

Derleme (Review)

Nematodlarda olumsuz çevre koşullarına karşı adaptasyonlar

Nematode adaptations against adverse environmental conditions

Anıl Fırat FELEK¹

Faruk AKYAZI^{1*}

Abstract

Nematodes are the most frequently encountered organisms on the earth and face some adverse conditions in their habitats resulting in death. They can survive different habitats by revealing the various adaptations provided by some abilities and behaviours accompanying the abilities. The faced problems are withstood as morphological, physiological, biochemical and molecular responses enabling them to survive. This review focused on *resistance adaptation* and *facultative quiescence* stages related to the adaptation.

Keywords: Adaptation, dormancy, quiescence, nematode survival

Öz

Nematodlar, yeryüzünde en sık rastlanan organizmalar olup, buldukları habitatlarda sonu ölümle sonuçlanan bazı olumsuz koşullarla karşılaşmaktadırlar. Sahip oldukları bazı özellikler ve bu özelliklere eşlik eden davranışları sayesinde çeşitli adaptasyonlar gösterebilmekte, farklı yaşam alanlarında canlılıklarını sürdürebilmektedirler. Karşılaştıkları sorunlara; morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeyde yanıtlar vererek hayatta kalabilmektedirler. Bu derleme, nematodların *dayanıklılık adaptasyonu* ve buna eşlik eden *fakültatif quiescence* dönemlerini kapsamaktadır.

Anahtar sözcükler: Adaptasyon, dormansi, quiescence, hayatta kalma

¹ Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü 52200, Ordu

* Sorumlu Yazar (Corresponding author) e-mail: farukakyazi@hotmail.com

Alınış (Received):26.07.2016

Kabul ediliş (Accepted):11.02.2017

Çevrimiçi Yayın Tarihi (Published Online):03.10.2017

Giriş

Nematodlar, Metazoa'lar içerisinde sayıları bakımından en kalabalık olan ve bütün habitatlar içerisinde bulunabilen bir canlı grubudur. Bu organizmaların yeni habitatlara başarıyla tutunup hayatlarını devam ettirebilmeleri, çeşitli form ve fonksiyonlara sahip olmalarını zorunlu kılmakta ve seleksiyon baskılarına maruz kalmaları durumunda ise, ortama adapte olabilen nitelikte genetik özellikler sergileyebilmektedirler (Tahseen, 2012). Nematodlar yaşadıkları çevrelerde sonu ölümle sonuçlanan besin eksikliği, rekabet ve avlanma gibi bir takım biyolojik sorunların yanında; sıcaklık, kuruma, asitlik-alkalilik ve osmotik stres gibi fiziksel sorunlarla da karşılaşılır. Karşılaştıkları bu sorunlara morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeyde cevap verebilmektedirler (Wharton, 2004). Dolayısıyla sahip oldukları morfolojik farklılıklar, bünyelerindeki fizyolojik adaptasyonlar ve ekolojik çeşitlilikleri; bütün ekosistem ve biyotoplarda bulunabilme başarılarında önemli rol oynamaktadır (Tahseen, 2012). Hatta bazı koşullarda yaşadıkları ortamlarda ekstrem şartlara karşı gösterdikleri adaptasyonlar, bir sonraki neslinin hayatta kalma şansını artırabilmektedir (Mcsorley, 2003).

Nematodların sahip oldukları adaptasyonlar, kapasite ve dayanıklılık adaptasyonları olmak üzere iki kısımda incelenmektedir. Her iki adaptasyon şeklinde sıcaklık stresine karşı ortaya çıktığı (Precht, 1958 ve Cossins & Bowler, 1987'ye atfen Perry, 1999) belirtilse de, Wharton (2002a, 2004) bu adaptasyon şekillerinin osmosis, düşük oksijen, kuruma gibi diğer stres faktörleri karşısında da ortaya çıktığını belirtmişlerdir. Buna göre bir nematodun üreme ve gelişmesi; diğer birçok nematod türünün benzer faaliyetleri gerçekleştirdiği çevresel şartların ekstrem koşullarında gerçekleşebiliyorsa, bu durum *kapasite adaptasyonu* olarak ifade edilir (Perry, 1999; Wharton, 2002a, b, 2004). *Dayanıklılık adaptasyonu* ise, büyüme ve gelişmenin tekrar başladığı uygun şartlar oluşuncaya kadar, nematodun ekstrem çevresel şartlarda hayatta kalmasına ve gelişmenin askıya alınmasına olanak sağlayan dayanıklılık şekli olarak ortaya çıkmaktadır. *Kapasite adaptasyonu* daha çok; çöl ve Antarktika gibi ağır koşulların hâkim olduğu bölgelerde serbest yaşayan nematod türleri için geçerliken; *dayanıklılık adaptasyonu* ise dalgalı değişimlere sahip çevresel şartlarda yaşayan bazı parazitik ve serbest yaşayan türler için geçerli olmaktadır (Precht, 1958 ve Cossins & Bowler, 1987'ye atfen Perry, 1999).

Bu çalışmada; nematodların yaşam alanlarında karşılaştıkları olumsuz koşullara yönelik, yanıt niteliğindeki dayanıklılık adaptasyonlar için morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeydeki değişimler ve davranışlar incelenmiştir.

Dayanıklılık adaptasyonu

Adaptasyonun ortaya çıkması için, öncelikle nematodların sahip oldukları duyu sinirleri aracılığıyla çevresel uyarıların algılayıp değerlendirmesi gerekmektedir. Bunun için *sensilla* olarak adlandırılan duyu sinirleri, nematodun iç yapısında ve kütikulasının farklı yerlerinde konumlanmışlardır. İnternal sensilla'lar; mekanoreseptör ve daha az olarak da fotoreseptör işlevleri görürken, kütikula yapısında bulunan sensillalar ise mekanik, kimyasal, sıcaklık ve osmotik basınç faktörlerine bağlı uyarıların algılama işlevini üstlenmektedirler (Perry & Maule, 2004). Algılama işlemi sonrasında bunun ifadesi *dayanıklılık adaptasyonu* olarak ortaya çıkmakta ve uygun şartlar oluşuncaya kadar organizma gelişmesini durdurup askıya alarak, ekstrem çevre şartlarında hayatta kalmaya çalışmaktadır (Precht, 1958 ve Cossins & Bowler, 1987'ye atfen Perry, 1999).

Nematodların çevresel streslere karşı oluşturdukları dormant dönemler

Dayanıklılık adaptasyonu gösteren nematodlarda, dormant dönemler (dormansi) ortaya çıkmakta ve kendi içerisinde diyapoz ve quiescence olmak üzere iki farklı şekilde görülebilmektedir (Evans & Perry, 2009). Diyapoz dönemi, uygun şartlara rağmen, organizma için spesifik ihtiyaçların yeterli derecede mevcut olmadığı durumlarda oluşur ve bu dönemde gelişme görülmez (Perry, 1999; Wright & Perry, 2006). Obligat ya da fakültatif olarak iki şekilde ortaya çıkabilmektedir (Wright & Perry, 2006). Obligat

