

# 我国辣椒种质资源 *eIF4E* 基因多态性分析

王学瑛, 张正海, 王海平, 顾晓振, 李锡香, 张宝玺, 王立浩

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

**摘要:** 利用国家蔬菜种质资源库的 1904 份辣椒资源材料, 采用测序技术获得 *eIF4E* (eukaryotic translation initiation 4E) 基因 exon1 序列, 研究 *eIF4E* 基因多样性及我国辣椒种质资源群体多样性。结果表明: 在 1904 份材料中共发现 17 个单倍型, 14 个有义多态性位点, 其中 9 个为新的位点, 位点大多集中在 *eIF4E* 蛋白表面环上; 8 个地理群体的平均单倍型多样性 (Hd) 和平均核苷酸多样性 (Pi) 分别为 0.519 和 0.00210; 群体间分化指数 (Fst 值) 及基因流 (Nm) 表明不同群体间表现差异的分化程度; AMOVA 分析表明总变异主要来源于群体内个体间的变异 (97.23%), 只有 2.77% 变异发生在群体间。本研究将有助于了解我国辣椒 *eIF4E* 基因多样性, 为抗 PVY 育种提供更多抗源材料。

**关键词:** 辣椒; 种质资源; 真核转录因子 (*eIF4E*); 多态性

## Analysis of Polymorphism of *eIF4E* in Pepper Germplasm Resources (*Capsicum* spp.) of China

WANG Xue-ying, ZHANG Zheng-hai, WANG Hai-ping,

GU Xiao-zhen, LI Xi-xiang, ZHANG Bao-xi, WANG Li-hao

(Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

**Abstract:** Exon 1 of *eIF4E* gene (eukaryotic translation initiation 4E) of 1904 pepper accessions from National Vegetable Germplasm Bank in China was sequenced and researched on the diversity. The results showed: 17 haplotypes were found among the 1904 accessions and 9 new sites in the 14 sense polymorphic loci which mostly concentrated on the *eIF4E* protein surface ring; the average haplotype diversity (Hd) and average nucleotide diversity (Pi) of 8 geographic populations were 0.519 and 0.00210; differentiation index (Fst value) and gene flow (Nm) between populations showed that it performed different degree of differentiation among groups; AMOVA analysis showed that the total variation came mainly from individuals within populations (97.23%), only 2.77% of the variation occurred between populations. This research is helpful to understand the diversity of the *eIF4E* gene, providing more resistant resources for pepper PVY resistance breeding.

**Key words:** *Capsicum annuum*; germplasm resources; eukaryotic translation initiation 4E (*eIF4E*); polymorphism

马铃薯 Y 病毒属 (*Potyvirus*) 是世界上最大的 2 个植物病毒属之一, 对多种农作物造成危害。PVY 是 *Potyvirus* 的典型成员之一, 对辣椒危害严重。目

前, 在辣椒上至少发现了 7 个单隐性抗病基因和 1 个 QTL<sup>[1-3]</sup>。区别于显性抗性机制, 在辣椒上发现的 *pvr2* 等位基因编码的 *eIF4E* 蛋白质, 通过其少数

收稿日期: 2015-02-14 修回日期: 2015-03-23 网络出版日期: 2015-12-09

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20151209.0915.028.html>

基金项目: 公益研究所基金 (ICS, CAAS) (1610032011011); 国家“863”项目 (2012AA100103002); 中国农业科学院科技创新工程 (CAAS-ASTIP-IVFCAAS); 创新工程农业部大宗蔬菜技术产业体系 (CARS-25); 农业部园艺作物生物学与种质创制重点实验室项目

第一作者研究方向为辣椒遗传育种。E-mail: nkyjktz@163.com

通信作者: 王立浩, 研究方向为辣椒遗传育种。E-mail: wanglihao@caas.cn

李锡香, 研究方向为蔬菜种质资源。E-mail: lixixiang@caas.cn

非保守氨基酸的改变介导抗性<sup>[4,5]</sup>。其中 *pvr2-eIF4E* (*pvr2*-eukaryotic translation initiation 4E) 是辣椒抗 PVY 育种工作中十分有效且稳定的抗源<sup>[6]</sup>。

