

陆秀红, 黄金玲, 覃丽萍, 等. 番茄响应南方根结线虫侵染相关转录因子的初步分析[J]. 华中农业大学学报, 2024, 43(1): 62-69.
DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2024.01.007

番茄响应南方根结线虫侵染相关转录因子的初步分析

陆秀红¹, 黄金玲¹, 覃丽萍¹, 刘峥嵘², 刘志明¹

1. 广西壮族自治区农业科学院植物保护研究所/农业农村部华南果蔬绿色防控重点实验室/
广西作物病虫害生物学重点实验室, 南宁 530007; 2. 广西大学农学院, 南宁 530005

摘要 为明确番茄接种根结线虫后基因种类和表达量在转录水平的变化规律, 利用RNA-seq对未接种及接种南方根结线虫2龄幼虫6、12、24和48 h的番茄进行转录组测序, 探究番茄响应南方根结线虫侵染相关的关键转录因子, 并采用qRT-PCR方法对测序结果进行验证。结果显示, 接种南方根结线虫后6、12、24和48 h分别有350、390、580、1 154个基因差异表达, 其中差异表达转录因子分别为11、11、19、50个。这些转录因子属于15个家族, 其中数量最多的为MYB家族和bHLH家族(均为20个), 其次是ERF家族19个、WRKY家族15个、bZIP家族9个。南方根结线虫侵染过程差异表达最明显的主要为ERF、WRKY、MYB和bHLH家族转录因子, 其中*Solyc03g005520*、*Solyc02g094270*和*Solyc09g066350*显著上调, 接种后48 h log₂FC分别为9.16、6.49和6.33; *Solyc02g079280*、*Solyc12g100140*和*Solyc04g072460*显著下调, 接种后48 h log₂FC分别为-2.60、-1.72和-1.70。qRT-PCR验证结果显示, 6个随机选取基因的表达趋势与测序结果基本一致。以上结果表明, ERF、WRKY、MYB和bHLH家族转录因子可能参与番茄与南方根结线虫互作, 在番茄响应南方根结线虫侵染反应中发挥着重要的调控作用。

关键词 番茄; 转录因子; 南方根结线虫; 线虫侵染; qRT-PCR

中图分类号 S436.412 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2024)01-0062-08

植物依靠复杂的信号传导机制应对各种不良环境因素胁迫及细菌、真菌、线虫等生物侵染, 通过多组分协同作用建立起对不良环境及生物胁迫的防卫反应。植物的防卫反应涉及分子、细胞、生化和生理水平的变化, 这些变化通常受到胁迫响应基因表达的调控^[1]。转录因子是胁迫响应基因重要的调控因子之一, 它通过与靶标基因特定DNA序列结合调控目的基因的表达, 参与调控植物的生长发育及对不良环境和生物胁迫的防卫反应^[2]。根结线虫(*Meloidogyne* spp.)是分布广泛且寄主繁多的植物寄生线虫。迄今为止, 全世界报道的根结线虫约100种, 其中南方根结线虫(*Meloidogyne incognita*)是分布最广、危害最严重的4种常见根结线虫之一^[3-4]。番茄根结线虫病是番茄的重要病害, 一般造成减产10%~20%, 严重的达60%以上^[5]。常规的防治方法包括轮作、施用杀线剂、种植抗线虫品种等, 抗病

品种的选育是防治该病最经济、有效、安全的方法^[6-7]。番茄的抗病分子育种研究虽然有一定的进展, 但多集中于单一抗病基因的挖掘与应用方面, 而目前应用最广泛的抗病基因*Mi-1*存在热不稳定性且自然界中存在北方根结线虫(*M. hapla*)、象耳豆根结线虫(*M. enterobobii*)等抗性小种^[8]。越来越多的研究者将目光转向了植物对线虫的防卫反应, 试图寻找其中的关键调控因子, 通过增强关键调控因子的作用激活植物体内相关防卫基因的表达, 从而提高植物的抗病性^[9-10]。为了探索番茄接种南方根结线虫后转录因子表达的变化, 挖掘番茄响应南方根结线虫侵染的关键转录因子, 本研究采用高通量测序技术, 提取未接种及接种南方根结线虫2龄幼虫6、12、24和48 h的番茄根RNA进行转录组测序, 初步分析差异表达的转录因子, 采用qRT-PCR技术对测序结果进行验证, 旨在为番茄抗根结线虫的分子机

收稿日期: 2022-12-08

基金项目: 广西自然科学基金项目(2020GXNSFAA297076); 广西农业科学院科技发展基金项目(桂农科2021YT062); 国家自然科学基金项目(31860492)

陆秀红, E-mail: 447597587@qq.com

通信作者: 刘志明, E-mail: liu0172@126.com

制研究及栽培番茄的改良提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料处理及样本采集

抗南方根结线虫野生番茄材料F5采自广西柳州市郊区,经抗性鉴定为高抗材料^[11]。南方根结线虫采集自广西南宁市武鸣区广西农业科学院里建科研基地,单卵块纯化鉴定后接种至番茄苗(品种为“特级大明星”,广东省湛江市大地蔬菜种子有限公司生产)上繁殖备用。试验时在体视显微镜(Nikon SMZ800N)下挑取卵囊,置于25℃恒温箱中孵化成2龄幼虫。

