

番茄 3 个抗疮痂病菌 T3 小种基因的等位性测定和序列分析

赵白梅, 曹海鹏, 段俊杰, 杨文才*

(中国农业大学蔬菜学系, 设施蔬菜生长发育调控北京市重点实验室, 北京 100193)

摘要: 将分别携带抗番茄疮痂病菌 *Xanthomonas perforans* T3 小种基因 *Xv3*、*Rx4* 和 *Rx_{LA1589}* 的番茄材料 Hawaii7981、PI128216 和 LA1589 相互杂交, 获得了包含 535 ~ 1 655 个单株的 3 个 F₂ 分离群体 Hawaii7981 × PI128216、Hawaii7981 × LA1589 和 PI128216 × LA1589。采用注射法对这 3 个 F₂ 群体的每个单株及亲本和感病对照 OH88119 进行抗 T3 小种鉴定, 结果显示除 OH88119 外的所有单株对 T3 小种都具有过敏性抗性反应, 表明 *Xv3*、*Rx4* 和 *Rx_{LA1589}* 为等位基因。根据 *Rx4* 基因的序列设计引物, 从 Hawaii7981、PI128216 和 LA1589 中扩增该基因并测序, 序列比对显示, 来自于 3 个材料的 *Rx4* 位点编码区序列完全一致, 表明这 3 个材料所携带的对番茄疮痂病菌 T3 小种的抗性由同一基因控制。

关键词: 番茄; 番茄疮痂病; T3 小种; 过敏性抗性基因; 等位性测定

中图分类号: S 641.2

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2015) 03-0462-09

Allelic Tests and Sequence Analysis of Three Genes for Resistance to *Xanthomonas perforans* Race T3 in Tomato

ZHAO Bai-mei, CAO Hai-peng, DUAN Jun-jie, and YANG Wen-cai*

(Beijing Key Laboratory of Growth and Developmental Regulation for Protected Vegetable Crops, Department of Vegetable Science, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: Three crosses, Hawaii7981 × PI128216, Hawaii7981 × LA1589 and PI128216 × LA1589, were made to develop F₂ populations for testing allelisms among three genes *Xv3*, *Rx4*, and *Rx_{LA1589}* for resistance to bacterial spot caused by *Xanthomonas perforans* race T3. Each population consisted of 535 - 1 655 individuals. Infiltration method was used to inoculate the parental and F₂ plants as well as the susceptible control OH88119. The results showed that all plants had hypersensitive resistance to race T3 except for OH88119, indicating that *Xv3*, *Rx4* and *Rx_{LA1589}* were allelic genes. Sequences of *Rx4* alleles were amplified from Hawaii7981, PI128216, and LA1589 using the gene-specific primers. No sequence variation was observed in the coding region, suggesting that the resistance to race T3 in the three resistant lines was conditioned by the same gene. These results will provide useful information for understanding the mechanism of resistance to race T3 and developing resistant variety in tomato.

Key words: tomato; tomato bacterial spot; race T3; hypersensitive resistance gene; allelic test

收稿日期: 2014 - 10 - 15; 修回日期: 2014 - 12 - 01

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31372073); 现代农业产业技术体系北京市创新团队果类蔬菜项目 (GCTDZJ2014033001)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: yangwencai@cau.edu.cn)

由疮痂病菌 (*Xanthomonas perforans*) 优势小种 T3 引起的疮痂病 (bacterial spot) 是番茄生产中的一种细菌性病害 (孙福在 等, 1999; 杨文才, 2013)。近十多年来, 随着种植方式的改变, 该病逐渐成为保护地番茄的主要病害之一 (王振学 等, 2005; 郭士成 等, 2008; 刘艳岩 等, 2008; 张伟亮 等, 2010), 对番茄产业的持续发展造成严重威胁。

自 1995 年 T3 小种在美国佛罗里达州出现 (Jones et al., 1995) 以来, 人们在抗 T3 小种番茄材料的发掘、抗性遗传研究和基因定位等方面开展了大量的工作, 筛选出具有田间抗性的樱桃番茄 (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) 材料 ‘PI114490’、醋栗番茄 (*S. pimpinellifolium*) 材料 ‘PI 340905-S’ 及栽培番茄 (*S. lycopersicum*) 材料 ‘PI126428’ 和 ‘PI155372’, 还发现了兼具田间抗性和过敏反应的醋栗番茄材料 ‘PI126932’、‘PI128216’ 和 ‘LA1589’, 潘那利 (*S. pennelli*) 番茄材料 ‘LA716’, 以及栽培番茄育种材料 ‘Hawaii7981’ (Scott et al., 1995; Astua-Monge et al., 2000; 孙会军 等, 2011a)。进一步研究发现, 过敏反应主要由单显性基因控制, 而田间抗性则呈数量性状遗传模式 (Scott et al., 1996, 2001; Robbins et al., 2009; 孙会军 等, 2011a, 2011b)。迄今已经鉴定出 3 个过敏反应基因 *Xv3*、*Rx4* 和 *Rx_{LA1589}*, 分别来自于 ‘Hawaii7981’、‘PI128216’ 和 ‘LA1589’, 但都被定位到番茄第 11 号染色体的同一位置 (孙会军 等, 2011a; Wang et al., 2011; Pei et al., 2012)。根据遗传图谱位置和小群体等位性测定推测 *Xv3* 和 *Rx4* 可能为等位基因或同一个基因 (Wang et al., 2011; 杨文才, 2013)。

