



Kök-Ur Nematodları (Nematoda: Meloidogynidae)'nda Konukçu-Parazit İlişkisi: Hücresel ve Moleküler Bakış

Gökhan Aydın^{1*}, Sevilhan Mennan²

^{1*} Bozok Üniversitesi, Tarım ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 66200 Yozgat, Türkiye

² Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 55139 Samsun, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Geliş 25 Ocak 2014
Kabul 07 Nisan 2014
Çevrimiçi baskı, ISSN: 2148-127X

Anahtar Kelimeler:
Meloidogyne spp.
Parazitizm
Nematod salgıları
Dev hücre

ÖZET

Kök-ur nematodları (*Meloidogyne* spp.), konukçu bitki ile özel ve karmaşık ilişkilere sahiptir. Nematod ve konukçusu arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılması, mücadele açısından yeni bakış açılarının oluşumuna yardımcı olacaktır. Bu amaçla, kök-ur nematodlarında parazitizm ve konukçu tepkileri ile ilgili hücresel ve moleküler temelli son araştırmalar derlenerek verilmiştir.

* Sorumlu Yazar:

E-mail: gokhan.aydinli@bozok.edu.tr

Turkish Journal Of Agriculture - Food Science And Technology, 2(4): 160-170, 2014

Host-Parasite Interaction of Root-Knot Nematodes (Nematoda: Meloidogynidae): Cellular and Molecular Aspect

ARTICLE INFO

Article history:
Received 25 January 2014
Accepted 07 April 2014
Available online, ISSN: 2148-127X

Keywords:
Meloidogyne spp.
Parasitism
Nematode secretions
Giant cell

ABSTRACT

Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) have specialized and complex relationships with their host plants. A better understanding of interaction between nematode and their host will help to provide new point of view for root-knot nematode management. For this purpose, recently investigations on cellular and molecular basis of root-knot nematode parasitism and host response were reviewed.

* Corresponding Author:

E-mail: gokhan.aydinli@bozok.edu.tr

Giriş

Bitki paraziti nematodlardan *Meloidogyne* Goeldi cinsini oluşturan kök-ur nematodları 3000'den fazla konukçu bitki türüne sahip obligat endoparazit canlılardır (Abad ve ark., 2003). Konukçu dizisi oldukça geniş olan bu zararlıların neden oldukları ekonomik kayıpların yıllık 80 milyar avro olduğu tahmin edilmektedir (Blok ve ark., 2008). Bu zararın boyutunu azaltabilmek için gerekli mücadele yöntemlerinin ortaya konulmasında, nematodun konukçu ile olan ilişkisini anlamak son derece önemlidir.

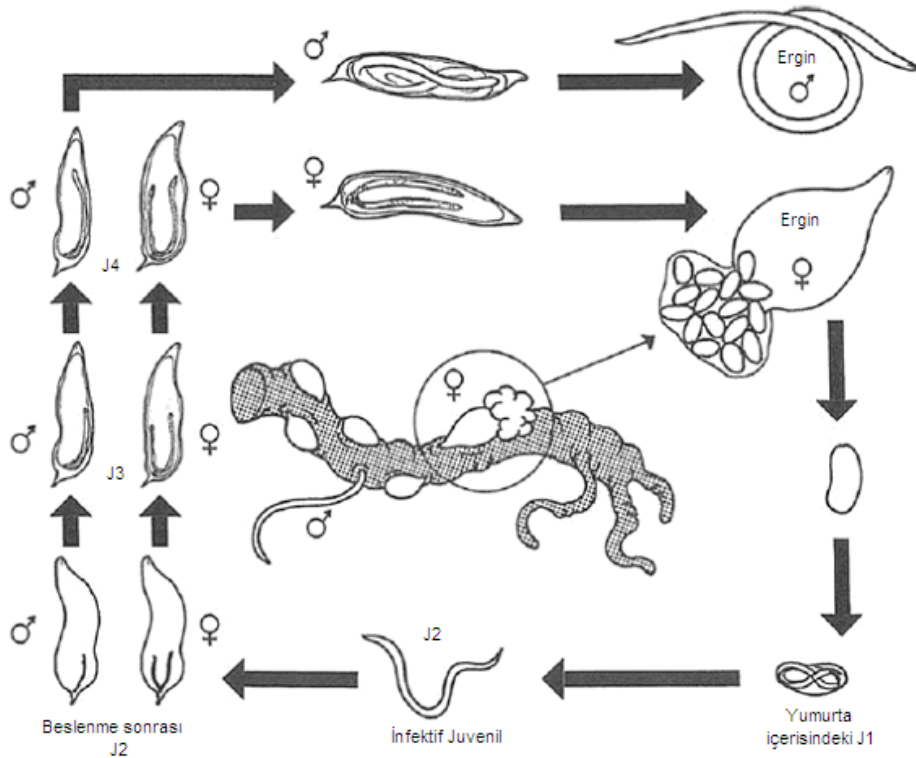
Kök-ur nematodları toprakta yumurta veya 2. dönem larva olarak bulunurlar. Birinci dönem larva ilk deri değiştirmesini yumurtanın içinde gerçekleştirir. Yumurtadan çıkan 2. dönem larvalar, sahip oldukları yağ depoları sayesinde haftalarca hatta aylarca toprakta beslenmeden canlı kalabilirler (Bird ve Kaloshian, 2003). Fakat bu rezervleri azaldıkça enfeksiyon yetenekleri de azalmaya başlar (Hussey, 1985). Genellikle konukçu bitkinin kök ucuna yakın bir yerinden köke giriş yaparlar. Köke giriş sırasında stiletlerini ve hücre duvarını parçalayıcı enzimleri içeren salgılarını kullanırlar. Kök içinde hücreler arası (intercellular) hareket ederek vasküler parankima hücrelerine ulaşırlar. Uygun bir yere kendini sabitleyen larva, burada beslenmeye başlar. Larvanın baş kısmına yakın 5-7 parankimatik kök hücresi, farklılaşmaya başlar ve "dev hücre" olarak adlandırılan, her biri 100 kadar çekirdeğe sahip beslenme alanları oluşur (Abad ve ark., 2003). Bu hücreler, nematodun gelişmesi ve üremesi için gerekli olan besin ihtiyacını sağlayacak şekilde farklılaşmıştır. Sadece bu hücrelerden beslenen nematod, konukçu içinde 3 gömlek değiştirir ve 4. dönemden sonra, ipliksi yapıdaki ergin erkekler kök dokusundan ayrılırken, dişiler ise kök dokusu içerisinde

olgunlaşarak armut şeklini alırlar. Dişiler, yumurtalarını koruyucu bir jelatinimsi matriks içerisinde kök yüzeyine doğru çıkıntı yapmış olarak bırakırlar (Şekil 1). Yumurta sayısı türlere ve çevre şartlarına göre değişmekle birlikte, bir dişi hayatı boyunca yüzlerce yumurta bırakabilir. Bir bireyin yumurtadan ergin olabilmesi geçen süre, türlere göre değişmekle birlikte ortalama 25°C sıcaklıkta yaklaşık 25-30 gündür (Curtis, 2007).

Nematod ile konukçu bitki arasındaki uyumlu ilişki, nematod ile bitkinin ilk karşılaşmasıyla başlayan ve nematodun başarılı bir parazitizm davranışı göstererek hayat döngüsünü tamamladığı bir süreci ifade etmektedir. Nematodun bitkideki parazitizm serüveni, ikinci dönem larvaya ait salgılar tarafından başlatılır. Nematodun gerçekleştirdiği parazitizm sonucunda bitkide bazı değişiklikler meydana gelmektedir. Genellikle bu değişikliklerin, konukçuya ait genlerin nematod tarafından kontrol altına alınmasıyla (Lozano ve Smant, 2011), bitki hücrelerinde nematodun gelişmesi ve üremesini sağlayacak özel beslenme hücrelerinin (dev hücre) oluştuğu kabul edilmektedir (Berg ve ark., 2009).

Parazitizm ve Nematod Salgıları

Bitki paraziti nematodlar, parazitizm ile ilgili iki özel yapıya sahiptir. Bunlar stilet ve esophageal salgı bezleridir. Stilet, bitki hücre duvarını delmek için kullanılan başın anterior gerisinden uzamış ve bir enjektör iğnesi gibi ileri geri hareket edebilen bir yapıdır. Kök-ur nematodları, 2 tane subventral ve 1 tane dorsal olmak üzere üç adet esophageal salgı bezi hücrelerine sahiptir. Her biri, esophageal lümene bağlı olup tek ve büyük hücrelidir.



Şekil 1 Kök-ur nematodları (*Meloidogyne* spp.)'nin hayat döngüsü (Karszen ve Moens, 2006)

Esophagal bezlerden salgılanan salgılar, stilet aracılığıyla bitki dokusuna iletilir (Williamson ve Hussey, 1996). Subventral bezlerin parazitizm davranışının erken dönemlerinde görev yaptığı, dorsal bezin ise beslenme alanının gelişimi ve devamlılığında önemli olduğu düşünülmektedir (Williamson ve Gleason, 2003). Larva ve ergin bireye ait dorsal ve subventral bezlerin morfolojisindeki farklılık, bu bezlerin hangi dönemlerde daha aktif olduğunun en büyük göstergesidir (Curtis, 2007; Şekil 2).

