

利用比较基因组学定位马铃薯抗晚疫病主效基因 *R10*

徐建飞¹, 王加加², 李颖¹, 金黎平¹, JACOBSEN Evert³, 黄三文¹, 屈冬玉¹

1. 中国农业科学院蔬菜花卉研究所中-荷联合园艺作物基因组分析国际开放实验室, 农业蔬菜遗传与生理重点开放实验室, 北京 100081
2. 东北农业大学农学院, 哈尔滨 150030
3. 瓦赫宁根大学与研究中心植物育种系, 瓦赫宁根 6700AJ, 荷兰

[摘要] 晚疫病是马铃薯第一大病害。马铃薯抗晚疫病基因 *R10* 抗谱广、应用价值大, 常用于马铃薯抗病杂交育种。*R10* 位点位于马铃薯 11 号染色体的短臂末端, 与已克隆的抗晚疫病基因 *R3a* 同属于抗晚疫病主效位点的单倍型。对包含 195 个基因型的 *R10* 基因的分离群体进行了晚疫病菌株接种和遗传分析, 确定 *R10* 为抗晚疫病菌株 89148-9 的主效单基因。应用比较基因组学和 BSA 分析, 开发了 6 个与 *R10* 连锁的分子标记, 并将 *R10* 定位在 1001T 和 C2_At5g59960 两个遗传距离为 2.6 cM 分子标记之间。*R10* 位于已克隆的抗晚疫病基因 *R3a* 的近端粒区。本研究获得的遗传图谱为通过图位克隆和比较基因组学克隆 *R10* 基因打下基础。

[关键词] 马铃薯; 晚疫病; *R10*; 遗传定位

[中图分类号] S532, Q781

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-7857(2007)17-0030-06

Genetic Mapping of the *R10* Gene for Resisting Late Blight in Potato by Comparative Genomics

XU Jianfei¹, WANG Jiajia², LI Ying¹, JIN Liping¹, JACOBSEN Evert³, HUANG Sanwen¹, QU Dongyu¹

1. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Sino-Dutch Joint Lab of Horticultural Genomics Technology, The Open Lab of Vegetable Genetics and Physiology of MOA, Beijing 100081, China
2. Academy of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China
3. Lab of Plant Breeding, Wageningen University and Research Centre, PO Box 386, 6700AJ Wageningen, the Netherlands

Abstract: Late blight caused by *Phytophthora infestans* is the most destructive disease for potato. The *R10* gene for resisting potato late blight has a broad resistance spectrum and is widely used in breeding programs. *R10*, like *R3a* cloned, is a member of major late blight resistance complex and locates on the short arm of chromosome 11. A segregating population of 195 genotypes is inoculated and analyzed. A single dominant gene is identified in the *R10* differential where the *P. infestans* isolate 89148-9 is avirulent. Six markers linked to *R10* are developed using a combined strategy of comparative genomics and bulked segregant analysis. *R10* resides between the two PCR markers 1001T and C2_At5g59960 that define a genetic interval of 2.6 cM, telomeric to the cloned *R3a* gene. The genetic map obtained may be used for molecular isolation of the *R10* gene via positional cloning and comparative genomics.

Key Words: potato; late blight; *R10*; genetic mapping

CLC Numbers: S532, Q781

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2007)17-0030-06

收稿日期: 2007-07-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(30671319), 中-荷联合园艺作物基因组分析国际开放实验室运行项目(1251601001), 国家重点基础研究发展计划项目(973 计划, 2006cb101907), 中荷科学战略联盟项目(2004CB720405)

作者简介: 徐建飞, 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 博士研究生, 研究方向为马铃薯功能基因组学; E-mail: xujianfei1026@126.com
黄三文(通讯作者), 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 研究员, 研究方向为马铃薯功能基因组学; E-mail: huangsanwen@caas.net.cn

0 引言

马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 是世界上仅次于水稻、小麦和玉米的第四大粮食作物, 马铃薯产业的不断发展, 将对缓解我国粮食安全压力起到重要作用^[1]。由致病疫霉菌 (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary.) 引起的晚疫病是世界范围内马铃薯最具毁灭性的病害, 每年造成数十亿美元的损失^[2], 我国每年因晚疫病造成的减产损失亦超过 10 亿美元^[3]。