*eIF4E*, 作为真核转录起始因子 (eIF, eukaryotic translation initiation) 家族的一员, 与 mRNA 帽子结构 m<sup>7</sup>GpppN 特异结合, 同时与 *eIF4G* 形成 *eIF4F* 复合物, 在蛋白质翻译起始中起重要作用<sup>[7-8]</sup>。病毒侵染循环需要通过与寄主细胞编码因子互作才能完成。在病毒侵染所需的众多因子中, *eIF4E* 在翻译起始水平调控病毒基因表达<sup>[9-10]</sup>。酵母双杂交及 ELISA 实验表明病毒基因组连接蛋白 (VPg, viral genome-linked protein) 或其前体 (Nia, VPg-proteinase) 可以与 *eIF4E* 或其同源异构体 Eif (iso) 4E 相互作用<sup>[11-12]</sup>, 而互作缺失的病毒则丧失侵染性<sup>[11]</sup>。

研究发现, 辣椒抗 PVY 和烟草蚀刻病毒 (TEV, tobacco etch virus) 的位点 *pvr1*、*pvr2* (目前研究表明为同一个基因)<sup>[5,13-14]</sup>, 番茄抗 PVY 和 TEV 的位点 *pot1*<sup>[15]</sup>, 生菜中抗生菜花叶病毒 (LMV, lettuce mosaic virus) 位点 *mol1* 和 *mol2*<sup>[16]</sup>, 豌豆抗豌豆种传花叶病毒 (PSBMV, Pea seed-borne mosaic virus) 位点 *sbm-1*<sup>[4]</sup> 及其他所发现的病毒隐性抗性遗传位点都聚集在 *eIF4E* 并与其突变有关。这些突变氨基酸大多集中在 *eIF4E* 蛋白质 3D 结构帽子结合口袋两侧相邻的区域<sup>[17]</sup>; 区域 I (exon1 编码) 靠近帽子结合口袋, 区域 II 在从帽子结合位点旋转 90° 处<sup>[18]</sup>。

辣椒中继 *pvr2* 抗性位点的发现<sup>[5,14]</sup>, C. Charron 等<sup>[19]</sup> 在不同地理来源的 25 份辣椒材料 (*C. annuum*) 中找到 7 个新的变异, 命名为 *pvr2*<sup>3-9</sup>; V. P. Ibiza 等<sup>[20]</sup> 采用 EcoTILLING 的方法, 在 233 个辣椒栽培品种中发现 5 个新的 *eIF4E* 变异, 命名为 *pvr2*<sup>10-14</sup>。有趣的是, 这些位点差异不仅表现在氨基酸的替换上, 同时, 位点差异导致的抗性范围也是不同的。基因序列的变化, 表现出对不同 PVY 株系的抗性, 体现出遗传多样性与病毒变异的共进化。

我国有着丰富的辣椒种质资源, 同时, PVY 也是我国辣椒上的主要病害之一<sup>[21]</sup>。本文旨在研究中国辣椒 *eIF4E* 基因多样性, 以期挖掘更多新抗源, 利用其多样性解决抗 PVY 育种中的持久抗性问题的, 提高辣椒种质资源的抗性水平。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为来自国家蔬菜种质资源库的 1904 份辣椒种质。其中 1670 份为国内材料, 覆盖全国