Curtis (2007), konukçu-parazit ilişkisinde kök-ur nematodu salgılarının başlıca rollerini şu şekilde sıralamıştır:

- 2. dönem larvaların köke girişinde ve kök içerisindeki hareketinde,
- Beslenme alanı oluşturmak için bitki hücresinin modifikasyonunda,
- Nematod tarafından besin alımını kolaylaştırmak için hücre içeriğinin sindirilmesinde,
- Konukçunun savunma tepkilerinin bastırılmasında görev alırlar.

Parazitizmin ana unsuru olan salgılar, sinyal molekülleri olarak görev yapar. Bunların konukçu ve nematod arasında oluşturduğu varsayılan moleküler diyalog ise belirli bir mesafeden gelen kök salgılarına tepki olarak başlar ve bunu takiben 2. dönem larvanın yüzeyinde değişiklikler görülür. Nematod köke ulaştığında ise farklı salgı organları, konukçuyla olan moleküler etkileşimde rol alır. Kütiküladan salgılanan salgılar, bir vücut yüzey örtüsü oluşturur. Bu örtü, muhtemelen ilişki süresince konukçunun nematodu tanımasına engel olur. Ayrıca hipodermiste üretilen ve kütikula boyunca salgılanan antioksidan enzimlerin, nematod enfeksiyonuna karşı konukçunun göstermiş olduğu, oksidatif tepkilere karşı nematodu koruduğu düşünülmektedir. Kök-ur nematodları gelişmiş bir sinir sistemine ve baş üzerinde "amphid" olarak adlandırılan 2 adet kemosenör organa sahiptirler. Çevrenin algılanmasında rol alan bu organlar, sinyal molekülleri olarak görev yapan protein ve karbonhidratları salgılar (Perry, 1996). *Meloidogyne incognita*'da avirulenslik faktörü olarak varsayılan MAP-1 proteini, amphid salgılarında belirlenmiş olup, bitki ve nematod arasındaki erken tanıma safhasında rol alabileceği düşünülmektedir (Semblat ve ark., 2001; Vieira ve ark., 2011). Nematodun bitkiye inokulasyonundan 7 gün sonra, 2. dönem larvanın amphidlerinde ve vücudunun bazı bölümlerinde tespit ettikleri MAP-1 proteininin, nematodun kök içerisindeki hareketi sırasında salgılandığını belirtmişlerdir. Şaşırtıcı bir şekilde MAP-1 proteini urlarda (inokulasyondan 21 gün sonra) bulunan nematodların amphidlerinde ve nematod başının yakınındaki dev hücrelerin duvarlarında da tespit edilmiştir. Bu proteinin aynı zamanda beslenme hücrelerinin oluşumu sırasında da rol oynadığı düşünülmektedir (Vieira ve ark., 2011; Rosso ve ark., 2011). Bununla birlikte, MAP-1'in avirulenslikteki rolü ise fonksiyonel olarak gösterilememiştir (Haegeman ve ark., 2012). cDNA kütüphaneleri kullanılarak *map-1* genine homolog olan *mjap-1* ve *mjap-2* genleri *M. javanica*'da belirlenmiştir (Adam ve ark., 2009). Fakat bu genler, hem virulens hem de avirulens nematodlarda tespit edilmiştir. Gleason ve ark. (2008), *M. javanica*'nın

avirulens ve virulens popülasyonları arasındaki benzerliğin yüksek olduğunu, sadece *Cg-1* olarak adlandırılan bir gen bakımından farklılık gösterdiğini belirlemişlerdir. Bu gen avirulens ırkta mevcutken, virulens ırkta bulunmamaktadır. RNA interferans (RNAi) tekniğiyle bu gen susturulmuş böylece elde edilen avirulens popülasyonlar, *Mi* geni taşıyan dayanıklı domateslere virulenslik kazanmıştır. Bu sonuç, *Cg-1*'in *Mi* tarafından sağlanan dayanıklılık için gerekli olan avirulenslik geni olabileceğinin güçlü bir göstergesidir (Haegeman ve ark., 2012). Bununla birlikte, *Cg-1*, bir gen ürünü kodlamamaktadır. Muhtemelen, RNA seviyesinde görev yapıp, protein kodlamak için gerekli olan translasyon sürecini engellemektedir (Gleason ve ark., 2008). Nematodun kuyruk sonunda amphide benzer yapıda olan phasmidler de bulunmaktadır. Bellafiore ve ark. (2008), *M. incognita*'nın phasmidinde CDC48 benzeri protein belirlemişler ve böylece phasmidlerin de nematodun parazitizminde rol oynadığını ifade etmişlerdir. Pharynx bezlerinden salgılanan nematod proteinleri ise stilet aracılığıyla konukçu içerisine enjekte edilir. Bu sinyal molekülleri, konukçu savunma tepkilerini bastırma ve dev hücre oluşumunda rol oynayan sinyal yollarını tetikleyici bir role sahiptir (Abad ve ark., 2009). Proteinlerin sergiledikleri karmaşık roller muhtemelen nematodun başarılı bir şekilde konukçuya yerleşmesi için gereklidir (Huang ve ark., 2003). Şu ana kadar çeşitli fonksiyonu olan 100'den fazla protein belirlenmiştir (Vieira ve ark., 2011). Bunlar bitkinin savunma tepkilerini kontrol etmek için, nematod tarafından tetiklenen hücresel süreçlerde rol almaktadır. Hücre duvarını bozma, konukçunun savunma tepkilerini bastırma ve dev hücre oluşturma bu salgıların başlıca fonksiyonlarından.

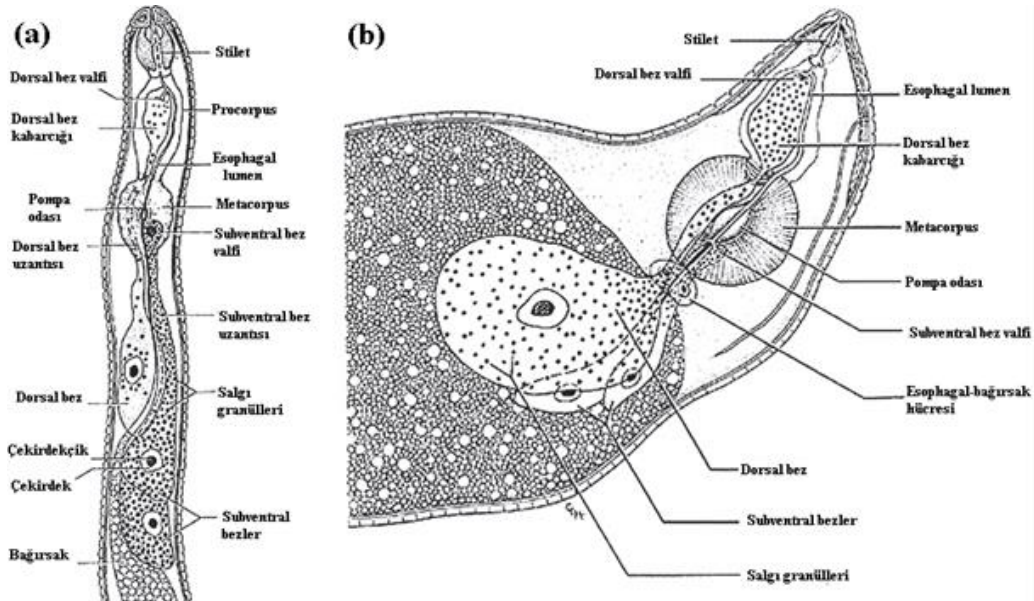
Nematod saldırısına karşı ilk savunma hattını oluşturan ve fiziksel bir bariyer görevi gören hücre duvarı, temel olarak selüloz, hemiselüloz ve pektinden oluşur. Bitki paraziti nematodlar selüloz ve pektinaz içeren bitki hücre duvarını bozucu ve değiştirici enzimlere sahiptir (Davis ve ark., 2011; Er ve Yb, 2012). Bu enzimler, larvanın köke girişi ve kök içerisindeki hareketi süresince aktif olarak kullanılır. *Meloidogyne incognita*'nın genomunda, bu fonksiyona sahip enzimleri kodlayan, 60'dan fazla gen tespit edilmiştir (Abad ve ark., 2008).

