

专 论 与 综 述

Reviews

根结线虫食道腺细胞表达的基因及其应用潜力

廖金铃^{1*}, 卓侃¹, 崔汝强^{1,2}

(1. 华南农业大学资源环境学院植物线虫研究室, 广州 510642;

2. 广东出入境检验检疫局, 广州 510623)

摘要 根结线虫是国际公认的最为重要的植物病原线虫, 研究其食道腺细胞表达的基因是了解其寄生性和致病性的基础。近年来国际上已从根结线虫食道腺细胞分离基因 22 个, 其基因产物主要包括 β -1,4 内切葡聚糖酶、果胶酸裂解酶、分支酸变位酶、钙网蛋白、类毒液过敏蛋白等。本文对上述工作的研究进展作简要评述, 并对今后的应用潜力进行了讨论。

关键词 根结线虫; 食道腺细胞; 基因

中图分类号 S 432.45

Genes expressed in the esophageal gland cells of the root-knot nematodes *Meloidogyne* and their potential for application

Liao Jinling¹, Zhuo Kan¹, Cui Ruqiang^{1,2}

(1. Laboratory of Plant Nematode, College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2. Guangdong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Guangzhou 510623, China)

Abstract The root-knot nematode *Meloidogyne* is one group of most important phytopathogenic nematodes. The research on the genes expressed in the esophageal gland cells is a basic work for understanding their parasitism and pathogenicity. Twenty two genes have recently been isolated from the esophageal gland cells of the root-knot nematodes, and their gene products include β -1,4-endoglucanase, chorismate mutase, pectate lyase, polygalacturonase, calreticulin, venom allergen like protein and so on. The above-mentioned research progresses were briefly reviewed herein, and their future potential application is also discussed.

Key words *Meloidogyne*; esophageal gland; genes

目前, 根结线虫被公认是分布最广, 对作物危害最严重的植物寄生线虫之一。人们研究的重点是最为常见和重要的 4 种根结线虫, 即南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita*)、爪哇根结线虫 (*M. javanica*)、花生根结线虫 (*M. arenaria*) 和北方根结线虫 (*M. hapla*)。近年来对我国南方作物调查研究表明, 象耳豆根结线虫 (*M. enterolobii*) 也是我国极其重要的根结线虫^[1-3], 已引起人们的很大关注。研究表明, 土壤或植物残体中根结线虫卵孵化后变成 2 龄幼虫进入土壤中, 2 龄幼虫在寄主植物吸引下移

向植物根尖, 并在皮层与中柱细胞间穿刺, 最后固定在某几个细胞内取食^[4-6]。线虫食道腺中的寄生性基因对线虫侵染和寄生植物具有重要意义, 已经有多个在食道腺中的寄生性相关基因得到克隆, 并初步研究了一些基因的功能^[7-14]。食道腺细胞表达的基因是复杂而又多样的, 这些基因在线虫侵染和寄生植物的过程中在形成取食管、降解植物细胞壁、调控植物细胞周期、调节细胞新陈代谢等方面有重要作用。本文对近年国内外在根结线虫食道腺细胞表达基因方面的一些研究工作进行简要综述, 希望能

收稿日期: 2008-12-22

基金项目: 国家自然科学基金(30671365, 30871628, 30170611); 农业公益行业科研项目(nyhyzx07-050-4); 科技部“十一五”科技支撑项目(2006BAD08A08); 教育部博士点基金(20050564009); 广东省科技计划项目(2005B20801013, 2007B020709008, 2004B20501005); 广东省自然科学基金(04020595)

