



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΠΑΤΡΩΝ  
UNIVERSITY OF PATRAS

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ  
(πρώην Τμήμα Τεχνολόγων Γεωπόνων  
ΤΕΙ Δυτικής Ελλάδας)

**Μοριακές πτυχές των αλληλεπιδράσεων  
φυτών-νηματωδών**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ  
της

**Βασιλικής Χριστοπούλου ΑΜ 11951**

ΕΙΣΗΓΗΤΡΙΑ: ΔΡ. ΚΑΡΑΝΑΣΤΑΣΗ ΕΙΡΗΝΗ

ΑΜΑΛΙΑΔΑ 2022

Υπεύθυνη Δήλωση Φοιτητή:

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Φοιτήτρια, έχω επίγνωση των συνεπειών του Νόμου περί λογοκλοπής και δηλώνω υπεύθυνα ότι είμαι συγγραφέας αυτής της Πτυχιακής Εργασίας, αναλαμβάνοντας την ευθύνη επί ολοκλήρου του κειμένου, έχω δε αναφέρει στην Βιβλιογραφία μου όλες τις πηγές τις οποίες χρησιμοποίησα και έλαβα ιδέες ή δεδομένα. Δηλώνω επίσης ότι, οποιοδήποτε στοιχείο ή κείμενο το οποίο έχω ενσωματώσει στην εργασία μου προερχόμενο από Βιβλία ή άλλες εργασίες ή το διαδίκτυο, γραμμένο ακριβώς ή παραφρασμένο, το έχω πλήρως αναγνωρίσει ως πνευματικό έργο άλλου συγγραφέα και έχω αναφέρει ανελλιπώς το όνομά του και την πηγή προέλευσης.

Η Φοιτήτρια, Βασιλική Χριστοπούλου

.....

(Υπογραφή)

## Περιεχόμενα

Περιεχόμενα.....	3
Πρόλογος .....	5
Περίληψη .....	6
Λέξεις-κλειδιά.....	6
Abstract .....	7
Keywords .....	7
Ευχαριστίες.....	8
Εισαγωγή .....	9
Παρασιτικός βιολογικός κύκλος μη μεταναστευτικών ενδοπαρασιτικών νηματωδών .....	12
Μοριακοί καθοριστικοί παράγοντες του παρασιτισμού .....	14
Γονίδια παρασιτισμού των νηματωδών.....	14
Ένζυμα υποβάθμισης και τροποποίησης των κυτταρικών τοιχωμάτων .....	16
Καταστολή της αμυντικής απόκρισης των φυτών .....	16
Τελεστές που θα μπορούσαν να τροποποιήσουν την έκφραση των αναπτυξιακών γονιδίων των φυτών .....	17
Μικρά βιοδραστικά πεπτίδια και τελεστές με αβέβαιη λειτουργία .....	19
Παράγοντες που ρυθμίζουν τις συγκεντρώσεις ασβεστίου στα φυτικά κύτταρα.....	19
Φυτικά γονίδια απόκρισης στους νηματώδεις.....	20
Γονίδια που σχετίζονται με την παθογένεση.....	22
Γονίδια που σχετίζονται με ορμόνες .....	22
Πρωτεΐνες μεμβρανικής μεταφοράς.....	23
Γονίδια κυτταροσκελετού και κυτταρικού κύκλου.....	23
Μοριακή βάση της ανθεκτικότητας.....	25
Γονίδια ανθεκτικότητας ξενιστή .....	25

Μεταφορά γονιδίων Nem-R σε φυτά.....	26
Γονίδια τελεστές AVR των νηματωδών.....	27
MicroRNAs σε αλληλεπιδράσεις φυτών-νηματωδών.....	28
Γενικά συμπεράσματα και μελλοντικές προοπτικές.....	30
Βιβλιογραφία .....	31

## **Πρόλογος**

Στο πλαίσιο του Προπτυχιακού προγράμματος σπουδών του Τμήματος Τεχνολόγων Γεωπόνων του ΤΕΙ Δυτικής Ελλάδας (σήμερα Τμήμα Γεωπονίας – Πανεπιστημίου Πατρών), με έδρα την Αμαλιάδα μου ανατέθηκε ως θέμα πτυχιακής εργασίας από την Αναπληρώτρια καθηγήτρια Καραναστάση Ειρήνη, η μελέτη των μοριακών πτυχών των νηματοδών των φυτών και τις αλληλεπιδράσεις τους.

Με την επίβλεψη και τις συστάσεις της κυρίας Καραναστάση μελέτησα τον βιολογικό κύκλο των νηματοδών και την αλληλεπίδραση τους στους φυτικούς οργανισμούς.

## Περίληψη

Τα φυτά εκτίθενται συνεχώς σε ένα ευρύ φάσμα παθογόνων παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των φυτοπαρασιτικών νηματωδών. Για να αντιμετωπίσουν αυτούς τους πιθανόν παθογόνους εισβολείς, έχουν αναπτύξει πολύπλοκους αμυντικούς μηχανισμούς που τους επιτρέπουν να τους αναγνωρίζουν ώστε να ξεκινήσει μια διαδικασία επιτυχημένης άμυνας. Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις είναι πανταχού παρόντες, μικροσκοπικοί ζωικοί οργανισμοί, οι οποίοι επιτίθενται σχεδόν σε όλα τα μέρη των φυτών και προκαλούν παγκοσμίως απώλειες της τάξης των 100 δισεκατομμυρίων δολαρίων ετησίως. Η εξέλιξη των φυτών και των φυτοπαρασιτικών νηματωδών, όσον αφορά την αντοχή των φυτών στην προσβολή από αυτά τα παράσιτα, έχει οδηγήσει σε αξιοσημείωτες προσαρμογές των κύκλων ζωής και των δύο. Η παρούσα εργασία εξετάζει τις πρόσφατες γνώσεις που έχουν αποκτηθεί σχετικά με μοριακούς παράγοντες που βοηθούν τους νηματώδεις να προσβάλουν επιτυχώς τις ρίζες των φυτών ξενιστών. Στη συνέχεια αναφέρονται οι μοριακοί παράγοντες και μηχανισμοί υποκείμενης φυτικής αντοχής έναντι των νηματωδών. Η κατανόηση της μοριακής βάσης της σχέσης φυτών-νηματωδών και των μεταξύ τους αλληλεπιδράσεων αποτελούν ένα σημαντικό μέσο με το οποίο ενδεχομένως θα σχεδιαστούν στρατηγικές ελέγχου των παρασίτων φιλικές προς το περιβάλλον.

## Λέξεις-κλειδιά

Αλληλεπιδράσεις φυτών – νηματωδών, ανθεκτικότητα, μόρια τελεστές, παρασιτισμός, ασθένεια

## **Abstract**

Plants are constantly exposed to a wide range of pathogens, including plant parasitic nematodes. To deal with these potentially pathogenic invaders, the plants have developed sophisticated defense mechanisms that allow them to identify them so that a successful defense process can begin. Phytoparasitic nematodes are ubiquitous, tiny animal organisms that attack almost every plant part and cause global losses of up to \$ 100 billion a year. The evolution of plants and phytoparasitic nematodes, in terms of plant resistance to the infestation of these parasites, has led to remarkable adaptations of the life cycles of both. This dissertation describes recent knowledge gained about molecular factors and mechanisms that help nematodes successfully attack host plant roots. Understanding the molecular basis of the plant-nematode relationship and their interactions is an important means by which environmentally friendly pest control strategies may be designed.

## **Keywords**

Plant-nematode interactions, Resistance, Effectors, Parasitism, Disease, Crop plants

## **Ευχαριστίες**

Για την ολοκλήρωση της πτυχιακής μας εργασίας που πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Φυτοπροστασίας του Τμήματος Τεχνολόγων Γεωπόνων του ΤΕΙ Δυτικής Ελλάδας κατά το έτος 2020, θα ήθελα να ευχαριστήσω την καθηγήτρια μου κ. Καραναστάση Ειρήνη για την πλήρη υποστήριξη που μου παρείχε και την άψογη συνεργασία κατά τη διάρκεια της βιβλιογραφίας μου αλλά και για τις χρήσιμες συμβουλές της για την συγγραφή αυτής της εργασίας.



## Εισαγωγή

Οι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις είναι μέλη του φύλου Nematoda και αντιπροσωπεύονται από περισσότερα από 4000 αναγνωρισμένα διαφορετικά είδη ((Decraemer and Hunt, 2006). Αποτελούν μια από τις πιο ποικιλόμορφες ομάδες οργανισμών, που απαντώνται σε όλα τα είδη οικοτόπων και προκαλούν παγκοσμίως απώλειες παραγωγής της τάξης των 100 δισεκατομμυρίων δολαρίων ετησίως (Trudgill and Block 2001). Στο Φύλο Nematoda συγκαταλέγονται διάφορα είδη νηματωδών, πέραν των φυτοпараσιτικών, τα περισσότερα από τα οποία ζουν ελεύθερα, τρεφόμενα με μικροοργανισμούς, ενώ άλλα αποτελούν παράσιτα εντόμων ή άλλων ζώων και του ανθρώπου (Εικ. 1).



Οι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις είναι μικροσκοπικοί και μπορούν να επιτεθούν σχεδόν σε όλα μέρη του φυτού (Εικ. 2). Η πλειονότητά τους είναι παράσιτα των ριζών, είτε μεταναστευτικά είτε μη μεταναστευτικά, δρώντας είτε ως εκτοπαράσιτα είτε ως ενδοπαράσιτα των ιστών. Στην περίπτωση των εκτοπαρασιτικών μεταναστευτικών νηματωδών, οι αλληλεπιδράσεις με το φυτό είναι περιορισμένες και οι νηματώδεις παράγουν θρεπτικά συστατικά από τα επιδερμικά κύτταρα του φυτού. Στην περίπτωση των μη μεταναστευτικών, ενδοπαρασιτικών νηματωδών, οι αλληλεπιδράσεις με το φυτό είναι πολύπλοκες καθώς τροποποιούν ορισμένα αγγειακά κύτταρα σχηματίζοντας έναν εξειδικευμένο σημείο σίτισης.

