Türk. entomol. bült, 2016, 6 (4): 291-299
ISSN 2146-975X
DOI: http://dx.doi.org/10.16969/teb.22168 E-ISSN 2536-4928

Derleme (Review)

Nematod parazitizm enzimleri ve fonksiyonları

Nematode parasitism enzymes and their functions

İbrahim MISTANOĞLU[1] Zübeyir DEVRAN[1]*

Summary

Plant parasitic nematodes are important agricultural pest groups. They establish parasitic interaction with their host during feeding period. The secretions called parasitism enzymes produced by nematodes play an important role in host-nematode interaction. The secretions have many properties such as degradation of plant cell wall, cellular metabolism and transport, cellular regulations and targeting, and mitigating host response. Recently, researches focus on functions of the enzymes produced by nematodes for plant- nematode interaction in the cellular and molecular level. The aim of the article is to give information about important nematode parasitism enzymes and their secretion locations.

Keywords: Enzyme, plant-parasitic nematode, parasitism

Özet

Bitki parazit nematodlar, önemli tarımsal zararlı gruplarındandır. Beslenme sürecinde konukçularıyla parazitik etkileşim içerisine girmektedirler. Bu etkileşimin gerçekleşmesinde özellikle nematodlar tarafından üretilen enzim olarak adlandırılan salgılar görev yapmaktadır. Bu salgılar; bitki hücre duvarlarının parçalanması, hücresel metabolizma-taşınma, hücresel düzenleme-hedefleme ve konukçu tepkisinin azaltılması gibi çok farklı özelliklere sahiptir. Son yıllarda araştırmalar, hücresel ve moleküler düzeyde bitki-nematod interaksiyonlarını için nematodlar tarafından üretilen enzimlerin fonksiyonları üzerine odaklanılmıştır. Bu derlemenin amacı, önemli nematod parazitizm enzimleri ve bunların üretim yerleri hakkında bilgi vermektir.

Anahtar sözcükler: Enzim, bitki parazit nematod, parazitizm

[1] Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Kampüs, 07058, Konyaaltı, Antalya
* Sorumlu yazar (Corresponding author) email: zdevran@akdeniz.edu.tr
Alınış (Received): 04.01.2016 Kabul ediliş (Accepted):04.02.2016 Çevrimiçi Yayın Tarihi (Published Online):26.12.2016

Giriş

Bitki parazit nematodları, zorunlu (obligat) organizmalar olup, günümüze kadar 4 100 türü tanımlanmıştır (Decraemer & Hunt, 2006). Nematodlar, dünya genelinde tarımsal ürünlerde ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Ürün miktarı ve kalitesi üzerinde gerçekleşen bu kaybın, yıllık ortalama %12,3 olduğu bildirilmektedir (Sasser & Freckman, 1987). Bu oran, bitkinin türüne, dönemine ve nematodun popülasyon yoğunluğuna bağlı olarak %100'e ulaşabilmektedir.

Bitki paraziti nematodlarda, beslenme stratejilerine bağlı olarak çok farklı parazitizm ilişkileri görülmektedir. Bazı türler, konukçuları üzerinde basit bir beslenme ilişkisi kurarken, özellikle *Meloidogyne* spp., *Heterodera* spp. ve *Globodera* spp. cinslere ait türler ise konukçularıyla daha özel bir parazitik ilişki içerisine girebilmektedir. Bitki parazit nematodlar temel olarak üç farklı beslenme tipine sahiptirler. Ektoparazitik nematodlar, bitki hücre sitoplazmasından beslenmek için, epidermis hücre duvarlarını stiletleri (stylet) yardımıyla delmek zorundadırlar. Endoparazitik nematodlar, korteks ve iletim demetlerinde beslenmektedir ve bunların birçoğu iletim demetlerine yakın bir yerde beslenme bölgesi oluşturmak için perisaykıla (pericycle) ulaşmak zorundadırlar. Bunlar bitki hücresi içinde kalıcı ve göç edici olarak da bulunurlar ve bazı kalıcı türler özel beslenme hücresi oluştururlar. Yarı endoparazitik türler ise, sadece baş kısımları kök içine girmekte ve diğer kısımları ise kök dışında kalmaktadır. Bunlar bitkilerin korteks hücrelerinde beslenirler (Sijmons et. al.,1994; Decraemer & Hunt, 2006).

Bitki parazit nematodlar ile konukçuları arasında beslenme ilişkisinin kurulması sırasında kullanılan en önemli yapı, Stilet (iğne) olarak adlandırılmaktadır. Stilet, uzatılabilir özellikte olup bitki dokularının mekaniksel olarak parçalanmasında, özofagus bezleri tarafından üretilen salgıların iletiminde ve konukçu dokularından besin alınımında kullanılmaktadır. Belirtilen salgılar, bir dorsal ve iki subventral olmak üzere üç özofagus (oesophagus) bez hücresi tarafından sağlanmaktadır (Davis et. al., 2000). Salgılar, nematodların bitki içerisine girişleri, dokular içerisindeki hareketleri, beslenme hücrelerinin oluşturulması ve konukçu hücre yapılarının sindirilerek nematod için uygun hale getirilmesine kadar birçok görevde rol alabilmektedir (Hussey, 1989; Hussey & Mims, 1991; Gheysen & Jones, 2006). Bu derlemede, bitki paraziti nematodların farklı biyolojik dönemlerinde üretmiş oldukları bazı önemli enzimler ve bu enzimlerin görevleri hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Bitki parazit nematodlarının salgı merkezleri

Bitki parazit nematodları, yaşamları süresince farklı organları vasıtasıyla değişik salgılar üretmektedirler. Salgıların üretiminde rol alan bu yapılar; Özofagus bezleri (Dorsal ve Subventral glands), kutikula (cuticula), amfidler (amphids), rektal bezler (rectal glands) ve bez hücreleri (glandular), kanal şeklindeki hücreler (tubulo glandular) ile açıklıktan (S/E pore) oluşan Boşaltım/Salgı Sistemi (Excretory/secretory system) oluşmaktadır. Bu yapıların özellikle nematodların parazitik dönemlerine uyum sağlamak amacıyla fonksiyonları değişebilmektedir (Jones et. al., 1994).