晚疫病的进化潜力高、抗病育种难度大, 单个抗病基因很容易被病菌克服。通过基因工程人为地创造田间抗病基因的多态性是目前防控晚疫病很有希望的策略^[4]。近年来, 马铃薯抗晚疫病基因克隆已经取得很快的进展, 已有来源于野生种 *S. demissum* 的 *R1* 和 *R3a*, 以及来源于 *S. bulbocastanum* 的 *RB/Rpi-blb1* 和 *Rpi-blb2* 被克隆^[5-8]。研究发现, 在马铃薯第 11 号染色体长臂末端存在一个抗晚疫病主效位点 (Major Late Blight resistance complex, *MLB*)^[9], 从野生种 *S. demissum* 导入的 11 个抗晚疫病主效基因中有 8 个 (*R3*, *R5-11*) 来自于该位点。在 *MLB* 的单倍型中, 只有 *R3* 和 *R10* 被广泛地用于抗病育种。*R10* 抗病性较弱, 但抗谱较广, 是具有水平抗性的质量基因^[10]。*R10* 基因的克隆对研究植物-晚疫病病菌作用机理和抗晚疫病分子育种具有重要意义。

比较基因组学研究跨生物学分类的基因组结构和功能的相似性和差异, 是把模式生物相关知识应用到研究较少的生物的强有力工具, 有助于基因的快速定位和克隆。研究发现, 在茄科植物番茄、马铃薯和辣椒中有许多共同的 *R* 基因簇 (包括抗性 *QTLs*), 表明在物种形成过程中 *R* 基因在染色体上的位置在很大程度上是相当保守的^[11]。番茄是植物研究中的一种模式作物, 已经构建了高密度的遗传图谱 (详见 <http://www.sgn.cornell.edu>), 为我们利用比较基因组学研究马铃薯的相关性状提供了理论基础和信息资源。到目前为止, 对照基因组已经导致了两个抗晚疫病基因的克隆, 一个基因是源于 *R3* 复合位点的 *R3a*, 它与番茄抗根腐病基因 *I2* 具有序列相似性 (orthologous) 关系^[6]; 另一个基因是 *Rpi-blb2*, 它与番茄中抗根结线虫的 *Mi* 基因存在共线关系^[8]。

在本研究中, 利用马铃薯 *MLB* 的 *R3* 单倍型和番茄同源区域的分子标记, 结合分离群体分组分析法 (Bulked Segregant Analysis, BSA), 构建了马铃薯抗晚疫病主效基因 *R10* 的遗传图谱, 并将其定位在 2.6 cM 的遗传区间内。

1 材料与方法

1.1 植物材料

鉴别寄主 3681ad1 (MaR10), 含有 *R10* 基因; Katahdin (Kat) 为不含有抗晚疫病主效基因的品种, 二

者均为四倍体, 由中国农业科学院蔬菜花卉研究所马铃薯研究室提供。

作图群体由 MaR10 和 Kat 杂交后代构成。MaR10 与 Kat 杂交共获得 200 粒 F1 代杂交种子, 将这些种子播于 MS 培养基上 25℃, 16 h/8 h 光暗培养, 扩繁后移植于营养钵中生长, 共获得包含 195 个单株的分离群体, 用于遗传分析和接种鉴定。

1.2 DNA 提取

采用试管苗叶片, 使用 CTAB 法^[12], 结合高通量的 Retsch 细胞破碎仪 (Retsch Inc., Haan, Germany) 和 96 孔 COSTAR 深孔板 (Corning Inc., New York) 进行 DNA 快速提取。提取的 DNA 溶于 TE 中, 于 -20℃ 保存。

1.3 晚疫病菌株及抗性鉴定

用于杂交亲本和分离群体接种的晚疫病菌株为 89148-9, 0 号小种, 由荷兰 Wageningen University 的 F. Govers 博士提供。晚疫病菌株于液氮保存, 待接种时于黑麦培养基上活化。活化的菌株在霉菌培养箱 16℃ 黑暗培养 7~14 d, 待菌丝长满培养皿时加适量无菌水于 4℃ 诱导游动孢子 3~6 h, 利用血球计数器统计游动孢子数量并稀释到接种浓度, 准备接种。

