

辣椒 *Me3* 基因介导抗根结线虫相关基因的 SSH 分析

茆振川^{1,2}, 谢丙炎^{2*}, 杨宇红², 冯东昕², 冯兰香², 杨之为¹

(¹ 西北农林科技大学植物保护学院, 陕西杨凌 712100; ² 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘 要: 以辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 双单倍体 HDA149 为试验材料, 接种南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita*) 12、24、36 h 的根尖材料作为测验方 (Tester), 相应的未接种根尖材料作为驱动方 (Driver), 构建一个南方根结线虫诱导 *Me3* 基因表达早期的抑制消减杂交 cDNA 文库, 通过高密度点阵膜杂交差异筛选, 获得了 309 条表达序列标签 (EST)。通过测序, 除去重复序列共得到 259 条 EST 序列, 在 GenBank 上进行 BLAST 分析, 30 个 EST 片段未发现同源性基因, 229 个为具有同源性的已知基因, 其中 71 个为功能未知的基因。在显微观察和抗性相关 EST 表达谱分析的基础上, 推测在 *Me3* 基因介导的不亲和和互作中, 编码 NBS-LRR 结构的抗病基因参与了寄主对根结线虫的识别, 激发了过敏性坏死反应的信号基因, 同时多种抗性相关的转录因子基因表达, 使以代谢为基础的防御反应和保护机制发挥抗线虫作用。

关键词: 辣椒; *Me3* 基因; 根结线虫; 抑制性消减杂交

中图分类号: S 641.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2007) 06-1453-06

Analysis of Pepper *Me3* Gene Resistance to Root Knot Nematodes by SSH

MAO Zhen-chuan^{1,2}, XIE Bing-yan^{2*}, YANG Yu-hong², FENG Dong-xin², FENG Lan-xiang², and YANG Zhi-wei¹

(¹ College of Plant Protection, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; ² Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: To investigate the early up-regulated expression gene profile in pepper line HAD149 induced by root-knot nematode (RKN) *Meloidogyne incognita*, a forward subtracted cDNA library of pepper seedling root tips was constructed using suppression subtractive hybridization (SSH). The cDNA of pepper seedling root tips inoculated with J2 RKN on 12, 24 and 36 h were used as tester, and that from untreated root tips as driver. Totally 309 SSH cDNA fragments were selected with DIG Nonradioactive Nucleic Acid Labeling and Detection System. Through the DNA sequencing, we got 259 ESTs. With the Blast, 30 EST fragments didn't find homologous gene, 229 had homologous genes, and among of them, 71 fragments were function unknown. Base on the observing with microscope and the ESTs function analyzing, we putative that disease resistant genes encode nucleotide binding/leucine-rich repeat (NBS-LRR) have a key rule to recognizes root knot nematode, result in the signal transduction-related genes expressed, activate a suitable defensive response and protection mechanism, it often including hypersensitive response (HR) and Systemic Acquired Resistance (SAR). In addition, all of these responses are base on the first and secondary metabolites.

Key words: Pepper; *Me3* gene; Root-knot nematode; Suppression subtractive hybridization (SSH)

辣椒野生类型及其野生近缘种中有很多抗线虫材料, 存在着多个抗根结线虫 (*Meloidogyne* spp.) 基因 (黄三文 等, 2000)。通过辣椒双单倍体群体遗传分析发现, 在 PM217 和 PM687 中存在 5 个抗

收稿日期: 2007-04-17; 修回日期: 2007-06-25

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30671412, 30270236); 科技部 '973' 重大基础研究前期研究专项 (2004CCA05300); '十一五' 国家科技支撑计划项目 (2006BAD08A08); 农业公益性行业科研专项 (nyhyzx07-050)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: xieby@mail.caas.net.cn)

线虫显性基因, 其中 *Me1* 和 *Me3* 基因抗南方根结线虫 (*Mi*)、爪哇根结线虫 (*Mj*) 和花生根结线虫 (*Ma*), 而 *Me2*、*Me4*、*Me5* 基因分别控制对一种根结线虫的抗性, *Me2*、*Me5* 抗 *Mj*, *Me4* 抗 *Ma* (Djian-Caporalino et al., 1999; de Souza-Sobrinho et al., 2002)。*Me1*、*Me3* 两个基因虽然抗性谱相近, 但作用机制不相同。*Me1* 的抗性反应开始于幼虫在取食位点固定之后, 抗性反应较慢, 主要发生在巨型细胞形成过程中, 在高温下抗性会部分丧失。而 *Me3* 表达发生在根结线虫侵染早期, 在幼虫与根接触时就即刻在侵染点附近产生过敏性坏死, 并在 42℃ 的高温下也能保持完全活性 (Teresa et al., 1998; de Souza-Sobrinho et al., 2002)。

