



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101730750 B

(45) 授权公告日 2013. 07. 10

(21) 申请号 200880023266. 0

(22) 申请日 2008. 04. 30

(30) 优先权数据

07290556. 5 2007. 05. 02 EP

07119649. 7 2007. 10. 30 EP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 01. 04

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2008/055374 2008. 04. 30

(87) PCT申请的公布数据

W02008/135510 EN 2008. 11. 13

(73) 专利权人 先正达参股股份有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72) 发明人 恩里科·G·A·林德斯

让·L·M·E·尼科利特

亨里克斯·J·范维杰克

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 张文辉

(51) Int. Cl.

C12Q 1/68(2006. 01)

A01H 5/00(2006. 01)

(56) 对比文件

W0 2006/038794 A, 2006. 04. 13, 说明书及权利要求书.

CN 1817104 A, 2006. 08. 16, 说明书及权利要求书.

M. N. Maruthi etc. 《Resistance of tomato and sweet-pepper genotypes to Tomato leaf curl Bangalore virus and its vector Bemisia tabaci》. 《International Journal of Pest

Management》. 2003, 第 49 卷 (第 4 期), 297-303.

Richard L. Fery etc. 《Resistance in Pepper(Capsicum annuum L.) to Western Flower Thrips[Frankliniella occidentalis(Pergande)]》.

《Hortscience》. 1991, 第 26 卷 (第 8 期), 1073-1074.

A. Thabuis etc. 《Marker-assisted introgression of 4 Phytophthora capsici resistance QTL alleles into a bell pepper line:validation of additive and epistatic effects》. 《Molecular Breeding》. 2004, 第 14 卷 9-20.

M. N. Maruthi etc. 《Resistance of tomato and sweet-pepper genotypes to Tomato leaf curl Bangalore virus and its vector Bemisia tabaci》. 《International Journal of Pest Management》. 2003, 第 49 卷 (第 4 期), 297-303.

Richard L. Fery etc. 《Resistance in Pepper(Capsicum annuum L.) to Western Flower Thrips[Frankliniella occidentalis(Pergande)]》.

《Hortscience》. 1991, 第 26 卷 (第 8 期), 1073-1074.

A. Thabuis etc. 《Marker-assisted introgression of 4 Phytophthora capsici resistance QTL alleles into a bell pepper line:validation of additive and epistatic effects》. 《Molecular Breeding》. 2004, 第 14 卷 9-20.

审查员 杨莹跃

权利要求书8页 说明书59页

序列表8页

(54) 发明名称

昆虫抗性植物

(57) 摘要

本发明涉及抗昆虫的新的椒类植物, 和所述植物的种子和果实。本发明还涉及制备和使用这些植物和它们的果实的方法。本发明进一步涉及

标记及其在标记辅助型育种中和用于鉴定昆虫抗性性状的用途。具体而言, 本发明提供栽培的辣椒(Capsicum annuum) 植物, 其对蓟马科和/或伯粉虱属的昆虫侵染是抗性的, 具体而言是中等抗性的, 但特别是对烟粉虱和西花蓟马的侵染。

1. 一种用于将至少一个与伯粉虱抗性相关的等位基因引入缺乏所述等位基因的辣椒植物中促成伯粉虱抗性的数量性状基因座(“QTL”)处的方法,包括:

a) 获得对伯粉虱侵染为中等抗性的第一辣椒植物,其中所述抗性可以在标准抗性测定法中评定,包括与所述伯粉虱抗性共分离的至少一个标记等位基因是通过下述 PCR 扩增产物表征的

i) 选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物:由 SEQ ID NO:1 的正向引物和 SEQ ID NO:2 的反向引物代表的引物对 1,其鉴定标记等位基因 1;由 SEQ ID NO:3 的正向引物和 SEQ ID NO:4 的反向引物代表的引物对 2,其鉴定标记等位基因 2;由 SEQ ID NO:5 的正向引物和 SEQ ID NO:6 的反向引物代表的引物对 3,其鉴定标记等位基因 3;由 SEQ ID NO:7 的正向引物和 SEQ ID NO:8 的反向引物代表的引物对 4,其鉴定标记等位基因 4;由 SEQ ID NO:9 的正向引物和 SEQ ID NO:10 的反向引物代表的引物对 5,其鉴定标记等位基因 5;和由 SEQ ID NO:11 的正向引物和 SEQ ID NO:12 的反向引物代表的引物对 6,其鉴定标记等位基因 6;或

ii) 选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物:由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记等位基因 7;由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记等位基因 8;由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记等位基因 9;由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记等位基因 10;由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记等位基因 11;由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记等位基因 12;和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记等位基因 13;或

iii) i) 和 ii) 的组合;

b) 将所述第一辣椒植物与第二辣椒植物杂交,其中所述第二辣椒植物缺乏所述核酸;并且

c) 鉴定由所述杂交产生的、展现出增加的对伯粉虱的抗性并且包含与所述伯粉虱抗性共分离的至少一个标记等位基因的植物。

2. 一种用于将至少一个等位基因引入缺乏所述等位基因的辣椒植物中促成蓟马抗性的数量性状基因座(“QTL”)处的方法,包括:

a) 获得对蓟马侵染为中等抗性的第一辣椒植物,其中所述抗性可以在标准抗性测定法中评定;包括与所述蓟马抗性共分离的至少一个标记等位基因是通过选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物表征的:由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记等位基因 7;由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记等位基因 8;由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记等位基因 9;由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记等位基因 10;由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记等位基因 11;由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记等位基因 12;和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13,其

鉴定标记等位基因 13；

b) 将所述辣椒属的第一植物,特别是辣椒植物,与第二辣椒植物杂交,其中所述第二辣椒植物缺乏所述核酸;并且

c) 鉴定由所述杂交产生的、展现出增加的对蓟马的抗性并且包含与所述蓟马抗性共分离的至少一个标记等位基因的植物。

3. 一种用于将至少第一等位基因在促成伯粉虱抗性的数量性状基因座(" QTL")处和至少第二等位基因在促成蓟马抗性的数量性状基因座(" QTL")处引入缺乏所述等位基因的辣椒植物中的方法,包括:

a) 获得对伯粉虱和 / 或蓟马侵染为中等抗性的第一辣椒植物,其中所述抗性可以在标准抗性测定法中评定,包括与所述伯粉虱抗性共分离的至少一个标记等位基因是通过选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物表征的:由 SEQ ID NO:1 的正向引物和 SEQ ID NO:2 的反向引物代表的引物对 1,其鉴定标记等位基因 1;由 SEQ ID NO:3 的正向引物和 SEQ ID NO:4 的反向引物代表的引物对 2,其鉴定标记等位基因 2;由 SEQ ID NO:5 的正向引物和 SEQ ID NO:6 的反向引物代表的引物对 3,其鉴定标记等位基因 3;由 SEQ ID NO:7 的正向引物和 SEQ ID NO:8 的反向引物代表的引物对 4,其鉴定标记等位基因 4;由 SEQ ID NO:9 的正向引物和 SEQ ID NO:10 的反向引物代表的引物对 5,其鉴定标记等位基因 5;和由 SEQ ID NO:11 的正向引物和 SEQ ID NO:12 的反向引物代表的引物对 6,其鉴定标记等位基因 6;和

包括与所述伯粉虱和 / 或蓟马抗性共分离的至少一个标记等位基因是通过选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物表征的:由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记等位基因 7;由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记等位基因 8;由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记等位基因 9;由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记等位基因 10;由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记等位基因 11;由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记等位基因 12;和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记等位基因 13;

b) 将所述第一辣椒植物,与第二辣椒植物杂交,其中所述第二辣椒植物缺乏所述核酸;并且

c) 鉴定由所述杂交产生的、展现出增加的对伯粉虱和蓟马的抗性并且包含至少两个与所述伯粉虱和蓟马抗性共分离的标记等位基因的植物。

4. 根据权利要求 1-3 中任一项的方法,其中所述标记等位基因已经重组去除并且因此不再存在于子代植物的基因组中。

5. 权利要求 1-4 中任一项的方法,进一步包括选择步骤 c) 中鉴定的辣椒植物。

6. 前述权利要求中任一项的方法,其中所述第一辣椒植物是品系 061M4387 的植物或其子代,将所述品系 061M4387 的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏。

7. 可以获得自品系 061M4387 的与伯粉虱抗性相关的 QTL 将伯粉虱抗性赋予缺乏所述有利等位基因的辣椒植物的用途,将所述品系 061M4387 的代表性种子以登录号 NCIMB

41428 保藏 ;其中所述 QTL 遗传连锁于与所述伯粉虱抗性共分离的至少一个标记等位基因并且通过下述 PCR 扩增产物表征的

i) 选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物 :由 SEQ ID NO :1 的正向引物和 SEQ ID NO :2 的反向引物代表的引物对 1,其鉴定标记等位基因 1 ;由 SEQ ID NO :3 的正向引物和 SEQ ID NO :4 的反向引物代表的引物对 2,其鉴定标记等位基因 2 ;由 SEQ ID NO :5 的正向引物和 SEQ ID NO :6 的反向引物代表的引物对 3,其鉴定标记等位基因 3 ;由 SEQ ID NO :7 的正向引物和 SEQ ID NO :8 的反向引物代表的引物对 4,其鉴定标记等位基因 4 ;由 SEQ ID NO :9 的正向引物和 SEQ ID NO :10 的反向引物代表的引物对 5,其鉴定标记等位基因 5 ;和由 SEQ ID NO :11 的正向引物和 SEQ ID NO :12 的反向引物代表的引物对 6,其鉴定标记等位基因 6 ;或

ii) 选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物 :由 SEQ ID NO :13 的正向引物和 SEQ ID NO :14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记等位基因 7 ;由 SEQ ID NO :15 的正向引物和 SEQ ID NO :16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记等位基因 8 ;由 SEQ ID NO :17 的正向引物和 SEQ ID NO :18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记等位基因 9 ;由 SEQ ID NO :19 的正向引物和 SEQ ID NO :20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记等位基因 10 ;由 SEQ ID NO :21 的正向引物和 SEQ ID NO :22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记等位基因 11 ;由 SEQ ID NO :23 的正向引物和 SEQ ID NO :24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记等位基因 12 ;和由 SEQ ID NO :25 的正向引物和 SEQ ID NO :26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记等位基因 13。

8. 可以获得自品系 061M4387 的与蓟马抗性相关的 QTL 将蓟马抗性赋予缺乏所述有利等位基因的辣椒植物的用途,将所述品系 061M4387 的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏 ;其中所述 QTL 遗传连锁于与所述蓟马抗性共分离的至少一个标记等位基因并且由选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物表征的 :由 SEQ ID NO :13 的正向引物和 SEQ ID NO :14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记等位基因 7 ;由 SEQ ID NO :15 的正向引物和 SEQ ID NO :16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记等位基因 8 ;由 SEQ ID NO :17 的正向引物和 SEQ ID NO :18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记等位基因 9 ;由 SEQ ID NO :19 的正向引物和 SEQ ID NO :20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记等位基因 10 ;由 SEQ ID NO :21 的正向引物和 SEQ ID NO :22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记等位基因 11 ;由 SEQ ID NO :23 的正向引物和 SEQ ID NO :24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记等位基因 12 ;和由 SEQ ID NO :25 的正向引物和 SEQ ID NO :26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记等位基因 13。

9. 生产椒的果实的方法,包括 :

a) 种植通过权利要求 1-6 中任一项的方法获得的辣椒植物,其中所述抗性能够在标准抗性测定法中评定 ;

b) 允许所述植物结果 ;和

c) 收获所述植物的果实。

10. 一种生产椒的种子的方法,包括 :

a) 种植通过权利要求 1-6 中任一项的方法获得的辣椒植物,其中所述抗性能够在标准抗性测定法中评定 ;

- b) 收获所述植物的果实 ; 和
- c) 从所述果实提取种子。

11. 一种生产对伯粉虱展现抗性的椒类植物的方法, 其中所述植物在染色体 3 上促成伯粉虱抗性的数量性状基因座 (" QTL") 处包含与伯粉虱抗性相关的等位基因 ; 特别是在源自辣椒品系 061M4387 的 QTL 处, 将所述品系 061M4387 的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏 ; 或源自其包含所述 QTL 的子代或祖先, 所述方法包括步骤 :

- a) 提供对伯粉虱易感的受体椒类植物或不含赋予对伯粉虱侵染的抗性的 QTL 等位基因的植物 ;
- b) 提供由于在染色体 3 和 / 或染色体 5 上存在抗性 QTL 等位基因而对伯粉虱侵染展现出抗性的供体椒类植物 ;
- c) 将所述受体和供体植物杂交以生成子代植物, 其进行分离而存在有利的 QTL 等位基因 ;
- d) 筛选子代植物的基因组在染色体 3 和 / 或染色体 5 上所述 QTL 区域中的重组 ;

其中步骤 b) 中的供体植物包括 QTL, 其中所述 QTL 遗传连锁于与所述伯粉虱抗性共分离的至少一个标记等位基因并且通过下述 PCR 扩增产物表征的

i) 选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物 : 由 SEQ ID NO : 1 的正向引物和 SEQ ID NO : 2 的反向引物代表的引物对 1, 其鉴定标记等位基因 1 ; 由 SEQ ID NO : 3 的正向引物和 SEQ ID NO : 4 的反向引物代表的引物对 2, 其鉴定标记等位基因 2 ; 由 SEQ ID NO : 5 的正向引物和 SEQ ID NO : 6 的反向引物代表的引物对 3, 其鉴定标记等位基因 3 ; 由 SEQ ID NO : 7 的正向引物和 SEQ ID NO : 8 的反向引物代表的引物对 4, 其鉴定标记等位基因 4 ; 由 SEQ ID NO : 9 的正向引物和 SEQ ID NO : 10 的反向引物代表的引物对 5, 其鉴定标记等位基因 5 ; 和由 SEQ ID NO : 11 的正向引物和 SEQ ID NO : 12 的反向引物代表的引物对 6, 其鉴定标记等位基因 6 ; 或

ii) 选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物 : 由 SEQ ID NO : 13 的正向引物和 SEQ ID NO : 14 的反向引物代表的引物对 7, 其鉴定标记等位基因 7 ; 由 SEQ ID NO : 15 的正向引物和 SEQ ID NO : 16 的反向引物代表的引物对 8, 其鉴定标记等位基因 8 ; 由 SEQ ID NO : 17 的正向引物和 SEQ ID NO : 18 的反向引物代表的引物对 9, 其鉴定标记等位基因 9 ; 由 SEQ ID NO : 19 的正向引物和 SEQ ID NO : 20 的反向引物代表的引物对 10, 其鉴定标记等位基因 10 ; 由 SEQ ID NO : 21 的正向引物和 SEQ ID NO : 22 的反向引物代表的引物对 11, 其鉴定标记等位基因 11 ; 由 SEQ ID NO : 23 的正向引物和 SEQ ID NO : 24 的反向引物代表的引物对 12, 其鉴定标记等位基因 12 ; 和由 SEQ ID NO : 25 的正向引物和 SEQ ID NO : 26 的反向引物代表的引物对 13, 其鉴定标记等位基因 13。

