

DOI: 10.13376/j.cblls/2015180

文章编号: 1004-0374(2015)10-1292-07

根结线虫毒性群体及其遗传变异机理研究进展

杨明星^{1,2#}, 史倩倩^{2#}, 朱萍萍², 贺字典¹, 茆振川^{2*}

(1 河北科技师范学院, 秦皇岛 066600; 2 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 农业部园艺作物生物与遗传改良重点实验室, 北京 100081)

摘要: 根结线虫是危害农业生产的主要病原物, 应用抗性品种控制根结线虫是有效而安全的策略。然而, 新的毒性线虫群体能够克服其抗性, 对农业生产具有巨大潜在威胁。现分析了根结线虫的毒性种群的多样性、适应性代价及侵染特性, 并从基因组可塑性、基因水平转移、转座子、表观遗传及效应子方面分析了遗传变异机制, 最后论述了毒性根结线虫检测技术及防治策略, 将为抗性品种的选育、抗性基因的持久利用提供重要理论依据。

关键词: 根结线虫; 毒性种群; 适应性代价; 毒性变异机理; 持久利用

中图分类号: Q342; S432.45 **文献标志码:** A

Research on the micro-evolution of root-knot nematode virulence populations

YANG Ming-Xing^{1,2#}, SHI Qian-Qian^{2#}, ZHU Ping-Ping², HE Zi-Dian¹, MAO Zhen-Chuan^{2*}

(1 Hebei Normal University of Science and Technology, Qinhuangdao 066600, China; 2 Key Laboratory of Horticultural Crops Biology and Genetic Improvement, Ministry of Agriculture, Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are obligate parasites of major worldwide crops. Host resistance is the main approach used to control plant diseases in conventional agriculture, but the widespread use of host resistance selects for parasite individuals or populations that can overcome the host defense systems, which can lead to a great potential threat to agricultural production. We analyzed the diversity, fitness cost and the pathogenicity characteristics of the virulent populations, and discussed the virulence genetic variation mechanism about genome plasticity, horizontal gene transfer, transposon, epigenetic and of the effectors. Finally we introduced the detection technology and control strategy of the virulence root-knot nematodes. These will provide an important theoretical basis for breeding and durability strategy.

Key words: *Meloidogyne* spp.; virulent population; fitness cost; virulence mechanism; durability

根结线虫 (*Meloidogyne* spp.) 是危害农作物的重要病原线虫之一, 每年在全球范围内造成的损失达到数十亿美元^[1]。现在已经报道的根结线虫有 97 种^[2], 寄主范围达到 3 000 多种, 几乎侵染所有开花植物^[3-4]。根结线虫中最常见的种有南方根结线虫 (*M. incognita*)、花生根结线虫 (*M. arenaria*)、爪哇根结线虫 (*M. javanica*) 和北方根结线虫 (*M. hapla*) 以及最近关注的象耳豆根结线虫 (*M. enterolobii*) 等, 其中以南方根结线虫的危害最重。随着我国北方地区的种植结构和方式的调整, 根结线虫在我国南、

北方已经普遍发生, 尤其以长期重茬连作的保护地更为严重。

采用抗性作物是防治根结线虫高效而安全的策略。植物的抗性在一定的条件下针对病原物可以提

收稿日期: 2015-03-29; 修回日期: 2015-07-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(31371923); 国家公益性行业(农业)科研专项(201103018); 现代农业技术体系专项(QRS-25)

*通信作者: E-mail: maozhenchuan@caas.cn

#共同第一作者

供持久的抗性。然而, 这种抗性可由于毒性病原物群体的出现而丧失。现在, 针对番茄中 *Mi-1* 抗线虫基因, 许多毒性群体相继在世界范围内被报道。虽然植物抗性利用在农业生产上不断增加, 但是植物寄生性线虫的危害仍然很严重, 其中一个重要的原因就是毒性线虫的产生及扩展。

1 根结线虫毒性种群的种类及特征

1.1 根结线虫毒性种群多样性分析

在植物和病原菌长期共同进化中, 植物的抗病性与病原物的致病性之间形成一种动态平衡。根据基因对基因学说, 在抗病品种的长期选择压力下, 病原菌可以进化出能够克服植物抗病性的新的毒性群体^[4], 且在一些条件下毒性群体会持久地存在于感病的寄主植物上^[5]。

根结线虫群体毒性多样性与作物抗线虫基因的种类及数目紧密相关。目前已经报道了番茄、辣椒、马铃薯、棉花等 18 种作物中的 41 个抗线虫基因^[6]。*Mi* 基因是番茄育种中常用的抗根结线虫基因, 在生产上使用将近 60 年, 其品种广泛分布于世界各地, 因此, 能够克服 *Mi* 基因的毒性线虫在许多种植番茄的地方都有发现^[10-12]。在辣椒中已经明确存在多个抗线虫 *Me* 基因 (*Me1*、*Me2*、*Me3*、*Me4*、*Me5*、*Me7*)、*Mech1*、*Mech2* 以及抗线虫 N 基因, 能够克服这些抗线虫基因的根结线虫毒性群体也相继被发现^[13-17]。在马铃薯、棉花、桃、鹰嘴豆、咖啡等其他作物中也发现了能够克服抗根结线虫基因