为了明确 *Xv3*、*Rx4* 和 *Rx_{LA1589}* 之间的关系, 本研究中将分别携带这 3 个基因的番茄材料 ‘Hawaii7981’、‘PI128216’ 和 ‘LA1589’ 进行杂交, 获得 3 个 F₂ 分离群体, 通过进行抗性鉴定以明确 3 个基因是否为等位基因, 然后对 3 份亲本材料的 *Rx4* 候选基因序列进行 PCR 扩增, 通过序列比对来确定这 3 个基因是否为同一个基因, 为番茄抗疮痂病机理研究和在育种中利用这 3 个抗病材料提供参考。

1 材料与方 法

1.1 植物材料和试验设计

番茄材料包括抗疮痂病的栽培番茄 ‘Hawaii7981’ (携带 *Xv3* 基因)、醋栗番茄 ‘PI128216’ (携带 *Rx4* 基因) 和 ‘LA1589’ (携带 *Rx_{LA1589}* 基因), 感病栽培番茄 ‘OH88119’, 以及 ‘Hawaii7981’ × ‘PI128216’、‘Hawaii7981’ × ‘LA1589’、‘PI128216’ × ‘LA1589’ 的 F₁ 和 F₂ 群体。抗性鉴定分两批在中国农业大学上庄试验站日光温室中进行。第 1 批于 2014 年 2 月 11 日播种, 3 月 21 日定植, 种植的材料包括 ‘Hawaii7981’、‘PI128216’ 及其 F₁ 和 F₂ 群体, 以 ‘OH88119’ 为感病对照, 4 月 10 日进行接种抗性鉴定。第 2 批材料于 2014 年 3 月 28 日播种, 4 月 26 日定植, 种植的材料包括 ‘Hawaii7981’、‘PI128216’、‘LA1589’ 及 ‘Hawaii7981’ × ‘LA1589’、‘PI128216’ × ‘LA1589’ 的 F₁ 和 F₂ 群体, 以 ‘OH88119’ 为感病对照, 5 月 18 日进行接种抗性鉴定。

1.2 接种和过敏反应观察

所用菌系为番茄疮痂病 T3 小种病原菌 *Xv829*, 由美国佛罗里达州大学植物病理系的 Jeffery Jones 教授提供。接种前 3 ~ 4 d 将保存于 4 °C 的菌用接种环刮取少许涂到 YDC (Lelliot & Stead, 1987) 平板培养基上, 在 28 °C 下培养 2 ~ 3 d 后, 用无菌水悬浮并稀释成约 1×10^8 cfu · mL⁻¹ 的菌液。

接种前 1 h, 对生长于日光温室中的番茄植株喷水。采用叶背面注射法 (Yang & Francis, 2005)

接种, 每个番茄植株注射 3 片小叶, 每片小叶的注射面积约为 1 cm^2 。接种完成后, 每天早、晚分别对番茄植株喷水 1 次, 以增加病害发生所需要的湿度。

接种后 24 h 开始调查过敏反应, 每 24 h 调查 1 次, 直到感病亲本 ‘OH88119’ 出现水浸状病斑为止。

1.3 *Rx4* 基因的序列扩增与分析

采用改进的 CTAB 法 (Kabelka et al., 2002) 分别提取 ‘Hawaii7981’、‘PI128216’、‘LA1589’ 和 ‘OH88119’ 的基因组 DNA。根据已经克隆的 *Rx4* 候选基因序列 (Pei et al., 2012) 及番茄基因组序列 (Sato et al., 2012) 设计了基因特异引物 (正向: 5'-TATTATCGGCAGGAAGCAC-3'; 反向: 5'-CTTTCTTCTACAACGCCTC-3'), 分别从 4 个材料的基因组 DNA 中扩增 *Rx4* 基因及上、下游部分序列。PCR 反应体系为 25 μL , 包括 14.25 μL ddH₂O、2.5 μL 10 \times LA PCR Buffer II (Mg²⁺ Plus)、正反向引物各 1 μL (10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、4 μL dNTPs (各 2.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、2 μL DNA 模板和 0.25 μL (5 U $\cdot \mu\text{L}^{-1}$) TaKaRa LA *Taq* 酶 (宝生物工程有限公司, 大连)。PCR 扩增使用 BIO-RAD 热循环仪, 反应程序如下: 94 $^{\circ}\text{C}$ 4 min, 34 个循环包括 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 35 s、52 $^{\circ}\text{C}$ 退火 35 s 和 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min, 最后在 72 $^{\circ}\text{C}$ 下保持 10 min。

PCR 产物经 0.9% 琼脂糖凝胶电泳后, 用天根生化科技 (北京) 有限公司的大量琼脂糖凝胶回收试剂盒回收目的 DNA 片段。将回收的 PCR 产物, 与 pMD-19T 载体构建重组质粒, 将连接产物转至大肠杆菌感受态细胞中, 菌液经 PCR 检测获得阳性克隆。每个材料随机选取 2~3 个阳性克隆的菌液送北京三博远志生物技术有限责任公司测序。采用 DNAMAN (Lynnon Biosoft, USA) 去除测序片段中的载体序列并进行序列拼接, 同时从 SOL Genomics Networks (<http://www.sgn.cornell.edu/>) 上获取已经进行全基因组测序的两个材料 ‘Heinz1706’ 和 ‘LA1589’ 的 *Rx4* 位点相应序列, 采用 DNAMAN 进行多重序列比对。