Bitki hücre duvarının en önemli bileşenlerinden olan selüloz, glikozun zincir şeklinde birbirlerine bağlanmasıyla oluşur. Gezegenimizde en çok bulunan makromolekül olup, pek çok organizmanın ana besin kaynağıdır. Bakteri ve fungus gibi organizmalar, selülozdaki karbon ve enerjiyi kullanabilmek için selüloz aktivitesi gösteren bileşikler salgırlar. Herbivor ve omnivor hayvanların ise bağırsaklarında yaşayan simbiyotik bakteri ve protozoaların salgıladıkları selüloz enzimi yardımıyla selülozu sindirebildiği ifade edilmiştir (Smant ve ark., 1998; Watanabe ve Tokuda, 2001). Fakat daha sonra, özellikle moleküler biyoloji alanındaki ilerlemeler sayesinde, hayvansal orijinli selüloz enzimleri nematod ve arthropodlarda da tespit edilmiştir (Watanabe ve Tokuda, 2001). Hayvanlardan klonlanan ilk selüloz genleri, kist nematodları (*Heterodera glycines*, *Globodera rostochiensis*)'nin esophagal salgı bezlerinden salgılanan β -1,4-endoglukanazı (selüloz) kodlayan

genlerdir (Smant ve ark., 1998). Bu enzimi kodlayan gen, esophageal salgı bezine spesifik monoklonal antibody kullanılarak belirlenmiştir. Özellikle subventral bez hücreleri içerisinde genlerin ifadesi (ekspresyonu) görülmekte ve salgı üretilmektedir (Davis ve ark., 2000; Curtis, 2007). Daha sonra kök-ur nematodu *M. incognita*'da selüloz genleri klonlanmıştır (Rosso ve ark., 1999; Huang ve ark., 2004; Ledger ve ark., 2006). Selüloz üzerine aktif oldukları ve nematodun kök içerisindeki ilerleyişi sırasında görev yaptıkları düşünülmektedir (Davis ve ark., 2009). Kist nematodunda belirlenen ilk endoglukanazların, karbonhidrat-aktif enzimlerden (CAZymes), Glikosil Hidrolaz 5 (GH5) familyasındaki bakterilere ait üyelere benzerlik göstermesi, prokaryotlardan ökaryotlara olası bir horizontal gen transferinin ilk kanıtı olarak düşünülmektedir (Davis ve ark., 2011). Glikozit hidrolazlar, şeker polimerlerinin glikosidik bağlarının hidrolizini katalize eden enzimlerdir. Sekans benzerliklerine göre farklı familyalar olarak sınıflandırılırlar. Nematodlarda farklı glikosil hidrolaz (GH) familyasına ait endoglukanazlar (selülozlar) belirlenmiştir (Davis ve ark., 2011). β -1,4-endoglukanaz, selülozun β -1,4 glikosidik bağlarını hidrolize ederek, hücre duvarının zayıflamasına neden olur (Rosso ve ark., 2009). *Meloidogyne incognita*'nın gen sekansı sonucunda belirlenen GH5 familyasına ait, selüloz kodlayan 21 gen tespit edilmiştir (Abad ve ark., 2008). GH5 endoglukanazlarının hepsi protein salgılamak için bir sinyal peptidine ve gerçek enzim aktiviteli bir katalitik bölgeye (domain) (CD) sahiptir. Bazıları ise bunlara ilave olarak proteinin C-terminal sonundaki bir karbonhidrat bağlanma modülüne (CBM) sahiptir. Bu bölge enzimin substrata bağlanmasına yardımcı olur (Davis ve ark., 2011). Kök-ur nematodlarında, β -1,4-endoglukanaz (*Mi-eng-1*) kodlayan bir cDNA, ilk defa *M. incognita*'nın 2. dönem larvasından klonlanmıştır. Elde edilen aminoasit sekansının bir katalitik bölge (CD) ve peptid bağlayıcı (linker) tarafından ayrılmış bir selüloza-bağlanma bölgesi (CBD) içerdiği tespit edilmiştir (Rosso ve ark.1999). β -

1,4-endoglukanaz'ın 2. dönem larvanın subventral bezlerindeki transkripsiyonu in situ hibridizasyonla mRNA tarafından gösterilmiştir. Bu gen ifadesi yumurta, ikinci dönem larva, ergin erkek ve ergin dişide de tespit edilmiştir. Daha sonra, kök-ur nematodu *M. incognita*'da 3 selüloz geni (*Mi-eng-2*, *Mi-eng-3* ve *Mi-eng-4*) daha tespit edilmiştir (Huang ve ark., 2004; Ledger ve ark., 2006). Diğerlerinden farklı olarak *Mi-eng-2* ve *Mi-eng-4* bir CBD sahip değildir. Kök-ur nematodu *M. incognita*'da β -1,4-endoglukanaz (*Mi-eng-1*) ifadesi yumurta, ikinci dönem larva, ergin erkek ve ergin dişilerde görülmüş olmasına rağmen (Rosso ve ark., 1999), kist nematodlarında yumurta kabuğu içerisindeki 2. dönem larvanın gelişiminden 3. dönem larvanın erken dönemlerine kadar olan sürede tespit edilmiş, daha sonraki dönemlerde ve dişilerde ise tespit edilememiştir (Goellner ve ark., 2000; Gao ve ark., 2002). Kök-ur nematodunda, kist nematodundan farklı olarak ergin dişilerde de görülmesi, beslenme davranışındaki farklılıktan kaynaklanabileceği görüşünü öne çıkarmaktadır (Rosso ve ark., 1999). Bunun yanı sıra, kök-ur nematodunun dişi bireylerinin rektal bezleri tarafından yumurtaları bırakmak için, kökün dışına doğru bir kanal boyunca oluşturulan jelatinimsi matrikste de selüloz aktivitesi gözlenmiş olup, bunun dişide belirlenen β -1,4-endoglukanaz ile bağlantılı olabileceği ifade edilmiştir (Rosso ve ark., 1999; Ledger ve ark., 2006). Bu kanalın oluşumunda, selüloz gibi hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin de rol aldığı sanılmaktadır (Orion ve ark., 1987; Vieira ve ark., 2011). Orion ve Kritzman (1991), jelatinimsi matriks'in antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu belirtmiş olmalarına rağmen, Papert ve Kok (2000), matriks içerisinde spesifik bir bakteri popülasyonu olduğunu bulmuşlardır. Muhtemelen, bu özel bakteriler, patojen mikroorganizmalara karşı yumurtaları koruyucu probiyotik aktiviteye sahiptir (Vanholme ve ark., 2004).

Kök-ur nematodunda endoglukanaz genleri henüz belirlenmemişken, Ding ve ark. (1998) tarafından CBD sahip



Şekil 2 Kök-ur nematodu'nun 2. dönem larva (a) ve dişi (b) bireylerinin baş kısmı (Davis ve ark., 2009)

bir selüloza bağlanma proteini (MI-CBP-1) tespit etmiştir. Bu protein, bitki paraziti nematodlarda tespit edilen ilk CBP'dir. *Meloidogyne incognita*'nın stilet salgılarının bir bileşeni olan bu protein, 2. dönem larvaların subventral salgı bezlerinde kodlanmakta olup, sadece selüloza bağlanır ve selülaz enzim aktivitesine sahip değildir. Benzer bir selüloza bağlanma proteini (MJ-CBP-1) *M. javanica*'nın yumurta ve 2. dönem larvalarında da tespit edilmiştir (Adam ve ark., 2008). *M. arenaria*, *M. javanica* ve *M. incognita*'nın bu protein bakımından oldukça yüksek benzerlikte formlara sahip olduğu, dolayısıyla da çeşitliliğin sınırlı olduğu ifade edilmiştir. Yapılan RNAi uygulamaları ile CBP'nin, nematodunun köke saldırmasını ve kök içindeki göçünü kolaylaştırdığı ortaya konulmuştur (Adam ve ark., 2008).

Kök-ur nematodlarının kök içerisindeki hücreler arası göçü sırasında komşu hücreleri birbirinden ayırmak için, nematodun mekaniksel gücünün ve pektin ile ilgili enzimlerin yeterli olacağına dair bir hipotez bulunmaktadır (Rosso ve ark., 1999). Özellikle, komşu iki hücre arasındaki orta lamelin pektin bakımından yoğun olmasından dolayı, salgılanan pektinaz enzimlerinin, larvanın kökü enfekte etmesini kolaylaştırdığı düşünülmektedir (Huang ve ark., 2005a). Pektin üzerine etkili olan enzimlerden pektat liyaz ve poligalakturonaz enzimleri kök-ur nematodlarında tespit edilmiştir. *Meloidogyne incognita*'dan klonlanan *Mi-pg-1* ilk hayvansal poligalakturonaz geni olup, özellikle ikinci dönem larvanın subventral bezlerinden sentezlendiği, transkripsiyon analizi ile ortaya konulmuştur (Jaubert ve ark., 2002). Doyle ve Lambert (2002), *M. javanica*'da esophageal bezlerin bazal hücrelerinde gen ifadesi gösteren bir pektat liyaz genini (*Mj-pel-1*) belirlemişlerdir. Huang ve ark. (2005a) ise *M. incognita*'nın esophageal bez hücrelerinin cDNA kütüphanelerinden, pektat liyaz kodlayan iki cDNA (*Mi-pel-1* ve *Mi-pel-2*) izole etmiş ve bunların küçük çoklu gen familyasının üyeleri olduklarını bildirmişlerdir. Son olarak, daha önce *M. incognita*'da tespit edilenlerden farklı olarak üçüncü bir pektat liyaz geni (*Mi-pel-3*) tespit edilmiştir (Vieira ve ark., 2011). Filogenetik analizde, bu son bulunan proteinin (Mi-PEL-3), diğer iki proteinden farklı bir filogenetik grupta yer aldığı belirlenmiş olup, *Meloidogyne* türleri içinde önemli bir çeşitliliğe sahip olabilecekleri sonucuna varılmıştır. İkinci dönem larvanın erken dönemlerinde subventral bez hücrelerinde yoğun olarak biriktiklerini, dolayısıyla pektat liyaz aktivitesinin pektinin parçalanması sağlayarak, larvanın kök içerisindeki hareketine yardımcı olabileceği düşünülmektedir (Doyle ve Lambert, 2002; Huang ve ark., 2005a; Vieira ve ark., 2011). Ayrıca, *Mi-pel-1* geninin ikinci dönem larvanın geç dönemlerinde de aktivite göstermesi, dev hücrelerin şekillenmesinde de rol alabileceklerinin göstergesidir (Huang ve ark., 2005a). Vieira ve ark., (2011) tarafından, nematod inokulasyonundan 14 gün sonra, Mi-PEL-3 proteinin dev hücre gelişiminin erken dönemlerinde belirlenmesi ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Abad ve ark. (2008), *M. incognita*'nın genomunda pektin ile ilgili olarak GH28 familyasından 2 poligalakturonaz ve PL3 familyasından 30 pektat liyaz tespit etmişlerdir.