diyapoza, hayat döngüsü içerisindeki yapısal değişimleri tamamlamak için ihtiyaç duyulmaktadır (Sommerville & Davey, 2002; Wright & Perry, 2006). Örneğin toprakta konukçu bitki ve çevresel stresler bulunmamasına rağmen; *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, *Meloidogyne naasi* Franklin, 1965 ve *Heterodera avenae* Wollenweber, 1924 türlerinde olduğu gibi, hayat döngüsünün bir gereği olarak obligat diyapoz görülebilmektedir (De Guiran, 1979). Diyapoz sonrası gelişmenin kaldığı yerden devam edebilmesi için, yine uygun çevresel şartların da ortamda mevcut olması gerekmektedir (Sommerville & Davey, 2002). Örneğin kist nematodu *Globodera ellingtonae* Handoo, Carta, Skantar & Chitwood 2012 türünün diyapoz halindeki yumurtaları, uygun sıcaklık ve nem olduğu takdirde açılma davranışı göstermektedir (Ingham et al., 2015). Fakültatif diyapoz ise çevresel uyaranlar sebebiyle ortaya çıkmakta (Wright & Perry, 2006) ve gelişmenin, uygun şartlar ile birlikte gecikmeli olarak kaldığı yerden devam etmesini ifade etmektedir (Zheng & Ferris, 1991). Bu duruma, çevresel uyaran olarak konukçu bitkiden gelen kök salgılarına ihtiyaç duyan *Heterodera schachtii* Schmidt, 1871 'nin dormant yumurtaları örnek verilebilir. Bu türe ait bireylerin yumurtaları aynı çevresel şartlardaki kistlerden dormant halde elde edilerek; sabit ve dalgalı sıcaklık ortamında, gerek kök salgıları gerekse su ortamında açılmaya bırakılmıştır. Sonuçta kök salgılarına maruz kalan yumurtalardaki kademeli açılmanın, su ortamına göre oldukça fazla olduğu görülmüş ve süre uzadıkça açılmadan suda kalan yumurta oranının daha fazla olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla bitki salgıları; değişen sıcaklık durumu ve su mevcudiyetinden ziyade, çevresel bir uyaran olarak açılmayı teşvik eden fakültatif diyapoz unsuru olarak ifade edilmiştir (Zheng & Ferris, 1991).

Quiescence ise beklenmedik uygunsuz çevresel şartlara karşı kendiliğinden gelişen yanıtlar olup, uygun şartlar geri geldiğinde nematod tekrar eski halini almaktadır (Perry, 1999). Quiescence, obligat ve fakültatif olarak ortaya çıkabilmektedir (Wright & Perry, 2006). Obligat quiescence, çevresel uyarının nematoda ait özel bir dönemi etkilemesi sonucu ortaya çıkmaktadır (Evans & Perry, 2009). Örneğin, yumurta içerisindeki ikinci dönem larva çıkışının gerçekleşmemesi gibi. Fakültatif quiescence ise spesifik bir döneme özgü olmayıp, uygun olmayan çevresel şartlarla karşılaşıldığında ortaya çıkmaktadır. Ayrıca quiescence'den farklı olarak, cryptobiyozis ve anabiyozis terimlerine de rastlanmaktadır. Quiescence terimi, indirgenmiş ancak ölçülebilir metabolizmayı ifade ederken; en dayanıklı ve hiçbir metabolizma faaliyetinin ölçülemediği dönem, cryptobiyozis (Demeure & Freckman, 1981) ya da eşanlamlısı olarak anabiyozis terimi ile ifade edilmektedir (Wharton, 1986). Bu yönüyle quiescence ve cryptobiyozis (anabiyozis) birbirinden ayrılmaktadır.

Fakültatif quiescence'de nematodlar farklı olumsuz çevre koşullarına karşı anhidrobiyozis, cryobiyozis, thermobiyozis, anoksibiyozis ve osmobiyozis gibi farklı şekillerde yanıt vermektedirler (Çizelge 1) (Wright & Perry, 2006).

Çizelge 1. Nematodların uygun olmayan çevre koşullarına karşı yanıt olarak oluşturduğu Fakültatif Quiescence dönemleri (Wright & Perry, 2006)

Uygun olmayan çevresel koşullar	Yanıt olarak ortaya çıkan Fakültatif Quiescence dönemi
Kuraklık	Anhidrobiyozis
Düşük sıcaklık	Cryobiyozis
Yüksek sıcaklık	Thermobiyozis
Düşük oksijen	Anoksibiyozis
Osmotik baskı	Osmobiyozis

Kuraklık stres koşuluna karşı adaptasyon (Anhidrobiyozis)

Kuraklık stresi karşısında, nematodun kuruması suretiyle hayatta kalmasına imkân veren adaptasyon şeklidir. Bu adaptasyonda organizmanın hücre su içeriği düşük seviyelerde olup, toprak nemi %3'e düştüğünde, nematod popülasyonunun %50'den fazlası anhidrobiyozis davranışı gösterebilmektedir (Townshend, 1984). Bazı organizmalar, kurak koşullarda bünyelerinde suyu sentezlemek ya da depolamak suretiyle hayatta kalırken, nematodlar bu durum karşısında kuruma davranışı göstererek hayatta kalmaktadır (Alpert, 2005).

Nematod türleri kuruma esnasında vücutlarındaki suyu kaybetmeleri açısından *hızlı su kaybedenler* ve *yavaş su kaybedenler* olmak üzere iki gruba ayrılırlar (Womersley,1987). İlk gruba dahil olanlarda hızla su kaybı gerçekleşmesine rağmen, suyun vücuttan kontrollü biçimde uzaklaştırılmasını sağlayan mekanizmalar sayesinde hayatta kalabilmektedirler (Wharton, 2004). *Ditylenchus dipsaci* Kühn,1857 türünün sahip olduğu özellikler ve değişiklikler bu gruba örnek olarak verilebilir: nematodun su kaybetmesiyle birlikte, kütikula üzerindeki enine olukların (annulation) boyutunda azalma meydana gelir ve bu sebeple nematodun boyu kısalır. Vücut çapındaki azalma ise ilk başta *intestin* çapındaki azalmadan kaynaklanırken, ilerleyen su kaybıyla birlikte *hyalin* çapındaki azalmadan kaynaklanmaya başlar. Zamanla nematod vücudunun geçirgenliğinde de ani bir düşüş meydana gelir ve bu durum kaslardaki kasılmadan ziyade, kütikulanın fiziksel özelliklerindeki değişimden kaynaklandığı düşünülmektedir. Vücuttan su kaybının oranı ise; ortamın bağıl nemi, oluşan kümenin büyüklüğü ve su stresine maruz kalma durumuna göre değişkenlik göstermektedir (Wharton, 1996). İkinci gruba dahil olanlarda ise etraflarındaki toprak ya da yosun gibi unsurlara bağımlı olarak, su kaybını yavaşça gerçekleştirmek suretiyle hayatta kalınır (Wharton, 2004). Bu gruba örnek olarak, bakterivor nitelikteki ve yosunlu habitatlarda da bulunabilen *Panagrolaimus* Fuchs, 1930 cinsine bağlı türler ve ırklar verilebilir. Irkların çoğu yavaş su kaybedenler grubuna dahil edilmekte ve bireyleri su kaybını yavaşlatmak için kıvrılma ve toplanma davranışı göstermektedirler (Shannon et al., 2005).

