus thornei*) karşı inhibitör aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu izolatlardan 1,4 ve 2,3 numaralı olanlar, sırasıyla *Penicillium verrucosum* Dierckx ve *Penicillium chrysogenum* Tham türleri olarak belirlenmiştir. Mikroskobik incelemeler sırasında 2,4 numaralı fungus izolatında herhangi bir spor yapısına rastlanmadığı için tanılanamamıştır.

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, buğday tarla topraklarından ve tahıl kist nematodu kistleri üzerinden izole edilen aktinomiset ve fungus izolatlarının tahıl kist nematodu (*Heterodera filipjevi*) ve kök lezyon nematoduna (*Pratylenchus thornei*) karşı inhibitör aktiviteleri araştırılmıştır. Bu amaçla aktinomiset ve fungus kültür sıvılarının, her iki nematodun ikinci aşamadaki infektif larvalarının hareketliliğini inhibisyonları birbirleri ve kontrolle karşılaştırılmıştır.

4. 1. Mikroorganizmaların İzolasyonu

Tahıl kist nematodu ve kök lezyon nematoduna karşı inhibitör aktiviteleri araştırılan aktinomiset izolatları, Eskişehir ili sınırları içerisinde bulunan buğday tarlalarından izole edilmiştir.

Biyolojik olarak aktif metabolit üretim potansiyellerinin yüksek olması nedeniyle nematodlara karşı gerçekleştirilecek çalışmada test mikroorganizması olarak aktinomiset izolatları seçilmiştir. Ayrıca aktinomisetlerin, spor formu içermeleri ve flamentli yapıda olmaları nedeniyle, toprak koşullarında meydana gelebilecek sıcaklık ve pH değişimlerine ve kurumaya karşı diğer bakterilerden daha dayanıklı olmaları, potansiyel olarak bulunacak biyolojik kontrol ajanlarının doğal koşullarda canlılığını sürdürebilmesi bakımından göz önünde bulundurulmuştur.

Nematodlara karşı biyolojik kontrol ajanı olarak mikroorganizmaların araştırılması için yapılan çalışmalarda, hedef nematodun doğal habitatında bulunan mikroorganizmaların biyolojik kontrol ajanı olarak daha fazla potansiyele sahip oldukları vurgulanmaktadır. (Neipp and Becker, 1999) Bu nedenle yurdumuzda yayılış gösteren, buğday bitkisi üzerinde parazit olan nematodlara karşı inhibitör aktivitelerinin araştırılması için, buğday bitkisinin yetiştirildiği tarla toprağından aktinomiset izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

Kerry (1987) ve Jatala (1986) tarafından Heteroderidae familyasında yer alan *Meloidogyne* ve *Heterodera* türlerinin dişilerinin hareketsiz yapıda olması nedeniyle, toprakta çok fazla oranda mikroorganizmalara maruz kaldıkları, bu nedenle de inhibitör aktiviteye sahip mikroorganizmaların izolasyon potansiyelinin yüksek olabileceği vurgulanmaktadır. Bu bilgiye dayanarak, denemeye alınan tahıl kist nematodunun kistleri üzerinden mikroorganizma izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

Kistlerin yüzeyinden mikroorganizmaların izole edilesi amacıyla, Hay ve Skipp (1993) ve Öztürk ve arkadaşları (1999) tarafından önerilen, agar plağı üzerinden

mikroorganizmaların izolasyonu yöntemi kullanılmıştır. İzolasyon çalışması sırasında, gelişen fungusların kolayca ayırd edilmesini sağlaması nedeniyle patates dekstroz agar (PDA) besiyeri kullanılmıştır. Ancak, Hay ve Skipp (1993) tarafından da vurgulandığı üzere, PDA' nın besinsel olarak zengin bir besiyeri olması nedeniyle yavaş gelişen mikroorganizmaların gelişimi gözlenememiştir. Bu nedenle, tripton yeast ekstrakt agar ve su agarı gibi besinsel olarak zayıf besiyerleri de izolasyon çalışmasında kullanılmıştır. Kist örneklerinin üzerinden yapılan izolasyon çalışmalarında, bütün besiyerlerinden fungus örnekleri izole edilmiş aktinomisetlere rastlanmamıştır.

4. 2. Sıcaklığın Test Organizmalarının Üzerine Etkisi

4. 2. 1. Tahıl kist nematodu (*Heterodera filipjevi*) ikinci aşama larvalarının elde edilmesi

Mikroorganizmaların inhibitör aktivitelerinin belirlenmesi için, tahıl kist nematodunun bitkileri infekte etme yeteneğine sahip olan, aktif olarak hareket edebilen ikinci aşamadaki larvaları test organizması olarak seçilmiştir. Uygulamaya dönük olarak, inhibitör mikroorganizmanın aktif olarak bulunduğu dönem ile tahıl kist nematodunun infektif larvalarının toprakta en fazla oranda bulundukları zamanın örtüştüğü bir kontrol stratejisinin oluşturulması öngörülmüştür. Tahıl kist nematodlarından sırasıyla *Heterodera avenae* ve *H. latipons* gibi türlerin larvalarının kist içinden çıkmaları için düşük sıcaklıklarda bir süre kalmaları gerektiği Clarke ve Perry (1977) ile Scholz (2001) tarafından gerçekleştirilen çalışmalarla gösterilmiştir. Türkiye' de yayılış gösteren *H. filipjevi* türüne ait kistlerin içinden larvaların çıkış davranışı üzerinde yapılmış çalışmanın bulunmaması nedeniyle, *H. filipjevi* ikinci aşama larvalarının elde edilmesi için, kistlerin soğuklama isteğinin bulunup bulunmadığının ve kistlerin içindeki yumurtaların optimum açılma sıcaklığının belirlenmesi için bir ön çalışma gerçekleştirilmiştir. Temmuz ayında alınan toprak örneklerinden elde edilen yeni oluşmuş kistlerin ve Şubat ayında alınan toprak örneklerinden elde edilen, oluşumundan itibaren üzerinden bir kış geçmiş kistlerin içinden larvaların çıkışları araştırılmıştır. Kistlerin içinden ikinci aşamadaki larvaların çıkışı için optimum sıcaklığın belirlenmesi amacıyla, genel olarak Orta Anadolu bölgesindeki mevsimsel sıcaklıkları temsil eden 0, 7, 10, 18 °C sıcaklıklar kullanılmıştır. Temmuz 2002' de alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerden larvaların 18 °C' de bir hafta içinde hızlı bir şekilde çıktığı ve larva çıkışının 2. haftadan sonra durduğu görülmektedir. Diğer sıcaklıklarda ise sıcaklık düşüşüne bağlı olarak larva çıkışının da azaldığı görülmektedir (Çizelge 3. 2 ve Şekil 3. 1).

