

几个抗疫病性不同的辣椒材料抗病基因同源序列的分离与比较

易图永^{1,2} 谢丙炎^{1*} 张宝玺¹ 高必达²

(¹ 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081; ² 湖南农业大学植物保护学院, 长沙 410128)

摘 要: 根据已克隆抗病基因的保守序列设计简并引物, 对 9 个不同抗、感疫病的辣椒种质材料基因组 DNA 进行抗病基因同源性序列的特异 PCR 扩增, 经序列测定和同源性分析发现 14 个抗病基因同源性序列 (RGAs) 与辣椒抗疫病作用相关, 其中 B 引物扩增的 8 个 RGAs 与烟草抗花叶病基因 *N*、拟南芥抗丁香假单胞菌基因 *RPS2* 和亚麻抗锈病基因 *L6* 的同源性较高, 属于广谱 (细菌、病毒、真菌) 抗病基因同源序列; C 引物扩增的 6 个 RGAs 与番茄抗叶霉病基因 *Q2* 和 *Q9* 有较高的同源性, 与抗疫病作用密切相关。研究还发现, 高感疫病的辣椒基因组中也存在抗疫病相关 RGAs, 这与已报道的辣椒抗疫病微效 QTLs 位点则来于感病亲本基因组的研究结论一致。

关键词: 辣椒; 辣椒疫病; 抗病基因同源序列

中图分类号: S 641 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2003) 05-0540-05

辣椒疫病是由 *Phytophthora capsici* L. 引起的毁灭性土传病害。不少研究证明, 辣椒基因组中对疫病的抗性是由多基因控制的数量性状, 其转育难度极大, 迄今尚未育成抗疫病的辣椒品种^[1]。通过对辣椒抗病基因的 QTL 定位发现, 辣椒对疫病的抗性受 13 个 QTLs 位点控制, 主效 QTLs 位点的表型效应为 41%~55%, 具有加性作用的中间型 QTLs 位点的表型效应为 17%~28%, 还有一些微效 QTLs 位点^[2]。因此, 研究其抗疫病基因的结构及精确定位, 是阐明抗疫病作用遗传机理的重要基础。

近 10 年来, 利用位点克隆和转座子标定技术从玉米、拟南芥、番茄等 10 余种植物中克隆了一系列抗病基因, 如拟南芥抗霜霉病的 *RPP5* 基因、拟南芥抗番茄丁香假单胞菌的基因 *RPS2*、烟草抗 TMV 的 *N* 基因、亚麻抗锈病的 *L6* 基因、番茄抗细菌性斑点病的 *Pto* 基因、番茄抗叶霉病生理小种 2、9 的基因 *Q2*、*Q9* 等。这些抗病基因虽作用的病原种类有别 (真菌、细菌、病毒、线虫), 但所编码的蛋白质都存在同源序列, 即都含有或部分含有核苷酸结合位点 (NBS)、亮氨酸富集重复序列 (LRR)、丝氨酸/苏氨酸激酶 (STK)、亮氨酸拉链结构 (LZ)、跨膜结构域 (TM)、TIR 白介素-1 区域 (TIR) 等, 这些结构与蛋白质之间的相互作用以及细胞内的信号传导有关^[3]。这些结果揭示, 同源序列可能存在大多数植物抗病基因家族中。在本研究中, 我们探讨了根据已知抗病基因的保守结构域设计简并引物的特异 PCR 反应, 从 9 个不同抗、感疫病的辣椒种质材料基因组 DNA 中扩增出抗疫病相关基因的同源序列, 并分析了这些序列间的同源性关系, 供辣椒抗疫病相关基因克隆与分子标记定位参考。

1 材料与方法

用于扩增抗疫病相关基因同源序列的不同抗感疫病辣椒种质材料共 9 个 (图 1), 均由中国农业科学院蔬菜花卉研究所提供。其中 1、2、3、4 和 9 号是疫病 (*Phytophthora capsici* L.) 的部分抗性材