12. 一种生产对蓟马展现抗性的椒类植物的方法, 其中所述植物在染色体 5 上促成蓟马抗性的数量性状基因座 (" QTL") 处包含与蓟马抗性相关的等位基因 ; 特别是在源自辣椒品系 061M4387 的 QTL 处, 将所述品系 061M4387 的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏 ; 或源自其包含所述 QTL 的子代或祖先, 所述方法包括步骤 :

- a) 提供对蓟马易感的受体椒类植物或不含赋予对蓟马侵染的抗性的 QTL 等位基因的植物 ;
- b) 提供由于在染色体 5 上存在抗性 QTL 等位基因而对蓟马侵染展现出抗性的供体椒类

植物；

c) 将所述受体和供体植物杂交以生成子代植物,其进行分离而存在有利的 QTL 等位基因；

d) 筛选子代植物的基因组在染色体 5 上所述 QTL 区域中的重组；

其中步骤 b) 中的供体植物包括 QTL,其中所述 QTL 遗传连锁于与所述蓟马抗性共分离的至少一个标记等位基因并且由选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物表征的:由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记等位基因 7;由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记等位基因 8;由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记等位基因 9;由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记等位基因 10;由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记等位基因 11;由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记等位基因 12;和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记等位基因 13。

13. 一种生产对伯粉虱和蓟马展现抗性的椒类植物的方法,其中所述植物在位于染色体 3 上促成伯粉虱抗性的数量性状基因座("QTL")处包含与伯粉虱抗性相关的等位基因并且在位于染色体 5 上的促成蓟马抗性的数量性状基因座("QTL")处包含与蓟马抗性相关的等位基因;其源自辣椒品系 061M4387,将所述品系 061M4387 的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏;或源自其包含所述 QTL 的子代或祖先,所述方法包括步骤:

a) 提供对伯粉虱和蓟马易感的受体椒类植物或不含赋予对伯粉虱和蓟马侵染的抗性的 QTL 等位基因的植物；

b) 分别提供由于在染色体 3 和 5 上存在抗性 QTL 等位基因而对伯粉虱和蓟马侵染展现出抗性的供体椒类植物；

c) 将所述受体和供体植物杂交以生成子代植物,其进行分离而存在有利的 QTL 等位基因；

d) 筛选子代植物的基因组在染色体 3 和 / 或染色体 5 上所述 QTL 区域中的重组；

其中步骤 b) 中的供体植物包括 QTL,其中所述 QTL 遗传连锁于与所述伯粉虱抗性共分离的至少一个标记等位基因并且通过选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物表征的:由 SEQ ID NO:1 的正向引物和 SEQ ID NO:2 的反向引物代表的引物对 1,其鉴定标记等位基因 1;由 SEQ ID NO:3 的正向引物和 SEQ ID NO:4 的反向引物代表的引物对 2,其鉴定标记等位基因 2;由 SEQ ID NO:5 的正向引物和 SEQ ID NO:6 的反向引物代表的引物对 3,其鉴定标记等位基因 3;由 SEQ ID NO:7 的正向引物和 SEQ ID NO:8 的反向引物代表的引物对 4,其鉴定标记等位基因 4;由 SEQ ID NO:9 的正向引物和 SEQ ID NO:10 的反向引物代表的引物对 5,其鉴定标记等位基因 5;和由 SEQ ID NO:11 的正向引物和 SEQ ID NO:12 的反向引物代表的引物对 6,其鉴定标记等位基因 6;和

其中所述 QTL 遗传连锁于与所述蓟马抗性共分离的至少一个标记等位基因并且选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物表征的:由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记等位基因 7;由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记等位基因 8;由 SEQ ID NO:17

的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9, 其鉴定标记等位基因 9; 由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10, 其鉴定标记等位基因 10; 由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11, 其鉴定标记等位基因 11; 由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12, 其鉴定标记等位基因 12; 和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13, 其鉴定标记等位基因 13。

14. 根据权利要求 11-13 中任一项的方法, 其中对基因组的筛选使用分别与染色体 3 和 / 或染色体 5 在遗传上连锁的分子标记进行。

15. 根据权利要求 11-13 的方法, 其中对基因组的筛选使用分子标记进行, 所述分子标记遗传连锁于与所述伯粉虱抗性共分离的至少一个标记等位基因并且通过选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物表征的: 由 SEQ ID NO:1 的正向引物和 SEQ ID NO:2 的反向引物代表的引物对 1, 其鉴定标记等位基因 1; 由 SEQ ID NO:3 的正向引物和 SEQ ID NO:4 的反向引物代表的引物对 2, 其鉴定标记等位基因 2; 由 SEQ ID NO:5 的正向引物和 SEQ ID NO:6 的反向引物代表的引物对 3, 其鉴定标记等位基因 3; 由 SEQ ID NO:7 的正向引物和 SEQ ID NO:8 的反向引物代表的引物对 4, 其鉴定标记等位基因 4; 由 SEQ ID NO:9 的正向引物和 SEQ ID NO:10 的反向引物代表的引物对 5, 其鉴定标记等位基因 5; 和由 SEQ ID NO:11 的正向引物和 SEQ ID NO:12 的反向引物代表的引物对 6, 其鉴定标记等位基因 6。

16. 根据权利要求 11-13 的方法, 其中对基因组的筛选使用分子标记进行, 所述分子标记遗传连锁于与所述伯粉虱和 / 或蓟马抗性共分离的至少一个标记等位基因并且通过选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物表征的: 由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7, 其鉴定标记等位基因 7; 由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8, 其鉴定标记等位基因 8; 由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9, 其鉴定标记等位基因 9; 由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10, 其鉴定标记等位基因 10; 由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11, 其鉴定标记等位基因 11; 由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12, 其鉴定标记等位基因 12; 和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13, 其鉴定标记等位基因 13 标记等位基因。

17. 根据权利要求 11-13 的方法, 其中鉴定并选择的子代植物在所述 QTL 处包含仍赋予伯粉虱抗性的减小的基因组区段, 其中在供体植物中与所述 QTL 连锁的至少一个标记基因座处与至少一个标记等位基因的连锁已经被破坏, 其中标记等位基因是通过选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或寡核苷酸引物对的 PCR 扩增产物表征的: i) 选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物: 由 SEQ ID NO:1 的正向引物和 SEQ ID NO:2 的反向引物代表的引物对 1, 其鉴定标记等位基因 1; 由 SEQ ID NO:3 的正向引物和 SEQ ID NO:4 的反向引物代表的引物对 2, 其鉴定标记等位基因 2; 由 SEQ ID NO:5 的正向引物和 SEQ ID NO:6 的反向引物代表的引物对 3, 其鉴定标记等位基因 3; 由 SEQ ID NO:7 的正向引物和 SEQ ID NO:8 的反向引物代表的引物对 4, 其鉴定标记等位基因 4; 由 SEQ ID NO:9 的正向引物和 SEQ ID NO:10 的反向引物代表的引物对 5, 其鉴定标记等位基因 5; 和由 SEQ ID NO:11 的正向

引物和 SEQ ID NO :12 的反向引物代表的引物对 6,其鉴定标记等位基因 6 ;或

ii) 选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物 :由 SEQ ID NO :13 的正向引物和 SEQ ID NO :14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记等位基因 7 ;由 SEQ ID NO :15 的正向引物和 SEQ ID NO :16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记等位基因 8 ;由 SEQ ID NO :17 的正向引物和 SEQ ID NO :18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记等位基因 9 ;由 SEQ ID NO :19 的正向引物和 SEQ ID NO :20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记等位基因 10 ;由 SEQ ID NO :21 的正向引物和 SEQ ID NO :22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记等位基因 11 ;由 SEQ ID NO :23 的正向引物和 SEQ ID NO :24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记等位基因 12 ;和由 SEQ ID NO :25 的正向引物和 SEQ ID NO :26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记等位基因 13。

18. 根据权利要求 11-13 的方法,其中鉴定并选择的子代植物在所述 QTL 处包含仍赋予蓟马抗性的减小的基因组区段,其中在供体植物中与所述 QTL 连锁的至少一个标记基因座处与至少一个标记等位基因的连锁已经被破坏,其中标记等位基因是通过选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或寡核苷酸引物对的 PCR 扩增产物表征的 :由 SEQ ID NO :13 的正向引物和 SEQ ID NO :14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记等位基因 7 ;由 SEQ ID NO :15 的正向引物和 SEQ ID NO :16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记等位基因 8 ;由 SEQ ID NO :17 的正向引物和 SEQ ID NO :18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记等位基因 9 ;由 SEQ ID NO :19 的正向引物和 SEQ ID NO :20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记等位基因 10 ;由 SEQ ID NO :21 的正向引物和 SEQ ID NO :22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记等位基因 11 ;由 SEQ ID NO :23 的正向引物和 SEQ ID NO :24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记等位基因 12 ;和由 SEQ ID NO :25 的正向引物和 SEQ ID NO :26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记等位基因 13。

19. 根据权利要求 17 和 18 的方法,其中鉴定并选择的子代植物在所述 QTL 处包含仍赋予伯粉虱和 / 或蓟马抗性的减小的基因组区段,其中与全部标记等位基因的连锁已经被破坏。

20. 根据权利要求 11-19 中任一项的方法,其中在所述 QTL 处包含仍赋予伯粉虱和 / 或蓟马抗性的基因组区段的植物,是通过基于标记的筛选或通过进行抗性测定或通过二者的组合来鉴定的,特别是通过基于标记的筛选,其中使用的标记位于所述 QTL 区中并且与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,条件是所述标记分离在相同的群体中。

21. 根据权利要求 11-19 中任一项的方法,其中所述子代植物是分离群的植物,所述分离群是通过获得自步骤 c) 中所述杂交的 F1 植物的自花授粉或通过将获得自所述杂交的 F1 植物与另一椒类植物杂交而产生的。

22. 一种鉴定辣椒植物中促成伯粉虱抗性的数量性状基因座 (" QTL ") 的方法,包括在 PCR 反应中使用

a) 选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或 PCR 寡核苷酸引物对 :由 SEQ ID NO :1 的正向引物和 SEQ ID NO :2 的反向引物代表的引物对 1,其鉴定标记基因座 1 ;由 SEQ ID NO :3 的正向引物和 SEQ ID NO :4 的反向引物代表的引物对 2,其鉴定标记基因座 2 ;由 SEQ ID NO :5 的正向引物和 SEQ ID NO :6 的反向引物代表的引物对 3,其鉴定标记基因座 3 ;由 SEQ ID NO :7 的正向引物和 SEQ ID NO :8 的反向引物代表的引物对 4,其鉴定标记基因座 4 ;由 SEQ ID

NO:9 的正向引物和 SEQ ID NO:10 的反向引物代表的引物对 5,其鉴定标记基因座 5 ;和由 SEQ ID NO:11 的正向引物和 SEQ ID NO:12 的反向引物代表的引物对 6,其鉴定标记基因座 6 ;和 / 或

b) 选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或 PCR 寡核苷酸引物对 :由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7 ;由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8 ;由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9 ;由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10 ;由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11 ;由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12 ;和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13。

23. 一种鉴定辣椒植物中促成蓟马抗性的数量性状基因座 (" QTL") 的方法,包括在 PCR 反应中使用选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或 PCR 寡核苷酸引物对 :由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7 ;由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8 ;由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9 ;由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10 ;由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11 ;由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12 ;和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13。

昆虫抗性植物

[0001] 本发明涉及抗昆虫的新的椒类植物 (pepper plant), 还涉及所述植物的种子和果实。本发明还涉及制备和使用这些植物和它们的果实的方法。本发明进一步涉及标记及其在标记辅助型育种中和用于鉴定昆虫抗性性状的用途。

[0002] 椒类是全球范围内的重要作物, 其估计的商业价值为每年约 5 亿美元。椒类是来自辣椒属 (genus *Capsicum*) 的茄科植物 (Solanaceas), 其包括辣椒 (*Capsicum annuum*)、小米椒 (*Capsicum frutescens*) 和灯笼椒 (*Capsicum chinense*) 几个种。商业化的椒类是二倍体, $n = 12$ 条染色体。椒类在世界各地作为甜椒 (sweet pepper) 如灯笼椒 (bell pepper); 或作为刺激性辣椒 (pungent chili 椒类)、墨西哥辣椒 (jalapeno 椒类) 和 TABASCO® 椒; 或作为各种颜色干粉如辣椒粉 (paprika) 的来源被栽培和使用。栽培的椒的类型可以通过刺激性 (pungency)、果实形状、颜色和大小来区分 (参见例如美国专利 6, 498, 287)。

[0003] 椒的果实, 通常也称作“椒”, 是高度易腐的。它们倾向于丧失水分并起皱, 这使它们对消费者没有吸引力。椒类植物还是多种疾病的宿主。这些疾病降低作物的产量, 但也影响果实的外观, 使它们滞销。具体而言, 昆虫引起实质性作物损害, 导致实质性的商业损失。在一些情况下, 昆虫直接影响植物或果实, 在其它情况下它们作为植物病毒的载体发挥作用。通常, 昆虫损害使植物生长减少, 但是一般不杀死该植物。化学控制和作物轮作能够用于降低由昆虫引起的损害, 但是这些策略是昂贵的, 且有时不方便。

[0004] 在影响椒的虫害中, 白粉虱 (white fly) 烟粉虱 (*Bemisia tabaci*) (半翅目 (Hemiptera): 粉虱科 (Aleyrodidae)) 和多种蓟马的种例如西花蓟马 (Western Flower Thrips): 西花蓟马 (*Frankliniella occidentalis*), 葱蓟马 (Onion Thrips): 葱蓟马 (*Thrips tabaci*), 辣椒蓟马 (Chilli Thrips) 小黄蓟马 (*Scirtothrips dorsalis*), 和节瓜蓟马 (Melon Thrips) 棕榈蓟马 (*Thrips palmi*) 特别具有破坏性。

[0005] 存在大约 5000 种已有描述的蓟马的种 (缨翅目 (Order Thysanoptera) 中的昆虫)。摄食高等植物的种大多存在于蓟马科 (Family Thripidae) 中。这个科包括重要的害虫种, 包括田间和温室中的观赏植物、蔬菜和水果作物的严重害虫。蓟马的摄食和产卵导致蔬菜叶和果实变形、变色、银化和铜化 (silvering and bronzing), 降低它们的市场价值。蓟马的一些种是布尼病毒 (bunyavirus) (布尼病毒科 (family Bunyaviridae), 番茄斑萎病毒属 (genus *Tospovirus*), 典型种番茄斑萎病)。几种传染病每年都发生在世界上热带和亚热带地区的食用作物、纤维作物和观赏性作物上。

[0006] 西花蓟马 (*Frankliniella occidentalis*) 是一种温室中的机会性虫害, 其严重侵染众多作物。西花蓟马在过去二十年中几乎遍布全世界。这种蓟马的种非常具有损害性并且难以控制。其易于在椒上繁殖并且对从苗圃早期直至收获结束的植株、花和果实造成物理损害。幼虫和成虫摄食叶、芽、花和果实的上皮细胞。它们侵染果皮并且使市场价值贬低。高价值温室作物如蔬菜特别容易遭受与蓟马损害有关的经济损失。蓟马也是破坏性病毒番茄斑萎病病毒 (TSWV) 的有效载体, 所述病毒给种植者造成很大损失。受感染的植物在植株和果实上呈现严重的花斑和坏死。