Şubat 2003' de alınan toprak örneklerinden elde edilen kistlerden ise, en fazla larva çıkışının 10 °C' de meydana geldiği görülmektedir (Çizelge 3. 3 ve Şekil 3. 2). Ancak çizelge 3. 4 ve şekil 3. 3 incelendiğinde 10 °C' de bulunan Şubat 2003' e ait kistlerin yumurta içeriğinin, 18 °C' de bulunan Şubat 2003' e ait kistlerin içeriğinden daha fazla olduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla Şubat 2003 ve Temmuz 2002' de alınan topraklardan elde edilen kistlerinin larva çıkış davranışlarının aynı olmasına rağmen, Şubat 2003' de alınan topraklardan ekstrakte edilen kistlerin yumurta içeriğinin daha az olduğu görülmüştür.

Mikroorganizmaların inhibitör aktivitlerinin belirlenmesinde kullanılmak üzere larvaların elde edilmesi için, larvaların çıkışlarında istatistiksel olarak bir farklılık gözlenmediği ve daha fazla yumurta içerdiği için Temmuz 2002' de alınan toprak örneklerinden elde edilen kistler ve bir hafta süreyle 18 °C' de inkübasyon koşulları kullanılmıştır.

4. 2. 2. Kök lezyon nematodu (*Pratylenchus thornei*) ikinci aşama larvalarının eldesi

Kök lezyon nematodunun ikinci aşamadaki larvalarının elde edilecekleri en uygun koşulları belirlemek için, 0, 5, 10 ve 18 °C' de yumurtaların açılmaları günlük olarak incelenmiştir. Yapılan çalışmada 18 °C' de yumurtaların açılmasının daha yüksek oranda gerçekleştiği tespit edilmiştir. Ancak, daha sonra tekrarlanan çalışmalarda, havuç kültüründen ekstrakte edildiklerinde bulundukları embriyolojik gelişim aşamasına bağlı olarak, yumurtaların çoğunluğunun açıldığı zaman değişiklik göstermiştir.

4. 3. Tahıl Kist Nematodu (*Heterodera filipjevi*) ve Kök Lezyon Nematoduna (*Pratylenchus thornei*) Karşı Aktinomiset ve Fungus İzolarlarının İnhibitör Aktivitesinin Değerlendirilmesi

4. 3. 1. Aktinomiset izolatları

Aktinomiset izolatlarının, tahıl kist nematodu ve kök lezyon nematodunun ikinci aşamadaki larvalarının hareketliliği üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amacıyla, aktinomiset izolatları, Walker ve arkadaşları (1966) tarafından önerilen yöntem ve besiyeri kullanılarak hazırlanmıştır. Besiyerinin kimyasal bileşiminin inhibitör metabolit üretimini büyük oranda etkilediği Neipp ve Becker (1999) ve Cayrol ve arkadaşları (1989) tarafından gerçekleştirilen çalışmalarla gösterilmiştir. Örnek olarak, Neipp ve Becker (1999) triptik soy broth besiyerinde, besiyeri bileşimine bağlı olarak mikroorganizma üretimi sonucu oluşabilecek toksik amonyumun nematodlar üzerinde etkili olabileceği, bu nedenle de

yanıltıcı sonuçlar verebileceği vurgulanmaktadır. Yapılan ön çalışmalar ile, denemeye alınan aktinomiset izolatlarının geliştirilmesi için kullanılan besiyeri 6' nın nematodların üzerinde inhibe edici etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir.

Tahıl kist nematodu ikinci aşama larvalarının hareketliliği üzerine etkili olan, 31.02, 31.05, 32.08 ve 33.12 numaralı 4 aktinomiset izolatı seçilmiştir Bu izolatların, sırasıyla %52.63, 52.17, 65.00 ve 55.56 oranında etkili oldukları belirlenmiştir. İkinci aşamadaki kök lezyon nematodu larvası üzerindeki inhibitör aktivitesinin belirlenmesi için yapılan çalışmalarda ise en fazla % 39,74 oranında aktivite 2.07 nolu izolatla elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlardan aktinomiset izolatlarının tahıl kist nematodu larvalarına karşı aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu bulgular, Walker ve ark. (1966) tarafından aktinomiset izolatlarının kök lezyon nematoduna (*Pratylenchus penetrans*) karşı inhibitör aktivitesi için yapılan çalışmanın sonuçlarıyla örtüşmektedir. Bu çalışmada da, 25 °C' de 7 gün geliştirilen 581 ve 631 numaralı aktinomiset izolatlarının *Pratylenchus penetrans*' ın ikinci aşamadaki larvaları üzerinde % 12±7 ve % 10±5 oranında inhibitör etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Çalışmanın birinci gününde elde edilen verilere göre aktif olarak kabul edilen izolatlardan, 33.12 numaralı izolatın aktivisinde, çalışmanın birinci ve üçüncü günlerde kayıt edilen sonuçlarında bir artış gözlemiştir. 31.02 numaralı izolatın aktivitesinde ise birinci ve üçüncü günler arasında bir değişim gözlenmezken, 31.05 ve 32.08 numaralı izolatlarda, çalışmanın 3. gününde yapılan kontrollerde inhibisyon aktivitesinde düşüş kayıt edilmiştir. Buna göre 31.05 ve 32.08 izolatların inhibitör aktivitesinin geri dönüşümlü olabileceği kanısına varılabilir. Bu şekilde geri dönüşümlü aktiviteye sahip olan mikroorganizmaların biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılması durumunda, biyolojik kontrol ajanının uygulama zamanı göz önünde bulundurulması gereken bir kriter olarak görülmektedir.