收稿日期: 2003-02-12; 修回日期: 2003-07-25

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目 (2001AA241121); 农业部“948”引进项目 (201023); 农业部蔬菜遗传与生理重点开放实验室资助项目

*通讯作者 Author for correspondence, E-mail: xieby@mail.caas.net.cn

料, 5、6、7、8 为疫病高感材料。

将新鲜辣椒叶片用液氮快速研磨成粉状后, 用 CATB 法抽提和纯化总 DNA^[4]; 采用 4 对引物通过 PCR 反应从总 DNA 中扩增抗病相关基因同源序列片段。其中所用引物是根据已知抗病基因拟南芥抗霜霉病 *RPP5* 基因与 *RPP8* (引物 A)、烟草抗 TMV 的 *N* 基因、亚麻抗锈病 *L6* 基因和拟南芥抗番茄丁香假单胞细菌 *RPS2* 基因 (引物 B)、番茄抗叶霉病菌 2、9 生理小种 *G2/G9* 基因 (引物 C)、番茄抗细菌性斑点病的 *Pto* 基因 (引物 D) 同源序列两侧的序列设计而成的简并引物, 均由上海 Sangon 生物工程公司合成 (表 1)。PCR 反应体系 (25 μ L) 中包括: 1 \times PCR Buffer, 2 mmol/L $MgCl_2$, 0.2 mmol/L dNTP, 25 pmol Primer, 1 U Taq 酶, 50 ng DNA, 在 MJ 公司生产的热循环仪上进行, 反应条件为: 95 $^{\circ}C$ 3 min, 94 $^{\circ}C$ 1 min, 52 $^{\circ}C$ 1 min, 72 $^{\circ}C$ 1 min, 39 个循环, 最后 72 $^{\circ}C$ 延伸 8 min。不同引物扩增的 DNA 片段大小不同, 其变化范围为 400 ~ 1 000 bp。PCR 扩增产物用 Promega 公司生产的 Wizard PCR Preps kits 进行回收纯化后, 直接克隆到 pGEM-T (Promega) 载体中, 再转化到大肠杆菌 (*E. coli*) JM109 菌株的感受态细胞中, 在含 X-gal、IPTG 和氨苄青霉素的 LB 培养基上筛选重组的克隆子。用碱裂解法提取重组质粒, 再用识别 4 个碱基的限制性内切酶 *Hae* III 在 37 $^{\circ}C$ 消化 4 h 以上, 其产物在 2% 琼脂糖凝胶上电泳, 根据酶切电泳图谱将每引物/材料组合中的质粒分类, 从每类中挑取 1 个代表菌株进行测序。

表 1 PCR 反应的引物序列和配对
Table 1 Sequences of primer used in PCR

引物 Primer		序列 Sequence	参考文献 Reference
名称 Name	大小 Size (bp)		
A 正向 Sense	25	5' GGI CAR GGI GGI ATH GGI AAR ACI A 3'	[5]
反向 Antisense	20	3' CCI CCI RAI GGI RAI GGI RA 5'	
B 正向 Sense	27	5' GGI ATG GGI GGI GIT GGI AAR ACN CAN 3'	[6]
反向 Antisense	20	3' CCW RAI GGI RAI CGI RAI TTY CAI GAI CCI 5'	
C 正向 Sense	23	5' WSI AAY AAR YTI CAY GGI CCI AT 3'	[7]
反向 Antisense	23	3' CCI CTY TAI GGI KCT GTY RAI CG 5'	
D 正向 Sense	20	5' ATG GGA AGC AAG TAT TCC AA 3'	[8]
反向 Antisense	20	3' AGT TTC CAC AGC ACA TCA CC 5'	

*R = A/G, S = G/C, K = T/G, Y = T/C, W = A/T, H = A/T/C, N = A/T/C/G, I = inosine。