2 结果与分析

2.1 亲本材料和 F₁ 植株叶片在接种番茄疮痂病 T3 小种病原菌后的症状

抗病亲本 ‘Hawaii7981’、‘PI128216’、‘LA1589’ 和所有 F₁ 植株的叶片在注射接种病原菌 T3 小种后 24~48 h 都出现过敏反应症状, 病斑边缘清晰, 而感病对照 ‘OH88119’ 的叶片上没有任何症状 (图 1, 24 h)。接种 96 h 后, 感病亲本 ‘OH88119’ 的叶片上开始出现水浸状病斑, 注射区域外围叶色褪绿, 病斑向外扩展, 此时抗病亲本及 F₁ 植株叶片上的病斑已经干枯坏死, 病斑不再扩展 (图 1, 96 h)。

2.2 *Xv3*、*Rx4* 和 *Rx_{LA1589}* 的等位关系分析

对第 1 批材料进行抗性鉴定时, 由于日光温室的温度 (主要是夜温) 略低于病害发生所需的温度, 接种的植株叶片上出现过敏反应的时间推迟。在接种后 24 h, ‘Hawaii7981’ (*Xv3* 基因)、‘PI128216’ (*Rx4* 基因) 及其 F₁ 和 F₂ 植株叶片上都没有出现过敏反应症状, 感病对照 ‘OH88119’ 上也没有症状。在接种后 48 h, 除感病对照外, 其余植株叶片上都出现了过敏反应症状, 而且在 F₂ 群体的 1 655 个单株中没有观察到感病植株 (表 1), 表明 ‘Hawaii7981’ 和 ‘PI128216’ 所携带的抗番茄疮痂病 T3 小种的基因 *Xv3* 和 *Rx4* 是等位的。

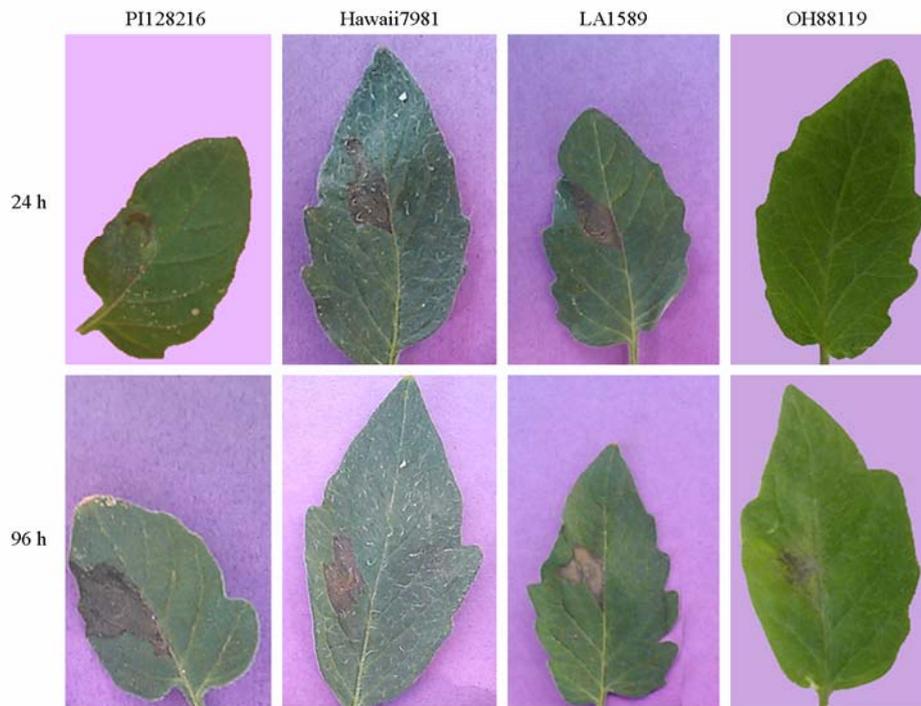


图 1 亲本植株在接种番茄疮痂病 T3 小种病原菌 24 h 和 96 h 后叶片上的症状
 Fig. 1 Symptoms on leaves of parental plants 24 h and 96 h after infiltration of bacterial spot race T3

表 1 亲本及各组合 F₁ 和 F₂ 对番茄疮痂病 T3 小种的抗性反应统计
 Table 1 Summary of response to tomato bacterial spot race T3 in parents, F₁ and F₂ plants

亲本/世代 Parent/Generation	总株数 Total number of plants	抗病株数 Number of resistant plants	感病株数 Number of susceptible plants
Hawaii7981 (<i>Xv3</i>)	8	8	0
PI128216 (<i>Rx4</i>)	7	7	0
LA1589 (<i>Rx_{LA1589}</i>)	8	8	0
OH88119	8	0	8
(Hawaii7981 × PI128216) F ₁	7	7	0
(Hawaii7981 × PI128216) F ₂	1 655	1 655	0
(Hawaii7981 × LA1589) F ₁	6	6	0
(Hawaii7981 × LA1589) F ₂	535	535	0
(PI128216 × LA1589) F ₁	6	6	0
(PI128216 × LA1589) F ₂	987	987	0