将番茄材料(F5)播种于育苗盆中,放置于温室大棚内培养。将4片真叶的番茄苗移栽到直径20 cm、高12 cm的花盆中,每盆种植3株,共20盆60棵。移栽后10 d处理组(T1_6 h、T2_12 h、T3_24 h、T4_48 h)每盆接种含1 500头南方根结线虫2龄幼虫的线虫液,对照组(T0_CK)接种等量清水,处理组和对照组分别设置4个重复。将处理组和对照组置于25℃培养箱进行培养,接种6、12、24、48 h后分别取番茄植株根尖组织3 cm(约500 mg),利用RNA-seq技术分析番茄对南方根结线虫侵染早期的防卫机制。每个样本同时取2份,1份送北京诺禾致源科技股份有限公司测序,另1份经液氮冷冻后保存于-80℃冰箱中用于后续qRT-PCR验证。

1.2 总RNA提取及质量检测

采用Trizol提取总RNA。Nanodrop分光光度计和核酸分析仪Agilent 2200分别检测RNA的纯度及

完整性。将检测合格的RNA样品用于转录组测序。

1.3 转录组测序

利用RNA-Seq试剂盒合成cDNA,经过连接、纯化,获得cDNA文库;由北京诺禾致源科技股份有限公司利用Illumina HiSeq 4000平台对cDNA文库进行测序。

1.4 转录组数据分析

通过Illumina HiSeq 4000平台获得的原始序列(raw reads),经过匹配、过滤低质量的碱基得到高质量的质控数据(clean reads)。将质控后的原始序列与参考基因组进行比对,只保留能够特异比对到番茄基因组的片段用于后续分析。

以 $\log_2(\text{FoldChange}) > 1$ 和 $q\text{-value} < 0.005$ 作为筛选条件,用DESeq软件对接种后6 h和对照组(T1_6 h VS T0_CK)、接种后12 h和对照组(T2_12 h VS T0_CK)、接种后24 h和对照组(T3_24 h VS T0_CK)及接种后48 h和对照组(T4_48 h VS T0_CK)4组材料进行差异表达基因筛选。以 $q\text{-value} < 0.05$ 作为阈值,对差异表达基因进行GO功能注释和KEGG通路富集分析。

1.5 qRT-PCR验证

随机选取差异表达的6个基因,利用NTI-11软件设计扩增引物(表1)。提取与转录组测序相同的样品(处理组T4_48 h)总RNA并反转录成cDNA做为模板,以actin为内参基因进行qRT-PCR分析,验证转录组测序分析结果的可靠性。qRT-PCR的反应体系、反应程序及基因相对表达量计算参考唐科志等^[12]的方法。

表1 实时荧光定量PCR的引物

Table 1 The primer of qPCR

基因 Gene	引物 Primer(5'-3')	产物长度/bp Length of product
<i>Solyc01g008370.3</i>	F:TCCGAAGTGTAATTGCTCTCCA R:ACAAGGCAGATTCAGGTTCCA	196
<i>Solyc01g103540.3</i>	F:TTATACACTCACGCAGTCCTCT R:TTCTCACCAGCCATTATCAAGC	182
<i>Solyc02g077430.3</i>	F:ATTGGTGCATCATGGCTTCTAC R:CCTCGTCGCCTTGTATTCTCT	131
<i>Solyc03g093140.3</i>	F:TTGCTGTTGTTGGCGTGGTA R:GCTGATTCTCTTCTCCGTCTG	154
<i>Solyc09g007250.3</i>	F:TCCGTCCAGATGTAGTCACCTA R:GAGTACCACCACCAGGAACAC	159
<i>Solyc12g042080.2</i>	F:GGTCGTATCCTTGCTGGTACA R:GTGCCTCTTCTCGTATCTCTGA	111
<i>actin</i>	F:ACCTTCAACGTTCCAGCTATG R:TCACCAGAGTCCAACACAATAC	95

2 结果与分析

2.1 测序数据质量检测及reads比对分析

对照组(T0_CK)与试验组(T1_6 h、T2_12 h、T3_24 h、T4_48 h)原始数据统计结果显示 raw

reads数分别为60 684 056、60 049 986、60 428 048、61 968 290、60 039 864个,经过质控后得到的clean reads数分别为59 091 036、58 226 170、56 221 382、56 080 056、57 531 918个。对各样品的reads进行质量检测,各样品的Q30在90.45%~91.66%,Q20在

97.94%~98.48%。利用 HISAT 软件将所得 reads 与番茄基因组参考序列 (https://solgenomics.net/organism/Solanum_lycopersicon/genome, 2018) 比对, 分别有 57 314 420、56 129 943、53 576 560、

54 637 193、53 004 753 个 reads 可特异性比对到番茄基因组上(表 2)。测序数据质量检测及 reads 比对分析结果说明测序数据质量较好, 可用于后续的转录组数据分析。