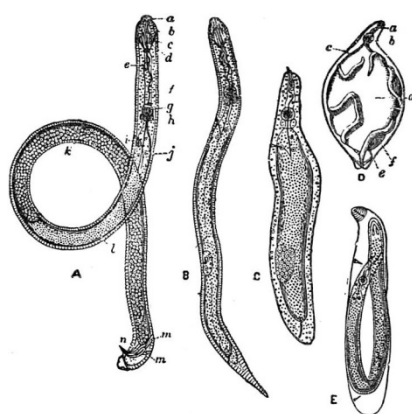


Εικόνα 2. Φυτοπαρασιτικός νηματώδης

Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις είναι καλά εξοπλισμένοι για έναν επιτυχημένο παρασιτισμό. Έχουν αναπτύξει ειδικές δομές για αποτελεσματική διείσδυση στα φυτά, τροποποίηση των ριζικών κυττάρων και απορρόφηση θρεπτικών ουσιών για την ανάπτυξη, την εξέλιξη και την αναπαραγωγή τους. Οι προσαρμογές για τον επιτυχή παρασιτισμό περιλαμβάνουν: (1) το στίλετο, ένα κοίλο εξάρτημα με δομή βελόνας που

βρίσκεται στο πρόσθιο άκρο του σώματός τους. Χρησιμοποιείται για τη διάτρηση του κυτταρικού τοιχώματος και της κυτταρικής μεμβράνης του κυττάρου-ξενιστή, για την εισβολή και για την έγχυση κυτταρικών μορίων στα κύτταρα ξενιστές. Το εξάρτημα αυτό βοηθά επίσης στην προσρόφηση των θρεπτικών ουσιών από τη θέση σίτισης (2) οισοφαγικοί αδένες, τρεις αδένες, δύο υπο-κοιλιακοί και ένας ραχιαίος που εκκρίνουν ένζυμα, τα οποία είναι ζωτικής σημασίας για τη διείσδυση, τη μετανάστευση, τη δημιουργία και συντήρηση των θέσεων σίτισης. (3) τα αμφίδια, δύο χημειοτακτικά όργανα, τα οποία βοηθούν τον νηματώδη στη μετεγκατάστασή του προς τη θέση σίτισης.

Δύο από τις πιο καταστρεπτικές ομάδες μη μεταναστευτικών νηματωδών είναι οι κυστογόνοι νηματώδεις και οι κομβονηματώδεις (ή κομβονηματώδεις).

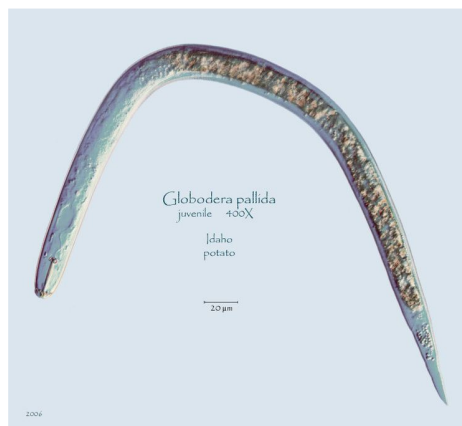


Οι κυστογόνοι νηματώδεις έχουν περιορισμένο εύρος ξενιστών, ενώ οι κομβονηματώδεις είναι πολυφάγα είδη, με ευρύ φάσμα ξενιστών. Μεταξύ των κυστογόνων νηματωδών, η πλειονότητα των απωλειών των καλλιεργειών προκαλείται από τα είδη των γενών *Heterodera* και *Globodera*. Όσον αφορά στους κομβονηματώδεις, υπάρχουν τέσσερα κυρίαρχα και πολυφάγα είδη, τα *Meloidogyne*

Εικόνα 3. Νηματώδεις του γένους *Heterodera*

*incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* και *M. hapla* που ευθύνονται για το μεγαλύτερο μέρος των ζημιών στις γεωργικές καλλιέργειες. Τόσο οι κυστογόνοι όσο και οι κομβονηματώδεις ξοδεύουν το μεγαλύτερο μέρος του βιολογικού κύκλου τους μέσα στις ρίζες των φυτών και ολοκληρώνουν τον κύκλο ζωής τους εντός 4-6 εβδομάδων (Vanholme

κ.α. 2004). Η παρούσα εργασία εστιάζει κυρίως σε δεδομένα από αυτές τις δύο κατηγορίες νηματωδών για να περιγραφούν εν συντομία οι μοριακές πτυχές των αλληλεπιδράσεων των φυτοπαρασιτικών νηματωδών στις ακόλουθες ενότητες.



Εικόνα 4. Νηματώδεις του γένους *Globodera*



## Παρασιτικός βιολογικός κύκλος μη μεταναστευτικών ενδοπαρασιτικών νηματώδων

Τα μολυσματικά εκτοπαρασιτικά, νεαρά άτομα, 2<sup>ο</sup> σταδίου (J2) εκκολάπτονται από τα ωά στο έδαφος. Στην πραγματικότητα, το ωό εξελίσσεται σε νεαρό 1<sup>ο</sup> σταδίου εντός του περιβλήματός του και το επόμενο στάδιο προκύπτει κατά την έξοδο του νηματώδη από το περίβλημα του ωού. Τα αμφίδια βοηθούν το J2 να φτάσει στον κατάλληλο ξενιστή ανιχνεύοντας τα χημειο-ελκυστικά που εκκρίνονται από τα κύτταρα της ρίζας (Grundler κ.α. 1991, Teillet κ.α. 2013). Ο κύριος στόχος των J2 είναι να φτάσουν στους ιστούς του ξενιστή πριν εξαντληθούν τα αποθέματα λιπιδίων τους. Για τη διείσδυσή τους στους ιστούς του φυτού, τα J2 χρησιμοποιούν τη μηχανική δύναμη του στιλέτου για τη διάτρηση του κυτταρικού τοιχώματος και την έκκριση διαφόρων ενζύμων αποικοδόμησης του κυτταρικού τοιχώματος που χαλαρώνουν τη κυτταρική δομή καθ' όλη τη φάση διείσδυσης και μετανάστευσης. Μεταναστεύουν μέσω του φλοιού, είτε ενδοκυτταρικά (κυστογόνοι) είτε μεσοκυτταρικά (κομβονηματώδεις) προς τις ηθμαγγειώδεις δεσμίδες. Όταν φτάσουν εκεί, οι νηματώδεις επιλέγουν λίγα παρεγχυματικά κύτταρα και τα επαναπρογραμματίζουν έτσι ώστε να δημιουργούν εξειδικευμένες θέσεις σίτισης (Nematode Feeding Sites - NFS). Μετά τη δημιουργία αυτών των μόνιμων θέσεων σίτισης, οι νηματώδεις καθίστανται μη μεταναστευτικοί και υφίστανται διάφορες αλλαγές. Το J2 εξελίσσεται

σε J3, κατόπιν σε J4 και τέλος σε ένα ενήλικο. Τα ενήλικα αρσενικά είναι επιμήκη, σκωληκόμορφα, κινητά και εξέρχονται των φυτικών ιστών, ενώ τα θηλυκά είναι σφαιρικά ή απιοειδή, με μικροσκοπικό στιλέτο που βοηθά την προσρόφηση τροφής. Στην περίπτωση των κυστογόνων νηματώδων, τα θηλυκά αναπαράγονται σεξουαλικά για να



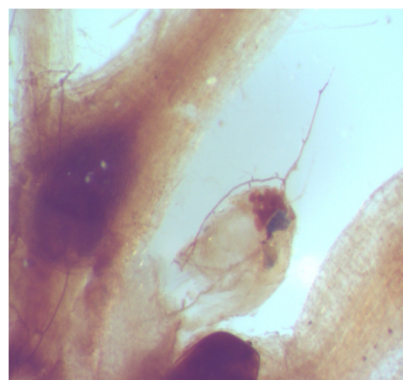
Εικόνα 5 Ωριμα θηλυκά άτομα νηματώδων *Globodera* που θα μετατραπούν σε κύστεις γεμάτες ωά.

παράγουν μεγάλο αριθμό ωών. Όταν το θηλυκό πεθαίνει, το σωματικό του περίβλημα μετατρέπεται σε ένα προστατευτικό κάλυμμα για τα ωά που ονομάζεται κύστη (Εικ. 5). Αυτές οι κύστεις ωθούνται προς την εξωτερική επιφάνεια των ριζών και είναι πλέον ορατές. Γι' αυτό άλλωστε ονομάζονται και κυστογόνοι νηματώδεις. Από την άλλη πλευρά, οι θηλυκοί κομβονηματώδεις αναπαράγονται παρθενογενετικά και παράγουν

μεγάλο αριθμό ωών που περικλείονται με ζελατινώδη μεμβράνη, και ονομάζονται ωόσακοι (Εικ. 6). Αυτοί οι ωόσακοι είναι ορατοί εξωτερικά των κόμβων των ριζών καθώς εκτοπίζονται από τους ριζικούς ιστούς, ενώ το θηλυκό παραμένει μέσα σε αυτούς. Κατά την εκκόλαψη των ωών, σχηματίζονται εκ νέου κινητά μολυσματικά νεαρά άτομα 2<sup>ου</sup> σταδίου (J2) για να ξεκινήσει ένας νέος μολυσματικός κύκλος (Abad και Williamson 2010).

Οι θέσεις σίτισης των νηματωδών είναι μεταβολικά ενεργές και αποτελούνται από μεγάλα, πολυπύρρηνα κύτταρα με πυκνό κοκκώδες κυτταρόπλασμα που χρησιμεύει ως μοναδική πηγή τροφής για την ανάπτυξη των νηματωδών. Ονομάζονται συγκύτια στην περίπτωση των κυστογόνων νηματωδών και γιγαντιαία κύτταρα στην περίπτωση των κομβονηματωδών. Ένα συγκύτιο σχηματίζεται με ενδο-αναπαραγωγή των πυρήνων και μπορεί να ενσωματώσει περισσότερα από 200 κύτταρα μέσω της λύσης των γειτνιαζόντων κυτταρικών τοιχωμάτων με επακόλουθη σύντηξη των κυτταροπλασμάτων τους. Τα γιγαντιαία κύτταρα σχηματίζονται με διέγερση της πυρηνοκίνησης χωρίς κυτοκίνηση 5-7 παρεγχυματικών κυττάρων. Ο φλοιώδης ιστός που περιβάλλει τα γιγαντιαία κύτταρα εμφανίζει υπερπλασία και υπερτροφισμό που οδηγούν στο σχηματισμό των χαρακτηριστικών φυματίων που ονομάζονται κόμβοι.

Οι νηματώδεις έχουν εξελιχθεί για να αλληλοεπιδρούν με τον ξενιστή τους έτσι ώστε ο τελευταίος να καταστεί κατάλληλος για ανάπτυξη και την αναπαραγωγή τους. Στο παρελθόν, μελέτες για τη συμπεριφορά των νηματωδών, τη μορφολογία, φυσιολογία, γενετική και τον βιολογικό τους κύκλο έχουν παρέχει πολλές πληροφορίες. Τα τελευταία χρόνια, ωστόσο, έχουν γίνει προσπάθειες για την κατανόηση της μοριακής βάσης των αλληλεπιδράσεων φυτών-νηματωδών.



