

南方根结虫寄生相关基因研究进展

滕昆仑,黎娟华,彭明

(中国热带农业科学院热带生物科学和生物技术研究所,海南海口 571101)

摘要:南方根结线虫在世界范围内广泛分布,在最低温度高于3℃的每个国家都有发现。它能侵染几乎所有农作物的根系因此成为最具破坏力的作物病原物。每年造成的经济损失高达1000亿美元。尽管杀线虫化学药剂是控制南方根结线虫最有效的方法,但因其对人类和环境的毒性而逐渐被弃用。因此研究工作的重点转向研究南方根结线虫寄生相关基因及其产物上。这些研究有助于深入了解其成功寄生和突破植物免疫防御的机理。综述了南方根结线虫寄生相关基因及其产物的研究进展,并对使用RNAi技术防治南方根结线虫的策略进行了评估。

关键词:南方根结线虫;寄生基因

中图分类号:S432.4+5

文献标识码:A

论文编号:2009-1097

Advances in Parasitism-Related Genes of *Meloidogyne incognita*

Teng Kunlun, Li Juanhua, Peng Ming

(Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Science, Haikou Hainan 571101)

Abstract: *Meloidogyne incognita* represents the most widespread species and is found in every country where the lowest temperature is higher than 3 °C. The *M. Incognita* is able to infect the roots of almost all cultivated plants making it perhaps the most damaging of all crop pathogens. Although chemical nematicides are the most reliable means of controlling southern root-knot nematodes, they are increasingly being withdrawn owing to their toxicity to humans and the environment. So the strategies defend against the *Meloidogyne incognita* infectivity were focus on the pathogenic genes and its products, which may provide insights into the adaptations required by metazoans to successfully parasitize and counter defenses of immunocompetent plants. The advances in exploring the parasitism-related genes of *Meloidogyne incognita* were reviewed and RNAi as a new antiparasitic strategy was also evaluated in this paper.

Key words: *meloidogyne incognita*, parasitism genes

0 引言

南方根结线虫(*Meloidogyn incognita*)在世界范围内广泛存在,主要分布在热带、亚热带和温带地区。它能侵染几乎所有栽培作物的根,每年造成的经济损失高达1000亿美元^[1],因此它或许是世界上造成损失最大的作物病原。尽管杀线虫活性的化学药剂是目前最

为有效的控制南方根结线虫病害的方法,但大多数杀线虫药剂是非特异的,它们给土壤生态系统、地下水和人类的健康带来严重危害。因此农业化学药剂的使用被严格限制,并在将来会逐渐被禁用。因此一种新的特异性的防治南方根结线虫的策略的产生成为必需。近年来对南方根结线虫的分子研究让我们对于其突破

基金项目:中国热带农业科学院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项项目“利用RNAi技术防治南方根结线虫的研究”资助(ITBBZX0812)。

第一作者简介:滕昆仑,男,1982年出生,硕士。研究方向:微生物学。通信地址:571101海南海口中国热带农业科学院热带生物技术研究所, Tel: 0898-66963161, E-mail: tengkunlun@yahoo.com.cn。

通讯作者:彭明,男,1954年出生,教授,研究员。通信地址:571101海南海口中国热带农业科学院热带生物技术研究所, Tel: 0898-66963161, E-mail: mmpeng_2000@yahoo.com。