Parazitizm ilişkisi açısından en önemli salgılar, özofagus salgı bezleri tarafından üretilmektedir. Parazitizmin erken dönemlerinde etkili olan subventral bezler ve ilerleyen dönemlerinde etkili olan dorsal bezler, ürettikleri salgıları vasıtasıyla infeksiyonda ve konukçu beslenme hücrelerinin oluşumunda önemli bir role sahiptir (Williamson & Gleason, 2003). Bu salgı bezleri yanında, nematodların başka yapılarından da önemli salgılar üretilmektedir. Nematodu çevresel etkilere karşı koruyan en önemli yapı vücudunun dış yüzeyini kaplayan kutikula tabakasıdır. Bu tabaka; epikütila, kortikal bölge (cortical zone), median bölge (median zone) ve basal bölge (basal zone) olmak üzere dört farklı kısımdan oluşmaktadır (Decraemer & Hunt, 2006). Kutikula, nematodun biyolojik dönemi boyunca yüzey antijenlerinin sürekli olarak üretimini gerçekleştiren dinamik bir yapıya sahiptir. Örneğin, *Globodera rostochiensis* Wollenweber, (Tylenchida: Heteroderidae) üzerinde yürütülen bir çalışma sonucunda söz konusu nematodun bitki ile etkileşimi esnasında bitki tarafından oksidatif stres tepkisi olarak salgılanan hidrojen peroksitin nematodun epidermisinden üretilen peroxiredoxin tarafından etkisiz hale getirildiği tespit edilmiştir. (Robertson et. al., 2000; Waetzig et. al., 1999). Bir diğer çalışmada, *Globodera pallida* Stone, 1973 (Tylenchida: Heteroderidae)'nın epidermisinden salgılanan yağ asidi ve retinol bağlanma proteinleri (fatty acid ve retinolbinding proteins, FAR)'de benzer şekilde fonksiyon göstererek konukçu savunma mekanizmasına karşı nematodların korunmasında görev aldıkları belirlenmiştir (Prior et. al., 2001). Amfidler,

nematodun baş kısmında çift olarak bulunan kimyasal algı organlarıdır. Bunun yanında ısı ve mekanik algı organı olarak da görev yapmaktadırlar. Amfidlerin, konukçu-parazit ilişkilerinin erken dönemlerinde görev aldıkları tespit edilmiştir (Fioretti et. al., 2002; Robinson & Perry, 2006). Excretory/secretory sistem, kutikulanın üzerini kaplayan, glikokaliksin yapısında bulunan protein ve glikoproteinlerin üretimini gerçekleştirmektedir (Bird et. al., 1988). Bu sistem, boşaltım (excretory) özelliğinden ziyade salgı üretimi ve osmotik basıncı dengeleyici özelliğiyle ön plana çıkmaktadır. Sistem, bez hücreleri (glandular), kanal şeklindeki hücreler (tubulo glandular) ve açıklıktan (S/E pore) oluşmaktadır. Bu sistemin, nematodları kutikular salgılar gibi konukçu savunma mekanizmasından koruduğu tahmin edilmektedir (Spiegel & McClure, 1995; Decraemer & Hunt, 2006). Rektal bezler, bir diğer salgı üretim merkezi olarak bilinmektedir. Bu salgı bezlerinin nematod türlerine göre farklı özellikler gösterdiği bilinmektedir. Özellikle kök-ur nematodlarının ergin dişilerinde rektal bezler en aktif olanlarıdır. Bunların salgıları glikoprotein yapıda olup, jelatinimsel matriks yapısıyla nematod yumurtalarının depolanması süresince kurumaya karşı koruma sağlamaktadır (Wallace, 1968). Nematod ikinci larva (J2) döneminden sonra kökte oluşturduğu ur içerisinde kaldığı için rektal bezler tarafından üretilen matrix; bitki dokularını, sahip olduğu selülitik aktivite vasıtasıyla eriterek oluşturduğu kanal vasıtasıyla kök yüzeyine kadar ulaşabilmektedir (Orion et. al., 1987). Rektal bezler tarafından salgılanan ve yumurtalardan ayrılan jelatinimsel matriksin güçlü bir selülitik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Rosso et. al., 1999).

Parazitizmde rol alan enzimler ve fonksiyonları

Nematodların bitkiyi enfeksiyon sürecinin öncesinde ve sonrasında çok farklı enzimler görev almaktadır. Bu enzimler, yapısal ve fonksiyonel olarak farklılıklar göstermektedir. Nematodların bitkilerde enfeksiyon yapmak ve dokuları parçalamak için üretmiş oldukları salgılara parazitizm enzimi adı verilmektedir. Bunlar, nematodların farklı salgı merkezlerinden üretilmektedir (Baum et. al., 2007; Vanholme et. al., 2004). Ayrıca bu merkezler tarafından salgılanan çok farklı parazitizm enzimleri belirlenmiştir. Parazitizmin değişik aşmalarında görev alan bazı önemli enzimler Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1. Parazitizm değişik aşmalarında görev alan bazı önemli enzimler ve fonksiyonları