Εικ.6 Ωόσακοι ριζοκόμβων νηματωδών

## **Μοριακοί καθοριστικοί παράγοντες του παρασιτισμού**

Κατά τη διάρκεια της προσβολής των φυτών, οι παρασιτικοί νηματώδεις εκκρίνουν βιοχημικά μόρια (πρωτεΐνες, ορμόνες, κ.α.) ή τα λεγόμενα «μόρια τελεστές» που είναι σημαντικά για τον παρασιτισμό. Ως εκ τούτου, η ταυτοποίηση και ο χαρακτηρισμός των μορίων που εμπλέκονται στην πρόκληση ασθένειας έχουν μεγάλη σημασία για το σχεδιασμό βιοτεχνολογικών στρατηγικών αντιμετώπισης. Αυτά τα δραστικά μόρια αλληλοεπιδρούν με φυτικές πρωτεΐνες και τις τροποποιούν ανάλογα προς όφελος των νηματωδών. Η έκφραση των φυτικών γονιδίων τροποποιείται ώστε να σχηματίζουν προς όφελος των νηματωδών θέσεις σίτισης που θα εξυπηρετήσουν την επακόλουθη αναπτυξιακή εξέλιξη του νηματώδη από ανήλικο J2 σε ενήλικο. Επομένως, η μελέτη και ο χαρακτηρισμός των φυτικών γονιδίων απόκρισης στην προσβολή από τους νηματώδεις είναι εξίσου απαραίτητα για την κατανόηση της δυναμικής ανάπτυξης της ασθένειας. Μια άλλη πτυχή που πρέπει να ληφθεί υπόψη στην διαδικασία εξέλιξης της ασθένειας είναι η συγκεκριμένη αλληλεπίδραση μεταξύ των τελεστών και των αντίστοιχων φυτικών πρωτεϊνών του ξενιστή.

### **Γονίδια παρασιτισμού των νηματωδών**

Οι μη μεταναστευτικοί ενδοπαρασιτικοί νηματώδεις βασίζονται σε δραστικά μόρια για να παρασιτήσουν με επιτυχία τον ξενιστή τους. Αυτά τα μόρια τελεστές ρυθμίζουν την απόκριση του ξενιστή προς όφελος των νηματωδών ώστε οι τελευταίοι να μπορούν να επιβιώσουν μέσα στους ιστούς του ξενιστή. Διάφορες λειτουργίες που αποδίδονται στα μόρια τελεστές των νηματωδών περιλαμβάνουν: τροποποίηση των κυτταρικών τοιχωμάτων, καταστολή της άμυνας των αποκρίσεων του φυτού, μετατροπές στα μονοπάτια αυξίνης και πολυαμίνης, μίμηση φυτικών μορίων για παράκαμψη των αμυντικών αποκρίσεων και ρύθμιση της σηματοδότησης του στρες. Δεδομένου ότι τα παρασιτικά στάδια βρίσκονται εντός των ιστών του ξενιστή, είναι δύσκολο να αξιολογηθούν. Ως εκ τούτου, σε διάφορες μελέτες, έχουν χρησιμοποιηθεί οι εκκρίσεις των νηματωδών για την αναγνώριση των μορίων τελεστών. Στη πλειονότητά τους, τα μόρια αυτά παράγονται στους οισοφαγικούς αδένες (δύο υποκοιλιακούς και έναν ραχιαίο), ενώ άλλα συντίθεται στην υποδερμίδα και τα αμφίδια των νηματωδών. Η πιο επιτυχημένη τεχνική αποκρυπτογράφησης των μορίων

τελεστών των φυτοπαρασιτικών νηματωδών ήταν η προσέγγιση με βάση τις πρωτεΐνες, κατά την οποία αναλύονται απευθείας οι εκκρίσεις των οισοφαγικών αδένων των προπαρασιτικών και παρασιτικών σταδίων των νηματωδών. Ένα από τα κύρια μειονεκτήματα των μελετών με βάση τις πρωτεΐνες ενδιαφέροντος είναι η ανεπαρκής ποσότητά τους και ο περιορισμένος αριθμός πρωτεϊνών που θα μπορούσαν να αναλυθούν σε ένα πείραμα. Ως εκ τούτου, οι ερευνητές έχουν αλλάξει τον τρόπο προσέγγισης του προβλήματος μελετώντας τις αλληλουχίες του γενετικού υλικού. Μεταξύ αυτών, οι βάσεις δεδομένων EST (expressed sequence tags) έχουν διερευνηθεί για να εντοπιστούν πιθανά υποψήφια μόρια τελεστές βάσει της ομοιότητάς τους με ήδη ταυτοποιημένα γονίδια παρασιτισμού (Jacob και Mitreva 2011). Η λεπτομερής ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης ενός συγκεκριμένου γονιδίου κατά τη διάρκεια των παρασιτικών σταδίων είναι η πιο επιτυχημένη τεχνική για την κατανόηση της διαδικασίας παρασιτισμού, αν και η τεχνολογία αλληλούχισης επόμενης γενιάς έχει καταστήσει δυνατή την ανάλυση του προφίλ έκφρασης του συνολικού γονιδιώματος όλων των κυττάρων ενός οργανισμού. Σήμερα είναι διαθέσιμες βάσεις δεδομένων με τα γονιδιώματα συγκεκριμένων ειδών φυτοπαρασιτικών νηματωδών ενώ αρκετά βρίσκονται σε εξέλιξη. Η ανάλυση του γονιδιώματος και τα μεταγραφήματα για τα φυτοπαρασιτικά είδη που έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα έχει αποκαλύψει ένα σύνολο γονιδίων παρασιτισμού για διαφορετικά στάδια του βιολογικού κύκλου (προπαρασιτικό J2, παρασιτικό J2, J3, J4 και ενήλικα θηλυκά (Nicol κ.α. 2012, Haegeman κ.α. 2013, Cotton κ.α. 2014, Rutter κ.α. 2014a, Petitot κ.α. 2016). Αυτή η ολοκληρωμένη ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης έχει βοηθήσει στην αναγνώριση πολυάριθμων γονιδίων παρασιτισμού, καθώς και άλλων γονιδίων, των οποίων οι ρόλοι είναι ακόμα άγνωστοι. Στις επόμενες ενότητες θα περιγραφούν ορισμένα από τα γονίδια παρασιτισμού των νηματωδών με βάση τη λειτουργία τους καθώς και μια λίστα χαρακτηριστικών λειτουργικών νηματωδολογικών τελεστών με τους αντίστοιχους ρόλους τους.

## Ένζυμα υποβάθμισης και τροποποίησης των κυτταρικών τοιχωμάτων

Το πρώτο δομικό φράγμα που πρέπει να προσπεράσουν οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις είναι το κυτταρικό τοίχωμα των φυτικών κυττάρων, το οποίο πρέπει να μαλακώσει μέσω ενός μείγματος ενζύμων που εκκρίνεται από τους νηματώδεις. Οι εκκρίσεις χορηγούνται μέσω του στυλετού του νηματώδη και περιέχουν ένζυμα όπως β-1,4-ενδογλυκανάσες, ξυλανάσες, πηκτικές λυάσες, εξανσίνες και πολυγαλακτουρονάσες που υποβαθμίζουν και τροποποιούν τα κυτταρικά τοιχώματα, επηρεάζοντας την ακεραιότητά τους μέσω υδρόλυσης της κυτταρίνης, των ημικυτταρινών, της πηκτίνης και άλλων μορίων που δομούν το κυτταρικό τοίχωμα. Για τον εντοπισμό αυτών των εκκρίσεων μέσα στους ιστούς του ξενιστή έχει χρησιμοποιηθεί η μέθοδος της σήμανσης με φθορίζουσες πρωτεΐνες. Η β-1,4 ενδογλυκανάση είναι το πρώτο μόριο τελεστής νηματωδών που έχει εντοπιστεί σε ρίζες ξενιστών. Το μόριο αυτό κλωνοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον νηματώδη *Heterodera glycines* (Hewezi and Baum 2013) και ήταν το πρώτο γονίδιο κυτταρινάσης που έχει αναφερθεί για ζωικούς οργανισμούς. Οι κυτταρινάσες των νηματωδών, όπως και άλλα ένζυμα αποδόμησης των κυτταρικών τοιχωμάτων των φυτικών κυττάρων εμφανίζουν μεγάλη ομοιότητα με εκείνη των βακτηριακών και μυκητιακών ενζύμων με δράση στα κυτταρικά τοιχώματα, γεγονός που υποδηλώνει την πιθανή απόκτησή τους με οριζόντια μεταφορά γονιδίων (Baum κ.α. 2007). Εξάλλου, η CBP (πρωτεΐνη πρόσδεσης στην κυτταρίνη) του *Heterodera schachtii* αποδείχθηκε ότι αλληλοεπιδρά με την μεθυλεστεράση-3 της πηκτίνης του *Arabidopsis* και έτσι μειώνει τα επίπεδα μεθυλεστεροποιημένων πηκτινών στα κυτταρικά τοιχώματα. Ως αποτέλεσμα, το φυτό γίνεται πιο ευάλωτο στους νηματώδεις (Hewezi and Baum 2013). Από την άλλη πλευρά, το ένζυμο εξπανσίνη διασπά τους μη-ομοιοπολικούς δεσμούς μεταξύ των ινιδίων του κυτταρικού τοιχώματος και έτσι χαλαρώνει τη δομή του.

## Καταστολή της αμυντικής απόκρισης των φυτών

Αμέσως μετά την είσοδό του στους ριζικούς ιστούς, ο νηματώδης πρέπει να ασχοληθεί με τη φυτική άμυνα συμπεριλαμβανομένων των ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS), της πάχυνσης των κυτταρικών τοιχωμάτων και τους δευτερογενείς



μεταβολίτες. Από την άλλη πλευρά, οι νηματώδεις αναπτύσσουν διάφορους μηχανισμούς για την αντιμετώπιση αυτών των αμυντικών αποκρίσεων, οι οποίες τελικά καταστέλλονται με τελική συνέπεια τον επιτυχημένο παρασιτισμό. Σημαντικό ρόλο στην καταστολή της άμυνας των φυτών φαίνεται να έχει το ένζυμο χωρισμική μουτάση (chorismate mutase CM) του οισοφαγικού αδένα. Το ένζυμο αυτό, αρχικά κλωνοποιήθηκε με διαφορετική αξιολόγηση βιβλιοθηκών cDNA από απομονωμένους φαρυγγικούς αδένες των νηματωδών καθώς και από την περιοχή της ουράς. Το χωρισμικό οξύ είναι το τελικό προϊόν της πορείας του μονοπατιού του σικιμικού του φυτού και η CM του νηματώδη δρα στο χωρισμικό υπόστρωμα και το καταβολίζει σε προφαινικό, το οποίο στη συνέχεια μειώνει τη σύνθεση φλαβονοειδών, σαλικυλικού οξέος, φυτοαλεξινών και αυξίνης (Curtis 2007, Baum κ.α. 2007). Ένας άλλος τελεστής είναι η πρωτεΐνη FAR-1, η οποία ανήκει στην οικογένεια των μορίων που προσδέονται στη ρετινόλη και τα λιπαρά οξέα. Πρόκειται για μια πρωτεΐνη της εξωτερικής επιφάνειας των κυττάρων που έχει την ικανότητα σύνδεσης με πρόδρομες ενώσεις του γιασμονικού οξέος και έτσι καταστέλλει ενεργά τις αντιδράσεις άμυνας των φυτών (Hassan κ.α. 2010). Οι υπεροξειδάσες πιθανώς εμπλέκονται στην αποτοξικοποίηση των ROS. Γονίδια των υπεροξειδασών έχουν αναφερθεί να σχετίζονται με την υποδερμίδα των κυστογόνων νηματωδών της πατάτας, ενώ πρωτεΐνες που έχουν εντοπισθεί στην επιφάνεια του σώματός τους φαίνεται να τους βοηθούν να ανταπεξέρχονται στην παρουσία ROS και να καταστέλλουν τις αμυντικές αντιδράσεις (Baum κ.α. 2007). Ένα άλλο γονίδιο που κωδικοποιεί την τρανσφεράση της γλουταθειόνης (GST) έχει αναγνωριστεί σε ενδοπαρασιτικά J3 κομβονηματωδών. Οι πρωτεΐνες GST είναι πιθανό να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην καταστολή των αντιδράσεων άμυνας των φυτών που λαμβάνουν χώρα στις κυτταρικές μεμβράνες και τα κυτταρικά τοιχώματα κατά τη διάρκεια των διαφόρων σταδίων παρασιτισμού (Dubreuil κ.α. 2007).