[0007] 蓟马难以藉由化学产品控制,因为所述昆虫对过去 15 年内使用的几种杀虫剂发展出了抗性。在温室条件下,维持作物中低水平蓟马的生物捕食者(或者是在热的条件下的小花蝽 (*Orius*),或者是在较冷的条件下的钝绥螨 (*Amblyseius*))的使用是一种广泛传播但并非总是有效的实践。

[0008] 对于白粉虱,烟粉虱,至少已经描述了两种生物型:B 型,其与银叶粉虱 (*Bemisia argentifolii*),以及 Q 型。

[0009] 对伯粉虱 (*Bemisia*) 和蓟马的控制特别困难,也是因为宿主植物的范围广泛。伯粉虱和蓟马的种攻击广泛多样的蔬菜作物,包括番茄、豆 (bean)、黄瓜 (cucumber)、甜瓜 (melon)、苦瓜 (bitter melon)、辣椒 (capsicum)、茄子 (eggplant)、南瓜 (pumpkin)、笋瓜 (squash) 和夏季南瓜 (zucchini)。辣椒属于受到最严重侵染的作物。

[0010] 由于对植株和果实的损害和对破坏性病毒的传播,对于方便且在经济商可以承受的保护椒类作物免于这些害虫的策略存在尚未满足的需求。宿主植物抗性对于伯粉虱和蓟马是一种良好的控制策略。其是一种对使用杀虫剂的环境友好型替代,并且可以增加生物控制选择的效率,且促成成功的综合害虫管控程序。

[0011] 本发明通过提供抗性椒类植物而致力于这种需求,所述抗性椒类植物对昆虫吸引力较低和/或能够抗昆虫侵染和/或发育如,例如,产卵和/或蛹的发育,并且将因此受到程度可观的免于昆虫侵染的保护,特别是免于白粉虱烟粉虱和/或蓟马的侵染。

[0012] 本发明提供栽培的辣椒植物,其对蓟马科和/或伯粉虱属的昆虫的侵染,但尤其是对烟粉虱和西花蓟马的侵染,是抗性的,特别是中等抗性的。

[0013] “对伯粉虱侵染的抗性”或“伯粉虱抗性植物”是指能够抗所述昆虫攻击、侵染或群集 (colonization) 的植物。可以对某种植物展现的抗性水平进行评分,例如通过标准化的昆虫抗性测定法 (standardized Insect Resistance Assay) 的手段,如本文的下文实施例 2A 中所述,使用评定侵染严重性的 1-9 的等级。

[0014] 在一个实施方案中,本发明提供栽培的辣椒植物,其对伯粉虱侵染是抗性的,特别是中等抗性的,其中所述抗性能够在标准抗性测定法中评定,特别是如下文实施例 2A 中所述的测定法,并且当在以统计学显著程度相同的测定法中并在相同环境条件下,特别是在相同昆虫压力下评定时,其中获得的抗性得分与使用品系 061M4387 的辣椒植物可以获得的得分相差不超过 3 个等级,特别是不超过 2 个等级,但尤其是不超过 1 个等级,将所述品系 061M4387 的辣椒植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏。

[0015] 在一个实施方案中,提供栽培的辣椒植物,其能够抗植物上的昆虫发育,特别是产卵和/或蛹发育,从而当在以统计学显著程度相同的测定法中并在相同环境条件下,特别是在相同昆虫压力下评定时,使得在标准抗性测定法,特别是如下文实施例 2A 中所述的测定法中测定的植物叶上的蛹数目与使用品系 061M4387 的辣椒植物可以获得的蛹数目相差不超过 20 倍 (a factor of 20),特别是不超过 15 倍,更特别是不超过 10 倍,甚至更特别是不超过 5 倍,但尤其是不超过 2 倍,将所述品系 061M4387 的辣椒植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏。

[0016] 在一个实施方案中,提供伯粉虱抗性辣椒植物,当在以统计学显著程度相同的测定法中并在相同环境条件下,特别是在相同昆虫压力下评定时,所述伯粉虱抗性辣椒植物能够以与品系 061M4387 的辣椒植物基本上相同的程度抗植物上的昆虫发育,特别是产卵

和 / 或蛹发育,将所述品系 061M4387 的辣椒植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏。

[0017] 在一个实施方案中,提供伯粉虱抗性辣椒植物,其能够抗植物上的昆虫发育,特别是产卵和 / 或蛹发育,其中所述抗性能够在标准抗性测定法中,特别是在如下文实施例 2A 中所述的测定法中评定,并且其中当在以统计学显著程度相同的测定法中并在相同环境条件下,特别是在相同昆虫压力下评定时,获得的抗性得分与使用标准易感性商业化品种如例如 Vergasa 或 Bikingo 高至少 2 个等级,特别是至少 3 个等级,更特别是至少 4 个等级,但尤其是至少 5 个等级。

[0018] 在一个实施方案中,提供栽培的辣椒植物,其对蓟马侵染,特别是对西花蓟马的侵染,是抗性的,特别是中等抗性的,特别是通过防止因蓟马摄食所述辣椒植物的叶、芽、花和果实的上皮细胞所引起的植物损害,所述损害导致银化 (silvering)、叶色丧失和发育中的果实变形。辣椒属 (Capsicum) 植物防止因蓟马引起的摄食损害的能力可以在标准抗性测定法中,特别是如下文实施例 2B 中所述的测定法中,通过按照范围 1-9 的等级测定银化损害的程度来评定。

[0019] 在本发明的一个实施方案中,提供栽培的辣椒植物,其对蓟马侵染,特别是西花蓟马的侵染是抗性的,特别是中等抗性的,特别是通过防止因蓟马摄食所述辣椒植物的叶、芽、花和果实的上皮细胞所引起的植物损害,其中所述抗性可以在标准抗性测定法中,特别是如下文实施例 2B 中所述的测定法中评定,并且其中当在以统计学显著程度相同的测定法中并在相同环境条件下,特别是在相同昆虫压力下评定时,获得的抗性得分与使用品系 061M4387 的辣椒植物可以获得的得分相差不超过 2 个等级,特别是不超过 1 个等级,但尤其是不超过 0.5 个等级,将所述品系 061M4387 的辣椒植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏。

[0020] 在本发明的一个实施方案中,本发明提供栽培的辣椒植物,其对蓟马侵染,特别是西花蓟马的侵染是抗性的,特别是中等抗性的,特别是通过防止因蓟马摄食所述辣椒植物的叶、芽、花和果实的上皮细胞所引起的植物损害,其中所述抗性可以在标准抗性测定法中,特别是如下文实施例 2B 中所述的测定法中评定,并且当在以统计学显著程度相同的测定法中并在相同环境条件下,特别是在相同昆虫压力下评定时,其中观察到的银化损害与品系 061M4387 的辣椒植物上展现的所述损害相差不超过 8%,特别是不超过 5%,更特别是不超过 2%,甚至更特别是不超过 1%,但尤其是不超过 0.5%,将所述品系 061M4387 的辣椒植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏。

[0021] 在本发明的一个实施方案中,本发明提供栽培的辣椒植物,当在以统计学显著程度相同的测定法中并在相同环境条件下,特别是在相同昆虫压力下评定时,所述栽培的辣椒植物与品系 061M4387 的辣椒植物以基本上相同的程度对蓟马侵染,特别是西花蓟马的侵染有抗性,特别是有中等抗性,特别是通过防止因蓟马摄食所述辣椒植物的叶、芽、花和果实的上皮细胞所引起的植物损害,将所述品系 061M4387 的辣椒植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏。

[0022] 在一个实施方案中,提供栽培的辣椒植物,其对伯粉虱和蓟马侵染,特别是对烟粉虱和西花蓟马的侵染是抗性的,特别是中等抗性的,特别是分别通过防止伯粉虱产卵和 / 或蛹发育和通过防止因蓟马摄食所述辣椒植物的叶、芽、花和果实的上皮细胞所引起的植

物损害,其中所述抗性可以在标准抗性测定法中,特别是如下文实施例 2A 和 2B 中所述的测定法中评定,并且其中,当在以统计学显著程度相同的测定法中并在相同环境条件下,特别是在相同昆虫压力下评定时,对于伯粉虱,获得的抗性得分与使用品系 061M4387 的辣椒植物可以获得的得分相差不超过 3 个等级,特别是不超过 2 个等级,但尤其是不超过 1 个等级,将所述品系 061M4387 的辣椒植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏,并且,对于蓟马,获得的抗性得分与使用品系 061M4387 的辣椒植物可以获得的得分相差不超过 2 个等级,特别是不超过 1 个等级,但尤其是不超过 0.5 个等级,将所述品系 061M4387 的辣椒植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏。

[0023] 在一个实施方案中,提供栽培的辣椒植物,当在以统计学显著程度相同的测定法中并在相同环境条件下,特别是在相同昆虫压力下评定时,所述栽培的辣椒植物与品系 061M4387 的辣椒植物以基本上相同的程度对伯粉虱和蓟马侵染,特别是对烟粉虱和西花蓟马的侵染有抗性,特别是有中等抗性,特别是分别通过防止伯粉虱产卵和 / 或蛹发育和通过防止因蓟马摄食所述辣椒植物的叶、芽、花和果实的上皮细胞所引起的植物损害,将所述品系 061M4387 的辣椒植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏。

[0024] 在一个实施方案中,本发明提供栽培的辣椒植物,其对伯粉虱侵染是抗性的,特别是中等抗性的,其中所述植物含有包含至少一个促成伯粉虱抗性的数量性状基因座 (" QTL ") 的基因组,具体而言提供这样一种栽培的辣椒植物,其对伯粉虱侵染是抗性的,特别是中等抗性的,其中所述植物含有包含促成伯粉虱抗性的数量性状基因座 (" QTL ") 的基因组,其中所述 QTL 位于染色体 3 和 / 或染色体 5 上。

[0025] 在一个实施方案中,本发明提供栽培的辣椒植物,其对伯粉虱侵染是抗性的,特别是中等抗性的,其中所述植物含有包含至少两个促成伯粉虱抗性的数量性状基因座 (" QTL ") 的基因组,其中第一 QTL 位于染色体 3 上且第二 QTL 位于染色体 5 上。

[0026] 在一个实施方案中,本发明提供栽培的辣椒植物,其对蓟马侵染是抗性的,特别是中等抗性的,其中所述植物含有包含至少一个促成蓟马抗性的数量性状基因座 (" QTL ") 的基因组,具体而言提供这样一种栽培的辣椒植物,其对蓟马侵染是抗性的,特别是中等抗性的,其中所述植物含有包含促成蓟马抗性的数量性状基因座 (" QTL ") 的基因组,其中所述 QTL 位于染色体 5 上。

[0027] 在一个实施方案中,本发明提供栽培的辣椒植物,其对伯粉虱和蓟马侵染是抗性的,特别是中等抗性的,其中所述植物含有分别包含至少一个促成伯粉虱抗性的数量性状基因座 (" QTL ") 和至少一个促成蓟马抗性的数量性状基因座 (" QTL ") 的基因组。具体而言,本发明涉及栽培的辣椒植物,其如本文先前所述对伯粉虱和蓟马侵染是抗性的,特别是中等抗性的,其中所述促成伯粉虱抗性的 QTL 位于染色体 3 和 / 或染色体 5 上且所述促成蓟马抗性的 QTL 位于染色体 5 上。

[0028] 在一个实施方案中,提供栽培的辣椒植物,其对伯粉虱和蓟马侵染是抗性的,特别是中等抗性的,其中所述植物含有包含促成伯粉虱和蓟马抗性的数量性状基因座 (" QTL ") 的基因组,其中促成伯粉虱抗性的第一 QTL 位于染色体 3 上且促成伯粉虱抗性的第二 QTL 位于染色体 5 上,并且所述促成蓟马抗性的 QTL 位于染色体 5 上。

[0029] 在一个实施方案中,染色体 5 上的 QTL 是促成伯粉虱和蓟马抗性二者的单一 QTL。

[0030] 在一个实施方案中,所述 QTL 可以从具有品系 061M4387 的遗传背景的植物获得,

特别是可以从具有品系 061M4387 的所述 QTL 处的遗传背景或构造 (architecture) 的植物获得,但尤其是可以从品系 061M4387 的植物获得,将所述品系 061M4387 的植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏在 NCIMB,或者可以从它们包含所述 QTL 的子代或祖先获得。

[0031] 在进一步的实施方案中,本发明涉及根据本发明并且如本文先前所述栽培的辣椒植物,所述植物含有包含至少一个促成伯粉虱抗性的数量性状基因座 (" QTL ") 的基因组,其中所述 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座 (marker locus) 是遗传上连锁的,特别是与至少两个标记基因座,更特别是与至少三个标记基因座,并且甚至更特别是与至少四个标记基因座,但尤其是与五个和多至六个标记基因座是遗传上连锁的,所述标记基因座在染色体 3 上且与伯粉虱抗性性状共分离,并且能够通过选自下组的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定:由 SEQ ID NO:1 的正向引物和 SEQ ID NO:2 的反向引物代表的引物对 1,其鉴定标记基因座 1;由 SEQ ID NO:3 的正向引物和 SEQ ID NO:4 的反向引物代表的引物对 2,其鉴定标记基因座 2;由 SEQ ID NO:5 的正向引物和 SEQ ID NO:6 的反向引物代表的引物对 3,其鉴定标记基因座 3;由 SEQ ID NO:7 的正向引物和 SEQ ID NO:8 的反向引物代表的引物对 4,其鉴定标记基因座 4;由 SEQ ID NO:9 的正向引物和 SEQ ID NO:10 的反向引物代表的引物对 5,其鉴定标记基因座 5;和由 SEQ ID NO:11 的正向引物和 SEQ ID NO:12 的反向引物代表的引物对 6,其鉴定标记基因座 6;或通过任何其它与伯粉虱抗性性状在统计学上相关的标记基因座。

[0032] 在一个实施方案中,本发明涉及含有至少一个促成 (或称有贡献于, (contribute)) 伯粉虱抗性的数量性状基因座 (" QTL ") 的基因组,其中所述 QTL 可以从具有品系 061M4387 的遗传背景的供体植物获得,特别是可以从具有品系 061M4387 的所述 QTL 处的遗传背景或构造的植物获得,但尤其是可以从品系 061M4387 的植物获得,将所述品系 061M4387 的植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏在 NCIMB,或者可以从它们包含所述 QTL 的子代或祖先获得,所述供体植物中的 QTL 与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,特别是与至少两个标记基因座,特别是与至少三个标记基因座,并且特别是与至少四个标记基因座,特别是与至少五个标记基因座,特别是与至少六个标记基因座,并且与多至七个标记基因座是遗传上连锁的,所述标记基因座在染色体 3 上且与伯粉虱抗性性状共分离,并且能够通过选自由如 SEQ ID NOs:1-12 中给出的引物对 1-6 组成的组中的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定。

