

刘子记,刘维侠,牛 玉,等. 番茄 *Mi-1* 基因调控元件及同源基因进化分析[J]. 江苏农业科学,2020,48(18):66-71.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.18.011

番茄 *Mi-1* 基因调控元件及同源基因进化分析

刘子记,刘维侠,牛 玉,杨 衍

(中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所,海南儋州 571737)

摘要:为阐明 *Mi-1* 基因转录调控元件及同源基因进化特点,从番茄品种京番 308 中克隆 *Mi-1* 基因起始密码子上游序列,选取转录起始位点上游 1 432 bp 的序列进行启动子顺式调控元件分析,分析结果表明,*Mi-1* 启动子除了含有核心元件外,还含有光响应元件、脱落酸响应元件、茉莉酸甲酯响应元件、低温响应元件、防御与胁迫响应元件等。*Mi-1* 同源基因进化分析结果表明,*Mi-1* 同源基因既包括旁系同源基因,也包括直系同源基因。当同源指数为 0.70 时,番茄、马铃薯、辣椒中含有 *Mi-1* 同源基因,与辣椒相比,番茄与马铃薯的亲缘关系更近。结果可为进一步研究 *Mi-1* 基因的调控表达和进化规律奠定基础。

关键词:番茄;根结线虫抗性;启动子;同源基因;基因进化;顺式调控元件

中图分类号: S436.412 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)18-0066-06

根结线虫 (*Meloidogyne* spp.) 病是农作物最常见的病害之一,根结线虫环境适应性强,在世界各地均有分布,寄生范围广,可侵染 3 000 多种植物^[1]。南方根结线虫、爪哇根结线虫、花生根结线虫和北方根结线虫是发生最为普遍的 4 种线虫^[2]。根结线虫可造成作物减产 10%~20%,严重时高达 75% 以上^[3]。另外,根结线虫还能与真菌和细菌形成复合侵染,加剧土传病害的发生,造成更加严重的经济损失^[4-5]。据估计,世界范围内每年由根结线虫造成的损失超过 1 200 亿美元^[6]。

番茄 (*Solanum lycopersicum*) 是易感根结线虫的作物,根结线虫侵染番茄根系后,会造成番茄株高和产量显著降低,果实品质变差^[7-8],已成为番茄产业发展的主要障碍^[9]。以往防治根结线虫主要采用轮作、化学防治等方法。轮作具有较大的局限性,在特定地区无法达到合理轮作的要求^[10]。采用化学防治方法对土壤进行消毒,不仅会降低蔬菜品质,严重破坏土壤生态系统^[11],而且会导致线虫抗药性增强,虫口密度上升^[12]。培育抗病品种是防御

番茄根结线虫病最为经济、有效的方法^[13]。1956 年 Gibert 研究发现,秘鲁番茄对根结线虫的抗性由 1 个显性基因 *Mi* 控制,*Mi* 基因被定位在番茄第 6 号染色体的短臂端^[14]。Kaloshian 等采用图位克隆的方法从野生番茄中分离到 *Mi* 基因^[15-16]。之后研究人员相继发现了 9 个抗根结线虫基因^[17],抗性位点 *Mi* 被表示为 *Mi-1*。*Mi-1* 基因是目前被开发利用最为广泛的抗根结线虫病基因^[18],能有效抵抗南方根结线虫、爪哇根结线虫和花生根结线虫 3 种主要根结线虫的侵染^[19]。植物对根结线虫的抗性表现为过敏性反应,当根系受到根结线虫侵染时,被侵染部位周围的植物组织内发生细胞坏死,从而限制根结线虫的取食和抑制其生长发育,最终致使根结线虫死亡^[20]。*Mi-1* 基因抗性机制还有很多方面未被揭示,有关 *Mi-1* 启动子特征和同源基因进化的研究鲜有报道。因此,本研究拟克隆 *Mi-1* 基因的上游启动子序列,分析顺式调控元件,另外,基于同源指数构建系统进化树和基因进化折线图,旨在为进一步阐明 *Mi-1* 抗性机制和促进其有效应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为京番 308,属于粉果番茄杂交种,早熟,无限生长型,绿肩,果实圆形,每穗坐果数 4~6 个,单果质量 80~120 g,耐裂性好,汁多味浓,具有 *Mi-1*、*Tm2a* 等基因位点,由北京市农林科学院蔬菜研究中心提供。试验于 2018 年 8 月在中国热带