### **Τελεστές που θα μπορούσαν να τροποποιήσουν την έκφραση των αναπτυξιακών γονιδίων των φυτών**

Ο σχηματισμός των θέσεων σίτισης εντός των ιστών του ξενιστή απαιτεί εκ νέου προγραμματισμό των γονιδίων που αφορούν στον φυτικό κυτταρικό κύκλο καθώς και των γονιδίων που εμπλέκονται στη μεταφορά θρεπτικών συστατικών. Μερικοί

τελεστές των νηματωδών είναι γνωστό ότι παράγουν πρωτεΐνες και πιθανόν μεταβάλλουν την έκφραση των φυτικών γονιδίων. Τελεστές των νηματωδών που προκαλούν τον ενδοδιπλασιασμό στις θέσεις σίτισης των ενδοπαρασιτικών νηματωδών ή την ακυτοκινιτική μίτωση στα γιγαντιαία κύτταρα δεν έχουν ακόμη επαληθευτεί. Ωστόσο, η κυκλίνη D3, η οποία εμπλέκεται στη μετάβαση από τη φάση G1 στην S κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου, έχει βρεθεί στα γιγαντιαία κύτταρα και φαίνεται ότι τα φυτικά κύτταρα ξαναμπαίνουν σε κυτταρικό κύκλο για τον σχηματισμό πολυπύρηνων γιγαντιαίων κυττάρων (Zimmet κ.α. 1997, de Almeida Engler κ.α. 1999, 2015). Αρκετοί άλλοι τελεστές φαίνεται να παίζουν επίσης ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, συμπεριλαμβανομένης της πρωτεΐνης τύπου CDC48, μια ουμπικιτίνη, και μια πρωτεΐνη τύπου SKP1 (deAlmeida Engler και Gheysen 2013). Η SKP-1 (S-phase kinase-associated protein -1) είναι μέλος του πρωτεϊνικού συμπλέγματος ουμπικιτίνης λιγάσης SCF (Skp, Cullin, F-box), το οποίο είναι γνωστό ότι εμπλέκεται στην εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου. Ένα ομόλογο του SKP-1 ταυτοποιήθηκε και από τους κυστογόνους νηματώδεις και μπορεί να εμπλέκεται σε πολλαπλές φάσεις S χωρίς κυτοκίνηση που οδηγούν στη δημιουργία των συγκυτίων. Μια άλλη ομάδα τελεστών είναι οι επιμηκυντές της ουμπικιτίνης. Οι πρωτεΐνες αυτές, έχει αναφερθεί ότι παίζουν ρόλο στην μεταφορά του πυρήνα και την ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου στους κυστογόνους νηματώδεις. Η ουμπικιτίνωση είναι η διαδικασία κατά την οποία η ουμπικιτίνη στοχεύει την πρωτεΐνη σε ένα σύμπλοκο πρωτεόσωμα με σκοπό την αποδόμηση των πρωτεϊνών (Hassan κ.α. 2010). Η πρωτεΐνη RanBPM (πρωτεΐνη σύνδεσης Ran στο κέντρο οργάνωσης των μικροσωληνίσκων) έχει ποικίλες κυτταρικές λειτουργίες όπως διαμόρφωση πρωτεϊνών, ρύθμιση μεταγραφής, ρύθμιση κυτταρικού κύκλου και νευρολογικές λειτουργίες. Πρωτεΐνες RanBPMs έχουν αναφερθεί για τους κυστογόνους νηματώδεις της πατάτας και θεωρείται ότι μπορεί να διαδραματίσουν κάποιο ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου κατά τη διάρκεια δημιουργίας του συγκυτίου, ωστόσο ο ακριβής μηχανισμός δράσης τους στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί (Baum κ.α. 2007). Διάφορα μόρια τελεστών έχει αποδειχθεί ότι αλληλοεπιδρούν με φυτικές ορμόνες (όπως η αυξίνη, η κυτοκίνη και το αιθυλένιο) επηρεάζοντας τη ρύθμιση και την ισορροπία των σημάτων των φυτικών ορμονών (Caillaud κ.α. 2008). Ο τελεστής Hs19C07, που αναφέρθηκε για τους κυστογόνους νηματώδεις *Heterodera*, έχει αποδειχθεί ότι αλληλοεπιδρά με την πρωτεΐνη LAX3 που ρυθμίζει τη έκλυση αυξίνης, αυξάνοντάς την κατά τα αρχικά στάδια ανάπτυξης (Hassan κ.α. 2010).

## Μικρά βιοδραστικά πεπτίδια και τελεστές με αβέβαιη λειτουργία

Στην ανάπτυξη του φυτού παίζουν σημαντικό ρόλο διάφορα μικρά βιοδραστικά πεπτίδια. Για παράδειγμα, τα πεπτίδια τύπου CLAVATA έχουν αποδειχθεί ότι ρυθμίζουν την διαφοροποίηση των κυττάρων σε ρίζα και βλαστό. Τα πεπτίδια CLAVATA3 (CLV3), ESR, που σχετίζονται με την περιοχή που περιβάλλει το ενδοσπέρμιο (endosperm surrounding region) και CLE λειτουργούν ως σηματοδοτικά μόρια στη ρύθμιση διαφόρων φυσιολογικών και αναπτυξιακών διεργασιών, ιδίως στο διαφοροποίηση των μεριστωμάτων. Είναι ενδιαφέρον ότι πεπτίδια CLE έχουν ανιχνευθεί σε εκκρίσεις νηματώδων τόσο σε κυστογόνους όσο και σε κομβονηματώδεις που μιμούνται τα φυτικά πεπτίδια CLE, αν και οι υποδοχείς τους στο φυτό είναι άγνωστοι. Το πεπτίδιο 16-D-10 των κομβονηματώδων αποτελείται από 13 αμινοξέα και έχει αλληλουχική ομοιότητα με το CLE πεπτίδιο, ενώ πιθανώς αλληλοεπιδρά με μεταγραφικούς παράγοντες τύπου SCARECROW που επηρεάζουν το φυτό κατά τον σχηματισμό των γιγαντιαίων κυττάρων (Hasan κ.α. 2010). Μέσω της αφαιρετικής καταστολής υβριδισμού, οι Dubreuil κ.α. (2007) ταυτοποίησαν γονίδια που κωδικοποιούν μια πρωτεάση κυστεΐνης τύπου καθεψίνης Β που βοηθά τους νηματώδεις στην πέψη των θρεπτικών ουσιών στο έντερο και υποτίθεται ότι ενεργεί ως παράγοντας για τον παρασιτισμό των φυτών. Ένα γονίδιο που κωδικοποιεί μια γαλεκτίνης (λεκτίνη πρόσδεσης της γαλακτόζης), το οποίο εκφράζεται αποκλειστικά στο έντερο και τους οισοφαγικούς αδένες έχει επίσης εντοπιστεί στην ίδια μελέτη με κομβονηματώδεις. Ωστόσο, ο ρόλος των γαλεκτίνων στον φυτικό παρασιτισμό δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί.

## Παράγοντες που ρυθμίζουν τις συγκεντρώσεις ασβεστίου στα φυτικά κύτταρα

Τα ιόντα ασβεστίου γενικά εμπλέκονται στα μονοπάτια σηματοδότησης, την κυτταρική πρόσφυση, τις φυτικές αμυντικές αποκρίσεις, τον κυτταρικό θάνατο με απόπτωση και τη μοριακή δραστηριότητα των τσαπερονίων στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Οι αννεξίνες είναι φωσφολιπίδια που εξαρτώνται από το ασβέστιο και

προστατεύουν το φυτικό κύτταρο από το οξειδωτικό, το οσμωτικό και άλλες καταστάσεις στρες όπως η ξηρασία. Ομόλογα των αννεξινών έχουν ανιχνευτεί στους νωτιαίους οισοφαγικούς αδένες του *Heterodera glycines* και η αλληλεπίδρασή τους με φυτικά γονίδια είναι σημαντική για την έναρξη του κυτταρικού κύκλου. Παρόμοια γονίδια έχουν βρεθεί και στους νηματώδεις *C. elegans* και *Globodera pallida*, ωστόσο, η λειτουργία τους δεν είναι ξεκάθαρη καθώς δεν περιέχουν σηματοδοτικές αλληλουχίες που απαιτούνται για την έκκριση (Patel κ.α. 2010). Οι ρετικουλίνες-cal είναι πρωτεΐνες που προσδένονται στο ασβέστιο και ρυθμίζουν τη συγκέντρωσή του κατά τη διάρκεια της σηματοδότησης. Η ρετικουλίνη-cal των κομβονηματωδών εμπλέκεται στη διακυτταρική κυκλοφορία στα γιγαντιαία κύτταρα και τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου κατά τη διάρκεια σχηματισμού του γιγαντιαίου κυττάρου (Baum κ.α. 2007, Patel κ.α. 2010).

### Φυτικά γονίδια απόκρισης στους νηματώδεις

Σε κάθε επίπεδο αλληλεπίδρασης φυτού - νηματώδη, τα φυτικά γονίδια απόκρισης στους νηματώδεις είναι εξίσου σημαντικά όσο και τα μόρια τελεστές των νηματωδών. Τα γονίδια των φυτών που αποκρίνονται στους τελεστές των νηματωδών καθορίζουν την επιθετικότητα του νηματώδη. Ο νηματώδης τροποποιεί την έκφραση των γονιδίων του φυτικού κυτταροσκελετού, του κυτταρικού κύκλου, των αμυντικών αποκρίσεων και της ορμονικής σηματοδότησης που επιτρέπει το σχηματισμό των θέσεων σίτισης του νηματώδη. Οι μη μεταναστευτικοί νηματώδεις επιλέγουν συγκεκριμένα φυτικά κύτταρα που αποκρίνονται στα μόρια τελεστές και καθίστανται καταβόθρες θρεπτικών στοιχείων οπότε ξεκινά η δημιουργία της θέσης σίτισης. Η κατανόηση του μηχανισμού ανταλλαγής μηνυμάτων μεταξύ φυτών και νηματωδών είναι πολύ σημαντική για την αποσαφήνιση του μηχανισμού εξέλιξης της ασθένειας. Πάντως ο λειτουργικός ρόλος πολλών φυτικών γονιδίων που ανταποκρίνονται στα γονίδια των νηματωδών κατά τον σχηματισμό των θέσεων σίτισης παραμένει αόριστος. Η μελέτη των μεταγραφικών αλλαγών που λαμβάνουν χώρα κατά την αλληλεπίδραση φυτού-νηματώδη έχουν προσφέρει πολλά στοιχεία για την κατανόηση της λειτουργίας της φυτικής απόκρισης στην προσβολή από τους νηματώδεις. Διάφορες μοριακές προσεγγίσεις έχουν χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη των φυτικών αποκρίσεων, όπως

RNA blotting, ανοσοεντοπισμός πρωτεϊνών, υβριδισμός *in situ*, αξιολόγηση βιβλιοθηκών κ.α. (Abad and Williamson 2010).