Ayrıca, 32.09, 33.07, 33.10 ve 37.02 numaralı izolatların birinci günde önemli aktiviteye sahip olmadıkları, ancak çalışmanın 3. gününde larvaların hareketliliğini % 100 oranında inhibe ettiği belirlenmiştir. Bu izolatlar, başarı kriteri olarak çalışmanın 3. gününde meydana gelen inhibisyon kabul edildiğinde çok yüksek oranda aktiviteye sahip olarak kabul edilebilir.

Çalışmada izolatların aktivitelerinin karşılaştırılması için pozitif kontrol olarak kullanılan avermektinin, çalışmanın birinci ve üçüncü gününde tahıl kist nematodu larvalarına karşı % 100 oranında, kök lezyon nematodu larvalarına karşı ise birinci günde % 58,62; üçüncü günde ise % 75,86 oranında inhibisyona neden olduğu belirlenmiştir.

Ancak, avermektin uygulanan gruba çalışmanın üçüncü gününde new blue R boyası uygulandığında her iki türe ait nematodların da ölümüne neden olmadığı gözlenmiştir. Avermektin' in de nematod larvalarının ölümüne neden olmaması, izolatlarımızın ticari olarak ta kullanılan pozitif kontrol ile karşılaştırılabilir oranda yüksek aktiviteye sahip olduklarını göstermektedir.

Walker ve ark. (1966) tarafından önerildiği şekilde, aktinomiset izolatlarının geliştirilmesi sırasında oluşan hücre ağırlığının, aynı izolatların, nematodların ikinci aşamadaki larvaları üzerindeki inhibitör etkisi ile ilişkili olup olmadığının belirlenmesi amacıyla, fermentasyon sırasında üretilen hücrelerin kuru ağırlığı belirlenmiştir. Aktinomiset izolatlarının tahıl kist nematodu ve kök lezyon nematodunun ikinci aşamadaki larvalarının hareketliliğini inhibisyonunun belirlenmesi için yapılan çalışmada, tahıl kist nematodunun (*Heterodera filipjevi*) ikinci aşama larvalarının hareketliliğini sırasıyla % 52,63; % 52,17; % 65,00 ve % 54,56 oranında inhibe ettiği belirlenen, 31,02; 31,05; 32,08 ve 33,12 numaralı aktinomiset izolatlarının kuru hücre ağırlıkları sırasıyla, 0,0435, 0,0402, 0,0239 ve 0,0290 g olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde, düşük oranda inhibisyon sağlayan, 31,22; 33,07; 33,10 numaralı aktinomiset izolatlarının kuru hücre ağırlıkları ise, sırasıyla, 0,0457; 0,0501 ve 0,0289 g olarak belirlenmiştir. Hücre üretimindeki artışa paralel olarak, nematodlar üzerindeki inhibisyon aktivitesinde bir artış beklenmiştir. Ancak, elde edilen sonuçlara göre, larvaların hareketliliğinde gözlenen % inhibisyon ile izolatların kuru hücre ağırlıkları arasında bir doğru orantı bulunmadığı görülmektedir. Walker ve ark. (1966) tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda da büyüme indeksi olarak kabul edilen hücre ağırlığı ile inhibitör aktivite arasında korelasyon gözlenmemiştir. Bu bakımdan elde edilen sonuçlar Walker ve ark. (1966) tarafından elde edilen sonuçları destekler niteliktedir. Sonuç olarak aktinomisetler tarafından inhibitör madde üretiminin hücre üretiminden bağımsız olduğu kanısına varılmıştır.

4. 3. 2. Fungus izolatları

Fungus izolatlarının, tahıl kist nematodu (*Heterodera filipjevi*) ve kök lezyon nematoduna (*Pratylenchus thornei*) karşı inhibitör aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla, kültür sıvılarının elde edilmesi için, fungus izolatları, Nitao ve arkadaşları (1999) tarafından önerilen besiyeri 7' de 25 °C' de 150 rpm çalkalamalı koşullarda 7 gün geliştirilmiştir. Fungus izolatlarının geliştirilmesi amacıyla, Nitao ve ark. (1999) tarafından önerilen ve çalışmamızda kullanılan besiyeri 7' nin denemeye alınan nematodlar üzerinde inhibitör etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir.

Çalışmanın birinci gününde, 1.4, 2.3 ve 2.4 numaralı fungus izolatlarının, aktinomisetlerin aksine kök lezyon nematodları üzerinde yüksek oranda aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Sırasıyla, % 65,52; 91,30 ve 70,00 oranında inhibisyon kayıt edilmiştir. Heteroderidae familyasına ait nematodların mikrobiyal metabolitlere karşı daha duyarlı olmalarının beklenmesine karşın, 1.4, 2.3 ve 2.4 numaralı izolatların *P. thornei* larvalarına karşı daha yüksek aktivite göstermelerinden, bu izolatlar tarafından üretilen metabolitlerin türe spesifik olabileceği düşünülmektedir. Üçüncü günde yapılan değerlendirmelerde, 2.3 numaralı izolatın aktivitesinde % 21,80 oranında düşüş gözlenmiştir. Buna göre, izolatın aktivitesinin geri dönüşümlü olduğu kanısına varılmıştır. 1.4 ve 2.4 numaralı fungusların aktivitesinde beklenildiği üzere, sırasıyla % 3.45 ve % 15.00 oranında artış gözlenmiştir. Aktinomiset izolatlarıyla yapılan çalışmada elde edilen verilere benzer olarak, çalışmanın ilk gününde inhibisyon göstermeyen 1.1; 1.11 ve 2.6 numaralı fungus izolatlarının üçüncü günde sırasıyla, % 60,61, 46,15 ve 64,29 oranında inhibisyona neden oldukları belirlenmiştir. Çalışmada aktif olarak seçilen üç izolatın da pozitif kontrol olarak kullanılan avermektinden daha fazla oranda inhibisyon meydana getirmesi, izolatlarımızın biyolojik kontrol ajanı olarak önemli potansiyele sahip olduklarını göstermektedir.

