

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201408016

王俊生, 胡利宗, 刘红占, 等. 番茄中 *Rpi-blb2* 同源基因的挖掘与鉴定[J]. 广西植物, 2016, 36(4):462-470

WANG JS, HU LZ, LIU HZ, et al. Discovery and identification of homology gene to *Rpi-blb2* in tomato (*Solanum lycopersicum*) [J]. *Guihaia*, 2016, 36(4):462-470

番茄中 *Rpi-blb2* 同源基因的挖掘与鉴定

王俊生, 胡利宗, 刘红占, 王永立, 陈 龙

(周口师范学院 生命科学与农学院, 河南 周口 466001)

摘 要: 番茄晚疫病是番茄生产中的主要病害之一, 经常会造成较大的经济损失。晚疫病生理小种的变异和进化常会导致番茄品种原有的遗传抗性丧失, 因此不断挖掘新的抗性基因, 改良番茄晚疫病抗性是番茄抗病育种的长期任务。该研究采用 BLAST 同源比对的方法, 以马铃薯野生近缘种的晚疫病抗性蛋白序列 *Rpi-blb2* 为种子序列, 在 NCBI 蛋白质序列数据库中检索得到 11 条番茄蛋白质序列, 这些序列与种子序列相似性为 78%~83%, 属于番茄疾病抗性蛋白家族, 并对该家族成员进行了基因结构、基因定位、序列保守结构域和进化关系等分析。结果表明: 该家族中 10 条序列分布在第 VI 条染色体上, 1 条分布在第 V 染色体上; 6 号染色体上的 10 序列呈现 2 个抗病基因簇分布, 在染色体上分别占据 2 个和 3 个基因位点; 10 条同源蛋白是 *Rpi-blb2* 的共同垂直同源蛋白, 但不具有平行同源关系, 大多数成员定位于细胞质。按照蛋白质保守结构域和基因定位的不同可分为三类, 第一类共 4 条系列, 包含有 DUF3542 和 NB-ARC 两个保守结构域特征序列; 第二类共 6 条序列, 与马铃薯 *Rpi-blb2* 蛋白一样, 仅包含 NB-ARC 保守结构域特征序列, 在这 2 类蛋白序列的 NB-ARC 结构域均位于序列中部; 第三类 (仅包含 XP_004239406.1) 虽然也具有与第一类蛋白相似的 DUF3542 和 NB-ARC 结构域, 但在结构域两端的非保守区序列较短, 且位于 5 号染色体上, 因此将其单独归为 1 类。前两类蛋白成员相应的基因具有 1~2 个内含子, 第 3 类蛋白不含内含子。该研究结果为利用生物技术选育番茄抗性品种提供了理论基础。

关键词: 番茄, 晚疫病, 基因, 垂直同源, 进化分析

中图分类号: Q943.2, S641.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2016)04-0462-09

Discovery and identification of homology gene to *Rpi-blb2* in tomato (*Solanum lycopersicum*)

WANG Jun-Sheng, HU Li-Zong, LIU Hong-Zhan, WANG Yong-Li, CHEN Long

(College of Life Sciences and Agriculture, Zhoukou Normal University, Zhoukou 466001, China)

Abstract: Late blight is the most destructive disease in tomato (*Solanum lycopersicum*) cultivation worldwide and will result in large economic losses. As the variation and evolution of original races, mining new resistance gene and improving the genetic resistance to late blight is a major issue in breeding new varieties of tomato, because of the new races will overcome the resistance gene-mediated genetic resistance from commercial varieties. *Rpi-blb2*, a potato late blight resistance protein as seed sequence, has 11 homology sequences from tomato protein sequences databank in NCBI and has a similarity to seed sequence range from 78%–83%. The above data were obtained by blast-protein way in this study. Then the gene structure, gene location, conserved domain feature of 11 protein sequences, and homology se-

收稿日期: 2014-11-12 修回日期: 2015-04-03

基金项目: 河南省科技厅基础与前沿技术研究项目 (122300410127); 河南省教育厅项目 (14B210022) [Supported by the Basic and Forefront Technology Research from Henan Office of Science and Technology (122300410127); the Project of Henan Education Office (14B210022)].

作者简介: 王俊生 (1970-), 男, 陕西蒲城人, 博士, 副教授, 主要从事生物信息教学与植物分子育种, (E-mail) wjs0099@163.com.

quences of *Rpi-blb2* belong to disease resistance protein sup-family of tomato and their evolution relationship were revealed and discussed. The results showed that ten of eleven distributed in the sixth chromosome, one the fifth chromosome; ten sequences distributed the sixth chromosome showed two gene clusters, containing two and three gene locus in the sixth chromosome, respectively. They were co-orthologous for *Rpi-blb2* protein, but not paralogous each other, the most of them located in cytoplasm. According to the difference in structure domain and gene location, they were divided into three categories. The first category, a total of four members, contains DUF3542 and NB-ARC conser domain; The second category, a total of six members, like potatoes *Rpi-blb2* protein, containing only NB-ARC conserved domain, the NB-ARC domain is located in the middle of these two kinds of protein sequences; The third category (only contains XP_004239406.1) also has DUF3542 and NB-ARC domain and located on chromosome 5, but the non-conserved sequence at the ends of the domain is shorter. The members of the first two categories have one or two introns in gene structure, the third category does not contain introns. The study provides theory basis for breeding tomato disease resistance cultivar by molecular biology techniques.

Key words: tomato (*Solanum lycopersicum*), late blight, gene, orthologous, phylogenetic analysis

番茄 (*Solanum lycopersicum*) 是在世界范围内广泛种植的主要蔬菜之一, 被各国人民所喜爱。番茄晚疫病 (*Phytophthora infestans*) 是番茄生产中的主要病害之一, 可导致植株茎叶死亡和果实变褐甚至腐烂, 每年在番茄主产区均造成较大的经济损失 (Kamoun, 2001), 已成为番茄生产的主要障碍之一。由于病原生理小种的不断变异, 导致生产上番茄品种的抗性逐渐丧失, 加重了晚疫病病害的发生 (赵统敏等, 2006)。利用抗菌剂类药物进行防治不仅会造成环境污染, 还会使病原菌产生抗耐药性, 促进生理小种变异 (Daayf & Platt, 2012), 不利于晚疫病的控制, 而选育抗性品种不仅可以从根本上克服番茄晚疫病的发生, 而且经济有效。鉴定和克隆晚疫病抗性基因是选育抗性品种的基础, 尤其一些广谱主效基因在育种上的应用会产生较好的效果。近年来, 在番茄抗晚疫病基因克隆方面取得了较好的进展, 如 Chunwongse et al (2002)、Moreau et al (1998)、Brouwer et al (2004) 和 Kole et al (2006) 分别克隆了抗番茄晚疫病的几个主效基因, 如 *Ph-1*、*Ph-2*、*Ph-3* 和 *Ph-4*, 但随后发现番茄中出现了能克服以上主效基因的晚疫病菌株 (贾芝琪等, 2009); Zhang et al (2013) 把野生醋栗番茄中获得的抗性基因 *Ph-3* 转入番茄栽培种中使其获得了广谱晚疫病菌抗性, 并且对其进行了染色体精细定位。然而目前已有的番茄野生资源中, 尚没有发现更好的其他抗性基因, 尤其广谱性晚疫病抗性基因。