收稿日期:2019-09-20

基金项目:海南省科技项目(编号:ZDYF2018035);中国热带农业科学院基本科研业务费专项(编号:1630032017027);农业农村部财政专项(编号:NFXZ2018)。

作者简介:刘子记(1982—),男,山东菏泽人,博士,副研究员,主要从事蔬菜遗传育种研究。E-mail:liuziji1982@163.com。

通信作者:杨 衍,博士,研究员,主要从事蔬菜遗传育种研究。E-mail:catasvegetable@163.com。

农业科学院儋州试验基地进行,将供试番茄种子播种于育苗盘中,待长至 4 叶 1 心时,摘取叶片,采用改良的十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法^[21]提取番茄材料的基因组 DNA。

1.2 方法

1.2.1 *Mi-1* 启动子序列克隆 为了获得 *Mi-1* 启动子序列,参照 GenBank 中的 *Mi-1* 编码序列 AF039682 和番茄基因组序列(<https://solgenomics.net/>),根据 *Mi-1* 基因起始密码子下游 600 bp 内的序列利用软件 Primer 5.0 设计引物(正向引物序列 5'→3': CTGCAAAGTTTCTCCGCTTAT,反向引物序列 5'→3': CAAAATCGGAATAAGAAAGC),以京番 308 叶片基因组 DNA 为模板进行扩增,目的条带的回收采用离心柱型琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒,将目的条带进行连接、转化,筛选 3 个阳性克隆,委托英韦创津生物科技有限公司进行测序。

PCR 反应体系包括 6 μ L Premix *Taq*TM, 150 ng 模板 DNA 和 1 μ mol/L 引物,添加 ddH₂O 补足 10 μ L。扩增程序为 95 $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 50 s, 52 $^{\circ}$ C 退火 50 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 40 个循环; 72 $^{\circ}$ C 终延伸 8 min; PCR 产物最后于 4 $^{\circ}$ C 下保存。取 10 μ L 扩增产物与 2 μ L Ultra Power DNA 染料和 2 μ L 上样缓冲液混合均匀,经 1% 琼脂糖凝胶电泳 20 min 后,显色进行带型分析。

1.2.2 *Mi-1* 启动子序列分析 *Mi-1* 基因转录起始位点利用在线软件 FGENESH 进行预测。*Mi-1* 启动子顺式调控元件利用 PlantCARE^[22] 软件进行预测。

1.2.3 *Mi-1* 同源基因系统发育分析 首先通过 BLASTP 比对确定 Gcorm 数据库中与 *Mi-1* 同源性较高的基因序列,结合 BLASTP 分析结果,计算基因对之间的同源性指数(HI)。基于 HI 值对同源基因进行分组,构建系统发育树、基因进化折线图和同源基因在物种相关网络中的分布图。

2 结果与分析

2.1 *Mi-1* 基因启动子克隆

为了获得 *Mi-1* 启动子序列,根据 *Mi-1* 起始密码子下游 600 bp 内的序列利用软件 Primer 5.0 设计引物,以京番 308 叶片基因组 DNA 为模板,进行 PCR 扩增,获得大小为 2 045 bp 的序列,经与 *Mi-1* 编码序列比对发现,其位于 1 523 bp 处,起始密码子 ATG 下游编码序列与 *Mi-1* 编码序列相匹

配,说明所克隆序列为 *Mi-1* 基因上游启动子序列。采用在线软件 FGENESH 预测 *Mi-1* 转录起始位点位置,结果发现,转录起始位点位于 1 435 bp 处(A),位于起始密码子上游 338 bp 处。选取转录起始位点上游 1 432 bp 序列进行启动子区域顺式作用元件预测。

2.2 *Mi-1* 基因启动子序列分析

利用 PlantCARE 软件分析 *Mi-1* 基因启动子序列,结果(图 1、表 1)发现,*Mi-1* 基因启动子序列中存在多个顺式作用元件。除了含有 TATA-box、CAAT-box 等核心元件外,还发现多个光响应元件,如 AE-box、ATC-motif、Box 4、G-box、GATA-motif 等;植物激素响应元件,如脱落酸响应元件 ABRE;防御与胁迫响应元件,如 TC-rich repeats;茉莉酸甲酯响应元件,如 CGTCA-motif 和 TGACG-motif;低温诱导元件,如 LTR。预测结果说明,该启动子的表达可能受光、脱落酸、逆境胁迫、低温和茉莉酸甲酯等的诱导。