Nematodlarda bu adaptasyona yönelik meydana gelen fizyolojik olaylar da incelenmiştir. Örneğin, anhidrobiyozis'e geçiş yapan *Steinernema carpocapsae* Weiser, 1955 (B) ırkında, kılıf-kütikula ayrımının gözlemlenebildiği dönemde oksijen tüketiminin %65 oranında azaldığı, nematodun kıvrılmış olduğu dönemde ise %14 oranında azaldığı belirlenmiştir (Chen et al., 2001). Bunun haricinde kurumaya karşı; lipid membranları ile proteinlerin korunması ve enerji unsuru olarak "trehaloz" önemli rol oynayan bir bileşik olarak ortaya çıkmaktadır (Behm, 1997; Higashiyama, 2002). Trehaloz'un nasıl işlev gördüğüne dair çeşitli yaklaşımlar Jain & Roy (2009) tarafından özetlenmiştir: Vitrifikasyon yaklaşımına göre, trehaloz camsı matriks yapı oluşturmak suretiyle hücre ve proteinler için bir kılıf işlevi görmektedir. Diğer bir yaklaşıma göre; trehaloz ile protein doğrudan etkileşim halinde değildir ve trehaloz ortama dahil olduğunda, su proteinden uzaklaşır. Bunun sonucunda ise hücre yoğunluğu ve stabilizasyonu artar. Sonuncu yaklaşım ise su ikamesi olarak nitelendirilmiştir. Buna göre trehaloz'un oluşturduğu hidrojen bağlarının, üç boyutlu yapı ve biyomolekül stabilizasyonunu sağladığı ileri sürülmektedir. Ayrıca, anhidrobiyozis'e bağlı olarak nematod bünyesinde gerçekleşen trehaloz sentezi ile bu adaptasyon şekli arasında kuvvetli korelasyon olduğu görülmektedir. Örneğin, bakterivor bir tür olan *Panagrolaimus superbus* (Fuchs, 1930) 'un kurumuş kütlelerinin %10'u trehaloz'dan oluşmaktadır (Shannon et al., 2005). Genlerin ekspresyona uğramaları da anhidrobiyozisten etkilenmekte ve kuraklık stresine maruz bırakılan *Aphelenchus avenae* Bastian, 1865 türünde, trehaloz sentezi için gen ekspresyonunun üç kat arttığı görülebilmektedir (Goyal et al., 2005).

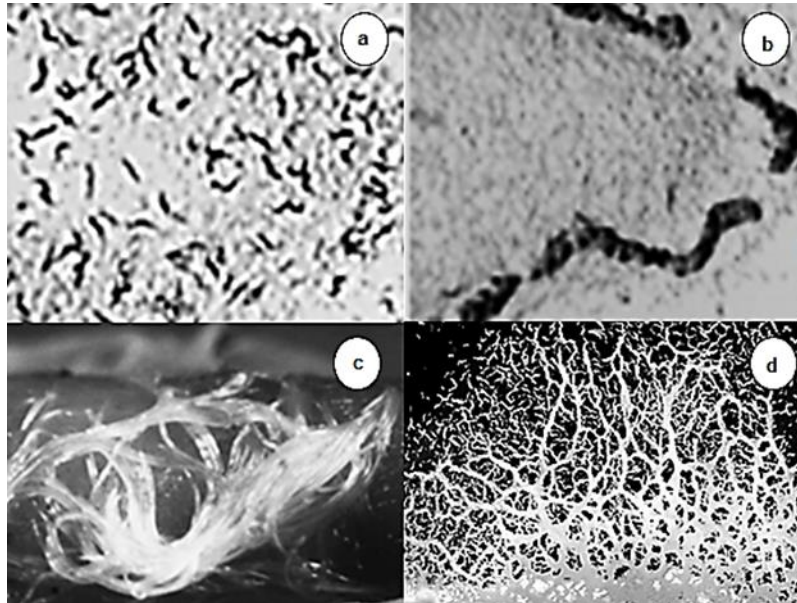
Davranış düzeyinde ise, anhidrobiyotik koşullarda yani nemin azalması ya da ortamda yeterli suyun bulunmaması durumlarında, nematodlarda *toplanma* ve *kıvrılma* olmak üzere iki ana davranış biçimi görülmektedir (Perry, 1999).

a) Toplanma (clumping) davranışı

Toplanma davranışı gerek enerjiyi muhafaza etmek gerekse çevrenin olumsuz etkilerinden korunmak için başvurulan bir mekanizma olarak yorumlanmakta (Wang et al., 2009) ve kendi içerisinde 'agregasyon' ve 'swarming' olmak üzere iki şekilde ifade edilmektedir (Wharton, 2004).

Agregasyon; su yada kültür ortamındaki nematodların, gerek spontan olarak (Şekil 1a, b) gerekse suyun ortamdaki evaporasyon yoluyla (Şekil 1c) kaybı sonucunda göstermiş oldukları **toplanma** davranışıdır (Wharton, 2004). Ayrıca agregasyon'un spontan olarak gelişen kısmında davranış, iki farklı dağılım biçiminde ortaya çıkabilmektedir. Örneğin, *Caenorhabditis elegans* Maupas, 1900'in soliter mutanlığı besin ortamı içerisinde homojen dağılırken (Şekil 1a); aynı türün sosyal mutanlığı ise besin ortamı içerisinde besinin en yoğun olduğu noktalarda toplanma davranışı göstermiştir (Şekil 1b) (De Bono & Bargmann, 1998). Agregasyonun evaporasyonla ilgili olan kısmında ise çok sayıda kurumuş nematod bireyi, yün yumağı şeklinde bir araya gelmekte (Şekil 1c) ve bu şekilde toprakta yıllarca canlı kalabilmektedir (Adams et al., 2015). Oluşan yumak şeklindeki bu yapının avantajı, iç kısımlarda bulunan bireylerdeki kurumaların yavaşça gerçekleşmesini sağlama yönündedir. Yumağın iç kısmında kalan nematodların ölüm oranı da, dış bölgede bulunanlara göre daha düşük olmakta ve kuruma stresine beş haftalık süre boyunca dahi maruz bırakılan nematolarda, hayatta en fazla kalanların yumağın iç kısmında bulunan bireyler olduğu tespit edilmiştir (Ellenby, 1968) (Şekil 1c).

Swarming ise nematodların kitle halinde bir lokasyondan diğerine koordineli hareket ederek gerçekleştirdikleri toplanma şekli olarak ifade edilmektedir (Wharton, 2004) (Şekil 1 d).

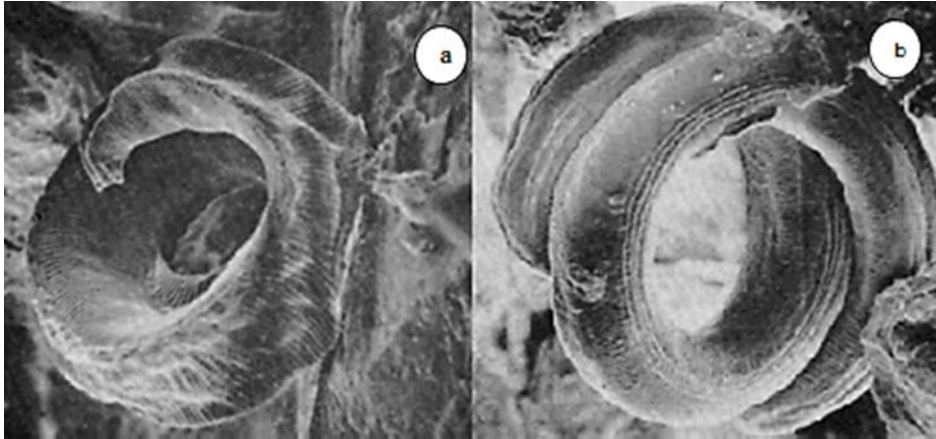


Şekil 1. Suyun ortamdaki spontan olarak uzaklaşması sonucu *Caenorhabditis elegans* Maupas, 1900 türüne bağlı bireylerde gerçekleşen toplanma a: soliter mutanlığı, b: sosyal mutanlığı (De Bono & Bargmann, 1998), c: evaporasyon sonucu kurumuş halde bitki parçası üzerinde bulunan *Ditylenchus dipsaci* bireyleri (Celetti, 2009), d: *Panagrellus redivivus* Linnaeus, 1767 türüne bağlı bireylerin kültür kabı üzerinde koordineli hareketleri (Wharton, 2004).

b) Kıvrılma davranışı

Nematodlarda kıvrılma davranışı, hava ile temas eden kütikula yüzey alanının küçültülmesi şeklinde ortaya çıkmaktadır. Hayvan ve bitki paraziti, entomopatojen ve serbest formda yaşayan nematod türlerinden birçoğu kıvrılma davranışı göstermekte ve bu davranış sayesinde, kuruma stresi boyunca nematodlarda su kaybı azaltılabilmektedir (Wharton, 2004) (Şekil 2).