33 个行政省市自治区: 安徽 (37)、北京 (7)、重庆 (7)、福建 (30)、甘肃 (36)、广东 (11)、广西 (28)、贵州 (90)、海南 (7)、河北 (101)、河南 (52)、黑龙江 (82)、湖北 (359)、湖南 (120)、吉林 (60)、江苏 (52)、江西 (26)、辽宁 (73)、内蒙古 (24)、宁夏 (17)、青海 (3)、山东 (84)、山西 (55)、陕西 (37)、上海 (2)、四川 (119)、台湾 (5)、天津 (13)、西藏 (8)、香港 (1)、新疆 (25)、云南 (90)、浙江 (9)。国外材料 234 份, 主要来自亚洲、欧洲和北美洲。于 2013 年 8 月种植于中国农业科学院蔬菜花卉研究所南圃场温室。取 3~5 片真叶期的叶片, 用改进的 CTAB 法提取基因组 DNA<sup>[22]</sup>。1% 琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA 的提取结果, Biospec-nano 微量分光光度计检测浓度和质量。

### 1.2 *eIF4E* exon1 序列获得

**1.2.1 引物设计** 利用 Yolo Wonder 编码序列 (NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)), 确定各外显子序列信息。以此序列比对辣椒 CM334 chromosome v1.55 染色体序列信息, 获得注释基因编号 CA04g00860 (<http://passport.pepper.snu.ac.kr/?t=PGENOME>), 进而获得辣椒 *eIF4E* 基因全长。利用 Primer 3 input (<http://primer3.ut.ee/>) 设计引物扩增 exon1 全长, 上下游引物分别为 E1L (5'-ACCG-CAACCCACGTTAGTA T-3') 和 E1R (5'-CACAAAC-GTCCAATGCGTCAT-3')。

**1.2.2 exon1 扩增及测序** 以 DNA 为模板进行 PCR 扩增, 所用引物为 E1L 和 E1R (浓度为 10 μmol/L)。PCR 反应体系为 30 μL: DNA 模板 2 μL (50ng/μL), Top Taq 酶 0.6 μL, Top Taq 10 × buffer 3 μL, dNTP 2.4 μL (全式金, TransStart<sup>®</sup> Top Taq DNA Polymerase), 上下游引物各 1.2 μL, 灭菌 ddH<sub>2</sub>O 19.6 μL。PCR 反应程序: 94℃ 预变性 3 min; 94℃ 变性 30 s, 58℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 共 35 个循环; 72℃ 延伸 10 min; 16℃ 保存。PCR 产物测序 (BGI), 测序引物与扩增引物相同。

### 1.3 序列分析

用 DNAMAN 软件进行序列多重比对, 整理材料与对照 Yolo Wonder (YW) 氨基酸位点的差异。应用 Dnasp v5.1 软件分析单倍型<sup>[23-24]</sup>, 计算平均基因流 (Nm)。应用 Arlequin v3.01 软件<sup>[25]</sup>, 根据 pairwise difference 模型, 计算单倍型多样性 (Hd)、核苷酸多样性 (Pi)、平均核苷酸差异数 (K) 及其标准差 (SD), 并计算群体间的分化指数 (Fst) 和基因流 (Nm)。

## 2 结果与分析

### 2.1 *eIF4E* 基因 exon1 序列变异分析

表 1 所示,供试材料在编码序列上有较多突变。Exon1 包含起始密码子在内有 278 个碱基,共编码 92 个氨基酸。Exon1 中检测到 14 个有义突变;1165 份材料与 YW 有相同的氨基酸序列,按照前人研究命名为 *pvr2*<sup>+</sup>;与 *pvr2*<sup>+</sup> 相比,其余 16 个位点变异都是由于 1~4 个氨基酸发生替换,超过半数变异位点都包含第 67 或 71 位氨基酸。单倍型 Hap1 和 Hap2

突变材料分别有 618 和 82 份。82 份材料有 Hap3 变异;5 份材料有 Hap4 变异;3 份材料有 Hap5 变异;各有 2 份材料为 Hap6 和 Hap7 变异;Hap8~16 均只有 1 份材料。

研究发现 9 个新的突变位点,区域 I 处未发现前人检测到的 2 个位点 66 和 77。Exon1 的突变位点都不直接涉及 m<sup>7</sup>GTP 加帽,在植物的保守位点 (>95%)及稳定蛋白结构位点都无突变。突变在区域 I (氨基酸序列 62~79 位)的有 6 个位点 (67、68、71、73、74、79)。