2.3 *Mi-1* 同源基因进化树构建

由于 Gcorm 数据库无 *Mi-1* 基因序列,为了进行 *Mi-1* 同源基因进化分析,首先利用 NCBI 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)基于 *Mi-1* 基因序列 AF039682.1 进行同源比对,结果显示,与番茄 XM_004240451.4 的序列一致性最高,达 95.39%,XM_004240451.4 对应的基因 ID 为 101 244 292,对应的蛋白质 ID 为 XP_004240499.1,利用 XP_004240499.1 基于 Gcorm 数据库进一步开展 *Mi-1* 同源基因进化分析。基于 XP_004240499.1 和与其同源性最高的 20 条蛋白质序列构建 *Mi-1* 同源基因系统发育树。结果(图 2)表明,XP_004240499.1 与番茄 XP_010321826 同源性最高,同源性指数为 1.00,与潘那利番茄 XP_015078201 的同源性指数为 0.93,与马铃薯 XP_015160128 的同源性指数为 0.80,与辣椒 XP_016575993 的同源性指数为 0.71。同源基因进化分析结果表明,番茄中 *Mi-1* 同源基因与马铃薯中 *Mi-1* 同源基因的亲缘关系较近,其次为辣椒。

2.4 *Mi-1* 同源基因进化分析

为了简化系统发育树的特征,构建 *Mi-1* 同源基因进化折线图。当同源指数为 1.00 时,共包括 2 条蛋白序列,属于旁系同源基因。同源指数为 0.93 时,潘那利番茄和普通番茄含有 *Mi-1* 的同源基因,同源基因属于直系同源基因。同源指数为 0.81 时,

```

+ GCAAAGTTTC TCCGCTTATA TTGAACATAT ACACATATAG TACATATATT TATTGTAAAA AAAATAATTA
- CGTTTCAAAG AGGCGAATAT AACCTTGATA TGTGTATATC ATGTATATAA ATAAACATTTT TTTTATTAAAT

+ TTATACTCCA TTTCAAGAAAT TTATGTTTTG ATATTATATA TTAAATTCTA TAATGTGGAA ATTGTCAATG
- AATATGAGGT AAAGTTCTTA AATACAAAAC TATAATATAT AATTTAAGAT ATTACACCTT TAAACAGTTAC

+ TCTACAATGT GTTTGATGAA ATGACAACCA CTGTGTTTTA TCTGCAACAG TATAAAAAAT GGCTTTGCTT
- AGATGTTACA CAAACTACTT TACTGTGGT GAACAAAAAT AGACGTTGTC ATATTTTTTA CCGAAACGAA

+ CTTTTAGATT AATATAATAT TTTACAGGTC ACATATTATA TTTATATTGT GAAAGACAAG AGATATTGAT
- GAAAATCTAA TTATATTATA AAATGTCCAG TGTATAATAT AAATATAACA CTTTCTGTTC TCTATAACTA

+ TAAAAAAGA CTTATGGGTT TGTATTTTAA TATTTCAATC TTCTTCATTA CTAAAAGACT TGTATTGTAT
- ATTTTTTCT GAATACCCAA ACATAAAAT ATAAAGTAAG AAGAAGTAAT GATTTTCTGA ACATAACATA

+ ATTTCAACTA CTACACTTGT TTTCTTATCC AATAGCTTCA ACATTATTTT TCAACAAAG GGTTCCTAG
- TAAAGTTGAT GATGTGAACA AAAGAATAGG TTATCGAAGT TGTAAATAAG AGTTTGTTC CCAAGAGATC

+ CTAAACTTCA GCCTGTGTAA AGGTAACATC TTCTTTATTC ACAGCATAAT AACAAATGAAT TTGGTCGATG
- GATTTGAAGT CGGACACATT TCCATTGTAG AAGAAATAAG TGTCGTATTA TTGTTACTTA AACCAAGCTAC

+ TTTGAAGTAA GCTTGAAATT TTCTCTTCT AAGTTTGTTC GATCCATTTA GATTCITTTA AATACTTTTG
- AACTTCATT CGAATTTAA AAGAGAAAGA TTCAAACAAA CTAGGTAAAT CTAAGAAAAT TTATGAAAAC