序列测定由上海 Sangon 生物工程公司在 ABI3700 型测序仪上进行。将测序的结果去除 pGEM-T 载体的序列, 用 DNAtools (6.0) 软件 (Carlsberg Research Center 软件产品) 分析这些序列的 ORF, 然后通过互联网用 BLAST 软件 (网址: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 对 GenBank 中登记的序列进行同源性比较, 从而推断这些扩增产物是否与已知的抗病基因相关。同时用 DNAMAN (4.0) 软件 (Nynnon Biosoft 软件产品) 分析各序列间的同源性及其与已知抗病基因的关系。

2 结果与分析

2.1 抗病基因同源序列的克隆

以 9 个不同抗感疫病的辣椒种质材料的基因组 DNA 为模板进行 PCR 扩增, 结果 (图 1) 表明, 除引物 A 外, 其余 3 对引物均扩增出了目标 DNA 片段。引物 B 在所有材料中均扩增出与预期一致的大于 500 bp 的强带; 引物 C 在抗疫病 2、3、4 号材料中扩增出一条约为 450 bp 的强带, 在感病的 5、6、8 号材料中则一条约为 450 bp 的弱带, 在 1 号抗疫病材料中未扩增出目标 DNA 片段; 引物 D 在抗疫病 1、3、4 号材料和 6 号感病材料中扩增出大于 500 bp 的强带, 在 2 号抗疫病材料和 7 号感病材料中扩增出大于 500 bp 的弱带, 比预期小 400 bp, 这表明虽然番茄与辣椒同属茄科, 但在 *Pto* 基因结构上有较大的差异, 其原因有待进一步研究。

将特异扩增目的 DNA 片段连接到 pGEM-T 载体上, 转化到大肠杆菌感受态 JM109, 转化效率约 1.5×10^7 / μ g DNA, 重组质粒经蓝白斑筛选、*Hae* III 酶切鉴定证实, 克隆的目的 DNA 片段已连接到 pGEM-T 载体上。

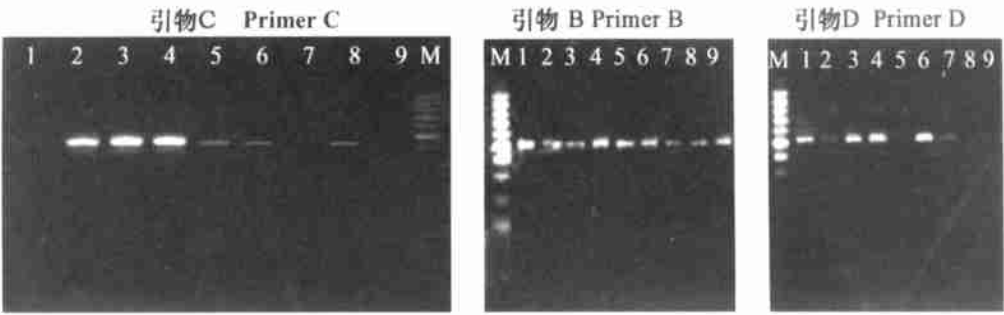


图 1 9 个辣椒材料基因组抗病相关基因同源序的 PCR 扩增

1: 93-100-17-1-0 (辣椒); 2: 93-100-1-1 (辣椒); 3: Perennial (野生辣椒); 4: SCM334 (野生辣椒); 5: 茄门甜椒;
6: 伏地尖辣椒; 7: 灯笼甜椒; 8: ‘Yollo Wonder’ 甜椒; 9: CV98 辣椒。

Fig. 1 PCR amplifications with degenerate primers designed from conserved motifs found in a number of plant resistance genes on 9 different pepper varieties

1: 93-100-17-1-0 (hot pepper); 2: 93-100-1-1 (hot pepper); 3: Perennial (wild hot pepper); 4: SCM334 (wild hot pepper);
5: Jiemen sweet pepper; 6: Fudjian hot pepper; 7: Bell sweet pepper; 8: ‘Yollo Wonder’ sweet pepper; 9: CV98 hot pepper.