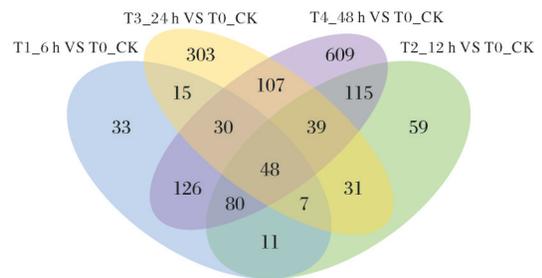
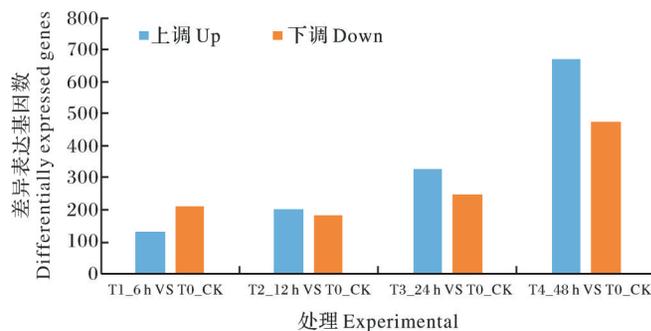
表 2 测序数据质量统计
Table 2 Quality control of data

样品 Sample	原始序列数 Raw reads	高质量序列 Clean reads	Q20/%	Q30/%	比对到基因组 Total mapped	多个比对位置 Multiple mapped
对照 Control(T0_CK)	60 684 056	59 091 036	98.26	91.66	57 314 420(96.99%)	1 031 024(1.74%)
Experimental(T1_6h)	60 049 986	58 226 170	98.24	91.23	56 129 943(96.40%)	1 079 231(1.85%)
Experimental(T2_12h)	60 428 048	56 221 382	97.94	90.45	53 576 560(95.30%)	1 316 381(2.34%)
Experimental(T3_24h)	61 968 290	56 080 056	98.07	90.81	54 637 193(97.43%)	1 050 880(1.87%)
Experimental(T4_48h)	60 039 864	57 531 918	98.48	91.42	53 004 753(92.13%)	1 644 287(2.86%)

2.2 差异表达基因统计分析

将接种南方根结线虫后 6、12、24、48 h 与 0 h 样品的转录组数据进行对比分析, 筛选差异表达基因。结果显示, 接种南方根结线虫后 6、12、24、48 h 分别有 350、390、580、1 154 个差异表达基因。其中上调表达基因分别为 136、204、328、674 个, 下调表达基因

分别为 214、186、252、480 个(图 1A)。对样本间共有差异表达基因进行分析发现, 接种后 6 h 与 12 h, 共有差异表达基因 146 个; 接种后 6 h 与 24 h, 共有差异表达基因 100 个; 接种后 6 h 与 48 h, 共有差异表达基因 284 个; 接种后 6、12、24、48 h, 共有差异表达基因 48 个(图 1B)。



A: 样本间差异表达基因数 Differentially expressed genes between samples B: 样本间差异表达基因的维恩图 Venn diagrams of differentially expressed genes.

图 1 样本间差异表达基因的数量及维恩图

Fig.1 Number and Venn diagrams of differentially expressed genes between samples

2.3 差异表达基因 GO 功能注释

对差异表达基因进行 GO 功能注释, 结果显示, 各样本间差异表达的基因主要包含于生物过程 (biological process) 和分子功能 (molecular function)。T1_6 h VS T0_CK 差异表达基因共富集到 659 条 GO 条目。其中, 差异表达基因数最多的是 biological process (214 个), 其次是 single-organism process (95 个), single-organism metabolic process 为 81 个; T2_12 h VS T0_CK 差异表达基因共富集到 430 条 GO 条目。其中差异表达基因数最多的是 biological process (210 个), 其次是 single-organism process (104 个), single-organism metabolic process 为 79 个; T3_24 h VS T0_CK 差异表达基因共富集到 896 条 GO

条目。其中, 差异表达基因数最多的是 biological process (306 个), 其次是 single-organism process (142 个), single-organism metabolic process 为 119 个; T4_48 h VS T0_CK 差异表达基因共富集到 1 338 条 GO 条目。其中, 差异表达基因数最多的是 biological process (628 个), 其次是 catalytic activity 和 single-organism process, 分别为 478 和 285 个(图 2)。由此可见, 生物过程和单细胞过程在番茄响应南方根结线虫侵染调控中发挥着重要的作用。

2.4 差异表达基因的 KEGG 代谢通路分析

T1_6 h VS T0_CK 差异表达基因显著富集到 9 条主要的代谢通路, 其中富集因子最高的是氮代谢 (nitrogen metabolism), 其次是苯丙烷生物合成