收稿日期:2009-05-25, **修回日期:**2009-06-08。

植物免疫防御而成功寄生并通过特殊方式产生后代的机理了解更加深入。在这其中与其寄生相关的基因的研究为寻找新的防治策略提供了一个新的思路。

1 南方根结线虫简介

南方根结线虫隶属于线虫门(Nemata),侧尾腺口纲(Secernentea),垫刃目(Tylenchida),异皮科(Heteroderidae),根结亚科(meloidogyninae),根结线虫属(*Meloidogyne*)1887年Chitwood的工作才彻底改变了根结线虫的分类地位,建立了*Meloidogyne*属^[2]。南方根结线虫营专性寄生,以孤雌生殖方式产生后代。25℃时平均生活周期为6~8周。土壤中有侵染性的二龄幼虫通过根冠后部的伸长区侵入植物根部并在细胞间移动到达维管束。它们会在分化区选择合适的根细胞从口针向细胞内分泌一些蛋白质,诱导植物细胞进行细胞核分裂,但细胞质不分裂,这样经过几轮后,被诱导的植物细胞就会成为增生的多核细胞,叫巨细胞。周围细胞的增生和肥大导致形成典型的根结。线虫在植物根部固着生活的时候通过口针从巨细胞汲取所需的营养物质。经过三次退皮后雄虫仍保持蠕虫状离开根部,而梨形的雌虫在根表面产生大量由基质包裹的卵。在适宜条件下,卵会孵化成为幼虫,进行新一轮的侵染循环^[1]。由此可见,线虫侵染的关键环节是通过口针分泌的蛋白质。这些蛋白质由食道腺细胞的寄生相关基因编码^[3]。随着分子生物学的发展,人们渐渐对这些基因及其编码产物的功能有了比较深入的了解。

2 南方根结线虫寄生相关基因

植物细胞壁多糖主要由纤维素、半纤维素和果胶等组成^[4]。为完成寄生,南方根结线虫分泌一系列细胞壁降解酶包括纤维素酶、果胶酶等^[5-7]。1999年Rosso等人从二龄幼虫中分离到第一个南方根结线虫寄生相关基因 β -1,4内切葡聚糖酶基因*Mi-eng-1*,该基因在有迁移性的二龄幼虫、雄虫和固着生活的成熟雌虫中有表达。在二龄幼虫的寄生前阶段,转录物存在于亚腹食道腺细胞的细胞质中。编码的产物含一个催化结构域和一个纤维素结合结构域。然而雌性成虫卵基质中纤维素酶的活性表明它可能在直肠腺中也有合成,合成产物有助于将卵块排到根的表面^[8]。*Mi-eng-2*编码含信号肽及纤维素结合域的酶,属GHF5家族。转录物存在于侵染性幼虫的食道腺中^[9-11]。木聚糖聚合物是植物,特别是单子叶植物细胞壁半纤维素的重要成分。 β -1,4内切木糖酶能将木聚糖聚合物水解成随机大小的片段。*Mi-xyl*基因编码一个属于糖水解酶家族5的蛋白。该基因在南方根结线虫二龄幼

虫亚腹食道腺中表达^[12]。2004年黄国忠等人从亚食道腺细胞中克隆到2个果胶酶基因:*Mi-pel-1*,*Mi-pel-2*它们分别编码含信号肽的271个氨基酸残基和280个氨基酸残基的蛋白。RT-PCR分析证实它们在寄生前阶段和二龄幼虫前期高量表达,而在之后的寄生阶段没有检测到。这说明它们编码的蛋白能被分泌到植物组织中促进穿透和在细胞内的移动^[13-14]。2002年第一个动物多聚半乳糖醛酸酶基因*Mi-pg-1*从南方根结线虫中发现。MI-PG-1上信号肽的存在及*Mi-pg-1*基因转录物特异性定位在侵染性幼虫的食道腺中表明此酶可被分泌到植物组织中^[15]。分支酸变位酶(chorismate mutase)位于莽草酸代谢途径的末端,催化分支酸转化成预苯酸(prephenate)为苯丙氨酸和酪氨酸生物合成提供前体。分支酸是许多复合物的前体,包括和植物防卫相关的水杨酸,芳香族氨基酸,吲哚乙酸及许多次及代谢产物。线虫的分支酸变位酶对这些生理途径的干扰可能会破坏一般的植物防卫反应,甚至破坏植物细胞壁的结构^[14]。*Mi-cm-1*和*Mi-cm-2*分别为663 bp和720 bp。它们编码的酶含N-末端信号肽。原位杂交显示转录物在亚腹食道腺中积累。在早期二龄幼虫寄生阶段高量表达,在后期表达降低(*Mi-cm-1*)或检测不到(*Mi-cm-2*)。二者均含一个573bp的ORF编码191个氨基酸残基。5'非翻译区距起始密码子上游35nt有一个22nt的接头序列,3'非翻译区有多腺苷酰信号(polyadenylation signal)^[16]。