* 通讯作者 E-mail: jlliao@scau.edu.cn

为相关工作的研究提供帮助。

1 根结线虫食道腺细胞表达的主要基因

由于根结线虫食道腺分泌物对根结线虫侵染

与寄生植物起到重要的作用,为了进一步了解根结线虫与寄生植物相互作用的分子机制,越来越多的根结线虫食道腺细胞表达的基因被分离鉴定(表1)。

表 1 已被鉴定的根结线虫食道腺细胞表达基因

基因名称	基因产物	表达部位	推测功能	线虫种类	文献来源
<i>Mi-eng1</i>	β -1,4 内切葡聚糖酶	亚腹食道腺	降解细胞壁	南方根结线虫	[20]
<i>Mi-eng-2</i>	β -1,4 内切葡聚糖酶	亚腹食道腺	降解细胞壁	南方根结线虫	[21]
<i>Mj-eng3-1</i>	β -1,4 内切葡聚糖酶	亚腹食道腺	降解细胞壁	爪哇根结线虫	[22]
<i>Mj-pel-1</i>	果胶酸裂解酶	食道腺	降解细胞壁	爪哇根结线虫	[27]
<i>Mi-pel-1</i>	果胶酸裂解酶	食道腺	降解细胞壁	南方根结线虫	[25]
<i>Mi-pel-2</i>	果胶酸裂解酶	食道腺	降解细胞壁	南方根结线虫	[25]
<i>Mj-cm-1</i>	分支酸变位酶	食道腺	改变植物激素平衡	爪哇根结线虫	[29]
<i>Mi-cm-1</i>	分支酸变位酶	亚腹食道腺	改变植物激素平衡	南方根结线虫	[31]
<i>Mi-cm-2</i>	分支酸变位酶	亚腹食道腺	改变植物激素平衡	南方根结线虫	[31]
<i>Ma-cm-1</i>	分支酸变位酶	亚腹食道腺	改变植物激素平衡	花生根结线虫	[32]
<i>Ma-cm-2</i>	分支酸变位酶	亚腹食道腺	改变植物激素平衡	花生根结线虫	[33]
<i>Mi-crt</i>	钙网蛋白质	亚腹食道腺	早期寄生	南方根结线虫	[41]
<i>Mi-msp-1</i>	类毒液过敏蛋白	—	早期寄生	南方根结线虫	[46]
<i>Mi-vap-2</i>	类毒液过敏蛋白	亚腹食道腺	早期寄生	南方根结线虫	[47]
<i>Mi-cbp-1</i>	纤维素结合蛋白	亚腹食道腺	未知	南方根结线虫	[49]
<i>Mi-xy1-1</i>	β -1,4 内切木聚糖酶	亚腹食道腺	降解细胞壁	南方根结线虫	[50]
<i>Mi-pg-1</i>	多聚半乳糖醛酸酶	亚腹食道腺	降解细胞壁	南方根结线虫	[51]
<i>Mi-14-3-3b</i>	14-3-3 蛋白	背食道腺	诱导巨型细胞	南方根结线虫	[52]
<i>16D10</i>	16D10 多肽	亚腹食道腺	巨型细胞形成的早期信号	南方根结线虫	[53]
<i>Mi-gsts-1</i>	谷胱甘肽 S 转移酶	亚腹食道腺	寄主中线虫寄生所需	南方根结线虫	[54]
<i>msp21</i>	酸性磷酸酯酶	亚腹食道腺	未知	南方根结线虫	[12]
<i>msp34</i>	钠钙钾离子交换器	亚腹食道腺	未知	南方根结线虫	[12]

1.1 β -1,4-内切葡聚糖酶基因

β -1,4 内切葡聚糖酶是一类由真菌、细菌、昆虫、动物等产生的纤维素水解酶,其功能可能是病原物通过其对复杂碳水化合物的水解作用而进入植物组织和利用多糖产物。目前,有报道表明植物线虫具有复杂的纤维素水解系统,其中 β -1,4 内切葡聚糖酶可破坏 β -1,4-糖苷键降解纤维素,引起植物细胞的病变^[4,15]。早期人们认为根结线虫的 2 龄幼虫在植物根细胞间移动而不破坏细胞,机械力和果胶裂解酶足以帮助线虫分开植物细胞。随后,研究认为南方根结线虫和北方根结线虫的 2 龄幼虫在植物中移动时,植物细胞壁会软化,使细胞形状有利于线虫的移动^[16-17]。1975 年,Bird 等人在被爪哇根结线虫侵染的番茄根结中检测到了纤维素酶活性^[18],但 Sundermann 和 Hussey 未检测到南方根结线虫的侵染前 2 龄幼虫和成熟雌虫分泌物的纤维素酶酶活性^[19]。直到 20 世纪 90 年代末,Smant 等通过对马铃薯金线虫(*Globodera rostochiensis*)和大豆孢囊线虫(*Heterodera glycines*)侵染前 2 龄幼虫的 β -1,4-

内切葡聚糖酶 cDNA 的分离,第 1 次克隆了编码咽腺细胞分泌蛋白的寄生性基因 *Gr-eng-1*,*Gr-eng-2*,*Hg-eng-1* 和 *Hg-eng-2*,明确证明了纤维素酶的产生及其通过口针分泌的特性,据推测, β -1,4-内切葡聚糖酶有软化细胞壁的作用,有利于孢囊线虫穿刺根表皮,以及在细胞内移动^[7]。随后,Wang 等证实该 *Hg-eng-1* 和 *Hg-eng-2* 均定位在大豆孢囊线虫的亚腹食道腺,而且 *Hg-eng-2* 可以在大豆孢囊线虫侵染植物时通过 2 龄幼虫口针分泌到寄主植物细胞中^[8]。同年,Rosso 等从南方根结线虫侵染前 2 龄幼虫中克隆到了 β -1,4-内切葡聚糖酶基因 *Mi-eng-1*^[20]。近年来,Ledger 等从南方根结线虫中克隆到另一个 β -1,4-内切葡聚糖酶基因 *Mi-eng-2*^[21]。张志荣等从爪哇根结线虫的侵染前 2 龄幼虫中也成功克隆了 β -1,4-内切葡聚糖酶基因 *Mj-eng-3*^[22]。原位杂交试验证实 β -1,4-内切葡聚糖酶基因定位在线虫的亚腹食道腺^[20-21]。该类基因通常属于糖苷水解酶第 5 家族,可能作为重要的致病因子之一产生作用,使根结线虫 2 龄幼虫利用纤维素酶水解植物