的毒性线虫, 如鹰嘴豆上能够克服 *Rk* 基因抗性的毒性线虫^[18], 野生马铃薯上能克服 *Rmc2* 基因抗性的毒性线虫^[19], 以及能克服咖啡 *Mex-1* 基因的毒性线虫等^[20](表 1)。

1.2 毒性种群的适应性特征

毒性线虫的适应度代价与寄主的抗性直接相关, 是评估植物及寄生性线虫的适应性的重要指标, 被认为是根结线虫与寄主共同进化的动力^[5]。Burdon 和 Thrall^[31] 研究证实, 毒性病原物在抗性及非抗性寄主植物上的适应度都降低。抗性基因的持久性可以通过病原物的毒性适应性代价进行估计^[32], 因此, 毒性线虫适应性代价的分析是抗性持久利用的一个重要方面。

不同的毒性线虫具有不同的适应性特征。毒性线虫的产生频率是不同的, 一个正常的根结线虫在感病辣椒上可产生 220 个卵块, 但在抗病辣椒上不能正常产生卵块。在含有 *Me3* 抗线虫基因的辣椒 HDA149 上接种 J2 线虫, 随着线虫数量的增加 (1 000~5 000 条), 得到的卵块数量也增加 (1~6 个), 但是在含有 *Me1* 基因的辣椒材料 HDA330 上却始终不能得到卵块^[33]。毒性线虫的繁殖力不同, *Mi* 毒性根结线虫在抗、感病番茄上的繁殖系数差别不显著, 但是在产卵量上存在着显著的差别。田间分离的毒性线虫具有较高的产卵量 (1 095~1 623 个), 并且在感病品种上的产卵量大于抗病品种上的产卵量, 而感病品种上的非毒性线虫产卵量只有 400~700 个^[34]。

表1 根结线虫毒性群体相关报道

作物	作物抗性基因	毒性线虫种	参考文献
Tomato	<i>Mi-1</i>	<i>M. incognita</i> <i>M. javanica</i>	Riggs和Winstead, 1959 ^[7] ; Bost和Triantaphyllou, 1982; Kaloshian等, 1996 ^[21] ; Castagnone-Sereno等, 2007 ^[5]
Cowpea	<i>Rk</i>	<i>M. incognita</i>	Petrillo和Roberts, 2005 ^[22] Olowe T, 2010 ^[23]
Potato	<i>Rmc1(blb)</i> <i>Rmc1</i>	<i>M. chitwoodi</i> <i>M. fallax</i> <i>M. hapla</i>	Mojtahedi等, 2007 ^[24] Janssen等, 1998 ^[19]
Pepper	<i>Me3</i>	<i>M. incognita</i> <i>M. javanica</i>	Thies和Fery, 1998 ^[14] ; Oka等, 2004 ^[16] ; Djian-Caporalino等, 2007 ^[13] ; Fazari等, 2012 ^[17] ; 蒋丽芬等, 2011 ^[25]
Coffee	<i>Mex-1</i>	<i>M. exigua</i>	Muniz等, 2009 ^[20]
Cotton	<i>Rkn1</i> , <i>RKN2</i>	<i>M. incognita</i>	Ogallo等, 1997 ^[26] ; Anwar和McKenry, 2007 ^[18] ; Silva等, 2014 ^[27]
Grape	?	<i>M. arenaria</i>	Anwar等, 2000 ^[28] ; McKenry和Anwar, 2007 ^[18]
Bean	?	<i>M. hapla</i>	Chen和Roberts, 2003 ^[29]
Lucerne	?	<i>M. hapla</i>	Griffin和McKenry, 1989 ^[30]

注: “?” 表示抗性基因名称未明确

毒性线虫在不同种类植物上的适应性存在着显著差异^[35-36], *Me3* 毒性线虫在感病番茄上繁殖系数为 0.882, 而在抗病辣椒中则为 0.472^[33]。*Mi* 毒性线虫可以在感病番茄上繁殖, 但是在感病辣椒品种上却不能繁殖或是繁殖系数显著降低^[37-38], 这可能是由于 *Mi* 毒性线虫为了克服 *Mi* 抗性而丧失了部分在辣椒感病寄主上的生存能力; 而 *Me3* 毒性线虫在感病的番茄和辣椒上均能够正常繁殖, 繁殖系数甚至会显著增加, 这可能是由于辣椒和番茄这两种植物之间的差异决定的。

毒性线虫对于抗性基因具有专化性, 例如能在含 *Mi* 抗性基因番茄上繁殖的毒性线虫不能在含有 *Me1* 和 *Me3* 的辣椒上繁殖。同样地, *Me3* 毒性线虫不能在含有 *Mi* 抗性的番茄上繁殖^[33]。*Me3* 毒性线虫也同样不能在 *Me1* 辣椒上繁殖^[25]。