第 2 批材料中, 除感病对照 ‘OH88119’ 外, 其余植株的叶片上都在注射接种后 24 h 出现了过敏反应症状, ‘Hawaii7981’ (*Xv3* 基因) × ‘LA1589’ (*Rx_{LA1589}* 基因) 和 ‘PI128216’ (*Rx4* 基因) × ‘LA1589’ 的两个 F₂ 群体 (分别包含 535 和 987 个单株) 中都没有观察到感病单株 (表 1), 表明 ‘Hawaii7981’ 与 ‘LA1589’ 所携带的抗番茄疮痂病 T3 小种的基因 *Xv3* 和 *Rx_{LA1589}* 是等位的, ‘PI128216’ 与 ‘LA1589’ 所携带的抗番茄疮痂病 T3 小种的基因 *Rx4* 和 *Rx_{LA1589}* 也是等位的。

2.3 抗性位点 *Rx4* 在 ‘Hawaii7981’、‘PI128216’ 和 ‘LA1589’ 中的序列比较

为了确认 ‘Hawaii7981’、‘PI128216’ 和 ‘LA1589’ 对番茄疮痂病的抗性是否为同一基因控制,

采用 *Rx4* 候选基因特异引物从这 3 个材料及感病材料 ‘OH88119’ 中扩增该位点的基因组 DNA。电泳结果显示，所有材料中都扩增到了大小约为 3.5 kb 的单一一条带，‘OH88119’ 的 PCR 产物比其他 3 个材料的略小（图 2）。

测序结果显示，‘Hawaii7981’、‘PI128216’ 和 ‘LA1589’ 中 *Rx4* 位点的序列长度相同，都为 3 535 bp。‘LA1589’ 中该位点的序列与已经公布的 ‘LA1589’ 基因组中 *Rx4* 序列完全一致，感病对照 ‘OH88119’ 中的 *rx4* 位点序列与 ‘Heinz1706’ 基因组中的 *rx4* 序列完全一致，

长度为 3 411 bp。抗病材料和感病材料之间在编码区存在 8 个单核苷酸多态性（SNP）和 1 个插入/缺失（InDel）变异，与 Pei 等（2012）的研究结果一致，在上游序列中有 2 个 InDel（105 bp 和 24 bp）和 11 个 SNPs，下游序列中有 4 个 SNPs（图 3）。3 个抗病材料 ‘LA1589’、‘PI128216’ 和 ‘Hawaii7981’ 之间在上游序列中还互有 2~4 个 SNPs。

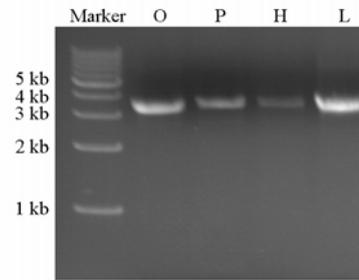


图 2 番茄 *Rx4* 位点的 PCR 产物电泳图
Fig. 2 Image of electrophoresis for PCR products of *Rx4* locus
O: OH88119, P: PI128216, H: Hawaii7981, L: LA1589.

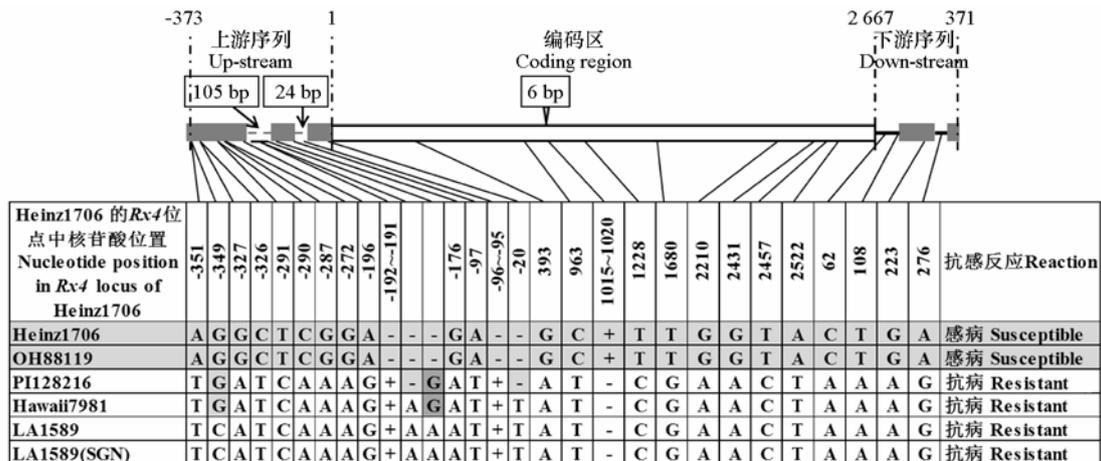


图 3 ‘Hawaii7981’、‘PI128216’、‘LA1589’、‘OH88119’ 和 ‘Heinz1706’ 中的 *Rx4* 位点及其上下游序列核苷酸变异

以 ‘Heinz1706’ 中的 *Rx4* 位点序列为标准，相同的核苷酸序列未列，“+”代表有插入片段，“-”代表无插入片段或核苷酸。上、下游序列中的外显子用灰色方格显示，感病材料或与感病材料相同的碱基用浅灰色方格显示，仅 PI128216 和 Hawaii7981 中相同的碱基用深灰色方格显示。

Fig. 3 Nucleotide variation of *Rx4* locus, upstream-, and downstream- sequences among Hawaii7981, PI128216, LA1589, OH88119 and Heinz1706

Sequence of *Rx4* locus from Heinz1706 is used as the standard. Invariable nucleotides are removed. A plus (+) indicates existence of the insertion, and a dash (-) indicates absence of the insertion or nucleotide. Exon in up-stream and down-stream sequences is indicated with gray cell.