Enzim Adı	Fonksiyonu	Referans
Beta-1,4 Endoglucanases	Hücre Duvarının Parçalanması	Smant et. al., 1998; Goellner et. al., 2000; Yan et. al., 2001
Diğer Hydrolytic Glucanase'lar	Hücre Duvarının Parçalanması	Huang et. al., 2005; Mitreva-Dautova et. al., 2006; Vanholme et. al., 2006
Expansin	Hücre Duvarının Parçalanması	Qin et. al., 2004
Arabinogalactan endo-1,4-β-galactosidase	Hücre Duvarının Parçalanması	Vanholme et. al., 2009
Cellulose-Binding Protein	Hücre Duvarının Parçalanması	Ding et. al., 1998
Chorismate Mutase	Hücresel Metabolizma ve Taşınma	Lambert et al. 1999; Jones et al. 2003
Annexin	Hücresel Metabolizma ve Taşınma	Fioretti et al., 2001
Calreticulin	Hücresel Metabolizma ve Taşınma	Jaubert et. al., 2002
Ranbpm	Hücresel Düzenleme ve Hedefleme	Qin et. al., 2000
Ubiquitination/Proteasome Fonksiyonları	Hücresel Düzenleme ve Hedefleme	Gao et. al., 2003
14-3-3 Protein Grubu	Hücresel Düzenleme ve Hedefleme	Siles-Lucas &Gottstein, 2003; Jaubert et. al., 2004
Venom Alerjen Proteinler	Konukçu Tepkisini Azaltma	Gao et. al., 2001
Yüzeysel Savunma	Konukçu Tepkisini Azaltma	Jones et. al., 2000; Robertson et. al., 2000; Jones et. al., 2004

Nematod parazitizminde önemli bir yere sahip olan enzimlerin daha iyi anlaşılabilmesi için dört ana başlık altında sınıflandırılmıştır.

1. Hücre Duvarının Parçalanması,

2. Hücresel Metabolizma ve Taşınma,

3. Hücresel Düzenleme ve Hedefleme,

4.Konukçu Tepkisini Azaltma

1. Hücre Duvarının Parçalanması

1.1. Beta-1,4 endoglucanase

Bitki paraziti nematodlar tarafından üretilen bitki hücre duvarını bozucu enzimlerle ilgili ilk kanıtlar (Deubert & Rohde 1971), Kist nematodlarında beta-1,4 endoglucanase'ın belirlenmesi ile ispat edilmiştir (Smant et. al., 1998). *Heterodera glycines* ve *Globodera rostochiensis*'ten elde edilen beta-1,4 endoglucanase, bitki paraziti nematodların özofagus bez hücrelerinde belirlenmiştir. Bu gen aynı zamanda hayvanlardan elde edilen ilk parazitizm enzimidir (Smant et. al., 1998; Yan et. al., 2001). Kist nematodlarının ekonomik olarak önemli olmasından dolayı üzerinde detaylı çalışılmıştır. Hücre duvarının yapısındaki selülozun β-1,4 glycosidic bağlarının hidrolizinde kullanılan bu enzimler, kist nematodlarının yumurta içerisindeki ikinci larva dönemlerinden, konukçu kökü içerisindeki üçüncü larvanın (J3) erken dönemlerine kadar subventral bezlerinden salgılanmaktadır. Doku içerisinde sabit durumda kalan ve gelişmesine devam eden dişi kist nematodlarının sonraki gelişim dönemlerinde endoglucanase üretimi görülmezken, kök dokularının dışına çıkan hareketli erkek kist nematodlarının sonraki dönemlerinde ise endoglucanase üretimi devam etmektedir (De Boer et. al., 1999; Goellner et. al., 2000). Araştırma sonuçları, kist nematodlarının hücre içi hareketleri boyunca endoglucanase salgılarının devam ettiğini fakat konukçu beslenme hücrelerinin gelişimi esnasında üretiminin durduğunu göstermiştir (Wang et. al., 1999). Kist nematodlarında tanımlanan endoglucanase enzimleri dışında, daha sonraki çalışmalarda birçok nematod türünde de endoglucanase enzimleri belirlenmiştir (Vanholme et. al., 2004).

Meloidogyne incognita Kofoid & White (Tylenchida: Meloidogynidae)'dan elde edilen *Mi-eng-1* endoglucanase enzimi, J2'nin hücrelerarası boşluklardaki hareketlerinin anlaşılmasını sağlamaktadır (Bera-Maillet et al., 2000). Ayrıca bu enzimin ergin dişilerin rektal bezlerinden de salgılandığı ve bu yolla yumurtaların kök yüzeyine çıkmasına ve erkek bireylerin kök içerisindeki hareketlerinde yardımcı olduğu düşünülmektedir (Rosso et. al., 1999).

1.2. Diğer hydrolytic glucanase'lar

Bitki paraziti nematodların J2 dönemlerinin subventral özofagus bez hücrelerinden Beta-1,4 endoglucanase'a ek olarak başka hücre duvarı modifiye edici proteinlerin salgılandığı belirlenmiştir. Bilindiği gibi, pektin, hücre duvarlarının birincil yapı taşı olup hücrelerarası orta lamellerde yüksek yoğunlukta yer almaktadır (Barras et. al., 1994). Pectatelyase enzimleri, pektin yapılarını bozarak nematodların erken gelişim dönemlerinde ve kök içerisinde hücreler arasındaki hareketlerinde yardımcı olmaktadır (Huang et. al., 2005). Bu enzimler, cellulase enziminden sonra hücre duvarını parçalayan ikinci enzimler olarak bilinmektedir. Pectatelyase ve polygalacturonase olarak ifade edilen ve birçok nematod türünden izole edilmiş olan pectinase enzimleri, konukçu içerisindeki hareketi sağlayabilmek için pektolitik (pectolytic) yapıları sindirebilme özelliğine sahiptir (Vanholme et. al., 2004). Bilindiği gibi kök-ur nematodları bitki köklerinin orta lameli boyunca hareket etmektedir. Bu sebeple pectate lyase, enfeksiyon sürecinde önemli bir yere sahiptir.