2 毒性种群的毒性变异机制

2.1 根结线虫繁殖方式与基因组的可塑性

基因组学的发展为我们揭示根结线虫的毒性多样性、遗传多样性及寄主范围提供了新途径。根结线虫的多样性与其生殖方式紧密相关, 种群多样性及种间进化一直是线虫学家研究的难点。根据遗传进化分析, 根结线虫主要分为 3 类, 分别与根结线虫的 3 种生殖方式相对应, 第一类为有丝分裂孤雌生殖 (*M. incognita*、*M. arenaria*、*M. javanica*、*M. enterolobii*), 在这种生殖方式中, 由于雄虫精子细胞核退化, 不参与受精过程, 因此不存在细胞核的减少和融合, 而是由卵直接发育成胚胎。第二类为减数分裂孤雌生殖 (*M. chitwoodi*、*M. fallax*、*M. minor*), 当雄虫不存在时, 卵经过减数分裂使染色体数目减少, 然后通过卵原核与第二极体的融合使染色体数目恢复。第三类为有性生殖 (*M. hapla*、*M. spartinae*), 通过两性交配的减数分裂实现繁殖^[39]。

大量研究证明了孤雌生殖及基因组可塑性是根结线虫种群多样性的变异来源, 特别是能够克服植物抗性的毒性线虫, 存在染色体的高度多样性。南方根结线虫 (*M. incognita*) 的基因组大小约为 86 Mb^[40], 北方根结线虫 (*M. hapla*) 基因组大小约为 54 Mb^[41], 但它们的染色体倍数却存在显著差异。在根结线虫中, 最小的单倍体染色体数目为 $n=9$ (*M. spartinae*、*M. kikuyensis*)^[42], 但这种染色体数目是非典型的, 并非代表原始祖先的单倍体染色体数目为 9, 而是普遍认为 $n=18$ 。大多数二倍体或是三倍体根结线虫染色体数量为 30~50, 也有关于四倍体根

结线虫的报道, 例如具有 68 条染色体的北方根结线虫 (*M. hapla*)^[43]。然而, 由于染色体的重排, 作为 18 的整倍数的染色体数并不是经常可观察到, 这意味着出现了非整倍体化、结构重排、缺失、重复和易位。这种结果可能与线虫染色体着丝点区域弥散, 没有定位活性相关。另外, 即使在同一物种, 染色体的数量也不一定是相同的, 例如花生根结线虫染色体数为 30~38 或是 40~48, 被认为为二倍体或是三倍体。同样在 3 倍体中 50~58 染色体数也是存在的。通过有性生殖可以产生更高水平的遗传多样性, 但是孤雌生殖的根结线虫是显著的例外。首先, 它们的分布极其广泛, 例如南方根结线虫的分布最广, 只要温度高于 3 °C 的地区均可以发现南方根结线虫^[44]; 其次, 它们的寄主范围非常广, 有超过 3 000 余种潜在的寄主植物; 最后, 它们表现出很强的应对环境变化的能力, 特别是克服植物抗性基因的能力^[45]。理论上, 有丝分裂的孤雌生殖产生克隆后代时其基因组的可塑性导致了基因组的变异和适应性进化, 使得无性种群也显示着快速的基因变异^[46]。除了线虫, 孤雌生殖的昆虫^[47]中也具有相似现象。在世界范围内发现的针对 *Mi* 抗线虫基因的毒性线虫均属于有丝分裂型的孤雌生殖线虫, 如南方根结线虫、爪哇根结线虫及花生根结线虫^[45-46]。虽然经过持续的抗性基因选择压力, 毒性线虫可以克服寄主抗性, 但从非毒性到毒性种群改变是由于出现了抗病基因型的突变型还是由于长期基因选择压力下的基因组的逐渐改变, 其遗传变异机制仍然不清楚。但是根结线虫基因组的可塑性机理有助于揭示可遗传的新型毒性群体产生, 对揭示毒性根结线虫的适应性及抗性品种的持久利用及布局具有重要意义。

2.2 毒性根结线虫的基因水平转移、转座与表观遗传

虽然根结线虫在土壤中很少通过流动进行种间的基因交流, 但是根结线虫却可以适应不同的寄主作物, 表现出来很强的适应能力和繁殖力。通过基因水平转移 (HGT) 和基因重组实现基因的流动和大量复制现在已经得到了证实。通过基因复制、重组使得线虫获得不同功能的蛋白, 从而使线虫获得新的能力^[48]。通过南方根结线虫 (无性生殖型) 和北方根结线虫 (有性生殖类型) 基因组分析, 发现根结线虫的地理分布与寄主范围及生殖方式紧密相关。现在越来越多的证据表明, 全基因组的多倍型与水平基因转移对根结线虫适应极端环境及增加寄生成功率具有重要意义。目前已有研究证实, 在根