Bu enzimlerin dışında kök-ur nematodlarında, hemiselülozu sindirmeye yarayan ksilanaz enzimi ve

hücre duvarının polisakkaritleri arasındaki moleküler bağlantıyı zayıflatan ekspansin homologu proteinler de tespit edilmiştir. *Meloidogyne incognita*'nın genom surveyi bu genlerin hepsinin çoklu gen familyalarının üyesi olduğunu ortaya çıkarmıştır (Abad ve ark., 2009). Bu genlerin çeşitliliği ve sayısı *Caenorhabditis elegans*'da dahil olmak üzere hiçbir hayvansal organizmada daha önce tespit edilmemiştir (Davis ve ark., 2004). Kök-ur nematodu ve bakteriyel genler arasındaki benzerlik, bu genlerden bazılarının horizontal gen transferiyle bakterilerden kazanıldığı hipotezini desteklemektedir (Baldwin ve ark., 2004; Mitreva ve ark., 2005; Bird ve ark., 2009; Rosso ve ark., 2009).

Kök-ur nematodunun 2. dönem larvası köke girerken giriş noktasında bir yaraya neden olmasına rağmen, kök içerisinde hücreler arasında hareket ederken çok az zarara neden olur. Bitki tarafından köke giriş yapan nematoda karşı hızlı bir şekilde reaktif oksijen türleri (ROS) üretilerek savunma tepkisi verilir (Melillo ve ark., 2006; Das ve ark., 2008). Kök-ur nematodu larvası radikal temizleme aktivitesine sahip proteinler salgılayarak, kendini ROS'un zararlı etkilerinden korur (Molinari ve Miacola, 1997). *Meloidogyne incognita*'nın subventral bezlerinde salgıladığı glutatyon S-transferaz (GST), bitkinin oksidatif tepkileriyle oluşan sitotik bileşiklerin detoksifikasyonunda rol almaktadır (Dubreuil ve ark., 2007; Abad ve ark., 2009). Abad ve ark. (2008), *M. incognita*'nın genomunda Sigma sınıfından olan 5 GST tespit etmiştir. RNAi tekniği kullanılarak GST'nin susturulması sonucunda, konukçudaki dişi sayısında değişiklik olmadığı, fakat dişilerin oluşturduğu yumurta sayısında azalış görüldüğü tespit edilmiştir (Dubreuil ve ark., 2007). GST'nin, nematodun üremesine olan bu etkisi, konukçuyu istilasından ziyade, beslenme alanının oluşmasına katkı yaptığı şeklinde açıklanabilir (Lozano ve Smant, 2011). Bitkilerde patojen enfeksiyonuna verilen ilk tepkilerden biri olan ROS üretimi, bitki savunmasında iki role sahiptir. Bunlardan ilki, bitki içerisinde patojenle yapılan kimyasal savaşta kullanılan antimikrobiyal bileşikler olması, diğeri ise savunma sinyallerinde kritik bir mesaj olarak rol almasıdır. Kök-ur nematodlarına hassas ve dayanıklı domates bitkilerinin her ikisinde de nematodun bitkideki göç yollarında ve beslenme hücrelerinde hızlı bir oksidatif yanma oluşur. Bununla birlikte hassas bitkiden farklı olarak, dayanıklı bitkide hipersensitif reaksiyonla ilişkili olarak, ikinci bir oksidatif yanma görülür. ROS'un bu ikinci dalgası, dayanıklı bitkilere özeldir. Hassas bitkilerde bu iki fazlı ROS tepkisinin olmaması, ikinci faz oksidatif yanmaya neden olan sinyallerin, nematod tarafından kontrol altına alınabilmesiyle açıklanabilir. Salgı bezlerindeki antioksidant enzimler, ROS tarafından yönetilen sinyalleri ortadan kaldırmak için konukçu hücre sitoplazmasındaki hidrojen peroksidi hedef alırken, nematod yüzeyindeki antioksidantlar, apoplasttaki antimikrobiyal ROS'a karşı koruma sağlar (Lozano ve Smant, 2011).

Parazitizmin sonlarına doğru bitki savunma genlerinin aktivitesinde bir azalış görülmesi, nematod tarafından bitki savunmasının aktif bir şekilde değiştirildiğinin göstergesidir. Chorismate mutaz (CM) olarak adlandırılan enzimi kodlayan parazitizm genleri kök-ur (Lambert ve ark., 1999; Huang ve ark., 2005b) ve kist nematodlarında

(Gao ve ark., 2003; Jones ve ark., 2003) belirlenmiştir. *Meloidogyne javanica*'da belirlenen chorismate mutaz (Mj-CM-1) yaklaşık 20 kDa büyüklüğünde olup gram negatif bakterilerin CM'larına önemli derecede benzerdir (Doyle ve Lambert, 2002). *M. incognita*'da belirlenen iki CM (MI-CM-1 ve MI-CM-2)'da bakteri ve *M. javanica*'nın CM'larına benzer yapıdadır (Huang ve ark., 2005b). Bu enzim, bakterilerde aromatik aminoasitlerin sentezini sağlayan, şikimik asit yolu için anahtar bir enzimdir (Davis ve ark., 2009). Bitkilerde ise oksin gibi fitohormonlar ile flavonid, salisilik asit ve fitoaleksinler gibi bitki savunma bileşiklerini içine alan sekonder metabolitlerin sentezinde gereklidir (Doyle ve Lambert, 2002). Kök-ur nematodunun CM'sı kök dokusunun gelişimini bozabilir veya chorismate türevli bileşiklerin sentezini etkileyerek savunma tepkilerini bastırabilir (Davis ve ark., 2008). Mj-CM-1 geninin soya (*Glycine max* L.) bitkisinin saçak köklerinin sitoplazmasındaki transgenik ifadesi, lateral kök oluşumunu ve vasküler sistemin gelişimini baskılamıştır. Bu dokularda, oksin indole-3 asetik asit (IAA) miktarında azalış görülmektedir (Williamson ve Gleason, 2003). Doyle ve Lambert (2002)'e göre nematottan salgılanan chorismate mutaz sitoplazma içerisindeki chorismate mutaz havuzunu tüketecektir. Bu da sitoplazma içerisine konukçu hücrenin plastidlerinden artan miktarlarda chorismate ihracına neden olacaktır. Dolayısıyla, oksin ve salisilik asit gibi plastitten üretilen chorismate bağlı metabolitlerin sentezi etkin bir şekilde azalacaktır. Nematod chorismate mutaz'ın konukçu hücre sitoplazması içerisine girişiyle, salisilik asit üretimindeki azalış nematod saldırısına karşı bitki savunmasının bastırılmasına neden olur.

Bitki-nematod ilişkisinde kök dokularının istilasını ve beslenme hücrelerinin oluşmasını içeren patojenite ile ilgili faktörlerde anahtar rol oynayan bir diğer grup ise 14-3-3 proteinleridir (Klink ve ark., 2009). Liu ve ark. (2011)'nin *H. glycines* ve *M. incognita*'dan klonladıkları 14-3-3 proteinleri üzerinde yaptıkları filogenetik araştırma, bitki paraziti nematod proteinlerinin böcek proteinlerine, diğer hayvan proteinleri ile bitki proteinlerinden daha fazla benzediğini ortaya koymuştur. Kök-ur nematodu (*M. incognita*)'nun 2. dönem larvalarında 14-3-3 protein familyasına ait bir proteinin iki isoformu stilet salgılarının saflaştırılmasıyla izole edilerek her birini kodlayan genler klonlanmıştır (Jaubert ve ark., 2004). Yapılan *in situ* hibridizasyon analizi sonucunda, bunlardan birisi (14-3-3a) genital primordiyumda, diğeri (14-3-3b) ise kök-ur nematodunun larvalarının dorsal esophageal bezi içerisinde gen ifadesi göstermiştir. 14-3-3 proteinleri, *Arabidopsis*'deki çoklu protein kompleksi LRR-RLK (leucine-rich repeat receptor-like kinases) ile ilişki içerisindedir. Membrana yerleşmiş olan LRR-RLK'ler, patojen interaksyonu ve bitki gelişimi sürecinde sinyal yollarında önemli rol oynarlar. Çoğunlukla böyle çoklu protein kompleksleri, protein-protein interaksyonunda adaptör protein olarak 14-3-3 proteinlerine ihtiyaç duyar.

Kök-ur nematodunun larvaları tarafından *in vitro*'da oluşturulan salgılardan izole edilen diğer bir protein ise kalretikulin'dir (Jaubert ve ark., 2002). Kalretikulin kodlayan gen ifadesi, subventral esophageal salgı hücrelerinde görülmektedir. Bu proteinler hücrenin

kalsiyum dengesini düzenleyen, kalsiyum bağlayıcı proteinlerdir. Çoğunlukla endoplazmik retikulumda bulunurlar ve şaperon proteini olarak görev yaparlar. *M. incognita* tarafından salgılanan kalretikulin (Mi-CRT), nematodun hem göç edici hem de kalıcı dönemlerinde salgılanmaktadır. Stilet ucunun etrafındaki dev hücrelerin, hücre duvarı boyunca biriktiği belirlenmiştir (Jaubert ve ark., 2005). Kök-ur nematodu kalretikulinlerinin bitki tepkilerini azaltmadaki görevi tam olarak belirlenememiş olmasına rağmen, nematod ve arthropodları içine alan hayvan parazitlerinin salgıladıkları kalretikulinin, konukçunun savunma tepkilerini düzenlemede anahtar rol oynadığı bilinmektedir (Williamson ve Gleason, 2003; Curtis, 2007).