Kıvrılma davranışı açısından diğer bazı streslerin de etkileri söz konusudur. Örneğin, genel bir kural olarak dış çevrede aşırı iyon yoğunluğuna bağlı osmotik stresin yaratacağı etki, organizmanın bünyesinden suyu uzaklaştıracağı için, kuruma (desiccation) ile sonuçlanacaktır. Kuruma tepkisi dikkate alındığında ise; gerek anhidrobiyozis gerekse osmobiyozis uyumları bu yönleriyle benzer olup, eş zamanlı ya da nematod üzerinde benzer davranışları uyarmak suretiyle ortaya çıkabilecekleri düşünülebilir. Bu durumu ifade eden çalışmada (Otsubo et al., 2006); osmotik stres süresince *A. avenae* türünün, eş zamanlı olarak anhidrobiyozis için de fizyolojik olarak kendisini hazırlayabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca, kuruma sonrasında kıvrılma ile canlılık arasında pozitif korelasyon bulunmuşken, türün bazı bireylerinin kıvrılma davranışı göstermeksizin, benzer oranda canlılıklarını geri kazanabileceklerini de belirtmişlerdir. Sonuç olarak; benzer canlılık oranları ve fizyolojik değişimlerin, davranışa kıyasla, canlılık açısından daha önemli olduğu fikrinden yola çıkarak; nematodun kuruma sonucunda kıvrılma davranışına her zaman ihtiyaç duymayacağını ifade etmişlerdir.



Şekil 2. Toprak partikülleri içerisindeki a: *Acroboloides* sp. (Walter & Lindquist, 1989) ve b: *Scutellonema brachyurum* (Steiner, 1938) Andrassy, 1958 türlerinin Taramalı Elektron Mikroskoptaki (TEM) görüntüleri (Demeure et al., 1979).

Düşük sıcaklık stres koşuluna karşı adaptasyon (Cryobiyozis)

Düşük sıcaklık koşullarına karşı hayatta kalmaya imkan veren bir adaptasyon şeklidir (Wharton, 1986). Azalan sıcaklıkla birlikte genellikle nematodların aktiviteleri de düşmektedir. Ancak, 0°C'nin altındaki sıcaklıklarda, ortam donmadığı sürece nematodlar hareketlerine devam edebilmektedirler (Wharton, 2004).

Nematodlar, önceden sıfırın üzerindeki düşük sıcaklık derecesine maruz bırakıldıklarında, sonrasında dışarıdan gelebilecek ani dondurucu sıcaklık dereceleriyle karşılaşmaları durumunda, bu bireylerin toleranslarının arttığı tespit edilmiştir. Örneğin, kök-ur nematodu *Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949 'nın polietilen glikol ortamındaki 2. dönem larvaları, ilk önce -4°C, 0°C, 4°C veya 24°C sıcaklığa maruz bırakıldıktan sonra, -4°C'de 24 saat süresince dondurulmuşlardır. Sonrasında çözülen nematodların canlılık faaliyetleri gözlemlendiğinde, önceden 4°C'ye maruz bırakılan nematodlarda çözülme sonrası hayatta kalan birey sayısının en fazla olduğu gözlenmiştir (Forge & MacGuidwin, 1992).

Entomopatojen nematodlarda ise bu durum, konukçu içinde veya dışında bulunmalarına göre değerlendirilmiştir. *Steinernema feltiae* Filipjev, 1934'nin enfektif larvaları; iki hafta süresince 5°C'de *Galleria mellonella* Linnaeus, 1758 larvaları içinde ve dışında ön bekletmeye tabi tutulmuş ve hemen sonrasında yavaş dondurma metoduyla bir gece boyunca sıfırın altındaki farklı sıcaklıklara maruz bırakılmıştır. 5°C'de ön bekletmeye alınan enfektif larvalar; sonrasında ani dondurucu sıcaklık -12°C ile karşılaşmaları durumunda gerek konukçu içinde gerekse konukçu dışında %80 oranında canlı kalmışlardır. Dolayısıyla düşük sıcaklık derecelerinde ön bekletmeye alınan nematodların, sonrasında karşılaşılan daha düşük dondurucu sıcaklıklara toleranslarının arttığı görülmektedir. Aynı çalışmada *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 türünün iki hafta süresince 5°C'de konukçu dışında ön beklemeden sonra, yavaş dondurma metoduyla bir gece (birinci grup) ve hızlı dondurma metoduyla bir saat (ikinci grup) bekletilmiş enfektif larvaları ile ön bekleme tabi tutulmayan ve yavaş dondurma metoduyla dondurulan enfektif larvaları (üçüncü grup) kıyaslanmıştır. Bahsi geçen üç grup için de -9°C, -10°C, -11°C, -12°C ve -13°C gibi daha düşük dondurucu sıcaklıkla karşılaşmaları durumunda bütün sıcaklık derecelerinde %60 oranında canlı kalmışlardır. Her bir grup için en yüksek hayatta kalma oranı ise -9°C ve -10°C 'de %80'nin üzerinde gerçekleşmiştir. Çalışmada ayrıca, *S. feltiae* ve *H. bacteriophora* türlerinin enfektif larvaları -3°C, -7°C ve -13°C'ye maruz bırakılıp çözündükten sonra, kontrol grubu ile benzer olarak, *G. mellonella* larvalarında %80'nin üzerinde ölüm meydana getirmişlerdir (Ali & Wharton, 2013).

Bitki paraziti ve entomopatojen nematodlardan farklı olarak; düşük sıcaklığın etkilerine karşı diğer bir çalışma Antarktika'ya uyum sağlamış nematod, *Panagrolaimus davidi* Timm, 1971 türü ile yürütülmüştür. *P. davidi*, -20°C'ye kadar hızla dondurulmuş ve devamında oda sıcaklığında 24 saat bekletilen nematodların %72.8±8.7 oranında tekrar canlı olarak elde edilebildikleri belirlenmiştir. Sonrasında bu nematodlar, 15°C'de tekrar gözlenmiş ve bireylerin yumurta bırakıp bir sonraki jenerasyonu meydana getirebildikleri de görülmüştür (Wharton & Ferns, 1995).

Düşük sıcaklığın yarattığı denatürasyon ve inaktivasyon karşısında, proteinlerin ve hücre membranlarının korunması işlevini ise yine trehaloz üstlenmektedir. Ayrıca karbon ve enerji kaynağı olarak da işlev gördüğü düşünülmektedir (Elbein et al., 2003). Örneğin; entomopatojen nematodlar *Steinernema carpocapsae* Weiser, 1955, *S. feltiae* ve *Steinernema riobrave* Cabanillas, Poinar & Raulston, 1994 türlerinin 5°C'de ön bekletmeye alınan enfektif larvalarında, bir haftalık süre içerisinde, önemli düzeylerde trehaloz artışı olduğu tespit edilmiştir. Aynı türlerin 25°C'de ön bekletmeye alınan enfektif larvalarında ise, aynı sürede, her üç tür için de trehaloz miktarları önemli farklılıklar göstermemiştir (Grewal & Jagdale, 2002). Düşük sıcaklık stresinin gen düzeyinde yol açtığı değişiklikler de belirlenmiş ve bu stres açısından uyarılan *A. avenae* türünde *tps* gen ekspresyonunda az miktarda artışın gerçekleştiği tespit edilmiştir (Goyal et al., 2005).