结线虫中高达 3.34% 的基因源自于基因水平转移^[49], HGT 基因中最主要的为细胞壁降解酶类, 如纤维素酶 (20 种) 和几丁质酶 (30 种), 这些基因被认为来自细菌^[46]。通过对毒性线虫基因组分析, HGT 类基因表达量在毒性种群中是大量上调表达的 (未发表)。

基因组对比分析证实, 在南方根结线虫存在着显著的基因重复及转座现象 (12%~16%)。从遗传进化角度分析, 基因的转座是遗传多样性的主要原因, 这可以使线虫适应不同环境^[50]。以转座子突变为基础的研究仍然是孤雌生殖中遗传改变的重要途径^[51]。在短短 40 代内南方根结线虫就可以克服番茄 *Mi-1* 基因的抗性, 形成稳定遗传的毒性群体^[52], 如此快速的适应性与南方根结线虫的基因或基因结构域的重复、缺失及结构域的断裂具有显著关系^[46]。在番茄 *Mi* 抗性基因的选择压力下, *Map-1* 基因高度保守的重复序列数目是可变的, 推测该基因可能存在于染色体的一个不稳定区域, 可能会发生放大或缺失^[53]。有越来越多的研究证明, 这种无性生殖方式, 存在转位因子、染色体重排或者染色体组型的变异等多种变异来源, 这些变异都可能导致毒性变异发生。

关于毒性线虫的表观遗传主要有基因沉默、DNA 甲基化、休眠转座子激活等方面, 基因的表观遗传被认为是根结线虫毒性微进化的重要原因, 是揭示毒性线虫快速变异机理的重要途径之一。现在关于根结线虫在表观遗传方面的研究仍然非常少。在我国已经发现了动物寄生性线虫 (*Trichinella spiralis*) 基因组的甲基化现象^[54-55], 在大豆中已经证实了大豆对胞囊线虫的抗性与甲基化相关^[56], 这些为研究根结线虫毒性变异与甲基化奠定了基础。非编码 RNA (noncoding RNA, ncRNA) 广泛参与生命活动的各个过程, 包括基因表达调控以及维持基因组稳定性等功能, 秀丽杆隐杆线虫是研究基因沉默的模式生物^[57]。基因沉默与线虫的生长发育紧密相关, 在根结线虫已经发现了多个小 RNA 合成途径相关的蛋白质及抑制子^[58], 基因沉默在根结线虫的侵染过程中也起着重要作用^[59]。现在采用 RNAi 技术已经成功验证了根结线虫中效应子与毒性线虫之间的关系^[60]。通过深度测序对植物寄生性线虫的 microRNA 组学分析^[61], 对帮助我们解释根结线虫的毒性变异具有重要意义。

2.3 根结线虫毒性效应子研究进展

效应子是植物病原体分泌到体外的可以改变寄主细胞结构及功能的蛋白质及小分子物质。根结线虫效应子是帮助线虫成功寄生或是被寄主识别的关

键因子。在线虫进化中或抗性基因的选择压力下, 根结线虫通过非毒性效应子基因的重组、突变、丢失, 使效应子多样化或是形成新的毒性效应子, 从而形成对寄主的免疫抑制或免疫逃避作用^[12]。

在线虫中已经确定了几个具有这种功能的效应子。基于根结线虫毒性与非毒性线虫的对比, 发现了一些毒性与非毒性种群之间差异表达的基因, 如非毒性效应子 *msp-1*、*map-1*、*cg-1*, 这些基因编码的蛋白均是由食道腺分泌到寄主植物中, 并且这些基因在毒性群体中都是缺失的^[12,53]。*msp-1* 是一个由 231 个氨基酸残基构成的分泌蛋白, 属于 SCP/TAPS 家族, 它在二龄幼虫中高度表达, 而在成虫中则不表达。有研究表明, 该基因与 *Mi-1* 抗性基因的早期识别紧密相关^[62]。通过毒性与非毒性线虫的对比发现, 在毒性线虫中缺失了 *map-1* 基因, 它编码蛋白中具有保守的 13 个和 58 个氨基酸重复序列^[53], *map-1* 基因在 40 代内就可以发生快速的重组变异, 在根结线虫群体中 *map-1* 基因的多样性变化可能会导致毒性线虫对 *Mi* 基因寄主具有免疫逃避作用^[12]。同样, 通过试验证实沉默 *Cg-1* 基因也可以导致 *Mi-1* 介导的抗性丧失^[10,62-63]。