表 1 中国辣椒种质与 Yolo Wonder *eIF4E* 序列间编码的氨基酸差异

Table 1 Amino acid variation of *eIF4E* protein sequences between Yolo Wonder and Chinese pepper germplasms

样品数目		Exon1 突变氨基酸位点 Amino acid variation of the Exon1													
No. of accessions		2	18	24	37	46	50	56	67	68	71	73	74	79	88
	YW	A	V	E	E	S	A	E	V	A	K	A	A	L	V
1165	<i>Pvr2</i> <sup>+</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
618	Hap1	-	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	-	-
82	Hap2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	R	-	-	-	-
18	Hap3	-	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	R	-
5	Hap4	G	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	-	-
3	Hap5	-	-	-	-	-	-	-	-	E	-	D	-	-	-
2	Hap6	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Hap7	-	-	-	-	-	-	-	E	-	R	-	-	-	-
1	Hap8	-	-	-	-	-	T	K	E	-	-	-	-	-	-
1	Hap9	-	-	-	K	-	-	K	-	-	R	-	-	-	-
1	Hap10	-	G	-	-	-	-	K	E	-	-	-	-	-	G
1	Hap11	-	-	-	-	-	-	-	E	E	-	D	D	-	-
1	Hap12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	R	-
1	Hap13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G
1	Hap14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D	-	-	-
1	Hap15	-	G	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	-	-
1	Hap16	-	-	D	-	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- 表示氨基酸与 YW (Yolo Wonder) 相同

- represent identical amino acids to YW (Yolo Wonder)

### 2.2 *eIF4E* 基因 exon1 序列在不同地理区域种质间的差异分析

在不同地理来源的种质中,*eIF4E* 基因氨基酸位点变异类型和频率不同。国外种质变异种类 (8 种) 较中国种质丰富;单倍型 Hap5 和 Hap11~13 为国外种质所特有;在 Hap3 的 18 份材料中,国外种质占 77.8%。国内材料中,华东、华中、西南、西北地区变异最丰富 (5 种);华南地区最少 (2 种)。华北、东北、西南、西北地区未发生突变的材料

(*pvr2*<sup>+</sup>) 占该地区总数的比例较其他地区高 (>60%)。单倍型 Hap1 和 Hap2 包含的种质数目最多,材料中的单倍型主要集中在 Hap1 和 Hap2 这两种类型,所有地区都含有 Hap1,只在华南地区无 Hap2。Hap8~10、Hap14~16 在华东、华南、西南、西北地区有分布。显然,地区间差异主要体现在稀少的单倍型中。

将单倍型种类最多的 4 个区域按省份进行细分:云南省 *eIF4E* 的单倍型种类最丰富 (5 种)

(Hap1, Hap2, Hap4, Hap10, Hap15), 其次是河南 (Hap1, Hap2, Hap4, Hap6) 和山东省 (Hap1, Hap2, Hap7, Hap8) (4 种), 其中: 河南省单倍型中 Hap4 由 Hap1 和 Hap6 的位点组合而成; 山东省单倍型中 Hap7 由 Hap1 和 Hap2 的位点组合而成, Hap8 在 Hap1 基础上又有新的突变位点。4 个省份 (青海、上海、西藏、重庆) 有一种单倍型 Hap1, 8 个省份 (安徽、贵州、湖南、江西、陕西、新疆、四川、浙江) 有 2 种单倍型, 除新疆外, 都是由 Hap1 和 Hap2 组成; 5 个省份 (江苏、福建、湖北、宁夏、甘肃) 有 3 种单倍型。

### 2.3 群体遗传多样性和群体间遗传分化

将所有材料按地域划分为 8 个群体 (表 2), 分析表明, 群体间的遗传多样性差异明显, 1904 个序列的平均单倍型多样性 (Hd) 和平均核苷酸多样性 (Pi) 分别为 0.519 和 0.00210。从单倍型多样性和核苷酸多样性看, 国外群体最高 ( $0.6059 \pm 0.0236$  和  $0.002874 \pm 0.002308$ ), 国内材料间华东群体的遗传多样性最丰富, 东北群体的遗传多样性相对最低。