从植物野生近缘种中挖掘鉴定抗性基因并导入栽培物种中, 选育抗性植物品种是常用育种策略之一。近年来, 从马铃薯野生种中克隆鉴定出了 20 多个抗性基因 (周军会, 2008)。其中, *Rpi-blb1* 和 *Rpi-*

blb2 是从马铃薯野生种 (*Solanum bulbocastanum*) 中分离出的晚疫病广谱抗性基因 (Van der Vossen et al, 2003, 2005), 并且 *Rpi-blb2* 基因被转入番茄中获得了抗马铃薯晚疫病菌株的番茄植株 (Van der Vossen et al, 2005), 证明了这种抗性可以在番茄和马铃薯之间进行转移, 但是否可以抵抗番茄晚疫病生理小种尚未可知。马铃薯和番茄同属茄科植物二倍体物种, 均具有 12 对染色体, 是比较基因组研究的理想材料。因此, 本研究以野生马铃薯抗病基因 *Rpi-blb2* 的蛋白序列为种子序列, 基于番茄蛋白质序列数据库、基因组数据库、遗传图谱和物理图谱等生物信息资源, 利用生物信息学方法挖掘番茄中与马铃薯 *Rpi-blb2* 基因同源的抗性蛋白 (或基因) 家族, 并对其基因结构信息、定位信息、序列进化关系等进行了较为全面的分析, 为揭示该家族蛋白质的结构与功能关系, 并利用相关信息进行番茄抗晚疫病的分子育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 番茄抗性蛋白家族序列来源

以马铃薯抗晚疫病基因 *Rpi-blb2* (核酸序列 Accession number DQ122125.1:7967bp) 相应蛋白序列 (Accession number 为 AAZ95005.1, 1267 个氨基酸) 作为种子序列, 在 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 番茄非冗余蛋白质数据库进行 BLAST 同源搜索, 蛋白序列相似性设定为 $\geq 40\%$, 相应的核酸序列从蛋白质序列检索结果中超链接进入。

1.2 蛋白基本信息和基因结构、基因定位信息获取

通过在蛋白比对结果网页中, 获得比对序列之

间的相似性和蛋白序列基本信息,链接目标蛋白序列,可以获得其相应的核酸序列信息;通过相应的 GeneID 超链接或者利用序列网页中提供的 Map Viewer 超链接可以获得相应基因的定位信息和基因结构信息、基因符号和基因功能描述等;也可以从相应的 mRNA 序列(XM004245875.1)注释信息中获得基因定位识别号进行超链接,从而获得相应基因定位信息和基因结构信息。

1.3 蛋白分子量、等电点和保守结构域分析和亚细胞定位

利用 ExPASy 网站提供的在线 Prot-Param 软件(<http://web.expasy.org/protparam/>)进行相对分子质量和理论等电点(pI)等分析;利用 CDD(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)在线软件分析蛋白序列的保守结构域;利用 Plant-mPloc 软件(<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/>)进行亚细胞定位预测。

1.4 蛋白质序列进化树构建

通过 Conserved Domain (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)在线工具,搜索蛋白质序列保守域;在 BLAST-protein 结果页,选择所有同源目标序列后,利用 Tree View 功能显示比对序列与同源序列的距离进化树(采用 Neighbor Joining 法, kimura protein 距离,序列最大差异值设定为0.7,有根树显示);下载比对结果中的目标序列到本地硬盘,采用 DNAMAN 软件进行多序列比对(采用缺省参数),分析番茄 SLy-Rpi-blb2 蛋白家族成员之间进化关系。

2 结果与分析

2.1 番茄 Sly-Rpi-blb2 蛋白家族与马铃薯 Rpi-blb2 蛋白是垂直同源关系

2.1.1 番茄同源抗性蛋白序列基本信息 以野生马铃薯抗晚疫病基因 *Rpi-blb2* (核酸序列 Accession number 为 DQ122125.1;7967 bp)相应蛋白序列(Accession number 为 AAZ95005.1,1 267 个氨基酸)作为种子序列,在番茄非冗余蛋白质数据库进行 BLASTp 同源搜索,获得了 18 条相似性在 40% 以上的同源序列,其中与 11 条序列的相似性为 78%~83%,11 条序列之间的相似性为 85%~100%。进一步比对查询这 11 条序列的相关信息(表 1),发现这些序列长度不等,最长为 1 257 个氨基酸,最短 566

个氨基酸,其中有 10 条定位于第 6 号染色体,1 条定位于 5 号染色体,均与番茄抗病性(晚疫病和根结线虫病抗性)密切相关;位于 6 号染色体上的 10 条序列分子量接近,等电点分布在 4.85~5.19 之间,非常接近,表明这些蛋白质以酸性氨基酸为主,作用环境偏酸性。因此,推测这些蛋白序列可能与野生马铃薯 Rpi-blb2 蛋白互为共同垂直同源蛋白(Co-orthologs),他们之间互为平行同源蛋白。位于 5 号染色体上的 XP_004239406.1 序列长度仅 566 个氨基酸,推测该蛋白的祖先基因序列可能发生了部分复制、转移和插入等进化事件。因此,把这 11 条蛋白质序列暂命名为 SLy-Rpi-blb2 蛋白亚家族。

2.1.2 番茄 SLy-Rpi-blb2 蛋白家族基因定位和亚细胞定位 基因定位结果(表 2,图 1)表明,该蛋白家族分布在 6 号染色体上的 10 个成员定位在 2.3 M~2.75 M 之间,其中 8 个成员分布在 5 个基因位点,并且集中分布在 2 个区段,成簇分布,其中第一簇包括 3 条序列(XP_004240499.1、NP_001234063.1 和 XP_004240498.1),并且 XP_004240499.1 和 NP_001234063.1 占据基因组上相同位点,这与两条序列来自不同抗性品种相关;第二簇包括 5 条序列,分别为 ABI96216.1、XP_004240523.1、AAC97933.1、NP_001234622.1 和 ABI96218.1,其中后 3 条序列位于基因组上同一位点;另外 2 个成员(AAC32253.1 和 AAC32252.1)未能定位于染色体具体位置。该蛋白家族中的各成员在基因组上比较简单(表 2),仅有 1~3 个外显子数。采用 Plant-mPloc 在线软件进行亚细胞定位结果表明,11 条蛋白序列均定位于细胞质中,这与野生马铃薯 Rpi-blb2 蛋白的亚细胞定位结果相同。

2.1.3 番茄 SLy-Rpi-blb2 蛋白家族的保守结构域分析 对 11 条同源蛋白序列通过 Conserved Domain 在线工具,搜索其保守域,结果表明这些蛋白的精确保守域共有 3 类,第一类共 4 条系列,包括 XP_004240523.1、AAC97933.1、NP_001234063.1 和 AAC32252.1,同时包含有 DUF3542 和 NB-ARC 两个保守结构域特征序列,第二类包括 XP_004240499.1、NP_001234622.1、AAC32253.1、ABI96218.1、ABI96216.1 和 XP_004240498.1,仅包含 NB-ARC 保守结构域特征序列,并且与马铃薯 Rpi-blb2 蛋白保守结构一致(图 1:B),因此推测第二类蛋白与马铃薯 Rpi-blb2 蛋白(AAZ95005.1)的进化距离最近,与这类蛋白的祖先序列最为接近,分