Yüksek sıcaklık stres koşuluna karşı adaptasyon (Thermobiyozis)

Bu adaptasyon, nematodların yüksek sıcaklık koşullarına karşı sergilediği quiescence dönemlerinden birisidir (Wright & Perry, 2006). Nematodlarda 30°C üzerindeki sıcaklık değerleri canlılık açısından risk oluştururken, sıcaklık 50°C'ye ulaşmaya başladığında ise ölüm gerçekleşebilmektedir (Wharton, 2004). Yüksek sıcaklıklara karşı nematodlarda kaçma, kıvrılma, koruyucu yanıtlar oluşturma ve yumurta açılımının geciktirilmesi şeklindeki davranışlardan söz etmek mümkündür (Perry, 2002; Wharton, 2004). Bu davranışlar sayesinde, yüksek sıcaklığın olumsuz etkilerine karşı koyabilmektedirler. Nematodlar, vücut sıcaklıklarındaki değişimleri yönetmek amacıyla, büyük sıcaklık değişimlerinin görüldüğü toprak yüzeyinden, sıcaklık değişimlerinin daha az olduğu toprak derinliklerine doğru kaçma davranışı sergilemektedirler (Ramot et al., 2008). Bunun haricinde, *Helicotylenchus dihystera* Cobb, 1893 türünün popülasyonu ölümcül olarak kabul edilen 45°C'ye maruz bırakıldığında, yaklaşık 30 dakikalık sürede, bireylerin %50 oranında kıvrılma davranışı göstermeleri sayesinde, yüzey alanlarını küçültülerek

yüksek sıcaklığa karşı koyabilmektedirler (Azmi, 1979). Koruyucu yanıtlar oluşturmak açısından bakıldığında ise, diğer streslerde olduğu gibi trehaloz'un önemli rol oynadığı görülmektedir. Sıcaklığa uyumları farklı olan *S. feltiae*, *S. carpocapsae* ve *S. riborave* türlerinde, sıcaklık stresi karşısında bu bileşiğin sentezinin arttığı görülmüştür (Jagdale & Grewal, 2003). Yüksek sıcaklığa karşı diğer bir strateji yumurta açılımının gecikmesi olup, 52.5°C'den yüksek sıcaklıklarda *H. schachtii*'nin yumurta açılımında gecikme görülürken, sıcaklığın düşmeye başlamasıyla beraber, zamana da bağlı olarak yumurta açılımının arttığı gözlenmiştir (D'Addabbo et al., 2005).

Artan sıcaklığın etkilerine bakıldığında, proteinlerin bütünlüğündeki dengenin bozulduğu ve bunun tekrar sağlanması açısından, ısı şok proteinlerinin (Heat Shock Protein=HSP) nematod bünyesinde görev aldığı görülmektedir. Bu proteinlerin görevi, hücre içi dengede işlevi olan ancak katlanmamış ya da yanlış katlanmış proteinleri hücreden uzaklaştırarak, dengeyi tekrar sağlamaktır (Devaney, 2011). Buna göre *C. elegans* türü, 30°C'de 3 saat boyunca sıcaklık stresine maruz bırakıldığında, stres karşısında HSP16 protein familyasına dahil proteinlerin sentezlendiği belirlenmiştir. Ayrıca, nematodun pharynx ve intestin'inde bazı gen ekspresyonlarının gerçekleştiği ve yalnızca bu dokulara özgü olduğu da tespit edilmiştir (Shim et al., 2003). HSP'ler entomopatojen nematodlar üzerinde de yüksek sıcaklık stresine karşı olumlu etki sağlamaktadır. Örneğin, *H. bacteriophora* (HP88) türünün enfektif larvaları 35°C'de bekletildiğinde HSP miktarının önemli düzeyde arttığı ve sonrasında nematodun 40°C'deki canlılık süresinin de artış gösterdiği belirlenmiştir (Selvan et al., 1996).

Oksijene bağlı stres koşulu na karşı adaptasyon (Anoksibiyozis)

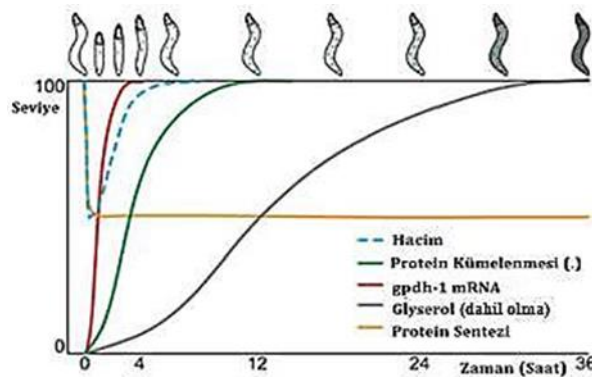
Nematodlarda yumurtanın açılması, yumurta içerisindeki larvanın büyüme ve gelişmesi, hareket ve kasların kasılması gibi olaylar açısından oksijen önem arz etmektedir (Atkinson, 1980; Cheng, 1986). Oksijenin ortamda var olmaması ya da düşük miktarlarda bulunması, nematodlarda bu adaptasyon şeklini ortaya çıkarmakta ve bu durum anoksibiyozis olarak adlandırılmaktadır (Demeure & Freckman, 1981). Ortamın suya aşırı doymuş olması ve üst seviyelerdeki organik aktivite, nematodlar üzerinde oksijene bağlı stres oluşturmaktadır (Wharton, 2002a; Wright & Perry, 2006). Örneğin bitki paraziti olmayan nematodlarda, ortamın %5 düzeyindeki O₂ varlığı üremeyi kayda değer oranda azaltırken; oksijen %4'ün altına düştüğünde ise üreme tamamen durabilmektedir (Cooper et al., 1970). Bitki paraziti türlerden *Nothanguina phyllobia* (Thorne) Thorne,1961 türünde ise, ortamdaki oksijen varlığı 0.8 ppm'in altına düştüğünde aktivite keskin bir biçimde düşmekte, 0.4 - 0.1 ppm düzeyine gelindiğinde aktivite sıfır olmaktadır (Robinson et al., 1981). Ayrıca oksijenin düşük ve yüksek konsantrasyonları, birbirine yakın zaman aralıklarında (≤ 5 gün) dalgalanma gösterdiği takdirde, nematod populasyon artışı da sekteye uğramaktadır (Cooper et al, 1970). Oksijenin azalmaya başladığı süreçte metabolik faaliyetler incelendiğinde; normalde aerobik (oksidatif) koşullarda nötr yağ kaynakları tüketilirken, anaerobik (fermantatif) koşullara geçilmeye başlandığında ise nötr yağ kullanımı azaltılır ve oksijenin de belli düzeyin altına inmesiyle birlikte, nötr yağlar hiç katabolize edilmeyebilir. Örneğin bazı türler için, oksijen yoğunluğu %4'ün altına düştüğünde nötr yağlar hiç kullanılmaz ve ortamdaki nematodun oksijen alımı da tamamen durabilir. Bunun yerine fermentasyon yoluyla glikojen tüketilmeye başlanır ve türlerin yaşam süresi glikojeni etkin kullanma durumlarına göre şekillenir (Cooper & Van Gundy, 1971a).

Nematodlarda, oksijenin ortamda mevcut olmadığı anaerobik koşullar altında meydana gelen değişimler de tespit edilmiştir. Bitki paraziti nematodlar anaerobik son ürün olarak etanol üretilmektedirler. Etanol haricinde asetat, laktat, süksinat ve gliserol gibi ürünler de sentezlenebilmekte ve anaerobik şartlara periyodik olarak maruz kalındığında ise; bu anaerobik son ürünler tekrar karbonhidratların sentezi ve yapının korunması açısından önemli olmaktadır. Örneğin aktif gliksilat döngüsü, son ürün olan etanol'den tekrar karbonhidrat sentezine imkân vermektedir (Wright & Perry, 2006). Mikofag nematod *A. avenae* türünde, anaerobik fermentasyonun son ürünü olarak etanol üretilmekte ve bu üretimin %75-80'lik kısmı glikoje'nin katabolize edilmesi suretiyle gerçekleşmektedir.