2.2 抗病基因同源序列分析与推导 ORF 结构特征

共对 26 个重组质粒进行测序分析，结果有 1 个没有插入连接片段，还有 1 个虽然有连接插入片段，且可以找到所用的引物序列，但大小只有 78 bp。余下的 24 个质粒去除 pGEM-T 载体后，经 CARDNAtools (6.0) 分析发现 5 个序列 (B41、B43、B54、B61、B93) 的最长 ORF 为 150 个氨基酸以上，4 个序列 (B510、C39、C51、D11) 的最长 ORF 为 100 个氨基酸以上，10 个序列 (B56、B62、B72、B92、C82、D66、D61、D42、D41、D12) 的最长 ORF 为 80 ~ 100 个之间，5 个序列 (B513、B64、C22、C36、C41) 的最长 ORF 在 80 个氨基酸以下。将所有的序列发送到 GenBank，均被收录，结果见表 2。

2.3 抗病基因同源序列与已知抗病基因的同源性比较

为确定分离的辣椒抗病基因同源序列与已知序列的关系，对上述具有完整 ORF 的克隆，通过互联网进行了 BLAST 分析，结果发现 14 个克隆为抗病基因同源序列，其中 B 引物扩增的克隆 B56、B510、B513、B61、B62、B64、B72、B92 与马铃薯部分抗病基因同源序列 (*Solanum tuberosum* U60069、U60070、U0080、U0081; *S.*

表 2 辣椒抗病基因同源片段的基因库注册号和最长的开放读码框

Table 2 The accession number of RGAs of pepper in GenBank and the longest ORF			
克隆/抗病基因同源片段 Clone/ RGA	片段大小 Length of fragment (bp)	最大的开放读框 AA The longest ORF	基因库注册号 Accession number
B41	522	173	AY125911
B43	525	174	AF513548
B54	522	173	AF525136
B56	529	98	AF525137
B510	585	119	AF525134
B513	528	32	AF525135
B61	528	175	AF525138
B62	529	98	AF525139
B64	559	54	AF525140
B72	529	98	AF525141
B92	531	81	AF525142
B93	663	153	AF525143
C22	425	58	AF525144
C36	380	77	AF525145
C39	455	111	AF525146
C41	381	77	AF525147
C51	464	111	AF525148
C82	410	93	AF525149
D11	369	111	AF513549
D12	545	82	AF525150
D41	624	90	AF525151
D42	545	82	AF492473
D61	545	82	AF525152
D66	546	82	AF525153

phureja × *S. stenotomun* AY059428) 的同源性为 85 % 以上、与番茄部分 NBS 结合位点的抗病基因同源序列 (*Lycopersicon esculentum* AF404416、AF404438、AF404459、AF404459) 的同源性为 81 % ~ 87 %、与可含 NBS/LRR 结构域的抗病基因同源序列 (*Theobroma cacao* AF402752) 同源性为 96 % 以上; C 引

物扩增的克隆 C22、C36、C39、C41、C51、C82 与番茄抗叶霉病基因 (*L. esculentum* Hcr2-0A AF053994、AF053995, *Her9* AF119040、AF119041, *Q4/9* AF002237, *Q9* AF002236, *Q4* AF002235; *L. pimpinellifolium* Hcr2-2A AF053996, *Q2.1* U4244, *Q2.2* U42445, *L. hirsutum* *Q4* AJ002275) 的同源性较高, 为 83%~97%, 其中 C82 与番茄抗叶霉病的抗病基因簇中的 *Hcr9* 的同源性最高。*Hcr9* 为番茄抗叶霉病基因簇中类似于 *Q9* 的同源区域, 在 *L. pimpinellifolium* 的 *Q9* 基因家族中, 含有 *Q9* 及其 4 个同族体 *Hcr9s* 均与抗病性状有关; 其余的克隆未显示出与已知抗病基因同源, 其原因尚待研究。