[0033] 在一个实施方案中,本发明涉及根据本发明并且如本文先前所述栽培的辣椒植物,所述植物含有包含促成蓟马抗性的数量性状基因座 (" QTL ") 的基因组,其中所述 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,特别是与至少两个标记基因座,特别是与至少三个标记基因座并且特别是与至少四个标记基因座,特别是与至少五个标记基因座,特别是与至少六个标记基因座,并且与多至七个标记基因座是遗传上连锁的,所述标记基因座在染色体 5 上且与伯粉虱抗性性状共分离,并且能够通过选自下组的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定:由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7;由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8;由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9;由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10;由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:

22 的反向引物代表的引物对 11, 其鉴定标记基因座 11; 由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12, 其鉴定标记基因座 12; 和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13, 其鉴定标记基因座 13; 或通过任何其它与伯粉虱抗性性状在统计学上相关的标记基因座。

[0034] 在一个实施方案中, 本发明涉及栽培的辣椒植物, 其含有包含至少一个促成伯粉虱抗性的数量性状基因座 ("QTL") 的基因组, 其中所述 QTL 可以从具有品系 061M4387 的遗传背景的供体植物获得, 特别是可以从具有品系 061M4387 的所述 QTL 处的遗传背景或构造的植物获得, 但尤其是可以从品系 061M4387 的植物获得, 将所述品系 061M4387 的植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏在 NCIMB, 或者可以从它们包含所述 QTL 的子代或祖先获得, 所述供体植物中的 QTL 与至少一个标记基因座是遗传上连锁的, 特别是与至少两个标记基因座, 特别是与至少三个标记基因座并且特别是与至少四个标记基因座, 特别是与至少五个标记基因座, 特别是与至少六个标记基因座, 并且与多至七个标记基因座是遗传上连锁的, 所述标记基因座在染色体 5 上且与伯粉虱抗性性状共分离, 并且能够通过选自自由如 SEQ ID NOs:13-26 中给出的引物对 7-13 组成的组中的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定。

[0035] 在进一步的实施方案中, 本发明涉及根据本发明并且如本文先前所述栽培的辣椒植物, 所述植物含有包含至少两个促成伯粉虱抗性的数量性状基因座 ("QTL") 的基因组, 其中

[0036] a) 第一 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座是遗传上连锁的, 特别是与至少两个标记基因座, 特别是与至少三个标记基因座并且甚至更特别是与至少四个标记基因座, 但尤其是与至少五个和多至六个标记基因座是遗传上连锁的, 所述标记基因座在染色体 3 上且与伯粉虱抗性性状共分离, 并且能够通过选自下组的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定: 由 SEQ ID NO:1 的正向引物和 SEQ ID NO:2 的反向引物代表的引物对 1, 其鉴定标记基因座 1; 由 SEQ ID NO:3 的正向引物和 SEQ ID NO:4 的反向引物代表的引物对 2, 其鉴定标记基因座 2; 由 SEQ ID NO:5 的正向引物和 SEQ ID NO:6 的反向引物代表的引物对 3, 其鉴定标记基因座 3; 由 SEQ ID NO:7 的正向引物和 SEQ ID NO:8 的反向引物代表的引物对 4, 其鉴定标记基因座 4; 由 SEQ ID NO:9 的正向引物和 SEQ ID NO:10 的反向引物代表的引物对 5, 其鉴定标记基因座 5; 和由 SEQ ID NO:11 的正向引物和 SEQ ID NO:12 的反向引物代表的引物对 6, 其鉴定标记基因座 6; 或通过任何其它与伯粉虱抗性性状在统计学上相关的在染色体 3 上标记基因座; 并且

[0037] b) 第二 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座是遗传上连锁的, 特别是与至少两个标记基因座, 特别是与至少三个标记基因座并且特别是与至少四个标记基因座, 特别是与至少五个标记基因座, 特别是与至少六个标记基因座, 和与多至七个标记基因座是遗传上连锁的, 所述标记基因座在染色体 5 上且与伯粉虱抗性性状共分离, 并且能够通过选自下组的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定: 由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7, 其鉴定标记基因座 7; 由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8, 其鉴定标记基因座 8; 由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9, 其鉴定标记基因座 9; 由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10, 其鉴定标记基因座 10; 由 SEQ ID NO:21 的正

向引物和 SEQ ID NO :22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11 ;由 SEQ ID NO :23 的正向引物和 SEQ ID NO :24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12 ;和由 SEQ ID NO :25 的正向引物和 SEQ ID NO :26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13 ;或通过任何其它与伯粉虱抗性性状在统计学上相关的在染色体 5 上标记基因座。

[0038] 在一个实施方案中,本发明涉及栽培的辣椒植物,其含有包含至少两个促成伯粉虱抗性的数量性状基因座(" QTL")的基因组,其中所述 QTL 可以从具有品系 061M4387 的遗传背景的供体植物获得,特别是可以从具有品系 061M4387 的所述 QTL 处的遗传背景或构造的植物获得,但尤其是可以从品系 061M4387 的植物获得,将所述品系 061M4387 的植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏在 NCIMB,或者可以从它们包含所述 QTL 的子代或祖先获得,所述第一 QTL 位于供体植物的染色体 3 上并且与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,特别是与至少两个标记基因座,特别是与至少三个标记基因座并且特别是与至少四个标记基因座,特别是与至少五个标记基因座,特别是与至少六个标记基因座是遗传上连锁的,所述标记基因座在染色体 3 上且与伯粉虱抗性性状共分离,并且能够通过如 SEQ ID NOs :1-12 中所给出的 PCR 寡核苷酸引物对 1-6 来鉴定,并且所述第二 QTL 位于供体植物的染色体 5 上并且与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,特别是与至少两个标记基因座,特别是与至少三个标记基因座并且特别是与至少四个标记基因座,特别是与至少五个标记基因座,特别是与至少六个标记基因座,和与多至七个标记基因座是遗传上连锁的,所述标记基因座在染色体 5 上且与伯粉虱抗性性状共分离,并且能够通过选自如 SEQ ID NOs :13-26 中所给出的引物对 7-13 的组中的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定。

[0039] 在一个实施方案中,本发明涉及根据本发明并且如本文先前所述栽培的辣椒植物,所述植物含有包含促成蓟马抗性的数量性状基因座(" QTL")的基因组,其中所述 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,特别是与至少两个标记基因座,特别是与至少三个标记基因座并且特别是与至少四个标记基因座,特别是与至少五个标记基因座,特别是与至少六个标记基因座,和与多至七个标记基因座是遗传上连锁的,所述标记基因座在染色体 5 上且与蓟马抗性性状共分离,并且能够通过选自下组的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定:由 SEQ ID NO :13 的正向引物和 SEQ ID NO :14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7 ;由 SEQ ID NO :15 的正向引物和 SEQ ID NO :16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8 ;由 SEQ ID NO :17 的正向引物和 SEQ ID NO :18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9 ;由 SEQ ID NO :19 的正向引物和 SEQ ID NO :20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10 ;由 SEQ ID NO :21 的正向引物和 SEQ ID NO :22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11 ;由 SEQ ID NO :23 的正向引物和 SEQ ID NO :24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12 ;和由 SEQ ID NO :25 的正向引物和 SEQ ID NO :26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13 ;或通过任何其它与蓟马抗性性状在统计学上相关的染色体 5 上的标记基因座。

[0040] 在一个实施方案中,本发明涉及栽培的辣椒植物,其含有包含至少一个促成蓟马抗性的数量性状基因座(" QTL")的基因组,其中所述 QTL 可以从具有品系 061M4387 的遗传背景的供体植物获得,特别是可以从具有品系 061M4387 的所述 QTL 处的遗传背景或构造的植物获得,但尤其是可以从品系 061M4387 的植物获得,将所述品系 061M4387 的植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏在 NCIMB,或者可以从它们包含所述 QTL 的子代或祖先

获得,所述供体植物中的 QTL 与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,特别是与至少两个标记基因座,特别是与至少三个标记基因座并且特别是与至少四个标记基因座,特别是与至少五个标记基因座,特别是与至少六个标记基因座,和多至七个标记基因座是遗传上连锁的,所述标记基因座在染色体 5 上且与蓟马抗性性状共分离,并且能够通过选自如 SEQ ID NOs :13-26 中所给出的引物对 7-13 组成的组中的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定。

[0041] 在一个实施方案中,本发明提供栽培的辣椒植物,其对伯粉虱和蓟马侵染是抗性的,特别是中等抗性的,其中所述植物含有分别包含至少一个促成伯粉虱抗性的数量性状基因座(" QTL")和至少一个促成蓟马抗性的数量性状基因座(" QTL"),其中

[0042] a) 所述促成伯粉虱抗性的 QTL,其特征在于与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,特别是与至少两个标记基因座,特别是与至少三个标记基因座并且特别是与至少四个标记基因座,但尤其是与至少五个和多至六个标记基因座是遗传上连锁的,所述标记基因座在染色体 3 上且与伯粉虱抗性性状共分离,并且能够通过选自下组的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定:由 SEQ ID NO :1 的正向引物和 SEQ ID NO :2 的反向引物代表的引物对 1,其鉴定标记基因座 1;由 SEQ ID NO :3 的正向引物和 SEQ ID NO :4 的反向引物代表的引物对 2,其鉴定标记基因座 2;由 SEQ ID NO :5 的正向引物和 SEQ ID NO :6 的反向引物代表的引物对 3,其鉴定标记基因座 3;由 SEQ ID NO :7 的正向引物和 SEQ ID NO :8 的反向引物代表的引物对 4,其鉴定标记基因座 4;由 SEQ ID NO :9 的正向引物和 SEQ ID NO :10 的反向引物代表的引物对 5,其鉴定标记基因座 5;和由 SEQ ID NO :11 的正向引物和 SEQ ID NO :12 的反向引物代表的引物对 6,其鉴定标记基因座 6;或通过任何其它与伯粉虱抗性性状在统计学上相关的染色体 3 上的标记基因座;和

[0043] b) 所述促成蓟马抗性的 QTL,其特征在于与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,特别是与至少两个标记基因座,特别是与至少三个标记基因座并且特别是与至少四个标记基因座,特别是与至少五个标记基因座,特别是与六个标记基因座,和多至七个标记基因座是遗传上连锁的,所述标记基因座在染色体 5 上且与蓟马抗性性状共分离,并且能够通过选自下组的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定:由 SEQ ID NO :13 的正向引物和 SEQ ID NO :14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7;由 SEQ ID NO :15 的正向引物和 SEQ ID NO :16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8;由 SEQ ID NO :17 的正向引物和 SEQ ID NO :18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9;由 SEQ ID NO :19 的正向引物和 SEQ ID NO :20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10;由 SEQ ID NO :21 的正向引物和 SEQ ID NO :22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11;由 SEQ ID NO :23 的正向引物和 SEQ ID NO :24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12;和由 SEQ ID NO :25 的正向引物和 SEQ ID NO :26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13;或通过任何其它与蓟马抗性性状在统计学上相关的染色体 5 上的标记基因座。

[0044] 在一个实施方案中,本发明提供根据前述权利要求中任一项栽培的辣椒植物,其对伯粉虱和蓟马侵染是抗性的,特别是中等抗性的,其中所述植物含有分别包含至少一个促成伯粉虱抗性的数量性状基因座(" QTL")和至少一个促成蓟马抗性的数量性状基因座(" QTL")的基因组,其中所述 QTL 促成

[0045] a) 伯粉虱抗性,所述 QTL 的特征在于与下述是遗传上连锁的,

[0046] i. 至少一个标记基因座,特别是至少两个标记基因座,更特别是至少三个标记基因座并且甚至更特别是至少四个标记基因座,但尤其是至少五个和多至六个标记基因座,所述标记基因座在染色体 3 上且与伯粉虱抗性性状共分离,并且能够通过选自下组的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定:由 SEQ ID NO:1 的正向引物和 SEQ ID NO:2 的反向引物代表的引物对 1,其鉴定标记基因座 1;由 SEQ ID NO:3 的正向引物和 SEQ ID NO:4 的反向引物代表的引物对 2,其鉴定标记基因座 2;由 SEQ ID NO:5 的正向引物和 SEQ ID NO:6 的反向引物代表的引物对 3,其鉴定标记基因座 3;由 SEQ ID NO:7 的正向引物和 SEQ ID NO:8 的反向引物代表的引物对 4,其鉴定标记基因座 4;由 SEQ ID NO:9 的正向引物和 SEQ ID NO:10 的反向引物代表的引物对 5,其鉴定标记基因座 5;和由 SEQ ID NO:11 的正向引物和 SEQ ID NO:12 的反向引物代表的引物对 6,其鉴定标记基因座 6;或通过任何其它与伯粉虱抗性性状在统计学上相关的染色体 3 上的标记基因座;和 / 或

[0047] ii. 至少一个标记基因座,特别是至少两个标记基因座,特别是至少三个标记基因座并且特别是至少四个标记基因座,特别是至少五个标记基因座,特别是至少六个标记基因座,和多至七个标记基因座,所述标记基因座在染色体 5 上且与蓟马抗性性状共分离,并且能够通过选自下组的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定:由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7;由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8;由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9;由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10;由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11;由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12;和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13;或通过任何其它与伯粉虱抗性性状在统计学上相关的染色体 5 上的标记基因座;并且

[0048] b) 蓟马抗性,所述 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,特别是与至少两个标记基因座,特别是与至少三个标记基因座并且特别是与至少四个标记基因座,特别是与至少五个标记基因座,特别是与至少六个标记基因座,和与多至七个标记基因座,所述标记基因座在染色体 5 上且与蓟马抗性性状共分离,并且能够通过选自下组的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定:由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7;由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8;由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9;由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10;由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11;由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12;和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13;或通过任何其它与蓟马抗性性状在统计学上相关的染色体 5 上的标记基因座。

[0049] 在一个实施方案中,本发明提供栽培的辣椒植物,其对伯粉虱和蓟马侵染是抗性的,特别是中等抗性的,其中所述植物含有分别包含至少一个促成伯粉虱抗性的数量性状

基因座 (" QTL ") 和至少一个促成蓟马抗性的数量性状基因座 (" QTL ") 的基因组, 其中所述 QTL 可以从具有品系 061M4387 的遗传背景的植物获得, 特别是可以从具有品系 061M4387 的所述 QTL 处的遗传背景或构造的植物获得, 但尤其是可以从品系 061M4387 的植物获得, 将所述品系 061M4387 的植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏在 NCIMB, 或者可以从它们包含所述 QTL 的子代或祖先获得, 并且其中

[0050] a) 促成伯粉虱抗性的第一 QTL 在供体植物中与至少一个标记基因座是遗传上连锁的, 特别是与至少两个标记基因座, 更特别是与至少三个标记基因座并且甚至更特别是与至少四个标记基因座, 但尤其是与至少五个和多至六个标记基因座是遗传上连锁的, 所述标记基因座在染色体 3 上且与伯粉虱抗性性状共分离, 并且能够通过选自由 SEQ ID NOs : 1-12 所给出的正向和反向引物所代表的引物对 1-6 组成的组的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定 ; 并且 / 或者

[0051] b) 促成伯粉虱抗性的第二 QTL 在供体植物中与至少一个标记基因座是遗传上连锁的, 特别是与至少两个标记基因座, 特别是与至少三个标记基因座并且特别是与至少四个标记基因座, 特别是与至少五个标记基因座, 特别是与至少六个标记基因座, 和与多至七个标记基因座是遗传上连锁的, 所述标记基因座在染色体 5 上且与伯粉虱抗性性状共分离, 并且能够通过选自由 SEQ ID NOs : 13-26 所给出的正向和反向引物所代表的引物对 7-13 组成的组的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定 ; 并且