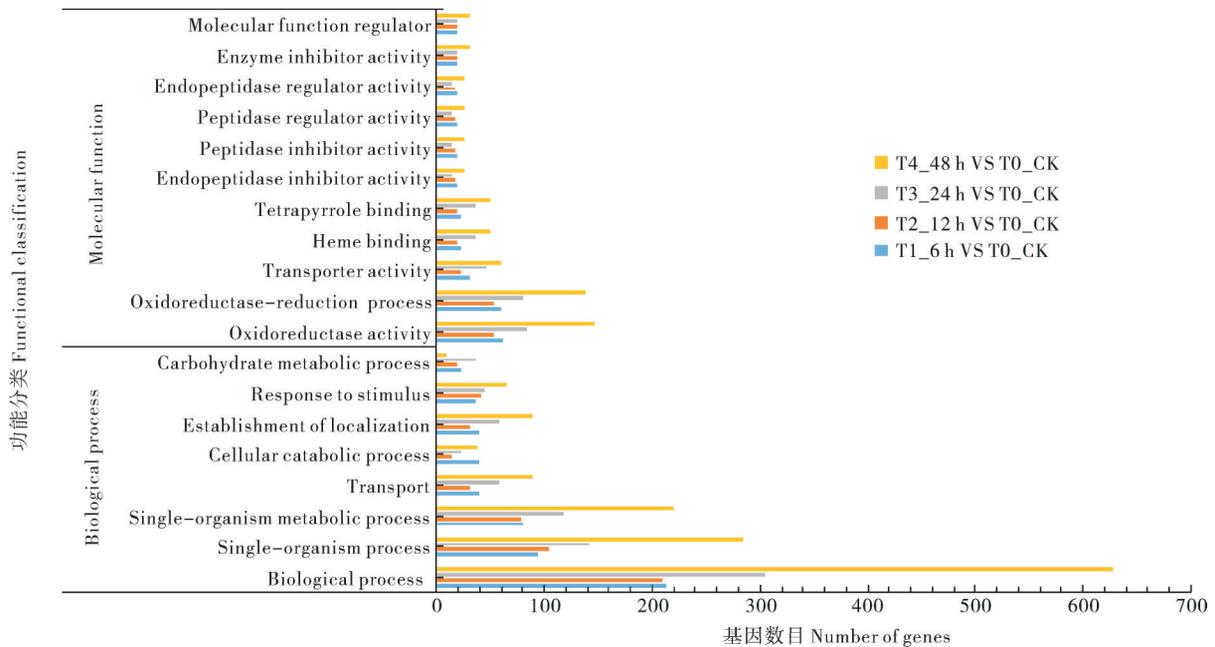


图 2 差异表达基因的GO分析

Fig.2 The GO annotations analysis of differentially expressed genes

(phenylpropanoid biosynthesis)。而富集差异基因最多的途径为次生代谢物生物合成(biosynthesis of secondary metabolites),共富集到 35 个差异表达基因,其次为苯丙烷生物合成(phenylpropanoid biosynthesis),有 11 个差异表达基因被富集到该途径。T2_12 h VS T0_CK 差异表达基因显著富集到 8 条主要代谢通路。其中,次生代谢物生物合成富集因子最高,其次为异喹啉生物碱生物合成(isoquinoline alkaloid biosynthesis);次生代谢物生物合成途径富集差异基因最多,共富集到 47 个差异表达基因,其次为植物激素信号传导(plant hormone signal transduction),富集到 11 个差异表达基因。T3_24 h VS T0_CK 差异表达基因显著富集到 8 条主要代谢通路,富集因子最高的是苯丙烷生物合成,次生代谢物生物合成次之;代谢途径富集差异基因最多,共富集到 85 个差异表达基因,次生代谢物生物合成次之,共富集到 65 个差异表达基因;T4_48 h VS T0_CK 差异表达基因显著富集到 18 条主要的代谢通路,其中,缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的降解富集因子最高,其次为次生代谢物生物合成;而次生代谢物生物合成途径富集差异基因最多,共富集到 132 个差异表达基因,其次为植物激素信号传导途径,共富集到 33 个差异表达基因(图 3)。

2.5 差异表达的转录因子

对差异表达的转录因子进行分析发现,接种南

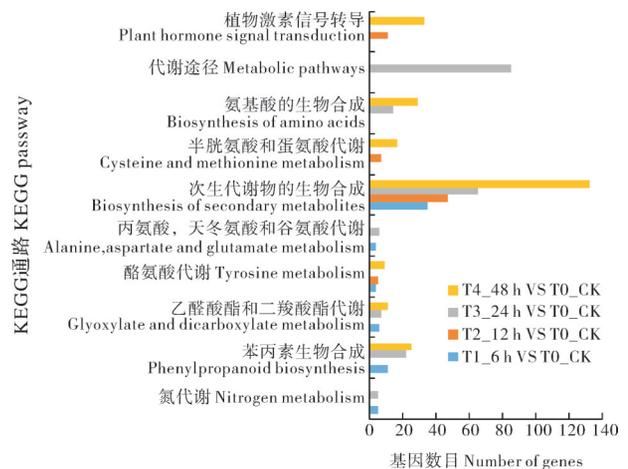


图 3 差异表达基因的KEGG分析

Fig.3 The KEGG annotations analysis of differentially expressed genes

方根结线虫后 6、12、24 和 48 h 分别有 11、11、19、50 个转录因子差异表达。这些转录因子属于 15 个家族,其中数量最多的为 MYB 家族和 bHLH 家族(均为 20 个),其次是 ERF 家族 19 个、WRKY 家族 15 个、bZIP 家族 9 个(图 4)。