Ayrıca nematod bünyesindeki etanol'ün %50'den fazlasının CO₂ gazına dönüşmesinin, canlılığın devamı açısından önemli olduğu da ifade edilmektedir (Cooper & Van Gundy, 1971b). Aerobik koşullara geri döndüğünde ise nötr lipid kaynakları kullanılmak suretiyle, normal koşullarda nematod bünyesinde bulunması gereken glikojen tekrar sentezlenir. Bu süreç geri dönüşümlüdür ve yeterli miktarda nötr yağ rezervi bulunmasına bağlı olarak gerçekleşmektedir (Cooper & Van Gundy, 1970).

Osmotik stres koşuluna karşı adaptasyon (Osmobiyozis)

Osmobiyozis, nematodların osmotik stres koşullarına karşı sergilediği quiescence dönemidir (Wright & Perry, 2006). Dış ortamdaki yüksek sodyum klorür (NaCl) yoğunluğu osmotik strese yol açmakta ve hücrenin osmotik dengesi bozulmaktadır (Lamitina et al., 2004). Bu dengenin bozulduğu durumlarda, su kaybına bağlı olarak hücre içi sitoplazmik iyon direnci de artmakta ve iyon direnci artışıyla birlikte hücre içi protein tahribatı gerçekleşmektedir. Tahrip olan proteinler uyaran işlevi görerek onarıcı olan genleri aktif hale getirmekte ve onarıcı genlerin aktivasyonundaki artışla beraber, organik osmolit olan gliserol sentezi gerçekleşmektedir. Bunu takiben gliserol'un, sitoplazma içerisindeki inorganik iyonlar ile yer değiştirerek, tahrip olan proteinlerin katlanıp tekrar organize olması yönünde işlev görmesiyle birlikte, hücre içi osmotik denge tekrar sağlanmaktadır (Lamitina et al., 2006) (Şekil 3: yeşil eğri). Ayrıca gliserol'ün hidrojen ve hidroksil gruplarının sudakine benzer biçimde yönlendirilmiş olmasından dolayı, suyun geçtiği membran kanallarından kolayca geçebileceği ileri sürülmekle birlikte (Storey, 1997); membranlardan geçişini kolaylaştıran taşıyıcı proteinlerin mevcut olması (Reizer et al., 1993) suyla kolayca bir araya gelerek ortamda çözünür yapıda kalması gibi özellikleri (Bagchi, 2013) mevcuttur ve bu sayede gliserol, suyun kuvvetle tutulduğu çevrenin tersi yönde yığılıp, su akışını bulunduğu yöne yönlendirerek (Womersley 1978'e atfen Womersley & Smith, 1981) tek başına ya da thaloz gibi diğer moleküllerle birlikte, kurumuş membran yapıların tekrar kaynaşmasını sağlar (Crowe et al., 1984). Dolayısıyla asıl dengeleyici unsur gliserol, trehaloz vb. organik osmolitlerdir (Lamitina et al., 2004; Burg & Ferraris, 2008). Bu durum *C. elegans* türü nematod üzerinde Choe (2013) tarafından incelenmiştir. Buna göre, *C. elegans* hipertonic stres ortamına maruz bırakıldığında, vücutta büzülme gerçekleşmiştir. Bunun sebebi, mevcut protein (poliglutamin) sentezinin sekteye uğramasıdır (Şekil 3: turuncu eğri). Sonrasında ise gpdh-1 geni aktif hale geçerek gliserol artışına neden olmakta ve hücre içi osmotik denge tekrar sağlanmaktadır. Nematodun sağlıklı vücut şeklini alması da 4-6 saat sürmüş ve bünyedeki gliserol seviyesi 1 günlük süre sonunda dengeli bir seyir izlemeye başlamıştır (Şekil 3).



Şekil 3. Osmotik strese bağlı olarak nematod bünyesinde ortaya çıkan değişimler (Choe, 2013).

Osmotik stres durumunda gliserol haricinde sentezlenen diğer bir bileşik ise trehaloz'dur. Osmotik koşullar altında *S. carpocapsae* türünün enfektif larvaları; gliserol'ün yanında trehaloz sentezi de gerçekleştirmek suretiyle, enzim sistemleri ve membran yapılarının bütünlüğünü koruyabilmektedirler (Qiu et al., 2000). Örneğin, osmotik stres ortamlarına maruz bırakılan *S. carpocapsae*'nin enfektif larvalarındaki gliserol ve trehaloz sentezleri karşılaştırıldığında, gliserol belli bir seviyeye ulaştıktan sonra

sabit kalırken, trehaloz seviyesinin ise sürekli artarak daha fazla miktarda üretildiği belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca strese maruz kalan nematodlarda herhangi bir morfolojik anormallik gözlenmemiş olup, stres sonrasında %90'ın üzerinde canlılığın geri kazanıldığı, ancak larvaların gömlek değiştirme ya da beslenme davranışı göstermedikleri görülmüştür (Qiu & Bedding, 2002).

Ozmotik stres karşısında genlerin aktivasyonu açısından bazı değişimler de mevcuttur. Örneğin, *Steinernema* ve *Heterorhabditis* cinslerine bağlı entomopatojen nematodların ozmotik strese karşı zayıf ve iyi derecede tolerans gösteren türleri, gen aktivasyonu açısından farklılıklar göstermektedir. Buna göre *sod-2* geninin ekspresyonları arasında türlere göre önemli bir fark gözlenmemişken, *fat-2* geninin ekspresyonunda bütün türler arasında önemli derecede fark görülmüştür (Yan et al., 2012). Benzer bir şekilde, osmotik stres'e maruz kalan *A. avenae* türünde ise farklı bir gen grubu olarak *tps* gen ekspresyonununun gerçekleştiği tespit edilmiştir (Goyal et al., 2005).

Sonuç

Nematodların sahip oldukları genetik özellikler, morfolojik yapıları ve bünyelerindeki fizyolojik olaylar bu canlıların hayatta kalmaları ve farklı yaşam alanlarına yayılmaları açısından önemlidir. Davranışlar; genlere bağlı olarak, fizyolojik ve biyokimyasal olayların sonucunda ortaya çıkmakta ve davranışların görünürdeki yardımcıları morfolojik adaptasyonlar iken, moleküler düzeyde gerçekleşen değişimlerin ise adaptasyonların belirleyicisi olduğu görülmektedir.

Stres durumlarına karşı verilen yanıtlar, benzer çevresel uyarana bağlı olarak ortaya çıkabilir. Hâlihazırda cryobiyozis, osmobiyozis ve anhidrobiyozis durumlarının her üçü de normal metabolizma reaksiyonları için ihtiyaç duyulan suyun, ulaşılabilir olmadığı durumlarda geçerlidir (Demeure & Freckman, 1981). Dolayısıyla, söz konusu streslere karşı kullanılan davranışlar arasında da benzerlikler bulunabilir: bitki paraziti nematod, eski derisini vücudu üzerinde muhafaza ederek kuruma stresine yanıt verirken (Gaur & Perry, 1991), entomopatojen olanlar ise konukçularının kadavra derileri sayesinde donmaya karşı hayatta kalma davranışı gösterebilirler (Lewis & Shapiro-Ilan, 2002).

Fizyolojik açıdan da durum benzerdir. Trehaloz; kuruma, donma ve ozmotik streslerin her üçü açısından işlev görebilmektedir (Behm, 1997; Higashiyama, 2002). Dolayısıyla nematodların birden fazla strese aynı anda karşılaşmaları durumunda, bir strese karşı sentezledikleri maddelerle önlem alırken, dolaylı olarak diğer bir stres durumu ile de mücadele edebilme yeteneğinde oldukları görülmektedir. Diğer taraftan, stres durumlarına karşı tek bir madde ile mücadele edilmeyip, benzer işlevleri gören diğer bir ek bileşikte salgılanabilmektedir. Bu açıdan aynı stres durumu için birden fazla madde farklı oranlarda işlev görerek, tek bir madde ile strese karşı koymak yerine, birden fazla stratejiye başvurarak kendileri için avantaj yarattıkları düşünülebilir.