目前基于根结线虫基因组和转录组分析, 许多新型的效应子候选基因 (毒性与非毒性分泌蛋白) 正在研究中, 例如与逃避寄主免疫识别相关的效应子 Mi8D05、MiCRT、MiEFF1 等。Mi8D05 能够编码产生一个由 382 个氨基酸残基构成的蛋白质, 在南方根结线虫 (*M. incognita*) 侵染初期表达显著上调, 试验表明 Mi8D05 能够通过与寄主植物的水通道蛋白液泡膜内在蛋白 (TIP2) 互作来调节巨细胞内溶质及水分的转运, 保证巨细胞增大及线虫取食^[64]; Mi-CRT 是在根结线虫食道腺中合成的, 线虫通过口针分泌到植物的细胞质中, Mi-CRT 在植物细胞质中的表达能够抑制 elf18 诱导的植物免疫防卫反应^[65]; 与 Mi8D05 在侵染初期分泌不同, MiEFF1 是在根结线虫取食点固定的时候被分泌到植物细胞质的, 它能够通过核定位信号 (NLS) 进入寄主细胞核, 这可能有助于其操纵寄主植物的免疫信号通路来增加线虫的侵染率^[60]。这些结果表明, 分泌到植物细胞内的效应子可能通过多种方式干扰植物的免疫系统, 它们在线虫的致病过程中发挥着重要作用。

3 毒性根结线虫防治策略

3.1 毒性种群的检测技术

研究根结线虫种群多样性对于制定根结线虫防

治策略具有重要价值,特别是据此采用寄主抗性 & 轮作等方式控制根结线虫时具有更加重要的指导意义。根结线虫的毒性变异在国内外已经广泛发生。根结线虫的毒性群体与无毒群体在形态上的差异并不明显,因此,采用快速、高效而准确的分子标记技术来研究线虫群体遗传多样性是非常必要的。目前已有很多分子标记技术,如 RAPD、AFLP、ISSR、SSR 等用于特异的毒性线虫分子标记的挖掘利用^[34,66-68]。由于根结线虫在田间毒性变异的发生不单单是由于抗性基因的选择压力,因此,鉴定毒性线虫的种类及特性仍然需要多个单一特征的诊断技术相结合,并进行抗性试验验证后才能保证标记的准确性和通用性。这样将有益于人们更持久地利用抗性基因来选育优良的作物品种。

3.2 毒性线虫防治策略

利用抗性品种控制根结线虫危害是农业生产中最重要的措施之一,但是由于毒性线虫的快速产生及扩繁使得抗线虫基因的持久利用面临重大挑战。抗线虫基因的持久利用依赖于抗性基因的类型及作物种植策略。单基因介导 HR 类型抗性基因专化型强,抗性容易丧失,非 HR 型抗性相对持久,如在辣椒中 *Me3* 基因的毒性线虫群体很容易产生,但是对于 *Me1* 的毒性群体至今尚未报道^[69]。所以聚合不同类型抗性基因或是采用数量抗性基因可以有效增加寄主植物对根结线虫的抗性。

抗性品种的应用需要面对 3 大挑战:(1)可用于抗线虫育种的基因很少,现在番茄中被商业化利用的仅为 *Mi-1* 基因;(2)抗线虫育种是一个冗长过程,需要花费大量时间才能获得成功的品种;(3)根结线虫毒性群体可以克服抗线虫基因,使作物抗性丧失。不同抗性基因作物轮作,以及含有同一抗性基因的不同品种间轮作都可以提高抗性。不同类型的抗线虫作物混作,可以通过降低线虫群体密度做到对线虫的防控,但是没有证据表明混作可以延迟毒性线虫的产生。多基因抗性材料可以有效增强抗性持久性,轮作、混作及种植多基因抗性品种可以有效地调高抗性线虫基因的效率及持久性。

4 展望

从 20 世纪 50 年代开始在番茄主产区广泛种植含有抗性基因 *Mi* 的番茄品种,很快就发现了克服该抗性基因根结线虫毒性群体,*Mi* 基因的抗性持久性日益受到人们的关注^[45,70-71],同时针对毒性线虫的多样性及毒性变异机理仍然是人们研究的重

点。根据现有研究基础及分子生物学技术,明确根结线虫毒性种群多样性及毒性线虫的微进化机制将成为研究的重要方面。基因重组、基因结构域丢失、重复及基因家族扩展等研究将有助于明确非毒性线虫向毒性线虫快速进化的机理。相信随着基因组测序技术及后基因组学及比较基因组学的发展,基于南方根结线虫基因组、北方根结线虫基因组以及正在进行的爪哇根结线虫及花生根结线虫基因组^[46],对于根结线虫毒性种群多样性分析及毒性线虫的致病机理的研究将会更加深入,尤其是对线虫致病相关效应子的研究,将会对农业上使用更加安全有效防治根结线虫的方法提供依据^[72,39]。

[参 考 文 献]