1.3. Expansin

Hücre duvarının yapısı üzerinde etkili olan bir diğer enzim patates kist nematodunun subventral bezlerinden salgılanan *GR-exp1* enzimidir. Bu enzim, cellulose binding domain (CBD) olarak salgılanan ve bitkiler alemi dışında kodlanan ilk expansin benzeri protein (expansin-like protein) olarak belirlenmiştir (Qin et. al., 2004). Diğer hücre duvarı sindirim enzimlerinden farklı olarak expansinler, hücre duvarı iplikçikleri (fibrilleri) arasındaki ortak olmayan (noncovalent) bağların kırılması nedeniyle hücre duvarlarının yumuşamasına ve bu yolla bağların kaymasına neden olmaktadır (Cosgrove, 2000).

1.4. Cellulose-binding protein

Hücre duvarının yapısı üzerinde etkili olduğu tespit edilen cellulose-binding protein'ler *Meloidogyne* türlerinin ergin dişileri hariç parazitik dönemi öncesi (preparazitik) ve parazitik dönemlerinde subventral bez hücrelerinden salgılanmaktadır. Bu proteinler, selüloza bağlanmaları sonucu hücrenin yapısının bozulmasına neden olabilmektedir. Ayrıca dev hücrelerin uyarılmasının erken dönemlerinde doğrudan ya da dolaylı olarak rol alabildiği düşünülmektedir (Ding et. al., 1998).

1.5. Arabinogalactan endo-1,4-β-galactosidase

Galactanase, endo-1,4-β-galactanase ya da arabinogalactanase olarak da bilinen ve sadece *Heterodera* cinsine bağlı nematod türlerinde tespit edilmiş olan bu enzim, subventral bezlerden parazitizmin erken dönemlerinde salgılanmaktadır. Bitki hücre duvarlarının yapısındaki arabinogalactan'larda bulunan 1,4-β-galactosidase bağlarının hidrolize edilmesi sonucu polisakkaritlerin yapısal olarak bozulmasına neden olmaktadırlar. Nematodlar özellikle hücre içi hareketleri boyunca bu enzimleri kullanmaktadırlar (Vanholme et. al., 2009).

2. Hücresel metabolizma ve taşınma

2.1. Chorismate mutase (CMs)

Chorismate mutase enzimleri, aromatik amino asitlerin üretim süreci olan shikimate pathway'in bir parçasıdır. Bunlar, hücresel metaboliz üzerinde etkili olarak chorismate'dan prephenate'a dönüşümde rol oynamakta ve ayrıca shikimate pathway'de önemli bir enzim olarak görev yapmaktadır (Romero et al., 1995). Chorismate mutase enzimlerinin miktarı parazitizmin erken döneminde yüksek, parazitizmin geç dönemlerinde düşük yada tanımlanamayacak kadar azdır. Chorismate mutase kök-ur nematodlarının (Huang et al., 2005) ve kist nematodlarının (Gao et al., 2003) özofagus bezlerinden salgılanmaktadır. *Mj-cm-1* proteini *Meloidogyne javanica* Treub, (Tylenchida: Meloidogynidae)'nın dorsal özofagus bez hücrelerinden enfeksiyondan sonrasındaki erken bir dönemde üretilmekte ve bu hücrelerde lokalize olup parazitizm erken dönemde salgılanmamaktadır. Çalışma bulgularına göre *Mj-cm-1* proteini J2'lerden, infeksiyondan yaklaşık üç gün sonra salgılanmaktadır. Ayrıca *Mj-cm-1* proteininin beslenme hücrelerinin yeniden programlanmasında yardımcı olduğu ve bitki savunma mekanizmalarının bastırılmasında da rol alabileceği düşünülmektedir (Doyle & Lambert, 2003).

Phenylalanine, Tyrosine ve Tryptophan aromatik amino asitlerinin hücresel dengelerinin sağlanmasında chorismate mutase önemli bir role sahiptir (Romero et al., 1995). Amino asitlerin öncüsü olan ve auxin, salisilik asit ve phenylpropanoid türevlerininde içinde bulunduğu metabolitler özellikle bitki-nematod etkileşimiyle ilgilidir. Nematod saldırısında konukçu hücre sitoplazmasında chorismate mutase'la etkileşime geçmeleri sonucunda hücresel salisilik asit ve phenylpropanoid üretimi azaldığından dolayı hücre savunmasının düşmesine neden olmaktadır (Davis et. al., 2008).

2.2. Annexin

Annexin enzimleri, geniş bir gen familyası olan calcium-dependent phospholipid-binding protein içerisinde yer almaktadır (Clark et al., 2001). *G. pallida*'nın J2'lerinin 5-methoxy DMT oxalate'la uyarılması sonucu Annexin'lerin nematodun Excretory/secretory sistemlerinden salgılandığı, buna karşın *H. glycines*'ler de ise dorsal özofagus bezlerden salgılandığı belirlenmiştir (Patel, 2008; Fioretti et. al., 2001). Bu enzimler, nematodların beslenme bölgelerindeki fenotipik farklılaşmaların tetiklenmesinde, beslenilen hücrelerin membranlarında gerçekleşen iyon taşınımının düzenlenmesinde, hücre membranlarında birikerek hipersensitif hücre ölümlerinde görev alan oksijen radikallerinin yapılarının bozulmasında ve beslenme bölgelerinin osmotik basınçlarının düzenlenmesinde görev alabildikleri bildirilmiştir (Gerke & Moss, 1997). Bu fonksiyonları ile annexin ürünlerinin bitki enfeksiyonunun başarılı olmasında önemli bir rol aldığı düşünülmektedir (Patel et. al., 2009).