表 1 马铃薯 *Rpi-blb2* 蛋白在番茄中的同源蛋白序列信息Table 1 Basic information of the tomato protein sequences homologous with potato *Rpi-blb2* protein

序列登录号 Sequence accession code	基因符号 Gene symbol	蛋白功能描述 Protein function description	相似性 Similarity (%)	氨基酸数 AA	分子量 (等电点) Molecular weight (pI)	染色体 Chromosome
XP_004240523.1	Mi-1F	putative late blight resistance protein homolog R1B-14-like	82	1 249	143 708 (5.13)	VI
XP_004240499.1	Mi-1C	putative late blight resistance protein homolog R1B-14-like	82	1 251	144 089 (5.04)	VI
AAC97933.1	Mi-1	disease resistance protein	81	1 257	144 554 (5.10)	VI
NP_001234063.1	Mi-1.2	root-knot nematode resistance protein	81	1 257	144 588 (5.09)	VI
NP_001234622.1	Mi-1.1	plant resistance protein	81	1 255	144 355 (5.00)	VI
XP_004240498.1 /ABI96214.1	Mi-1B	putative late blight resistance protein homolog R1B-14-like	81	1 251	144 227 (4.85)	VI
ABI96216.1	Mi-1E	NBS-LRR resistance protein-like protein	81	1 244	143 247 (5.05)	VI
ABI96218.1	Mi-1G	truncated NBS-LRR resistance protein-like protein	83	996	114 411 (5.19)	VI
AAC32253.1	Mi-copy1	disease resistance gene homolog Mi-copy1	82	1 204	138 481 (5.01)	VI
AAC32252.1	Mi-copy2	disease resistance gene homolog Mi-copy2	81	1 206	138 668 (5.10)	VI
XP_004239406.1	R1C-3-lik	putative late blight resistance protein homolog R1C-3-like	78	566	65 700 (5.69)	V

表 2 番茄 *SLy-Rpi-blb2* 蛋白家族基因定位与结构信息Table 2 Gene electronic positioning and structural information of tomato *SLy-Rpi-blb2* protein family

序列登录号 Sequence accession code	基因组序列 Genome sequence	基因位置 Gene location	编码区长度 Coding sequences (bp)	外显子 Extron	亚细胞位置 Subcellular location	品种 Cultivar
XP_004240523.1	DQ863292.1	2 719 423-2 726 120	3 750	3	细胞质 Cytoplasm	Heinz 1706
XP_004240499.1	DQ863290	2 354 694-2 360 082	3 755	3	细胞质 Cytoplasm	Heinz 1706
AAC97933.1	AF091048.1	2 745 577-2 750 696	3 774	3	细胞质 Cytoplasm	Motelle
NP_001234063.1	CS025319.1	2 354 694-2 360 082	3 774	3	细胞质 Cytoplasm	VFNT Cherry
NP_001234622.1	CS025317.1	2 745 577-2 750 696	3 768	3	细胞质 Cytoplasm	VFNT Cherry
XP_004240498.1	DQ863289.1	2 327 335-2 331 298	3 756	2	细胞质 Cytoplasm	Heinz 1706
ABI96216.1	DQ863292.1	2 703 086-2 706 897	3 645	3	细胞质 Cytoplasm	Heinz 1706
ABI96218.1	DQ863293.1	2 745 577-2 750 696	2 991	3	细胞质 Cytoplasm	Heinz 1706
AAC32253.1	U81378.1	—	3 615	1	细胞质 Cytoplasm	Motelle
AAC32252.1	U81378.1	—	3 621	1	细胞质 Cytoplasm	Motelle
XP_004239406.1	AEKE02002627.1	2 968 251-2 969 951	1 701	2	细胞质 Cytoplasm	Heinz 1706
AAZ95005.1	DQ122125.1	—	3 804	3	细胞质 Cytoplasm	—

注: “—”表示未能获得相关信息。

Note: “—” indicates failed to get relevant information.

化较早,在这 2 类蛋白序列中,NB-ARC 结构域均位于序列中段;第三类(仅包含一条序列 XP_004239406.1)虽然也具有 DUF3542 和 NB-ARC 结构域,并且 2 个结构域间距与第一类非常接近,但在结构域两端的其它序列非常短,并且该序列位于 5

号染色体上,因此将其单独归为 1 类。

2.2 番茄 *SLy-Rpi-blb2* 蛋白家族成员的序列比对、基因结构与进化

为了进一步确定 *SLy-Rpi-blb2* 蛋白家族成员之间以及与马铃薯 *Rpi-blb2* 的同源关系,利用马铃薯

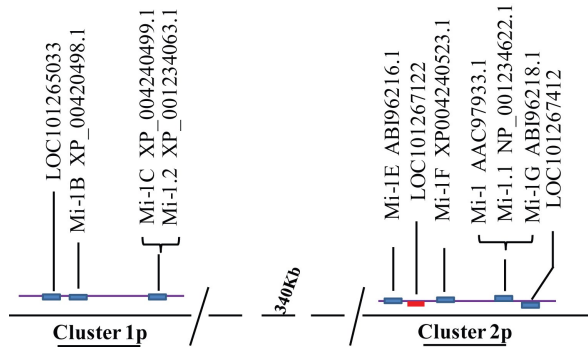


图1 番茄 SLy-Rpi-blb2 蛋白家族成员在基因组上的分布位置

Fig. 1 Location for members of SLy-Rpi-blb2 protein family in tomato genome

Rpi-blb2 蛋白与番茄蛋白数据库中相似性达到 40% 以上的 18 条抗性蛋白(包括晚疫病抗性蛋白)序列构建拓扑结构树,结果(图 3)表明,野生马铃薯 Rpi-blb2 蛋白(图 3 中红色箭头所指)与表 1 中的 11 条番茄蛋白序列归为一大类(图 3:A 中蛋白家族 I),其他 7 条序列分为蛋白家族 II 和蛋白家族 III。表明这 11 条序列与马铃薯晚疫病抗性蛋白序列 Rpi-blb2 可能为共同垂直同源蛋白。将 11 条序列与种子序列进行多序列比对分析(图 4),结果表明,有 4 条序列(分别为 ABI96218.1(996 个氨基酸)、AAC32253.1(1204 个氨基酸)、AAC32252.1(1206 个氨基酸)和 XP_004239406.1(566 个氨基酸)的长度与种子序列差异较大,其他 7 条与番茄 Rpi-blb2 序列基本可以完全匹配,这 7 条序列与马铃薯 Rpi-blb2 蛋白序列相比,在 N 端存在 2 个明显的较短缺失序列(图 4: I, 缺失 3 个氨基酸;图 4: II, 缺失 6 个氨基酸);ABI96218.1 与 ABI96216.1 相比,最大差异在于 C 端缺失了 249 个氨基酸序列,这可能是两者的祖先基因因为部分染色体片段缺失造成的,也可能是碱基突变造成编码序列提前终止引起的。基因结构(图 3:B)表明,该家族成员有 3 种基因结构类型,第一类含有 2 个内含子(5 条序列),第二类含有一个较小的内含子(2 条序列),第三类不具有内含子结构(XP_004239406),比较这些基因内含子序列发现,第一个内含子序列相对较长,且长度差异较大(556~2 199 bp),序列间相似性差异也较大;第二内含子位于靠近蛋白质 N 段的编码区内,所有同源蛋白相应核酸序列的第二内含子长度均为 75 bp,且序列高度保守,这表明第二内含子是一个相当保守