+ GTATTTAAAG GACTTGTGAA GTCAATGAAT TGTATTTTAG TAATCTTGCA ATTCTAGATC TAGCTATTTG
- CATAAATTC CTGAACACTT CAGTTACTTA ACATAAAATC ATTAGAAGT TAAGATCTAG ATCGATAAAC

+ TTGTTCTCCT TTCAACCAA CTACTCTTC AATTTGTCTA ACAAATAAT GTCAAAAAGG TATGAACATG
- AACAAAGGA AAGTTGTTT GATGAAGAAG TTAACAGAT TGTTTTTATA CAGTTTTC CAGTTTTC ATACTGTAC

+ CTTAATCGGA GATCTTTATT GATTCTACTT CAGCTACTCT AAAAAAAAT CTTTTTTCCA TTAAGCCCAA
- GAATTAGCCT CTAGAAATAA CTAAGATGAA GTCGATGAGA TTTTTTTTTA GAAAAAAGG AATTCGGGTT

+ GTCGAGATAG GAGAAAAATA TTATTAGAGA GATTATTAAT TTAATGACAT TTTACTCTAG TTTTTATCA
- CAGCTCTATC CTCTTTTTAT AATAATCTCT CTAATAATTA AATTACTGTA AAATGAGATC AAAAAATAGT

+ AAATAAGGGA ATAATATCCT GTTATTAAAC TACCTTTTAA GCATTATGGG TGGAAAGTAG AAAGAAGAAA
- TTTATTCCCT TATTATAGGA CAATAAATTG ATGGAAAAT CGTAATACCC ACCTTTCATC TTTCTCTTTT

+ CATAACAGAA CAGACAGTAA GTTATGCTTT AATGAGTAGA TCTGTATAGG ATTACATATT TGTGTGACTT
- GTATTGTCTT GTCTGTCATT CAATACGAAA TTACTCATCT AGACATATCC TAATGTATAA ACAAAGTGA

+ TTCGGTGTTC CGATTAGAAA ACTTACAAGT TTTAATACA TGTATCATT GTTGATTGT CCGTTTGGCA
- AAGCCACAAA GCTAATCTTT TGAATGTTCA AAAATTATGT ACATAGTAAA CAACTAAACA GGCACACCGT
+ CGTCTCTGT GGTACAAGT CACATATGAA GTATGTCCAC GAGACACACC GAATGTCAAG TATAGATTTT
- GCAGTAGACA CCAATGTTCA GTGTATACTT CATACAGGTG CTCTGTGTGG CTTACAGTTC ATATCTAAAG

+ TACTTGATCA TACACAACCT TATCTGAGGT TGATGCCAAA TTTAAATGAC TACCTAAAGC TGATATTTTA
- ATGAAGTAGT ATGTGTTGAA ATAGACTCCA ACTACGGTTT AAATTACTG ATGGATTTCG ACTATAAAAT

+ AACATTAATC TTGTACAGGA AAACATTATT CCTATTACTG TTTTCTTTAC CTTTACCTTA TAGACTTTTT
- TTGTAATTAG AACATGTGCT TTTGTAATAA GGATAATGAC AAAAGAAATG GAAATGGAAT ATCTGAAAAA

+ TGGCAGAAAA AAGTTAGACA GATACATTTG ATGATGTTTA CCATTCTCAT TCTCTCTTTA TTTTATTTTC
- ACCGTCCTTT TTCAATCTGT CTATGTAAC TACTACAAAT GGTAAGAGTA AGAGAGAAAT AAAATAAAG

+ TTTACATTCA CACGCACAAT AATTTTCTTG TAGGTTCCCT ATATGCCATA TGCACATAGA CGAATCTAGG
- AAATGTAAGT GTGCGTGTTA TTAAGAAGAC ATCCAAGGAA TATACGGTAT ACGTGTATCT GCTTAGATCC

+ ATTTGATATT TACAAGTTTC TATGTCGACG T CA
- TAAACTATAA ATGTTCAAAG ATACAGCTGC A TSS