Jammes 等 (2005) 通过微矩阵和 CATMA 基因芯片技术, 在分子水平上揭示了根结线虫诱导寄主表达和抑制的相关基因。Lambert 等 (1999) 通过感病和抗病番茄差异筛选的方法从根结线虫侵染后表达的 cDNA 文库中分离出了 8 个与早期抗性相关的基因。在辣椒中虽然也发现多个抗线虫基因及一些防御相关基因, 但对于这些基因在抗线虫作用中的互作关系及作用机制等仍然不明确。为确定 *Me3* 基因介导的辣椒抗线虫作用及抗性相关基因, 我们采用抑制消减杂交技术 (SSH) 富集、分离线虫诱导辣椒 HDA149 表达的抗性相关基因, 确定抗性相关基因的数量、种类, 通过基因功能分类, 初步揭示 *Me3* 基因介导抗性表达早期反应机理, 以及防御反应所涉及的信号传导途径和代谢反应。

1 材料与方法

辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 双单倍体材料 HDA149, 由法国 Alain Palloxin 博士惠赠, 并在中国农业科学院蔬菜花卉研究所温室中繁殖。4 片真叶期的辣椒苗在移栽 10 d 后进行接种处理 (Djian-Caporalino et al., 1999; 茆振川 等, 2007)。感线虫辣椒品种为茄门, 由中国农业科学院蔬菜花卉研究所辣椒育种组提供。接种线虫为南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita*) 生理小种 1。采用单卵块繁殖方式进行扩繁, 收集 2 龄幼虫, 在 24 h 内用于接种。在苗根际接种 500 条 2 龄线虫, 对照用无菌水做模拟接种。分别在接种后 12、24、36 h 时取样。取 1.0 ~ 1.5 cm 长的根尖经过液氮冷冻, 于 -80℃ 备用。在 0、6、12、24、36、48 h 随机取 2 株, 根尖采用酸性品红染色, 在显微镜下检测线虫的侵染率, 并对比 HDA149 和茄门接种线虫后的症状 (茆振川 等, 2007)。

在每一时间点取样品各 500 mg, 采用 Trizol 试剂 (Invitrogen 公司) 提取总 RNA, mRNA 采用磁珠纯化试剂盒分离 (NO 610.12, Invitrogen 公司), 检测其浓度、纯度与完整性。取 HDA149 样品的 mRNA, 以接种南方根结线虫的材料作为试验方 (Tester), 以对照作为驱动方 (Driver), 依照抑制性消减杂交试剂盒 (NO 637401, Clontech 公司) 进行差显杂交。SSH 产物与 pGM-T 载体连接、转化, 通过阳性克隆筛选、EST 点阵列杂交、序列分析, 构建差显文库并进行功能分类分析。

2 结果与分析

2.1 侵染试验观察

在显微镜 (100×) 下可见, 在 0 和 6 h 时根结线虫的侵染率为 0, 12 h 有少量线虫开始侵入个别根尖, 在 24 和 36 h 线虫大量侵入, 平均分别为 16.0 和 16.3 条。在线虫周围有许多被染成深红色的坏死细胞 (图 1), 在线虫较多的根尖中线虫周围的坏死细胞往往连在一起, 使整个根尖被染成黑红色。根尖不染色直接观察, HDA149 辣椒 0 和 6 h 根尖呈现白色, 24 和 36 h 变成浅黄褐色。感病品种茄门 12 h 以后有大量线虫侵入, 但根尖没有变色现象, 也没有发现线虫周围有坏死细胞。

2.2 SSH 检测结果

对处理和对照的 mRNA 进行检测, 浓度分别为 0.557 和 0.548 $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, R 比值 ($\text{OD}_{260/280}$) 分别为 1.931 和 1.891。合成的 cDNA 通过 *Rsa* I 酶消化后的片段主要集中于 250 ~ 1 000 bp 之间 (图 2)。图 3 为两轮正向消减 PCR 产物凝胶检测结果, 第 1 轮扩增产物的循环数为 33, 第 2 轮为 19, 在