[0052] c) 促成蓟马抗性的 QTL 在供体植物中与至少一个标记基因座是遗传上连锁的, 特别是与至少两个标记基因座, 特别是与至少三个标记基因座并且特别是与至少四个标记基因座, 特别是与至少五个标记基因座, 特别是与至少六个标记基因座, 和与多至七个标记基因座是遗传上连锁的, 所述标记基因座在染色体 5 上且与蓟马抗性性状共分离, 并且能够通过选自由 SEQ ID NOs : 13-26 所给出的正向和反向引物所代表的引物对 7-13 组成的组的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定。

[0053] 在一个实施方案中, 本发明提供栽培的辣椒植物, 其对伯粉虱和蓟马侵染是抗性的, 特别是中等抗性的, 其中所述植物含有分别包含至少一个促成伯粉虱抗性的数量性状基因座 (" QTL ") 和至少一个促成蓟马抗性的数量性状基因座 (" QTL ") 的基因组, 其中所述 QTL 可以从具有品系 061M4387 的遗传背景的植物获得, 特别是可以从具有品系 061M4387 的所述 QTL 处的遗传背景或构造的植物获得, 但尤其是可以从品系 061M4387 的植物获得, 将所述品系 061M4387 的植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏在 NCIMB, 或者可以从它们包含所述 QTL 的子代或祖先获得, 并且其中所述 QTL 促成

[0054] a) 伯粉虱抗性, 所述 QTL 在供体植物中与至少一个标记基因座是遗传上连锁的, 特别是与至少两个标记基因座, 更特别是与至少三个标记基因座并且甚至更特别是与至少四个标记基因座, 但尤其是与至少五个和多至六个标记基因座是遗传上连锁的, 所述标记基因座在染色体 3 上且与伯粉虱抗性性状共分离, 并且能够通过选自由 SEQ ID NOs : 1-12 所给出的正向和反向引物所代表的引物对 1-6 组成的组的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定 ; 和

[0055] b) 蓟马抗性, 所述 QTL 在供体植物中与至少一个标记基因座是遗传上连锁的, 特别是与至少两个标记基因座, 特别是与至少三个标记基因座并且特别是与至少四个标记基因座, 特别是与至少五个标记基因座, 特别是与至少六个标记基因座, 和与多至七个标记基

因座是遗传上连锁的,所述标记基因座在染色体 5 上且与蓟马抗性性状共分离,并且能够通过选自 SEQ ID NOs :13-26 所给出的正向和反向引物所代表的引物对 7-13 组成的组的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定。

[0056] 在本发明的一个实施方案中,可以建立一个或多个引物或探针,特别是一个或多个引物对,但尤其是一个或多个由正向引物和反向引物组成的引物对,用于通过使用所述一个或多个引物或探针或所述一个或多个引物对,特别是通过结合 SEQ ID NOs :1-12 的正向和反向引物从而产生允许鉴定染色体 3 上的一个或多个与伯粉虱抗性性状共分离的标记基因座的引物对,来鉴定根据本发明的标记基因座。

[0057] 在本发明的一个实施方案中,可以建立一个或多个引物或探针,特别是一个或多个引物对,但尤其是一个或多个由正向引物和反向引物组成的引物对,用于通过使用所述一个或多个引物或探针或所述一个或多个引物对,特别是通过结合 SEQ ID NOs :13-26 的正向和反向引物从而产生允许鉴定染色体 5 上的一个或多个与蓟马和 / 或伯粉虱抗性性状共分离的标记基因座的引物对,来鉴定根据本发明的标记基因座。

[0058] 本发明还包含引物和 / 或探针,特别是引物对,但尤其是由正向和反向引物组成的引物对,所述正向和反向引物分别与 SEQ ID NOs :1-12 中和 SEQ ID NOs :13-26 中所给出的至少 90%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98% 或至少 99% 相同 (同一性), 并且所述引物对也产生自所述正向和反向引物的组合。

[0059] 具体而言,根据本发明的位于染色体 3 上的伯粉虱抗性性状能够通过选自下组的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定:由与 SEQ ID NO :1 中所示序列具有至少 90%,特别是至少 95%,特别是至少 96%,特别是至少 97%,特别是至少 98%,特别是至少 99% 序列同一性的正向引物和与 SEQ ID NO :2 中所示序列具有至少 90%,特别是至少 95%,特别是至少 96%,特别是至少 97%,特别是至少 98%,特别是至少 99% 序列同一性的反向引物所代表的鉴定标记基因座 1 的引物对 1;由与 SEQ ID NO :3 中所示序列具有至少 90%,特别是至少 95%,特别是至少 96%,特别是至少 97%,特别是至少 98%,特别是至少 99% 序列同一性的正向引物和与 SEQ ID NO :4 中所示序列具有至少 90%,特别是至少 95%,特别是至少 96%,特别是至少 97%,特别是至少 98%,特别是至少 99% 序列同一性的反向引物所代表的鉴定标记基因座 2 的引物对 2;由与 SEQ ID NO :5 中所示序列具有至少 90%,特别是至少 95%,特别是至少 96%,特别是至少 97%,特别是至少 98%,特别是至少 99% 序列同一性的正向引物和与 SEQ ID NO :6 中所示序列具有至少 90%,特别是至少 95%,特别是至少 96%,特别是至少 97%,特别是至少 98%,特别是至少 99% 序列同一性的反向引物所代表的鉴定标记基因座 3 的引物对 3;由与 SEQ ID NO :7 中所示序列具有至少 90%,特别是至少 95%,特别是至少 96%,特别是至少 97%,特别是至少 98%,特别是至少 99% 序列同一性的正向引物和与 SEQ ID NO :8 中所示序列具有至少 90%,特别是至少 95%,特别是至少 96%,特别是至少 97%,特别是至少 98%,特别是至少 99% 序列同一性的反向引物所代表的鉴定标记基因座 4 的引物对 4;由与 SEQ ID NO :9 中所示序列具有至少 90%,特别是至少 95%,特别是至少 96%,特别是至少 97%,特别是至少 98%,特别是至少 99% 序列同一性的正向引物和与 SEQ ID NO :10 中所示序列具有至少 90%,特别是至少 95%,特别是至少 96%,特别是至少 97%,特别是至少 98%,特别是至少 99% 序列同一性的反向引物所代表的鉴定标记基因座 5 的引物对 5;和由与 SEQ ID NO :11 中所示序列具有至少 90%,特别是至少 95%,特别

是至少 96%，特别是至少 97%，特别是至少 98%，特别是至少 99% 序列同一性的正向引物和与 SEQ ID NO:12 中所示序列具有至少 90%，特别是至少 95%，特别是至少 96%，特别是至少 97%，特别是至少 98%，特别是至少 99% 序列同一性的反向引物所代表的鉴定标记基因座 6 的引物对 6；或通过任何其它鉴定染色体 3 上的与伯粉虱抗性性状在统计学上相关的标记基因座的引物或引物对。

[0060] 在一个实施方案中，根据本发明的位于染色体 5 上的蓟马抗性性状和 / 或伯粉虱抗性性状能够通过选自下组的一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定：由与 SEQ ID NO:13 中所示序列具有至少 90%，特别是至少 95%，特别是至少 96%，特别是至少 97%，特别是至少 98%，特别是至少 99% 序列同一性的正向引物和与 SEQ ID NO:14 中所示序列具有至少 90%，特别是至少 95%，特别是至少 96%，特别是至少 97%，特别是至少 98%，特别是至少 99% 序列同一性的反向引物所代表的鉴定标记基因座 7 的引物对 7；由与 SEQ ID NO:15 中所示序列具有至少 90%，特别是至少 95%，特别是至少 96%，特别是至少 97%，特别是至少 98%，特别是至少 99% 序列同一性的正向引物和与 SEQ ID NO:16 中所示序列具有至少 90%，特别是至少 95%，特别是至少 96%，特别是至少 97%，特别是至少 98%，特别是至少 99% 序列同一性的反向引物所代表的鉴定标记基因座 8 的引物对 8；由与 SEQ ID NO:17 中所示序列具有至少 90%，特别是至少 95%，特别是至少 96%，特别是至少 97%，特别是至少 98%，特别是至少 99% 序列同一性的正向引物和与 SEQ ID NO:18 中所示序列具有至少 90%，特别是至少 95%，特别是至少 96%，特别是至少 97%，特别是至少 98%，特别是至少 99% 序列同一性的反向引物所代表的鉴定标记基因座 9 的引物对 9；由与 SEQ ID NO:19 中所示序列具有至少 90%，特别是至少 95%，特别是至少 96%，特别是至少 97%，特别是至少 98%，特别是至少 99% 序列同一性的正向引物和与 SEQ ID NO:20 中所示序列具有至少 90%，特别是至少 95%，特别是至少 96%，特别是至少 97%，特别是至少 98%，特别是至少 99% 序列同一性的反向引物所代表的鉴定标记基因座 10 的引物对 10；由与 SEQ ID NO:21 中所示序列具有至少 90%，特别是至少 95%，特别是至少 96%，特别是至少 97%，特别是至少 98%，特别是至少 99% 序列同一性的正向引物和与 SEQ ID NO:22 中所示序列具有至少 90%，特别是至少 95%，特别是至少 96%，特别是至少 97%，特别是至少 98%，特别是至少 99% 序列同一性的反向引物所代表的鉴定标记基因座 11 的引物对 11；由与 SEQ ID NO:23 中所示序列具有至少 90%，特别是至少 95%，特别是至少 96%，特别是至少 97%，特别是至少 98%，特别是至少 99% 序列同一性的正向引物和与 SEQ ID NO:24 中所示序列具有至少 90%，特别是至少 95%，特别是至少 96%，特别是至少 97%，特别是至少 98%，特别是至少 99% 序列同一性的反向引物所代表的鉴定标记基因座 12 的引物对 12；和由与 SEQ ID NO:25 中所示序列具有至少 90%，特别是至少 95%，特别是至少 96%，特别是至少 97%，特别是至少 98%，特别是至少 99% 序列同一性的正向引物和与 SEQ ID NO:26 中所示序列具有至少 90%，特别是至少 95%，特别是至少 96%，特别是至少 97%，特别是至少 98%，特别是至少 99% 序列同一性的反向引物所代表的鉴定标记基因座 13 的引物对 13；或通过任何其它鉴定染色体 5 上的与蓟马和 / 或伯粉虱抗性性状在统计学上相关的标记基因座的引物或引物对。

[0061] 在本发明的一个实施方案中包含寡核苷酸引物，特别是引物对，但尤其是由正向和反向引物组成的引物对，所述正向和反向引物展现出在中、特别是在中至高、特别是在高严谨性条件下，分别与表 10 中所示 SEQ ID NOs:1-12 中给出的正向和反向引物序列的核苷

酸序列和与表 11 中所示 SEQ ID NOs :13-26 中所给出的正向和反向引物序列的核苷酸序列杂交的核苷酸序列。

[0062] 在一个实施方案中,本发明涉及寡核苷酸序列,特别涉及可以用作引物和 / 或探针的寡核苷酸序列,特别涉及引物对,但特别涉及由正向和反向引物组成的引物对,所述正向和反向引物展现出与通过使用如下正向和反向引物可以获得的核苷酸序列杂交的核苷酸序列,所述正向和反向引物展现出在中、特别是在中至高、特别是在高严谨性条件下,分别与表 10 中所示 SEQ ID NOs :1-12 中给出的正向和反向引物序列的核苷酸序列和与表 11 中所示 SEQ ID NOs :13-26 中所给出的正向和反向引物序列的核苷酸序列杂交的核苷酸序列。

[0063] 在本发明的另一实施方案中,提供如本文先前所述的栽培的辣椒植物,其中所述植物包含与对伯粉虱的抗性相关的数量性状基因座 (" QTL"),所述 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座,特别是染色体 3 上的标记基因座是遗传上连锁的,并且其中所述 QTL 进一步通过在所述至少一个与该 QTL 连锁的标记基因座处的至少一个标记等位基因来限定,所述标记等位基因通过选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物来表征:由 SEQ ID NOs :1-12 的正向和反向引物代表的引物对 1-6,包括由 SEQ ID NOs :1-12 的正向和反向引物的组合产生的引物对,或通过任何其它鉴定与伯粉虱抗性性状在统计上相关的染色体 3 上的标记基因座的引物或引物对的 PCR 扩增产物来表征,倘若各自的标记基因座仍存在于所述辣椒属植物中,那么所述扩增产物对应于在使用可获得自所述引物对 1-6 的相同引物的 PCR 反应中可从近交系 061M4387 (NCIMB 41428) 获得的扩增产物。

[0064] 具体而言,如本文先前所述的栽培的辣椒植物包含与对伯粉虱的抗性相关的数量性状基因座 (" QTL"),所述 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座,特别是染色体 3 上的标记基因座是遗传上连锁的,并且其中所述 QTL 进一步通过在所述至少一个与该 QTL 连锁的标记基因座处的至少一个标记等位基因来限定,所述标记等位基因通过选自下组的寡核苷酸引物对的 PCR 扩增产物来表征:由 SEQ ID NO :1 的正向引物和 SEQ ID NO :2 的反向引物代表的引物对 1,其鉴定标记基因座 1;由 SEQ ID NO :3 的正向引物和 SEQ ID NO :4 的反向引物代表的引物对 2,其鉴定标记基因座 2;由 SEQ ID NO :5 的正向引物和 SEQ ID NO :6 的反向引物代表的引物对 3,其鉴定标记基因座 3;由 SEQ ID NO :7 的正向引物和 SEQ ID NO :8 的反向引物代表的引物对 4,其鉴定标记基因座 4;由 SEQ ID NO :9 的正向引物和 SEQ ID NO :10 的反向引物代表的引物对 5,其鉴定标记基因座 5;和由 SEQ ID NO :11 的正向引物和 SEQ ID NO :12 的反向引物代表的引物对 6,其鉴定标记基因座 6;倘若各自的标记基因座仍存在于所述辣椒属植物中和 / 或能够被认为是它的等位基因,那么所述扩增产物对应于在使用上文鉴定的引物对 1-6 的 PCR 反应中可从近交系 061M4387 (NCIMB 41428) 获得的扩增产物。

[0065] 在本发明的另一实施方案中,提供如本文先前所述的栽培的辣椒植物,其中所述植物包含与对伯粉虱的抗性相关的数量性状基因座 (" QTL"),所述 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座,特别是染色体 5 上的标记基因座是遗传上连锁的,并且其中所述 QTL 进一步通过在所述至少一个与该 QTL 连锁的标记基因座处的至少一个标记等位基因来限定,所述标记等位基因通过选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物来表征:由 SEQ ID NOs :13-26 的正向和反向引物代表的引物对 7-13,包括由 SEQ ID NOs :13-26 的

正向和反向引物的组合产生的引物对,或通过任何其它鉴定与伯粉虱抗性性状在统计上相关的染色体 5 上的标记基因座的引物或引物对的 PCR 扩增产物来表征,倘若各自的标记基因座仍存在于所述辣椒属植物中和 / 或能够被认为是它的等位基因,那么所述扩增产物对应于在使用可以获得自上文鉴定的引物对 7-13 的相同引物的 PCR 反应中可从近交系 061M4387 (NCIMB 41428) 获得的扩增产物。