抗性鉴定采取离体叶片接种法^[13]。接种的游动孢子浓度为 5×10^4 spores/mL, 在叶片背面叶脉两侧各接种 1 滴, 每滴 10 μ L。接种的叶片插于岩棉上, 置于接种盒, 密闭保湿。将接种盒放于人工气候箱, 16℃, 16 h/8 h 光暗诱导发病。接种 6 d 后统计发病情况。

抗性分级采用 van der Lee 等方法^[14], 从最明显感病的孢子化病斑到最明显抗病的原位坏死的病情指数分别记为 1~5 级。

1.4 BSA 方法

使用 BSA (Bulked Segregant Analysis) 方法, 根据 MaR10×Kat 杂交后代的接种结果构建了两个池: 抗池 (Resistant Bulk, RB) 和感池 (Susceptible Bulk, SB)。抗池由表现最明显过敏反应 (Hypersensitive Response, HR)、病情指数为 5 级的 20 个单株组成; 感池由表现最明显孢子化病斑 (Sporulating lesion, S)、病情指数为 1 级的 20 个单株组成。两池的 DNA 样品均由各单株 DNA 等量混合组成。

1.5 标记来源和反应条件

PCR 标记引物序列 (表 1) 来源于番茄 11 号染色体遗传图谱上的 COS II 标记 (详见 <http://www.sgn.cornell.edu>), 马铃薯 *R3a/R3b* 遗传图谱^[15]和 *MLB* 区域物理图谱 (Kuang Hanhui 等, 私人通讯) 上的标记。对这些引物的 PCR 扩增产物进行限制性内切酶酶切筛选, 进而形成 CAPS (Cleaved Amplified Polymorphism Sequence) 标记。20 μ L PCR 反应体系为: 模板 DNA 20 ng, 每条引物 5 pmole, 每种 dNTP 成分 0.2 mM, Taq polymerase 1U。35 个循环 PCR 反应程序如下: 94℃ 变性 30 s, T_m 退

火 30 s, 72℃延伸 45 s。第一个循环之前 94℃预变性 5 min, 最后 72℃附加延伸 7 min。扩增反应在 9700 PCR (Applied Biosystem 公司) 仪上进行。PCR 产物用相应的限制性内切酶消化, 酶切结果用琼脂糖凝胶电泳检测。

AFLP 分析^[16], 对 EcoRI/MseI 引物组合进行筛选, 选扩产物在 LI-COR DNA 测序仪 (Lincoln Nebraska 公司) 上进行聚丙烯酰胺胶电泳检测。

2 结果分析

2.1 *R10* 是一个主效单基因

根据 Flor“基因对基因”学说^[17], 每一个抗性基因 (*R* gene) 都对应于一个无毒基因 (*Avr* gene), 当二者同时存在时即诱发抗病的 HR 反应。本文用于杂交后代接种的晚疫病菌株 89148-9, 为 0 号小种, 含有无毒基因 *Avr1-11*。只要植物含有抗性基因 *R1-R11* 中任何一个基因, 该菌株就会与其发生非亲和互作即 HR 反应。相反, 如果植物不含有 *R1-R11* 中任何一个基因, 该菌株就会与其发生亲和互作即感病反应。

对杂交亲本及其后代进行 89148-9 菌株接种, 结果表明, MaR10 表现 HR 反应, Kat 表现 S 反应, 杂交后代出现明显的抗感分离, 例如 JF2006-487 和 JF2006-548 植株, 见图 1。在接种的 195 株材料中, 有 92 株表现 HR 反应 (病情指数 5), 100 株表现孢子化病斑 (病情指数 1), 病情指数为 2, 3 和 4 的植株分别只有 1 株 (图 2), 病情指数 1 和 5 的植株数比例基本符合孟德尔的 1:1 分离比 ($\chi^2=0.26, p \geq 0.5$)。分离群体出现明显的抗感两极分化, 表明 *R10* 是一个主效基因, 而抗感病植株数目符合 1:1 比例, 说明 *R10* 又是一个单克隆基因 ($R_{10}r_{10}r_{10}r_{10}$)。

2.2 *R10* 分子标记开发

R3 和 *R10* 互称为单倍型, 遗传位置相近, 所以对 *R3* 区域上的分子标记进行了分析, 结果表明, cLET5E4 和 GP250 标记在亲本和抗感池中呈现多态性, 与 *R10* 连锁。*R3* 和 *R10* 所在的 ML B 区域部分物理图谱已经