第 2 轮扩增后条带主要集中于 300 ~ 1 000 bp 范围内。通过 PCR 检测共获得了阳性克隆 951 个, 片段也主要集中于 300 ~ 1 000 bp 范围内, 这与消减后的 cDNA 片段范围一致, 说明消减和克隆筛选正确。

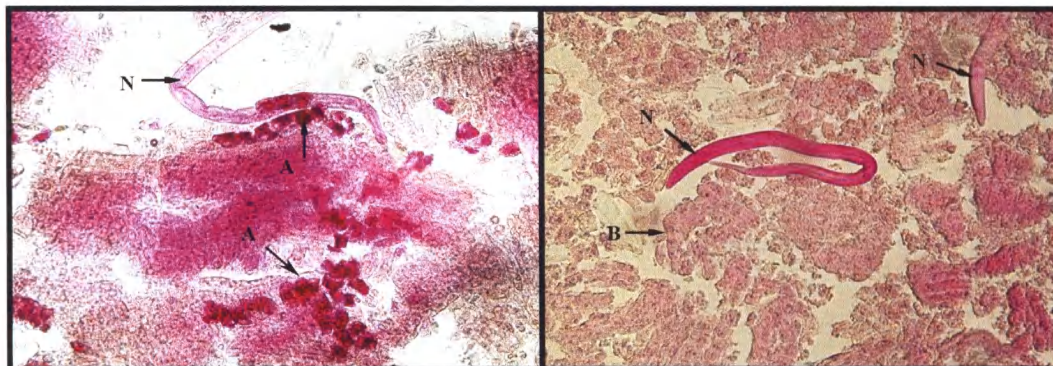


图 1 根结线虫侵染辣椒根尖的反应

左: HDA149; 右: 茄门。N: 根结线虫; A: 坏死细胞; B: 正常细胞。

Fig. 1 The pepper root top invaded by RKN

Left: HDA149; Right: Qiemen. N: RKN; A: Dead cells; B: Living cells.

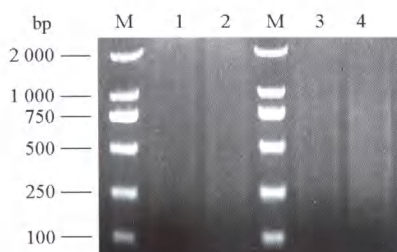


图 2 双链 cDNA 的合成 (1, 2) 及 *Rsa* I 酶消化检测 (3, 4)

1, 3: 测试方; 2, 4: 驱动方; M: Marker。

Fig. 2 The synthesis (1, 2) and digest (3, 4) of the double lines cDNA

1, 3: Tester; 2, 4: Driver; M: Marker.

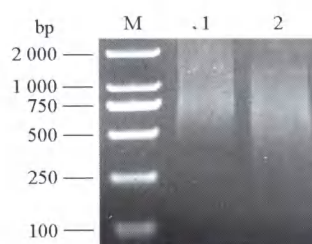


图 3 消减扩增检测

1: 第 1 轮扩增; 2: 第 2 轮扩增; M: Marker。

Fig. 3 The analysis of suppression subtractive PCR

1: The first suppression subtractive PCR;

2: The second suppression subtractive PCR; M: Marker.

2.3 差示筛选 SSH cDNA 文库结果

对获得的 PCR 阳性克隆片段进行筛选, 除去小于 250 bp 的克隆后, 获得 589 个克隆片段, 进行高密度点阵膜杂交筛选, 通过 2 个标记探针杂交对比, 确定只出现在 Tester 探针杂交膜上, 或是杂交信号强度 Tester 高于 Driver 2 倍以上的克隆为阳性表达, 进一步进行测序分析, 图 4 为部分克隆片段的杂交对比。经过点阵膜杂交筛选到 309 个克隆为阳性表达。