Kök-ur nematodunun 2. dönem larvalarında 13 amino asitli bir peptid (16D10) kodlayan gen ifadesi subventral esophageal bez hücresinde belirlenmiştir. 16D10 peptidi, iki bitki SCL (SCARECROW-like) transkript faktörüyle etkileşim içerisindedir (Huang ve ark., 2003; Huang ve ark., 2006a). *Arabidopsis* bitkisini infekte eden kök-ur nematodlarının 16D10 geninin RNAi tekniği kullanılarak susturulmasıyla, bitkinin kök-ur nematodlarına (*M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica*, *M. hapla*) karşı etkili bir dayanıklılık sağladığı tespit edilmiştir (Huang ve ark., 2006b). Peptid 16D10 bitki CLE domainlerine benzerlik göstermektedir. CLE peptidleri, vasküler hücrelerin bölünmesini kontrol etmektedir. 16D10 ile ilgili deneyler, bu peptidin nematodun beslenme hücresi oluşumu sırasında bitkiye ait transkript faktörlerine bağlanarak, konukçu bitkinin gen aktivitesini kendi çıkarları için kullandığı sonucunu ortaya çıkarmıştır (Huang ve ark., 2006a).

Fonksiyonları tam olarak anlaşılmasa bile, parazitizmde rol aldığı düşünülen proteinlerden en ilgi çeken, parazit nematodlar tarafından bol miktarda salgılanan venom alerjen benzeri proteinlerin (VAP) oluşturduğu gruptur (Lozano ve Smant, 2011). Venom proteinleri için ilk gen sekansı, Hymenoptera takımındaki bir türde ortaya konulmuş olup, hayvan paraziti nematod *Ancylostoma caninum*'da salgı proteini olarak belirlenmiştir. VAP kodlayan genler, *C. elegans* ve diğer parazit bazı nematodlarda da tespit edilmiştir (Davis ve ark., 2008). Ding ve ark. (2000), *M. incognita*'nın 2. dönem larvasının cDNA kütüphanesinde, diğer Hymenopter ve nematod türlerinin venom alerjen proteinlerine benzeyen bir protein (*Mi-msp-1*) klonlamıştır. Wang ve ark. (2007) ise aynı nematod türünde *Mi-vap-2* olarak adlandırdıkları yeni bir venom alerjen benzeri protein belirlemiş ve *in situ* hibridizasyon analizinde transkripsiyonlarının sadece subventral esophageal bez hücreleri içerisinde biriktiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, bu proteinin parazitizmin erken dönemlerinde rol oynayabileceğini belirtmişlerdir.

Nematod salgıları tarafından, daha fazla bitki sinyal yollarının hedef alındığı tahmin edilmektedir. Nematodun salgıladığı proteinlerin küçük miktarda olması *in vitro*'da onların tam olarak yerinin belirlenmesini zorlaştırmaktadır. Ayrıca bazı nematod proteinlerinin, konukçu bitki hücresinin çekirdeğinde lokalize olan sinyalleri hedef aldığı düşünülmektedir (Abad ve ark., 2003).

Kök-ur nematodları ve kist nematodları konukçu

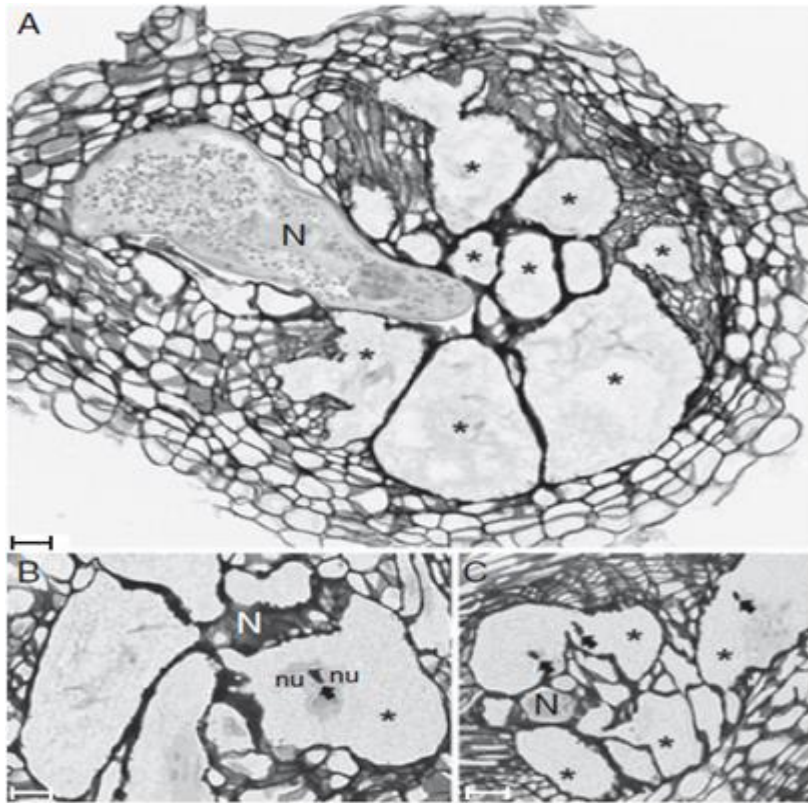
bitkinin hücresinde beslenmeye başlamadan önce salgılarıyla, “beslenme tüpü” olarak adlandırılan kristal yapıları oluştururlar (Berg ve ark., 2009). Konukçu doku içerisindeki stiletli bir kılıf gibi saran bu yapılar, nematodun beslenmesi sırasında moleküler bir elek gibi sadece belli büyüklükteki moleküllerin geçişine izin verirler (Davis ve ark., 2004; Berg ve ark., 2009). Bu yapı sayesinde belki de nematodlar kendileri için zararlı olabilecek moleküllerin alımını engellemiş olurlar.

Dev Hücre Oluşumu

Kök-ur nematodlarında parazitizm sonucunda oluşan, nematodun gelişimi ve üremesi için gerekli besin ihtiyacını sağlayan özel beslenme hücrelerine “dev hücre” denilmektedir (Bird, 1996; Şekil 3). Vasküler silindirdeki 2. dönem larvaların, kök dokusunda oluşturdukları dev hücreler çok sayıda çekirdek ihtiva eder. Tam bir farklılaşma göstermiş olan bir dev hücre, 100’den fazla polyploid çekirdek içerebilir. Dev hücreler, vasküler bir kök hücresinden, 400 kat daha fazla büyümüş olabilir. Ayrıca, dev hücrelerdeki sitoplazma yoğunluğunda da artış meydana gelir. Yoğun sitoplazma, iyi gelişmiş bir golgi aygıtı ve pürüzsüz bir endoplazmik retikulum (normalde sarmal olarak) ile çok sayıda mitokondri, plastid ve ribozom içerir. Dev hücrelerinin diğer karakteristik özelliği ise hücre duvarının transfer hücreler gibi içeri doğru gelişmiş olmasıdır. Ksilem elementleri ile bağlantılı olan içeriye doğru gelişmiş hücre duvarları, muhtemelen vasküler sistemden çözünmüş madde alımını sağlar. Dev hücreler, kök-ur nematodunun kalıcı dönemleri için temel besin kaynağıdır (Berg ve ark., 2009; Abad ve ark., 2009).

Dev hücrelerin başlangıcının ilk göstergelerinden biri, çift çekirdekli vasküler hücrelerin oluşumudur. İlk seçilen hücreler, önemli derecede genişler ve hücre bölünmesi olmaksızın senkronize bir şekilde tekrarlanan çekirdek bölünmesi sonucunda çok çekirdekli olurlar. Hücre döngüsünün bir parçası olan mitoz bölünmenin son safhasında (telofaz), bitkilerde hücreyi ikiye ayırmaya yarayan bir hücre tabakası (fragmoplast) gelişir. Çekirdek bölünmesinden sonra iki çekirdek arasında oluşan fragmoplast, hücreler arasındaki sitoplazmayı da birbirinden ayırır. Gelişmekte olan dev hücrelerde ise fragmoplast gelişimi durdurulmuş olup yeni hücre plaka yapıları oluşur. Bu yapılar, dev hücrelerde küçük hücre plaka (mini cell plate) yapıları olarak adlandırılır (Şekil 3; Caillaud ve ark., 2008).

Konukçu bitki hücresini öldürmeden, nematod için gerekli beslenme hücrelerinin nasıl oluştuğu henüz tam olarak anlaşılamamıştır (Lozano ve Smant, 2011). Fakat nematod salgılarının konukçu hücreleri doğrudan etkilediğine inanılmaktadır (Fuller ve ark., 2008). Çünkü kök-ur nematodları binlerce bitki türünde benzer şekillerde dev hücre oluşumuna neden olmaktadır. Muhtemelen konukçunun yapısal fonksiyonlarını kendi yararlarına olacak şekilde kullanmaktadır (Lozano ve Smant, 2011). Dev hücrelerde, konukçu ile nematod arasındaki iletişimin sürekli olarak devam ettiği düşünülmektedir. Çünkü dev hücrelerden nematodlar uzaklaştırıldığında, dev hücre yapısının bozulduğu belirlenmiştir. Dev hücrelerin oluşturulması ve devam ettirilmesi için gerekli olan bitki genlerinin belirlenmesi, nematod tarafından kök gelişiminin nasıl değiştirildiğini de anlamamıza önemli katkı sağlayacaktır (Abad ve ark., 2009; Gheysen ve Fenoll, 2002).