蛋白酶是一种广泛分布的蛋白水解酶。从南方根结线虫中鉴定了一个丝氨酸蛋白酶基因*Mi-ser1*。该基因全长1372 bp编码胰凝乳蛋白酶类似的丝氨酸蛋白酶。Southern blot分析表明*Mi-ser1*主要在卵和雌虫中表达,说明它可能在卵的发育和雌虫取食过程中起作用^[17]。半胱氨酸蛋白酶基因*Mi-cpl-1*编码383个氨基酸残基的蛋白,这个蛋白N末端有一段信号肽。该酶有许多保守的结构域。主要在侵染性的幼虫和雌虫中表达,有趣的是它只在无毒群体表达,在毒性群体不表达,暗示它除参与取食外,还可能作为致病因子或逃避植物防卫系统^[18-19]。寄生前和寄生阶段基因表达差异可以用RNA指纹印迹技术分析。用这个技术分离出*Mi-cbp-1*基因。*Mi-cbp-1*在亚腹食道腺细胞特异表达并通过口针分泌,能调节取食细胞的发育。该基因编码203个氨基酸残基的纤维素结合蛋白,N端含一个信号肽。蛋白N末端与已知蛋白无相似性但C末端与CBD有很高的同源性^[20]。

钙网蛋白(calreticulin, CRT)和钙联蛋白(calnexin)是同源的外源凝集素,存在于真核细胞的内质网中,作

为分子伴侣与新生的糖蛋白结合,帮助新生肽折叠。它们和葡萄糖苷酶,糖基转移酶一起构成了钙网蛋白/钙联蛋白循环。钙网蛋白是具多种功能(胞内钙平衡、蛋白质成熟等)的钙结合蛋白。2001年研究人员发现Mi-crt基因,该基因编码415个氨基酸残基的钙网蛋白calreticulin(CRT),N末端含22个氨基酸残基的信号肽,可能参与寄主-线虫互作。在寄生前阶段和寄生阶段都有表达,但在寄生阶段亚食道腺细胞中具有更高的表达活性。免疫分析显示,在取食位点形成过程中,Mi-CRT定位于口针顶端,并沿巨细胞细胞壁积累,表明该蛋白可能参与巨细胞的分化和细胞周期调控^[21-22]。

促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)属丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,可被多种刺激所激活。MAPK家族蛋白通过磷酸化蛋白途径参与包括磷酸化核转录因子等多种信号转导途径,调节相关基因的转录,进而参与基因表达、细胞生长发育、分裂、死亡及细胞间的功能同步等多种过程。Mi-mapk-1基因产物具有胞外信号调节激酶保守的TEY基序(TEY motif)序列,包含多个保守的亚结构域(subdomain)^[23]。

当线虫在土壤中向植物根部移及在根内部运动时,其神经系统会通过侧器和感觉乳突感知周围信息。在神经肌肉结合处,乙酰胆碱酯酶水解乙酰胆碱,解除神经传递的电脉冲刺激,使肌肉纤维舒展。克隆到的乙酰胆碱酯酶基因在卵,寄生前的幼虫和雄虫中表达,原位杂交将其定位在寄生前的幼虫侧器中。由此看来,乙酰胆碱酯酶可能在线虫移动时对线虫的神经活动进行调节。将乙酰胆碱酯酶作为靶标是控制线虫的新策略。Mi-ace-1有1968 bp的ORF编码656个氨基酸残基,是对乙酰胆碱酯酶的结构和功能起关键作用的序列高度保守。该基因在南方根结线虫卵、寄生前幼虫和雄虫中有表达。Mi-ace-2全长2122 bp,带有反式剪接SL1前导序列和2058 bp的ORF^[24-25]。FMRFamide (H-Phe-Met-Arg-Phe-NH₂)是软体动物心源性的神经肽。前不久在线虫上发现一种类FMRFamide多肽(FMRFamide-like peptide,FLP)对调节线虫运动、取食、感知环境、建立寄生行为有重要作用,深入研究FLP的功能对南方根结虫的防治具有重要意义。研究人员利用RACE克隆了Mi-flp-16, Mi-flp-17, Mi-flp-31。原位杂交显示基因表达均在线虫的围咽神经环处。围咽神经是线虫的神经中枢,基因在此表达说明这三个基因与线虫的神经系统有密切的关系^[26]。