[0066] 具体而言,如本文先前所述的栽培的辣椒植物包含与对伯粉虱的抗性相关的数量性状基因座 (" QTL"),所述 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座,特别是染色体 5 上的标记基因座是遗传上连锁的,并且其中所述 QTL 进一步通过在所述至少一个与该 QTL 连锁的标记基因座处的至少一个标记等位基因来限定,所述标记等位基因通过选自下组的寡核苷酸引物对的 PCR 扩增产物来表征:由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7;由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8;由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9;由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10;由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11;由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12;和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13;倘若各自的标记基因座仍存在于所述辣椒属植物中和 / 或能够被认为是它的等位基因,那么所述扩增产物对应于在使用可获得自上文鉴定的引物对 7-13 的相同引物的 PCR 反应中可从近交系 061M4387 (NCIMB 41428) 获得的扩增产物。

[0067] 在本发明的另一实施方案中,提供如本文先前所述的栽培的辣椒植物,其中所述植物包含与对蓟马的抗性相关的数量性状基因座 (" QTL"),所述 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座,特别是染色体 5 上的标记基因座是遗传上连锁的,并且其中所述 QTL 进一步通过在所述至少一个与该 QTL 连锁的标记基因座处的至少一个标记等位基因来限定,所述标记等位基因通过选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物来表征:由 SEQ ID NOs:13-26 的正向和反向引物代表的引物对 7-13,包括由 SEQ ID NOs:13-26 的正向和反向引物的组合产生的引物对,或通过任何其它鉴定与蓟马抗性性状在统计上相关的染色体 5 上的标记基因座的引物或引物对的 PCR 扩增产物来表征,倘若各自的标记基因座仍存在于所述辣椒属植物中和 / 或能够被认为是它的等位基因,那么所述扩增产物对应于在使用可以获得自上文鉴定的引物对 7-13 的相同引物的 PCR 反应中可从近交系 061M4387 (NCIMB 41428) 获得的扩增产物。

[0068] 具体而言,如本文先前所述的栽培的辣椒植物包含与对蓟马的抗性相关的数量性状基因座 (" QTL"),所述 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座,特别是染色体 5 上的标记基因座是遗传上连锁的,并且其中所述 QTL 进一步通过在所述至少一个与该 QTL 连锁的标记基因座处的至少一个标记等位基因来限定,所述标记等位基因通过选自下组的寡核苷酸引物对的 PCR 扩增产物来表征:由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7;由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8;由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9;由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ

ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10;由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11;由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12;和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13;倘若各自的标记基因座仍存在于所述辣椒属植物中和 / 或能够被认为是它的等位基因,那么所述扩增产物对应于在使用可以获得自上文鉴定的引物对 7-13 的相同引物的 PCR 反应中可从近交系 061M4387 (NCIMB 41428) 获得的扩增产物。

[0069] 在本发明的一个实施方案中,如本文先前所述提供栽培的辣椒植物,其中所述植物分别包含至少一个与对伯粉虱的抗性相关的数量性状基因座 (" QTL ") 和一个与对蓟马的抗性相关的数量性状基因座 (" QTL "),所述 QTL 的特征在于各与至少一个标记基因座,特别是分别与染色体 3 和染色体 5 上的标记基因座是遗传上连锁的,并且其中所述 QTL 进一步通过在所述至少一个标记基因座处的至少一个标记等位基因来限定,所述标记基因座与以下连锁:

[0070] a) 染色体 3 上的第一 QTL,所述标记等位基因通过选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物来表征:由 SEQ ID NOs:1-12 的正向和反向引物代表的引物对 1-6,或通过任何其它鉴定与伯粉虱抗性性状在统计上相关的染色体 3 上的标记基因座的引物或引物对的 PCR 扩增产物来表征,和

[0071] b) 染色体 5 上的第二 QTL,所述标记等位基因通过分别选自下组的寡核苷酸引物或引物对的 PCR 扩增产物来表征:由 SEQ ID NOs:13-26 的正向和反向引物代表的引物对 7-13,或通过任何其它鉴定与伯粉虱和 / 或蓟马抗性性状在统计上相关的染色体 5 上的标记基因座的引物或引物对的 PCR 扩增产物来表征,

[0072] 包括分别由 SEQ ID NOs:1-12 的正向和反向引物的组合和由 SEQ ID NOs:13-26 的正向和反向引物的组合产生的引物对,倘若各自的标记基因座仍存在于所述辣椒属植物中和 / 或能够被认为是它的等位基因,那么所述扩增产物对应于在使用分别可以获得自上文鉴定的引物对 1-6 和 7-13 的相同引物的 PCR 反应中可从近交系 061M4387 (NCIMB 41428) 获得的扩增产物。

[0073] 具体而言,如本文先前所述的栽培的辣椒植物包含数量性状基因座 (" QTL "),所述数量性状基因座 (" QTL ") 与如下相关:

[0074] a) 与对伯粉虱的抗性相关,所述 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座,特别是染色体 3 上的标记基因座是遗传上连锁的,并且其中所述 QTL 进一步通过在所述至少一个与该 QTL 连锁的标记基因座处的至少一个标记等位基因来限定,所述标记等位基因通过选自下组的寡核苷酸引物对的 PCR 扩增产物来表征:由 SEQ ID NO:1 的正向引物和 SEQ ID NO:2 的反向引物代表的引物对 1,其鉴定标记基因座 1;由 SEQ ID NO:3 的正向引物和 SEQ ID NO:4 的反向引物代表的引物对 2,其鉴定标记基因座 2;由 SEQ ID NO:5 的正向引物和 SEQ ID NO:6 的反向引物代表的引物对 3,其鉴定标记基因座 3;由 SEQ ID NO:7 的正向引物和 SEQ ID NO:8 的反向引物代表的引物对 4,其鉴定标记基因座 4;由 SEQ ID NO:9 的正向引物和 SEQ ID NO:10 的反向引物代表的引物对 5,其鉴定标记基因座 5;和由 SEQ ID NO:11 的正向引物和 SEQ ID NO:12 的反向引物代表的引物对 6,其鉴定标记基因座 6;或通过任何其它与伯粉虱抗性性状在统计上相关的染色体 3 上的标记基因座;和

[0075] b) 与对蓟马和 / 或伯粉虱的抗性相关, 所述 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座, 特别是染色体 5 上的标记基因座是遗传上连锁的, 并且其中所述 QTL 进一步通过在所述至少一个与该 QTL 连锁的标记基因座处的至少一个标记等位基因来限定, 所述标记等位基因通过选自下组的寡核苷酸引物对的 PCR 扩增产物来表征: 由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7, 其鉴定标记基因座 7; 由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8, 其鉴定标记基因座 8; 由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9, 其鉴定标记基因座 9; 由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10, 其鉴定标记基因座 10; 由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11, 其鉴定标记基因座 11; 由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12, 其鉴定标记基因座 12; 和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13, 其鉴定标记基因座 13; 或通过任何其它与蓟马和 / 或伯粉虱抗性性状在统计上相关的染色体 5 上的标记基因座,

[0076] 其中倘若各自的标记基因座仍存在于所述辣椒属植物中和 / 或能够被认为是它的等位基因, 那么各扩增产物对应于在使用上文鉴定的分别可以获得自引物对 1-6 和 7-13 的相同引物的 PCR 反应中可从近交系 061M4387 (NCIMB 41428) 获得的扩增产物。

[0077] 在一个实施方案中, 本发明涉及可从 PCR 反应获得的扩增产物, 所述 PCR 反应包括选自下组的寡核苷酸引物或引物对: 分别由 SEQ ID NOs:1-12 的正向和反向引物代表的引物对 1-6 和由 SEQ ID NOs:13-26 的正向和反向引物代表的引物对 7-13, 包括分别由 SEQ ID NOs:1-12 和 SEQ ID NOs:13-26 的正向和反向引物的组合产生的引物对, 或任何其它鉴定与伯粉虱和 / 或蓟马抗性性状在统计上相关的染色体 3 和 / 或染色体 5 上的标记基因座的引物或引物对, 倘若各自的标记基因座仍存在于所述辣椒属植物中和 / 或能够被认为是它的等位基因, 那么所述扩增产物对应于在使用分别可以获得自所述引物对 1-6 和 7-13 或引物对的组合的相同引物的 PCR 反应中可从近交系 061M4387 (NCIMB 41428) 获得的扩增产物。

[0078] 还包括与所述扩增产物的序列具有至少 90%, 特别是至少 95%, 特别是至少 96%, 特别是至少 97%, 特别是至少 98%, 特别是至少 99% 序列同一性的多核苷酸。

[0079] 在本发明的一个实施方案中, 包括的多核苷酸展现出与可以在如下 PCR 反应中获得的扩增产物的核苷酸序列杂交的核苷酸序列, 所述 PCR 反应包括选自下组的寡核苷酸引物对: 分别由 SEQ ID NOs:1-12 的正向和反向引物代表的引物对 1-6 和由 SEQ ID NOs:13-26 的正向和反向引物代表的引物对 7-13, 包括分别由 SEQ ID NOs:1-12 和 SEQ ID NOs:13-26 的正向和反向引物组合产生的引物对。

[0080] 在一个具体的实施方案中, 本发明涉及可以在如下 PCR 反应中获得的扩增产物, 所述 PCR 反应包括选自下组的寡核苷酸引物对: 由 SEQ ID NO:1 的正向引物和 SEQ ID NO:2 的反向引物代表的引物对 1, 其鉴定标记基因座 1; 由 SEQ ID NO:3 的正向引物和 SEQ ID NO:4 的反向引物代表的引物对 2, 其鉴定标记基因座 2; 由 SEQ ID NO:5 的正向引物和 SEQ ID NO:6 的反向引物代表的引物对 3, 其鉴定标记基因座 3; 由 SEQ ID NO:7 的正向引物和 SEQ ID NO:8 的反向引物代表的引物对 4, 其鉴定标记基因座 4; 由 SEQ ID NO:9 的正向引物和 SEQ ID NO:10 的反向引物代表的引物对 5, 其鉴定标记基因座 5; 和由 SEQ ID NO:11

的正向引物和 SEQ ID NO:12 的反向引物代表的引物对 6, 其鉴定标记基因座 6; 倘若各标记基因座仍存在于所述辣椒属植物中, 那么所述扩增产物对应于在使用可获得自上文鉴定的所述引物对 1-6 的相同引物的 PCR 反应中可从近交系 061M4387 (NCIMB41428) 获得的扩增产物。

[0081] 在另一具体实施方案中, 本发明涉及可以在如下 PCR 反应中获得的扩增产物, 所述 PCR 反应包括选自下组的寡核苷酸引物对: 由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7, 其鉴定标记基因座 7; 由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8, 其鉴定标记基因座 8; 由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9, 其鉴定标记基因座 9; 由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10, 其鉴定标记基因座 10; 由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11, 其鉴定标记基因座 11; 由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12, 其鉴定标记基因座 12; 和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13, 其鉴定标记基因座 13; 倘若各标记基因座仍存在于所述辣椒属植物中, 那么所述扩增产物对应于在使用可获得自上文鉴定的所述引物对 7-13 的相同引物的 PCR 反应中可从近交系 061M4387 (NCIMB 41428) 获得的扩增产物。

[0082] 然后可以使用根据本发明并且在本文的上文中描述的扩增产物用于生成新的引物或探针, 所述新的引物或探针可用于鉴定标记基因座, 特别是分别在染色体 3 和 / 或 5 上的标记基因座, 其与同伯粉虱和 / 或蓟马抗性相关的 QTL 是遗传上连锁的。

[0083] 在一个实施方案中, 本发明涉及标记 (marker), 特别是通过本领域已知的方法从根据本发明且如本文的上文所述的扩增产物开发的引物或探针。

[0084] 在本发明的一个实施方案中, 提供根据本发明且如本文先前所述的栽培的辣椒植物, 其中所述一个或多个与对伯粉虱的抗性相关的等位基因获得自品系 061M4387, 或任何其它在染色体 3 和 / 或染色体 5 上所述 QTL 处具有相同遗传构造的品系, 将其代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏, 或者获得自它们包含所述 QTL 或 QTL 构造的子代或祖先。

[0085] 这也将涵盖这样的植物, 在所述植物中此处具体公开的标记被重组掉 (recombine off) 并因此不再存在于植物基因组中。

[0086] 在本发明的一个实施方案中, 提供根据本发明且如本文先前所述的栽培的辣椒植物, 其中所述与对蓟马的抗性相关的等位基因获得自品系 061M4387, 或任何其它在染色体 5 上所述 QTL 处具有相同遗传构造的品系, 将其代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏, 或者获得自它们包含所述 QTL 或 QTL 构造的子代或祖先。

[0087] 这也将涵盖这样的植物, 在所述植物中此处具体公开的标记被重组掉并因此不再存在于植物基因组中。

[0088] 在本发明的一个方面, 根据本发明且如本文先前所述的栽培的辣椒植物就伯粉虱和 / 或蓟马抗性性状而言是杂合的。

[0089] 在本发明的一个方面, 根据本发明且如本文先前所述的栽培的辣椒植物就伯粉虱和 / 或蓟马抗性性状而言是纯合的。

[0090] 在本发明的一个方面, 根据本发明且如本文先前所述的栽培的辣椒植物就 c 基因座 (Blum 等 (2002) Genome, 45:702-705) 或 pun1 等位基因 (Stewart 等 (2005) The Plant

Journal, 42 :675-688) 而言是纯合的, 或者就 c 基因座和 pun1 等位基因二者而言是纯合的。

[0091] 在本发明又另一个方面, 当在旷野 (open field) 或温室中, 在常规种植实践中所述植物在种植者通常采用的培养环境下培养时, 根据本发明且如本文先前所述的栽培的辣椒植物带有果实, 所述果实在成熟时重量超过 2 克或长于 1cm 并且具有超过 0.5cm 的直径并且未显示由蓟马和 / 或伯粉虱引起的摄食损害。

[0092] 根据本发明且如本文先前所述的栽培的辣椒植物可以是甜椒类植物, 灯笼椒, 大矩形椒 (big rectangular pepper), 圆锥椒 (conical pepper), 长锥椒 (longconical pepper) 或块状型椒 (blocky-type pepper)。所述植物的果实可以是常绿、黄色、橙色、乳白色或红色果实。

[0093] 根据本发明的植物可以是辣椒 (hot pepper) 植物, 例如, 用于新鲜销售和用于加工的轻度刺激性椒, 包括长的、心形、薄果肉的 Ancho 型和长的、平头、薄果肉的 Tuscan 型椒, 具有中等果肉厚度的刺激性稍大的辣椒果实, 和在新鲜销售和用于加工中均有使用的刺激性椒, 包括长的、圆柱形、厚果肉的墨西哥辣椒 (Jalapeno), 小的、细长形、尖头的 Serrano 和形状不规则的、薄果肉的 Cayenne 椒。