细胞壁,便于在细胞间移动。

1.2 果胶酸裂解酶基因

果胶酸裂解酶是一类由真菌、细菌和线虫等微生物产生的多糖裂解酶,分布在 5 个多糖裂解酶家族。植物病原微生物分泌的果胶酸裂解酶通常可以将植物的薄壁细胞剥离,降解植物的细胞壁以方便植物病原微生物侵入和定殖^[23-25]。在一些固着性内寄生线虫中,果胶酸裂解酶基因已被分离鉴定。Popeijus 等首先从马铃薯金线虫中克隆得到果胶酸裂解酶基因 *Pel-1*^[9];De Boer 等从大豆孢囊线虫中克隆了一个果胶酸裂解酶基因 *Hg-pel-1*,并通过原位杂交证明该基因定位在线虫的亚腹食道腺细胞^[26];同年,Doyle 和 Lamber 从爪哇根结线虫上克隆得到第 1 个根结线虫的果胶裂解酶基因 *Mj-pel-1*^[27]。这 3 个基因同源性较高,而且氨基酸均与细菌和真菌的第 3 家族的果胶裂解酶具有较高的相似性。2005 年,Huang 等从南方根结线虫上分离了 2 个第 3 家族的果胶裂解酶基因 *Mi-pel-1* 和 *Mi-pel-2*,原位杂交试验证明这两个基因均是在线虫食道腺表达,RT-PCR 试验表明这 2 个基因在侵染前 2 龄幼虫和侵染早期阶段的 2 龄幼虫中表达较高,而在侵染后期阶段的幼虫中未表达^[25]。该研究说明南方根结线虫可能在侵染寄主的早期阶段将果胶裂解酶分泌至植物组织中,以便线虫在植物细胞间的移动。

1.3 分支酸变位酶基因

在植物和微生物中,分支酸变位酶催化分支酸转化成石炭酸盐,为苯基丙氨酸和酪氨酸的生物合成提供前体^[28]。在动物中,分支酸变位酶研究较少,第 1 个动物源的分支酸变位酶基因 *Mj-cm-1* 克隆自爪哇根结线虫,并且该基因在线虫的食道腺中表达^[29]。将该基因转到大豆的须根中,结果大豆的维管束细胞的分化和侧根的形成均受到限制^[30]。近年来,南方根结线虫的 2 个分支酸变位酶基因 *Mi-cm-1* 和 *Mi-cm-2* 已被克隆,并证明在 2 龄幼虫的亚腹食道腺细胞中表达,且在幼虫的早期寄生阶段表达量最高^[31]。花生根结线虫的 2 个分支酸变位酶基因 *Ma-cm-1* 和 *Ma-cm-2* 亦被克隆,原位杂交试验证明该基因也在线虫的亚腹食道腺细胞中表达,同时 RT-PCR 表明这两个基因与果胶酸裂解酶基因类似,同样是在侵染前 2 龄幼虫和侵染早期阶段的 2 龄幼虫中表达较高^[32-33]。除了在根结线虫中,目前分支酸变位酶基因也在大豆孢囊线虫、马铃薯

薯孢囊线虫等植物线虫中分离到^[34-35],而且这些基因的同源性都较高。这些研究表明分支酸变位酶基因可能广泛存在于根结线虫等固着性内寄生线虫中,在线虫与植物的互作当中发挥着重要的作用。Doyle 和 Lambert 认为线虫分泌分支酸变位酶到植物细胞质中,改变了植物中分支酸的代谢途径,扰乱水杨酸和吲哚乙酸的合成,干扰植物的生长,而且可诱导植物根分化区的细胞再次分裂,形成巨细胞^[30]。

1.4 钙网蛋白基因

钙网蛋白在人类和多种动物寄生线虫中被发现并被证实与线虫寄生和人类疾病相关,特别是发现肠道寄生线虫在取食时会分泌钙网蛋白,因此推测其在线虫的侵染前后均扮演重要的角色^[36-37]。钙网蛋白的功能在秀丽小杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)中已被大量研究,这些研究表明钙网蛋白有多种重要的生物学功能^[38-40]。在植物寄生线虫中,已报道在南方根结线虫上分离得到钙网蛋白基因 *Mi-crt*,该基因是直接通过分离口针分泌物后测序获得的^[41]。Jaubert 等在 2005 年进一步经原位杂交、蛋白荧光免疫组织定位并将南方根结线虫接种于拟南芥对该基因进行组织定位,证实 *Mi-crt* 不仅在南方根结线虫侵染型 2 龄幼虫的亚腹食道腺中表达,而且在取食位点和 2 龄幼虫在拟南芥组织中的迁移过程中也有该基因表达产物,暗示该基因与南方根结线虫侵染寄主相关^[42]。