The base in the susceptible lines or the same as in the susceptible lines is indicated with light gray cell, while the base that is only the same between PI128216 and Hawaii7981 is indicated with deep gray cell.

由于 *Rx4* 基因没有内含子 (Pei et al., 2012)，因此其基因组 DNA 也可视为 cDNA。将 cDNA 序列用 NCBI 网站上的 ORF Finder 进行开放阅读框预测和氨基酸序列推导，得到感病材料 ‘OH88119’ 中 *rx4* 位点的开放阅读框为 2 667 bp，编码 888 个氨基酸，而抗病材料 ‘Hawaii7981’、

‘PI128216’和‘LA1589’中 *Rx4* 位点的开放阅读框为 2 661 bp, 编码 886 个氨基酸 (图 4), 缺少的 2 个氨基酸由 InDel 引起。在 8 个 SNPs 中, 6 个为非同义突变, 两个为同义突变。

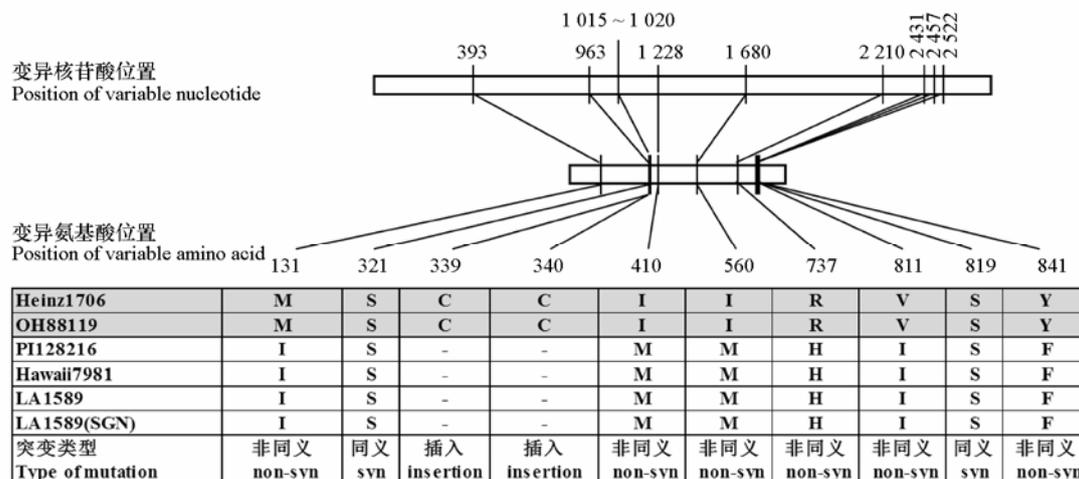


图 4 ‘Hawaii7981’、‘PI128216’、‘LA1589’、‘OH88119’和‘Heinz1706’中 *Rx4* 位点的可变氨基酸

以 ‘Heinz1706’ 中的 *rx4* 位点序列为标准, 不变的氨基酸已被去除, “-” 代表缺失。感病材料的氨基酸用灰色方格显示。

Fig. 4 Variable amino acids in the *Rx4* locus among Hawaii7981, PI128216, LA1589, OH88119 and Heinz1706

Sequence of *rx4* locus from Heinz1706 is used as the standard. Invariable amino acids are removed. A dash (-) indicates a deletion. non-syn: Non-synonymous. syn: Synonymous. Amino acid in the susceptible lines is indicated with gray cell.

3 讨论

虽然来自于黄单胞杆菌属 (*Xanthomonas*) 的多个种和小种 (Jones et al., 2004) 都能在番茄植株上引起疮痂病, 并造成严重的产量损失和果实品质下降 (Stall et al., 2009), 但是由于 *X. euvesicatoria* 的 T1 小种和 *X. vesicatoria* 的 T2 小种在出现几年后就被 *X. perforans* 的 T3 和 T4 小种取代 (杨文才, 2013), 再加上近年来 *X. gardneri* 的扩展, 因此目前国际上主要针对 T3 和 T4 小种开展抗性遗传和育种利用研究, 同时在抗 *X. gardneri* 的材料发掘方面开展一些工作。迄今已经明确了 ‘Hawaii7981’、‘PI128216’、‘LA1589’ 和 ‘LA716’ 的抗性遗传模式, 定位了 4 个抗性基因 *Xv3*、*Rx4*、*Rx_{LA1589}* 和 *RXopJ4* (孙会军 等, 2011a; Wang et al., 2011; Pei et al., 2012; Sharlach et al., 2013), 获得了 *Rx4* 和 *RXopJ4* 基因的候选序列 (Pei et al., 2012; Sharlach et al., 2013), 并从 ‘PI114490’ 中鉴定出 5 个 QTL (孙会军 等, 2011b; Sun et al., 2014), 为研究抗性机理和育种奠定了基础。Wang 等 (2011) 对分别由 ‘Hawaii7981’ 和 ‘PI128216’ 衍生出来的抗性材料杂交获得的两个 F₂ 群体 (分别含有 235 和 341 个单株) 进行过敏型抗性鉴定, 没有发现感病植株, 进而推测 *Xv3* 和 *Rx4* 为紧密连锁或等位的。本研究将这两个基因等位性测定的 F₂ 群体单株数扩大到 1 655 株, 也没有发现感病植株。如果这两个基因是连锁的, 那么根据现有的数据, 两个基因的交流值应小于 0.06%, 遗传距离最大约为 0.06 cM。按照番茄 11 号染色体该区域 1 cM 约 50 kb (Pei et al., 2012) 计算, 这两个基因的物理距离在 3 kb 之内, 也就是说, *Xv3* 应该紧跟在 *Rx4* 基因的上游或下游。但 Pei 等 (2012) 的研究表明, 上下游的两个基因都与抗病性无关, 据此可以排除 *Xv3* 和 *Rx4* 是紧密连锁基因的可能性。另外, ‘Hawaii7981’、‘PI128216’ 和 ‘LA1589’ 中 *Rx4* 位点编码区没有序列差异, 表明这 3 个材料中的 *Rx4* 蛋白是一样的, 而 Pei 等 (2012) 的研究发现 ‘Hawaii7981’ 和 ‘PI128216’ 在注射病原菌后, *Rx4* 基因 RNA 水平上的表达一致。综合已有的结果, 可以确定 *Xv3*、*Rx4* 和 *Rx_{LA1589}*