[0094] 根据本发明且如本文先前所述的栽培的辣椒植物可以是近交种 (inbred)、双单倍体或杂种和 / 或雄性不育种 (male sterile)。

[0095] 在一个实施方案中, 本发明涉及可以从根据本发明且如本文先前所述的植物获得的植物材料, 包括但不限于, 叶、茎、根、花或花的各部分、果实、花粉、卵细胞、合子、种子、插条 (cutting)、细胞或组织培养物或植物的任何其它仍展现根据本发明的抗性表型 (特别是在生长成植物时) 的部分或产物。

[0096] 本发明进一步涉及可以从根据本发明且如本文先前所述的植物获得的植物材料, 包括但不限于, 植物种子, 植物器官如, 例如, 根、茎、叶、花芽或胚等, 胚珠, 花粉小包子, 植物细胞, 植物组织, 植物细胞培养物如, 例如, 原生质体, 细胞培养物细胞 (cell culture cells), 植物组织中的细胞, 花粉, 花粉管, 胚珠, 胚囊, 合子和多种发育阶段的胚, 等等; 其仍展现根据本发明的抗性表型, 特别是在生长成植物时。

[0097] 在一个方面, 本发明涉及用于将等位基因引入缺乏所述等位基因的辣椒植物中促成伯粉虱抗性的数量性状基因座 (" QTL") 处的方法, 包括:

[0098] a) 获得根据本发明且如本文先前所述的辣椒属的第一植物, 特别是辣椒植物, 其包含

[0099] i) 至少一个标记等位基因, 所述标记等位基因是通过 PCR 扩增产物表征的, 所述 PCR 扩增产物特别是可以通过使用 PCR 寡核苷酸引物或一对 PCR 寡核苷酸引物获得的 PCR 扩增产物, 特别是选自下组的引物对: 由 SEQ ID NO :1 的正向引物和 SEQ ID NO :2 的反向引物代表的引物对 1, 其鉴定标记基因座 1; 由 SEQ ID NO :3 的正向引物和 SEQ ID NO :4 的反向引物代表的引物对 2, 其鉴定标记基因座 2; 由 SEQ ID NO :5 的正向引物和 SEQ ID NO :6 的反向引物代表的引物对 3, 其鉴定标记基因座 3; 由 SEQ ID NO :7 的正向引物和 SEQ ID NO :8 的反向引物代表的引物对 4, 其鉴定标记基因座 4; 由 SEQ ID NO :9 的正向引物和 SEQ ID NO :10 的反向引物代表的引物对 5, 其鉴定标记基因座 5; 和由 SEQ ID NO :11 的正向引物和 SEQ ID NO :12 的反向引物代表的引物对 6, 其鉴定标记基因座 6; 或任何其它鉴定染色

体 3 上与伯粉虱抗性性状在统计学上相关的标记基因座的引物或引物对 ;或

[0100] ii) 至少一个标记等位基因,所述标记等位基因是通过 PCR 扩增产物表征的,所述 PCR 扩增产物特别是可以通过使用 PCR 寡核苷酸引物或一对 PCR 寡核苷酸引物获得的 PCR 扩增产物,特别是选自下组的引物对 :由 SEQ ID NO :13 的正向引物和 SEQ ID NO :14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7 ;由 SEQ ID NO :15 的正向引物和 SEQ ID NO :16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8 ;由 SEQ ID NO :17 的正向引物和 SEQ ID NO :18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9 ;由 SEQ ID NO :19 的正向引物和 SEQ ID NO :20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10 ;由 SEQ ID NO :21 的正向引物和 SEQ ID NO :22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11 ;由 SEQ ID NO :23 的正向引物和 SEQ ID NO :24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12 ;和由 SEQ ID NO :25 的正向引物和 SEQ ID NO :26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13 ;或任何其它鉴定染色体 5 上与伯粉虱抗性性状在统计学上相关的标记基因座的引物或引物对,或

[0101] iii) i) 和 ii) 的组合 ;

[0102] b) 将所述辣椒属的第一植物,特别是辣椒植物,与第二辣椒植物杂交,其中所述第二辣椒植物缺乏所述核酸 ;并且

[0103] c) 鉴定由所述杂交产生的、展现出增加的对伯粉虱的抗性并且包含所述至少一个标记等位基因的植物 ;或,任选地,

[0104] d) 鉴定由所述杂交产生的、展现出增加的对伯粉虱的抗性并且缺失步骤 a) 中鉴定的所述标记等位基因的植物。

[0105] 在一个方面,本发明涉及用于将等位基因引入缺乏所述等位基因的辣椒植物中促成蓟马抗性的数量性状基因座 (" QTL") 处的方法,包括 :

[0106] a) 获得根据本发明且如本文先前所述的辣椒属的第一植物,特别是辣椒植物,其包含至少一个标记等位基因,所述标记等位基因是通过 PCR 扩增产物表征的,所述 PCR 扩增产物特别是通过使用 PCR 寡核苷酸引物或一对 PCR 寡核苷酸引物可以获得的 PCR 扩增产物,特别是选自下组的引物对 :由 SEQ ID NO :13 的正向引物和 SEQ ID NO :14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7 ;由 SEQ ID NO :15 的正向引物和 SEQ ID NO :16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8 ;由 SEQ ID NO :17 的正向引物和 SEQ ID NO :18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9 ;由 SEQ ID NO :19 的正向引物和 SEQ ID NO :20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10 ;由 SEQ ID NO :21 的正向引物和 SEQ ID NO :22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11 ;由 SEQ ID NO :23 的正向引物和 SEQ ID NO :24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12 ;和由 SEQ ID NO :25 的正向引物和 SEQ ID NO :26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13 ;或任何其它鉴定染色体 5 上与蓟马抗性性状在统计学上相关的标记基因座的引物或引物对 ;

[0107] b) 将所述辣椒属的第一植物,特别是辣椒植物,与第二辣椒植物杂交,其中所述第二辣椒植物缺乏所述核酸 ;并且

[0108] c) 鉴定由所述杂交产生的、展现出增加的对蓟马的抗性并且包含所述至少一个标记等位基因的植物 ;或,任选地,

[0109] d) 鉴定由所述杂交产生的、展现出增加的对蓟马的抗性并且缺失步骤 a) 中鉴定

的所述标记等位基因的植物。

[0110] 在一个方面中,本发明涉及用于将至少第一等位基因在促成伯粉虱抗性的数量性状基因座("QTL")处和至少第二等位基因在促成蓟马抗性的数量性状基因座("QTL")处引入缺乏所述等位基因的辣椒植物中的方法,包括:

[0111] a) 获得辣椒属的第一植物,特别是辣椒植物,其包含

[0112] i) 至少一个标记等位基因,所述标记等位基因是通过 PCR 扩增产物表征的,所述 PCR 扩增产物特别是可以通过使用 PCR 寡核苷酸引物或一对 PCR 寡核苷酸引物获得的 PCR 扩增产物,特别是选自下组的引物对:由 SEQ ID NO:1 的正向引物和 SEQ ID NO:2 的反向引物代表的引物对 1,其鉴定标记基因座 1;由 SEQ ID NO:3 的正向引物和 SEQ ID NO:4 的反向引物代表的引物对 2,其鉴定标记基因座 2;由 SEQ ID NO:5 的正向引物和 SEQ ID NO:6 的反向引物代表的引物对 3,其鉴定标记基因座 3;由 SEQ ID NO:7 的正向引物和 SEQ ID NO:8 的反向引物代表的引物对 4,其鉴定标记基因座 4;由 SEQ ID NO:9 的正向引物和 SEQ ID NO:10 的反向引物代表的引物对 5,其鉴定标记基因座 5;和由 SEQ ID NO:11 的正向引物和 SEQ ID NO:12 的反向引物代表的引物对 6,其鉴定标记基因座 6;或任何其它鉴定染色体 3 上与伯粉虱抗性性状在统计学上相关的标记基因座的引物或引物对;和

[0113] ii) 至少一个标记等位基因,所述标记等位基因是通过 PCR 扩增产物表征的,所述 PCR 扩增产物特别是可以通过使用 PCR 寡核苷酸引物或一对 PCR 寡核苷酸引物获得的 PCR 扩增产物,特别是选自下组的引物对:由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7;由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8;由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9;由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10;由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11;由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12;和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13;或任何其它鉴定染色体 5 上与蓟马和 / 或伯粉虱抗性性状在统计学上相关的标记基因座的引物或引物对;

[0114] b) 将所述辣椒属的第一植物,特别是辣椒植物,与第二辣椒植物杂交,其中所述第二辣椒植物缺乏所述核酸;并且

[0115] c) 鉴定由所述杂交产生的、展现出增加的对伯粉虱和 / 或蓟马的抗性并且包含至少两个与所述抗性共分离的标记等位基因的植物;或,任选地,

[0116] d) 鉴定由所述杂交产生的、展现出增加的对伯粉虱和 / 或蓟马的抗性并且缺失步骤 a) 中鉴定的所述标记等位基因的植物。

[0117] 在一个方面中,本发明涉及用于将促成伯粉虱抗性的 QTL 引入缺乏所述等位基因的辣椒植物的方法,包括:

[0118] a) 获得辣椒属的第一植物,特别是辣椒植物,所述植物含有包含促成伯粉虱抗性的数量性状基因座("QTL")的基因组,其中所述 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,特别是与至少两个标记基因座,更特别是与至少三个标记基因座并且甚至更特别是与至少四个标记基因座,但尤其是与至少五个和多至六个标记基因座是遗传上

连锁的,所述标记基因座在染色体 3 上且与伯粉虱抗性性状共分离,并且能够通过使用 PCR 寡核苷酸引物或一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定,特别是选自下组的引物对:由 SEQ ID NO:1 的正向引物和 SEQ ID NO:2 的反向引物代表的引物对 1,其鉴定标记基因座 1;由 SEQ ID NO:3 的正向引物和 SEQ ID NO:4 的反向引物代表的引物对 2,其鉴定标记基因座 2;由 SEQ ID NO:5 的正向引物和 SEQ ID NO:6 的反向引物代表的引物对 3,其鉴定标记基因座 3;由 SEQ ID NO:7 的正向引物和 SEQ ID NO:8 的反向引物代表的引物对 4,其鉴定标记基因座 4;由 SEQ ID NO:9 的正向引物和 SEQ ID NO:10 的反向引物代表的引物对 5,其鉴定标记基因座 5;和由 SEQ ID NO:11 的正向引物和 SEQ ID NO:12 的反向引物代表的引物对 6,其鉴定标记基因座 6;或通过任何其它染色体 3 上与伯粉虱抗性性状在统计学上相关的标记基因座;

[0119] b) 将所述辣椒属的第一植物,特别是辣椒植物,与第二辣椒植物杂交,其中所述第二辣椒植物缺乏所述核酸;并且

[0120] c) 鉴定由所述杂交产生的、展现出增加的对伯粉虱的抗性并且包含所述 QTL 的植物。

[0121] 在另一方面,本发明涉及用于将促成蓟马抗性的 QTL 引入缺乏所述等位基因的辣椒植物的方法,包括:

[0122] a) 获得辣椒属的第一植物,特别是辣椒植物,所述植物含有包含促成蓟马抗性的数量性状基因座("QTL")的基因组,其中所述 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,特别是与至少两个标记基因座,特别是与至少三个标记基因座,并且特别是与至少四个标记基因座,特别是与至少五个标记基因座,特别是与至少六个标记基因座,并且与多至七个标记基因座是遗传上连锁的,所述标记基因座在染色体 5 上且与蓟马抗性性状共分离,并且能够通过使用一对选自下组的 PCR 寡核苷酸引物来鉴定:由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7;由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8;由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9;由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10;由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11;由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12;和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13;或通过任何其它染色体 5 上与蓟马抗性性状在统计学上相关的标记基因座;

[0123] b) 将所述辣椒属的第一植物,特别是辣椒植物,与第二辣椒植物杂交,其中所述第二辣椒植物缺乏所述核酸;并且

[0124] c) 鉴定由所述杂交产生的、展现出增加的对蓟马的抗性并且包含所述 QTL 的植物。

[0125] 在一方面,本发明涉及将促成伯粉虱抗性和蓟马抗性的 QTL 引入缺乏所述等位基因的辣椒植物的方法,包括:

[0126] a) 获得辣椒属的第一植物,特别是辣椒植物,所述植物含有包含促成下述各项的数量性状基因座("QTL")的基因组,

[0127] i) 伯粉虱抗性,其中所述 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,特别是与至少两个标记基因座,更特别是与至少三个标记基因座并且甚至更特别是与至少四个标记基因座,但尤其是与至少五个和多至六个标记基因座是遗传上连锁的,所述标记基因座在染色体 3 上且与伯粉虱抗性性状共分离,并且能够通过使用 PCR 寡核苷酸引物或一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定,特别是选自下组的引物对:由 SEQ ID NO:1 的正向引物和 SEQ ID NO:2 的反向引物代表的引物对 1,其鉴定标记基因座 1;由 SEQ ID NO:3 的正向引物和 SEQ ID NO:4 的反向引物代表的引物对 2,其鉴定标记基因座 2;由 SEQ ID NO:5 的正向引物和 SEQ ID NO:6 的反向引物代表的引物对 3,其鉴定标记基因座 3;由 SEQ ID NO:7 的正向引物和 SEQ ID NO:8 的反向引物代表的引物对 4,其鉴定标记基因座 4;由 SEQ ID NO:9 的正向引物和 SEQ ID NO:10 的反向引物代表的引物对 5,其鉴定标记基因座 5;和由 SEQ ID NO:11 的正向引物和 SEQ ID NO:12 的反向引物代表的引物对 6,其鉴定标记基因座 6;或通过任何其它染色体 3 上与伯粉虱抗性性状在统计学上相关的标记基因座;和

[0128] ii) 蓟马抗性,其中所述 QTL 的特征在于与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,特别是与至少两个标记基因座,特别是与至少三个标记基因座,并且特别是与至少四个标记基因座,特别是与至少五个标记基因座,特别是与至少六个标记基因座,并且与多至七个标记基因座是遗传上连锁的,所述标记基因座在染色体 5 上且与蓟马抗性性状共分离,并且能够通过使用 PCR 寡核苷酸引物或一对 PCR 寡核苷酸引物来鉴定,特别是选自下组的引物对:由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7;由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8;由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9;由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10;由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11;由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12;和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13;或通过任何其它染色体 5 上与蓟马抗性性状在统计学上相关的标记基因座;

[0129] b) 将所述辣椒属的第一植物,特别是辣椒植物,与第二辣椒植物杂交,其中所述第二辣椒植物缺乏所述核酸;并且

[0130] c) 鉴定由所述杂交产生的、展现出增加的对伯粉虱和蓟马的抗性并且包含所述 QTL 的植物。

[0131] 在本发明的一个具体实施方案中,所述第一辣椒植物是具有品系 061M4387 的遗传背景,但尤其是在伯粉虱和/或蓟马抗性基因座处的遗传构造的植物,将所述品系 061M4387 的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏,或是它们的子代或祖先,特别是它们具有品系 061M4387 在所述 QTL 处的遗传背景或构造的植物,或它们的子代或祖先,但尤其是所述品系 061M4387 的植物,或它们的子代或祖先。