对差异表达明显的转录因子进行分析发现, *Solyc03g005520*、*Solyc02g094270* 和 *Solyc09g066350* 显著上调,接种后 48 h \log_2FC 分别为 9.16、6.49 和 6.33; *Solyc02g079280*、*Solyc12g100140* 和 *Solyc04g072460* 显著下调,接种后 48 h \log_2FC 分别为 -2.60、-1.72 和 -1.70。说明这几个转录因子可能参与番

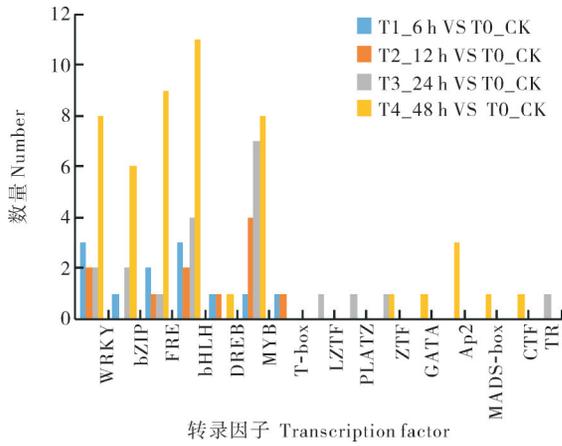


图4 差异表达的转录因子

Fig.4 Differentially expressed transcription factors between samples

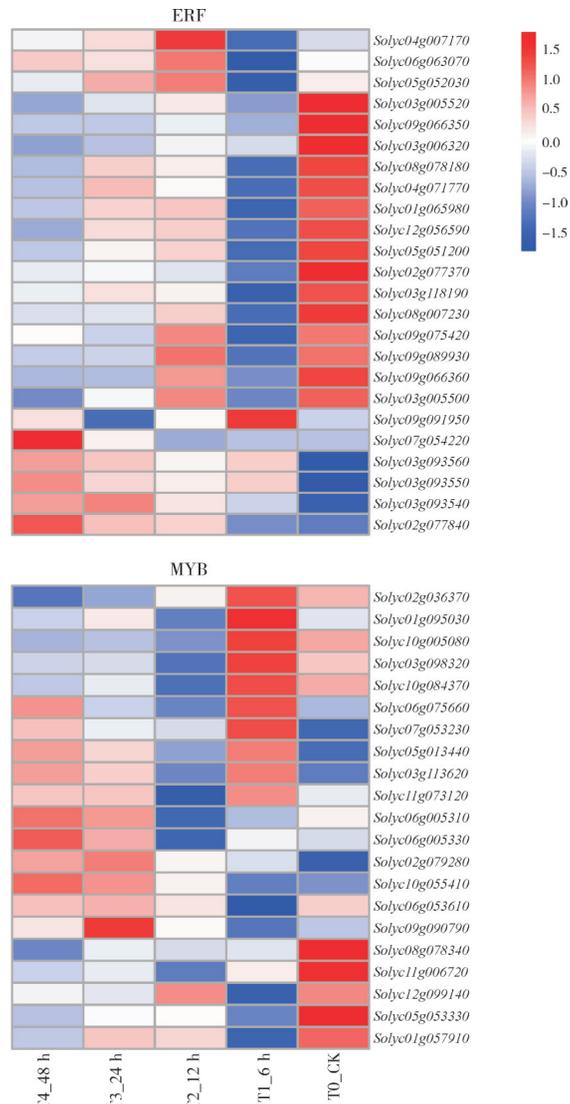
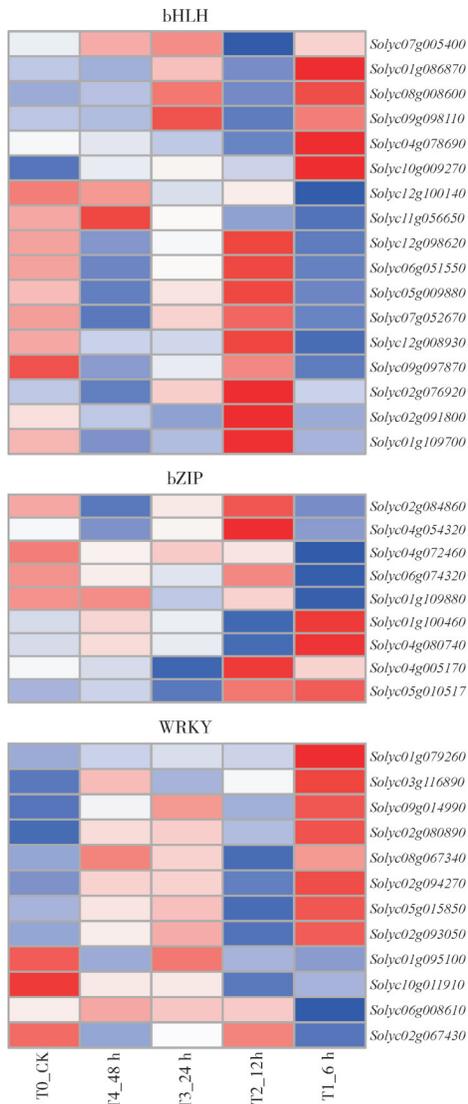