Cayrol ve ark. (1989) tarafından gerçekleştirilen *Paecilomyces lilacinus* fungusunun, 17 nematod türünün larva veya ergininin hareketliliği üzerine etkisi araştırılan bir çalışmada, fungus tarafından yalnızca Heteroderidae familyasında yer alan *Meloidogyne* ve *Heterodera* genusuna ait nematodlara karşı aktivite gösterildiği belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre fungus tarafından üretilen metabolitin, bu familyaya spesifik olabileceği sonucu çıkarılmıştır. Bunun yanında, Walker ve ark. (1966) tarafından gerçekleştirilen çalışmadan, *Pratylenchus penetrans*' a karşı elde edilen düşük inhibisyon oranı ve çalışmamızda *H. filipjevi'* ye karşı aktinomiset izolatlarımızın yüksek aktivite göstermesine karşın, *P. thornei'* ye karşı düşük oranda aktivite göstermesinden Heteroderidae familyasına ait nematodların mikrobiyal metabolitlere karşı daha duyarlı olabilecekleri kanısına da varılabilir.

Walker ve ark. (1966) tarafından önerilen, aktinomiset izolatlarının nematod larvalarının hareketliliği üzerindeki inhibitör etkisi ile hücre üretimi arasında korelasyon bulunup bulunmadığının belirlenmesi önerisi, funguslarla yapılan çalışmalara da aktarılmıştır. Fungus izolatlarının kültür sıvılarının tahıl kist nematodu (*Heterodera filipjevi*) ve kök lezyon nematodu (*Pratylenchus thornei*) ikinci aşamadaki larvalarının hareketliliği üzerindeki aktivitesinin belirlenmesi için yapılan çalışmalar sonucunda,

lezyon nematodunun (*Pratylenchus thornei*) larvalarına karşı sırasıyla, % 65,52; % 91.30 ve % 70,00 oranında inhibisyon gösteren 1.4; 2.3 ve 2.4 numaralı fungus izolatlarının kuru hücre ağırlıkları sırasıyla, 0,1145, 0,1150 ve 0,0776 g olarak belirlenmiştir. Hiç inhibisyona neden olmayan 1.7; 1.9; 2.2; 3.1; 3.3 ve 3.5 numaralı izolatların kuru hücre ağırlıkları ise sırasıyla, 0,1107, 0,0772, 0,0848, 0,0592 ve 0,0662 g olarak belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre, funguslar tarafından hücre üretimi ile kök lezyon nematodu (*Pratylenchus thornei*) larvalarına karşı inhibitör metabolit üretimi arasında, istatistiksel olarak önemli doğrusal ilişki bulunamamıştır ($P<0.01$).

4. 4. İzolatların Taksonomik Özellikleri

Bir aktinomiset izolatının cins seviyesinde tanılanması için yaygın olarak kullanılan dibazik aminoasit varlığı ve tipi kriterinin belirlenmesi için Lechevalier ve Lechevalier (1970) tarafından önerilen metod, halen geçerlidir . Lechevalier (1989) tarafından, DAP' ın hiçbir formunu içermeyen aktinomisetler, *Oerskovia* Prauser, Lechevalier and Lechevalier ve *Promicromonospora* Krasil'nikov, Kalakoutskii and Kirillova cinsleri altında toplanmışlardır. L-DAP içeren aktinomisetler ise, *Nocardioides* Prauser, *Intrasporangium* Kalakoutskii, Kirillova and Krasil'nikov, *Streptomyces* , *Kitasatosporia* Omura et al., *Streptoverticillium* Baldacci, *Kineosporia* Pagani and Parenti ve *Sporichthya* Lechevalier, Lechevalier and Holbert cinsleri altında toplanmışlar ve çeper tipine göre Tip I grubu olarak sınıflandırılmışlardır. Denemeye alınan izolatlarımızın tümü, L-DAP içermeleri nedeniyle, hücre çeperi Tip I içerisine alınmışlardır. Birçok araştırıcı, hücre çeperi Tip I grubu içinde yer alan aktinomiset cinslerinin birbirinden ayrımında morfolojik özellikler kullanmaktadırlar. (Lechevalier and Lechevalier, 1985; Lechevalier, 1989; Locci, 1989) Çalışmamızda hücre çeperi Tip I olduğunu belirlediğimiz izolatlarımızın, cins seviyesinde tanılanması aynı ilkeye göre gerçekleştirilmiştir. İzolatlarımızın tümü, substrat ve havasal misel içermeleri, substrat miselinin fragmente olmaması, havasal miselde uzun spor zincirleri bulundurması, sporangium ve hareketli spor içermemesi gibi özellikleri nedeniyle, *Streptomyces* cinsi olarak tanılanmışlardır. İzolatlarımız, *Nocardioides* 'den substrat miselinin fragmente olmaması özelliği ile; *Intrasporangium* ' dan havasal misel içerme özelliği ile; *Kineosporia* 'dan havasal misel içerme ve sporangium ve hareketli spor içermemesi özellikleri ile ayırt edilmişlerdir. Gruptaki diğer cinsler olan *Sporichthia* ' dan substrat miseli içermesi, *Streptoverticillium* ' dan ise sporların vertisil oluşturmaması ile ayrılmışlardır.

4. 5. Sonuç

Dünyadaki nüfus artışına paralel olarak, insanların temel besin maddesini oluşturan buğdaya olan ihtiyacın giderek arttığı bilinmektedir. Bunun yanı sıra, hastalık ve zararlılar tarafından buğday veriminin toplam olarak % 34,9 oranında kayba uğratıldığı da veriler arasındadır. Dünyada, % 10 oranında buğday verim kaybına neden olmalarıyla nematodlar, buğday üretimini sınırlandıran önemli faktörler arasında bulunmaktadır.

Bitki paraziti nematodlar arasında, tahıl kist nematodları ve kök lezyon nematodlarının, dünyada en fazla yayılışa sahip nemtodlar olduğu bilinmektedir. Bu nematodların hayat devirlerinin farklı olması nedeniyle bitkiler üzerinde oluşturdukları zararın zamanları da farklı olmaktadır. Tahıl kist nematodları tarafından en fazla zararın, buğday gelişiminin erken evresinde, ikinci aşamadaki infektif larvaların bitki köklerine saldırmasıyla meydana geldiği tespit edilmiştir. Kök lezyon nematodlarının ise, bütün yaşam evrelerinin bitki üzerinde infektif olduğu ve en fazla zararı bitki gelişiminin geç evrelerinde meydana getirdikleri bilinmektedir. Bu nematodlara karşı inhibitör maddelerin araştırılması için yapılan bu çalışmada, larvalar bitki köklerini enfeksiyon yetenekleri ile önemli zarar potansiyeline sahip olmaları nedeniyle, test organizması olarak seçilmiştir.

Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar, pozitif kontrolden elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında, aktinomiset izolatlarının tahıl kist nematodu üzerindeki ve fungus izolatlarının kök lezyon nematodu üzerindeki inhibitör aktiviteleri, daha sonra yapılacak çalışmalar için ümit verici olarak görülmektedir. Aktif olarak belirlenen aktinomiset ve fungus izolatlarının pratik olarak biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilirliğinin belirlenmesi için, daha spesifik çalışmalar gerçekleştirilmelidir. Çalışmamızın sonraki olası yönelimleri arasında, laboratuvar koşullarında farklı sıcaklık ve pH koşullarında inhibitör madde üretim potansiyelinin belirlenmesi yer almaktadır. Böylece, aktif izolatların tarla koşullarındaki aktivitesi hakkında önemli bilgiler elde edileceği düşünülmektedir. Ayrıca gerçekleştirilen çalışmadan elde edilen, farklı mikroorganizmaların farklı nematod türlerine karşı aktivite göstermesi verisine dayanarak, tarla koşullarında bir arada bulunan farklı nematod türlerinin kontrolünde aktif izolatların kombinasyonlu bir şekilde uygulanması gerçekleştirilebilir. Üretilen inhibitör maddenin fizikokimyasal özeliklerinin belirlenmesi de, aktif maddenin tarla koşullarındaki stabilitesi hakkında fikir verebilir. Daha sonraki aşamada sırasıyla, sera ve tarla koşullarında izolatların aktivitesinin test edilmesi de önemli veriler sağlayacaktır.

Laboratuvar koşullarında tahıl kist ve kök lezyon nematodlarına karşı inhibisyon etkisine sahip olduklarını belirlediğimiz izolatlarımız üzerinde yapılacak belirtilen ve benzer sonraki çalışmaların, tarımsal üretim, nematoloji, kimya, biyoloji, ekonomi gibi disiplinlerin ortak katkısı ile, uygulamaya yönelik sonuçlar doğuracağı umulmaktadır.

5. KAYNAKÇA

1. Anonim, 1996, http://www.die.gov.tr
2. Anonim, 2001, Türkiye İstatistik Yıllığı, T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, Ankara, 733
3. Agrios, G. N. , 1969, Plant diseases caused by nematodes, In: Plant pathology, Academic Pres Inc. , New York, 169 p.
4. Aktaş, H. , Kınacı, E. , Yıldırım, A. F. , Sayın, L. ve Kural, A. , 1999, Konya yöresinde hububatta sorun olan etmenlerin hububatta verim komponentlerine etkileri ve mücadelesi üzerine çalışmalar, In: Ekiz, H. (Ed.), Orta Anadolu' da Hububat Tarımının Sorunları ve Çözüm Yolları Sempozyumu, Konya, 392 - 403
5. Ali, N. I. , Siddiqui, I. A. , Shaukat, S. S. and Zaki, M. J. , 2002, Nematicidal activity of some strains of *Pseudomonas* spp. , Soil Biology and Biochemistry, in pres
6. Allen, M. W. , Hart, W. H. and Baghott, K. V. , 1970, Crop rotation controls the barley root – knot nematode at Tulelake, Cal, Agric. , 24: 4 - 5
7. Altun, Ç. , Yücel, M. , Elekçioğlu, H. ve Öktem, H. A. , 2001, Nematod dirençli transgenik bitkilerin geliştirilmesine yönelik araştırmalar, 12. Ulusal Biyoteknoloji Kongresi, Balıkesir, 76 - 80
8. Ammati, M. 1987, Nematode status on food legumes in Morocco, In: Saxena, M. C. , Sikora R. A. and Srivastave, J. P. (Eds.), Nematodes Parasitic to Cereals and Legumes in Temperate Semi Arid Regions, Aleppo, Syria, ICARDA, 46 – 48
9. Andersson, S. , 1974, *Heterodera hordecalis,* a cyst nematode of cereals and grasses in southern Sweden, Nematologica, 20, 445 – 454
10. Andersson, S. , 1982, Population dynamics and control of *Heterodera avenae* – a review with some original results, Eppo bulletin, 12, 4, 463 - 475
11. Balakhnina, V. P., 1989, Resistance of varieties of *Triticum drum* desf. and *Triticum aestivum* L. to the oat cyst nematode, In: Gelmintologiya segonya: problemy perspectivy. Tezisy dokladov nauchnoi konferentsii, Moskova, 4 – 6 Aprelya 1989, Tom 2, Moscow, USSR: 36 - 37
12. Banyer, R. and Fisher, J. M. , 1971, Effect of temperature on hatching of eggs of *Heterodera avenae,* Nematologica, 17, 519 - 534
13. Bolat, N. , Çolak, N. , Keser, M. ve Sever, A. L. , 1999, Toprak menşeyli buğday mozayik virusu hastalığının buğday verimine etkisi, In: Ekiz, H. (Ed.), Orta

Anadolu' da Hububat Tarımının Sorunları ve Çözüm Yolları Sempozyumu, Konya, 428 - 433