- [1] de Wit PJ. How plants recognize pathogens and defend themselves. *Cell Mol Life Sci*, 2007, 64(21): 2726-32
- [2] Hunt DJ, Handoo ZA. Taxonomy, identification and principal species[M]//Perry RN, Moens M, Starr J (Eds). *Root-knot nematodes*. Wallingford, UK, CA: 2009, 1: 55-88
- [3] Trudgill DL, Blok VC. Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. *Annu Rev Phytopathol*, 2001, 39(1): 53-77
- [4] Enjalbert J, Duan X, Leconte M, et al. Genetic evidence of local adaptation of wheat yellow rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) within France. *Mol Ecol*, 2005, 14(7): 2065-73
- [5] Castagnone-Sereno P, Bongiovanni M, Wajnberg E, et al. Selection and parasite evolution: a reproductive fitness cost associated with virulence in the parthenogenetic nematode *Meloidogyne incognita*. *Evol Ecol*, 2007, 21(2): 259-70
- [6] Williamson VM, Roberts PA. Mechanisms and genetics of resistance[M]//Perry RN, Moens M, Starr J (Eds). *Root-knot nematodes*. Wallingford, UK, CA: 2009, 302: 301-402
- [7] Netscher C. Observations and preliminary studies on the occurrence of resistance breaking biotypes of *Meloidogyne* spp. on tomato. *Cahiers ORSTOM Ser Biol*, 1976, 11: 173-8
- [8] Hwang CF, Williamson VM. Leucine-rich repeat-mediated intramolecular interactions in nematode recognition and cell death signaling by the tomato resistance protein Mi. *Eur J Plant Pathol*, 2003, 34(5): 585-93
- [9] Jablonska B, Ammiraju JSS, Bhattarai KK, et al. The *Mi-9* gene from *Solanum arcanum* conferring heat-stable resistance to root-knot nematodes is a homolog of *Mi-1*. *Plant Physiol*, 2007, 143:1044-54
- [10] Ornat C, Verdejo-Lucas S, Sorribas FJ, et al. A population of *Meloidogyne javanica* in Spain virulent to the *Mi* resistance gene in tomato. *Plant Dis*, 2001, 85(3): 271-6
- [11] Huang X, McGiffen M, Kaloshian I, et al. Reproduction of *Mi*-virulent *Meloidogyne incognita* isolates on *Lycopersicon* spp. *J Nematol*, 2004, 36(1): 69-75