1.5 类毒液过敏蛋白基因

毒液过敏蛋白是富含半胱氨酸分泌蛋白家族的一员,该家族蛋白在植物和动物当中分布广泛。类毒液过敏蛋白基因更多地在线虫上进行研究^[43-45]。该类基因目前在根结线虫^[46-47]和大豆孢囊线虫^[48]上已被分离鉴定。Ding 等从南方根结线虫中克隆了第 1 个类毒液过敏蛋白基因 *Mi-msp-1*,Northern 杂交分析显示该基因在侵染前 2 龄幼虫和侵染期 2 龄幼虫均有信号,但在成熟雌虫中未检测到信号^[46]。Wang 等从南方根结线虫中获得第 2 个类毒液过敏蛋白基因 *Mi-vap-2*,原位杂交试验显示该基因定位在线虫的亚腹食道腺,RT-PCR 证实该基因与果胶酸裂解酶基因和分支酸变位酶基因类似,在侵染前 2 龄幼虫和侵染早期阶段的 2 龄幼虫中表达较高^[47]。虽然目前对毒液过敏蛋白的确切生物功能研究还不很清楚,但 Wang 等的研究表明

类毒液过敏蛋白基因可能在植物线虫寄生寄主的早期阶段发挥重要作用。

1.6 其他食道腺表达的重要基因

除了上述提到的几种基因,在根结线虫中,还有一些重要的食道腺细胞表达基因。如较早前在南方根结线虫中克隆到的纤维素结合蛋白基因 *Mi-chp-1*,对该基因进行原核重组表达分析,结果显示重组蛋白能与纤维素及植物细胞壁结合,多克隆抗体检测表明该蛋白由线虫的亚腹食道腺分泌,且酶联免疫分析证明该蛋白可从线虫口针分泌出来,该研究暗示纤维素结合蛋白是线虫对植物致病的一个重要因子^[49]。Dautova 等^[50]和 Jaubert 等^[51]分别从南方根结线虫中分离到 β -1,4 内切木聚糖酶基因 *Mi-xyl-1* 和多聚半乳糖醛酸酶基因 *Mi-pg-1*,这两种基因的功能可能与 β -1,4 内切葡聚糖酶基因、果胶酸裂解酶基因类似,它们的表达产物均有软化植物细胞壁以协助根结线虫侵入寄主及在寄主内移动的作用。Jaubert 等报道了 2 个编码 14-3-3 蛋白的基因 *Mi-14-3-3a* 和 *Mi-14-3-3b*,其中 *Mi-14-3-3b* 在线虫的背食道腺表达,RT-PCR 显示该基因在未孵化的 2 龄幼虫、侵染期 2 龄幼虫、雌虫和雄虫中均有表达^[52]。14-3-3 蛋白是真核生物特有的一类保守蛋白,预测在生物中有多种功能,比如参与细胞信号传导、细胞凋亡等,推测 14-3-3 蛋白基因可能会参与巨型细胞的诱导形成,但其在植物线虫中的确切功能有待进一步研究。Huang 等从南方根结线虫中克隆了一个 *16D10* 基因,该基因的表达产物为一种小分子多肽,是由 2 龄幼虫亚腹食道腺分泌产生,研究表明在烟草和拟南芥转基因表达 *16D10* 可影响根的生长,且该基因在侵染期幼虫的亚腹食道腺有较高表达,因此推测该基因可能与线虫取食点的形成有关^[53]。近年,Dubreuil 通过抑制性差减杂交技术获得一个南方根结线虫的谷胱甘肽 S 转移酶基因 *Mi-gsts-1*,该基因在亚腹食道腺高水平表达,对该基因的功能进行研究,结果表明该基因的表达产物谷胱甘肽 S 转移酶可能具有保护寄生线虫和调控植物被线虫侵染后的反应的作用^[54]。

2 基于 RNAi 技术的功能分析和应用潜力

植物寄生线虫功能基因研究的主要问题是还没有建立可行的转基因体系。RNAi 的重要作用之一是分析基因的功能,已在功能基因组学研究中发挥了巨大作用。自从 RNAi 技术应用于植物寄生线虫的功能分析以来^[10],已有多个关于用 RNAi 技术对

根结线虫基因进行分析的报道,其主要方法是 dsRNA 的直接浸泡吸收方法,近年来则对功能基因进行 *planta* 分析^[13,53,55-58]。总体而言,根结线虫基因的 RNAi 分析初步解决了基因功能研究的某些技术瓶颈,但其 RNAi 分析的许多影响因素和机制还不十分明确。从实际效果来说,通过植物转基因方法的 RNAi 分析的结果可能更为确切和客观。