为同一基因,这也旁证了‘Hawaii7981’抗性基因来源于野生种的推测(杨文才等,2007)。
‘Hawaii7981’是从栽培种与野生种杂交后代中选出的一个育种材料,具有普通栽培番茄的株型和中等大小的果实,可直接用于番茄疮痂病抗性育种。

启动子在植物与病原菌互作中起着重要的作用,在由黄单胞杆菌属病原菌引起的病害中已有报道。例如,辣椒抗疮痂病基因 *Bs3* 与病原菌的互作取决于该基因启动子序列上特定的结合域,在该区域插入 11 bp 后就不能被病原菌的无毒蛋白 AvrBS3 识别(Römer et al., 2007, 2009b)。同样,水稻白叶枯病病原菌(*X. oryzae* pv. *oryzae*)与抗性基因 *Xa27* 的识别也发生在启动子区域,感病品种因在该特定区域缺失了 3 bp 而不被病原菌的无毒蛋白 AvrXa27 识别(Römer et al., 2009a)。已有的结果显示,醋栗番茄材料‘PI128216’在接种 T3 小种后 *Rx4* 基因的转录表达与接水对照没有明显的差异,而感病亲本在接种病原菌后相应位点的转录表达比接水对照略微下调(Pei et al., 2012),表明该基因在病原菌入侵情况下转录水平上的表达差异不大。本研究发现该基因的上游序列在抗感材料中存在两个分别为 24 bp 和 105 bp 的 InDel,还有 11 个 SNPs,这些序列变异是否会造成病原菌无毒蛋白 AvrXv3 不能识别感病品种中的位点还有待进一步研究。

由于在辣椒疮痂病抗性基因的克隆和寄主与病原菌互作等方面开展的工作较为深入,加上曾经认为番茄和辣椒疮痂病病原菌相同,因此到目前为止,除了定位番茄疮痂病抗性基因和鉴定候选基因(杨文才,2013),以及采用差显技术(SSH、cDNA-AFLP)或微阵列技术分离抗 T3 小种相关基因(Gibly et al., 2004; Balaji et al., 2007; Du et al., 2014)外,还没有在植株抗性机理方面开展研究工作。近年来的研究发现,番茄疮痂病和辣椒疮痂病的病原菌之间存在较多差异(Potnis et al., 2011),番茄疮痂病病原菌比辣椒疮痂病病原菌复杂得多,推测病原菌与寄主的互作也可能完全不同。从表型上看,‘Hawaii7981’、‘LA1589’、‘PI128216’和‘LA716’对 T3 小种既具有田间抗性,又具有过敏反应,而‘PI114490’对 T3 小种只有田间抗性,没有过敏反应。要了解疮痂病病原菌与番茄抗性基因之间这种复杂的互作关系,就必须从番茄中克隆抗性基因或 QTL。本研究中对定位到番茄 11 号染色体同一位置的 3 个基因 *Xv3*、*Rx4* 和 *Rx_{LA1589}* 的关系进行了分析,确定它们为同一个基因,同时发现该基因及其上下游序列在抗、感材料中存在很大的差异,这些结果为研究番茄材料抗 T3 小种的机理提供了有价值的参考。