2.3. Calreticulin

Bitki-nematod etkileşimi esnasında salgılanan calreticulin'lerin görevi tam olarak belirlenememiş olsa da parazitizmde önemli bir role sahip oldukları düşünülmektedir. Calreticulin'lerin, özellikle hücresel metabolizde etkili olduğu bilinmektedir. Ayrıca infektif ve ergin nematodların subventral özofagus bez hücrelerinden üretildikleri belirlenmiştir (Jaubert et. al., 2002). Calreticulin'ler hücre kalsiyum dengesinin düzenlemesinde, salgı üretiminde, ekzo ve endositoziste, hücresel döngüde, büyüme ve farklılaşma gibi metabolik olayların gerçekleşmesinde düzenleyici olarak görev almaktadır (Michalak et. al., 2002). Kök-ur nematodları tarafından salgılanan ve bitki-nematod parazitik ilişkisi boyunca destekleyici olarak görev yapan calreticulin'ler, bitki dokularında ve stilet ucu boyunca uzanan konukçu hücre duvarlarında tespit edilmiştir (Jaubert et. al., 2005). *M. incognita* tarafından salgılanan Mi-crt, hareketli ve sabit dönemler boyunca salgılanması parazitizmi destekleyen bir rolü olduğunu göstermektedir (Jaubert et. al., 2005).

3. Hücresel Düzenleme ve Hedefleme

3.1. Ran-binding protein M (RanBPM)

Hücresel düzenleyici olarak görev yapan ve küçük G-protein Ran'a bağlanan proteinlere çok benzeyen ve RanBPM olarak adlandırılan salgı proteinleri kist nematodlarının dorsal özofagus bez hücrelerinde belirlenmiştir (Blanchard et. al., 2005; Qin et. al., 2000). Beslenme bölgelerinin oluşturulması gibi parazitizmin geç dönemlerinde de karşılaşılabilen RanBPM'ler özellikle parazitizm süreci ve öncesindeki jüvenil dönemlerinde aşırı derecede üretilmekte fakat ergin bireylerin gelişim süreçlerinde gözlemlenmemektedir (Blanchard et. al., 2005). Ayrıca sabit endoparazitik nematodların beslendiği hücrelerdeki değişimlerin düzenlenmesinde birincil gösterge olarak rol almakta fakat bu değişimin nereden kaynaklandığı bilinmemektedir (Goverse et. al., 2000). Nematodlarda RanBPM salgılarının belirlenmesi ve bunların bitki hücrelerinde fonksiyonel doğrulanmaları, bitki-nematod etkileşiminde RanBPM salgılarının potansiyel görevlerinin anlaşılmasında önemli bir role sahiptir (Davis et. al., 2008).

3.2. Ubiquitination/proteasome fonksiyonları

Nematodlar tarafından gerçekleştirilen ve gerek hücre sitoplazmasında gerekse hücre çekirdeğinde potansiyel etkilere sahip olan zamanlanmış ve hedeflenmiş protein bozulması, konukçu hücre fenotipinin düzenlenmesi için tek ve güçlü bir vasıtadır. Hücresel düzenleyici olarak görev yapan ve kist nematodlarının özofagus bez hücrelerinden Ubiquitin olarak adlandırılan ve ubiquitination pathway'inde görev alan sitoplazmik proteinlerin izotoplarının da yer aldığı birçok parazitizm enzimi salgılanmaktadır (Gao et. al., 2003). Nematodlardan salgılandığı tespit edilen bu enzimlerin, konukçu hücrelerin savunma mekanizmalarını ve etkileşimlerini bozmak, hücre döngüsünü etkilemek ya da basitçe konukçu hücrelerden besin elde edebilmek için kullanıldıkları tespit edilmiştir. Kist nematodlarında belirlenenen Proteasome proteinleri, konukçu savunma mekanizmalarının bozulmasında, hücresel döngülerin etkilenmesinde ve konukçu hücrelerden besin elde edilmesinde kullanıldığı tespit edilmiştir (Estelle, 2001).

3.3. Protein grubu

14-3-3 protein grubu üyeleri, parazitlerle ilişkilidir ve beslenme hücrelerinin metabolizmaları üzerinde özelliklede sinyal iletimi, hücresel döngü kontrolü, programlanmış hücre ölümü, stres tepkileri ve hücre iskeletinin oluşturulması gibi çeşitli rollere sahiptir (Siles-Lucas & Gottstein, 2003). Beslenme hücrelerinin metabolizmaları üzerinde etkili olan 14-3-3 protein ailesine ait iki benzer form, laboratuvar koşullarında uyarılmış kök-ur nematodu J2 bireylerinin stilet salgılarında tespit edilmiştir. Bunlardan birinin 14-3-3a, genital primordia'dan diğeri olan 14-3-3b ise kök-ur nematod larvalarının dorsal özofagus bez hücrelerinden salgılandığı belirlenmiştir (Jaubert et. al., 2004).

4. Konukçu Tepkisini Azaltma

4.1. Venom alerjen proteinler (Vaps)

Vaps'lar, cysteine-rich secretory proteins (CRISPs)'nin homoloğudurlar. Bunlar, nematodların subventral özofagus bez hücrelerinden parazitizmin erken dönemlerinde salgılanmaktadır. Konukçu tepkisinin hafifletilmesinde görev aldığı düşünülmektedir (Gao et. al., 2001). Vaps'ların nematodlar arasında yaygın olarak belirlenmiş olması, nematod biyolojisinde temel bir fonksiyona sahip olduğunu ve parazitizm üzerinde etkili olabileceği fikrini desteklemektedir (Davis et. al., 2008).

4.2. Yüzeysel savunma

Hipodermis, canlı olmayan kutiküla tabakası altında yer alan syncytial hücre tabakasıdır. Nematod kutikül tabakası üzerinde, üretilen çok sayıda salgının birikmiş olduğu görülmektedir (Bird & Bird, 1991). Bu üretilen salgılar arasında konukçu savunmasını hafifleten salgılar bulunmaktadır. Patates kist nematodunun hipodermisinde peroxidase üretimi gerçekleşmektedir (Jones et. al., 2004; Robertson et. al., 2000) ve nematod yüzeyi üzerinde biriken peroxidase proteinlerinin konukçu savunma mekanizması tarafından üretilen reaktif oksijen türevlerinin detoksifikasyonunda görev aldıkları tahmin edilmektedir. (Waetzig et. al., 1999).