近年来,人们在建立基于 *planta* 的 RNAi 体系和进行线虫抗侵染的研究中已取得一些进展^[59]。Yadav 等选择切除酶和剪接因子基因为靶标,分别构建含发夹结构的 RNAi 体系,可以使烟草抵抗南方根结线虫的侵染^[57],但 Huang 等则选择一个在食道腺细胞中高度表达的 *16D10* 基因构建的 RNAi 表达载体,在拟南芥中获得对 4 种常见根结线虫有广谱抗性转基因植株^[53]。Fairbairn 等通过构建 *MjTis11* RNAi 体系,在烟草中表达有专一的对 *MjTis11* 沉默效果,在爪哇根结线虫的各个发育阶段均获得良好的 RNAi 效应^[60]。上述研究初步表明,基于植物寄生线虫重要功能基因 RNAi 技术开发抗线虫植物的研究已经取得一些重要进展。

利用 RNAi 沉默技术进行植物病毒病害和细菌病害的防治已有多个获得成功的案例。但由于基于 RNAi 抗线虫植物开发的风险之一是转基因植物中非靶标基因沉默的可能性增加,而在植物寄生线虫中的这一作用尚未进行研究,因此,还有许多相关基础工作急需建立。目前 RNAi 介导的植物线虫抗性研究大多是关于根结线虫的^[53,57],而对其他线虫的研究则较少^[59]。由于食道腺细胞表达的各类基因与植物寄生线虫病害体系中的极端重要性,基于食道腺细胞重要功能基因的 RNAi 技术将在根结线虫病害防治中扮演重要角色。系统研究影响 RNAi 效率的各种因素、在发掘潜在重要靶标基因的基础上筛选基于 RNAi 技术的高抗植株、利用多个基因的 RNAi 策略等可能是提高抗性水平的重要方法。在秀丽小杆线虫中已报道可以多达 5 个以上的基因的 RNAi 沉默同时发生^[61],这方面的经验非常值得植物线虫研究工作借鉴。

3 展望

由于食道腺细胞中富含各种与植物线虫侵染、寄生和致病相关的重要物质,对食道腺细胞表达的基因鉴定正日益受到重视。尽管目前在根结线虫中已有大概 20 多个食道腺表达的基因得到了较多研究,但其功能分析工作还是比较初步的,对各相关基

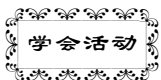
因在根结线虫与寄主植物相互作用模式的研究还较少涉及。最近,南方根结线虫、北方根结线虫全基因组测序已经完成和发表,这是植物寄生线虫研究工作的重要里程碑之一^[62-63],这将极大地促进植物线虫分子生物学研究。可以预见,将来会有更多的在食道腺细胞中表达的重要功能基因得到发现和鉴定。另一方面,到目前为止,根结线虫在食道腺细胞功能基因研究基本上局限于 4 种常见的根结线虫,但最近人们已开始关注其他根结线虫种。例如, Roze 等对哥伦比亚根结线虫(*M. chitwoodi*)进行研究,建立了各龄线虫的含 12 218 个 EST 的表达文库,已用原位杂交方法定位了食道腺细胞中表达的一些基因^[64]。预期会很快可以鉴定获得一些新的功能基因。上述各种基因鉴定的成果,一方面将为人们进一步解析根结线虫与寄主植物的相互关系打下基础,同时,也为进一步对利用基于这些重要功能基因的探索提供技术储备。