图5 根结线虫感染后转录因子 DEGs 的热图

Fig.5 Heatmap showing the DEGs of transcription factors after infection by RKNs

茄与南方根结线虫互作,在番茄响应南方根结线虫侵染反应中发挥着重要的调控作用(图5)。

2.6 测序结果验证

随机选取 *Solyc01g008370.3*、*Solyc01g103540.3*、*Solyc02g077430.3* 等6个基因进行 qRT-PCR, 计算其表达量并换算成 \log_2FC , 然后与 RNA 测序结果进行比较(图6)。结果显示, 选择的6个基因中除 *Solyc01g008370.3* 外, 其余5个基因2种方法的表达变化趋势基本一致, 表明本研究 RNA 测序结果较可靠。

3 讨论

转录因子在植物应对各种不良环境及生物胁迫中通过调控抗性相关基因的表达, 改善植物的抗逆

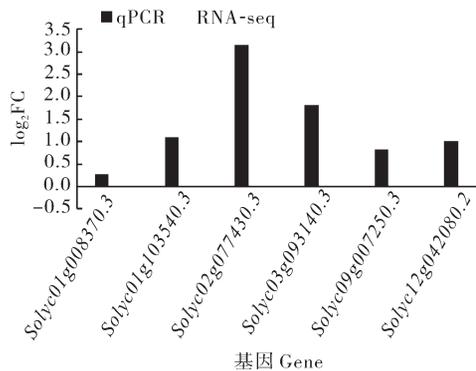


图6 差异表达基因的qRT-PCR验证

Fig.6 Verification of genes by qRT-PCR

性。番茄基因组中 WRKY、DOF、MYB、bZIP、ARF、ERF、HSF 和 NAC 等转录因子通过激活或抑制不同的植物代谢活动,在番茄应对不良环境及生物胁迫中发挥重要作用^[13]。本研究发现,南方根结线虫感染早期,15个转录因子基因家族约91个转录因子差异表达,其中 ERF、WRKY、MYB 和 bHLH 家族转录因子数量最多,差异表达最显著,表明这些转录因子在番茄响应南方根结线虫感染反应中可能发挥着重要的调控作用。

ERF 家族转录因子广泛存在植物中,研究发现 ERF 转录因子通过结合在靶标基因启动子上的 GCC 盒(GCCGCC)调控其表达^[14]。研究表明,ERF 转录因子参与调控番茄对多种病原物的抗性,但是不同的 ERF 转录因子的作用机制不同^[13]。SIERF1 正调控番茄乙烯依赖的致病防御途径,过表达 *SIERF1* 基因可增强番茄果实对 *Rhizopus nigricans* 的抗性^[15]。*SIERF3* 在转基因番茄中的过度表达诱导了致病相关蛋白基因如 *PR1*、*PR2* 和 *PR5* 的表达,从而增强了番茄对 *Ralstonia solanacearum* 的耐受性^[16]。*SIERF84* 负调控番茄对 *Pseudomonas syringae* pv. 的免疫力,过量表达 *SIERF84* 转基因植株具有更好的活性氧清除能力^[17]。与此相类似,本研究中 ERF1B (*Solyc03g005520*)、ERF98 (*Solyc09g066350*)、ERF2 (*Solyc08g007230*) 在接种南方根结线虫 48 h 后上调表达明显,log₂FC 分别为 9.16、6.33 和 3.45,说明这 3 个 ERF 转录因子在番茄响应根结线虫感染中可能发挥着重要作用,其作用机制有待进一步探索。

WRKY 转录因子是一类进化保守的转录因子家族,它通过与靶标基因特定区域相结合,调控下游抗病基因的表达,参与调控植物的抗病防卫系统^[18]。Bhattarai 等^[19]发现, *SlWRKY72a/SlWRKY72b* 在 *Mi* 介导的番茄抗根结线虫反应中发挥重要作用, *Sl-*

WRKY72a/SlWRKY72b 沉默可降低番茄对根结线虫的抗性。Atamian 等^[20]和 Chinnapandi 等^[21]的研究发现, *SlWRKY70* 和 *SlWRKY45* 均受外源激素水杨酸(SA)的诱导,而茉莉酸甲酯(MeJA)抑制其表达,说明它们可能通过 SA 介导的信号传导路径参与调控植物的抗线虫反应。本研究进一步证实 *SlWRKY45* (*Solyc02g094270*) 在番茄抗线虫反应中的作用,接种 48 h 后 *SlWRKY45* 上调表达明显,log₂FC 为 6.49。

MYB 是植物界最大的转录因子家族之一,其成员在植物应对生物及非生物胁迫中发挥多种功能^[22]。番茄基因组中共有 127 个 MYB 转录因子,研究发现 12 个 MYB 基因在接种假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) Pst DC3000 后表达显著升高,而 *SlMYB31* 和 *SlMYB33* 基因受到抑制;13 个 MYB 基因参与调控番茄对荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*) 的响应。*SlMYB8* 在番茄对 *P. putida* 和 *P. fluorescens* 响应中均上调表达^[23]。本研究也得出了类似的结果,接种南方根结线虫后 6、12、24 和 48 h 番茄基因组共有 20 个 MYB 基因差异表达,其中 *SlMYB108* (*Solyc05g053330.3*) 和 *SlMYB8* (*Solyc10g084370.2*) 2 个 MYB 基因在接种 48 h 后上调表达明显,log₂FC 分别为 4.49 和 3.13。这些试验结果表明 *SlMYB8* 在番茄响应对细菌、线虫等生物胁迫中可能发挥着重要的作用,但其作用机制是否相同有待进一步研究。