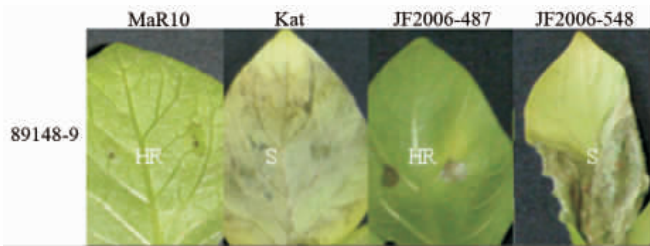


图 1 杂交亲本以及后代植株对晚疫病菌株接种反应
注: MaR10 对 89148-9 菌株表现过敏反应 (HR), Kat 对该菌株表现感病反应 (S); 其杂交后代出现明显的抗感分离, 例如 JF2006-487 和 JF2006-548 植株
Fig. 1 Phenotype of differential resistance reaction to *P. infestans* isolate 89148-9 on hybridization parents and their progeny

Notes: MaR10 is resistant (HR) to this isolates, and Kat is susceptible as shown by sporulating lesion (S). Obvious resistance segregation to the isolate was showed in their progeny, such as JF2006-487 and JF2006-548

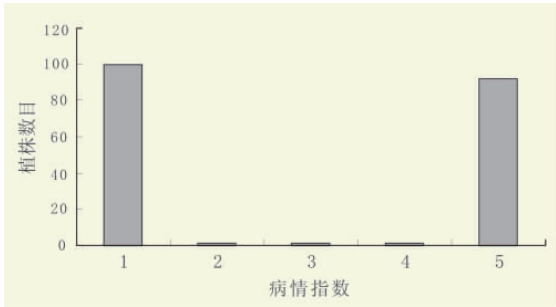


图 2 *R10* 群体的 195 株植株的晚疫病菌株接种的病情指数 (两次重复的平均数), 病情指数为 1 级 (感病) 到 5 级 (抗病)
Fig. 2 Light scores (mean of replicates) for 195 clones in *R10* population on 1 (susceptible) to 5 (resistant) scales

构建, 对其上的标记进行 PCR 扩增和限制性内切酶筛选, 开发了与 *R10* 连锁的 1001T 标记。马铃薯 11 号染色体短臂末端区域与番茄 11 号染色体长臂末端区域具有很高的共线性^[18], 根据番茄遗传图谱上已公布的引物序列和遗传位置, 利用 PCR 扩增和限制性内切酶筛选开发了 C2_At5g59960 标记, 见图 3。

表 1 本文涉及的 PCR 标记
Table 1 PCR markers used in this paper

标记	引物 (5'-3')	Tm/℃	片段大小/bp	限制性酶
cLET5E4	CCAGGCATGCTCAATTGGAGT TTCCCTGTTTGGACTACTTGTGGA	55	310	<i>HhaI</i>
GP250	ACCAGTAGGACCACCACCAACAAT GATCGTGACGGCTCTACTCTTTTATGA	60-52 (Touchdown)	410	<i>VspI</i>
1001T	GAGCTTTCTCAGCAGCCTTT TGCTGATGCTGTCCTTGAAC	57	300	<i>MseI</i>
C2_At5g59960	TCCGATACTCATCAGCTCTTGTTT ACGCCTTGTGTTTGTGATGTC	57	750	<i>Tsp509I</i>

对杂交亲本和抗感池进行 112 对 EcoRI/MseI 引物组合筛选, 开发了 EATCMCAC-269.9 和 EATCMCCC-212 两个 AFLP 标记。