参考文献

- [1] Yang B J, Eisenback D. *Meloidogyne enterolobii* n. sp. (Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing pacarae- arpod tree in China[J]. Journal of Nematology, 1983, 15: 381 - 391.
- [2] 刘昊,龙海,鄢小宁,等. 海南省番石榴根结线虫病病原的种类鉴定及其寄主范围的测试[J]. 南京农业大学学报, 2005, 28 (4): 55 - 59.
- [3] 卓侃,胡茂秀,廖金铃,等. 广东省和海南省象耳豆根结线虫的鉴定[J]. 华中农业大学学报, 2008, 27(2): 193 - 197.
- [4] Davis E L, Hussey R S, Baum T J, et al. Nematode parasitism genes[J]. Annu Rev Phytopathol, 2000, 38 (1): 365 - 396.
- [5] Abad P, Favory B, Rosso M, et al. Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction[J]. Mol Plant Pathol, 2003, 4 (4): 217 - 224.
- [6] Gheysey G, Fenoll C. Gene expression sites[J]. Annu Rev Phytopathol, 2002, 40: 191 - 219.
- [7] Smant G, Stokkermans J P W G, Yan Y, et al. Endogenous cellulases in animals: isolation of β -1,4-endoglucanase genes from two species of plant-parasitic cyst nematodes[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 4906 - 4911.
- [8] Wang X, Meyers D, Yan Y, et al. In planta localization of a beta-1,4-endoglucanase secreted by *Heterodera glycines* [J]. Mol Plant-Microbe Interact, 1999, 12: 64 - 67.
- [9] Popeijus H, Overmars H, Jones J, et al. Degradation of plant cell walls by a nematode[J]. Nature, 2000, 406: 36 - 37.
- [10] Urwin P E, Lilley C J, Atkinson H J. Ingestion of double-stranded RNA by preparasitic juvenile cyst nematodes leads to RNA interference[J]. Mol Plant-Microbe Interact, 2002, 15: 747 - 752.
- [11] Chen Q, Rehman S, Smant G, et al. Functional analysis of pathogenicity proteins of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* using RNAi [J]. Mol Plant-Microbe Interact, 2005, 18 (7): 621 - 625.
- [12] Huang G Z, Gao B, Maier T, et al. A profile of putative parasitism genes expressed in the esophageal gland cells of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* [J]. Mol Plant-Microbe Interact, 2003, 16 (5): 376 - 381.
- [13] Rosso M N, Dubrana M P, Cimbolini N, et al. Application of RNA interference to root-knot nematode genes encoding esophageal gland proteins [J]. Mol Plant-Microbe Interact, 2005, 18 (7): 615 - 620.
- [14] Lilley C J, Bakhiet M, Charlton W L, et al. Recent progress in the development of RNA interference for plant parasitic nematodes[J]. Molecular Plant Pathology, 2007, 8 (5): 701 - 711.
- [15] Henrissat B, Bairoch A. New families in the classification of glycosyl hydrolases based upon amino acid sequence similarities [J]. Biochemical Journal, 1993, 293: 781 - 788.
- [16] Smith J J, Mai W F. Host-parasite relationships of *Allium cepa* and *Meloidogyne hapla* [J]. Phytopathology, 1965, 55: 693 - 697.
- [17] Endo B Y, Wergin W P. Ultrastructural investigation of clover roots during early stages of infection by the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* [J]. Protoplasma, 1973, 78: 365 - 379.
- [18] Bird A F, Dowton W J S, Hawker J S. Cellulase secretion by second-stage larvae of the root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) [J]. Marcellia, 1975, 38: 165 - 169.
- [19] Sundermann C A, Hussey R S. Ultrastructural cytochemistry of secretory granules of esophageal glands of *Meloidogyne incognita* [J]. Journal of Nematology, 1988, 20: 141 - 149.
- [20] Rosso M N, Favory B, Piotte C, et al. Isolation of a cDNA encoding a β -1,4-endoglucanase in the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and expression analysis during plant parasitism[J]. Mol Plant-Microbe Interactions, 1999, 12 (7): 585 - 591.
- [21] Ledger T N, 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]. Gene, 2006, 382: 121 - 128.
- [22] 张志荣,廖金铃,崔汝强,等. 爪哇根结线虫 β -1,4 内切葡聚糖酶基因 cDNA 全长克隆和序列分析[J]. 2006, 36 (6): 517 - 522.
- [23] Alghishi P, Favaron F. Pectin-degrading enzyme and plant-parasite interactions[J]. Eur J Plant Path, 1995, 101: 365 - 375.
- [24] Herron S R, Benen J A E, Scavetta R D, et al. Structure and function of pectic enzymes: virulence factors of plant pathogens [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97: 8762 - 8769.
- [25] Huang G Z, Dong R H, Allen R, et al. Developmental expression and molecular analysis of two *Meloidogyne incognita* pec-