```

图1 *Mi-1* 基因启动子序列

潘那利番茄、普通番茄和马铃薯含有 *Mi-1* 同源基因,同源基因属于直系同源基因(图3)。在物种相关网络(图4)中,节点代表物种,蓝色节点代表该物种包含 *Mi-1* 的同源基因,当同源指数为 0.70 时,潘那利番茄、普通番茄、马铃薯、辣椒含有 *Mi-1* 的同源基因。综上所述,茄科作物番茄、马铃薯和辣椒中含有 *Mi-1* 的同源基因,同源基因既包括旁系同源基因,也包括直系同源基因。

3 讨论与结论

随着保护地番茄栽培面积的增大以及复种指数

的增加,根结线虫危害日趋严重^[23-24]。番茄 *Mi-1* 基因是目前被广泛开发利用的抗根结线虫病基因。*Mi-1* 调控元件的不断发现及同源基因系统进化的深入研究,将有助于揭示抗病基因在发挥抗性过程中的调控方式。启动子含有转录起始所需的保守序列和 RNA 聚合酶特异性结合位点,是调控基因表达的重要组成部分。本研究选取番茄抗根结线虫 *Mi-1* 基因转录起始位点(TSS)上游 1 432 bp 的序列作为启动子序列进行顺式调控元件分析,分析结果显示,该启动子除含有 CAAT-box 和 TATA-box 等核心作用元件外,还含有多个光响应元件。

表 1 *Mi-1* 基因启动子顺式作用元件

序号	元件名称	颜色	基序序列	个数	生物学功能
1	ABRE	<div></div>	ACGTG	1	脱落酸响应元件
2	AE – box	<div></div>	AGAAACTT	2	光响应模块
3	ATC – motif	<div></div>	AGTAATCT	1	光响应保守的 DNA 模块
4	Box 4	<div></div>	ATTAAT	3	光响应保守的 DNA 模块
5	CAAT – box	<div></div>	CAAT	27	启动子和增强子普遍存在的顺式调控元件
6	CGTCA – motif	<div></div>	CGTCA	2	茉莉酸甲酯响应元件
7	G – box	<div></div>	CACGTC	1	光响应元件
8	GATA – motif	<div></div>	GATAGGA	1	光响应元件
9	LTR	<div></div>	CCGAAA	1	低温响应元件
10	O2 – site	<div></div>	GATGA (C/T)	2	醇溶蛋白代谢调控原件
11	TATA – box	<div></div>	TATA	38	核心启动子元件
12	TC – rich repeats		GTTTCTTAC	1	防御与胁迫响应顺式元件
13	TGACG – motif	<div></div>	TGACG	2	茉莉酸甲酯响应元件

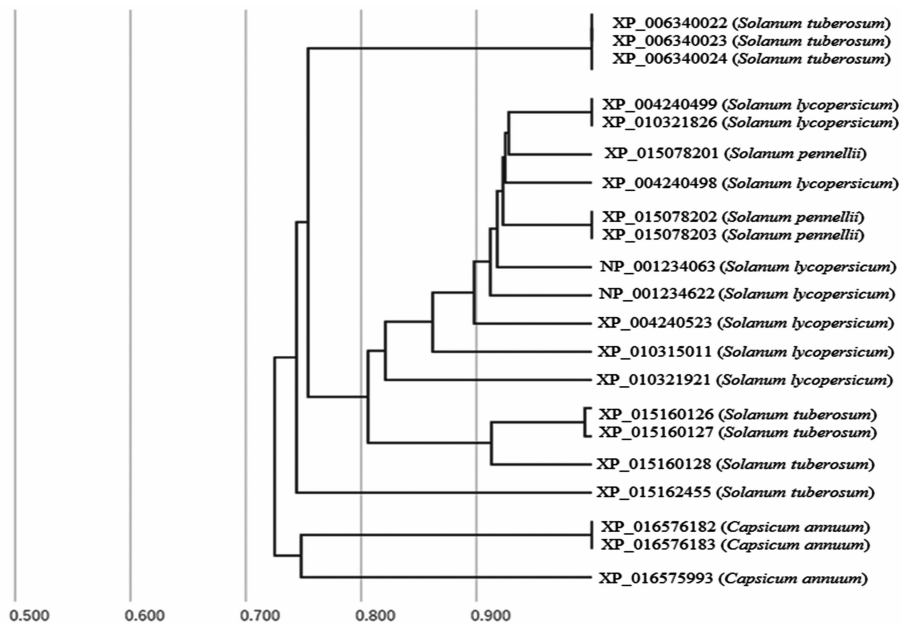


图2 *Mi-1* 同源基因系统发育树

Tameling 等研究发现,*Mi-1* 具有结合和水解 ATP 的活性^[25]。由于 ATP 是植物在有光条件下,通过光反应过程合成的,推测光对于诱导和调控 *Mi-1* 的基因表达具有重要作用。