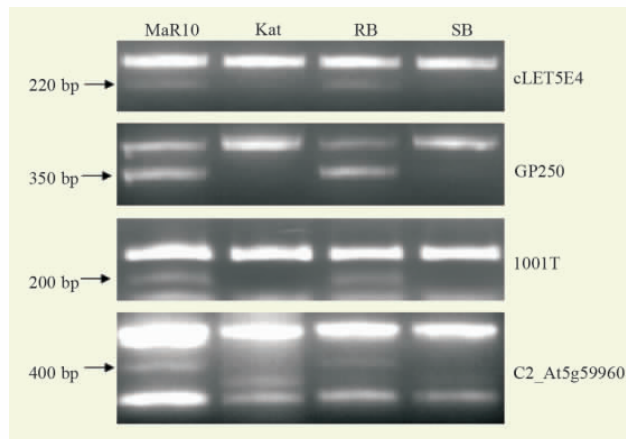


图 3 利用 BSA 方法开发的 *R10* 标记——cLET5E4 (*HhaI*), C2_At5g59960 (*Tsp509I*), GP250 (*VspI*) 和 1001T (*MseI*)
注: 左侧标记为多态性条带大小

Fig. 3 cLET5E4 (*HhaI*), C2_At5g59960 (*Tsp509I*), GP250 (*VspI*) and 1001T (*MseI*) markers of *R10* developed by BSA

Note: The size of polymorphic bands are indicated on the left

2.3 筛选 *R10* 区域的重合体

定位 *R10*, 首先需要找到其两侧的分子标记, 并利用两侧标记来筛选 *R10* 区域的重合体。根据开发的分子标记在马铃薯和番茄 11 号染色体末端的相对顺序以及部分杂交后代的检测, 确定了 cLET5E4-C2_At5g59960 区间覆盖了 *R10* 位点, 将其作为筛选 *R10* 位点重组体的两侧标记。用这两个两侧标记筛选了 195 株 MaR10×Kat 的杂交后代, 见图 4, 从中筛选出了在 cLET5E4~C2_At5g59960 区间发生重组的 14 株材料。

2.4 *R10* 的遗传定位

对从 195 株 *R10* 群体鉴定出来的 cLET5E4~C2_At5g59960 区间的 14 株重组材料进行了已有标记

遗传分析, 构建了 *R10* 基因的遗传图谱(图 5A)。在此图谱上共有 4 个 PCR 标记, 2 个 AFLP 标记。 *R10* 被定位在 1001T 和 C2_At5g59960 两个标记之间, 在 195 株材料中有 2 株材料在 *R10* 与 1001T 标记间发生重组, 有 3 株材料在 *R10* 与 C2_At5g59960 标记间发生重组。 *R10* 与上游的、靠近着丝粒端的 1001T 标记遗传距离约为 1.0 cM (centi Morgan), 与下游的、靠近端粒的 C2_At5g59960 标记遗传距离约为 1.6 cM。

2.5 *R10* 和 *R3* 区域及番茄 I2 区域的比较

R10 遗传图谱中, cLET5E4-EATCMCAC_269.9-GP250 标记的相对顺序与 *R3* 遗传图谱是一致的^[15](图 5), *R3a* 在 GP250 上游, *R10* 在 GP250 下游, 由此可确定 *R10* 位于 *R3a* 近端粒区域。马铃薯 11 号染色体短臂上 *R10* 位点和番茄 11 号染色体长臂 I2 位点都具有 cLET5E4 和 C2_At5g59960 标记, 但比较二者的遗传距离, 马铃薯较番茄小。番茄遗传图谱中, 在 cLET5E4 和 C2_At5g59960 标记区间内已标定很多标记, 利用这种标记共线性可以开发出距离 *R10* 更近的分子标记。

3 讨论

3.1 比较基因组学在茄科中的应用

随着各种模式生物的基因组测序的完成, 比较基因组学将在研究模式生物相关物种的基因组结构和功能中扮演越来越重要的角色。通过茄科植物的比较作图可以快速鉴定与相关属已知基因类似的基因, 这种方法的成功一方面取决于 *R* 基因位点跨分类学的保守性, 另一方面取决于这些位点的等位基因对同一病原或相关病原具有相似的功能^[11]。然而, 一些 *R* 基因的序列微小改变有时就能引起对不同类的病原的识别, 如马铃薯的 *R3a* 与番茄的 I2 编码区具有 88% DNA 序列一致性和 83% 氨基酸序列相似性, 而 *R3a* 是抗马铃薯晚疫病 (*P. infestans*), I2 却是抗番茄根腐病 (*Fusarium oxysporum* f sp *lycopersici*)^[6]。马铃薯的 *Rpi-blb2* 和番茄的 *Mi-1* 的编码区具有 89.7% DNA 序列一致性和