Οι πρώτες μελέτες πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας cDNA από προσβεβλημένες και μη προσβεβλημένες ρίζες. Το πρώτο γονίδιο που ταυτοποιήθηκε με τη χρήση αυτής της μεθόδου ήταν το TobRB7 του γιγαντιαίου κυττάρου σε προσβεβλημένες ρίζες καπνού. Διάφορες μοριακές προσεγγίσεις έχουν χρησιμοποιηθεί για τη σύγκριση της διαφορικής έκφρασης γονιδίων στις θέσεις σίτισης των νηματωδών και σε αντίστοιχες μη προσβεβλημένες περιοχές της ρίζας, μεταξύ των οποίων αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης αντίστροφης μεταγραφής (RT-PCR), υβριδισμός mRNA *in situ* κ.α. (Gheysen και Fenoll, 2002). Οι πιο πρόσφατες εξελίξεις στην τεχνολογία, όπως η LCM (laser capture microdissection), οι μικροσυστοιχίες και η αλληλούχιση του DNA θα συμβάλουν περισσότερο στην κατανόηση σε βάθος των αλληλεπιδράσεων φυτών-νηματωδών.

Μεταγραφικές μελέτες με βάση τις μικροσυστοιχίες έχουν πραγματοποιηθεί με *Arabidopsis* (Hammes κ.α. 2005, Jammes κ.α. 2005, Fuller et al 2007a, Barcala κ.α. 2010), τομάτα (Bar-Or κ.α. 2005, Schaff κ.α. 2007, Portillo κ.α. 2013), ανθεκτική σόγια (Ibrahim κ.α. 2011) και ανεκτική σε κομβονηματώδεις μελιτζάνα *Solanum torvum* (Bagnaresi κ.α. 2013). Οι πιο πρόσφατες εξελίξεις με προσεγγίσεις προφίλ υψηλής απόδοσης όπως η αλληλούχιση RNA, μπορεί να δώσουν μια πιο σφαιρική εικόνα και να βοηθήσουν τόσο στη διάκριση μεταξύ συντηρημένων και νέων αντιγράφων όσο και στη σχετική αφθονία τους. Για παράδειγμα, με αλληλούχιση mRNA (σε Illumina HiSeq™ 2000) αναλύθηκε το προφίλ του μεταγραφώματος από προσβεβλημένες και μη προσβεβλημένες ρίζες του είδους *Aegilops variabilis* για να μελετηθεί η απόκριση και η άμυνα του φυτού εναντίον του κυστογόνου νηματώδη των σιτηρών (Xu κ.α. 2012). Η μελέτη παρείχε μια πλατφόρμα για την διερεύνηση του γονιδιώματος ανθεκτικού σίτου και την ανακάλυψη νέων γονιδίων που εμπλέκονται στην άμυνα των φυτών που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε προγράμματα βελτίωσης. Μέχρι σήμερα, μόνο λίγες μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει την τεχνική αλληλούχισης επόμενης γενιάς (NGS) για τη διερεύνηση της διαφορικής έκφρασης γονιδίων κατά την αλληλεπίδραση φυτοπαρασιτικών νηματωδών και ξενιστών, συμπεριλαμβανομένων μελετών στους όγκους της ρίζας σε ρύζι και των γιγαντιαίων κυττάρων (Kyndt κ.α. 2012, Ji κ.α. 2013), σε ανθεκτικές ρίζες σόγιας (Beneventi κ.α. 2013), σε ανθεκτικές και ευαίσθητες ποικιλίες μηδικής (Postnikova κ.α. 2015) και σε ρίζες φασολιάς (Santini

κ.α. 2016). Οι επόμενες ενότητες περιγράφουν τα φυτικά γονίδια που εμπλέκονται στον παρασιτισμό και ορισμένα από τα γονίδια που εμπλέκονται στην απόκριση της προσβολής από νηματώδεις.

### **Γονίδια που σχετίζονται με την παθογένεση**

Η βλάβη που προκαλείται από τους νηματώδεις προκαλεί αποκρίσεις άμυνας από την πλευρά των φυτών, στις οποίες προκαλείται στη συνέχεια σίγαση από την πλευρά του παθογόνου ώστε να επιτευχθεί ο παρασιτισμός. Γονίδια που εμπλέκονται στην παταγωγή ενεργών ριζών οξυγόνου (ROS) φαίνεται να σχετίζονται με την εισβολή των κομβονηματωδών στις ρίζες (Caillaud κ.α. 2008), ενώ το γονίδιο που κωδικοποιεί την μια πρωτεΐνη που μοιάζει με την οξειδάση-2 του γιβερελικού, φαίνεται να παίζει ρόλο καθ' όλη τη διάρκεια εξέλιξης της ασθένειας σε ρίζες προσβεβλημένες τόσο με κομβονηματώδεις όσο και με κυστογόνους νηματώδεις. Το ένζυμο οξειδάση-2 του γιβερελικού είναι υπεύθυνο για την απενεργοποίηση της γιβερελλίνης αναστέλλοντας έτσι την επιμήκυνση των φυτών κατά τη διάρκεια της παρασιτικής διαδικασίας (Bar-ot κ.α. 2005). Μια πρόσφατη μελέτη σχετικά με την αλληλεπίδραση φυτών ρυζιού και κομβονηματωδών αποκάλυψε τον ρόλο των μπρασινωστεροειδών στη διαδικασία παθογένειας. Το παθογόνο καταλαμβάνει το μονοπάτι των μπρασινωστεροειδών, το οποίο καταστέλλει τα μονοπάτια σαλικυλικού οξέος και γιβερελίνης (Nahar κ.α. 2013). Τα γονίδια που κωδικοποιούν τους δύο μεταγραφικούς παράγοντες WRKY επάγονται κατά τη διάρκεια εξέλιξης της ασθένειας και είναι γνωστό ότι καταστέλλουν άλλα γονίδια που σχετίζονται με την παθογένεση, συμπεριλαμβανομένων των υπεροξειδασών (Bar-ot κ.α. 2005).

### **Γονίδια που σχετίζονται με ορμόνες**

Η φυτική ορμόνη αυξίνη παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του φυτού, κυρίως στην οργανογένεση και την κυτταρική διεύρυνση. Για την έναρξη της ανάπτυξης ενός νέου οργάνου απαιτούνται υψηλές συγκεντρώσεις αυξίνης και οι φορείς της αυξίνης καθώς και τα μόρια σηματοδότησης της αυξίνης παράγονται κατά

τη διάρκεια των πρώτων σταδίων δημιουργίας της θέσης σίτισης. Τα μόρια AUX1 και AUX4 / LAX3 (υποθετικοί φορείς αυξίνης) και DR5 (στοιχείο απόκρισης στην αυξίνη) παρήχθησαν στα αρχικά στάδια του σχηματισμού των γιγαντιαίων κυττάρων, ο οποίος προκαλεί τοπική, παροδική αύξηση στα επίπεδα αυξίνης (Caillaud κ.α. 2008). Τα γονίδια που κωδικοποιούν τους παράγοντες απόκρισης στις κυτοκίνες ρυθμίστηκαν κατά τα αρχικά στάδια σχηματισμού των γιγαντιαίων κυττάρων, γεγονός που υποδηλώνει το ρόλο της κυτοκίνης στην έναρξη δημιουργίας των γιγαντιαίων κυττάρων (Caillaud κ.α. 2008). Η απουσία παραγωγής ή η υπερπαραγωγή αιθυλενίου μειώνει την ελκυστικότητα των ριζών προς τους κομβοηματοδείς υποδεικνύοντας τον ρόλο του αιθυλενίου στην αρχική έλξη του νηματώδη προς το ριζικό σύστημα (Fudali κ.α. 2013)

### Πρωτεΐνες μεμβρανικής μεταφοράς

Η μεταφορά μέσω της κυτταρικής μεμβράνης είναι σημαντική για την συνεχή παροχή θρεπτικών συστατικών εντός της αναπτυσσόμενης θέσης σίτισης. Τα γονίδια που εμπλέκονται στην κυτταρική μεταφορά βρέθηκε να είναι διαφορετικά ρυθμισμένα στα συγκύτια από ότι στους όγκους. Τρία από τα γονίδια ακουαπορίνης στο *Arabidopsis* επάγονται (το ένα μιας ενδογενούς πρωτεΐνης τύπου NOD26 και δύο των μεμβρανικών πρωτεϊνών PIP), ενώ επτά καταστέλλονται (τρία PIP και τέσσερα των τονοπλαστικών ακουαπορινών TIP) μέσα στους όγκους (Jammes κ.α. 2005). Δύο μεταφορείς αμινοξέων, οι AAR3 και AAR6, φάνηκε να επάγονται κατά τη διάρκεια της προσβολής ριζών *Arabidopsis* από κομβοηματοδείς (Marella κ.α. 2013).

### Γονίδια κυτταροσκελετού και κυτταρικού κύκλου

Ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα της θέσης σίτισης είναι η αναδιαμόρφωση ή διεύρυνση του κυτταρικού τοιχώματος. Η διάσπαση του φυτικού κυτταρικού τοιχώματος ή τα ένζυμα τροποποίησης (CWD / MEs) εμπλέκονται επίσης στο σχηματισμό των κυττάρων σίτισης. Μετά την έναρξη σχηματισμού της θέσης σίτισης, η έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν τα CWD και MEs μειώνεται στους

νηματώδεις ενώ προκαλείται έκφραση των γονιδίων που τα κωδικοποιούν στα φυτά ώστε να επιτραπεί η αναδιαμόρφωση του κυτταρικού τοιχώματος κατά τον σχηματισμό των τροποποιημένων κυττάρων σίτισης (αναθεωρήθηκε στο Sobczak κ.α. 2011). Επιπροσθέτως, τα γονίδια που εμπλέκονται στην αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού ρυθμίστηκαν διαφορετικά σε ρίζες ξενιστών που είχαν προσβληθεί από φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις. Για παράδειγμα, οι φορμίνες που είναι στερεωμένες στην κυτταρική μεμβράνη (AtFH6 και AtFH10), οι οποίες εμπλέκονται στην πυρηνοποίηση της ακτίνης, επάγονται κατά τη διάρκεια προσβολής με κομβονηματώδεις (Jammes κ.α. 2005).