用 DNAMAN 软件的 sequence alignment 功能对上述 14 个辣椒候选抗病基因同源序列之间, 以及 5 个已知抗病基因序列 (B 引物: 拟南芥抗番茄丁香假单胞细菌的基因 *RPS2*、烟草抗 TMV 的 *N* 基因、亚麻抗锈病的 *L6* 基因、C 引物: 番茄抗叶霉病生理小种 2、9 的基因 *Q2*、*Q9*) 的分子进化进行了分析, 结果表明, 基于引物 B、C 分成两大类, 其中 B 引物扩增的抗病基因同源序列的同源关系更接近于 *L6*, C 引物扩增的抗病基因同源序列的同源关系更接近于 *Q2*、*Q9* (结果未显示)。对照 14 个辣椒候选抗病基因同源序列与不同抗、感疫病辣椒材料的关系, 发现 B 引物扩增的 8 个辣椒候选抗病基因同源序列中仅 B92 是来源于高抗疫病的 CV98 辣椒 (9 号), 其余均来源于感病材料; C 引物扩增的 6 个辣椒候选抗病基因同源序列中, 4 个 (C22、C36、C39、C41) 分别来源于抗疫病材料 93-100-1-1 (2 号)、Perennial (3 号) 和 SCM334 (4 号), C51 和 C82 则来源于感病材料茄门甜椒 (5 号) 和 'Yolo Wonder' 甜椒 (8 号)。辣椒抗疫病性状是一个由主基因 + 多基因控制的数量遗传体系, Lefebvre 等研究发现, 辣椒对疫病的抗性受 13 个 QTLs 位点控制, 主效 QTLs 位点来源于抗病亲本基因组, 部分微效 QTLs 位点则来源于感病亲本基因组, 并且主效与微效 QTLs 位点上位互作效应在其抗疫病作用表达中具有主导作用^[1]。因此本研究从感病辣椒材料中扩增出抗病基因同源序列, 进一步证明了上述结论。亚麻抗锈病的 *L6* 基因, 番茄抗叶霉病生理小种 2、9 的基因 *Q2*、*Q9* 是抗真菌病害基因, 辣椒疫霉是一种卵菌病害, 寄主对其侵染的抵抗机制与真菌类似。综合上述分析, 推测分离获得的 14 个辣椒候选抗病基因同源序列可能与辣椒抗疫病作用有关。图版 (见插页 3) 进一步显示了上述 C 引物的 C22、C36、C39、C41、C51、C82 所推测的多肽序列与番茄抗病基因 *Q2*、*Q9* 编码多肽序列之间的关系, 从图版可知, 引物 C 扩增出的抗病基因同源序列所推导的蛋白与 *Q2*、*Q9* 编码蛋白在一级结构上具有较高的同源性, 特别是在某些结构域上完全一致。因此, 本研究获得的辣椒抗病基因同源序列, 作为分子标记可进一步分析与已定位的辣椒抗疫病基因的关系。

3 讨论

近 10 年以来, 植物抗病基因及其家族含有同源序列这一特点在国内外已引起高度重视。Yu 等利用抗病基因同源序列, 从大豆中获得 11 类含 NBS 序列的克隆, 其中 5 类克隆的定位与已知的 3 个大豆抗病基因在染色体上的位置有很好的对应关系^[9]。在马铃薯^[10]、柑橘^[11]、水稻^[12~13]、莴苣^[14]和小麦^[15]等作物研究中也获得类似结果。