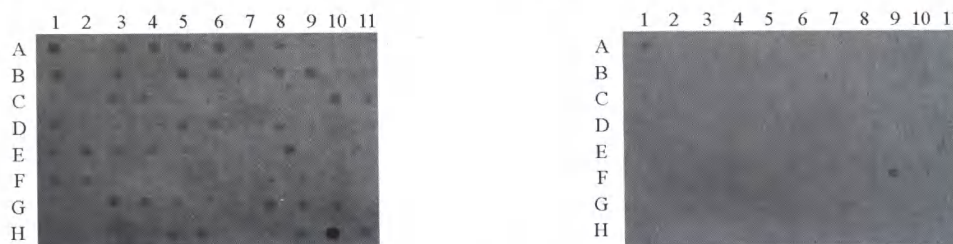


图 4 点阵膜杂交对比图

左: 正向 cDNA 探针杂交; 右: 反向 cDNA 探针杂交。1 ~ 11: 点阵膜列; A ~ H: 点阵膜行。

Fig. 4 Differential screening base on the blot hybridization

Left: Forward-subtracted; Right: Reversed-subtracted. 1 - 11: The order in column; A - H: The order in row.

2.4 SSH cDNA 序列分析

经过测序去除重复序列,在 NCBI 中用 BLAST 同源对比,共有 229 个可以找到同源序列,其中 71 个为功能未知的基因,30 个没有发现同源序列。表 1 为消减文库中与病原识别、过敏性反应、保护机制及转录相关的 EST 片段对比结果。获得的消减文库中的 EST 同源基因主要来自拟南芥 (47 条, 23.0%), 烟草 (29 条, 14.2%), 马铃薯 (24 条, 11.8%), 辣椒 (17 条, 8.3%), 水稻 (17 条, 8.3%)。

表 1 与病原识别、过敏性反应、保护及转录相关的 EST

Table 1 The ESTs of pathogens recognize, hypersensitive response, protection and transcription factors

EST 分类 Catalogue	序列 Clone	长度 Length (bp)	同源对比结果 Blast	同源基因号 Accession	期望值 Expect
病原识别基因 Pathogens recognize genes	H-40	880	抗黄萎病蛋白 Verticillium wilt disease resistance protein	AAT51733	1e-63
	H-614	954	BS2 抗病蛋白 Disease resistance protein BS2	AAF09256	2e-45
	H-634	610	抗线虫 <i>Mi-1</i> 基因 Disease resistance gene homolog <i>Mi-copy1</i>	AAC32253	3e-78
相关转录因子 Transcription factors	H-48	603	WRKY 转录因子 30 Putative WRKY transcription factor 30	AAR92477	3e-22
	H-63	626	U 盒蛋白 U-box protein	ABA59556	7e-102
	H-65	264	乙烯转录因子 Putative ethylene responsive element-DREB	ABA39426	6e-26
	H-155	885	双 WRKY 转录因子 Double WRKY type transcription factor	BAE46417	5e-114
	H-168	521	DNA 修复转录因子 DNA repair and transcription factor XPB1	AAT36215	2e-91
	H-366	619	MYB 转录因子 MYB transcription factor	AAS09999	8e-31
	H-368	443	转录激活蛋白 Transcription co-activator-like protein	AAM67107	9e-60
	H-385	437	光敏信号转换; 转录因子 PAT1; transcription factor	NP_199626	4e-48
	H-575	571	乙烯转录因子 Ethylene-responsive element binding protein	ABD65407	2e-46
	H-706	555	WRKY 转录因子 WRKY protein	ABN69038	1e-67
	H-947	502	WRKY 转录因子 30 Putative WRKY transcription factor 30	AAR92477	6e-16
过敏性反应相关基因 Hypersensitive response genes	H-92	460	诱导类 HR 反应的蛋白 Induce HR-like lesions ORF	AAC49975	1e-25
	H-140	405	病毒快速激发蛋白 Avr9/Cf-9 rapidly elicited protein	AAP03883	1e-31
	H-179	477	病毒快速激发蛋白 74 Avr9/Cf-9 rapidly elicited protein 74	AAP03884	2e-45
	H-229	779	病毒激发类过敏蛋白 Hin1 like protein	BAD11071	2e-122
	H-397	532	蜜腺蛋白 III Putative nectarin III	BAD29283	1e-27
	H-850	506	病毒快速激发蛋白 75 Avr9/Cf-9 rapidly elicited protein 75	AAC43558	5e-25
保护机制相关基因 Protection mechanism genes	H-47	501	枯草杆菌蛋白 Putative subtilisin	AAO64099	2e-49
	H-158	442	多效药物抗性蛋白 1 Pleiotropic drug resistance protein 1	Q949G3	1e-47
	H-309	934	类多抗蛋白 MutT-like protein	AAP57672	2e-18
	H-384	1 357	泛素蛋白连接酶 Ubiquitin-protein ligase	NP_564060	5e-139
	H-854	502	多药物抗性蛋白 2 Multidrug resistance-associated protein 2	NP_181013	8e-55
	H-1050	736	基因沉默蛋白 AGO1-2 AGO1-2 argonaute protein	ABC61503	6e-24