Şekil 3 *Arabidopsis thaliana* kökünde *Meloidogyne incognita*'nın neden olduğu dev hücreler. *: dev hücreler, N: nematod, nu: çekirdek, ↑: küçük hücre plakası. (bar: 20µm) (Abad ve ark., 2009)

Sağlıklı ve bulaşık bitkilerdeki gen ifadelerinin kıyaslanarak farklılığın belirlenmesine dayanan moleküler uygulamalar geliştirilmiştir (Bird ve Wilson, 1994; Wang ve ark., 2003). cDNA kütüphaneleri oluşturularak, gen ifadeleri arasındaki farklılıklar araştırılmıştır. Promotör-GUS fusion yöntemi, *in situ* hibridizasyonu veya RT-PCR (reverse transcription-PCR) ve promotör tuzak stratejilerine (promotörsüz GUS yapılarının bitki genomuna tesadüfi olarak sokulması) dayanan yöntemlerle, dev hücrelerdeki gen ifadeleri araştırılmaya başlanmıştır (Jammes ve ark., 2005). Örneğin, GUS ifadesi için 20.000 T-DNA (bakteriyel plasmidle transfer edilen DNA)-işaretli *Arabidopsis* hattı *M. incognita* ile enfekte edildikten sonra incelenmiş ve ur içerisinde GUS ifadesi gösteren yaklaşık 200 hat belirlenmiştir (Abad ve ark., 2003; Favery ve ark., 2004). Bu hatlardaki GUS ifadesi sağlıklı hücrelerde de belirlenmiştir. Bu sonuçlar, nematodun gelişmesine izin veren beslenme hücrelerinin oluşması için bitki fonksiyonlarının kullanıldığı hipotezini desteklemektedir (Abad ve ark., 2009).

Dev hücre oluşumu süresince değişik görevlere sahip proteinleri kodlayan genlerin ifadeleri analiz edilmeye devam edilmektedir (Bellafiore ve Briggs, 2010). Genellikle nematod enfeksiyonundan sonra, genlerin ifadesinde artış görülmeye başlanmıştır. Bu genler, bitki gelişiminde anahtar rol oynamaktadırlar. Hücre döngüsü ve sitoskeleton yapısının düzenlenmesi, hücre duvarı modifikasyonu, hormon ve savunma tepkileri ile genel metabolizmada farklılaşmış ifadeler gösteren genler, dev hücre oluşumu sürecinde belirlenmiştir (Abad ve ark., 2009).

Baklagillerde *Rhizobium* bakterileri vasıtasıyla azot fiksasyonu yapan nodüller oluşturulmaktadır. Bazı araştırmacılar, kök-ur ve rhizobium-nodüllerin oluşumunda ortak fonksiyonların kullanıldığını ifade etmişlerdir (Koltai ve ark., 2001; Favery ve ark., 2002; Boisson-Dernier ve ark., 2005). Nodül oluşumunda ifadesi görülen gen *ENOD40*, kök-ur nematodu enfeksiyonu sonucunda gelişen dev hücrelerin etrafındaki dokularda gen ifadesi göstermiştir (Favery ve ark., 2002). Fakat olgunlaşmış nodüller ile dev hücreler arasındaki 192 genin ifadesi kıyaslandığında, çok az sayıda transkriptik benzerlik ortaya çıkmıştır. Bu durum şaşırtıcı değildir. Çünkü bu hücreler anatomi ve fonksiyon olarak birbirlerinden çok farklıdır (Bird, 2004).

Sonuç

Kök-ur nematodlarının konukçuları ile olan ilişkileri, konukçularına özelleşmiş, obligat parazitizmin en belirgin göstergesi olarak son derece gelişmiştir. Konu üzerinde yapılan çalışmalarda oldukça fazladır. Bu çalışmalar sayesinde dünyada ve ülkemizde son derece önemli zarara neden olan kök-ur nematodlarının konukçuları ile olan yaşam serüvenleri daha iyi anlaşılmalı ve zararlarının mücadelesinde yardımcı olabilecek zayıf noktalar keşfedilerek, yeni uygulamaların ve yöntemlerin araştırılması için gerekli bilgi birikimi sağlanmaktadır. Bu derlemede özellikle ağırlık olarak nematodun bitki ile olan parazitizm süreci üzerine yoğunlaşmış olup, nematodun yumurta döneminden parazitizm dönemine kadar olan süreç üzerinde durulmamıştır. Şüphesiz ki

mücadele açısından düşünüldüğünde, parazitizm öncesi dönem diye adlandırabileceğimiz bu dönemdeki nematod-konukçu iletişimde rol oynayan etmenler ve davranışlar da son derece önemlidir. Fakat derlememizde, nematodun konukçuya penetrasyonu ile başlayan parazitizm davranışı ve buna konukçunun gösterdiği savunma tepkilerinin daha iyi anlaşılması hedeflendiği için parazitizm öncesi döneme ait bilgiler verilmemiştir. Özellikle kök-ur nematodlarında mücadelede önemli bir yere sahip olan ve gittikçe de önemi artan bir konu olan konukçu bitki dayanıklılığı, konukçu ile nematod arasındaki parazitizm dönemindeki olaylar ışığında gerçekleşmektedir.

Parazitizm sürecinde, konukçu ile nematod arasındaki ilişkide rol oynayan nematod moleküllerinin potansiyel orijini, boşaltım-salgı delikleri, anal ve üreme açıklıkları, kemosenör organlar ve oral açıklık gibi doğal açıklıklardır. Nematodun beslenmesi için gerekli olan konukçu bitki hücrelerinin modifikasyonu, nematodun anterior kısımda görüldüğünden dolayı, stylet ve amhidlerden salgılanan moleküller, bitkinin parazitizm için uyum sağlamasında doğrudan rol oynayan önemli organlar olarak görülür (Hussey, 1989). Kök-ur nematodlarında bulunan 3 büyük esophageal bez hücresi (1 dorsal, 2 subventral) bir valf aracılığıyla esophageal lümen ve stiletle bağlantılıdır. Parazitizm süresince, bu bezlerin morfolojisi, içeriği ve aktivitesi değişmektedir (Davis ve ark., 2000; Curtis, 2007). Bu nematodların göç edici dönemlerinde subventral bez hücrelerinin aktivitesi fazla olmasına rağmen, bundan sonraki kalıcı dönemlerde dorsal bez hücresinin aktivitesi baskın hale gelmektedir (Hussey, 1989). Bununla birlikte, subventral bezler tarafından üretilen proteinlerin, nematodun kalıcı dönemlerinde bile görüldüğünü gösteren bazı istisnai durumlar bildirilmiştir (Baum ve ark., 2007). Esophageal bez hücrelerinde gen ifadesi gösteren parazitizm genlerinden salgılanan proteinler ile ilgili yoğun çalışmalar devam etmektedir.

Son yıllarda tamamlanan *M. incognita* ve *M. hapla*'ya ait genom sekansları, bu ilişkide rol oynaması muhtemel olan genlerin kıyaslanmasına ve önemli bazı bilgilerin elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Çünkü bu iki tür özellikle sitolojik ve üreme farklılıklarının yanı sıra konukçu dizisi, hastalık fenotipi ve coğrafik dağılım açısından önemli farklılıklara sahiptir (Bird ve ark., 2009). Bu iki türün genomuna ait kıyaslamalı analizler, aralarındaki farklılıklara önemli ışık tutacak ve mücadelede yeni uygulamaların planlanmasına yardımcı olabilecektir. Ayrıca, daha önce genom sekansı tamamlanan ve model organizma olarak bilinen *Caenorhabditis elegans*'ın yaşamının bütün evrelerinde ne gibi değişikliklerden geçtiği izlenebilmekte ve vücudundaki 959 hücrenin her birinin yaşam serüveni bilinmektedir (Karaçay, 2009). Bu nematod ile ilgili çalışmalar, parazit nematodlarla ilgili yapılacak çalışmalara yol göstericidir. Özellikle parazit nematodlarda görülen biyokimyasal ve gelişimsel süreçler hakkında elde edilen bilgiler, referans olarak kullanılacak olan *C. elegans* ile kıyaslanabilmektedir (Abad ve ark., 2008). Elde edilen bu bilgiler, parazit nematodların evrimleşme süreci hakkında da fikir verebilir (Bird ve ark., 1999). *C. elegans*'ın her bir genin

işlevini anlamak için RNAi (RNA interferans) tekniği kullanılmış ve hedef alınan genler susturularak işlevlerinin ne olduğu belirlenmeye başlanmıştır (Davis ve ark., 2008). Bugün bu teknik, kök-ur nematodlarının konukçusu ile olan ilişkisinde rol oynayan genlerin ve bu genlerin fonksiyonları hakkındaki bilgilerin elde edilmesinde de kullanılmaktadır. Fakat bu tekniğin kullanılmasını sınırlandıran bazı durumlar ortaya çıkabilmektedir. Örneğin, kök-ur nematodlarının bazı gen fonksiyonlarını öğrenmek için dsRNA (çift sarmal RNA) moleküllerinin bulunduğu ortama 2. dönem larvalar bırakılmıştır. Fakat larvaların bu dsRNA'ları alabilmesi için, mutlaka beslenmesi gerekmiştir. Dolayısıyla, bu durum laboratuvar şartlarında RNAi kullanımını sınırlandırmaktadır. Çift sarmal RNA moleküllerinin nematod tarafından alınımı sağlamak için beslenmeyi uyarıcı bazı yardımcıların kullanılması ya da bu parçacıkları üretebilen transgenik bitkilerin oluşturulması gereklidir (Rosso ve ark., 2005; 2009; Abad ve ark., 2009).