14. Brown, R. H. , 1984, Ecology and control of cereal cyst nematode, *Hereodera avenae* in southern Australia, Journal of Nematology, 16, 3, 216 - 222
15. Carris, L. M. , Glawe, D. A. , Smyth, C. A. and Edwards, D. I. , 1989, Fungi associated with populations of *Heterodera glycines* in two illinois soyabean fields, Mycologia, 8, 1, 66 – 75
16. Cayrol, J. C. , Djian, C. and Pıjarowski, L. , 1989, Study of the nematocidal properties of the culture filtrate of the nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus,* Revue de Nematology, 12, 4, 331 – 336
17. Cook, R. and York, P. A. , 1982, Resistance of cereals to *Heterodera avenae:* Methods of investigation, sources and inheritance of resistance, Eppo Bulletin, 12, 243 – 434
18. Clarke, A. J. and Perry, R. N. , 1977, Hatching of cyst nematodes, Nematologica, 23, 350 – 368
19. Çetin, L. , Düşünceli, F. , Albustan, S. , Bolat, N. , Yıldırım, A. F. Hekimhan, H. ve Camcı, H. , 1999, 1995 – 1998 yılları arasında Orta Anadolu buğday alanlarında sarı pas (*Puccinia striiformis*) virulanslarının dört lokasyonda kaplan nörseriyle belirlenmesi, In: Ekiz, H. (Ed.), Orta Anadolu' da Hububat Tarımının Sorunları ve Çözüm Yolları Sempozyumu, Konya, 414 - 417
20. Davies, K. G. and Redden, M. , 1997, Diversity and partial characterization of putative virulence determinants in *Pasteuria penetrans*, the hyperparasitic bacterium of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.), Journal of Applied Microbiology, 83, 2, 227 - 235
21. Di Vito, M. and Greco, N. , 1988, Investigation of wheat to *Meloidogyne artiellia,* Revue de Nematologic, 11, 221 - 225
22. Di Vito, M. and Zacheo, G. , 1987, Responses of cultivars of wheat to *Meloidogyne artiellia,* Nematologie Mediterranea, 15, 405 - 408
23. Dropkin, V. H. , 1969, Cellular responses of plants to nematode infections, Annual Review of Phytopathology, 7, 101 - 122
24. Dube, B. and Smart Jr, G. C. , 1987, Biological cotrol of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Pasteuria penetrans,* Journal of Nematology, 19, 2, 222 – 227

25. Esmenjaud, D. , Rivoal, R. and Marzin, H. , 1990, Numbers of *Pratylenchus* spp. in the field on winter wheat in different cereal rotations, Nematologica, 36, 217 - 226
26. Griffin, G. D. , 1984, Nematode parasites of alfaalfa, cereal and grases, In: Nickle, W. R. (Ed.)Plant and Insect Nematodes, Marcel Dekker, New York, 243 – 321
27. Hague, N. G. M. and Gowen, S. R. , 1987, Chemical control of nematodes, In: Brown, R. H. and Kerry, B. R. (Eds.), Principles and Practice of Nematode Control on Crops, Academic Pres, Australia, 131 - 173
28. Hay, F. S. and Skipp, R. A. , 1993, Fungi and actinomycetes associated with cysts of *Heterodera trifolii* Goffart (Nematoda: Tylenchida) in pasture soils in New Zealand, Nematologica, 39, 376 – 384
29. Ibrahim, A. A. M. , El – Hazmi, A. S. , Al – Yahya, F. A. and Alderfasi, A. A. , 1999, Damage potantial and reproduction of *Heterodera avenae* on wheat and barley under Saudi field conditions, Nematology, 1, 6, 625 - 630
30. Inserra, R. N. , Lamberti, F. , Volvas, N. and Dandria, D.,1975,*Meloidogyne naasi* nell' Italia Meridionae ea Malta, Nematology of Mediterranea, 3, 163 - 166
31. Jatala, P. , 1986, Biological control of plant parasitic nematodes, Annual Review of Phytopathology, 24, 453 – 489
32. Jepson, S. B. , 1987, Identification of root – knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) Wallingford, UK, CAB International, 265 pp
33. Kerry, B. R. and Crump, D. H. , 1977, Observations on fungal parasites of females and eggs of the cereal cyst nematode, *Heterodera avenae* and other cyst nematodes, Nematologica, 23, 193 – 201
34. Kerry, B. R. , 1981, Fungal Parasites: a weapon against cyst nematodes, Plant Disease, 65, 5, 391 – 393
35. Kerry, B. R. , 1987, Biological control, In: Brown, R. H. and Kerry, B. R. (Eds.), Principles and Practice of Nematode Control on Crops, Academic Pres, Australia, 233 – 263
36. Kınacı, E. , 2000, Orta Anadolu' da Tahıl Tarımı, Ziraat Odaları Birliği, Ankara, 68 sayfa
37. Kimpinski, J. , Anderson, R. V. , Johnston, H. W. and Martin, R. A. , 1989, Nematodes and fungal diseases in barley and wheat on Prince Edward Island, Crop protection, 8, 412 - 416
38. Kort, J. , 1972, Nematode Diseases of cereals of temperate climates, In: Webster, J. M. (Ed.), Economic Nematology, Academic Press, New York, 97 – 126

39. Lamberti, F. , 1981, Plant nematode problems in Mediterranean region, Helmintological Abstracts, Ser. B, 50, 145 - 166

40. Lasserre, R. F. , Rivoal, R. and Cook, R. , 1994, Interactions between *Heterodera avenae* and *Pratylenchus neglectus* on wheat, Journal of Nematology, 26, 336 – 344

41. Lechevalier, H.A., 1989, The Actinomycetes III, A practical guide to generic identification of Actinomycetes, In: Bergey' s Manual of Systematic Bacteriology (Eds. Williams, S.T., Sharpe, M.E. and Holt, J.G.) Vol. 4, 2344-2347, The Williams & Wilkins Comp., Baltimore.

42. Lechevalier, M.P. and Lechevalier, H.A., 1985, Biology of Actinomycetes not belonging to the genus *Streptomyces*, In: Biology of Industrial Microorganisms (Eds. Demain, A.L. and Solomon, N.A.), 315-358, Butterworths.

43. Locci, R., 1989, Streptomyces and related genera, In: Bergey' s Manual of Systematic Bacteriology (Eds. Williams, S.T., Sharpe, M.E. and Holt, J.G.) Vol. 4, 2451-2508, The Williams & Wilkins Comp., Baltimore.

44. Lung, G. , 1992, The distribution of nematodes on cereals in central Anatolia (Turkey), Survey Report, CIMMYT, Ankara,19 p.