- [12] Adam M, Hallmann J, Heuer H, et al. Identification of *msp1* gene variants in populations of *Meloidogyne incognita* using PCR-DGGE. *J Nematol*, 2014, 46(3): 275-80
- [13] Djian-Caporalino C, Fazari A, Arguel MJ, et al. Root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) Me resistance genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) are clustered on the P9 chromosome. *Theor Appl Genet*, 2007, 114(3): 473-86
- [14] Thies JA, Fery RL. Modified expression of the *N* gene for southern root-knot nematode resistance in pepper at high soil temperatures. *J Am Soc Horticult Sci*, 1998, 123(6): 1012-5
- [15] Berthou F, Palloix A, Mugniéry D, et al. Characterisation of virulence in populations of *Meloidogyne chitwoodi* and evidence for a resistance gene in pepper *Capsicum annuum* L. line PM 217. *Nematology*, 2003, 5(3): 383-90
- [16] Oka Y, Offenbach R, Pivonia S, et al. Pepper rootstock graft compatibility and response to *Meloidogyne javanica* and *M. incognita*. *J Nematol*, 2004, 36(2): 137-41
- [17] Fazari A, Palloix A, Wang LH, et al. The root-knot nematode resistance *N*-gene co-localizes in the *Me*-genes cluster on the pepper (*Capsicum annuum* L.) P9 chromosome. *Plant Breed*, 2012, 131: 665-73
- [18] Anwar SA, McKenry MV. Variability in reproduction of four populations of *Meloidogyne incognita* on six cultivars of cotton. *J Nematol*, 2007, 39(2): 105-10
- [19] Janssen GJW, Scholten OE, Van NA, et al. Selection of virulence in *Meloidogyne chitwoodi* to resistance in the wild potato *Solanum fendleri*. *Eur J Plant Pathol*, 1998, 104(7): 645-51
- [20] Muniz MF, Campos VP, Moita AW, et al. Reaction of coffee genotypes to different populations of *Meloidogyne* spp.: detection of a naturally virulent *M. exigua* population. *Trop Plant Pathol*, 2009, 34(6): 370-8
- [21] Kaloshian I, Williamson V, Miyao G, et al. "Resistance-breaking" nematodes identified in California tomatoes. *California Agric*, 1996, 50(6): 18-9
- [22] Petrillo MD, Roberts PA. Isofemale line analysis of *Meloidogyne incognita* virulence to cowpea resistance gene *Rk*. *J Nematol*, 2005, 37(4): 448-56
- [23] Olowe T. Variation in virulence of *Meloidogyne incognita* Race 1, 2, 3 and 4 on cowpea genotypes. *Eur J Sci Res*, 2010, 43(3): 340-50
- [24] Mojtahedi H, Brown CR, Riga E, et al. A new pathotype of *Meloidogyne chitwoodi* Race 1 from Washington State. *Plant Dis*, 2007, 91(8): 1051
- [25] 蒋丽芬, 茆振川, 陈国华, 等. 南方根结线虫辣椒Me3毒性群体适合度代价及专化性分析. *园艺学报*, 2011, 38(3): 479-86
- [26] Ogallo JL, Goodell PB, Eckert J, et al. Evaluation of Nem X, a new cultivar of cotton with high resistance to *Meloidogyne incognita*. *J Nematol*, 1997, 29(4): 531-7
- [27] Silva EH, Silva MV, Furlaneto C, et al. Genetic variability and virulence of *Meloidogyne incognita* populations from Brazil to resistant cotton genotypes. *Eur J Plant Pathol*, 2014, 139(1): 195-204
- [28] Anwar SA, McKenry MV, Faddoul J, et al. Reproductive variability of field populations of *Meloidogyne* spp. on grape rootstocks. *J Nematol*, 2000, 32(3): 265-70
- [29] Chen P, Roberts PA. Virulence in *Meloidogyne hapla* differentiated by resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Nematology*, 2003, 5(1): 39-47
- [30] Griffin GD, McKenry MV. Susceptibility of Nevada synthetic XX germplasm to a California race of *Meloidogyne hapla*. *J Nematol*, 1989, 21(2): 292-3
- [31] Burdon JJ, Thrall PH. The fitness costs to plants of resistance to pathogens. *Genome Biol*, 2003, 4(9): 227
- [32] Leach JE, Vera Cruz CM, Bai J, et al. Pathogen fitness penalty as a predictor of durability of disease resistance genes. *Annu Rev Phytopathol*, 2001, 39(1): 187-224
- [33] Castagnone-Sereno P, Bongiovanni M, Palloix A, et al. Selection for *Meloidogyne incognita* virulence against resistance genes from tomato and pepper and specificity of the virulence/resistance determinants. *Eur J Plant Pathol*, 1996, 102(6): 585-90
- [34] Castagnone-Sereno P, Wajnberg E, Bongiovanni M, et al. Genetic variation in *Meloidogyne incognita* virulence against the tomato *Mi* resistance gene: evidence from isofemale line selection studies. *Theor Appl Genet*, 1994, 88(6-7): 749-53
- [35] Cortada L, Sorribas FJ, Ornat C, et al. Variability in infection and reproduction of *Meloidogyne javanica* on tomato rootstocks with the *Mi* resistance gene. *Plant Pathol*, 2008, 57(6): 1125-35
- [36] Cortada L, Sorribas FJ, Ornat C, et al. Response of tomato rootstocks carrying the *Mi*-resistance gene to populations of *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* and *M. javanica*. *Eur J Plant Pathol*, 2009, 124(2): 337-43
- [37] Castagnone-Sereno P, Bongiovanni M, Dalmaso A, et al. Differential expression of root-knot nematode resistance genes in tomato and pepper: evidence with *Meloidogyne incognita* virulent and avirulent near-isogenic lineages. *Ann Appl Biol*, 1992, 120(3): 487-92
- [38] Castagnone-Sereno P, Bongiovanni M, Dalmaso A, et al. Stable virulence against the tomato resistance *Mi* gene in the parthenogenetic root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Phytopathology*, 1993, 83(8): 803-12
- [39] Castagnone-Sereno P, Danchin EG, Perfus-Barbeoch L, et al. Diversity and evolution of root-knot nematodes, genus *Meloidogyne*: New insights from the genomic era. *Annu Rev Phytopathol*, 2013, 51: 203-20
- [40] Abad P, Gouzy J, Aury JM, et al. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. *Nat Biotechnol*, 2008, 26(8): 909-15
- [41] Opperman CH, Bird DM, Williamson VM, et al. Sequence and genetic map of *Meloidogyne hapla*: A compact nematode genome for plant parasitism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(39): 14802-07
- [42] Triantaphyllou AC. Cytogenetic status of *Meloidogyne kikuyensis* in relation to other root-knot nematodes. *Rev Nématol*, 1990, 13(2): 175-80
- [43] Triantaphyllou AC. Cytogenetics, cytotaxonomy and phylogeny of root-knot nematodes [M]//Sasser JN, Caryer CC, (eds). *Meloidogyne*, vol 1. Biology and control. State