bHLH 家族转录因子因其 bHLH 结构域而得名。番茄基因组中共发现了 152 个 bHLH 转录因子,番茄黄化卷叶病毒 (tomato yellow leaf curl virus, TYLCV) 感染导致 4 个 bHLH 转录因子 (*SlbHLH077*、*SlbHLH079*、*SlbHLH131*、*SlbHLH132*) 差异表达,其中在抗性株系中沉默 *SlbHLH131* 可导致细胞死亡^[24]。本研究结果与之相似,接种南方根结线虫后 6、12、24 和 48 h 番茄基因组共有 20 个 bHLH 基因差异表达,其中 *SlbHLH055* (*Solyc08g008600.3*) 在接种 48 h 后上调表达明显,log₂FC 为 4.48。表明 bHLH 转录因子在番茄响应根结线虫感染中可能发挥着重要作用,但其响应途径及作用机制有待进一步研究。

参考文献 References

[1] LI B, MENG X Z, SHAN L B, et al. Transcriptional regula-

- tion of pattern-triggered immunity in plants[J]. Cell host & microbe, 2016, 19(5): 641-650.
- [2] SEO E, CHOI D, CHOI C. Functional studies of transcription factors involved in plant defenses in the genomics era[J]. Briefings in functional genomics, 2015, 14(4): 260-267.
- [3] JONES J T, ANNELIES H, DANCHIN ETIENNE G J, et al. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology[J]. Molecular plant pathology, 2013, 14(9): 946-961.
- [4] 彭德良. 植物线虫病害: 我国粮食安全面临的重大挑战[J]. 生物技术通报, 2021, 37(7): 1-2. PENG D L. Plant nematode diseases: serious challenges to China's food security[J]. Biotechnology bulletin, 2021, 37(7): 1-2 (in Chinese).
- [5] 王勋芳, 何德琴, 杨忠庆, 等. 番茄根结线虫病的发生特点与防治技术[J]. 云南农业科技, 2020(3): 38-39. WANG X F, HE D Q, YANG Z Q, et al. Occurrence characteristics and control techniques of tomato root-knot nematode disease [J]. Yunnan agricultural science and technology, 2020(3): 38-39 (in Chinese).
- [6] ERCOLANO M R, SANSEVERINO W, CARLI P, et al. Genetic and genomic approaches for R-gene mediated disease resistance in tomato: retrospects and prospects[J]. Plant cell reports, 2012, 31(6): 973-985.
- [7] ALI M A, AZEEM F, ABBAS A, et al. Transgenic strategies for enhancement of nematode resistance in plants [J/OL]. Frontiers in plant science, 2017, 8: 750 [2022-12-08]. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00750>.
- [8] EL-SAPPAH A H, ISLAM M M, EL-AWADY H H, et al. Tomato natural resistance genes in controlling the root-knot nematode [J/OL]. Genes, 2019, 10(11): 925 [2022-12-08]. <https://doi.org/10.3390/genes10110925>.
- [9] ZHANG M, ZHANG H Y, TAN J, et al. Transcriptome analysis of eggplant root in response to root-knot nematode infection [J/OL]. Pathogens (Basel, Switzerland), 2021, 10(4): 470 [2022-12-08]. <https://doi.org/10.3390/pathogens10040470>.
- [10] SHAHZAD R, JAMIL S, AHMAD S, et al. Harnessing the potential of plant transcription factors in developing climate resilient crops to improve global food security: current and future perspectives[J]. Saudi journal of biological sciences, 2021, 28(4): 2323-2341.
- [11] 陆秀红, 张雨, 秦舒婷, 等. 番茄NBS-LRR抗根结线虫基因同源序列的克隆与分析[J]. 华中农业大学学报, 2019, 38(1): 67-72. LU X H, ZHANG Y, QIN S T, et al. Cloning and analysis of root knot nematode resistance gene of *NBS-LRR* analogs from tomato [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2019, 38(1): 67-72 (in Chinese with English abstract).
- [12] 唐科志, 周常勇. 红橘响应褐斑病菌侵染的转录组学分析[J]. 中国农业科学, 2020, 53(22): 4584-4600. TANG K Z, ZHOU C Y. Transcriptome analysis of *Citrus reticulata* blanco, cv. hongjv infected with *Alternaria alternata* tangerine pathotype [J]. Scientia agricultura sinica, 2020, 53(22): 4584-4600 (in Chinese with English abstract).
- [13] TOLOSA L N, ZHANG Z B. The role of major transcription factors in solanaceous food crops under different stress conditions: current and future perspectives [J/OL]. Plants (Basel, Switzerland), 2020, 9(1): 56 [2022-12-08]. <https://doi.org/10.3390/plants9010056>.
- [14] KLAY I, GOUIA S, LIU M C, et al. Ethylene Response Factors (ERF) are differentially regulated by different abiotic stress types in tomato plants [J]. Plant science, 2018, 274: 137-145.
- [15] PAN X Q, FU D Q, ZHU B Z, et al. Overexpression of the ethylene response factor *SlERF1* gene enhances resistance of tomato fruit to *Rhizopus nigricans* [J]. Postharvest biology and technology, 2013, 75: 28-36.
- [16] PAN I C, LI C W, SU R C, et al. Ectopic expression of an EAR motif deletion mutant of *SlERF3* enhances tolerance to salt stress and *Ralstonia solanacearum* in tomato [J]. Planta, 2010, 232(5): 1075-1086.
- [17] LI Z J, TIAN Y S, XU J, et al. A tomato ERF transcription factor, *SlERF84*, confers enhanced tolerance to drought and salt stress but negatively regulates immunity against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 [J]. Plant physiology and biochemistry, 2018, 132: 683-695.
- [18] MOHANTA T K, PARK Y H, BAE H H. Novel genomic and evolutionary insight of WRKY transcription factors in plant lineage [J/OL]. Scientific reports, 2016, 6: 37309 [2022-12-08]. <https://doi.org/10.1038/srep37309>.
- [19] BHATTARAI K K, ATAMIAN H S, KALOSHIAN I, et al. *WRKY72*-type transcription factors contribute to basal immunity in tomato and *Arabidopsis* as well as gene-for-gene resistance mediated by the tomato R gene *Mi-1* [J]. The plant journal, 2010, 63(2): 229-240.
- [20] ATAMIAN H S, EULGEM T, KALOSHIAN I. *SlWRKY70* is required for *Mi-1*-mediated resistance to aphids and nematodes in tomato [J]. Planta, 2012, 235(2): 299-309.
- [21] CHINNAPANDI B, BUCKI P, BRAUN MIYARA S. *SlWRKY45*, nematode-responsive tomato *WRKY* gene, enhances susceptibility to the root knot nematode, *M. javanica* infection [J/OL]. Plant signaling & behavior, 2017, 12(12): e1356530 [2022-12-08]. <https://doi.org/10.1080/15592324.2017.1356530>.
- [22] AMBAWAT S, SHARMA P, YADAV N R, et al. MYB transcription factor genes as regulators for plant responses: an overview [J]. Physiology and molecular biology of plants, 2013, 19(3): 307-321.
- [23] LI Z J, PENG R H, TIAN Y S, et al. Genome-wide identification and analysis of the MYB transcription factor superfamily in *Solanum lycopersicum* [J]. Plant & cell physiology, 2016, 57(8): 1657-1677.
- [24] WANG J Y, HU Z Z, ZHAO T M, et al. Genome-wide analy-