另外,*Mi-1* 启动子区域还含有茉莉酸响应原

件,这与 Cooper 等的研究结果^[26]一致,Cooper 等的研究表明,*Mi-1* 介导的根结线虫抗性在 32 ℃ 时有所降低,茉莉酸处理可以增强高温下 *Mi-1* 介导的根结线虫抗性^[26]。*Mi-1* 启动子区域含有胁迫响应元件,这与 Guo 等的研究结果^[27]相吻合,Guo

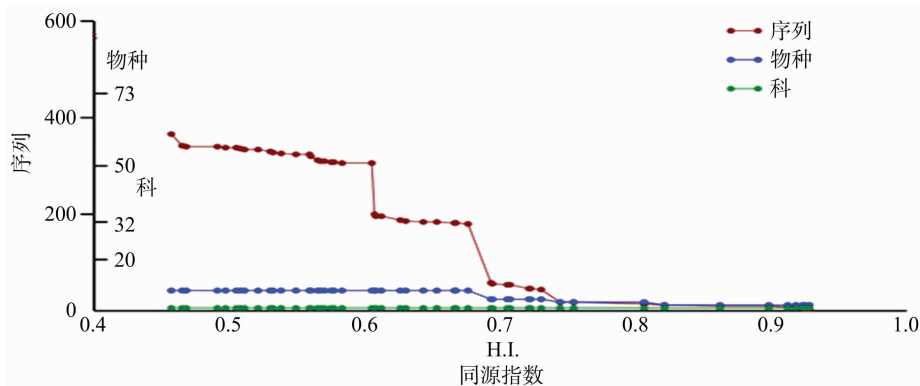


图3 *Mi-1* 同源基因进化折线

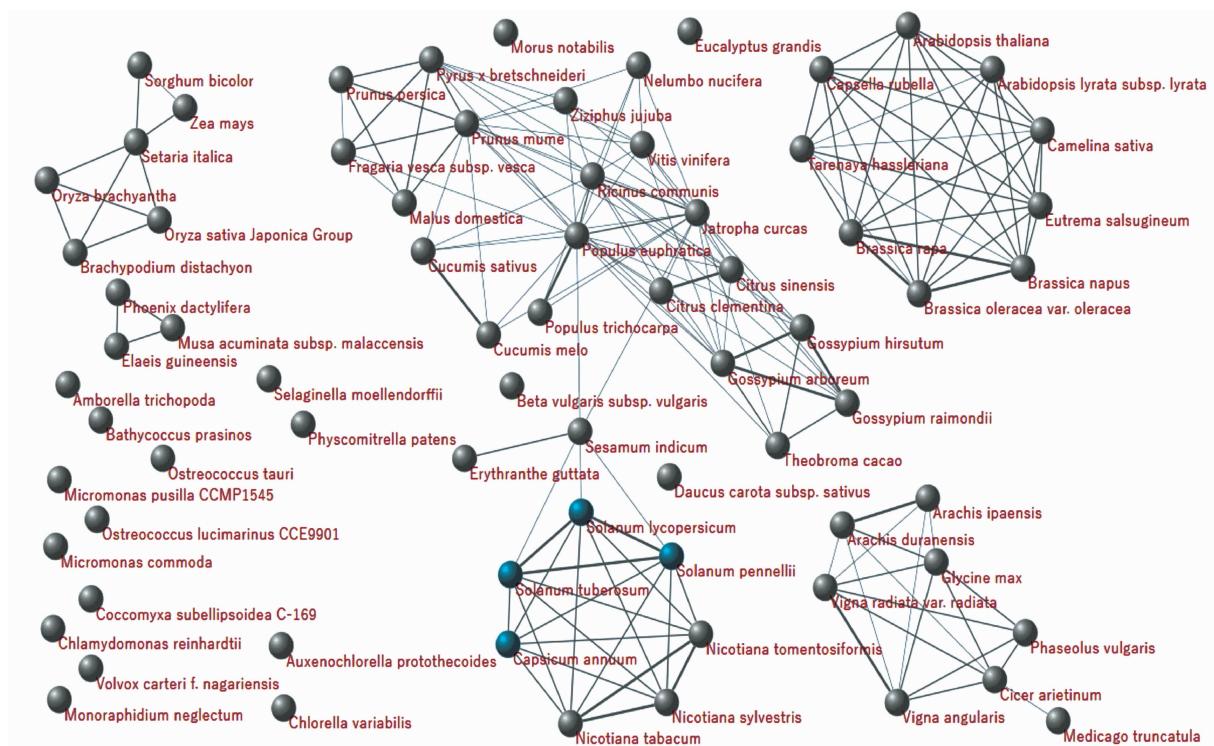


图4 *Mi-1* 同源基因在物种相关网路的分布

等的研究表明,厌氧胁迫可以增强番茄材料的水杨酸信号通路^[27]。水杨酸信号通路对于诱导 *Mi-1* 基因产生对根结线虫的抗性具有重要作用^[28]。另外,本研究还发现, *Mi-1* 启动子区域含有脱落酸响应元件,进一步推测 *Mi-1* 基因受激素和胁迫的诱导表达。

Mi-1 同源基因系统进化分析结果表明,番茄、马铃薯和辣椒中存在多个 *Mi-1* 同源基因,尤其番茄中最多,这可能是由基因重复和基因转换引起的,这与 Segura 等的研究结果^[29-30] 一致。番茄 *Mi-1* 同源基因编码的蛋白 XP_004240499.1 与马

铃薯 *Mi-1* 同源基因编码蛋白的同源指数高于辣椒, 进一步说明与辣椒相比, 番茄与马铃薯的亲缘关系更近, 这与基于基因组序列构建的物种间相关关系一致 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>)。 *Mi-1* 同源基因在潘那利番茄、普通番茄、马铃薯、辣椒中既包括旁系同源基因, 也包括直系同源基因。这可能是由 *Mi-1* 同源基因在基因组上常成簇存在, 基因拷贝间发生频繁的序列交换引起的, 这与 Sanchez - Puerta 等的研究结果^[31]一致。本研究表明, *Mi-1* 同源基因在茄科作物基因组进化过程中发生过多次基因复制与基因转换事件。

参考文献:

- [1] 黄大野,叶良阶,刘晓艳,等. 苏云金芽孢杆菌 NBIN863 菌株对番茄根结线虫的防治效果和促生作用[J]. 中国蔬菜,2015(10):57-60.
- [2] 孙建华,宇克莉,陈宏,等. Sr18 真菌代谢物防治番茄根结线虫病研究[J]. 华北农学报,2002,17(1):119-123.
- [3] 刘丽,颜世翠,姚良同,等. 一种番茄根结线虫人工培养和保存的优化方法[J]. 山东农业科学,2012,44(11):117-120.
- [4] 曹志平,周乐听,韩雪梅. 引入小麦秸秆抑制番茄根结线虫病[J]. 生态学报,2010,30(3):765-773.
- [5] 王会芳,王三勇,符美英,等. 棉隆对番茄根结线虫病的防治效果[J]. 热带生物学报,2014,5(3):249-252.
- [6] Chitwood D J. Research on plant-parasitic nematode biology conducted by the United States Department of Agriculture Agricultural Research Service[J]. Pest Management Science,2003,59(6/7):748-753.
- [7] 商桑,田丽波,孙新蕊,等. 穿刺巴斯德芽菌 Ppgh-3 对番茄根结线虫病防效研究[J]. 热带作物学报,2015,36(7):1319-1324.
- [8] 李维蛟,李强,胡先奇. 木醋液的杀线活性及对根结线虫病的防治效果研究[J]. 中国农业科学,2009,42(11):4120-4126.
- [9] 聂海珍,孙漫红,李世东,等. 棉隆与淡紫拟青霉联合防治番茄根结线虫病的效果评价[J]. 植物保护学报,2016,43(4):689-696.
- [10] 雍道敬,祝帅,朱凤蒙. 海洋菌株 ZDC-03 对番茄根结线虫杀线活性及防效的初步研究[J]. 中国果菜,2017,37(9):16-18.
- [11] 巩彪,张丽丽,隋申利,等. 大蒜秸秆对番茄根结线虫病及根际微生态的影响[J]. 中国农业科学,2016,49(5):933-941.
- [12] 戴梅,徐丽娟,武侠,等. PGPR 对番茄南方根结线虫病的影响[J]. 中国生物防治,2009,25(2):181-184.
- [13] 吴媛媛,李海涛,吕书文,等. 番茄根结线虫病抗病基因 *Mi* 的 CAPS 标记及检测[J]. 辽宁农业科学,2014(6):11-14.
- [14] Gilbert G C. The inheritance of resistance to severe root-knot from *M. incognita* in tomato[J]. Proceedings Hawaii Academy of Science,1956,31:17.
- [15] Kaloshian I, Yaghoobi J, Liharska T, et al. Genetic and physical localization of the root-knot nematode resistance locus *Mi* in tomato[J]. Molecular General and Genetics,1998,257:376-385.
- [16] Milligan S B, Bodeau J, Yaghoobi J, et al. The root-knot nematode resistance gene *Mi* from tomato is a member of the leucine zipper, nucleotide binding, leucine rich repeat family of plant genes[J]. The Plant Cell,1998,10(8):1307-1319.
- [17] Ammiraju J S, Veremis J C, Huang X, et al. The heat-stable root-knot nematode resistance gene *Mi-9* from *Lycopersicon peruvianum* localized on the short arm of chromosome 6[J]. Theoretical and Applied Genetics,2003,106(3):478-484.