- tate lyase[J]. *Genes*, 2005, 35 (6): 685–692.
- [26] De Boer J M, Mcdermott J P, Davis E L, et al. Cloning of a putative pectate lyase gene expressed in the subventral esophageal glands of *Heterodera glycines*[J]. *Journal of Nematology*, 2002, 34: 9–11.
 - [27] Doyle E A, Lamber K N. Cloning and characterization of an esophageal-gland-specific pectate lyase from the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*[J]. *Mol Plant-Microbe Interact*, 2002, 15: 549–556.
 - [28] Romero R M, Roberts M F, Phillipson J D. Chorismate mutase in microorganisms and plants[J]. *Phytochemistry*, 1995, 40: 1015–1025.
 - [29] Lambert K N, Allen K D, Sussex I M. Cloning and characterization of an esophageal-gland-specific chorismate mutase from the phytoparasitic nematode *Meloidogyne javanica* [J]. *Mol Plant-Microb Interact*, 1999, 12: 328–336.
 - [30] Doyle E A, Lambert K N. *Meloidogyne javanica* chorismate mutase 1 alters plant cell development[J]. *Mol Plant-Microbe Interact*, 2003, 16: 123–131.
 - [31] Huang G Z, Dong R H, Allen R, et al. Two chorismate mutase genes from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2005, 6 (1): 23–30.
 - [32] Long H, Wang X, Xu J. Molecular cloning and life stage expression pattern of a new chorismate mutase gene from the plant-parasitic nematode *Meloidogyne arenaria* [J]. *Plant Pathology*, 2006, 10: 1365–3059.
 - [33] Long H, Wang X, Xu J, et al. Isolation and characterization of another cDNA encoding a chorismate mutase from the phytoparasitic nematode *Meloidogyne arenaria* [J]. *Experimental Parasitology*, 2006, 113: 106–111.
 - [34] Bekal S, Niblack T L, Lambert K N. A chorismate mutase from the soybean cyst nematode *Heterodera glycines* shows polymorphisms that correlate with virulence[J]. *Mol Plant-Microbe Interact*, 2003, 16: 439–446.
 - [35] Jones J T, Furlanetto C, Bakker E, et al. Characterization of a chorismate mutase from the potato cyst nematode *Globodera pallida* [J]. *Mol Plant Pathol*, 2003, 4: 43–50.
 - [36] Nakhasi H L, Pogue G P, Duncan R C, et al. Implications of calreticulin function in parasite biology[J]. *Parasitological Today*, 1998, 14: 157–160.
 - [37] Pritchard D, Brown A, Kasper G, et al. A hookworm allergen which strongly resembles calreticulin[J]. *Parasite Immunology*, 1999, 21: 439–450.
 - [38] Coppolino M G, Woodside M J, Demaurex N, et al. Calreticulin is essential for integrin-mediated calcium signaling and cell adhesion[J]. *Nature*, 1997, 386: 843–847.
 - [39] Eggleton P, Lewellyn D H. Pathophysiological roles of calreticulin in autoimmune disease scand[J]. *Journal of Immunology*, 1999, 49: 466–473.
 - [40] Park H, Kim S I, Hong K M, et al. Characterization and classification of five cysteine proteinases expressed by *Paragonimus westermani* adult worm[J]. *Experimental Parasitology*, 2002, 102: 143–149.
 - [41] Jaubert S, Ledger T N, Laffaire J B, et al. Direct identification of stylet secreted proteins from root-knot nematodes by a proteomic approach[J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2002, 121: 205–211.
 - [42] Jaubert S, Milac A L, Petrescu A J, et al. In planta secretion of a calreticulin by migratory and sedentary stages of root-knot nematode[J]. *Mol Plant-Microbe Interac*, 2005, 18: 1277–1284.
 - [43] Hawdon J M, Jones B F, Hoffman D R, et al. Cloning and characterization of *Ancylostoma*-secreted protein: a novel protein associated with the transition to parasitism by infective hookworm larvae[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271: 6672–6678.
 - [44] Hawdon J M, Narasimhan S, Hotez P J. *Ancylostoma* secreted protein 2: cloning and characterization of a second member of a family of nematode secreted proteins from *Ancylostoma caninum* [J]. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 1999, 99: 149–166.
 - [45] Schallig H D F H, van Leeuwen M A W, Verstrepen B E, et al. Molecular characterization and expression of two putative protective excretory secretory proteins of *Haemonchus contortus* [J]. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 1997, 88: 203–213.
 - [46] Ding X, Shields J, Allen R, et al. Molecular cloning and characterization of a venom allergen AG5-like cDNA from *Meloidogyne incognita* [J]. *International Journal for Parasitology*, 2000, 30: 77–81.
 - [47] Wang X, Li H M, Hu Y J, et al. Molecular cloning and analysis of a new venom allergen-like protein gene from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* [J]. *Experimental Parasitology*, 2007, 117: 133–140.
 - [48] Gao B, Allen R, Maier T, et al. Molecular characterization and expression of two venom allergen-like protein genes in *Heterodera glycines* [J]. *International Journal for Parasitology*, 2001, 31: 1617–1625.
 - [49] Ding X, Shields J, Allen R, et al. A secretory cellulose-binding protein cDNA cloned from the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) [J]. *Mol Plant-Microbe Interac*, 1998, 11: 952–959.
 - [50] Dautova M, Rosso M N, Abad P, et al. Single pass cDNA sequencing—a powerful tool to analyse gene expression in preparasitic juveniles of the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita* [J]. *Nematology*, 2001, 3: 129–139.
 - [51] Jaubert S, Laffaire J B, Abad P, et al. A polygalacturonase of animal origin isolated from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* [J]. *FEBS Lett*, 2002, 522: 109–112.
 - [52] Jaubert S, Laffaire J B, Ledger T N, 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: 873–880.
 - [53] Huang G Z, Allen R, Davis E L, et al. Engineering broad root-knot resistance in transgenic plants by RNAi silencing of a conserved and essential root-knot nematode parasitism gene