## Μοριακή βάση της ανθεκτικότητας

Όταν το φυτό συναντά ένα παθογόνο ενεργοποιούνται πολλαπλά επίπεδα αμυντικών αποκρίσεων. Το πρώτο επίπεδο είναι το φυτικό ανοσοποιητικό σύστημα, το οποίο είναι γνωστό ως βασικές αμυντικές αποκρίσεις ή ανοσία προκαλούμενη από πρότυπα (pattern-triggered immunity - PTI), ενεργοποιείται από την αλληλεπίδραση των υποδοχέων αναγνώρισης προτύπων (PRRs) που εδράζουν στην φυτική κυτταρική επιφάνεια με μοριακά μοντέλα σχετιζόμενα με τα παθογόνα (PAMPs), τα οποία είναι συντηρημένα μόρια των παθογόνων. Στόχος του PTI είναι η αναστολή της ανάπτυξης του παθογόνου και ο περιορισμός της μόλυνσης. Τα μολυσματικά παθογόνα ξεπερνούν τους φραγμούς του PTI και τροποποιούν τη φυσιολογία του ξενιστή εκκρίνοντας μόρια τελεστές, τα οποία είναι υπεύθυνα για την πρόκληση ευαισθησίας στον ξενιστή (effector-triggered susceptibility - ETS). Τα φυτά έχουν εξελίξει γονίδια πολλαπλής ανθεκτικότητας (R) που είτε άμεσα είτε έμμεσα αναγνωρίζουν συγκεκριμένους τελεστές [avirulence (AVR) proteins]. Αυτή η αλληλεπίδραση R / AVR ενεργοποιεί μια ισχυρότερη απόκριση άμυνας που αναφέρεται ως ανοσία προκαλούμενη από τελεστές (effector-triggered immunity - ETI) (Jones και Dangl 2006). Δύο αλληλοεπιδρούσες, αλλά διαφορετικές φυτικές αμυντικές αποκρίσεις, οι PTI και ETI, προστατεύουν τον ξενιστή ενάντια στην επίθεση παθογόνων και εχθρών. Σε σχέση με τις προσβολές από νηματώδεις, η ανθεκτικότητα φαίνεται να οφείλεται σε ETI, ενώ δεν έχουν ακόμη αναφερθεί περιπτώσεις ανθεκτικότητας τύπου PTI.

### Γονίδια ανθεκτικότητας ξενιστή

Η μεγαλύτερη ομάδα γονιδίων ανθεκτικότητας R κωδικοποιεί πρωτεΐνες που περιέχουν μια κεντρική αλληλουχία σύνδεσης νουκλεοτιδίων (NB) και μια C-τελική επαναλαμβανόμενη αλληλουχία πλούσια σε λευκίνη (LRR). Το N-τελικό άκρο των NB-LRR ποικίλλει δομικά και η παρουσία μιας περιοχής LRR είναι τυπική για τα περισσότερα γονίδια R. Η υψηλή μεταβλητότητα της LRR φαίνεται να σχετίζεται με την ικανότητα αναγνώρισης διαφορετικών παθογονικών διεγερτών και πιθανόν να προέρχεται από σημειακές μεταλλάξεις σε συνδυασμό με θετική επιλογή (Jones και Dangl 2006).

Οι νηματώδεις είναι σημαντικά παράσιτα πολλών καλλιεργειών και η ανθεκτικότητα των ξενιστών είναι μια πολύ επιθυμητή προσέγγιση για την αντιμετώπισή τους (Williamson και Kumar 2006). Διάφορα R-γονίδια των νηματωδών (Nem-R-γονίδια) έχουν χαρακτηριστεί γενετικά και μερικά από αυτά έχουν κλωνοποιηθεί και ανήκουν στα κυρίαρχα γονίδια (ονομάζονται επίσης γονίδια μείζονος ανθεκτικότητας). Αν και πολλά από τα γονίδια Nem-R είναι κανονικοί ανοσολογικοί υποδοχείς που μοιάζουν με αυτούς που προσδίδουν ανθεκτικότητα σε άλλα παθογόνα των φυτών, η πρόσφατη απομόνωση και λειτουργικός χαρακτηρισμός των δύο σημαντικών ποσοτικών τόπων Rhg1 και Rhg4 που συμβάλλουν στην ανθεκτικότητα εναντίον των κυστογόνων νηματωδών της σόγιας, δεν ταιριάζει σε αυτό το μοντέλο και αποκαλύπτει ότι η ανθεκτικότητα στους φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις επιτυγχάνεται με μηχανισμούς διαφορετικούς από την ETI.

### Μεταφορά γονιδίων Nem-R σε φυτά

Το πρώτο Nem-R γονίδιο που μεταφέρθηκε ήταν το Hs1<sup>Pro-1</sup> από άγρια σακχαρότευτλα. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που στερείται περιοχής LRR και προσδίδει ανθεκτικότητα εναντίον του κυστογόνου νηματώδη του σακχαρότευτλου, *H. schachtii*, αλλά ο ακριβής του ρόλος είναι ακόμη ασαφής. Άλλα γονίδια-R που έχουν αναγνωρισθεί από καλλιεργούμενα φυτά περιλαμβάνουν το Mi-1 της τομάτας, το Hero A της τομάτας, το Gra2 της πατάτας, το Gro1-4 πατάτας, το Ma της δαμασκηιάς και τα rhg (rhg1 και rhg 4) της σόγιας. Το γονίδιο Mi1.2 της τομάτας προσδίδει ανθεκτικότητα σε διάφορα είδη κομβονηματωδών και δρα όταν οι μολυσματικές προνύμφες προσπαθούν να σχηματίσουν τη θέση σίτισης. Στην περιοχή του φυτού όπου διεγείρεται η δημιουργία της θέσης αυτής, προκαλείται μια αντίδραση υπερευαισθησίας που οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο που περιβάλλει το εισβάλον J2. Αντίθετα, ένα άλλο Nem-R γονίδιο της τομάτας, το Hero A, το οποίο προσδίδει ανθεκτικότητα εναντίον των κυστογόνων νηματωδών της πατάτας, δρα αφότου τα κύτταρα σίτισης έχουν διαμορφωθεί και υποκινεί μια αντίδραση υπερευαισθησίας στα κύτταρα που περιβάλλουν άμεσα την αναπτυσσόμενη θέση σίτισης. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι τα δύο γονίδια rhg που κλωνοποιήθηκαν από τη σόγια φαίνεται να έχουν μη τυπικές ιδιότητες σε σύγκριση με άλλα R γονίδια (Cook κ.α.

2012, Οι Liu κ.α. 2012). Η ανθεκτικότητα αποδίδεται από το γονίδιο rhg1 και οφείλεται στην παρουσία διαδοχικών επαναλήψεων που περιέχουν πολλά διαφορετικά γονίδια, ενώ το γονίδιο rhg4 κωδικοποιεί μια υδροξυμεθυλ-τρανσφεράση της σερίνης. Ωστόσο, οι λεπτομερείς οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας είναι ακόμη άγνωστοι.

### Γονίδια τελεστές AVR των νηματωδών

Όσον αφορά στον εντοπισμό και την κλωνοποίηση AVR γονιδίων από βακτήρια και μύκητες έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος, λίγα όμως έχουν αναγνωριστεί για τους φυτοпараσιτικούς νηματώδεις. Οι σχετιζόμενοι τελεστές (δηλαδή, τα γονίδια AVR) για το Mi1.2 και το Hero A δεν έχουν ακόμη ταυτοποιηθεί. Ωστόσο, το γονίδιο AVR που αναγνωρίζεται από ένα άλλο Nem-R γονίδιο, το Gra2, έχει ταυτοποιηθεί και πρόκειται για το GrRBP1 του κυστογόνου νηματώδη της πατάτας *Globodera pallida* (Fuller κ.α. 2007b). Η πρωτεΐνη που κωδικοποιεί είναι μέλος μιας μεγάλης οικογένειας εκκρινόμενων πρωτεϊνών που ονομάζονται SPRYSECs (Sacco κ.α. 2009, Postma κ.α. 2012), μερικές από τις οποίες είναι γνωστές για τη καταστολή των αντιδράσεων άμυνας του ξενιστή (Quentin κ.α. 2013). Πιο πρόσφατα, τα μέλη μιας διατηρημένης οικογένειας νηματολογικών φερομονών (ασκαροσίδες) χαρακτηρίστηκαν ως μοριακά παθογενετικά μοντέλα σχετιζόμενα με τους νηματώδεις (Manosalva κ.α. 2015). Χαμηλές συγκεντρώσεις μιας κύριας ασκαροσίδης, της ascI#18, ενεργοποιούν την ανοσοαπόκριση των φυτών και αυξάνουν την ανθεκτικότητα εναντίον του παθογόνου. Ένα άλλο γονίδιο που κωδικοποιεί μια πιθανή AVR πρωτεΐνη (MAP-1) των κομβονηματωδών, έχει περιγραφεί βάσει της διαφορετικής έκφρασης μεταξύ παθογόνων και μη παθογόνων σειρών *M. incognita* (Semblat κ.α. 2001, Castagnone-Sereno κ.α. 2009). Πιο πρόσφατα, ορισμένα μέλη της οικογένειας γονιδίων MAP-1, αποδείχτηκε ότι διαθέτει συντηρημένα μοτίβα τύπου CLE, αν και ο αριθμός και η διάταξη των επαναλήψεων είναι διαφορετικά (Rutter κ.α. 2014b). Η σίγαση του γονιδίου του Mi-Cg1 του *M. incognita* μετατρέπει τον μη παθογόνο τύπο σε παθογόνο, πράγμα που υποδηλώνει ότι αυτό το γονίδιο απαιτείται για την απόδοση ανθεκτικότητας από το γονίδιο Mi-1.2. Ωστόσο, η πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το γονίδιο Mi-Cg1 δεν περιέχει ένα σηματοδοτικό πεπτίδιο που είναι το χαρακτηριστικό γνώρισμα των εκκριτικών πρωτεϊνών που μάλλον

εμπλέκονται στην αλληλεπίδραση με τις πρωτεΐνες του φυτού ξενιστή. Εικάζεται ότι το γονίδιο Mi-Cg1 εμπλέκεται στον επαναπροσδιορισμό της έκφρασης ενός άλλου γονιδίου τελεστή, το οποίο αναγνωρίζεται από το Mi-1.2 γονίδιο (Gleason κ.α. 2008).