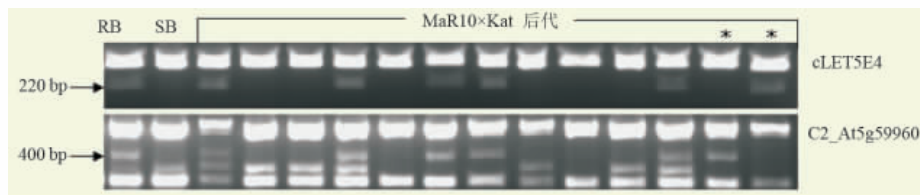
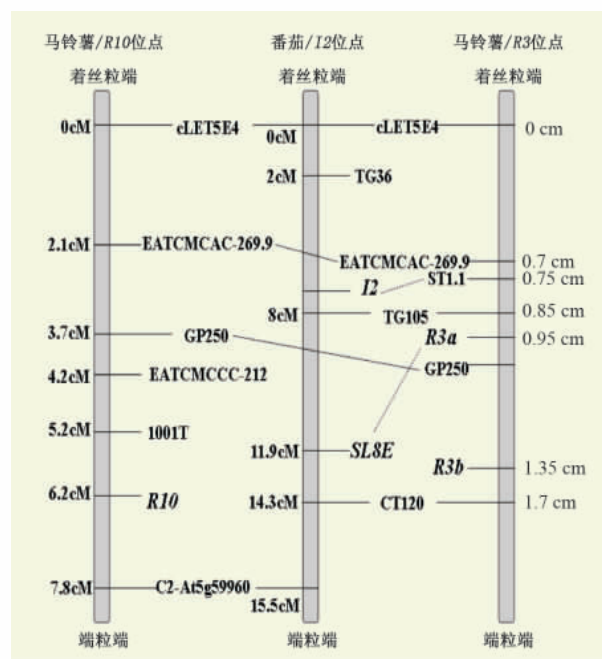


图 4 利用两侧标记 cLET5E4 (*HhaI*) 和 C2_At5g59960 (*Tsp509I*) 筛选 *R10* 位点的重组单株
注: 左侧标出的是特异性条带的大小, 在 MaR10×Kat 后代中, 大多数单株的 cLET5E4 的 220 bp 条带和 C2_At5g59960 的 400 bp 条带是连锁的, 如果缺失其中任何一个条带, 该单株即是重组体; 右侧泳道 (*) 为重组体的两种样式

Fig. 4 Screening for recombination events near the *R10* locus in the MaR10×Kat progenies with two flanking markers, cLET5E4 (*HhaI*) and C2_At5g59960 (*Tsp509I*)

Notes: The sizes of the diagnostic bands are indicated on the left. The presence of the 220 bp of cLET5E4 is associated with presence of the 400 bp band of 960 in all progeny, except in the recombinants. The right lane (*) shows two recombinant patterns

(a) *R10* 遗传图谱 (b) *I2* 遗传图谱 (c) *R3* 遗传图谱(a) Genetic map of *R10* (b) Genetic map of *I2* (c) Genetic map of *R3*图 5 *R10* 遗传图谱及其与 *R3* 和 *I2* 遗传图谱的比较

注:定位的标记或基因用黑色实线相连,其中斜黑色实线表示 *R10* 遗传图谱和 *R3* 遗传图谱的标记对应关系;虚线分别表明 *SL8E* 和 *R3a*, *I2* 和 *St1.1* 的对应关系;马铃薯 *R3* 遗传图谱和番茄 *I2* 遗传图谱参照 Huang 等(2004)

Fig. 5 Genetic map of *R10* and the syntenies among *R10* locus, *R3* locus and *I2* locus

Notes: Mapped markers or genes are connected by black lines and the inclining line showed the syntenies between genetic map of *R10* and *R3*.