45. Mamluk, O. F. , Augustin, B. and Bellar, M. , 1983, New record of cyst and root – knot nematodes on legume crops in the dry areas of Syria, Phytopathology Mediterranea, 22 – 80

46. Mankau, R. , 1980, Biological control of nematode pests by natural enemies, Annual Review of Phytopathology, 18, 415 – 440

47. Maqbool, M. A. , 1988, Present status of research on plant parasitic nematodes in cereals and food and forage legumes in Pakistan, In: M. C. Saxena, R. A. Sikora,J. P. Srivastava, (Eds.) Nematodes Parasitic to Cereals and Legumes in Temperate Semiared Regions, ICARDA, Aleppo, Syria, 173 – 180

48. Marathee, J. P. and Gomez – MacPherson, H. , 2001, Future world supply and demand, In: Bonjean, A. P. and Angus, W. J. (Eds.) The World Wheat Book, Lavoisier Publishing, France, 1107 – 1119

49. Mathur, B. N. , Handa, D. K. and Swarup, G. , 1987, Effect of deep summer ploughig on the cereal cyst nematode, *Heterodera avenae* and yield of wheat in Rajashan, India, Indian Journal of Nematology, 17, 292 - 295

50. Meagher, J. W. and Chambers, S. C. , 1971, Pathogenic effects of *Heterodera avenae* and *Rhzoctonia solani* and their interaction on wheat, Australian Journal of Agricultural Resource, 22, 189 - 194

51. Meagher, J. W. , 1972, Cereal cyst nematode (*Heterodera avenae* Woll.) studies on ecology and content in Victoria, Technical Bulletin 24, Victoria, Australia, Department of Agriculture, 50 pp.

52. Meyer, S. L. F. , Huettel, R. N. and Sayre, R. M. , 1990, Isolation of fungi from *Heterodera glycines* and in vitro bioassays for their antogonisms to eggs, Journal of Nematology, 22, 4, 532 - 537

53. Meyer, S. L. F. and Roberts, D. P. , 2002, Combinations of biocontrol agents for management of plant parasitic nematodes and soilborne plant pathogenic fungi, Journal of Nematology, 34, 1, 1 – 8

54. Mor, M. and Cohn, E. , 1989, New nematode pathogens in Israel: *Meloidogyne* on wheat and *Hoplolaimus* on cotton, Pytoparasitica, 17, 221

55. Morgan – Jones, G. , Gintis, B. O. and Rodriguez – Kabana, R. , 1981, Fungal colanisation of *Heterodera glycines* cysts in Arkansas, Florida, Mississippi and Missouri soils, Nematropica, 11, 2, 155 - 163

56. Neipp, P. W. and Becker, J.O. , 1999, Evaluation of biocontrol activity of rhizobacteria from *Beta vulgaris* against *Heterodera schachtii,* Journal of Nematology, 31, 1, 54 – 61

57. Nicol, J. M. , 1991, The significance of the root lesion nematode, *Pratylechus thornei* (Sher and Allen, 1953) on wheat productivity in South Australia, Honours Thesis, University of Adelaide, 83 p.

58. Nicol, J. M. , 2002, Important Nematode Pests, In: Curtis, B. C. , Rajaram, S. , Gomez Macpherson, H. (Eds.), Bread Whead Improvement and Production, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 345 – 366

59. Nicol, J. , Rivoal, R. , Taylor, S, and Zaharieva, M. , 2003, Global importance of cyst (*Heterodera* spp.) and lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) on cereals: distribution, yield loss, use of host resistance and integration of molecular tools, Nematology, In press

60. Nitao, J. K., Meyer, S. L. F. and Chitwood, D. J. , 1999, In vitro assays of *Meoloidogyne incognita* and *Heterodera glycines* for detection of nematode antagonistic fungal compounds, Journal of Nematology, 31, 2, 172 – 183

61. Nitao, J. K., Meyer, S. L. F. ,Oliver, J. E. , Schmidt, W. F. and Chitwood, D. J. , 2002, Isolation of flavipin, a fungus compound antagonistic to plant parasitic nematodes, Nematology, 4, 1, 55 – 63

62. Ogbonnaya, F. C. , Subrahmanyam, N. C. , Moullet, O. , De Majnik, J. , Eagles, H. A. , Brown, J. S. , Eastwood, R. F., Kollmorgen, J. , Apples, R. and Lagudah, E. S. , 2001, Diagnostic DNA markers for cereal cyst nematode resistance in bread wheat, Australian Journal of Agricultural Resources, 52, 1367 - 1374

63. Orion, D. , Amir, J, and Krikun, J, 1984, Field observations on *Pratylenchus thornei* and its effects on wheat under arid conditions, Revue de Nematologie, 7, 341 – 345

64. Orion, D. , Krikun, J. and Amir, J. , 1982, Population dynamics of *Pratylenchus thornei* and its effect on wheat in a semi arid region, Abstrct, 16th International Symposium, Europian Society of Nematologists, St. Andrews, Scotland, UK, 48

65. Öztürk, G. , Aktaş, H. , Kepenekçi, İ ve Yıldırım, A. F. , 1999 a, Konya ili hububat ekim alanlarındaki önemli kist nematodlarının (*Heterodera avenae* Wollenwebweber grubu) fungal patojenlerinin tespiti, Türkiye 4. Biyolojik Mücadele Kongresi, 597 – 604

66. Öztürk, G. , Yıldırım, A. F. ve Kepenekçi, İ. , 1999 b, Konya ili hububat ekim alanlarındaki önemli kist nematodlarından *Heterodera filipjevi* Madzhidov' un hububat verimine etkisi üzerine araştırmalar, In: Ekiz, H. (Ed.), Orta Anadolu' da Hububat Tarımının Sorunları ve Çözüm Yolları Sempozyumu, Konya, 477 - 482

67. Pitt, J. I. , 1979, The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*, Academic Pres, Londan, 634 p.

68. Powell, N. T. , 1971, Interactions between nematode and fungi in disease complexes, Annual Review of Phytopathology, 9, 253 - 274

69. Rumpenhorst, H. J. , Elekçioğlu, I. H. , Sturhan, D. , Öztürk, G. and Eneli, S. , 1996, The Cereal Cyst Nematode *Heterodera filipjevi* (Madzhidov) in Turkey, Nematologia Mediterranea, 24, 135- 138

70. Sabova, M. , Valoca, B. , Liskova, M. and Vargova, V. , 1988, The first finding of *Heterodera latipons* Franklin, 1969 on grass stands in Czecholovakia, Helminthologia, 25, 201 - 206