为了进一步了解已知功能的 EST 所涉及的代谢反应,在 Blastx 和 AmiGO ([www. Geneontology. org](http://www.Geneontology.org)) 中进行基因功能分析的基础上,参照南方根结线虫基因功能分类方法,对所获得消减 EST 进行功能分类 (James et al., 2003), 将所得的功能已知的 158 个 EST 进行功能分类,可知表达的抗线虫相关基因涉及抗病反应的全过程,包括对线虫识别作用、防御、信号转导、转录调控、代谢调控以及细胞组分等多个方面。

在 *Me3* 基因所介导的抗性表达 EST 功能分类中可以看出,除功能未知的 EST 外,数量最多的为代谢反应 (24%), 其次为抗性反应和信号转导相关 EST, 分别为 13% 和 12%, 而涉及到病原物识别作用的 EST 只有 1%。这个体系与 *N* 基因介导的抗性表达基因 (茆振川 等, 2007)、辣椒的非寄主性抗性表达基因 (Lee et al., 2004)、孢囊线虫诱导大豆表达基因体系 (Khan et al., 2004), 以及根结线虫诱导拟南芥下调基因系统 (Jammes et al., 2005) 相似。特别是在 *N* 基因和 *Me3* 基因两个单显性抗性基因介导的基因表达中均分离到病原识别基因, 这进一步说明 *Me3* 与线虫的互作是一个复杂的调控系统。

3 讨论

3.1 病原物的识别作用

R 基因负责对病原物的识别, 编码具有 NBS-LRR 结构的蛋白 (Hwang & Williamson, 2003)。本试验分离到 3 个编码 NBS-LRR 结构的基因 (*H-40*、*H-634*、*H-614*), 其中, *H-634* 与番茄中抗根结线虫的 *Mi-1* 基因编码蛋白的相似度达到 71%。同时分离到 3 种抗病基因, 说明这些基因具有协同作用。有报道证实植物寄生性线虫可以加重黄萎病的发生 (Saeedizadeh et al., 2003), 因此线虫有可能激发多个抗性基因。

3.2 信号相关途径

在线虫诱导表达的基因中有 29 条约 17% 属于信号传导体系, 在这些信号中钙调节蛋白比例最高。转录因子是信号传递体系中一个重要部分, 在试验中分离到 11 个转录因子, 约占 5%, 如 WRKY 转录因子、乙烯转录因子、MYB 型转录因子等。在辣椒、大豆、拟南芥中, 已经证实 WRKY 转录因子、乙烯转录因子参与了寄主对线虫的防御反应 (Eulgem et al., 2000; 茆振川 等, 2007; Mazarei et al., 2007), 这些说明线虫诱导寄主表达了大量的抗逆境胁迫的信号。

3.3 防御相关基因

在线虫诱导表达 EST 中有 33 条为防御相关基因, 占 13%。其中有 6 条 (3%) 与 HR 反应相关, 包括 HR 诱导蛋白、Avr9/Cf-9 快速激发蛋白、hin1 蛋白等。这说明在根结线虫侵染后, 寄主使线虫周围的细胞过敏性坏死, 从而抵御线虫的侵染。有 27 条 (10%) 与 SAR 相关, 包括酯氧合酶、辣椒酯酶、几丁质酶、奇果蛋白、过氧化物酶、病程相关蛋白、Kunitz 蛋白酶抑制剂、Pin II 型蛋白酶抑制剂等。其中许多是与番茄、拟南芥、辣椒中报道的抗线虫的防御相关基因相一致。