SXP/RAL-2 proteinlerinin ise patates kist nematodlarında amfid ve hipodermislerden (Jones et. al., 2000), kök-ur nematodlarının J2 dönemlerinde özellikle subventral bez hücrelerinden salgılandıkları belirlenmiştir (Tytgat et. al., 2005). SXP/RAL-2 proteinleri, vaps proteinleri gibi günümüze kadar gerek parazit gerekse parazit olmayan nematodlarda çok az miktarlarda belirlenmiş olup bu yüzden nematod biyolojisinde temel fonksiyonel rollere sahip olabilecekleri düşünülmektedir (Davis et. al., 2008).

Sonuç

Bitki parazit nematodları, farklı bitki türlerinde beslenmeler sonucunda ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Nematodlar, parazitik ilişki sürecinde öncelikle bitkiler tarafından geliştirilen savunma mekanizmalarını aşmak, daha sonra da hedef hücreleri beslenmeye uygun hale getirmek zorundadırlar. Uyumlu ilişki olarak tanımlanan bu etkileşimin gerçekleştirilebilmesi için nematodların değişik yapıları bulunmaktadır. Bunlardan en önemlisi besin alımında ve enfeksiyonda görev alabilen stilet adı verilen yapıdır. Stilet tarafından bitki hücresine aktarılan salgılar hücrenin parçalanmasına ve bozulmasına neden olmaktadırlar. Stiletin yanısıra nematodun değişik organları tarafından üretilen ve konukçu-nematod ilişkisinde rol oynayan birçok salgılar bulunmaktadır. Bu salgılar, nematodların savunma ve parazitizm ilişkilerinde görev almaktadırlar. Parazitizmde çok farklı özelliklere sahip olan salgıların, model bitkilerle çalışılması ve klonlanmaları parazitimin mekanizmasının anlaşılmasına yardımcı olabilecektir. Ayrıca parazitizm genlerinin foksiyonlarının bilinmesi nematodlara karşı yeni mücadele yöntemlerinin geliştirilmesine imkân verebilecektir.

Günümüze kadar yapılan çalışmalar sonucunda, tespit edilen fakat işlevleri hakkında yeterli bilgiye sahip olunmayan çok sayıda parazitizm enzimi tanımlanmıştır. Bu enzimlerin işlevlerinin belirlenmesi, bunların mevcut fonksiyonel durumlarının yeniden sınıflandırılmasına ve konukçu-nematod ilişkisinin daha iyi anlaşılmasına yardımcı olabileceği düşünülmektedir. Bu bilgi birikiminin, bitkilerde nematodlara karşı yapılacak transgenik dayanıklılık çalışmalarına yeni bakış açıları getirebilecektir (Davis et. al., 2008).

Parazitizm genlerinin birbirleriyle olan etkileşimleri konusunda yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bununla birlikte enzimler arasındaki oluşabilecek etkileşim sonucu bitkiler açısından daha olumsuz bir parazitizm sürecinin yaşanabileceği tartışılmaktadır (Vanholme et. al., 2004). Bu hipotezlerin gerçekleşmesi durumunda, bitki parazit nematodlara karşı yürütülecek olan mücadeleler için, yeni yöntemlerin geliştirilmesi gerekebilecektir.

Yararlanılan Kaynaklar

Barras, F., F.V. Gijsegem & A.K. Chatterjee, 1994. Extracellular enzymes and pathogenesis of soft-rot Erwinia. Annu. Rev. Phytopathol. 32: 201–234.

Baum, T.J., R.S. Hussey & E.L. Davis, 2007. Root-Knot and Cyst Nematode Parasitism Genes:The Molecular Basis of Plant Parasitism. Genetic Engineering, 28: 17-43.

Béra-Maillet, C., L. Arthaud, P. Abad & M. Rosso, 2000. Biochemical characterization of *Mi-eng-1*, a family 5 endoglucanase secreted by the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Eur. J. Biochem. 267: 3255–3263.

Bird, A.F., I. Bonig & A. Bacic, 1988. A role for the 'Excretory' system in Secernentean nematodes. J. Nematol. 20, 493-496.

Bird ,A.F. & J. Bird, 1991. The structure of nematodes. Academic Press, San Diego. 317pp.

Blanchard, A., M. Esquibet, D. Fouville & E. Grenier, 2005. Ranbpm homologue genes characterized in the cyst nematodes *Globodera pallida* and *Globodera mexicana*. Physiol. Mol. Plant. Pathol. 67:15–22.

Clark, G.B., A. Sessions, D.J. Eastburn & S.J. Roux, 2001. Differential expression of members of the annexin multigene family in Arabidopsis. Plant Physiol. 126:1072-1084.

Cosgrove D.J., 2000. Loosening of plant cell walls by expansins. Nature, 407:321-326.

Davis, E.L., R.S. Hussey, T.J. Baum, J. Bakker, A. Schots, M.N. Rosso & P. Abad, 2000. Nematode parasitism genes, Annu. Rev. Phytopathol. 38: 365-396.

Davis, E.L., R.S. Hussey & T.J. Baum, 2008. "Parasitism Genes: What They Reveal about Parasitism, 15-44" In: Cell Biology of Plant Nematode Parasitism (Ed: R.H. Berg & C.G. Taylor), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 273pp.

De Boer J.M., Y. Yan, X. Wang, G. Smant, R.S. Hussey, E.L. Davis & T.J. Baum, 1999. Developmental expression of secretory beta-1,4-endoglucanases in the subventral esophageal glands of *Heterodera glycines*. Mol. Plant Microbe Interact. 12: 663- 669.