- [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103: 14302–14306.
- [54] Dubreuil G, Magliano M, Deleury E, et al. Transcriptome analysis of root-knot nematode functions induced in the early stages of parasitism[J]. New Phytologist, 2007, 176: 426–436.
- [55] Bakhetia M, Charlton W, Atkinson H J, et al. RNA interference of dual oxidase in the plant nematode *Meloidogyne incognita*[J]. Mol Plant-Microbe Interact, 2005, 18: 1099–1106.
- [56] Fanelli E, Di Vito M, Jones J T, et al. Analysis of chitin synthase function in a plant parasitic nematode, *Meloidogyne ar-tiellia*, using RNAi[J]. Gene, 2005, 349: 87–95.
- [57] Yadav B C, Veluthambi K, Subramaniam K. Host-generated double-stranded RNA induces RNAi in plant-parasitic nematodes and protects the host from infection[J]. Mol Biochem Parasitol, 2006, 148: 219–222.
- [58] Shingles J, Lilley C J, Atkinson H J, 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: 114–120.
- [59] Gheysen G, Vanholme B. RNAi from plants to nematodes[J]. Trends Biotechnol, 2007, 25: 89–92.
- [60] Fairbairn D J, Cavallaro A S, Bernard M, et al. Host-delivered RNAi: an effective strategy to silence genes in plant parasitic nematodes[J]. Planta, 2007, 226: 1525–1533.
- [61] Geldhof P, Molloy C, Knox D P. Combinatorial RNAi on intestinal cathepsin B-like proteinases in *Caenorhabditis elegans* questions the perception of their role in nematode biology[J]. Mol Biochem Parasitol, 2006, 145: 128–132.
- [62] Abad P, Gouzy J, Aury J M, et al. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*[J]. Nature Biotechnology, 2008, 26: 909–915.
- [63] Opperman C H, Bird D M, Williamson V M, et al. Sequence and genetic map of *Meloidogyne hapla*: A compact nematode genome for plant parasitism[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105: 14802–14807.
- [64] Roze E, Hanse B, Mitreva M, et al. Mining the secretome of the root-knot nematode *Meloidogyne chitwoodi* for candidate parasitism genes[J]. Molecular Plant Pathology, 2008, 9: 1–10.



首届“中国植物保护学会科学技术奖”揭晓

中国植物保护学会于 2008 年 12 月 28 日在北京隆重举行了首届“中国植物保护学会科学技术奖”颁奖大会。大会由中国植物保护学会与佳多科工贸有限责任公司主办。国家科技奖励工作办公室、中国科协学会学术部、农业部科技教育司与种植业管理司、科技部基础研究与农村科技司、中国农业科学院、全国农业技术推广服务中心、农业部绿色食品发展中心、农业部农药检定所、中国农业科学院植物保护研究所、佳多科工贸有限责任公司等有关领导和中国工程院院士、中国农业科学院植物保护研究所郭予元研究员应邀莅临颁奖大会,中国植物保护学会与各省级学会领导、各分支机构负责人、“中国植物保护学会科学技术奖”第一届奖励委员会委员、在京常务理事和理事以及新闻界的朋友共 150 余人参加了会议。中国林学会、中国水土保持学会、中国植物病理学会、中国昆虫学会等兄弟学会领导到会祝贺。

大会由中国植物保护学会陈剑平副理事长主持,吴孔明副理事长介绍首届中国植物保护学会科学技术奖推荐评审情况,黄大昉副理事长宣读了首届“中国植物保护学会科学技术奖”获奖项目奖励的决定。

科技部国家科技奖励工作办公室胡晓军副主任、中国科协学会学术部朱雪芬副部长、农业部科技教育司刘艳副司长、农业部种植业管理司植保植检处吴晓玲处长、中国农业科学院唐华俊副院长和佳多科工贸有限责任公司赵树英董事长分别作了重要讲话。浙江省植物保护检疫局副局长王华弟研究员代表获奖人员作了发言。

大会邀请胡晓军副主任、朱雪芬副部长、刘艳副司长和成卓敏理事长分别为获得一、二、三等奖的获奖代表颁发了获奖证书。

“中国植物保护学会科学技术奖”是根据国务院发布的《国家科学技术奖励条例》和科技部发布的《社会力量设立科学技术奖管理办法》,由中国植物保护学会与佳多科工贸有限责任公司共同设立,经中国植物保护学会申请,科技部和国家科学技术奖励工作办公室于 2007 年 8 月批准的,我国首项植物保护行业的科学技术奖。

“中国植物保护学会科学技术奖”每年评审、奖励一次。奖励等级分为一、二、三等奖 3 个等级。每次奖励一等奖不超过 3 项、二等奖不超过 10 项、三等奖不超过 20 项。2008 年,经过严格评审共有 20 项成果获得奖励,其中“玉米重大病虫害发生预测、控制技术研究与应用”等 3 个项目为一等奖,每项奖金 5 万元;“几种昆虫天敌产业化关键技术”等 6 个项目为二等奖,每项奖金 3 万元;“外来杂草快速鉴定技术研究与应用”等 11 个项目为三等奖,每项奖金 1 万元。

上述基础与应用基础类获奖成果取得的重大创新与发现,为深入探讨病虫害致害与防御机理以及创制与研发防控新技术和新产品提供了科学理论依据和技术支持;技术开发类成果,研发出了一批植保领域的新产品、新技术和新工艺,提高了对农作物有害生物的监测预警与防控技术水平;应用技术类成果,在关键技术或系统集成技术方面创新突出,对一些重大病虫害提出了新的防控对策和可持续控制技术体系;应用技术与推广类成果,在应用、推广国内外先进科技成果中,结合本地实际,因地制宜,有所创新,对已有技术进行集成配套,实现产业化、规模化,并取得了重大经济效益、生态效益和社会效益;科普类成果,编著的科普著作有较高的学术水平和应用价值,对提高有害生物防治技术水平和公众科学文化素质、促进农业生产发展有较高的指导作用,发挥了较好的社会效益。