谷胱甘肽-S-转移酶基因Mi-gsts-1在三龄幼虫比在二龄幼虫中表达丰度要高。谷胱甘肽-S-转移酶在

线虫寄生状态分泌,对于线虫完成完整的寄生生活是必需的。它可以保护线虫免受活性氧的伤害和对抗植物免疫防御^[27]。

14-3-3蛋白是一种高度保守的调控蛋白家族,可以和多种靶蛋白互作。它们在多种生物学过程如信号转导、细胞周期调控、细胞凋亡、逆境响应及细胞骨架构成中起作用。作为伴侣分子它可以稳定靶蛋白的构象;二聚体化的14-3-3蛋白可以作为锚定分子,介导两个蛋白间的互作。还可调节蛋白质在细胞内的分布,作为转录因子参与转录调控,调节细胞周期等。最近克隆到两个14-3-3蛋白基因, Mi-14-3-3-a和 Mi-14-3-3-b。原位杂交显示Mi-14-3-3-a定位在侵染性二龄幼虫未分化的原始细胞中,而Mi-14-3-3-b位于侵染性二龄幼虫的背食道腺中。推测它们或参与巨细胞的诱导形成或调节细胞周期发育^[28]。

Mi-msp-1基因编码毒力变态反应原AG-5类似蛋白。该基因含一个ORF编码231个氨基酸残基,前21个为分泌信号肽。Northern blot分析表明转录物存在于寄生前及寄生的二龄幼虫阶段,而在成熟雌虫中没有发现^[29]。

3 RNA干扰(RNA interference)在南方根结线虫中的应用

RNA干扰是由双链RNA(double-strand RNA, dsRNA)在细胞内特异性地诱导与之同源互补的mRNA的降解,使相应基因的表达关闭,从而引发的转录或转录后水平的基因沉默现象(post-transcriptional gene silencing, PTGS)^[30]。这种现象是生物为保护自身基因组免受外源和内源性序列的侵袭,而特异性地调节或干扰基因表达的一种自身防御“免疫”应答现象。目前认为RNAi过程主要分为两个阶段:(1)起始阶段,dsRNA在细胞内被Dicer酶在ATP的参与下均匀地切割成21~23 nt的短RNA即siRNA。dsRNA可以是外源导入的,也可以是生物体本身产生的。siRNA的长短是种族特异的,共同特征是5'端是磷酸化的,3'端突出2个碱基。(2)效应阶段,形成的siRNA被掺入到一种RNA诱导沉默复合物(RNA inducing silencing complex, RISC)中,引导RISC降解与siRNA反义链相匹配的mRNA。RNAi的生物学意义在于病毒防御,抑制转座子的转座及保护基因组的稳定性,调节基因表达^[31]。

南方根结线虫属固着性内寄生线虫,与寄主建立寄生关系后雌虫固着在取食部位不再移动。由于不能在人工培养基上培养,所以直接在寄生线虫中应用RNAi技术比较困难。近年来随着生物技术的发展及

众多科研人员的共同努力,植物寄生线虫RNAi技术取得重大突破。Bakhetia等把*M. incognita* J2幼虫浸泡在编码过氧化物酶(dual oxidase)的dsRNA中,结果在线虫侵入大豆35天后检测,总产卵量减少了70%多^[32]。Shingles等应用RNAi技术抑制*Mi-cpl-1*基因,降低了其转录丰度,*M. incognita* J2幼虫的半胱氨酸蛋白酶活性也降低了。另外,Rosso等研究发现,间苯二酚可刺激*M. incognita*对dsRNA的吸收,并且观察到了明显的RNAi现象^[33]。研究人员通过对在亚腹食道腺表达的钙网蛋白基因(*Mi-crt*)和多聚半乳糖醛酸酶基因(*Mi-pg-1*)进行干扰,发现92%的个体基因沉默。然而这两个基因的沉默效果是有限期的,浸泡超过68h后就看不到沉默作用了^[34]。陈国华等通过体外转录合成约550 bp的dsRNA对南方根结线虫进行RNAi以沉默*Mi-mapk-1*基因。结果表明,将南方根结线虫的卵块浸泡在含有2 mg/mL dsRNA的M9缓冲溶液中,24h后卵块孵化出的二龄幼虫数量明显多于对照组,但孵化出的幼虫死亡率高达90%,而对对照组的死亡率低于5%,说明*Mi-mapk-1*基因的沉默抑制了卵块的孵化和线虫的生长,同时将孵化的幼虫接种蕃茄,14天后蕃茄根部无根结产生,35天后无卵块产生;而浸泡72h后卵块孵化的2龄幼虫几乎全部死亡^[23]。除离体干扰线虫外,通过构建表达dsRNA的转基因植物也是一条防治南方根结线虫的重要途径。Yadav^[35]等把RNAi用于转基因烟草成功地干扰了*M. incognita*的生长发育,表明在寄主植物中表达dsRNA是一种控制寄生线虫病的可行策略。Huang^[36]等在拟南芥内过表达根结线虫寄生基因16D10,结果根结减少了63%-90%,而且体积很小,卵块的产量也减少了69%~93%,成功地减少了南方根结线虫的寄生。上述研究成果证实RNAi方法防治南方根结线虫策略是可行有效的