Sonuç olarak, doğada seleksiyon yoluyla sürekli olarak yeni varyasyonların ortaya çıktığı düşünüldüğünde; streslere verilen yanıtları, etkileşimleri daha iyi anlamak ve bunlardan yararlanmak amacıyla: hangi genlerin ne şekilde aktif hale geçtikleri, benzer ya da farklı genlerin aynı anda ortaya çıkan stresler açısından eş zamanlı olarak aktiflik durumları, aynı stresler karşısında nematodun konukçularında da benzer mekanizmaların varlığı, koruyucu işlev gören moleküllerin hangi yollar aracılığıyla sentezlendiği, dayanımları ve stres esnasında enerji sağlama açısından işlevleri gibi konuların detaylandırılması; zararlı nematodları yönetmek, faydalı olanları ise daha işlevsel kullanmak açısından önemli olacaktır.

Yararlanılan Kaynaklar

- Adams, C., M. Early, J. Brook & K. Bamford, 2015. Principles of Horticulture: Level 3. Routledge, 300 pp.
- Ali, F. & D.A. Wharton, 2013. Cold tolerance abilities of two entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora*. *Cryobiology*, 66 (1): 24-29.
- Alpert, P., 2005. The limits and frontiers of desiccation-tolerant life. *Integrative and Comparative Biology*, 45 (5): 685-695.
- Atkinson, H.J., 1980. "Respiration in Nematodes, 101-142". In: *Nematodes as Biological Models. Volume 2, Aging and Other Model Systems.* (Ed. B. M. Zuckerman). Academic Press Inc., New York, USA, 306 pp.
- Azmi, M.I., 1979. Responses to temperature in nematodes I: Mechanism of heat tolerance in *Helicotylenchus dihystera*. *Nematologia Mediterranea*, 7 (2): 163-175.
- Bagchi, B., 2013. *Water in Biological and Chemical Processes: From Structure and Dynamics to Function.* Cambridge University Press, University Printing House, Cambridge CB2 8BS, United Kingdom, 374 pp.
- Behm, C.A., 1997. The role of trehalose in the physiology of nematodes. *International Journal for Parasitology*, 27 (2): 215-229.
- Burg, M.B. & J.D. Ferraris, 2008. Intracellular organic osmolytes: Function and regulation. *The Journal of Biological Chemistry* 283 (12): 7309–7313.
- Celetti, M., 2009. Bulb and Stem Nematodes in Garlic. (Web sayfası: <http://www.garlicgrowers.on.ca/documents/GGAO-celetti-bulb-stem-nematodes-garlic.pdf> (Erişim tarihi: 16.05.2016).
- Chen, S., H. Yang & S. Jiang, 2001. Morphology and oxygen consumption of *Steinernema carpocapsae* in anhydrobiosis. *Kun chong xue bao. Acta Entomologica Sinica*, 44 (1): 62-67.
- Cheng, T.C., 1986. *General Parasitology, Second Edition.* Academic Press, Inc., Orlando, Florida, USA, 827 pp.
- Choe, K.P., 2013. Physiological and molecular mechanisms of salt and water homeostasis in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 305 (3): 175-186.
- Cooper Jr, A.F. & S.D. Van Gundy, 1970. Metabolism of glycogen and neutral lipids by *Aphelenchus avenae* and *Caenorhabditis* sp. in aerobic, microaerobic and anaerobic environments. *Journal of Nematology*, 2 (4): 305.
- Cooper Jr, A.F. & S.D. Van Gundy, 1971a. "Senescence, Quiescence and Cryptobiosis, 297-318". In: *Plant Parasitic Nematodes, Volume II. Cytogenetics, Host-Parasite Interactions, and Physiology.* (Eds. B. M. Zuckerman, W. F. Mai & R. A. Rohde). Academic Press, Inc., New York and London, 347 pp.
- Cooper Jr, A.F. & S.D. Van Gundy, 1971b. Ethanol production and utilization by *Aphelenchus avenae* and *Caenorhabditis* sp. *Journal of Nematology*, 3 (3): 205.
- Cooper Jr, A.F., S.D. Van Gundy & L.H. Stolzy, 1970. Nematode reproduction in environments of fluctuating aeration. *Journal of Nematology*, 2 (2): 182.
- Cossins, A.R. & K. Bowler, 1987. *Temperature Biology of Animals.* London & New York, Chapman & Hall, 339 pp.
- Crowe, L.M., R. Mouradian, J.H. Crowe, S.A. Jackson & C. Womersley, 1984. Effects of carbohydrates on membrane stability at low water activities. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 769 (1): 141-150.
- D'Addabbo, T., N. Sasanelli, N. Greco, V. Stea & A. Brandonisio, 2005. Effect of water, soil temperatures, and exposure times on the survival of the sugar beet cyst nematode, *Heterodera schachtii*. *Phytopathology*, 95 (4): 339-344.
- De Bono, M. & C.I. Bargmann, 1998. Natural variation in a neuropeptide Y receptor homolog modifies social behavior and food response in *C. elegans*. *Cell*, 94 (5): 679-689.
- De Guiran, G., 1979. A necessary diapause in root-knot nematodes: Observations on its distribution and inheritance in *Meloidogyne incognita*. *Revue de Nématologie*, 2: 223-231.
- Demeure, Y. & D.W. Freckman, 1981. "Recent Advances in the Study of Anhydrobiotic Nematodes, 205-226". In: *Plant Parasitic Nematodes Volume III.* (Eds. B. M. Zuckerman & R. A. Rohde). Academic Press, Inc., New York, USA, 508 pp.
- Demeure, Y., D.W. Freckman & S.D. Van Gundy, 1979. Anhydrobiotic coiling of nematodes in soil. *Journal of Nematology*, 11 (2): 189.
- Devaney, E., 2011. "Thermobiotic Survival, 233-255". In: *Molecular and Physiological Basis of Nematode Survival* (Eds. R. N. Perry & D. A. Wharton). CPI Antony Rowe, Chippenham, CABI, UK, 320 pp.