用 Arlequin v3.01 软件分析 Fst 值, 不同辣椒群体间的 Fst 值相差较大, 有些甚至为负值; 表明部分群体间存在较小基因流, 遗传分化明显; 部分表现为遗传分化不明显。华北和东北群体只与西北群体遗传分化不明显; 华东和华南群体都与华北、东北、西北群体分化明显; 华中群体与华东、华南、西南群体分化不明显; 西南群体与华东、华中及华南群体无分化; 除华南和华东群体与国外群体分化不显著外, 其他群体均与之表现遗传分化显著。

根据基因流和遗传分化程度 (Gst) 公式  $Nm =$

$(1/Gst-1)/4$  计算 Nm 值。由表 3 可知, 西南与华中 (892.6) 有较高水平基因交流, 其次是华中和华东 (247.3)、华南 (186.3) 有一定程度基因交流, 西南和华东 (110.4)、华南 (128.6) 存在一定基因交流。西北和华北 (43.2)、东北 (60.9), 国外与华东 (73.1)、华中 (57.4)、华南 (50.6)、西南 (43.5) 的基因流也比较大。东北与华东 (6.3)、华中 (7.6)、华南 (4.9)、西南 (6.3)、国外 (6.8) 及华南与西北 (7.5)、东北 (8.1) 的基因流偏小。

用 Dnaspv5.1 软件, 从单倍型数据分析, 8 个群体整体的平均基因流 (Nm) 为 12.20; 从序列信息分析, Nm 为 9.55。Nm 与 Fst 整体趋势相同, 可以看出部分群体间无遗传分化。AMOVA 分析表明, 总变异主要来源于群体内个体间的变异 (97.23%), 只有 2.77% 变异发生在群体间。

## 3 讨论

### 3.1 中国辣椒 *eIF4E* 基因遗传多样性分析

本试验研究了国内外共 1904 份辣椒材料 *eIF4E* 基因编码区 exon1 的序列, 共 278 bp, 检测到 14 个有义核苷酸突变位点, 将新发现的 *pvr2* 位点命名为单倍型 Hap1 ~ 16。739 份材料发生有义氨基酸突变, 可能与辣椒对 PVY 的抗性有关, 占总数的 39%, 这与前人抗 PVY 材料约有 40% 的结果接近<sup>[26]</sup>。不同的突变位点可能导致其对不同毒源的不同抗性<sup>[27]</sup>, 本研究并未检测这些具有新变异位点的材料的抗性, 但它们很可能为 PVY 及 TEV 的更多小种的新抗源。

表 2 中国及国外辣椒地理群体内遗传多样性参数

Table 2 Genetic diversity parameters within geographic populations of pepper in China and foreign countries

群体 Group name	样本数 No. of samples	单倍型数 No. of haplotypes	单倍型多样性 Haplotype diversity (Hd ± SD)	平均核苷酸差异数 Average number of pairwise differences (K ± SD)	核苷酸多样性 Nucleotide diversity (Pi ± SD)
华北 HB	200	4	0.5325 ± 0.0301	0.6017 ± 0.4815	0.002164 ± 0.001916
东北 DB	215	4	0.3644 ± 0.0357	0.3861 ± 0.3652	0.001389 ± 0.001454
华东 HD	239	6	0.5520 ± 0.0182	0.6435 ± 0.4984	0.002286 ± 0.001984
华中 HZ	532	5	0.5121 ± 0.0115	0.5407 ± 0.4487	0.001945 ± 0.001785
华南 HN	52	3	0.5241 ± 0.0261	0.5415 ± 0.4554	0.001948 ± 0.001818
西南 XN	314	6	0.4964 ± 0.0153	0.5308 ± 0.4439	0.001909 ± 0.001766
西北 XB	118	6	0.4547 ± 0.0448	0.5235 ± 0.4419	0.001883 ± 0.001760
国外 Foreign	234	8	0.6059 ± 0.0236	0.7989 ± 0.5799	0.002874 ± 0.002308
合计 Total	1904	17	0.519	0.583	0.00210