4 展望

南方根结线虫作为“世界上最具破坏性的植物病原物”^[37],寄主范围广泛,环境适应性强,能侵染多种植物。随着作物复种指数的增加,南方根结线虫病的发生危害日益严重。植物抗南方根结线虫基因虽发展迅速,但无论是抗线虫基因还是蛋白酶抑制基因,其表达产物均为蛋白质,存在潜在的生物安全问题,还会引发生理小种的变异,而RNAi植物表达的是dsRNA和siRNA,不会对寄主植物产生不良影响。因此加强南方根结线虫寄生过程相关基因及与宿主互作机制的研究,不断完善RNAi技术,并据此进行离体干扰线虫或构建表达dsRNA的转基因植物是一个新的防治策略,将为植病防治工作带来新的前景。

参考文献

- [1] Abad P,Gouzy J,Aury JM,et al.Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita* [J]. Nature-biotechnology, 2008, 26(8):909-915.
- [2] 刘维志.植物病原线虫学[M].北京:中国农业出版社,2000, 243-281.
- [3] Hussey RS.Disease-inducing secretions of plant-parasitic nematodes [A].Annual review of phytopathology,1989,27:123-141.
- [4] Herron SR,Benen JAE,Scavetta RD,et al. Structure and function of pectic enzymes:Virulence factors of plant pathogens[J]. PNAS, 2000, 97(16):8762-8769.
- [5] Piotte C, Arthaud L,Abad P,et al.Molecular cloning of an acetylcholinesterase gene from the plant parasitic nematodes, *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne javanica*[J].Molecular and biochemical parasitology, 1999(2):247-256.
- [6] Popeijus H,Overmars H,Jone J,et al. Enzymology:Degradation of plant cell walls by a nematode[J].Nature, 2000,406:36-37.
- [7] Boer J MDE,McDermott JP,Davis EL,et al. Cloning of a putative pectate lyase gene expressed in the subventral esophageal glands of *Heterodera glycines*[J].Journal of nematology,2002,34(1):9-11.
- [8] Rosso MN,Favery B,Pitte C,et al. Isolation of a cDNA encoding a β -1,4-endoglucanase in the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*[J].Molecular plant-microbe interactions,1999,12(7):585-591.
- [9] Ledger TN,Jaubert S,Bosselut N,et al. Characterization of a new β -1,4-endoglucanase gene from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and evolutionary scheme for phytonematode family 5 glycosyl hydrolases[J].Plant-microbe interactions and plant health.2006,382:121-128.
- [10] Mitchum MG. Application of biotechnology to understand pathogenesis in nematode plant pathogens[M]. Biotechnology and plant disease management,2008,58-67.
- [11] Huang GZ,Gao BL,Maie TR,et al.A Profile of putative parasitism genes expressed in the esophageal gland cells of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*[J].Molecular plant-microbe interactions, 2003,16(5):376-381.
- [12] Mitreva-Dautova M,Roze E,Overmars H,et al. A Symbiont-independent endo-1,4- β -xylanase from the plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*[J].Molecular plant-microbe interactions,2006, 19(5):521-529.
- [13] Huang GZ,Dong R,Allen R,et al.Developmental expression and molecular analysis of two *Meloidogyne incognita* pectate lyase genes [J]. International journal for parasitology,2005,35(6):685-692.
- [14] Huang GZ,Dong R,Maier T,et al.Use of solid-phase subtractive hybridization for the identification of parasitism gene candidates from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*[J].Molecular plant pathology,2004,5(3):217-222.
- [15] Jaubert S,Laffaire JB,Abad P,et al. A polygalacturonase of animal origin isolated from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* [J]. FEBS,2002,522(1):109-111.
- [16] Huang GZ,Dong RH,Allen R,et al. Two chorismate mutase genes