sis of bHLH transcription factor and involvement in the infection by yellow leaf curl virus in tomato (*Solanum lycopersi-*

cum)[J/OL].BMC genomics,2015,16(1):39[2022-12-08].
<https://doi.org/10.1186/s12864-015-1249-2>.

Preliminary analysis of transcription factors associated with tomato response to infection of *Meloidogyne incognita*

LU Xiuhong¹, HUANG Jinling¹, QIN Liping¹, LIU Zhengrong², LIU Zhiming¹

1. *Institute of Plant Protection, Guangxi Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Green Prevention and Control on Fruits and Vegetables in South China Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Guangxi Key Laboratory of Biology for Crop Diseases and Insect Pests, Nanning 530007, China;*
2. *College of Agricultural, Guangxi University, Nanning 530005, China*

Abstract In order to explore the gene expression pattern at transcriptional level of tomato after inoculated with *Meloidogyne incognita*, transcriptome sequencing was performed on tomato root at 6 h, 12 h, 24 h and 48 h after inoculated with 2nd instar larvae of root-knot nematode. The key transcription factor related to the tomato response to the infection of *M. incognita* were analyzed and the sequencing results were verified by quantitative real-time PCR. The results showed that 350, 390, 580, 1 154 genes were differentially expressed at 6 h, 12 h, 24 h and 48 h after inoculation, and 11, 11, 19 and 50 transcription factors were differentially expressed, respectively. They belonged to 15 transcription factor families, of which MYB family and bHLH family are the most abundant with 20 genes, followed by ERF family with 19 genes, WRKY family with 15 genes, and bZIP family with 9 genes. Further studies showed that the transcription factors of ERF, WRKY, MYB and bHLH family were the most differentially expressed. *Solyc03g005520*, *Solyc02g094270* and *Solyc09g066350* were significantly up regulated and the log₂FC at 48 h after inoculation was 9.16, 6.49 and 6.33, respectively. *Solyc03g005520*, *Solyc02g094270* and *Solyc09g066350* were significantly down regulated, and log₂FC at 48 h after inoculation was -2.60, -1.72 and -1.70, respectively. The results of qRT-PCR analysis showed that the expression trend of six randomly selected genes was consistent with the sequencing results. The results of this study suggest that the transcription factors of ERF, WRKY and bHLH family may be involved in the interaction between tomato and *M. incognita*, and play an important regulatory role in tomato response to the infection of *M. incognita*.

Keywords tomato; transcription factor; *Meloidogyne incognita*; nematode infection; qRT-PCR

(责任编辑:边书京)