表 3 我国国家蔬菜种质资源库 8 个辣椒群体之间的 *Fst* 值、显著性及基因流Table 3 *Fst* value, significance and Nm between 8 geographic populations of pepper from National Vegetable Germplasm Resources Database

	华北 HB	东北 DB	华东 HD	华中 HZ	华南 HN	西南 XN	西北 XB	国外 Foreign
华北		20.1	13.2	12.0	8.1	9.3	43.2	13.0
东北	0.01955 *		6.3	7.6	4.9	6.3	60.9	6.8
华东	0.03233 *	0.06908 *		247.3	67.9	110.4	16.7	73.1
华中	0.04654 *	0.07134 *	-0.00067		186.3	892.6	22.6	57.4
华南	0.07503 *	0.13011 *	-0.00077	-0.00235		128.6	7.5	50.6
西南	0.04875 *	0.07288 *	0.00092	-0.00195	-0.00329	0.03062 *	16.7	43.5
西北	0.00555	0.00235	0.02657 *	0.03086 *	0.05998 *			17.3
国外	0.03268 *	0.06412 *	0.00257	0.00713 *	-0.00474	0.00793 *	0.02528 *	

\* 表示  $P < 0.05$ \* stands for  $P < 0.05$ 

前人通过结构模型预测突变位点都集中在 *eIF4E* 蛋白质 3D 结构 2 个相邻的区域:即区域 I 和区域 II。本研究的测序结果只包含区域 I;在区域 I 内发现新的突变位点第 71 位,未发现 66 位氨基酸的变异<sup>[19]</sup>。序列碱基突变全是替换,不存在插入或缺失。1904 个序列的平均单倍型多样性 (Hd) 和平均核苷酸多样性 (Pi) 分别为 0.519 和 0.00210。

Exon1 中变异的非保守氨基酸大多位于区域 I,说明区域 I 为植物抗病毒基因的核心区域,这与 C. Robaglia 等<sup>[28]</sup> 研究结果一致。C. Charron 等<sup>[19]</sup> 的数据进一步说明了区域 I 内氨基酸变异在辣椒中对 PVY 抗性的重要性。有趣的是,单倍型 Hap1 只发生一个氨基酸替换 (V67E),表明一个位点的改变就足以改变对 PVY 的抗性。

### 3.2 *eIF4E* 基因 exon1 序列不同地理区域差异

辣椒在我国的长期栽培和演化是我国辣椒资源 *eIF4E* 基因 exon1 序列多样性丰富的主要原因。云南地处低纬度高原,形成全省丰富多样的气候类型,加之民族的多样化,孕育出丰富的辣椒种质资源,这可能是其 *eIF4E* 基因多样性最丰富的主要原因。有关我国辣椒 PVY 发病情况的报导尚未多见,相关报导如烟草马铃薯 Y 病毒,在东北烟区、黄淮烟区危害最为严重<sup>[29]</sup>,由此推测,处于黄淮地区的河南省及山东省,辣椒受 PVY 危害严重,植物和毒源的共进化学从而形成较多单倍型,以适应外界环境。

### 3.3 中国辣椒 *eIF4E* 基因群体多样性分析

将所有材料按地域划分为 8 个群体,进一步研究 *eIF4E* 在群体间的多样性。从单倍型多样性和核苷酸多样性看,国外群体多样性最高;国内材料间华东群体的遗传多样性最丰富,东北群体的遗传多样

性相对较低。不同群体间遗传分化尺度分析结果表明不同的群体间有一定的基因流,表现遗传分化差异。在空间距离跨度近的地区,群体间整体呈现遗传分化不明显,表明存在适量的种子交流;在空间距离跨度远的地区,群体间遗传分化明显,表明空间隔离对群体的分化有一定影响。但也存在相反的情况:例如华北群体和东北群体只与西北群体差异小,表明这 2 个地区与其他地区品种交流可能较少,而西北地区从华北和东北品种交换较多。