71. Saxena, M. C. , Sikora, R. A. and Srivastava, J. P. , 1988, In: M. C. Saxena, R. A. Sikora and J. P. Srivastava, (Eds.) , Nematodes parasitic to cereals and legumes in temperate semi arid regions, ICARDA, Aleppo, Syria, 69 – 84

72. Scholz, U. , 2001, Biology, pathogenity and control of cereal cyst nematode *Heterodera latipons* Franklin on wheat and barley under semiarid conditions and interactions with common root rot *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker [teleomorph: *Cochliobolus sativus* (Ito et Kurib.) Drechs. ex Dastur. , Ph. D Thesis, University of Bonn, Germany, 159 p.
73. Sharma, S. B. and Swarup, G. , 1984, Cyst Forming Nematodes of India, New Delhi, India Cosmo Publication, 150 p.
74. Shepherd, A. M. , 1962, Newblu R , a stain thet differentiates between living and dead nematodes, Nematologica, 8, 201 – 208
75. Shiabova, T. N. , 1981, *Meloidogyne artiellia* a parasite of cereals in western Siberia, Helminthological Abstracts Series B, 54: 986
76. Siddiqui, Z. A. and Mahmood, I, 1996, Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: a review, Bioresource Technology, 58, 229 – 239
77. Sikora, R. A. , 1988, Plant Parasitic Nematodes of Wheat and Barley in Temperate and Semi Arid Regions – A Comparative Analysis, In: Saxena, M. C. , Sikora R. A. and Srivastave, J. P. (Eds.), Nematodes Parasitic to Cereals and Legumes in Temperate Semi Arid Regions, ICARDA, Aleppo, Syria, 46 – 48
78. Siyan, A. R. Seshadri, and Dasgupta, D. R. , 1982, Investigation on the life cycles of *Tylenchorynchus vulgaris, Pratylenchus thornei* and *Hoplolaimus indicus* individually and in combined infestations in maize, Indian Journal of Nematology, 12, 2, 272 - 276
79. Smac, D. A. and Kinkel, L. L. , 2001, Suppression of the root lesion nematode (*Pratylenchus penetrans*) in alfalfa (*Medicago sativa*) by *Stteptomyces* spp., Plant and Soil, 235, 35 – 44
80. Stephan, Z. A. , 1988, Plant parasitic nematodes on cereals and legumes in Iraq, In: Saxena, M. C. , Sikora, R. A. and Srivastava, J. P. (Eds.), Nematodes Parasitic to Cereals and Legumes in Temperate Semiarid Regions, ICARDA, Aleppo, Syria, 155 – 159
81. Stirling, G. , Nicol, J. and Reay, F. , 1999, Advisory Services for Nematode Pests Operational Guidelines, RIRDC Publication No 99/ 41, 111 p.
82. Sturhan, D. , 1982, Distribution of cereal and grass cyst nematodes in the Federal Republic of Germany, Eppo Bulletin, 12, 322 – 324
83. Taylor, S. P. , Hollaway, G. J. and Hunt, C. H. , 2000, Effect of field crops on population densities of *Pratylenchus neglectus* and *Pratylenchus thornei* in

southeastern Australia, Part 1: *Pratylenchus neglectus*, Journal of Nematology, 32, 591 - 599

84. Thompson, J. P. and Clewett, T. G. , 1986, Research on root lesion nematode, In: Queensland Wheat Research Institute biennial Report, 1982 – 1984, Qld Dept. Primary Industries, Wheat Research Institute, Toowoomba, Qld. , 32 - 35
85. Timper, P. and Brodie, B. B. , 1997, First report of *Pratylenchus neglectus* in New York, Plant Disease, 81, 2, 228
86. Troccoli, A. , Lamberti, F. and Greco, N. , 1992, *Pratylenchus* species occuring in Algeria (Nematoda Pratylenchidae), Nematologie Mediterranea, 20, 97 - 103
87. Trudgill, D. L. , Kerry, B. R. and Phillips, M. S. , 1992, Seminar: Integrated control of nematodes with particular reference to cyst and root knot nematodes, Nematologica, 38, 482 - 487
88. Van Gundy, S. D. Perez, J. G. B. , Stolzy, L. H. and Thompson, I. J. , 1974, A pest Management approach to the control of *Pratylenchus thornei* on wheat in Mexico, Journal of Nematology, 6, 107 - 116
89. Walker, J. T. , Specht, C. H. and Bekker, J. F. , 1966, Nematocidal activity to *Pratylenchus penetrans* by culture fuilds from actinomycetes and bacteria, Canadian Journal of Microbiology, 12, 347 – 351
90. Yamaç, M. , 1997, Eskişehir ili tarım topraklarından izole edilen aktinomisetlerin buğday samanının delignifikasyonunda kullanım olanakları üzerine çalışmalar, Doktara Tezi, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, 147 sayfa
91. Yeğen, O. , 1987, Fitopatoloji, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 1, Antakya
92. Yıldırım, A. F. ve Derin, A. , 1993, Konya ilinde tahıl üretiminin azalmasına neden olan önemli hastalık ve zararlılar, 1. Konya' da Hububat Tarımının Sorunları ve çözüm yolları Sempozyumu, Konya, 214 – 232
93. Yıldızgördü, K. Ç. , 1996, Yabani ve Kültüre Alınmış Buğdayda Önemli Hastalık ve Yabancı Otlar, Mustafa Kemal Üniversitesi yayınları No: 2, Antakya
94. Yu, M. Q. , 1997, First report of *Pratylenchus thornei* from spring wheat in southern Ontario, Canadian Journal of Plant Pathology, 19, 3, 289 - 292
95. Zencirci, N. , Kınacı, E. , Atlı, A. , Kalaycı, M. ve Avcı, M. , 1998, Wheat Research in Turkey, In: Wheat: Prospects for Global Improvement, Braun, H. J. (Ed.), Netherlands, 11 – 16

96. Zuckerman, B. M. , Matheny, M. and Acosta, N. , 1994, Control of plant parasitic nematodes by a nematocidal strain of *Aspergillus niger,* Journal of Chemical Ecology, 20, 1, 33 – 43