RNAi tekniği ve model bitki türlerinin kullanımıyla nematod-bitki interaksyonunda rol oynadığı düşünülen aday parazitizm genlerinin doğrulanması, bu ilişkide rol alan mekanizmanın anlaşılmasına yardımcı olacaktır. Böylece nematod ve konukçu bitki arasındaki kompleks ve özel ilişkinin daha iyi anlaşılmasıyla nematod ile mücadelede kullanılabilecek veriler de elde edilmiş olabilecektir.

Kaynaklar

- Abad P, Farevy B, Rosso M-N, Castagnone-Sereno P. 2003. Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. *Mol. Plant. Pathol.*, 4: 217-224.
- Abad P, Gouzy J, Aury J-M, Castagnone-Sereno P, Danchin EGJ, Deleury E, Perfus-Barbeoch L, Anthouard V, Artiguenave F, Blok VC, Caillaud M-C, Coutinho PM, Dasilva C, Luca FD, Deau F, Esquibet M, Flutre T, Goldstone JV, Hamamouch N, Hewezi T, Jaillon O, Jubin C, Leonetti P, Magliano M, Maier TR, Markov GV, McVeigh P, Pesole G, Poulain J, Robinson-Rechavi M, Sallet E, Segurens B, Steinbach D, Tytgat T, Ugarte E, van Ghelder C, Veronico P, Baum TJ, Blaxter M, Blevé-Zacheo T, Davis EL, Ewbank JJ, Favery B, Grenier E, Henriessat B, Jones JT, Laudet V, Maule AG, Quesneville H, Rosso M-N, Schiex T, Smant G, Weissenbach J, Wincker P. 2008. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. *Nat. Biotechnol.*, 26: 909-915.
- Abad P, Castagnone-Sereno P, Rosso M-N, Engler JA, Farvery B. 2009. Invasion, feeding and development. In: Perry RN, Moens M, Starr JL. *Root-Knot Nematodes*. Oxfordshire, UK. pp: 163-181.
- Adam MAM, Phillips MS, Jones JT, Blok VC. 2008. Characterisation of the cellulose-binding protein Mj-cbp-1 of the root knot nematode, *Meloidogyne javanica*. *Physiol. Mol. Plant P.*, 72: 21-28.
- Adam MAM, Phillips MA, Tzortzakakis EA, Blok VC. 2009. Characterisation of mjap genes encoding novel secreted proteins from the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*. *Nematology*, 11: 255-267.
- Baldwin JG, Nadler SA, Adams BJ. 2004. Evolution of plant parasitism among nematodes. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 42: 83-105.
- Baum TJ, Hussey RS, Davis EL. 2007. Root-knot and cyst nematode parasitism genes: the molecular basis of plant parasitism. *Genet. Eng.*, 28: 17-43.
- Bellafiore S, Shen Z, Rosso M-N, Abad P, Shih P, Briggs SP. 2008. Direct identification of the *Meloidogyne incognita* secretome reveals proteins with host cell reprogramming potential. *PLoS Pathog* 4: e1000192. doi: 10.1371/journal.ppat.1000192.
- Bellafiore S, Briggs SP. 2010. Nematode effectors and plant responses to infection. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 13: 442-448.
- Berg RH, Fester T, Taylor CG. 2009. Development of the root-knot nematode feeding cell. In: Berg RH, Taylor CG. *Cell Biology of Plant Nematode Parasitism*. Plant Cell Monographs Vol. 15, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp: 115-152.
- Bird DM, Wilson MA. 1994. DNA sequence and expression analysis of root-knot nematode-elicited giant cell transcripts. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 7: 419-424.
- Bird DM. 1996. Manipulation of host gene expression by root-knot nematodes. *J. Parasitol.*, 82: 881-888.
- Bird DM, Opperman CH, Jones SJM, Baillie DL. 1999. The *Caenorhabditis elegans* genome: a guide in the post genomics age. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 37: 247-265.
- Bird DM, Kaloshian I. 2003. Are roots special? Nematodes have their say. *Physiol. Mol. Plant P.*, 62: 115-123.
- Bird DM. 2004. Signaling between nematodes and plants. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 7: 372-376.
- Bird DM, Williamson VM, Abad P, McCarter J, Danchin EGJ, Castagnone-Sereno P, Opperman CH. 2009. The genomes of root-knot nematodes. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 47: 333-351.
- Blok VC, Jones JT, Phillips MS, Trudgill DL. 2008. Parasitism genes and host range disparities in biotrophic nematodes: the conundrum of polyphagy versus specialisation. *BioEssays*, 30: 249-259.
- Boisson-Dernier A, Andriankaja A, Chabaud M, Niebel A, Journet EP, Barker DG, de Carvalho-Niebel F. 2005. *MtENOD11* gene activation during rhizobial infection and mycorrhizal arbuscule development requires a common AT-rich-containing regulatory sequence. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 18: 1269-1276.
- Caillaud MC, Lecomte P, Jammes F, Quentin M, Pagnotta S, Andrio E, de Almeida-Engler J, Marfaing N, Gounon P, Abad P, Favery B. 2008. MAP65-3 microtubule-associated protein is essential for nematode-induced giant cell ontogenesis in Arabidopsis. *Plant Cell*, 20: 423-437.
- Curtis RHC. 2007. Plant parasitic nematode proteins and host-parasite interaction. *Briefings in Functional Genomics and Proteomics*, 6: 50-58.
- Das S, DeMason DA, Ehlers JD, Close TJ, Roberts PA. 2008. Histological characterization of root-knot nematode resistance in cowpea and its relation to reactive oxygen species modulation. *J. Exp. Bot.*, 59: 1305-1313.
- Davis EL, Hussey RS, Baum TJ, Bakker J, Schots A, Rosso M-N, Abad P. 2000. Nematode parasitism genes. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 38: 365-396.
- Davis EL, Hussey RS, Baum TJ. 2004. Getting to the roots of parasitism by nematodes. *Trends Parasitol.*, 20: 134-141.
- Davis EL, Hussey RS, Mitchum MG, Baum TJ. 2008. Parasitism proteins in nematode-plant interactions. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 11: 360-366.
- Davis EL, Hussey RS, Baum TJ. 2009. Parasitism genes: what they reveal about parasitism. In: Berg RH, Taylor CG, *Cell Biology of Plant Nematode Parasitism*. Plant Cell Monographs, Vol. 15, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp: 15-43.
- Davis E, Haegeman A, Kikuchi T. 2011. Degradation of the plant cell wall by nematodes. In: Jones J, Gheysen G, Fenoll C, *Genomics and Molecular Genetics of Plant-Nematode Interactions*. Berlin, Springer, pp: 255-272.