基因流有助于提高群体内部和群体之间的遗传多样性,防止种群分化<sup>[30]</sup>,对物种形成及其适应性进化有积极影响<sup>[31]</sup>。基因流大小主要是靠种子传播、交换水平决定的<sup>[32]</sup>。在不同的区域中,频繁的引种、换种促进了辣椒遗传多样性的丰富及基因频率达到哈迪-温伯格平衡<sup>[33]</sup>。

目前国内辣椒 PVY 及其抗性的研究还较少,但马铃薯 Y 病毒属的种类繁多且危害严重,对今后辣椒育种是极大的挑战,对 *eIF4E* 基因的深入认识将可能为抗病育种带来更多抗源。因此,下一步研究应针对不同变异单倍型的材料进行 PVY 抗性鉴定,从而确定其抗性并验证该单倍型的功能,不断丰富我国抗 PVY 的辣椒种质。

### 参考文献

- [1] Murphy J F, Blauth J R, Livingstone K D, et al. Genetic mapping of the pvr1 locus in *Capsicum* spp. and evidence that distinct potyvirus resistance loci control responses that differ at the whole plant and cellular levels[J]. Mol Plant-Microbe Interact, 1998, 11 (10):943-951
- [2] Caranta C, Nemouchi G, Daubèze A M, et al. Resistance to PepMoV and PVY-0 from Avelar are controlled by distinct recessive genes and evidence for independence between pvr3 and pvr5[J]. Capsicum Eggplant Newsletter, 1999, 19:63-65
- [3] Caranta C, Thabuis A, Palloix A. Development of a CAPS marker for the Pvr4 locus; a tool for pyramiding potyvirus resistance genes