The dotted line indicated the putative relation between *SL8E* and *R3a*, *I2* and *ST1.1*, respectively. Genetic map of *R3* and *I2* were according to Huang et al.(2004)

82%氨基酸序列相似性,而 *Rpi-blb2* 是抗马铃薯晚疫病, *Mi-1* 却是抗番茄根结线虫(*Meloidogyne* spp.)^[8]。所以,利用比较基因组学克隆新的抗性基因,只需注意抗性位点的共线性,而不需要抗性位点所抗病原的一致性。

本文利用番茄 11 号染色体末端的 C2_At5g59960 标记和马铃薯抗晚疫病基因 *R3a/R3b* 的相关标记定位了 *R10*,能够为比较基因组学在茄科中的应用提供新的实践。随着正在进行的马铃薯和番茄基因组测序项目的完成,必将推动茄科内其他属种植物研究的进展。

3.2 马铃薯抗晚疫病主效基因的组成

在马铃薯抗晚疫病育种中,人们首先关注六倍体野生种 *Solanum demissum* 的抗晚疫病特性,从中鉴定出了 11 个主效基因(*R1~R11*),并把它们通过杂交转移到四倍体栽培种中^[19]。在这 11 个主效基因中,*R1* 被定位在马铃薯 12 条染色体中的第 5 号染色体^[20]; *R2* 被定位到第 4 号染色体^[21]; *R3*, *R6* 和 *R7* 被定位到第 11 号染色体上的一个复合抗病位点^[22]; *R5*, *R8* 和 *R10* 被认为是与 *R3* 具有等位样式^[6]。在这些主效基因中, *R1* 和 *R3a* 已经被克隆^[5-6]。有意思的是,在克隆 *R3* 的过程中,通过不同菌株接种鉴定和标记分析,发现 *R3* 是由 2 个基因 *R3a* 和 *R3b* 组成的,表明传统上认为的抗晚疫

病主效基因可能并不是由一个基因组成的。

Bradshaw 等^[23]在研究 *R10* 的过程中发现,在 *R10* 的分离群体中,抗感病比率是呈连续正态分布的,由此得出结论, *R10* 可能是一个 QTL。他们在进行分离群体接种时使用的菌株为 99/23 (小种 1,2,3,4,6,7), 本实验进行接种的菌株为 89148-9 (小种 0)。即,99/23 菌株包含了 89148-9 的小种。如果使用含不同小种的多个菌株接种,就可能发现 *R10* 是由不同基因组成的。在自然界中,含有复合小种的晚疫病菌株占大多数,如果 *R10* 是由多个对单个小种具有抗性的主效基因组成,那么用复合小种对 *R10* 群体侵染时, *R10* 整体上可能表现为 QTL,这也可能是 *R10* 在自然界中抗性较弱但抗谱较广的原因。

4 结论

本实验对 MaR10×Kat 的杂交后代进行了晚疫病菌株 89148-9 的接种,将 *R10* 定位在 1001T 和 C2_At5g59960 两个遗传距离为 2.6 cM 分子标记之间。由于接种的菌株只有 1 个,这样定位的基因可能是组成 *R10* 基因中的一个对 89148-9 有抗性的主效基因,用其他晚疫病菌株进行接种和遗传分析正在进行中。

致谢：感谢中国农业科学院马铃薯研究室提供的植物材料和张家口市农业科学院马铃薯研究所同行对田间杂交所提供的便利条件。

参考文献 (References)