3.4 代谢相关途径

大约有 24% (54 条) EST 是与代谢相关的基因, 包括多酚氧化酶、脂肪酸降解酶、酮醇酸异构酶、戊二酸加氧酶、类磷脂胆固醇酰基转移酶、甾酮脱氢酶、羟甲基苯基 CoA 还原酶 (HMG) 等。植物的防御反应主要涉及苯丙氨酸及莽草酸代谢等次生代谢途径, 其产物多为生物碱和萜类化合物。Cramer 等 (1993) 报道, 在根结线虫侵染番茄后 *hmg2* 基因 (羟甲基苯基 CoA 还原酶) 被强烈激活。植物寄主与根结线虫的不亲和互作涉及到苯丙氨酸代谢途径, 苯丙氨酸的代谢在真菌毒素处理的番茄及真菌侵染的拟南芥中均得到证实, 与 SA 的产生相关 (Schaller & Frasson, 2000)。试验中分离出的代谢相关基因的种类和数量最多, 说明 *Me3* 介导的抗线虫作用是以植物代谢为基础的抗性表达。

3.5 保护机制

在分离到的基因中有些具有细胞自我保护作用机制, 如枯草杆菌蛋白、多效药物抗性蛋白, 它们对多种病原物和逆境胁迫均有防御作用 (Koltai et al., 1997; Stukkens et al., 2005)。*AGO1-2* 是介导基因沉默的重要基因 (Jones et al., 2006)。而这些基因在植物防御根结线虫侵染中的作用有待于进一步的研究。

3.6 细胞组成及修复及其它相关基因

在试验中约 8% 的 EST 是与植物细胞修复及交换运输相关的基因, 如纤维素合成酶、多聚葡聚糖酶、内切葡聚糖酶等。其中关于细胞壁和细胞修复相关的基因在真菌侵染的拟南芥及其它抗线虫研究报道中得到证实 (Cheong et al., 2003; Jones et al., 2006)。其它一些转运蛋白和细胞膜蛋白也是重要的信号传递蛋白, 这些都说明细胞壁的生物合成及修复是防御反应的重要组成。

通过组织观察和消减杂交, 初步确定了 *Me3* 基因介导的抗性机制包含了 HR 和 SAR 反应, 了解了抗性相关的基因的种类和数量。通过对所获得的 EST 功能分析, 推断寄主和线虫之间早期不亲和互作涉及到对病原线虫的识别、信号传递、转录调控、防御反应、初生代谢、次生代谢以及保护机制等多个方面。同时, 分离出了许多重要的 EST, 如抗线虫基因 (*H-634*)、WRKY 转录因子基因 (*H-155*、*H-706*)、

枯草杆菌蛋白酶基因 (*H-47*)、过敏性坏死基因 (*H-179*)、*AGO1-2* 基因 (*H-1050*) 等, 它们在抗线虫中的作用值得进一步的研究, 而试验中获得功能未知的基因和未发现同源性的基因仍有待于更深入的研究。