有研究证明抗病 R 类基因的表达与 QTLs 效应密切相关, 并已在数量抗病性 QTLs 定位得到了成功的应用。Pflieger 等利用已知抗病基因的保守区域设计 6 对引物, 以野生辣椒 Perennial 的基因组 DNA 为模板进行 PCR 扩增, 发现与烟草抗 TMV *N* 基因同源、包含 NBS 序列的辣椒 RGAs 与抗 CMV 的 QTLs 密切相关, 尚未发现与抗疫病密切相关的 RGAs^[2]。为筛选出与辣椒抗疫病性状相关的分子标记, 根据拟南芥抗霜霉病基因 *RPP5* (U97106)^[5], 烟草抗花叶病基因 *N* (序列号 U15605)、拟南芥抗丁香假单胞菌基因 *RPS2* (序列号 U12860)、亚麻抗锈病基因 *L6* (序列号 U27081)^[6], 番茄抗叶霉病基因 *Q2* (U42445) 和 *Q9* (U15936)^[7], 番茄抗假单胞菌基因 *Pto* (U02271)^[8]等已知抗病基因的保守结构域设计简并引物, 对 9 个不同抗、感疫病的辣椒种质材料基因组 DNA 进行抗病基因同源性序列的特异 PCR 扩增, 经序列测定和同源性分析, 发现 14 个 RGAs 与辣椒抗疫病作用相关, 其中 B 引物扩增的 8 个 RGAs 与烟草抗花叶病基因 *N*、拟南芥抗丁香假单胞菌基因 *RPS2* 和亚麻抗锈病基因 *L6* 的同源性较高,

属于广谱(细菌、病毒、真菌)抗病基因同源序列; C引物扩增的6个RGAs与番茄抗叶霉病基因 Q_2 和 Q_9 的同源性较高,与抗病作用密切相关。研究还发现,高感疫病的辣椒基因组中也存在抗病相关RGAs,这与Lefebvre等发现部分辣椒抗病微效QTLs位点来自感病亲本基因组的结论^[1]一致。因此本研究获得的辣椒抗病相关同源序列可作为辣椒抗病相关基因克隆与分子标记定位的依据。

参考文献:

- 1 Lefebvre V, Palloix A. Both epistatic and additive effects of QTLs are involved in polygenic induced resistance to disease: a case study, the interaction pepper-*Phytophthora capsici* Leonian. *Theor. Appl. Genet.*, 1996, 63: 503~511
- 2 Pflieger S, Lefebvre V, Caranta C, et al. Disease resistance gene analogs as candidates for QTLs involved in pepper-pathogen interactions. *Genome*, 1999, 42: 1100~1110
- 3 Hammond-Kösack K E, Jones J D G. Plant disease resistance genes. *Annu. Rev. Physiol. Mol. Biol.*, 1997, 48: 575~607
- 4 Lefebvre V, Palloix A, Rives M. Nuclear RFLP between pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.). *Euphytica*, 1993, 71: 189~199
- 5 Parker J E, Coleman MJ, Szabo V, et al. The Arabidopsis downy mildew resistance gene *RPP5* shares similarity to the Toll and Interleukin-1 receptors with *N* and *L6*. *Plant Cell*, 1997, 9: 879~894
- 6 Aarts M G M, Lintel Hekkert B, Hlhub E B, et al. Identification of R-gene homologous DNA fragments genetically linked to disease resistance loci in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Plant-Microbe Interact*, 1998, 11 (4): 251~258
- 7 Ohmori T, M Murata, Motoyoshi F. Characterization of disease resistance gene-like sequences in near-isogenic lines of tomato. *Theor. Appl. Genet.*, 1998, 96: 331~338
- 8 Jia Y, Loh Y T, Zhou J, et al. Alleles of *Pro* and *Fen* occur in bacterial speck-susceptible and fenthion-insensitive tomato cultivars and encode active protein kinases. *Plant Cell*, 1997, 9: 61~73
- 9 Yu Y G, Buss G R, Saghai-Marouf M A. Isolation of a super family of candidate disease-resistance genes in soybean based on a conserved nucleotide-binding site. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, 93: 11751~11756
- 10 Leister D, Ballvora A, Salamini F, et al. A PCR-based approach for isolating pathogen resistance gene from potato with potential for application in plants. *Nature Genet.*, 1996, 14: 421~429
- 11 Deng Z, Huang S, Ling P, et al. Cloning and characterization of NBS-LRR class resistance-gene candidate sequences in citrus. *Theor. Appl. Genet.*, 2000, 101: 814~822
- 12 王石平, 刘克德, 王江, 等. 用同源序列的染色体定位寻找水稻抗病基因 DNA 片段. *植物学报*, 1998, 40 (1): 42~50
- 13 薛勇彪, 唐定中, 张燕生, 等. 水稻基因组中 R 类抗病基因同源序列的分离. *科学通报*, 1998, 43 (3): 277~281
- 14 Shen K A, Meyers B C, Islam-Faridi M N, et al. Resistance gene candidates identified by PCR with degenerate oligonucleotide primers map to clusters of resistance gene in lettuce. *Mol. Plant-Microbe Interact*, 1998, 11: 815~823
- 15 Feuillet C, Schachermayer G, Keller B. Molecular cloning of a new receptor-like kinase gene encoded at the Lr10 disease resistance locus of wheat. *Plant Journal*, 1997, 11 (1): 45~52