的区域,可能对这类蛋白具有重要作用,因此进化过程中不易发生改变。

3 讨论

通过对生物信息数据进行加工获取有用知识,指导科研方向,是生物信息学常用的方法。马铃薯和番茄同属茄科,进化关系密切,因此利用马铃薯晚疫病抗性基因 *Rpi-blb2* 序列,从番茄蛋白数据库中获得了一个包含 11 条蛋白序列的蛋白家族 SLy-Rpi-blb2,通过鉴定该家族成员与 *Rpi-blb2* 的进化关系、基因结构、蛋白保守域特性等,确定该家族与种子序列是垂直同源关系。随后对家族成员之间的进化事件进行了分析,表明该家族的共同祖先基因在漫长的进化历史中发生了基因复制、重排、可变剪接以及水平转移事件,从而形成了较为丰富的后代同源基因(蛋白),但与祖先基因(蛋白)序列相比,可能由于保守域序列的改变,从而导致不同成员在抗病的能力上发生了改变。

3.1 番茄 SLy-Rp-Blb2 蛋白家族与 Rpi-blb2 可能是垂直同源关系

NBS 是指核苷酸结合位点,植物疾病抗性蛋白中的 NBS 是一个大约 320 个氨基酸的高度保守序列,具有这种保守序列的蛋白可能是利用蛋白质构象变化调节 NTP 的水解,从而通过信号转导,使寄主对病原菌正确识别,促进寄主抗性防御信号的启动(Belkhadir et al, 2004; Leipe et al, 2004)。在植物抗性蛋白质中 NB-ARC 结构域就是 NBS-LRR 保守结构域(Stuart Seah et al, 2007)。本研究中的种子序列 Rpi-blb2(Van der Vossen et al, 2005)具有显著的 NB-ARC 保守结构域序列特征,属于 AAA-ATPase 超级家族(图 2),可能与这类蛋白参与病毒产生的植物过敏反应或程序性死亡有关(Van der Biezen1, 1998)。DUF3542 保守域序列的功能尚未可知,但具有 DUF3542 结构域的蛋白序列长度一般在 516~1 284 个氨基酸,并且这类蛋白多与 NB-ARC 结构域有关(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi?INPUT_TYPE=live&SEQUENCE=XP_004240523.1)。在番茄 SLy-Rp-Blb2 蛋白家族中,有 7 条序列与马铃薯 Rpi-blb2 蛋白具有相同的保守结构域,仅具有 NB-ARC 结构域序列特征,另 4 条序列同时具有 NB-ARC 和 DUF3542 结构域序列特征。通过对马铃薯 Rpi-blb2 蛋白和番茄蛋白数据库中相

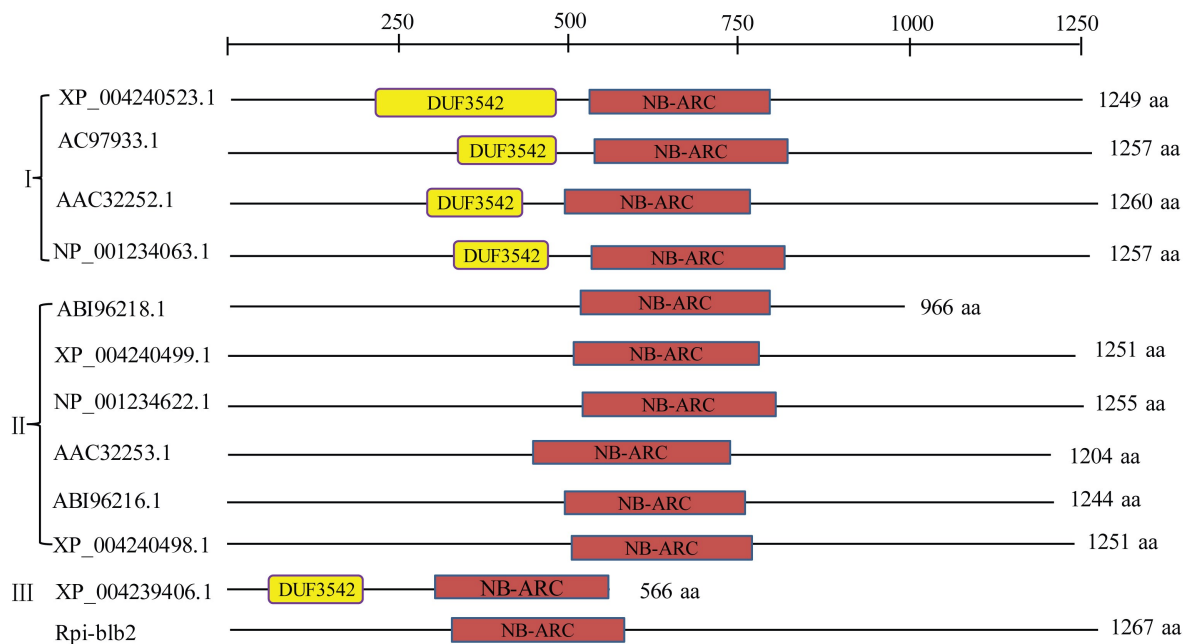


图 2 番茄 SLy-Rpi-blb2 蛋白家族成员结构域

Fig. 2 Conserved domain for tomato SLy-Rpi-blb2 protein family

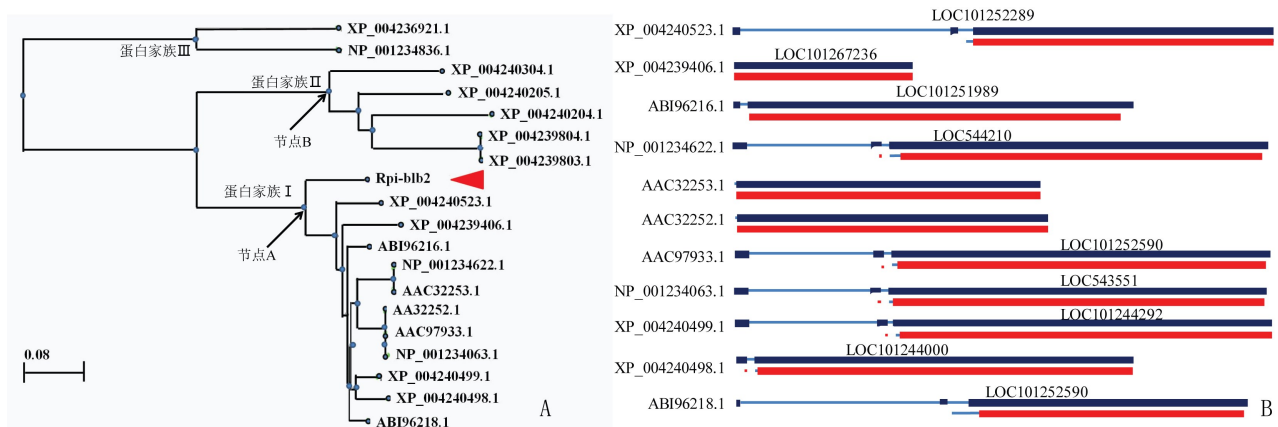


图 3 番茄 SLy-Rpi-blb2 的系统进化树 (A) 及 SLy-Rpi-blb2 家族成员基因结构 (B) 基因结构图中, 上部粗线段表示 mRNA 序列, 细线段表示基因组中内含子序列, 下部粗线表示蛋白编码区。

Fig. 3 Phylogenetic tree of tomato SLy-Rpi-blb2 protein family Above blod lines indicate mRNA, slim lines indicate intron in genome, below blod lines indicate coding sequence.