### MicroRNAs σε αλληλεπιδράσεις φυτών-νηματωδών

Ο ρόλος των microRNAs (miRNA) στη ρύθμιση της έκφρασης γονιδίων που εμπλέκονται στις αλληλεπιδράσεις φυτών-νηματωδών έχει ήδη αποδειχθεί (Jones-Rhoades κ.α. 2006, Hewezi and Baum 2013). Τα miRNAs είναι μη κωδικά μόρια RNA, μήκους 20-22 νουκλεοτιδίων που προκύπτουν από τη δραστηριότητα πρωτεϊνών τύπου Dicer (Reinhart κ.α. 2002). Μεταγράφονται από γονίδια MIR με τους δικούς τους υποκινητές και RNA πολυμεράση II για να σχηματίσουν μονόκλωνο πρόδρομο RNA (pri-miRNA) στον πυρήνα (Lee κ.α. 2004). Τα pri-miRNAs σχηματίζουν μια φουρκέτα και στη συνέχεια δημιουργείται δίκλωνο miRNA υπό την επίδραση των πρωτεϊνών DCL στο κυτταρόπλασμα (Bartel 2004). Η μία από τις δύο αλυσίδες του δίκλωνου αυτού μορίου ενσωματώνεται σε ένα σύμπλοκο πρόκλησης σίγασης του RNA (RNA-induced silencing complex - RISC) και καταστέλλει την έκφραση ομόλογων στόχων mRNA με τη μεσολάβηση πρωτεϊνών AGO1 ή με παρεμπόδιση της μετάφρασης.

Τα miRNA των ξενιστών έχει αποδειχθεί ότι παίζουν ρόλο στη ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων που εμπλέκονται στον παρασιτισμό από νηματώδεις (Hewezi και Baum 2013, Cabrera κ.α. 2016). Για παράδειγμα, 19 οικογένειες miRNA ρυθμίστηκαν διαφορετικά σε διαφορετικά χρονικά σημεία της προσβολής από τον κυστογόνο νηματώδη *Heterodera schachtii* σε *Arabidopsis* που υποδηλώνει το ρόλο του miRNAs στην αλληλεπίδραση ξενιστή-νηματώδη (Hewezi κ.α. 2008). Η πλειονότητα των miRNAs κατά το αρχικό στάδιο της προσβολής καταστέλλονταν, ενώ σε μεταγενέστερο στάδιο, τα 7 από τα 16 miRNAs επάγονταν, τα 5 καταστέλλονταν και τα τέσσερα παρέμεναν αμετάβλητα. Πρόσφατα, οι Cabrera κ.α. (2016) διεξήγαγαν μια μελέτη σχετικά με την αλληλεπίδραση ξενιστή-κομβονηματώδη κατά τη διάρκεια των πρώιμων σταδίων εξέλιξης της προσβολής, στην οποία προτείνουν τον ρόλο των miRNAs κατά τον παρασιτισμό φυτών από κομβονηματώδεις. Για παράδειγμα, στους όγκους που προκλήθηκαν στα πρώιμα στάδια προσβολής *Arabidopsis* από *M. javanica* παρατηρήθηκε καταστολή των miRNAs. Γενικά, οι περισσότεροι στόχοι των miRNA

είναι μεταγραφικοί παράγοντες που απορρυθμίζονται κατά την προσβολή από νηματώδεις (Hewezi κ.α. 2012, Cabrera κ.α. 2016).

## Γενικά συμπεράσματα και μελλοντικές προοπτικές

Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις προκαλούν εκτεταμένη ζημιά και σημαντικές απώλειες αποδόσεων όπως και άλλοι βιοτικοί περιοριστικοί παράγοντες, αλλά η δυσκολία αναγνώρισης της απειλής οδηγεί συχνά σε παράβλεψη των νηματωδολογικών προσβολών. Για την αντιμετώπιση των επιπτώσεών τους στα φυτά και των οικονομικών απωλειών, ακολουθούνται πολλές διαφορετικές στρατηγικές, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται (1) χρήση νηματωδοκτόνων (2) καλλιεργητικές πρακτικές και (3) ανθεκτικές ποικιλίες. Η χρήση των νηματωδοκτόνων έχει περιοριστεί λόγω των περιβαλλοντικών τους επιπτώσεων. Οι καλλιεργητικές πρακτικές περιλαμβάνουν και την εναλλαγή καλλιεργειών, αλλά με τον περιορισμό ότι οι κυστογόνοι νηματώδεις μπορούν να παραμείνουν σε αδράνεια για πολλά χρόνια, ενώ οι κομβονηματώδεις είναι πολυφάγοι. Λόγω της χαμηλής αποτελεσματικότητας αυτών των μεθόδων, η ανθεκτικότητα του ξενιστή θεωρείται η αποτελεσματικότερη μέθοδος. Ανθεκτικές ποικιλίες μπορεί να προκύψουν είτε με φυσικό τρόπο είτε να παραχθούν με μεταφορά ανθεκτικών γονιδίων από άγρια είδη σε καλλιεργούμενα μέσω κλασσικής βελτίωσης. Αυτό όμως συνεπάγεται διασταυρώσεις και επιλογή, που είναι χρονοβόρα διαδικασία και περιορίζει την ποικιλότητα των γονιδίων. Παρόλο που η διαγονιδιακή μεταφορά γονιδίων ανθεκτικότητας ενάντια στους νηματώδεις μεταξύ στενά συγγενικών ειδών έχει υπάρξει επιτυχημένη, η εφαρμογή της σε μακρινής συγγένειας είδη έχει περιορισμένη επιτυχία (Williamson και Kumar 2006). Η κατανόηση των μοριακών πτυχών των αλληλεπιδράσεων φυτών-νηματωδών μπορεί να έχουν ευρεία εφαρμογή και μεγάλη σημασία. Η γνώση των μοριακών καθοριστικών παραγόντων στις αλληλεπιδράσεις παθογόνου-ξενιστή θα αποτελέσει ένα τρόπο σχεδιασμού φιλικών προς το περιβάλλον μεθόδων ελέγχου των επιβλαβών φυτοπαθογόνων, το οποίο θα βοηθήσει στη μείωση της οικονομικής ζημίας για τη γεωργία που προκαλείται από τα συγκεκριμένα παθογόνα.

## Βιβλιογραφία

- Abad, P., & Williamson, V. M. (2010). *Plant nematode interaction: a sophisticated dialogue*. In C. Escobar & C. Fenoll (Eds.), *Advances in Botanical Research* (pp. 147–192). Amsterdam: Elsevier.
- Bagnaresi, P., Sala, T., Irdani, T., Scotto, C., Lamontanara, A., Beretta, M., κ.α.. (2013). Solanum torvum responses to the rootknot nematode *Meloidogyne incognita*. *BMC Genomics*, 540, 1–21.
- Barcala, M., Garcia, A., Cabrera, J., Casson, S., Lindsey, K., Favery, B., κ.α.. (2010). Early transcriptomic events in microdissected *Arabidopsis* nematode-induced giant cells. *The Plant Journal*, 61, 698–712.
- Bar-Or, C., Kapulnik, Y., & Koltai, H. (2005). A broad characterization of the transcriptional profile of the compatible tomato response to the plant parasitic root knot nematode *Meloidogyne javanica*. *European Journal of Plant Pathology*, 111, 181–192.
- Bartel, D. P. (2004). MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function genomics: The miRNA genes. *Cell*, 116, 281–297.
- Baum, T. J., Hussey, R. S., & Davis, E. L. (2007). *Root-knot and cyst nematode parasitism genes: the molecular basis of plant parasitism*. In J. K. Setlow (Ed.), *Genetic engineering* (pp. 17–43). New York: Springer.
- Beneventi, M. A., da Silva, O. B., de Sa, M. E. L., Firmino, A. A. P., de Amorim, R. M. S., Albuquerque, E. V. S., κ.α.. (2013). Transcription profile of soybean-root-knot nematode interaction reveals a key role of phytohormones in the resistance reaction. *BMC Genomics*, 322, 1–17.
- Cabrera, J., Barcala, M., García, A., Rio-Machín, A., Medina, C., Jaubert-Possamai, S., κ.α.. (2016). Differentially expressed small RNAs in *Arabidopsis* galls formed by *Meloidogyne javanica*: A functional role for miR390 and its TAS3-derived tasiRNAs. *New Phytologist*, 209, 1625–1640.
- Caillaud, M. C., Dubreuil, G., Quentin, M., Barbeoch, L. P., Lecomte, P., Engler, J. A., κ.α.. (2008). Root-knot nematodes manipulate plant cell functions during a compatible interaction. *Journal of Plant Physiology*, 165, 104–113.

- Castagnone-Sereno, P., Semblat, J. P., & Castagnone, C. (2009). Modular architecture and evolution of the map-1 gene family in the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Molecular Genetics and Genomics*, 282, 547–554.
- Cook, D. E., Lee, T. G., Guo, X., Melito, S., Wang, K., Bayless, A. M., κ.α.. (2012). Copy number variation of multiple genes at Rhg1 mediates nematode resistance in soybean. *Science*, 338, 1206–1209.
- Cotton, J. A., Lilley, C. J., Jones, L. M., Kikuchi, T., Reid, A., Thorpe, P., κ.α.. (2014). The genome and life-stage specific transcriptomes of *Globodera pallida* elucidate key aspects of plant parasitism by a cyst nematode. *Genome Biology*, 15, 1–17.
- Curtis, R. H. C. (2007). Plant parasitic nematode proteins and the host-parasite interaction. Briefings in Functional Genomics and Proteomics, 6, 50–58. *Ind J Plant Physiol*. 123
- de Almeida Engler, J. A., & Gheysen, G. (2013). Nematode-induced endoreduplication in plant host cells: Why and How? *The American Phytopathological Society*, 26, 17–24.
- de Almeida Engler, J., de Vleeschauwer, V., Burssens, S., Celenza, J. L., Jr., Inze´, D., van Montagu, M., κ.α.. (1999). Molecular markers and cell cycle inhibitors show the importance of cell cycle progression in nematode-induced galls and syncytia. *Plant Cell*, 11, 793–807.
- de Almeida Engler, J., Vieira, P., Rodiuc, N., de Sa, M. F. G., & Engler, G. (2015). *The plant cell cycle machinery: usurped and modulated by plant-parasitic nematodes*. In C. Escobar & C. Fenoll (Eds.), *Advances in botanical research* (pp. 91–118). Amsterdam: Elsevier.
- Dubreuil, G., Magliano, M., Deleury, E., Abad, P., & Rosso, M. N. (2007). Transcriptome analysis of root-knot nematode functions induced in the early stages of parasitism. *New Phytologist*, 176, 426–436.
- Fudali, S. L., Wang, C., & Williamson, V. M. (2013). Ethylene signaling pathway modulates attractiveness of host roots to the root-knot nematode *Meloidogyne hapla*. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 26, 75–86.
- Fuller, V. L., Lilley, C. J., Atkinson, H. J., & Urwin, P. E. (2007a). Differential gene expression in Arabidopsis following infection by plant-parasitic nematodes *Meloidogyne incognita* and *Heterodera schachtii*. *Molecular Plant Pathology*, 8, 595–609.