Amplified Resistance *Phytophthora* Blight Gene Analogs from *Capsicum annuum* Genomic DNA

Yi Tuyong^{1,2}, Xie Bingyan¹, Zhang Baoxi¹, and Gao Bida²

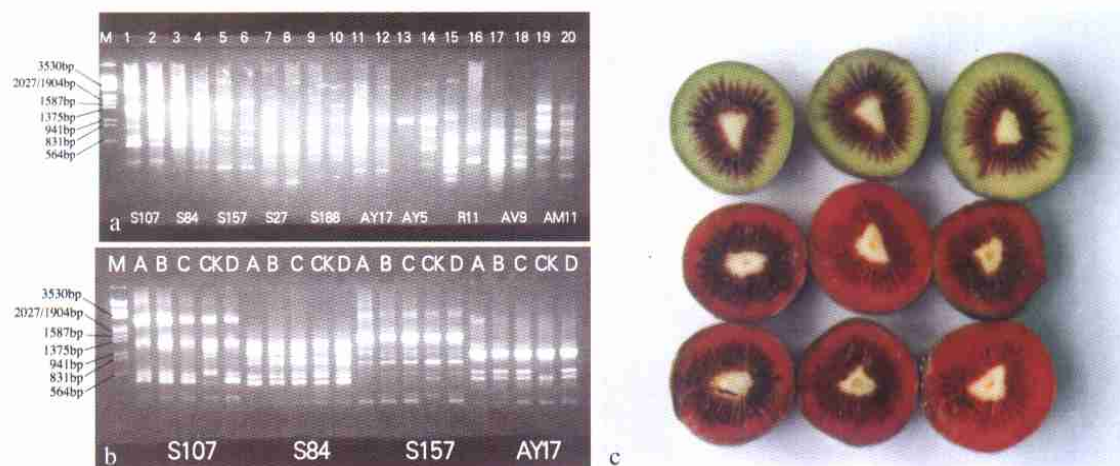
(¹ Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; ² College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: Numerous fragments were cloned from 9 different resistant/susceptible pepper (*Capsicum annuum*) varieties to *Phytophthora* blight, using a PCR approach with degenerate primers designed from conserved motifs found in a number of plant resistance genes. After sequencing and homology analysis, 8 RGAs amplified by primer B were highly identified with *N*, *RPS2*, *L6* and belonged to broad-spectrum RGA, 6 RGAs amplified by primer C were highly identified with Q_2 , Q_9 . 14 RGAs amplified by both primer B and primer C were relative to function of resistance to *Phytophthora* blight. RGAs derived from susceptible lines were also associated with function of resistance to *Phytophthora* blight, which was accorded with reported viewpoint that resistant minor QTLs derived from susceptible parents. These pepper RGAs could be regarded as candidate sequences of disease resistance genes in *Capsicum annuum* using cloning resistant genes and molecular markers.