- from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*[J].Molecular plant pathology,2005,6(1):23-30.
- [17] Fragoso RR,Batista J,Neto O, et al. Isolation and characterization of a cDNA encoding a serine proteinase from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*[J].Experimental parasitology,2005,110(2): 123-133.
- [18] Neveu C,Abad P,Castagnone-Sereno P.Molecular cloning and characterization of an intestinal cathepsin L protease from the plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*[J].Physiological and molecular plant pathology,2003,63(3):159-165.
- [19] Shingles J,Lilley CJ,Atkinson HJ,et al. *Meloidogyne incognita*: Molecular and biochemical characterisation of a cathepsin L cysteine proteinase and the effect on parasitism following RNAi[J].Experimental parasitology,2007,115(2):114-120.
- [20] Ding X,Shields J,Allen R,et al. A Secretory cellulose-binding protein cDNA cloned from the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*)[J]. Molecular plant-microbe interactions,1998,11(10):952-959.
- [21] Jaubert S,Ledger TN,Laffaire JB,et al.Direct identification of stylet secreted proteins from root-knot nematodes by a proteomic approach[J].Molecular &biochemical parasitology,2002,121(2): 205-211.
- [22] Jaubert S,Milac AL,Petrescu AJ,et al. In Planta secretion of a calreticulin by migratory and sedentary stages of root-knot nematode[J]. Molecular plant-microbe interactions,2005,18(12):1277-1284.
- [23] 陈国华,肖罗,张双庆,等.南方根结线虫促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)基因的RNAi效应分析[J].植物病理学报,2008,38(5): 509-513.
- [24] Piotte C,Arthaud L,Abad P,Rosso MN. Molecular cloning of an acetylcholinesterase gene from the plant parasitic nematodes, *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne javanica*[J]. Molecular & biochemical parasitology,1999,99(2):247-256.
- [25] Laffaire JB,Jaubert S,Abad P,et al.Molecular cloning and life stage expression pattern of a new acetylcholinesterase gene from the plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*[J].Nematology, 2003,5:213-217.
- [26] 王天阳,肖罗,陈国,等.南方根结线虫Mi-flp-16基因的克隆及原位杂交分析[M].中国蔬菜,2009,(4): 7-11 27
- [27] Dubreuil G,Magliano G,Deleury G,et al. Transcriptome analysis of root-knot nematode functions induced in the early stages of parasitism[J]. New phytologist ,2007,176(2):426-436.
- [28] Jaubert J, Laffaire JB, Ledger TN,et al. Comparative analysis of two 14-3-3 homologues and their expression pattern in the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*[J]. International journal for parasitology,2004,34(7):873-880.
- [29] Ding X,Shields J,Allen R,et al.Molecular cloning and characterisation of a venom allergen AG5- like cDNA from *Meloidogyne incognita*[J]. International journal for parasitology,2000,30(1):77-81.
- [30] Fire A,Xu SQ,Montgomery MK,et al.Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*[J].Nature,1998,391:806-811.
- [31] 秦玉新,蒙凌华,丁健.RNA干扰技术的研究进展[J].中国药理学通报,2007,23(4):421-424.
- [32] Bakhietia M,Charlton W,Atkinson HJ,et al. RNA interference of dual oxidase in the plant nematode *Meloidogyne incognita*[J].Molecular plant-microbe interactions,2005,18(10):1099-1106.
- [33] Rosso MN,Dubrana MP,Cimolini,et al. Application of RNA interference to root-knot nematode genes encoding esophageal gland proteins[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions.2005,18:615-620.
- [34] 董雯雯.南方根结线虫RNAi胚胎致死效应基因的筛选与功能鉴定[M].2008.
- [35] Yadav BC,Veluthambi K,Subramaniam K.Host-generated double stranded RNA induces RNAi in plant - parasitic nematodes and protects the host from infection [J].Molecular & Biochemical Parasitology,2006,148:219-222.
- [36] Huang G,Allen R,Davis EL,et al.Engineering broad root-knot resistance in transgenic plants by RNAi silencing of a conserved and essential root-knot nematode parasitism gene[J].PNAS,2006,103: 14302-14306.
- [37] Castagnone-Sereno P.Genetic variability and adaptive evolution in parthenogenetic root-knot nematodes[J].Heredity.2006,96:282-289.