References

- Cheong Y H, Chang H S, Gupta R, Wang X, Zhu X, Luan S. 2003. Transcriptional profiling reveals novel interactions between wounding, pathogen, abiotic stress, and hormonal responses in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 129: 661–677.
- Cramer C J, Weissenborn D L, Cottingham C K L. 1993. Regulation of defense-related gene expression during plant pathogen interactions. *Nematol.*, 25 (4): 507–518.
- de Souza-Sobrinho F, Maluf W R, Gomes L A, Campos V P. 2002. Inheritance of resistance to *Meloidogyne incognita* race 2 in the hot pepper cultivar Carolina Cayenne (*Capsicum annuum* L.). *Genetics and Molecular Research*, 1 (3): 271–279.
- Djian-Caporalino C, Pijarowski L, Januael A. 1999. Spectrum of resistance to root-knot nematodes and inheritance of heat-stable resistance in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 99 (3–4): 496–502.
- Eulgem T, Rushton P J, Robatzek S, Somssich I E. 2000. The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Trends Plant Sci.*, 5: 199–206.
- Huang San-wen, Zhang Bao-xi, Guo Jia-zhen, Yang Gui-mei, Zhu De-wei. 2000. The damage, control and resistance breeding of root-knot nematode in pepper. *Acta Horticulture Sinica*, 27 (Supplement): 515–521. (in Chinese)
- 黄三文, 张宝玺, 郭家珍, 杨桂梅, 朱德蔚. 2000. 辣 (甜) 椒根结线虫的危害防治和抗病育种. *园艺学报*, 27 (增刊): 515–521.
- Hwang C F, Williamson V M. 2003. Leucine-rich repeat-mediated in molecular interactions in nematode recognition and cell death signaling by the tomato resistance protein Mi. *The Plant Journal*, 34 (5): 585–593.
- James P M C, Makedonka D M, John M, Mike D, Todd W, Uma R, Deana P, Yvette B, Brenda T, Claire V M, Andrew P K, Brandi J C, Sandra W C, David M B, Robert H W. 2003. Analysis and functional classification of transcripts from the nematode *Meloidogyne incognita*. *Genome Biology*, 4 (4): 1–19.
- Jammes F, Lecomte P, Almeida-Engler J, Bitton F, Martin-Magniette M L, Renou J P, Abad P, Favory B. 2005. Genome wide expression profiling of the host response to root-knot nematode infection in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 44 (3): 447–458.
- Jones L, Keining T, Eamens A, Vaistij F E. 2006. Virus-induced gene silencing of *Argonaute* genes in *Nicotiana benthamiana* demonstrates that extensive systemic silencing requires *Argonaute1*-like and *Argonaute4*-like genes. *Plant Physiol.*, 141 (2): 598–606.
- Khan R, Alkharouf N, Beard H, Macdonald M, Chouikha I, Meyer S, Grefenstette J, Knap H, Matthews B. 2004. Microarray analysis of gene expression in soybean roots susceptible to the soybean cyst nematode two days post invasion. *Journal of Nematology*, 36 (3): 241–248.
- Koltai H, Chejanovsky N, Raccach B, Spiegel Y. 1997. The first isolated collagen gene of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* is developmentally regulated. *Gene*, 196 (1–2): 191–199.
- Lambert K N, Ferrie B J, Nombela G, Brenner E D, Villiamsons V M. 1999. Identification of genes whose transcripts accumulate rapidly in tomato after root-knot nematode infection. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 55 (6): 341–348.
- Lee S, Kim S Y, Chung E, Joung Y H, Pai H S, Hur C G, Choi D. 2004. EST and microarray analyses of pathogen-responsive genes in hot pepper (*Capsicum annuum* L.) non-host resistance against soybean pustule pathogen (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*). *Funct Integr Genomics*, 4 (3): 196–205.
- Mao Zhen-chuan, Xie Bing-yan, Yang Yu-hong, Feng Dong-xin, Feng Lan-xiang, Yang Zhi-wei. 2007. Analysis of early express genes resistance to root knot nematode in *N* gene pepper by SSH. *Acta Horticulturae Sinica*, 34 (3): 629–636. (in Chinese)
- 茆振川, 谢丙炎, 杨宇红, 冯东昕, 冯兰香, 杨之为. 2007. 辣椒 *N* 基因介导抗根结线虫作用早期表达基因的 SSH 分析. *园艺学报*, 34 (3): 629–636.
- Mazarei M, Elling A A, Maier T R, Puthoff D P, Baum T J. 2007. *GmEREBP1* is a transcription factor activating defense gene in soybean and *Arabidopsis*. *Mol. Plant Microbe Interact*, 20 (2): 107–119.
- Saeedizadeh A, Kheiri A, Okhovat M, Hoseininejad A. 2003. Study on interaction between root-knot nematode *Meloidogyne javanica* and wilt fungus *Verticillium dahliae* on olive seedlings in greenhouse. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.*, 68 (4): 139–143.
- Schaller A, Frasson D. 2000. Induction of wound response gene expression in tomato leaves by *Ionophores*. *Planta*, 212: 431–435.
- Stukkens Y, Bultreys A, Grec S, Trombik T, Vanham D, Boutry M. 2005. NpPDR1 a pleiotropic drug resistance-type ATP binding cassette transporter from *Nicotiana plumbaginifolia*, plays a major role in plant pathogen defense. *Plant Physiol.*, 139 (1), 341–352.
- Teresa B Z, Michel B, Maria T M, Philippe C S. 1998. The pepper resistance genes *Me1* and *Me3* induce differential penetration rates and temporal sequences of root cell ultrastructural changes upon nematode infection. *Plant Science*, (133): 79–90.