- in pepper[J]. *Genome*,1999,42(6):1111-1116
- [4] Gao Z, Johansen E, Evers S, et al. The potyvirus recessive resistance gene, *sbm1*, identifies a novel role for translation initiation factor *eIF4E* in cell-to-cell trafficking[J]. *Plant J*,2004,40(3):376-385
- [5] Kang B C, Yeam I, Frantz J D, et al. The *pvr1* locus in *Capsicum* encodes a translation initiation factor *eIF4E* that interacts with tobacco etch virus VPg[J]. *Plant J*,2005,42(3):392-405
- [6] Greenleaf W H. Pepper breeding[M]//Bassett M J. Breeding Vegetable Crops. Westport Connecticut:AVI Publishing Company Inc.,1986:67-134
- [7] Duprat A, Caranta C, Revers F, et al. The *Arabidopsis* eukaryotic initiation factor( iso)4E is dispensable for plant growth but required for susceptibility to potyviruses[J]. *Plant J*,2002,32(6):927-934
- [8] Rhoads R E. *eIF4E*: new family members, new binding partners, new roles[J]. *J Biol Chem*,2009,284(25):16711-16715
- [9] Ahlquist P, Noueir A O, Lee W M, et al. Host factors in positive-strand RNA virus genome replication[J]. *J Virol*,2003,77(15):8181-8186
- [10] Bushell M, Sarnow P. Hijacking the translation apparatus by RNA viruses[J]. *J Cell Biol*,2002,158(3):395-399
- [11] Léonard S, Plante D, Wittmann S, et al. Complex formation between potyvirus VPg and translation eukaryotic initiation factor 4E correlates with virus infectivity [J]. *J Virol*,2000,74(17):7730-7737
- [12] Wittmann S, Chatel H, Fortin M G, et al. Interaction of the viral protein genome linked of turnip mosaic potyvirus with the translational eukaryotic initiation factor( iso)4E of *Arabidopsis thaliana* using the yeast two-hybrid system [J]. *Virology*,1997,234(1):84-92
- [13] Ruffel S, Dussault M H, Palloix A, et al. A natural recessive resistance gene against potato virus Y in pepper corresponds to the eukaryotic initiation factor 4E (*eIF4E*) [J]. *Plant J*,2002,32(6):1067-1075
- [14] Ruffel S, Dussault M H, Duprat A, et al. The key role of the eukaryotic initiation factor 4E(*eIF4E*) in plant-potyvirus interactions [J]. *Biol Plant-microbe Interac*,2004,4:81-83
- [15] Ruffel S, Gallois J L, Lesage M L, et al. The recessive potyvirus resistance gene *pot-1* is the tomato orthologue of the pepper *pvr2-eIF4E* gene[J]. *Mol Genet Genomics*,2005,274(4):346-353
- [16] Nicaise V, German-Retana S, Sanjuán R, et al. The eukaryotic translation initiation factor 4E controls lettuce susceptibility to the potyvirus Lettuce mosaic virus[J]. *Plant Physiol*,2003,132(3):1272-1282
- [17] Robaglia C, Caranta C. Translation initiation factors: a weak link in plant RNA virus infection[J]. *Trends Plant Sci*,2006,11(1):40-45
- [18] Monzingo A F, Dhaliwal S, Dutt-Chaudhuri A, et al. The structure of eukaryotic translation initiation factor-4E from wheat reveals a novel disulfide bond [J]. *Plant Physiol*,2007,143(4):1504-1518
- [19] Charron C, Nicolai M, Gallois J L, et al. Natural variation and functional analyses provide evidence for co-evolution between plant *eIF4E* and potyviral VPg[J]. *Plant J*,2008,54(1):56-68
- [20] Ibiza V P, Cañizares J, Nuez F. EcoTILLING in *Capsicum* species: searching for new virus resistances [J]. *BMC Genomics*,2010,11(1):631
- [21] 杨永林, 田茹燕. 中国六省、市辣(甜)椒病毒种群及其分布的研究[J]. *中国病毒学*,1995,10(4):332-339
- [22] 李荣华, 夏岩石, 刘顺枝, 等. 改进的 CTAB 提取植物 DNA 方法[J]. *实验室研究与探索*,2009,28(9):14-16
- [23] Rozas J, Sánchez-DelBarrio J C, Messeguer X, et al. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods[J]. *Bioinformatics*,2003,19(18):2496-2497
- [24] Nei M. Molecular evolutionary genetics[M]. New York: Columbia University Press,1987
- [25] Excoffier L, Laval G, Schneider S. ARLEQUIN ver. 3. 0: An integrated software package for population genetics data analysis. [J] *Evol Bioinform*,2005,2(1):47-50
- [26] Kyle M M, Palloix A. Proposed revision of nomenclature for potyvirus-resistance genes in *Capsicum* [J]. *Euphytica*,1997,97(2):183-188
- [27] Rubio M, Nicolai M, Caranta C, et al. Allele mining in the pepper gene pool provided new complementation effects between *pvr2-eIF4E* and *pvr6-eIF( iso)4E* alleles for resistance to pepper veinlet mottle virus[J]. *J Gen Virol*,2009,90(11):2808-2814
- [28] Robaglia C, Caranta C. Translation initiation factors: a weak link in plant RNA virus infection[J]. *Trends Plant Sci*,2006,11(1):40-45
- [29] 高正良. 烟草马铃薯 Y 病毒病(PVY)的研究现状与防治对策[J]. *安徽农学通报*,2004,9(5):75-77
- [30] Slatkin M. Gene flow and the geographic structure of natural populations[J]. *Science*,1987,236(4803):787-792
- [31] 刘义飞, 黄宏文. 植物居群的基因流动态及其相关适应进化的研究进展[J]. *植物学报*,2009,44(3):351-362
- [32] Hamrick J L. Gene flow and distribution of genetic variation in plant populations[M]//Urbanska K M. Differentiation patterns in higher plants, London: Academic Press,1987:53-67
- [33] 曲若竹, 侯林, 吕红丽, 等. 群体遗传结构中的基因流[J]. *遗传*,2004,26(3):377-382