- Ding X, Shields J, Allen R, Hussey RS. 1998. A secretory cellulose-binding protein cDNA cloned from the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). *Mol. Plant Microbe Interact.*, 11: 952-959.
- Ding X, Shields J, Allen R, Hussey RS. 2000. Molecular cloning and characterisation of a venom allergen AG5-like cDNA from *Meloidogyne incognita*. *Int. J. Parasitol.*, 30: 77-81.
- Doyle EA, Lambert KN. 2002. Cloning and characterization of an esophageal-gland-specific pectate lyase from the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 15: 549-556.
- Dubreuil G, Magliano M, Deleury E, Abad P, Rosso MN. 2007. Transcriptome analysis of root-knot nematode functions induced in the early stages of parasitism. *New Phytol.*, 176: 426-436.
- Er M, Yb N. 2012. Strategies used by plant parasitic nematodes to conquer the host. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 14: 1848-1854.
- Favery B, Complaineville A, Vinardell JM, Lecomte P, Vaubert D, Mergaert P, Kondorosi A, Kondorosi E, Crespi M, Abad P. 2002. The endosymbiosis-induced genes ENOD40 and CCS52a are involved in endoparasitic-nematode interaction in *Medicago truncatula*. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 15: 1008-1013.
- Favery B, Chelysheva LA, Lebris M, Jammes F, Marmagne A, de Almeida Engler J, Lecomte P, Vaury C, Arkowitz RA, Abad P. 2004. Arabidopsis formin AtFH6 is a plasma membrane associated protein upregulated in giant cells induced by parasitic nematodes. *Plant Cell*, 16: 2529-2540.
- Fuller VL, Lilley CJ, Urwin PE. 2008. Nematode resistance. *New Phytol.*, 180: 27-44.
- Gao BL, Allen R, Maier T, Davis EL, Baum TJ, Hussey RS. 2002. Identification of a New β -1,4-endoglucanase Gene Expressed in the esophageal subventral gland cells of *Heterodera glycines*. *J of Nematol.*, 34: 12-15.
- Gao BL, Allen R, Maier T, Davis EL, Baum TJ, Hussey RS. 2003. The parasitome of the phytonematode *Heterodera glycines*. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 16: 720-726.
- Gheysen G, Fenoll C. 2002. Gene expression in nematode feeding sites. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 40: 191-219.
- Gleason CA, Liu QL, Williamson VM. 2008. Silencing a candidate nematode effector gene corresponding to the tomato resistance gene Mi-1 leads to acquisition of virulence. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 21: 576-585.
- Goellner M, Smant G, de Boer JM, Baum TJ, Davis EL. 2000. Isolation of beta-1,4-endoglucanase genes *Globodera tabacum* and their expression during parasitism. *J. Nematol.*, 32: 154-165.
- Haegeman A, Mantelin S, Jones JT, Gheysen G. 2012. Functional roles of effectors of plant-parasitic nematodes. *Gene*, 492, 19-31.
- Huang G, Gao B, Maier T, Allen R, Davis EL, Baum TJ, Hussey RS. 2003. A profile of putative parasitism genes expressed in the esophageal gland cells of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 16: 376-381.
- Huang G, Dong R, Maier T, Allen R, Davis EL, Baum TJ, Hussey RS. 2004. Use of solid-phase subtractive hybridization for the identification of parasitism gene candidates from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 5: 217-222.
- Huang G, Dong R, Allen R, Davis EL, Baum TJ, Hussey RS. 2005a. Developmental expression and molecular analysis of two *Meloidogyne incognita* pectate lyase genes. *Int. J. Parasitol.*, 35: 685-692.
- Huang G, Dong R, Allen R, Davis EL, Baum TJ, Hussey RS. 2005b. Two chorismate mutase genes from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Mol. Plant Pathol.* 6(1): 23-30.
- Huang G, Dong R, Allen R, Davis EL, Baum TJ, Hussey RS. 2006a. A root-knot nematode secretory peptide functions as a ligand for a plant transcription factor. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 19: 463-470.
- Huang G, Dong R, Allen R, Davis EL, Baum TJ, Hussey RS. 2006b. Engineering broad root-knot resistance in transgenic plants by RNAi silencing of a conserved and essential root-knot nematode parasitism gene. *PNAS*, 103: 14302-14306.
- Hussey RS. 1985. Host-parasite relationships and associated physiological changes. In: Sasser JN, Carter CC. An advanced treatise on *Meloidogyne*, Vol. I. Biology and control. Raleigh, North Carolina State University Graphics. pp: 143-153.
- Hussey RS. 1989. Disease-inducing secretions of plant-parasitic nematodes. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 27: 123-141.
- Jammes F, Lecomte P, Almeida-Engler J, Bitton F, Magniette M-L, Renou JP, Abad P, Favery B. 2005. Genome-wide expression profiling of the host response to root-knot nematode infection in Arabidopsis. *Plant J.*, 44: 447-458.
- Jaubert S, Ledger TN, Laffaire JB, Piote C, Abad P, Rosso MN. 2002. Direct identification of stylet secreted proteins from root-knot nematodes by a proteomic approach. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 121: 205-211.
- Jaubert S, Laffaire J-B, Ledger TN, Escoubas P, Amric E.-Z, Abad P, Rosso MN. 2004. Comparative analysis of two 14-3-3 homologues and their expression pattern in the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Int. J. Parasitol.*, 34: 873-880.
- Jaubert S, Milac AL, Petrescu AJ, de Almeida-Engler J, Abad P, Rosso MN. 2005. In planta secretion of a calreticulin by migratory and sedentary stages of root-knot nematode. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 18: 1277-1284.
- Jones JT, Furlanetto C, Bakker E, Banks B, Blok V, Chen Q, Phillips M, Prior A. 2003. Characterisation of a chorismate mutase from the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Mol. Plant Pathol.*, 4: 43-50.
- Karaçay, B. 2009. RNAi. TÜBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi, 501: 62-67.
- Karssen G, Moens M. 2006. Root-knot nematodes. In: Perry RN, Moens M. *Plant Nematology*. Wallingford, UK. CABI, pp: 59-90.
- Klink VP, Kim K-H, Martins V, MacDonald MH, Beard HS, Alkharouf NW, Lee S-K, Park S-C, Matthews BF. 2009. A correlation between host-mediated expression of parasite genes as tandem inverted repeats and abrogation of development of female *Heterodera glycines* cyst formation during infection of *Glycine max*. *Planta*, 230: 53-71.
- Koltai H, Dhandaydham M, Opperman C, Thomas J, Bird D. 2001. Overlapping plant signal transduction pathways induced by a parasitic nematode and a rhizobial endosymbiont. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 14: 1168-1177.
- Lambert KN, Allen KD, Sussex IM. 1999. Cloning and characterization of an esophageal gland specific chorismate mutase from the phytoparasitic nematode *Meloidogyne javanica*. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 12: 328-335.
- Ledger TN, Jaubert S, Bosselut N, Abad P, Rosso MN. 2006. Characterization of a new β -1,4-endoglucanase gene from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and evolutionary scheme for phytonematode family 5 glycosyl hydrolases. *Gene*, 382: 121-128.
- Liu D, Chen L, Duan Y. 2011. Molecular cloning and phylogenetic analysis of two plant-parasitic nematode 14-3-3 genes. *J. Agri. Sci.*, 3: 86-94.
- Lozano J, Smant G. 2011. Survival of plant-parasitic nematodes inside the host. In: Perry RN, Whartson DA. *Molecular and Physiological Basis of Nematode Survival*. Wallingford, UK, CABI. pp: 28-65.

- Melillo MT, Leonetti P, Bongiovanni M, Castagnone-Sereno P, Bleve-Zacheo T. 2006. Modulation of reactive oxygen species activities and H₂O₂ accumulation during compatible and incompatible tomato-root-knot nematode interactions. *New Phytol.*, 170: 501-512.
- Mitrevna M, Blaxter ML, Bird DM, McCarter JP. 2005. Comparative genomics of nematodes. *Trends Genet.*, 21: 573-581.
- Molinari S, Miacola C. 1997. Antioxidant enzymes in phytoparasitic nematodes. *J. Nematol.*, 29: 153-159.
- Orion D, Loots GC, Orion T. 1987. Cell lysis activity of *Meloidogyne* gelatinous matrix. *Revue Nematol.*, 10: 463-465.
- Orion D, Kritzman G. 1991. Antimicrobial activity of *Meloidogyne javanica* gelatinous matrix. *Revue Nematol.*, 14: 481-483.
- Papert A, Kok CJ. 2000. Size and community metabolic profile of the bacterial population of *Meloidogyne hapla* egg masses. *Nematology*, 2: 581-584.
- Perry R. 1996. Chemoreception in plant-parasitic nematodes. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 34: 181-199.
- Rosso M-N, Favery B, Piotte C, Arthaud L, De Boer JM, Hussey RS, Bakker J, Baum TJ, Abad P. 1999. Isolation of a cDNA encoding a β -1,4-endoglucanase in the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and expression analysis during plant parasitism. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 12: 585-591.
- Rosso M-N, Dubrana MP, Cimbolini N, Jaubert S, Abad P. 2005. Application of RNA interference to root-knot nematode genes encoding esophageal gland proteins. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 18: 615-620.
- Rosso M-N, Jones JT, Abad P. 2009. RNAi and functional genomics in plant parasitic nematodes. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 47: 207-232.
- Rosso M-N, Vieira P, de Almeida-Engler J, Castagnone-Sereno P. 2011. Proteins secreted by root-knot nematodes accumulate in the extracellular compartment during root infection. *Plant Signal. Behav.*, 6: 1232-1234.
- Semblat JP, Rosso MN, Hussey RS, Abad P, Castagnone-Sereno P. 2001. Molecular cloning of a cDNA encoding an amphid-secreted putative avirulence protein from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 14: 72-79.
- Smant G, Stokkermans JPWG, Yan Y, De Boer JM, Baum TJ, Wang X, Hussey RS, Gommers FJ, Henrissat B, Davis EL, Helder J, Schots A, Bakker J. 1998. Endogenous cellulases in animals: Isolation of b-1,4-endoglucanase genes from two species of plant-parasitic cyst nematodes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 95: 4906-4911.
- Vanholme B, de Meutter J, Tytgat T, Van Montagu M, Coomans A, Gheysen G. 2004. Secretions of plant-parasitic nematodes: a molecular update. *Gene*, 332: 13-27.
- Vieira P, Danchin EGJ, Neveu C, Crozat C, Jaubert S, Hussey RS, Engler G, Abad P, Engler JA, Castagnone-Sereno P, Rosso M-N. 2011. The plant apoplast is an important recipient compartment for nematode secreted proteins. *J. Exp. Bot.*, 62: 1241-1253.
- Wang Z, Potter RH, Jones MGK. 2003. Differential display analysis of gene expression in the cytoplasm of giant cells induced in tomato roots by *Meloidogyne javanica*. *Mol. Plant Pathol.* 4: 361-371.
- Wang X, Li H, Hu Y, Fu P, Xu J. 2007. Molecular cloning and analysis of a new venom allergen-like protein gene from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Exp. Parasitol.*, 117: 133-140.
- Watanabe H, Tokuda G. 2001. Animal cellulases. *Cell. Mol. Life Sci.*, 58: 1167-1178.
- Williamson VM, Hussey RS. 1996. Nematode pathogenesis and resistance in plants. *The Plant Cell*, 8: 1735-1745.
- Williamson VM, Gleason CA. 2003. Plant-nematode interactions. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 6: 327-333.