References

- Astua-Monge G, Minsavage G V, Stall R E, Vallejos C E, Davis M J, Jones J B. 2000. *Xv4-avr_{xv4}*: A new gene-for-gene interaction identified between *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* race T3 and the wild tomato relative *Lycopersicon pennellii*. *Molecular Plant-microbe Interactions*, 13: 1346 - 1355.
- Balaji V, Gibly A, Debbie P, Sessa G. 2007. Transcriptional analysis of the tomato resistance response triggered by recognition of the *Xanthomonas* type III effector AvrXv3. *Funct Integr Genomics*, 7: 305 - 316.
- Du H S, Li W H, Wang Y Q, Yang W C. 2014. Identification of genes differentially expressed between resistant and susceptible tomato lines during time-course interactions with *Xanthomonas perforans* race T3. *PLoS One*, 9 (3): e93476.
- Gibly A, Bonshtien A, Balaji V, Debbie P, Martin G B, Sessa G. 2004. Identification and expression profiling of tomato genes differentially regulated during a resistance response to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Mol Plant-Microbe In*, 17: 1212 - 1222.
- Guo Shi-cheng, Zhuang Ji-ran, Li Qiang, Dong Qin-cheng. 2008. Investigation and integrative management of bacterial spot in Fei County. *China Vegetables*, (5): 60 - 61. (in Chinese)
- 郭士成, 庄纪然, 李强, 董勤成. 2008. 费县番茄疮痂病的调查及综合防治. *中国蔬菜*, (5): 60 - 61.
- Jones J B, Lacy G H, Bouzar H, Stall R E, Schaad N W. 2004. Reclassification of the xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato

- and pepper. *Syst Appl Microbiol*, 27: 755 - 762.
- Jones J B, Stall R E, Somodi G C, Bouzar H, Hodge N C. 1995. A third tomato race of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Plant Dis*, 79: 395 - 398.
- Kabelka E, Franchino B, Francis D M. 2002. Two loci from *Lycopersicon hirsutum* LA407 confer resistance to strains of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Phytopathology*, 92: 504 - 510.
- Lelliot R A, Stead D E. 1987. *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants*. Oxford: Blackwell Scientific Publication: 216.
- Liu Yan-yan, Cui Yu-qin, Bao Lin-li. 2008. New features of occurrence and approaches for no pollution management for tomato disease in greenhouse. *Jilin Vegetables*, (2): 47. (in Chinese)
- 刘艳岩, 崔玉芹, 宝林立. 2008. 日光温室番茄病害发生新特点及无公害防治措施. *吉林蔬菜*, (2): 47.
- Pei C C, Wang H, Zhang J Y, Wang Y Y, Francis D M, Yang W C. 2012. Fine mapping and analysis of a candidate gene in tomato accession PI128216 conferring hypersensitive resistance to bacterial spot race T3. *Theor Appl Genet*, 124: 533 - 542.
- Potnis N, Krasileva K, Chow V, Almeida N F, Patil P B, Ryan R P, Sharlach M, Behlau F, J Dow M, Momol Mt, White F F, Preston J F, Vinatzer B A, Koebnik R, Setubal J C, Norman D J, Staskawicz B J, Jones J B. 2011. Comparative genomics reveals diversity among xanthomonads infecting tomato and pepper. *BMC Genomics*, 12: 146.
- Robbins M D, Darrigues A, Sim S C, Masud M A, Francis D M. 2009. Characterization of hypersensitive resistance to bacterial spot race T3 (*Xanthomonas perforans*) from tomato accession PI128216. *Phytopathology*, 99: 1037 - 1044.
- Römer P, Hahn S, Jordan T, Strauss T, Bonas U, Lahaye T. 2007. Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper *Bs3* resistance gene. *Science*, 318: 645 - 648.
- Römer P, Recht S, Lahaye T. 2009a. A single plant resistance gene promoter engineered to recognize multiple TAL effectors from disparate pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106: 20526 - 20531.
- Römer P, Strauss T, Hahn S, Scholze H, Morbitzer R, Grau J, Bonas U, Lahaye T. 2009b. Recognition of AvrBs 3-like proteins is mediated by specific binding to promoters of matching pepper *Bs3* alleles. *Plant Physiol*, 150: 1697 - 1712.
- Sato S, Tabata S, Hirakawa H, et al. 2012. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature*, 485: 635 - 641.
- Scott J W, Jones J B, Somodi G C. 2001. Inheritance of resistance in tomato to race T3 of the bacterial spot pathogen. *J Am Soc Hortic Sci*, 126: 436 - 441.
- Scott J W, Jones J B, Somodi G C, Stall R E. 1995. Screening tomato accession for resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, race T3. *HortScience*, 30: 579 - 581.
- Scott J W, Stall R E, Jones J B, Somodi G C. 1996. A single gene controls the hypersensitive response of Ha7981 to race3 (T3) of the bacterial spot pathogen. *Rpt Tomato Genet Coop*, 46: 23.
- Sharlach M, Dahlbeck D, Liu L, Chiu J, Jimenez-Gomez J M, Kimura S, Koenig D, Maloof J N, Sinha N, Minsavage G V, Jones J B, Stall R E, Staskawicz B J. 2013. Fine genetic mapping of *RxopJ4*, a bacterial spot disease resistance locus from *Solanum pennellii* LA716. *Theor Appl Genet*, 126: 601 - 609.
- Stall R E, Jones J B, Minsavage G V. 2009. Durability of resistance in tomato and pepper to *Xanthomonads* causing bacterial spot. *Annu Rev Phytopathol*, 47: 265 - 284.
- Sun Fu-zai, Du Zhi-qiang, Jiao Zhi-liang, Zhao Ting-chang, Cheng Bo-ying. 1999. Pathogen and race identification of bacterial spot of pepper and tomato. *Acta Phytopathol Sin*, 29: 265 - 269. (in Chinese)
- 孙福在, 杜志强, 焦志亮, 赵廷昌, 程伯瑛. 1999. 辣椒、番茄细菌性疮痂病及生理小种鉴定. *植物病理学报*, 29: 265 - 269.
- Sun H J, Wei J L, Zhang J Y, Yang W C. 2014. A comparison of disease severity measurements using image analysis and visual estimates using a category scale for genetic analysis of resistance to bacterial spot in tomato. *Eur J Plant Pathol*, 139: 125 - 136.
- Sun Hui-jun, Liu Xiao-xi, Li Wen-hui, Yang Wen-cai. 2011a. Preliminary mapping of a gene in tomato accession LA1589 conferring resistance to race T3 of bacterial spot. *J Agric Univ Hebei*, 34 (6): 65 - 69. (in Chinese)
- 孙会军, 刘小茜, 李文慧, 杨文才. 2011a. 番茄材料 LA1589 抗疮痂病 T3 小种基因初步定位. *河北农业大学学报*, 34 (6): 65 - 69.
- Sun Hui-jun, Zhang Jie-yun, Wang Yuan-yuan, Scott J W, Francis D M, Yang Wen-cai. 2011b. QTL analysis of resistance to bacterial spot race T3