- Fuller, V. L., Lilley, C. J., & Urwin, P. E. (2007b). Nematode resistance. *The New phytologist*, 180, 27–44.
- Gheysen, G., & Fenoll, C. (2002). Gene expression in nematode feeding sites. *Annual Review of Phytopathology*, 40, 191–219.
- Gleason, C. A., Liu, Q. L., & Williamson V. M. (2008). Silencing a candidate nematode effector gene corresponding to the tomato resistance gene Mi-1 leads to acquisition of virulence. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 21, 576–585.
- Grundler, F., Schnibbe, L., & Wyss, U. (1991). In vitro studies on behavior of 2nd stage juveniles *Heterodera schachtii* (nematode, heteroderidae) in response to plant-roots exudates. *Parasitology*, 103, 149–155.
- Haegeman, A., Bauters, L., Kyndt, T., Rahman, M. M., & Gheysen, G. (2013). Identification of candidate effector genes in the transcriptome of the rice root knot nematode *Meloidogyne graminicola*. *Molecular Plant Pathology*, 14, 379–390.
- Hammes, U. Z., Schachtman, D. P., Berg, R. H., Nielsel, E., Koch, W., McIntyre, L. M., κ.α.. (2005). Nematode-induced changes of transporter gene expression in *Arabidopsis* roots. *The American Phytopathological Society*, 18, 1247–1257.
- Hassan, S., Behm, C. A., & Mathesius, U. (2010). Effectors of plant parasitic nematodes that re-program root cell development. *Functional Plant Biology*, 37, 933–942.
- Hewezi, T., & Baum, T. J. (2013). Manipulation of plant cells by cyst and root-knot nematode effectors. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 26, 9–16.
- Hewezi, T., Howe, P., Maier, T. R., & Baum, T. J. (2008). *Arabidopsis* small RNAs and their targets during cyst nematode parasitism. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 21, 1622–1634.
- Hewezi, T., Maier, T. R., Nettleton, D., & Baum, T. J. (2012). The *Arabidopsis* MicroRNA396-GRF1/GRF3 regulatory module acts as a developmental regulator in the reprogramming of root cells during cyst nematode infection. *Plant Physiology*, 159, 321–335.
- Ibrahim, H. M., Hosseini, P., Alkharouf, N. W., Hussein, E. H., Abd El-Kader, Y., Aly, M. A., κ.α.. (2011). Analysis of gene expression in soybean (*Glycine max*) roots in response to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* using microarrays and KEGG pathways. *BMC Genomics*, 12, 1–16.

- Jacob, J., & Mitreva, M. (2011). *Transcriptomes of plant-parasitic nematodes*. In J. Jones (Ed.), *Genomics and molecular genetics of plant-nematode Interaction* (pp. 119–138). Berlin: Springer.
- Jammes, F., Lecomte, P., Engler, J. A., Bitton, F., Magniette, M. L. M., Renou, J. P., κ.α.. (2005). Genome-wide expression profiling of the host response to root-knot nematode infection in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 44, 447–458.
- Ji, H., Gheysen, G., Denil, S., Lindsey, K., Topping, J. F., Nahar, K., κ.α.. (2013). Transcriptional analysis through RNA sequencing of giant cells induced by *Meloidogyne graminicola* in rice roots. *Journal of Experimental Botany*, 64, 3885–3898.
- Jones, J. D. G., & Dangl, J. L. (2006). The Plant Immune System. *Nature*, 444, 323–329.
- Jones-Rhoades, M. W., Bartel, D. P., & Bartel, B. (2006). MicroRNAs and their regulatory roles in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 19–53.
- Kyndt, T., Denil, S., Haegeman, A., Trooskens, G., Bauters, L., Van Criekinge, W., κ.α.. (2012). Transcriptional reprogramming by root knot and migratory nematode infection in rice. *New Phytologist*, 196, 887–900.
- Lee, Y., Kim, M., Han, J., Yeom, K., Lee, S., Baek, S. H., κ.α.. (2004). MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO Journal*, 23, 4051–4060.
- Liu, S., Kandath, P. K., Warren, S. D., Yeckel, G., Heinz, R., Alden, J., κ.α.. (2012). A soybean cyst nematode resistance gene points to a new mechanism of plant resistance to pathogens. *Nature*, 492, 256–260.
- Manosalva, P., Manohar, M., Von Reuss, S. H., Chen, S., Koch, A., Kaplan, F., κ.α.. (2015). Conserved nematode signalling molecules elicit plant defenses and pathogen resistance. *Nature Communications*, 6, 7795. doi:10.1038/ncomms8795.
- Marella, H. H., Nielsen, E., Schachtman, D. P., & Taylor, C. G. (2013). The amino acid permeases AAP3 and AAP6 are involved in root-knot nematode parasitism of *Arabidopsis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 26, 44–54.
- Nahar, K., Kyndt, T., Hause, B., Hofte, M., & Gheysen, G. (2013). Brassinosteroids suppress rice defense against root-knot nematodes through antagonism with the jasmonate pathway. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 26, 106–115. *Ind J Plant Physiol*. 123

- Nicol, P., Gill, R., Nyarko, J. F., & Jones, G. K. (2012). De novo analysis and functional classification of the transcriptome of the root lesion nematode, *Pratylenchus thornei*, after 454 GS FLX sequencing. *International Journal for Parasitology*, 42, 225–237.
- Patel, N., Hamamouch, N., Li, C., Hewezi, T., Hussey, R. S., Baum, T. J., κ.α.. (2010). A nematode effector protein similar to annexins in host plants. *Journal of Experimental Botany*, 61, 235–248.
- Petitot, A. S., Dereeper, A., Agbessi, M., da Silva, C., Guy, J., Ardisson, M., κ.α.. (2016). Dual RNA-Seq reveals *Meloidogyne graminicola* transcriptome and candidate effectors during the interaction with rice plants. *Molecular Plant Pathology*, 17, 860–874.
- Portillo, M., Cabrera, J., Lindsey, K., Topping, J., Andres, M. F., Emiliozzi, M., Oliveros, J. C., Gracia-Casado, G., Solano, R., Koltai, H., Resnick, N., Fenoll, C., & Escobar, C. (2013). Distinct and conserved transcriptomic changes during nematode-induced giant cell development in tomato compared with *Arabidopsis*: a functional role for gene repression. *New Phytologist*, 197, 1276–1290.
- Postma, W. J., Slootweg, E. J., Rehman, S., Finkers-Tomczak, A., Tytgat, T. O. G., van Gelderen, K., Lozano-Torres, J. L., Roosien, J., Pomp, R., van Schaik, C., Bakker, J., Goverse, A., Smant, G., Postma, W. J., Slootweg, E. J., Rehman, S., Finkers-Tomczak, A., Tytgat, T. O. G., van Gelderen, K., Lozano-Torres, J. L., Roosien, J., Pomp, R., van Schaik, C., Bakker, J., Goverse, A., & Smant, G. (2012). The effector SPRYSEC-19 of *Globodera rostochiensis* suppresses CC-NB-LRR-mediated disease resistance in plants. *Plant Physiology*, 160(2), 944–954.
- Postnikova, O. A., Hult, M., Shao, J., Skantar, A., & Nemchinov, L. G. (2015). Transcriptome analysis of resistant and susceptible alfalfa cultivars infected with root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *PLoS ONE*, 10, e0118269. doi:10.1371/journal.pone.0118269.
- Quentin, M., Abad, P., & Favery, B. (2013). Plant parasitic nematode effectors target host defense and nuclear functions to establish feeding cells. *Frontier in Plant Science*, 4, 53. doi:10.3389/fpls.2013.00053.
- Reinhart, B. J., Weinstein, E. G., Rhoades, M. W., Bartel, B., & Bartel, D. P. (2002). MicroRNAs in plants. *Genes and Development*, 16, 1616–1626.

- Rutter, W. B., Hewezi, T., Abubucker, S., Maier, T. R., Huang, G., Mitreva, M., Hussey, R. S. & Baum, T. J. (2014a) Mining novel effector proteins from the oesophageal gland cells of *Meloidogyne incognita*. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 27, 965–974.
- Rutter, W. B., Hewezi, T., Maier, T. R., Mitchum, M. G., Davis, E. L., Hussey, R. S., & Baum, T. J. (2014b). Members of the *Meloidogyne* avirulence protein family contain multiple plant ligand-like motifs. *Nematology*, 104, 875–885.
- Sacco, M. A., κ.α.. (2009). The cyst nematode SPRYSEC protein RBP-1 elicits Gpa2- and RanGAP2-dependent plant cell death. *PLoS Pathology*, 5, e1000564. doi:10.1371/journal.ppat.1000564.
- Santini, L., Munhoz, C. D. F., Bonfim, M. F., Jr., Brandaño, M. M., Inomoto, M. M., & Vieira, M. L. C. (2016). Host transcriptional profiling at early and later stages of the compatible interaction between *Phaseolus vulgaris* and *Meloidogyne incognita*. *Phytopathology*, 106, 282–294.
- Schaff, J. E., Nielsen, D. M., Smith, C. P., Scholl, E. H., & Bird, D. M. (2007). Comprehensive transcriptome profiling in tomato reveals a role for glycosyltransferase in Mi-mediated nematode resistance. *Plant Physiology*, 144, 1079–1092.
- Semblat, J. P., Rosso, M. N., Hussey, R. S., 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*. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 14, 72–79.
- Sobczak, M., Fudali, S., & Wieczorek, K. (2011). *Cell wall modifications induced by nematodes*. In J. Jones, G. Gheysen & C. Fenoll (Eds.), *Genomics and molecular genetics of plantnematode interactions* (pp. 395–422). Netherlands: Springer.
- Teillet, A., Dybal, K., Kerry, B. R., Miller, A. J., Curtis, R. H. C., & Hedden, P. (2013). Transcriptional changes of the root–knot nematode *Meloidogyne incognita* in response to *Arabidopsis thaliana* root signals. *PLoS ONE*, 8, e61259. doi:10.1371/journal.pone.0061259.
- Trudgill, D. L., & Block, V. C. (2001). Apomictic, polyphagous rootknot nematodes, exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 39, 53–77.

- Vanholme, B., Meutter, J. D., Tytgat, T., Montagu, M. V., Coomans, A., & Gheysen, G. (2004). Secretions of plant—parasitic nematodes: A molecular update. *Gene*, 332, 13–27.
- Williamson, V. M., & Kumar, A. (2006). Nematode resistance in plants: The battle underground. *Trends in Genetics*, 22, 396–403.
- Xu, D. L., Long, H., Liang, J. J., Zhang, J., Chen, X., Li, J. L., κ.α.. (2012). De novo assembly and characterization of the root transcriptome of *Aegilops variabilis* during an interaction with the cereal cyst nematode. *BMC Genomics*, 13, 1–9.
- Zimmet, J. M., Ladd, D., Jackson, C. W., Stenberg, P. E., & Ravid, K. (1997). A role for cyclin D3 in the endomitotic cell cycle. *Molecular and Cellular Biology*, 17, 7248–7259.