似性较高 (40% 以上) 的同源蛋白构建序列进化树 (图 3) 和亚细胞定位分析 (表 2), 进一步证明番茄 SLy-Rp-Blb2 蛋白家族与野生马铃薯 Rp-blb2 蛋白可能是垂直同源关系, 由共同祖先种通过物种分化形成的。

在 SLy-Rpi-blb2 蛋白家族中, 序列 AAC97933.1 (Mi-1) 及其抗性蛋白同源序列 (NP_001234063.1、

NP_001234622.1、AAC32252.1 和 AAC32253.1) 所在的染色体区段是利用胚胎挽救技术从茄科物种 *Solanum peruvianum* 中渐渗入番茄栽培种中的 (Smith, 1944), 且导入的染色体片段位于番茄 6 号染色体短臂, 而后通过育种实践和长期自然进化, 把渗入的染色体片段断减少到了约 650 kb 的区间, 这一区间的抗性基因和不良性状的紧密连锁导致抗性基因与其它

XP_001234063.1	EKRKDI EEANNSLVLSALS KDIADVLFLE...	NEENOKALDRDQVEKIKLK	AFICTYVQLSYSDFEQFEDI	TRNROEVENLQSLDDDD	91
XP_004240523.1	EKRKDEETNNSLVLSALS KDIADVLFLE...	NEENOKALDRDQVEKIKLK	AFICTYVQLSYSDFEQFEDI	TRKROEVEKLLQPLDDDD	91
XP_004240499.1	EKRKDN EEANNSLVLSALS KDIADVLFLE...	NEENOKALDRDQVEKIKLK	AFICTYVQLSYSDFEQFEDI	TRKROEVENLQSLDDDD	91
Rpi- <i>blb2</i>	EKRKDN EEANNSLVLSALS KDIADVLFLE...	NEENOKALDRDQVEKIKLK	AFICTYVQLSYSDFEQFEDI	TRKROEVENLQPLDDDGKDVGC	100
AA-C97933.1	EKRKDI EEANNSLVLSALS KDIADVLFLE...	NEENOKALDRDQVEKIKLK	AFICTYVQLSYSDFEQFEDI	TRNROEVENLQSLDDDD	91
NP_001234622.1	EKRKDN EEANNSLVLSALS KDIADVLFLE...	NEENOKALDRDQVEKIKLK	AFICTYVQLSYSDFEQFEDI	TRKROEVENLQPLDDDD	91
ABI96218.1	EKRKDN EEANNSLVLSALS KDIADVLFLE...	NEENOKALDRDQVEKIKLK	AFICTYVQLSYSDFEQFEDI	TRKROEVENLQPLDDDD	91
ABI96216.1	EKRKDN EEANNSLVLSALS KDIADVLFLE...	NEENOKALDRDQVEKIKLK	AFICTYVQLSYSDFEQFEDI	TRKROEVENLQPLDDDD	91
XP_004240498.1	EKRKDN EEANNSLVLSALS KDIADVLFLE...	NEENOKALDRDQVEKIKLK	AFICTYVQLSYSDFEQFEDI	TRKROEVENLQPLDDDD	91
AA-C32253.1	AFICTYVQLSYSDFEQFEDI	TRKROEVENLQPLDDDD	40
AA-C32252.1	AFICTYVQLSYSDFEQFEDI	TRKROEVENLQSLDDDD	40
XP_004239406.1	0
XP_001234063.1	KL LDTIFSQVSSDSRLSENIDVADKLRKQLGKRYLIVLDDVETTTDELTRPFPARKGSRILITTRKEVALHGKLTDPFLRLRLRPDES ELLD	688			
XP_004240523.1	KL LNKIFKQVSSDSRLSENIDVADKLRKQLGKRYLIVLDDVETTTDELTRPFPARKGSRILITTRKEVALHGKLTDPFLRLRLRSPDES ELLD	683			
XP_004240499.1	KL LNKIFKQVSSDSRLSENIDVADKLRKQLGKRYLIVLDDVETTTDELTRPFPARKGSRILITTRKEVALHGKLTDPFLRLRLRLRPDES ELLD	682			
Rpi- <i>blb2</i>	KL LDKIFKQVSSDSRLSENIDVADKLRKQLGKRYLIVLDDVETTTDELTRPFPARKGSRILITTRKEVALHGKLTDPFLRLRLRLRSPDES ELLD	698			
AA-C97933.1	KL LDTIFSQVSSDSRLSENIDVADKLRKQLGKRYLIVLDDVETTTDELTRPFPARKGSRILITTRKEVALHGKLTDPFLRLRLRLRPDES ELLD	688			
NP_001234622.1	KL LNTIFSQVSSDSRLSENIDVADKLRKQLGKRYLIVLDDVETTTDELTRPFPARKGSRILITTRKEVALHGKLTDPFLRLRLRLRPDES ELLD	687			
ABI96218.1	KL LDTIFSQVSSDSRLSENIDVADKLRKQLGKRYLIVLDDVETTTDELTRPFPARKGSRILITTRKEVALHGKLTDPFLRLRLRLRSPDES ELLD	683			
ABI96216.1	KL LDTIFSQVSSDSRLSENIDVADKLRKQLGKRYLIVLDDVETTTDELTRPFPARKGSRILITTRKEVALHGKLTDPFLRLRLRLRPDES ELLD	678			
XP_004240498.1	KL LDTIFSQVSSDSRLSENIDVADKLRKQLGKRYLIVLDDVETTTDELTRPFPARKGSRILITTRKEVALHGKLTDPFLRLRLRLRSPDES ELLD	679			
AA-C32253.1	KL LNTIFSQVSSDSRLSENIDVADKLRKQLGKRYLIVLDDVETTTDELTRPFPARKGSRILITTRKEVALHGKLTDPFLRLRLRLRPDES ELLD	636			
AA-C32252.1	KL LDTIFSQVSSDSRLSENIDVADKLRKQLGKRYLIVLDDVETTTDELTRPFPARKGSRILITTRKEVALHGKLTDPFLRLRLRLRPDES ELLD	637			
XP_004239406.1SIRGSSSHLSENIDVADKLRKQLGKRYLIVLDDVETTTDELTRPFPARKGSRILITTRKEVALHGKLTDPFLRLRLRLRPDES ELLD	95			
XP_001234063.1	CSILVLLPRILDLVRLRVISVACSFDDADESILIAKDTKLENLRILGELLISYSKDTNIFKRFPNLQVLFELKESDYSTEQHFPKLDCLTELE	1085			
XP_004240523.1	ESLILLLPRILDLVRLRVISVACSFDDADESILIAEDTKLENLRILGELLISYSKDTNIFKRFPNLQVLFELKESDYSTEQHFPKLDCLTELE	1077			
XP_004240499.1	ESLILLLPRILDLVRLRVIFADACSFDDADESILIAEDTKLENLRILGELLISYSKDTNIFKRFPNLQVLFELKESDYSTEQHFPKLDCLTELE	1079			
Rpi- <i>blb2</i>	ESLILLLPRILDLVRLRVIFFTACSFDDADESILIAEDTKLENLRILGELLISYSKDTNIFKRFPNLQVLFELKESDYSTEQHFPKLDFLTELE	1095			