Key words: *Capsicum annuum*; *Phytophthora* blight; Resistance gene analogs

宁允叶等：红阳猕猴桃全红芽变系的RAPD分析

Ning Yunye, et al: Studies on Red Flesh Sport from 'Red Sun' kiwifruit Using RAPD Marker



图版说明：a. 筛选出的10个随机引物的扩增指纹图（奇数为86-3母株，偶数为对照，M:DNA marker, λ DNA/EcoR I+Hind III）；b. 引物S107、S84、S157、AY17对芽变系及‘红阳’的扩增图谱 [A. 86-3; B. 4年生嫁接单株（砧木‘川猕一号’）；C. 2年生嫁接单株（砧木‘川猕一号’）；D. 2年生嫁接单株（砧木野生猕猴桃）；CK为对照‘红阳’]；c. ‘红阳’（上排）和86-3（中、下排）横切面。
Explanation of plates: a. The profile amplified by the 10 primers which produced polymorphic fragments (The odd number is 86-3, the even is control); b. The amplification profile of the sport line and ‘Red Sun’ kiwifruit using primer S107, S84, S157, AY17 [A. 86-3; B. 4 years old grafted plant (rootstock being ‘Chuanmi 1’); C. 2 years old grafted plant (rootstock being ‘Chuanmi 1’); D. 2 years old grafted plant (rootstock being wild kiwifruit) CK. ‘Red Sun’ kiwifruit]; c. Fruit cross sections of ‘Red Sun’ kiwifruit (top row) and 86-3 (middle and lower row).

易图永等：几个抗疫病性不同的辣椒材料抗病基因同源序列的分离与比较

Yi Tuyong, et al: Amplified Resistance *Phytophthora* Blight Gene Analogs from *Capsicum annuum* Genomic DNA

Cf9pro	LSLSRSLKLGPIKSSSGSTNLFMRLLQILDLSNNGFSGNLPE	40
C36proTNKLHGPIRTLGSMTYLELQMLDLSSNAFTGNVPT	36
C39proRNKLHGPIQPSEDETIFPELRIIDLSYNEFSGNFPV	36
C41proTNKLHGPIRTLGSMTYLELQMLDLSSNAFTGNVPT	36
C51proRNKLHGPISDSRTDNLFAQIRVIDLSFNGFSGDLPV	36
C82proTNKLHGPISDSRTDNLFAQIRVIDLSNNGFSGDLPV	36
Cf2pro	•RLTSNKLHGPIRSSRAEIMFPDLRIIDLSRNAFSQDLPT	39
C22proRNKLHGPIKYSRTNNSFAQIRVIDLSNNGFSGKLPV	36
Cf9pro	RILGNLQTMKKIIDENTRFPEYISDQYEIYYVYLTITITKG	80
C36pro	SMFQHLKAVRKIDPSKKAPSNEENGYYQNSIAVVTKAYSK	76
C39pro	SLFQHMKAARTIEQ•••TRKDPYFGDSYFQDFVTVATKG	73
C41pro	SMFQHLKAVRKIDPSKKAPSNEENGYYQNSIAVVTKAYSK	76
C51pro	SLLEIFQAMKIIDENSRTKRYIADYYNGSNANLIVTTKG	76
C82pro	SLFENFQAMKIISENSGTREYIADYYSVYYTNTLIVTTKG	76
Cf2pro	SLFEHLKGMRTVDKTMEEPSYESYDDSVVVV•••••TKG	74
C22pro	SLFEIFQAMKII•••SGTREYIADYSGNYA•NTLIVITKG	72

图版说明：引物C扩增抗病基因同源序列与抗病基因Cf2、Cf9氨基酸序列的比较

Explanation of plate: Amino acid sequences comparison among amplified sequences by primer C and Cf2, Cf9