Decraemer, W. & D.J. Hunt, 2006. "Structure and Classification, 3–32" In: Plant Nematology (Ed: R.N. Perry, & M. Moens), Wallingford, Oxfordshire: CAB International, 447pp.

Deubert, K.H. & R.A. Rohde, 1971. "Nematode enzymes, 73-90" In: Plant parasitic nematodes (Ed: B.M. Zuckerman, W.F. Mai & R.A. Rohde), vol 2. Academic Press, New York, 508pp.

Ding, X., J. Shields, R. Allen & R.S. Hussey, 1998. A Secretory Cellulose-Binding Protein cDNA Cloned from the Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita*). Mol. Plant-Microb. Interact. 11:952-959.

Doyle, E.A. & K.N. Lambert, 2003. *Meloidogyne javanica* Chorismate Mutase 1 alters plant cell development. Mol. Plant-Microb. Interact. 16:123-131.

Estelle, M., 2001. Proteases and cellular regulation in plants. Curr. Opin. Plant. Biol. 4:254–260.

Fioretti, L., A. Warry, A. Porter, P. Haydock & R.Curtis, 2001. Isolation and localisation of an annexin gene (gp-nex) from the potato cyst nematode, *Globodera pallida*. Nematology 3, 45–54.

Fioretti, L., A. Porter, P.J. Haydock & R. Curtis, 2002. Monoclonal antibodies reactive with secreted-excreted products from the amphids and the cuticle surface of *Globodera pallida* affect nematode movement and delay invasion of potato roots. Int. J. Parasitol. 32: 1709-1718.

Gao, B., R. Allen, T. Maier, E.L. Davis, T.J. Baum & R.S. Hussey, 2001. Molecular characterisation and expression of two venom allergen-like secretory protein genes in *Heterodera glycines*. Int. J. Parasitol. 31:1617-1625.

Gao, B.L., R. Allen, T. Maier, E.L. Davis, T.J. Baum & R.S. Hussey, 2003. The parasitome of the phytonematode *Heterodera glycines*. Mol. Plant Microbe Interact. 16:720-726.

Gerke V & S.E. Moss, 1997. Annexins and membrane dynamics. Biochim. Biophys. Acta. 1357:129–154.

Gheysen, G. & J.T. Jones, 2006. "Molecular Aspects of Plant-Nematode Interactions, 234–254" In: Plant Nematology (Ed: R.N. Perry& M. Moens), Wallingford, Oxfordshire: CAB International, 447pp.

Goellner M., G. Smant, J.M. De Boer, T.J. Baum & E.L. Davis, 2000. Isolation of beta-1,4 endoglucanase genes of *Globodera tabacum* and their expression during parasitism. J. Nematol. 32:154-165.

Goverse, A., J.D. Engler, J. Verhees, S. Van Der Krol, J. Helder & G. Gheysen, 2000. Cell cycle activation by plant parasitic nematodes. Plant Mol. Biol. 43:747-761.

Huang G., R. Dong, R. Allen, E.L. Davis, T.J. Baum & R.S. Hussey, 2005. Two chorismate mutase genes from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Mol. Plant Pathol. 6:23-30.

Hussey, R.S., 1989. Disease-inducing secretions of plant-parasitic nematodes. Annu. Rev. Phytopathol., 27: 123-141.

Hussey, R.S. & C.W. Mims, 1991. Ultrastructure of feeding tubes formed in giant-cells induced in plants by the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Protoplasma. 162:99–107.

Jaubert, S., T.N. Ledger, J.B. Laffaire, C. Piotte, P. Abad & M.N. Rosso, 2002. Direct identification of stylet secreted proteins from root-knot nematodes by a proteomics approach. Mol. Biochem. Parasitol. 121:205-211.

Jaubert, S., J.B. Laffaire, T.N. Ledger, P. Escoubas, E.Z. Amri, P. Abad & M.N. Rosso, 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., A.L. Milac, A.J. Petrescu, J. de Almeida-Engler, P. Abad & M.N. Rosso, 2005. In planta secretion of a calreticulin by migratory and sedentary stages of root-knot nematode. Mol. Plant Microbe Interact. 18:1277-1284.

Jones, J.T., R.N. Perry & M.R.L. Johnston, 1994. Changes in the ultrastructure of the amphids of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* during development and infection. Fundam. Appl. Nematol. 17:369-382.

Jones, J.T., G. Smant & V.C. Blok, 2000. *SXP/RAL-2* proteins of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*: secreted proteins of the hypodermis and amphids. Nematology. 2:887-893.

Jones, J.T., C. Furlanetto, E. Bakker, B. Banks, V. Blok, Q. Chen, M. Phillips & A. Prior, 2003. Characterization of a chorismate mutase from the potato cyst nematode Globodera pallida. Mol. Plant Pathol. 4, 43–50.

Jones, J.T., B. Reavy, G. Smant & A. Prior, 2004. Glutathione peroxidases of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. Gene 324:47-54.

Lambert, K.N., K.D. Allen & I.M. Sussex, 1999. Cloning and characterization of an esophageal-gland-specific chorismate mutase from the phytoparasitic nematode *Meloidogyne javanica*. Mol. Plant-Microb. Interact. 12, 328–336.

Michalak, M., J.M. Robert Parker, & M. Opas, 2002. Ca2+ signaling and calcium binding chaperones of the endoplasmic reticulum. Cell Calcium 32:269-278.

Mitreva-Dautova M., E. Roze, H. Overmars, L. De Graff, A. Schots, J. Helder, A. Goverse, J. Bakker & G. Smant, 2006. A symbiont-independent endo-1,4-beta-xylanase from the plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. Mol. Plant Microbe. Interact. 19:521-529.

Orion, D., G.C. Loots & T. Orion, 1987. Cell lysis activity of Meloidogyne gelatinous matrix. Rev. Ne´matol. 10, 463-465.