AA-C97933.1	CSILVLLPRILDLVRLRVISVACSFDDADESILIAKDTKLENLRILGELLISYSKDTNIFKRFPNLQVLFELKESDYSTEQHFPKLDCLTELE	1085			
NP_001234622.1	RSILVLLPRILDLVRLRVISVACSFDDADESILIAEDTKLENLRILTELLISYSKDTNIFKRFPNLQVLFELKESDYSTEQHFSELDLTELE	1083			
ABI96218.1	KSILVLLPRILDLVRLRVISVACSFDDADESILIAEDTKLENLRILGELLISYSKDTNIFKRFPNLQVLFELKESDYSTEQHFPKLDCLTELE	996			
ABI96216.1	ESLILLLPRILDLVRLRVIFVADACSFDDADESILIAEDTKLENLRILVKLLIFYSKDTNIFKRFPNLQVLFELKESDYSTEQHFPKLDCLTELE	1072			
XP_004240498.1	ESLILLLPRILDLVRLRVISVADACSFDDADESILIAEDTKLENLRILGELLIFYSKDTNIFTRFPNLQVLFELKESDYSTEQHFPKLDCLTELE	1079			
AA-C32253.1	RSILVLLPRILDLVRLRVISVADACSFDDADESILIAEDTKLENLRILTELLISYSKDTNIFKRFPNLQVLFELKESDYSTEQHFSELDLTELE	1032			
AA-C32252.1	CSILVLLPRILDLVRLRVISVACSFDDADESILIAKDTKLENLRILGELLISYSKDTNIFKRFPNLQVLFELKESDYSTEQHFPKLDCLTELE	1034			
XP_004239406.1	ESLILLLPRILDLVRLRVIFVADACSFDDADESILIAKDTKLENLRILGELLIFYSKDTNIFKRFPNLQVLFELKESDYSTEQHFPKLDCLTELE	491			
XP_001234063.1	TLCVGFKSSNTNHS SVVTRNRP DFHFPNLRKQLLYDFPLTSDLSLTIARLPNLEELS LYDTIHGEE N GEEDTFENLKFNLRLRLTLTSK EVGEE	1185			
XP_004240523.1	QLSVTFESSNTNHS SVVTRNRP DFHFPNLRKQLLSDFPLTSDLSLTIARLPNLEELS LYDAIHGEE N GEEDTFENLKFNLRLRLTLTSK EVGEE	1177			
XP_004240499.1	ILNNGVFKSSNTNHS SVVTRNRP DFHFPNLRKQLSHDFPLTSDLSLTIARLPNLEELS LYDAIHGEE N GEEDTFENLKFNLRLRLTLTSK EVGEE	1179			
Rpi- <i>blb2</i>	KLTVDFERSNTNDS GSAVTRNRP DFHFPNLRKQLHEFFPLTSDLSLTIARLPNLEELLYRTHGEE N GEEDTFENLKLTLTSK EVGEE	1195			
AA-C97933.1	TLCVGFKSSNTNHS SVVTRNRP DFHFPNLRKQLLYDFPLTSDLSLTIARLPNLEELS LYDTIHGEE N GEEDTFENLKFNLRLRLTLTSK EVGEE	1185			
NP_001234622.1	TLSVGFKSSNTNDS GSVVTRNRP DFHFPNLRKQLLREFPLTSDLSLTIARLPNLEELS LYHTIHGEE N GEEDTFENLKFNLNQVLSK EVGEE	1183			
ABI96218.1	KL SVTFESSNTNHS SVVTRNRP DFHFPNLRKQLLSDFPLTSDLSLTIARLPNLEELS LYDAIHGEE N GEEDTFENLKFNLRLRPTLSN EVGEE	1172			
ABI96216.1	KL SVTFESSNTNHS SVVTRNRP DFHFPNLRKQLLSDFPLTSDLSLTIARLPNLEELS LYDTIHGEE N GEEDTFENLKFNLRLRPTLSK EVGEE	1179			
XP_004240498.1	TLSVGFKSSNTNDS GSVVTRNRP DFHFPNLRKQLLREFPLTSDLSLTIARLPNLEELS LYHTIHGEE N GEEDTFENLKFNLNQVLSK EVGEE	1132			
AA-C32253.1	TLCVGFKSSNTNHS SVVTRNRP DFHFPNLRKQLLYDFPLTSDLSLTIARLPNLEELS LYDTIHGEE N GEEDTFENLKFNLRLRLTLTSK EVGEE	1134			
AA-C32252.1	KL RASFKSSNTNHS SVVTRNRP DFHFPNLRKQLLYDFPLTSDLSLTIARLPNLEELS LYDAIHGEE N GEEDTFENLKFNLRLRLTLTSK EVGEE	566			
XP_001234063.1	SFPNLEKLIKQEGCKLEEIPPSFGDIYSKFIKIVKSP LEDSALKIKRYAED RGGDDLQILGOKNIPLFK	1257			
XP_004240523.1	SFPNLEKLIKQGGCKLEEIPPSFGDIYSKFIKIVKSP LEYSALKIKRYAED RGGDDLQILGOKNIPLFK	1249			
XP_004240499.1	SFPNLEKLIKQGGCKLEEIPPSFGDIYSKFIKIVKSP LEDSALKIKRYAED RGGDDLQILGOKNIPLFK	1251			
Rpi- <i>blb2</i>	SFPNLEKLIKQGGCKLEEIPPSFGDIYSKFIKIVKSP LEDSALKIKRYAED RGGDDLQILGOKNIPLFK	1267			
AA-C97933.1	SFPNLEKLIKQEGCKLEEIPPSFGDIYSKFIKIVKSP LEDSALKIKRYAED RGGDDLQILGOKNIPLFK	1257			
NP_001234622.1	SFPNLEKLIKRGCKLEEIPPSFGDIYSKFIKIVKSP LEDSALKIKRYAED RGGDDLQILGOKNIPLFK	1255			
ABI96218.1	SFPNLEKLIKRGCKLEEIPPSFGDIYSKFIKIVKSP LEDSALKIKRYAED RGGDDLQILGOKNIPLFK	996			
ABI96216.1	SFPNLEKLIKRGCKLEEIPPSFGDIYSKFIKIVKSP LEDSALKIKRYAED RGGDDLQILGOKNIPLFK	1244			
XP_004240498.1	SFPNLEKLIKRGCKLEEIPPSFGDIYSKFIKIVKSP LEDSALKIKRYAED RGGDDLQILGOKNIPLFK	1251			
AA-C32253.1	SFPNLEKLIKRGCKLEEIPPSFGDIYSKFIKIVKSP LEDSALKIKRYAED RGGDDLQILGOKNIPLFK	1204			
AA-C32252.1	SFPNLEKLIKQEGCKLEEIPPSFGDIYSKFIKIVKSP LEDSALKIKRYAED RGGDDLQILGOKNIPLFK	1206			
XP_004239406.1	SFPNLEKLIKQEGCKLEEIPPSFGDIYSKFIKIVKSP LEDSALKIKRYAED RGGDDLQILGOKNIPLFK	566			