- Elbein, A.D., Y.T. Pan, I. Pastuszak & D. Carroll, 2003. New insights on trehalose: a multifunctional molecule. *Glycobiology*, 13 (4): 17-27.
- Ellenby, C., 1968. Desiccation survival in the plant parasitic nematodes, *Heterodera rostochiensis* Wollenweber and *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn) Filipjev Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 169 (1015): 203-213.
- Evans, A. A.F. & R.N. Perry, 2009. "Survival Mechanisms, 201-222". In: Root-Knot Nematodes (Eds. R. N. Perry, M. Moens & J. L. Starr). MPG Books Group, CABI, UK, 488 pp.
- Forge, T.A. & A.E. MacGuidwin, 1992. Impact of thermal history on tolerance of *Meloidogyne hapla* second-stage juveniles to external freezing. *Journal of Nematology*, 24 (2): 262.
- Gaur, H.S. & R.N. Perry, 1991. The role of the moulted cuticles in the desiccation survival of adults of *Rotylenchulus reniformis*. *Revue de Nématologie*, 14 (4): 491-496.
- Goyal, K., J.A. Browne, A.M. Burnell & A. Tunnacliffe, 2005. Dehydration-induced tps gene transcripts from an anhydrobiotic nematode contain novel spliced leaders and encode atypical GT-20 family proteins. *Biochimie*, 87 (6): 565-574.
- Grewal, P.S. & G.B. Jagdale, 2002. Enhanced trehalose accumulation and desiccation survival of entomopathogenic nematodes through cold preacclimation. *Biocontrol Science and Technology*, 12 (5): 533-545.
- Higashiyama, T., 2002. Novel functions and applications of trehalose. *Pure and Applied Chemistry*, 74 (7): 1263-1269.
- Ingham, R.E., D. Kroese & I.A. Zasada, 2015. Effect of storage environment on hatching of the Cyst nematode *Globodera ellingtonae*. *Journal of Nematology*, 47 (1): 45.
- Jagdale, G.B. & P.S. Grewal, 2003. Acclimation of entomopathogenic nematodes to novel temperatures: trehalose accumulation and the acquisition of thermotolerance. *International Journal for Parasitology*, 33 (2): 145-152.
- Jain, N.K. & I. Roy, 2009. Effect of trehalose on protein structure. *Protein Science*, 18 (1): 24-36.
- Lamitina, S.T., R. Morrison, G.W. Moeckel & K. Strange, 2004. Adaptation of the nematode *Caenorhabditis elegans* to extreme osmotic stress. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 286 (4): 785-791.
- Lamitina, T., C.G. Huang & K. Strange, 2006. Genome-wide RNAi screening identifies protein damage as a regulator of osmoprotective gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103 (32): 12173-12178.
- Lewis, E.E. & D.I. Shapiro-Ilan, 2002. Host cadavers protect entomopathogenic nematodes during freezing. *Journal of Invertebrate Pathology*, 81 (1): 25-32.
- McSorley, R., 2003. Adaptations of nematodes to environmental extremes. *Florida Entomologist*, 86 (2): 138-142.
- Otsubo, R., T. Yoshiga, E. Kondo & N. Ishibashi, 2006. Coiling is not essential to Anhydrobiosis by *Aphelenchus avenae* on agar amended with sucrose. *Journal of Nematology*, 38 (1): 41-45.
- Perry, R.N. & G.A. Maule, 2004. "Physiological and Biochemical Basis of Behaviour, 197-238". In: Nematode Behaviour (Eds. R. Gaugler & A. L. Bilgrami). CABI, Cromwell Press, Trowbridge, UK, 419 pp.
- Perry, R.N., 1999. Desiccation survival of parasitic nematodes. *Parasitology*, 119: 19-30.
- Perry, R.N., 2002. "Hatching, 294-397". In: The Biology of Nematodes (Ed. D. L. Lee). Taylor & Francis Inc., New York, 1268 pp.
- Precht, H., 1958. Concepts of the temperature adaptation of unchanging reaction systems of cold-blooded animals. *Physiological Adaptation, American Association for the Advancement of Science* 351-376 pp.
- Qiu, L. & R.A. Bedding, 2002. Characteristics of protectant synthesis of infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* and importance of glycerol as a protectant for survival of the nematodes during osmotic dehydration. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 131 (4): 757-765.
- Qiu, L., M.J. Lacey, & R.A. Bedding, 2000. Permeability of the infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* to glycerol during osmotic dehydration and its effect on biochemical adaptation and energy metabolism. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 125 (3): 411-419.
- Ramot, D., B.L. MacInnis, H.C. Lee & M.B. Goodman, 2008. Thermotaxis is a robust mechanism for thermoregulation in *Caenorhabditis elegans* nematodes. *The Journal of Neuroscience*, 28 (47): 12546-12557.

- Reizer, J., A. Reizer & M.H. Saier, 1993. The MIP family of integral membrane channel proteins: Sequence comparisons, evolutionary relationships, reconstructed pathway of evolution, and proposed functional differentiation of the two repeated halves of the proteins. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 28 (3): 235-257.
- Robinson, A.F., C.C. Orr & C.E. Heintz, 1981. Effects of oxygen and temperature on the activity and survival of *Nothanguina phyllobia*. *Journal of Nematology*, 13 (4): 528–535.
- Selvan, S., P.S. Grewal, T. Leustek & R. Gaugler, 1996. Heat shock enhances thermotolerance of infective juvenile insect-parasitic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Experientia*, 52 (7): 727-730.
- Shannon, A.J., J.A. Browne, J. Boyd, D.A. Fitzpatrick & A.M. Burnell, 2005. The anhydrobiotic potential and molecular phylogenetics of species and strains of *Panagrolaimus* (Nematoda, Panagrolaimidae). *Journal of Experimental Biology*, 208 (12): 2433-2445.
- Shim, J., S.H. Im & J. Lee, 2003. Tissue-specific expression, heat inducibility, and biological roles of two hsp16 genes in *Caenorhabditis elegans*. *FEBS Letters*, 537 (1): 139-145.
- Sommerville, R.I. & K.G. Davey, 2002. Diapause in parasitic nematodes: a review. *Canadian Journal of Zoology*, 80 (11): 1817-1840.
- Storey, K. B., 1997. Organic solutes in freezing tolerance. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 117 (3): 319-326.
- Tahseen, Q., 2012. Nematodes in aquatic environments: Adaptations and survival strategies. *Biodiversity Journal*, 3 (1): 13-40.
- Townshend, J.L., 1984. Anhydrobiosis in *Pratylenchus penetrans*. *Journal of Nematology*, 16 (3): 282.
- Wang, C., S. Lower & V.M. Williamson, 2009. Application of pluronic gel to the study of root-knot nematode behaviour. *Nematology*, 11 (3): 453-464.
- Wharton, D. & D. Ferns, 1995. Survival of intracellular freezing by the Antarctic nematode *Panagrolaimus davidi*. *Journal of Experimental Biology*, 198 (6): 1381-1387.
- Wharton, D., 1996. Water loss and morphological changes during desiccation of the anhydrobiotic nematode *Ditylenchus dipsaci*. *The Journal of Experimental Biology*, 199 (5): 1085-1093.
- Wharton, D.A. 2004. "Survival Strategies, 371-400". In: *Nematode Behaviour* (Eds. R. Gaugler & A. L. Bilgrami). CABI, Cromwell Press, Trowbridge, UK, 419 pp.
- Wharton, D.A., 2002a. "Nematode Survival Strategies, 757-800". In: *The Biology of Nematodes* (Ed. D. L. Lee). CRC Press., London, UK, 648 pp.
- Wharton, D.A., 2002b. *Life at the Limits: Organisms in Extreme Environments*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 307 pp.
- Wharton, D.A., 1986. *A Functional Biology of Nematodes*. Croom Helm, London & Sydney. Softcover reprint of the hardcover 1st Edition. 192 pp.
- Womersley, C. & L. Smith, 1981. Anhydrobiosis in nematodes-I: The role of glycerol myo-inositol and trehalose during desiccation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 70 (3): 579-586.
- Womersley, C., 1978. *Physiological and Biochemical Aspects of Anhydrobiosis in Some Plant-Parasitic and Free-Living Nematodes*. Ph.D. Thesis. University of Newcastle Upon Tyne, England, 330 pp.
- Womersley, C., 1987. "A Reevaluation of Strategies Employed by Nematode Anhydrobiotes in Relation to Their Natural Environment, 165-173". In: *Vistas on Nematology*, (Eds. J. A. Veech & D. W. Dickson). Society of Nematologists Inc. Hyattsville, Maryland, 509 pp.
- Wright, D.J. & R.N. Perry, 2006. "Reproduction, Physiology and Biochemistry, 187-209". In: *Plant Nematology* (Eds. R. N. Perry & M. Moens). CABI, Biddles Ltd, King's Lynn, UK, 447 pp.
- Yan, X., R. Han, S. Chen, M. Moens & P. De Clercq, 2012. Differential gene expression after osmotic induction in various species of entomopathogenic nematodes. *Russian Journal of Nematology*, 20 (2): 167-170.
- Zheng, L. & H. Ferris, 1991. Four types of dormancy exhibited by eggs of *Heterodera schachtii*. *Revue de Nématologie*, 14 (3): 419-426.