- University Graphis, Raleigh NC, 1985: 113-26
- [44] Sasser JN, Eisenback JD, Carter CC, et al. The international *Meloidogyne* project-its goals and accomplishments. *Annu Rev Phytopathol*, 1983, 21(1): 271-88
- [45] Castagnone-Sereno P. Genetic variability of nematodes: a threat to the durability of plant resistance genes? *Euphytica*, 2002, 124(2): 193-9
- [46] Castagnone-Sereno P, Danchin EGJ. Parasitic success without sex—the nematode experience. *J Evol Biol*, 2014, 27(7): 1323-33
- [47] Wilson AC, Sunnucks P, Hales DF, et al. Heritable genetic variation and potential for adaptive evolution in asexual aphids (Aphidoidea). *Biol J Linnean Soc*, 2003, 79(1): 115-35
- [48] Jaillon O, Aury JM, Wincker P, et al. “Changing by doubling”, the impact of whole genome duplications in the evolution of eukaryotes. *Compt Rendus Biol*, 2009, 332(2): 241-53
- [49] Paganini J, Campan-Fournier A, Da Rocha M, et al. Contribution of lateral gene transfers to the genome composition and parasitic ability of root-knot nematodes. *PLoS One*, 2012, 7(11): e50875
- [50] Kidwell MG, Lisch DR. Transposable elements and host genome evolution. *Trends Ecol Evol*, 2000, 15(3): 95-9
- [51] Parkinson J, Whitton C, Schmid R, et al. NEMBASE: a resource for parasitic nematode ESTs. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32(suppl 1): 427-30
- [52] Castagnone-Sereno P, Semblat JP, Castagnone C, et al. Modular architecture and evolution of the *map-1* gene family in the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Mol Genet Genomics*, 2009, 282(5): 547-54
- [53] Semblat JP, Rosso MN, Hussey RS, et al. Molecular cloning of a cDNA encoding an amphid-secreted putative avirulence protein from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Mol Plant-Microbe Interact*, 2001, 14(1): 72-9
- [54] Gao F, Liu X, Wu XP, et al. Differential DNA methylation in discrete developmental stages of the parasitic nematode *Trichinella spiralis*. *Genome Biol*, 2012, 13(10): R100
- [55] Gao F, Wang R, Liu M, et al. *Trichinella spiralis*, potential model nematode for epigenetics and its implication in metazoan parasitism. *Front Physiol*, 2013, 4: 410
- [56] Cook DE, Bayless AM, Wang K, et al. Distinct copy number, coding sequence, and locus methylation patterns underlie *Rhg1*-mediated soybean resistance to soybean cyst nematode. *Plant Physiol*, 2014, 165(2): 630-47
- [57] Fire A, Xu SQ, Montgomery MK, et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 1998, 391(6669): 806-11
- [58] Maule AG, McVeigh P, Dalzell JJ, et al. An eye on RNAi in nematode parasites. *Trends Parasitol*, 2011, 27(11): 505-13
- [59] Dalzell JJ, McMaster S, Fleming CC, et al. Short interfering RNA-mediated gene silencing in *Globodera pallida* and *Meloidogyne incognita* infective stage juveniles. *Int J Parasitol*, 2010, 40(1): 91-100
- [60] Jaouannet M, Perfus-Barbeoch L, Deleury E, et al. A root-knot nematode-secreted protein is injected into giant cells and targeted to the nuclei. *New Phytologist*, 2012, 194(4): 924-31
- [61] Huang QX, Cheng XY, Mao ZC, et al. MicroRNA discovery and analysis of pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* by deep sequencing. *PLoS One*, 2010, 5(10): e13271
- [62] Castillo JD, Lawrence KS, Morgan-Jones G, et al. Identification of fungi associated with *Rotylenchulus reniformis*. *J Nematol*, 2010, 42(4): 313-8
- [63] Gleason CA, Liu QL, Williamson VM, et al. Silencing a candidate nematode effector gene corresponding to the tomato resistance gene *Mi-1* leads to acquisition of virulence. *Mol Plant-Microbe Interact*, 2008, 21(5): 576-85
- [64] Xue B, Hamamouch N, Li C, et al. The 8D05 parasitism gene of *Meloidogyne incognita* is required for successful infection of host roots. *Phytopathology*, 2013, 103(2): 175-81
- [65] Jaouannet M, Magliano M, Arguel MJ, et al. The root-knot nematode calreticulin Mi-CRT is a key effector in plant defense suppression. *Mol Plant-Microbe Interact*, 2013, 26(1): 97-105
- [66] Blok VC, Phillips MS, Fargette M, et al. Comparison of sequences from the ribosomal DNA intergenic region of *Meloidogyne mayaguensis* and other major tropical root-knot nematodes. *J Nematol*, 1997, 29(1): 16-22
- [67] Santos MFA, Furlanetto C, Almeida MR, et al. Biometrical, biological, biochemical and molecular characteristics of *Meloidogyne incognita* isolates and related species. *Eur J Plant Pathol*, 2012, 134(4): 671-84
- [68] Xu J, Narabu T, Mizukubo T, et al. A molecular marker correlated with selected virulence against the tomato resistance gene *Mi* in *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, and *M. arenaria*. *Phytopathology*, 2001, 91(4): 377-82
- [69] Djian-Caporalino C, Molinari S, Palloix A, et al. The reproductive potential of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* is affected by selection for virulence against major resistance genes from tomato and pepper. *Eur J Plant Pathol*, 2011, 131(3): 431-40
- [70] Castagnone-Sereno P. Genetic variability and adaptive evolution in parthenogenetic root-knot nematodes. *Heredity*, 2006, 96: 282-9
- [71] Roberts PA. Conceptual and practical aspects of variability in root-knot nematodes related to host plant resistance. *Annu Rev Phytopathol*, 1995, 33(1): 199-221
- [72] Danchin EG, Arguel MJ, Campan-Fournier A, et al. Identification of novel target genes for safer and more specific control of root-knot nematodes from a pan-genome mining. *PLoS Pathogens*, 2013, 9: e1003745