图 4 番茄 *Sly*-*Rpi-blb2* 蛋白家族成员序列比对

Fig. 4 Aligned multi-sequence comparison for members of tomato *Sly*-*Rpi-blb2* protein subfamily

品种优良基因重组率严重降低 (Liharska et al, 1996; Kaloshian et al, 1998; Schulte et al, 2006)。但杂交和回交等技术的频繁利用,使渗入了携带 *Mi-1.1* 基因的染色体区段不断发生染色体内部重组、重排以及染色体之间的交换,从而导致现在的抗性番茄品种(携带 *Mi-1.1* 基因区段)在这一区段与不具有 *Mi-1.1* 基因位点的易感根结线虫品种相

应区段不完全一样,这一点已得到证明 (Kuang et al, 2005; Stuart et al, 2007)。因此,番茄 *Sly*-*Rpi-blb2* 蛋白家族中的序列不再是简单的平行同源关系。从系统树(图 3: A, 有根树, 距离长短表示进化速率快慢)的末端节点到共同祖先节点距离来看,番茄 11 条序列的共同祖先序列为图 3 中节点 B 代表的序列,从节点 B 到 11 条末端序列进化中,只有

序列 XP_004240523.1 进化距离最短, 并且没有产生序列分化, 其他 10 条序列到节点 B 之间存在相对复杂的进化过程(存在较多的节点), 因此推测 XP_004240523.1 是番茄中这类蛋白的祖先序列(或最原始序列), 其他序列可能是由该序列进化而来。当然这仅是根据构建的距离进化树推断, 如果改变进化树构建方法或考虑基因结构及相应蛋白序列的保守域特性, 可能会有不同的推断结论。

3.2 番茄 SLy-Rpi-blb2 蛋白在基因组上成簇分布

植物基因组中抗性基因一般具有成簇存在的特点(Hulbert et al, 2001; Cannon et al, 2002), 这类基因编码的蛋白的一个主要功能就是作为检测分子可以侦测到特定病原物和害虫的感染。Van der Vossen et al(2003)研究表明, 在野生马铃薯 *Rpi-blb1* 基因(RGA2-blb)座位两侧分布有 *RGA3-blb*、*RGA1-blb* 和 *RGA4-blb* 同源基因(互为平行同源基因), 这些基因编码的平行同源蛋白的序列相似性很高(70%~81%), 并且 *Rpi-blb1* 基因是祖先基因 *RGA1-blb* 和 *RGA3-blb* 通过重组事件进化而来。已有证据表明(Aaron & Barbara, 2007)抗性基因簇可以通过重组过程中的错配, 产生新的抗性基因序列, 改变抗性特异性(抵抗新的病毒生理小种)或改变抗性基因的表达模式, 而这一特性促进了抗性基因的进化; 另外, 抗性基因成簇分布, 利于这些平行基因之间的序列交流, 从而促进和加速了抗性基因的进化。

在茄科植物不同物种的 6 号染色体短臂区均分布着抗性基因集合, 执行对不同病原菌的抗性(Stuart et al, 2007)。本研究获得的番茄 SLy-Rpi-blb2 蛋白家族共 11 条序列, 10 条成簇分布在 6 号染色体的短臂序列(2 327 335~2 750 696 bp, 总长 624 kb)中, 在染色体上的位置较靠近, 执行不同的抗性功能(表 1)。其中第一簇有 3 条序列, 占 2 个基因位点(图 1, Cluster 1p), 在 *Mi-1B* 基因上游的基因位点 LOC101265033 长度为 3 191 bp, 是一个假定的晚疫病抗性蛋白同源序列, 但不具有编码蛋白功能, 属于假基因; 第二簇有 5 条序列(Cluster 2p), 占 3 个基因位点, 这一簇中, 还分布两个基因位点, 分别是 LOC1012267122 和 LOC101267412, 其相应的蛋白序列均与运输抑制响应蛋白高度相似, 这可能与该簇基因对疾病抗性的响应密切相关。另外 2 条 AAC32252.1 和 AAC32253.1 未能定位到具体的位置, 但这 2 条序列来源于抗根结线虫栽培品种 Motelle, 这一品种中的抗性基因均来源于茄科物种 *So-*

lanum peruvianum 中(Smith, 1944), 这一结论与 Stuart et al(2007)基本一致。

番茄 SLy-Rpi-blb2 蛋白家族中 11 个成员间的序列相似性在 85% 以上, 来自于抗性品种(Motelle 或 VFNT Cherry)的成员有 5 个, 包括 AAC97933.1、NP_001234063.1、NP_001234622.1、AAC32253.1 和 AAC32252.1, 其他 6 个成员来自于易感根结线虫品种(Heinz 1706), 因此部分成员在基因组被定位在相同位置(图 1), 如 NP_001234063.1 和 XP_004240499.1 分享同一基因位点, AAC97933.1、NP_001234622.1 和 ABI96218.1 分享同一基因位点。这些蛋白在番茄抗病反应中的功能目前并不完全清楚。Mi-1 蛋白序列(AAC97933.1)与马铃薯 *Rpi-blb2* 具有 82% 的相似性(van der Vossen et al, 2005), 近来被证明是在 ETR3 蛋白参与下, 通过感知荷尔蒙来介导番茄植株对根结线虫的抗性(Mantelin et al, 2013), 其同源序列 Mi-1.2 被证明具有根结线虫抗性的功能(Nombela et al, 2003), 其他同源蛋白由于没有相应的独立表现型, 因此对其功能的鉴定比较困难(Stuart et al, 2007)。但由于可变剪接产生的较短的抗性蛋白质同源序列, 如本研究中的 ABI96218.1(Mi-1G)编码 996 个氨基酸, 具有完整 N 段区域, 能反向调节 Mi-1.2(Stuart et al, 2007), 从而调节番茄抗病性。定位于 5 号染色体上的蛋白质序列 XP_004239406.1(566 个氨基酸), 与其他 10 条序列相比, 该序列在 N 段和 C 段分别缺失了大约 500 个氨基酸和 100 个氨基酸的片段(图 2 和图 4), 但该序列仍保留了 2 个保守域的序列特征(图 2), 从这一点来看, 该序列与图 2 中第一类序列应归为同一类; 该基因编码区序列是完整的, 这意味着该基因(蛋白)可能具有新的功能, 在后续功能研究中应作为重点研究之一, 然而该基因与其他同源基因的进化关系目前尚不能完全确定。

本研究获得的同源蛋白序列(基因), 大多数功能尚未被鉴定, 因此在后续研究中可以重点鉴定其表达模式和性状表现, 以分析和鉴定其功能, 为番茄抗病分子辅助育种提供理论依据。

参考文献:

- AARON RF, BARBARA JB, 2007. The evolution of resistance genes in multi-protein plant resistance systems [J]. *Curr Opin Genet & Dev*, 17:493-499.
- BELKHADIR Y, SUBRAMANIAM R, DANGL JL, 2004. Plant disease resistance protein signaling: NBS-LRR proteins and their