- in tomato. *Acta Hortic Sin*, 38 (12): 2297 - 2308. (in Chinese)
- 孙会军, 张洁云, 王园园, Jay W Scott, David M Francis, 杨文才. 2011b. 番茄疮痂病 T3 小种抗性的 QTL 分析. *园艺学报*, 38 (12): 2297 - 2308.
- Wang H, Hutton S F, Robbins M D, Sim S C, Scott J W, Yang W C, Jones J B, Francis D M. 2011. Molecular mapping of hypersensitive resistance from tomato cv. Hawaii7981 to *Xanthomonas perforans* race T3. *Phytopathology*, 101: 1217 - 1223.
- Wang Zhen-xue, Wang Zi-qin, Wang Guang-fu. 2005. Integrative technologies for controlling bacterial spot in tomato. *Northwest Hortic*, (7): 30. (in Chinese)
- 王振学, 王子勤, 王广富. 2005. 番茄疮痂病综合防治技术. *西北园艺*, (7): 30.
- Yang W C, Francis D M. 2005. Marker-assisted selection for combining resistance to bacterial spot and bacterial speck in tomato. *J Am Soc Hortic Sci*, 130: 716 - 721.
- Yang Wen-cai. 2013. Recent advances on genetics and mapping of resistance to bacterial spot in tomato. *Acta Hortic Sin*, 40 (9): 1731 - 1740. (in Chinese)
- 杨文才. 2013. 番茄疮痂病抗性遗传研究和基因定位最新进展. *园艺学报*, 40 (9): 1731 - 1740.
- Yang Wen-cai, Chen Jia, Zhang Xiao-min, Francis D M. 2007. Recent advances in classification of tomato bacterial spot pathogen, genetics of resistance, and marker-assisted selection. *Sci Agric Sin*, 40 (2): 283 - 290. (in Chinese)
- 杨文才, 陈佳, 张晓敏, Francis D M. 2007. 番茄疮痂病原菌分类、抗性遗传和分子标记辅助选择进展. *中国农业科学*, 40 (2): 283 - 290.
- Zhang Wei-liang, Wang Guo-yuan, Li Quan-shuan, Yang San-bao. 2010. Recognition and prevention of tomato bacterial diseases in greenhouse. *China Agr Tech Ext*, 26 (2): 40 - 41. (in Chinese)
- 张伟亮, 王国元, 李全栓, 杨三保. 2010. 大棚番茄细菌性病害的识别与防治. *中国农技推广*, 26 (2): 40 - 41.

征订

欢迎订阅《园艺学报》

《园艺学报》是中国园艺学会和中国农业科学院蔬菜花卉研究所主办的学术期刊,创刊于1962年,刊载有关果树、蔬菜、观赏植物、茶及药用植物等方面的学术论文、研究报告、专题文献综述、问题与讨论、新技术新品种以及园艺研究动态与信息,适合园艺科研人员、大专院校师生及农业技术推广部门专业技术人员阅读参考。

《园艺学报》是中文核心期刊,中国科技核心期刊;被英国《CAB文摘数据库》、美国CA化学文摘、日本CBST科学技术文献速报、俄罗斯AJ文摘杂志、CSCD中国科学引文数据库等多家数据库收录。《园艺学报》荣获“第三届国家期刊奖”及“新中国60年有影响力的期刊”、“中国国际影响力优秀学术期刊”、“百种中国杰出学术期刊”、“中国权威学术期刊”、“中国精品科技期刊”等称号。

《中国学术期刊影响因子年报》2014年公布的《园艺学报》复合总被引频次为9720,复合影响因子为1.417;期刊总被引频次为4424,期刊影响因子为0.940。

《中国科技期刊引证报告》2014年公布的《园艺学报》扩展总被引频次为5959,扩展影响因子为1.153;核心总被引频次为4282,核心影响因子为0.949;在中国科技核心期刊综合评价总分排名中居第14位。

《园艺学报》为月刊,每月25日出版。每期定价40元,全年480元。国内外公开发行,全国各地邮局办理订阅,国内邮发代号82-471,国外发行由中国国际图书贸易总公司承办,代号M448。漏订者可直接寄款至编辑部订购。编辑部地址:北京市海淀区中关村南大街12号中国农业科学院蔬菜花卉研究所《园艺学报》编辑部。

邮政编码:100081;电话:(010)82109523。E-mail: yuanyixuebao@126.com。网址: <http://www.ahs.ac.cn>。