- [18] 韩娜,卓侃,王彬,等. 番茄品种 *Mi* 基因对根结线虫抗性的检测[J]. 华南农业大学学报,2011,32(1):19-23.
- [19] 陆秀红,黄金玲,刘志明,等. 番茄种质材料对南方根结线虫的抗性鉴定及 *Mi-1* 基因检测[J]. 西南农业学报,2013,26(1):163-165.
- [20] 于力,朱为民,薛林宝,等. 番茄根结线虫病的研究进展[J]. 中国蔬菜,2006(11):35-38.
- [21] 刘子记,牛玉,杨衍. 热研一号油绿苦瓜种子纯度的 SSR 鉴定[J]. 热带作物学报,2013,34(11):2179-2182.
- [22] Solovyev V, Kosarev P, Seledsov I, et al. Automatic annotation of eukaryotic genes, pseudogenes and promoters[J]. Genome Biology,2006,7(S1):1-10.
- [23] 何川,巩彪,王超,等. 花椒籽饼熏蒸对番茄根结线虫的防效及作用机理[J]. 中国蔬菜,2016(6):64-70.
- [24] 林丽飞,张敏,和平,等. 精胺代谢对连作番茄根结线虫病及其土壤微生物的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(13):89-92.
- [25] Tameling W I L, Elzinga S D J, Darmin P S, et al. The tomato *R* gene products *I-2* and *MI-1* are functional ATP binding proteins with ATPase activity[J]. Plant Cell,2002,14(11):2929-2939.
- [26] Cooper W R, Jia L, Goggin L, et al. Effects of jasmonate-induced defenses on root-knot nematode infection of resistant and susceptible tomato cultivars[J]. Journal of Chemical Ecology,2005,31(9):1953-1967.
- [27] Guo H J, Huang L C, Sun Y C, et al. The contrasting effects of elevated CO₂ on TYLCV infection of tomato genotypes with and without the resistance gene, *Mi-1.2* [J]. Frontiers in Plant Science,2016,7(1):1680.
- [28] Lavrova V V, Udalovala Z V, Matveeva E M, et al. *Mi-1* gene expression in tomato plants under root-knot nematode invasion and treatment with salicylic acid[J]. Doklady Biochemistry and Biophysics,2016,471(1):413-416.
- [29] Segura D M, Masuelli R W, Sanchez-Puerta M V, et al. Dissimilar evolutionary histories of two resistance gene families in the genus *Solanum*[J]. Genome,2017,60(1):17-25.
- [30] Zhao L N, Zhang Q J, Gao R C, et al. High genetic abundance of *Rpi-blb2/Mi-1.2/Cami* gene family in *Solanaceae* [J]. BMC Evolutionary Biology,2015,15(1):215.
- [31] Sanchez-Puerta M V, Masuelli R W. Evolution of nematode-resistant *Mi-1* gene homologs in three species of *Solanum* [J]. Molecular Genetics and Genomics,2011,285(3):207-218.