- [1] 屈冬玉, 谢开云, 金黎平, 等. 中国马铃薯产业发展与粮食安全[J]. 中国农业科学, 2005, 38: 358–362.
QU Dongyu, XIE Kaiyun, JIN Liping, *et al.* Development of potato industry and food security in China[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38: 358–362.
- [2] KAMOUN S. Nonhost resistance to *Phytophthora*: novel prospects for a classical problem [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2001, 4: 295–300.
- [3] 宋伯符, 谢开云. CIP 的全球晚疫病防治倡议与我国的参与[J]. 马铃薯杂志, 1997, 11: 51–55.
SONG Bofu, XIE Kaiyun. Global initiative on late blight of CIP and participation of China[J]. Chinese Potato Journal, 1997, 11: 51–55.
- [4] 徐建飞, 辛翠花, 黄三文. 利用田间抗病基因近等混合系防治马铃薯晚疫病[J]. 中国农业科技导报, 2006, 8(4): 8–13.
XU Jianfei, XIN Cuihua, HUANG Sanwen. Potato late blight control using *R*-gene polyture [J]. Review of China Agricultural Science and Technology, 2006, 8(4): 8–13.
- [5] BALLVORA A, ERCOLANO M R, WEIB J, *et al.* The *R1* gene for potato resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) belongs to the leucine zipper/NBS/LRR class of plant resistance genes [J]. The Plant Journal, 2002, 30: 361–371.
- [6] HUANG S, van der VOSSEN E A G, KUANG H, *et al.* Comparative genomics enabled the cloning of the *R3a* late blight resistance gene in potato[J]. The Plant Journal, 2005, 42: 261–271.
- [7] SONG J, BRADEEN J M, NAESE S K, *et al.* Gene *RB* cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight[J]. Proc Natl Acad Sci, 2003, 100: 9128–9133.
- [8] van der VOSSEN E A G, GROS J, SIKKEMA A, *et al.* The *Rpi-blb2* gene from *Solanum bulbocastanum* is an *Mi-1* gene homolog conferring broad-spectrum late blight resistance in potato[J]. Proc Natl Acad Sci, 2005, 44: 208–222.
- [9] HUANG S. Discovery and characterization of the major late blight resistance complex in potato [D]. Wageningen: Wageningen University, 2005.
- [10] TURKENSTEEN L J. Interaction of *R* genes in breeding for resistance of potatoes against *Phytophthora infestans*. CIP. Planning conference on fungal diseases of the potatoes[C]. Lima: CIP, 1987: 57–73.
- [11] GRUBE R C, RADWANSKI E R, JAHN M. Comparative genetics of disease resistance within the *Solanaceae*[J]. Genetics, 2000, 155: 873–887.
- [12] JONES J R, WALKER R T. Isolation and analysis of the deoxyribonucleic acid of *Mycoplasma mycoides* var. *capri* [J]. Nature, 1963, 198: 588–589.
- [13] VLEESHOUWERS V G, van DOOIJEWERT W, KEIZER L C P, *et al.* A laboratory assay for *Phytophthora infestans* resistance in various *Solanum* species reflects the field situation [J]. European Journal of Plant Pathology, 1999, 105: 241–250.
- [14] van der LEE T, ROBOLD A, TESTA A, *et al.* Mapping of avirulence genes in *Phytophthora infestans* with amplified fragment length polymorphism markers selected by bulked segregant analysis[J]. Genetics, 2001, 157: 949–956.
- [15] HUANG S, VLEESHOUWERS V G., WERIJ J S, *et al.* The *R3* resistance to *Phytophthora infestans* in potato is conferred by two closely linked *R* genes with distinct specificities [J]. Molecular Plant–Microbe Interactions, 2004, 17: 428–435.
- [16] VOS P, HOGERS R, BLEEKER M, *et al.* AFLP: A new technique for DNA fingerprinting[J]. Nucleic Acids Research, 1995, 23: 4407–4414.
- [17] FLOR H H. Current status of the gene-for-gene concept [J]. Annual Review of Phytopathology, 1971, 9: 276–296.
- [18] TANKSLEY S D, GANAL M W, PRINCE J P, *et al.* High density molecular linkage maps of tomato and potato genomes[J]. Genetics, 1992, 132: 1141–1160.
- [19] MALCOLMSON J F, BLACK W. New *R*-genes in *Solanum demissum* Lindl. and their complementary races of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary [J]. Euphytica, 1966, 15: 199–203.
- [20] LEONARDS-SCHIPPERS C, GIEFFERS W, GEBHARDT C, *et al.* The *R1* gene conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* in potato is located on potato chromosome V[J]. Molecular and General Genetics, 1992, 233: 278–283.
- [21] LI X, van ECK H J, van der VOORT J N, *et al.* Autotetraploids and genetic mapping using common AFLP markers: the *R2* allele conferring resistance to *Phytophthora infestans* mapped on potato chromosome 4 [J]. Theory on Application of Genetics, 1998, 96: 1121–1128.
- [22] EL-KHARBOTLY A, PALOMINO-SÁNCHEZ C, SALAMINI F, *et al.* *R6* and *R7* alleles of potato conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary identified genetic loci clustering with the *R3* locus on chromosome XI [J]. Theory on Application of Genetics, 1996, 92: 880–884.
- [23] BRADSHAW J E, BRYAN G. J, LEES A A K, *et al.* Mapping the *R10* and *R11* genes for resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) present in the potato (*Solanum tuberosum*) *R*-gene differentials of Black [J]. Theory on Application of Genetics, 2006, 112: 744–751.

(责任编辑 朱宇)