- partners [J]. *Curr Opin Plant Biol*(4),7:391-399.
- BROUWER DJ, JONES ES, CLAIR DAS, 2004. QTL analysis of quantitative resistance to *Phytophthora infestans* (late blight) in tomato and comparisons with potato [J]. *Genome*,47(3):475-492.
- CANNON SB, ZHU HY, BAUMGARTEN AM, et al, 2002. Diversity, distribution and ancient taxonomic relationships within the TIR and non-TIR NBS-LRR resistance gene subfamilies [J]. *J Mol Evol*,54(4):548-562.
- Chunwongse J, Chunwongse C, Black L, et al, 1998. Molecular mapping of the *Ph-3* gene for late blight resistance in tomato [J]. *J Hort Sci Biotechnol*,77(3):281-286.
- DAAYF F, PLATT HW, 2012. Changes in metalaxyl resistance among glucose phosphate isomerase genotypes of *Phytophthora infestans* in Canada during 1997 and 1998 [J]. *Am J Potato Res*,77(5):311-318.
- HULBERT SH, WEBB CA, SMITH SM, et al, 2001. Resistance gene: complexes: evolution and utilization [J]. *Ann Rev Phytopathol*,39:285-312.
- JIA ZQ, CUI YH, LI Y, et al, 2009. Expression the potato late blight resistant gene *R3a*, *R1* and *RB* in tomato [J]. *Acta Hort Sin*,36(8):1153-1160. [贾芝琪, 崔艳红, 李颖, 等, 2009. 马铃薯抗晚疫病基因 *R3a*, *R1* 和 *RB* 在番茄中的表达 [J]. *园艺学报*,36(8):1153-1160.]
- KAMOUN S, 2001. Non-host resistance to *Phytophthora*: novel prospects for a classical problem [J]. *Curr Opin Plant Biol*,4(4):295-300.
- KOLE C, ASHRAFI H, LIN G, et al, 2006. Identification and molecular mapping of a new R gene, *Ph-4*, conferring resistance to late blight in tomato [C]. *Solanaceae Conf*, Univ of Wisconsin, Madison, Abstr44.
- KALOSHIAN I, YAGHOUBI J, LIHARSKA T, et al, 1998. Genetic and physical localization of the root-knot nematode resistance locus *Mi* in tomato [J]. *Mol Gen Genet*,257(3):376-385.
- KUANG H, WEI F, MARANO MR, et al, 2005. The *R1* resistance gene cluster contains three groups of independently evolving, type *R1* homologues and shows substantial structural variation among haplotypes of *Solanum demissum* [J]. *Plant J*,44(1):37-51.
- LEIPE DD, KOONIN EV, ARAVIND L, 2004. STAND, a class of P-loop NTPases including animal and plant regulators of programmed cell death; multiple, complex domain architectures, unusual phyletic patterns, and evolution by horizontal gene transfer [J]. *J Mol Biol*,343(1):1-28.
- LIHARSKA TB, KOORNNEEF M, VAN WORDRAGEN M, et al, 1996. Tomato chromosome 6; effect of alien chromosomal segments on recombinant frequencies [J]. *Genome*,39(3):485-491.
- MANTELIN S, BHATTARAI KK, JHAVERI TZ, et al, 2013. *Mi-1*-mediated resistance to *Meloidogyne incognita* in tomato may not rely on ethylene but hormone perception through *ETR3* participates in limiting nematode infection in a susceptible host [J]. *PLoS ONE*,8(5):63281.
- MOREAU P, THOQUET P, OLIVER J, et al, 1998. Genetic mapping of *Ph-2*, a single locus controlling partial resistance to *Phytophthora infestans* in tomato [J]. *Mol Plant Micro Interact*,11(4):259-269.
- NOMBELA G, WILLIAMSON VM, MUNIZ M, 2003. The root-knot nematode resistance gene *Mi-1.2* of tomato is responsible for resistance against Whitefly *Bemisia tabaci* [J]. *Mol Plant Micro Interact*,16(7):645-649.
- SMITH PG, 1944. Embryo culture of a tomato species hybrid. *Proc Am Soc Hort Sci*,44:413-416.
- SCHULTE D, CAI DG, KLEINE M, et al, 2006. A complete physical map of a wild beet (*Beta procumbens*) translocation in sugar beet [J]. *Mol Gen Genom*,275(5):504-511.
- ZHANG C, LIU L, ZHENG Z, et al, 2013. Fine mapping of the *Ph-3* gene conferring resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in tomato [J]. *Theor Appl Gene*,126(10):2643-53.
- ZHOU JH, 2008. Advancement of late blight resistance genes in potato [J]. *Biotechnol Bull*,5:13-17. [周军会, 2008. 马铃薯晚疫病抗病基因研究进展 [J]. *生物技术通报*,5:13-17.]
- STUART S, ADAM C, TELLEEN, et al, 2007. Introgressed and endogenous *Mi-1* gene clusters in tomato diver by complex rearrangements in flanking sequences and show sequence exchange and diversifying selection among homologue [J]. *Theor Appl Genet*,114(7):1289-1302.
- VAN DER VOSSEN EA, GROS J, SIKKEMA A, et al, 2005. The *Rpi-bbb2* gene from *Solanum bulbocastanum* is an *Mi-1* gene homolog conferring broad-spectrum late blight resistance in potato [J]. *Plant J*,44(2):208-222.
- VAN DER BIEZEN EA, JONES JD, 1998. The NB-ARC domain: a novel signaling motif shared by plant resistance gene products and regulators of cell death in animals [J]. *Curr Biol*,8(7):226-228.
- VAN DER VOSSEN EA, SIKKEMA A, HEKKERT B, et al, 2003. An ancient R gene from the wild potato species *Solanum bulbocastanum* confers broad-spectrum resistance to *Phytophthora infestans* in cultivated potato and tomato [J]. *Plant J*,36(6):867-882.
- ZHAO TM, ZHOU CY, YU WG, et al, 2006. Research progress on tomato late blight and resistance breeding [J]. *Jiangsu J Agric Sci*,4(2):175-180. [赵统敏, 邹茶英, 余文贵, 等, 2006. 番茄晚疫病及其抗病育种研究 [J]. *江苏农业学报*,4(2):175-180.]

(上接第 448 页 Continue from page 448)

- ZHANG ZL, ZHOU TC, HE M, et al, 2000. Guizhou *Handeliidendron* community survey [J]. *Guizhou Sci*,18(4):288-293. [张著林, 邹天才, 何梅, 等, 2000. 贵州掌叶木群落调查 [J]. *贵州科学*,18(4):288-293.]
- ZHANG ZL, LIN CH, 2006. Study on the introduction and preservation of *Handeliidendron bodinier* (levl.) rehd wei in allopatry [J]. *Guizhou Sci*,24(4):45-48. [张著林, 林昌虎, 2006. 掌叶

- 木异地引种保护研究 [J]. *贵州科学*,24(4):45-48.]
- ZHANG HJ, LU GL, GUAN YJ, 1991. Mechanical relationship leaves and seeds of inhibitory substances and seed germination (Brief) [P]. *Plant Physiol Comm*,27(4):281-283. [张化疆, 路广利, 关玉杰, 1991. 叶械种子中的抑制物质及其与种子萌发的关系(简报) [P]. *植物生理学通讯*,27(4):281-283.]