Patel N., 2008. Functional analyses of cyst nematode parasitism genes. PhD Dissertation, North Carolina State University.

Patel, N., N. Hamamouch, C. Li, T. Hewezi, R.S. Hussey, T.J. Baum, M.G. Mitchum & E.L. Davis, 2009. A nematode effector protein similar to annexins in host plants. Journal of Experimental Botany. 61(1): 235-248.

Prior, A., J.T. Jones, V.C. Blok, J. Beauchamp, L. McDermott, A. Cooper & M.W. Kennedy, 2001. A surface-associated retinol-and fatty acidbinding protein (*Gp-FAR-1*) from the potato cyst nematode *Globodera pallida*: lipid binding activities, structural analysis and expression pattern. Biochem. J. 356: 387-394.

Qin, L., H. Overmars, H. Popeijus, J.N.A.M. Roupe Van Der Voort, W. Groenink, P. van Koert, A. Schots, J. Bakker & G. Smant, 2000. An efficient cDNA-AFLP-based strategy for the identification of putative pathogenicity factors from the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. Mol. Plant. Microbe Interact. 13:830-836.

Qin L., U. Kudla, E.H.A. Roze, A. Goverse, H. Popeijus, J. Nieuwland, H. Overmars, J.T. Jones, A. Schots, G. Smant, J. Bakker, J. Helder, 2004. Plant degradation: A nematode expansin acting on plants. Nature, 427:30.

Robertson, L., W.M. Robertson, M. Sobczak, J. Helder, E. Tetaud, M.R. Ariyanayagam, M.A.J. Ferguson, A. Fairlamb & J.T. Jones, 2000. Cloning, expression and functional characterisation of a peroxiredoxin from the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. Mol. Biochem. Parasitol. 111: 41-49.

Robinson, A.F. & R.N. Perry, 2006. "Behaviour and sensory perception, 210-233" In: Plant Nematology (Ed: R.N. Perry, & M. Moens), Wallingford, Oxfordshire: CAB International, 447pp.

Romero, R.M., M.F. Roberts & J.D. Phillipson, 1995. Chorismate mutase in microorganisms and plants. Phytochem, 40:1015-1025.

Rosso, M.-N., B. Favery, C. Piotte, L. Arthaud, J.M. De Boer, R.S. Hussey, J. Bakker, T.J. Baum & P. Abad, 1999. Isolation of a cDNA encoding a b-1,4-endoglucanase in the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and expression analysis during plant parasitism. Mol. Plant-Microb. Interact. 12, 585-591.

Sasser, J.N. & D.W. Freckman, 1987. "A world perspective on Nematology: the role of the society, 7-14" In: Vistas on Nematology. Society of Nematologists (Ed: J.A. Veech & D.W. Dickson), Hyattsville, Maryland. 509pp.

Sijmons, P.C., H.J. Atkinson & U. Wyss, 1994. Parasitic strategies of root nematodes and associated host cell responses. Annu. Rev. Phytopathol. 32: 235-259.

Siles-Lucas, M. & B., Gottstein, 2003. The *14-3-3* protein: a key molecule in parasites as in other organisms. Trends. Parasitol. 19:575-581.

Smant, G., J. Stokkermans, Y. Yan, J. de Boer, T. Baum, X. Wang, R. Hussey, F. Gommers, B. Henrissat, E. Davis, J. Helder, A. Schots & J. Bakker, 1998. Endogenous cellulases in animals: Isolation of ß-1,4-endoglucanase genes from two species of plant-parasitic cyst nematodes, Proc. Natl. Acad. Sci., 96: 4906-4911.

Spiegel, Y. & M.A. McClure, 1995. The surface coat of plant-parasitic nematodes: chemical composition, origin, and biological role—a review. J. Nematol. 27, 127-134.

Tytgat, T., I. Vercauteren, B. Vanholme, J. De Meutter, I. Vanhoutte, G. Borgonie, A. Coomans & G. Gheysen, 2005. An *SXP/RAL-2* protein by the subventral pharyngeal glands in the plant parasitic root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Parasitol. Res. 95:50-54.

Vanholme, B., J.D. Mautter, T. Tytgat, M. V. Montagu, A. Coomans & G. Gheysen, 2004. Secretions of Plant-Parasitic Nematodes: A Molecular Update. Gene. 332: 13-27.

Vanholme, B., M. Mitreva, W. Van Criekinge, M. Logghe, D. Bird, J.P. McCarter & G. Gheysen, 2006. Detection of putative secreted proteins in the plant-parasitic nematode *Heterodera schachtii*. Parasitol. Res. 98:414-424.

Vanholme, B., A. Haegeman, J. Jacob, B. Cannoot & G. Gheysen, 2009. Arabinogalactan endo-1,4-β-galactosidase: a putative plant cell wall-degrading enzyme of plant-parasitic nematodes. Nematology. 11(5), 739-747.

Waetzig, G.H., M. Sobczak & F.M.W. Grundler, 1999. Localization of hydrogen peroxide during the defense response of *Arabidopsis thaliana* against the plant-parasitic nematode *Heterodra glycines*. Nematology. 1:681-686.

Wallace, H.R., 1968. The influence of soil moisture on survival and hatch of *Meloidogyne javanica*. Nematologica 14: 231-242.

Wang X., D.M. Meyers, T.J. Baum, G. Smant, R.S. Hussey & E.L. Davis, 1999. In planta localization of a ß-1,4-endoglucanse secreted by *Heterodera glycines*. Mol. Plant Microbe Interact. 12:64-67.

Williamson, V.M. & C.A. Gleason, 2003. Plant-nematode interactions. Plant Biology, 6:327-333.

Yan, Y., G. Smant & E.L. Davis, 2001. Functional screening yields a new β-1,4-endoglucanase gene from *Heterodera glycines* that may be the product of recent gene duplication. Mol. Plant–Microbe Interact. 14: 63–71.