[0132] 在本发明的另一实施方案中,在本文先前所述任一方法的步骤 c) 中,对展现出增加的对伯粉虱和/或蓟马的抗性并且包含根据本发明的 QTL 的辣椒属植物的鉴定是通过分别使用如实施例 2A 和 2B 中公开的排列等级的表型评估,或通过使用根据本发明且如本文先前所公开的分子标记,或它们的组合来进行的。

[0133] 在一个方面,本发明涉及使用等位基因或 QTL 为缺乏所述与伯粉虱抗性和蓟马抗性相关的等位基因的辣椒植物赋予对伯粉虱和 / 或对蓟马的抗性,所述等位基因或 QTL 可以获得自具有品系 061M4387 的遗传背景,但尤其是在伯粉虱和 / 或蓟马抗性基因座处的遗传构造的植物,将所述品系 061M4387 的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏,或它们的子代或祖先,特别是获得自具有品系 061M4387 在促成伯粉虱和 / 或蓟马抗性的 QTL 处的遗传构造的植物,或它们的子代或祖先,但尤其是获得自所述品系 061M4387,或其子代或祖先。

[0134] 本发明进一步包含对伯粉虱是抗性的,特别是中等抗性的栽培的辣椒植物,所述植物可以如下获得:通过将对伯粉虱易感的辣椒植物与品系 061M4387 的植物(将所述品系 061M4387 的代表性种子以登录号 NCIMB41428 保藏),或它们的子代或祖先杂交;并通过选择包含 QTL 的植物,其能够在 PCR 反应中鉴定,所述 PCR 反应通过由正向引物和反向引物组成的一对 PCR 寡核苷酸引物进行,所述正向引物和反向引物展现出与 SEQ ID N0s :1-12 中所给出的至少 90%、特别是至少 95%、特别是至少 96%、特别是至少 97%、特别是至少 98%、特别是至少 99% 相同的核苷酸序列;或通过任何其它鉴定染色体 3 上与伯粉虱抗性性状在遗传上相关的标记基因座的引物或引物对进行。

[0135] 在一个实施方案中,本发明提供对蓟马是抗性的,特别是中等抗性的栽培的辣椒植物,所述植物可以如下获得:通过将对蓟马易感的辣椒植物与品系 061M4387 的植物(将所述品系 061M4387 的代表性种子以登录号 NCIMB41428 保藏),或它们的子代或祖先杂交;并通过选择包含 QTL 的植物,其能够在 PCR 反应中鉴定,所述 PCR 反应通过由正向引物和反向引物组成的一对 PCR 寡核苷酸引物进行,所述正向引物和反向引物展现出与 SEQ ID N0s :13-26 中所给出的至少 90%、特别是至少 95%、特别是至少 96%、特别是至少 97%、特别是至少 98%、特别是至少 99% 相同的核苷酸序列,或通过任何其它鉴定染色体 5 上与蓟马抗性性状在遗传上相关的标记基因座的引物或引物对进行。

[0136] 在一个实施方案中,本发明提供对伯粉虱和蓟马是抗性的,特别是中等抗性的栽培的辣椒植物,所述植物可以如下获得:通过将对伯粉虱和 / 或蓟马易感的辣椒植物与品系 061M4387 的植物(将所述品系 061M4387 的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏),或它们的子代或祖先杂交;并通过选择包含 QTL 的植物,其能够在 PCR 反应中鉴定,所述 PCR 反应通过由正向引物和反向引物组成的一对 PCR 寡核苷酸引物进行,所述正向引物和反向引物展现出分别与 SEQ ID N0s :1-12 中和 SEQ ID N0s :13-26 中所给出的至少 90%、特别是至少 95%、特别是至少 96%、特别是至少 97%、特别是至少 98%、特别是至少 99% 相同的核苷酸序列,或通过任何其它分别鉴定染色体 3 和染色体 5 上与蓟马和伯粉虱抗性性状在遗传上相关的标记基因座的引物或引物对进行。

[0137] 在一个方面,本发明涉及产生椒的果实的方法,包括

[0138] a) 种植根据本发明且如本文先前所述的对 *Besimia* 是抗性的,特别是中等抗性的栽培的辣椒植物;

[0139] b) 允许所述植物结果 (set fruit); 和

[0140] c) 收获所述植物的果实。

[0141] 在一个方面,本发明涉及产生椒的果实,特别是基本上没有因伯粉虱和 / 或蓟马所引起的摄食损害的椒的果实的方法,包括:

[0142] a) 种植根据本发明且如本文先前所述的对蓟马是抗性的,特别是中等抗性的栽培的辣椒植物;

[0143] b) 允许所述植物结果;和

[0144] c) 收获所述植物的果实。

[0145] 在一个方面,本发明涉及产生椒的果实,特别是基本上没有因蓟马引起的摄食损害的椒的果实的方法,包括:

[0146] a) 种植根据本发明且如本文先前所述的对伯粉虱且对蓟马是抗性的,特别是中等抗性的栽培的辣椒植物;

[0147] b) 允许所述植物结果;和

[0148] c) 收获所述植物的果实。

[0149] 在另一方面,本发明涉及产生椒的种子的方法,包括:

[0150] a) 种植根据本发明且如本文先前所述的对伯粉虱是抗性的,特别是中等抗性的栽培的辣椒植物;

[0151] b) 收获所述植物的果实;和

[0152] c) 从所述果实提取种子。

[0153] 在另一方面,本发明涉及产生椒的种子的方法,包括:

[0154] a) 种植根据本发明且如本文先前所述的对蓟马是抗性的,特别是中等抗性的栽培的辣椒植物;

[0155] b) 收获所述植物的果实;和

[0156] c) 从所述果实提取种子。

[0157] 在另一方面,本发明涉及产生椒的种子的方法,包括:

[0158] a) 种植根据本发明且如本文先前所述的对伯粉虱且对蓟马是抗性的,特别是中等抗性的栽培的辣椒植物;

[0159] b) 收获所述植物的果实;和

[0160] c) 从所述果实提取种子。

[0161] 在一个实施方案中,本发明涉及产生展现出对伯粉虱的抗性的椒类植物的方法,其中所述植物在位于染色体 3 上促成伯粉虱抗性的数量性状基因座("QTL")处;特别是在源自辣椒品系 061M4387(将其代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏)或源自其包含所述 QTL 的子代或祖先的 QTL 处,包含与对伯粉虱的抗性相关的等位基因,所述方法包括步骤:

[0162] a) 提供对伯粉虱易感的受体椒类植物或不含赋予对伯粉虱侵染的抗性的 QTL 等位基因的植物;

[0163] b) 提供由于在染色体 3 上存在抗性 QTL 等位基因而对伯粉虱侵染展现出抗性的供体椒类植物;

[0164] c) 将所述受体和供体植物杂交以生成子代植物,其进行分离而存在有利的 QTL 等位基因;

[0165] d) 筛选子代植物的基因组在染色体 3 上所述 QTL 区域中的重组。

[0166] 在一个实施方案中,本发明涉及产生展现出对伯粉虱的抗性的椒类植物的方法,其中所述植物在位于染色体 3 和 / 或染色体 5 上促成蓟马抗性的数量性状基因座

(“ QTL”) 处 ;特别是在源自辣椒品系 061M4387 (将其代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏) 或源自其包含所述 QTL 的子代或祖先的 QTL 处,包含与对伯粉虱的抗性相关的等位基因,所述方法包括步骤 :

[0167] a) 提供对伯粉虱易感的受体椒类植物或不合赋予对伯粉虱侵染的抗性的 QTL 等位基因的植物 ;

[0168] b) 提供由于在染色体 3 和 / 或染色体 5 上存在抗性 QTL 等位基因而对伯粉虱侵染展现出抗性的供体椒类植物 ;

[0169] c) 将所述受体和供体植物杂交以生成子代植物,其进行分离而存在有利的 QTL 等位基因 ;

[0170] d) 筛选子代植物的基因组在染色体 3 和 / 或染色体 5 上所述 QTL 区域中的重组。

[0171] 在一个实施方案中,本发明涉及产生展现出对蓟马的抗性的椒类 (pepper) 植物的方法,其中所述植物在位于染色体 5 上促成蓟马抗性的数量性状基因座 (“ QTL”) 处 ;特别是在源自辣椒品系 061M4387 (将其代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏) 或源自其包含所述 QTL 的子代或祖先的 QTL 处,包含与对蓟马的抗性相关的等位基因,所述方法包括步骤 :

[0172] a) 提供对蓟马易感的受体椒类植物或不合赋予对蓟马侵染的抗性的 QTL 等位基因的植物 ;

[0173] b) 提供由于在染色体 5 上存在抗性 QTL 等位基因而对蓟马侵染展现出抗性的供体椒类植物 ;

[0174] c) 将所述受体和供体植物杂交以生成子代植物,其进行分离而存在有利的 QTL 等位基因 ;

[0175] d) 筛选子代植物的基因组在染色体 5 上所述 QTL 区域中的重组。

[0176] 在一个实施方案中,本发明涉及产生展现出对伯粉虱和蓟马的抗性的椒类植物的方法,其中所述植物在位于染色体 3 上促成伯粉虱抗性的数量性状基因座 (“ QTL”) 处包含与对伯粉虱的抗性相关的等位基因,并且在位于染色体 5 上促成蓟马和 / 或伯粉虱抗性的数量性状基因座 (“ QTL”) 处包含与对蓟马和 / 或伯粉虱的抗性相关的等位基因 ;特别是在源自辣椒品系 061M4387 (将其代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏) 或源自其包含所述 QTL 的子代或祖先的分别在染色体 3 和 5 上的 QTL 处,所述方法包括步骤 :

[0177] a) 提供对伯粉虱和 / 或蓟马易感的受体椒类植物或不合赋予对伯粉虱和 / 或蓟马侵染的抗性的 QTL 等位基因的植物 ;

[0178] b) 提供由于在染色体 3 和 / 或染色体 5 上存在抗性 QTL 等位基因而对伯粉虱和 / 或蓟马侵染展现出抗性的供体椒类植物 ;

[0179] c) 将所述受体和供体植物杂交以生成子代植物,其进行分离而存在有利的 QTL 等位基因 ;

[0180] d) 筛选子代植物的基因组在染色体 3 和 / 或 5 上所述 QTL 区域中的重组。

[0181] 在一个实施方案中,本发明涉及产生根据本发明且如本文先前所述的对伯粉虱和 / 或蓟马展现出抗性的椒类植物的方法,其中所述子代植物是分离群的植物,所述分离群是通过获得自步骤 c) 中所述杂交的 F1 植物的自花授粉或通过获得自所述杂交的 F1 植物与另一椒类植物杂交而产生的。

[0182] 在一个实施方案中,本发明涉及产生根据本发明且如本文先前所述的对伯粉虱和/或蓟马展现出抗性的椒类植物的方法,其中可以对步骤 c) 中获得的分离群进行标准抗性测定法如,例如,分别如实施例 2A 和 2B 中所述的抗性测定法。

[0183] 在一个实施方案中,本发明涉及产生根据本发明且如本文先前所述的对伯粉虱和/或蓟马展现出抗性的椒类植物的方法,其中步骤 d) 中对子代植物的筛选是基于标记的筛选,其可以通过进行抗性测定法来支持,所述抗性测定法如,例如,分别如实施例 2A 和 2B 中所述的抗性测定法。

[0184] 在一个实施方案中,本发明涉及产生根据本发明且如本文先前所述的对伯粉虱和/或蓟马展现出抗性的椒类植物的方法,其中对基因组的筛选是分别使用与染色体 3 和/或染色体 5 在遗传上连锁的分子标记进行的。

[0185] 在一个实施方案中,本发明涉及产生根据本发明且如本文先前所述的对伯粉虱展现出抗性的椒类植物的方法,其中所述对基因组的筛选是使用分子标记进行的,所述分子标记与通过选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或一对 PCR 寡核苷酸引物的 PCR 扩增产物表征的至少一个标记在遗传上是连锁的:由 SEQ ID NOs:1-12 的正向和反向引物代表的引物对 1-6。

[0186] 在一个实施方案中,本发明涉及产生根据本发明且如本文先前所述的对蓟马展现出抗性的椒类植物的方法,其中所述对基因组的筛选是使用分子标记进行的,所述分子标记与通过选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或一对 PCR 寡核苷酸引物的 PCR 扩增产物表征的至少一个标记在遗传上是连锁的:由 SEQ ID NOs:13-26 的正向和反向引物代表的引物对 7-13。

[0187] 在一个实施方案中,本发明涉及产生根据本发明且如本文先前所述的对伯粉虱展现出抗性的椒类植物的方法,其中鉴定并选择的子代植物在所述 QTL 处包含仍赋予伯粉虱抗性的减小的基因组区段 (progeny plants are identified and selected which comprise a reduced genome segment at the QTL still conferring resistance to Bemisia),其中在供体植物中与所述 QTL 连锁的至少一个标记基因座处与至少一个标记等位基因的连锁已经被破坏,所述标记等位基因是通过选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或寡核苷酸引物对的 PCR 扩增产物表征的:由 SEQ ID NOs:1-12 的正向和反向引物代表的引物对 1-6。

[0188] 在一个实施方案中,本发明涉及产生根据本发明且如本文先前所述的对伯粉虱展现出抗性的椒类植物的方法,其中鉴定并选择的子代植物在所述 QTL 处包含仍赋予伯粉虱抗性的减小的基因组区段,其中与全部标记等位基因的连锁已经被破坏,所述标记等位基因是通过选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或寡核苷酸引物对的 PCR 扩增产物表征的:由 SEQ ID NOs:1-12 的正向和反向引物代表的引物对 1-6。

[0189] 在一个实施方案中,本发明涉及产生根据本发明且如本文先前所述的对蓟马展现出抗性的椒类植物的方法,其中鉴定并选择的子代植物在所述 QTL 处包含仍赋予蓟马抗性的减小的基因组区段,其中在供体植物中与所述 QTL 连锁的至少一个标记基因座处与至少一个标记等位基因的连锁已经被破坏,所述标记等位基因是通过选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或寡核苷酸引物对的 PCR 扩增产物表征的:由 SEQ ID NOs:13-26 的正向和反向引物代表的引物对 7-13。

[0190] 在一个实施方案中,本发明涉及产生根据本发明且如本文先前所述的对蓟马展现出抗性的椒类植物的方法,其中鉴定并选择的子代植物在所述 QTL 处包含仍赋予蓟马抗性的减小的基因组区段,其中与全部标记等位基因的连锁已经被破坏,所述标记等位基因是通过选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或寡核苷酸引物对的 PCR 扩增产物表征的:由 SEQ ID NOs :13-26 的正向和反向引物代表的引物对 7-13。

[0191] 在一个实施方案中,本发明涉及产生根据本发明且如本文先前所述的对伯粉虱和/或蓟马展现出抗性的椒类植物的方法,其中在所述 QTL 处包含仍赋予伯粉虱和/或蓟马抗性的基因组区段,特别是减小的基因组区段的植物,是通过基于标记的筛选或通过进行抗性筛选或通过二者的组合来鉴定的,特别是通过基于标记的筛选,其中使用的标记位于所述 QTL 区中并且与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,条件是所述标记分离在相同的群体中。

[0192] 在一个实施方案中,本发明涉及鉴定促成伯粉虱抗性的数量性状基因座("QTL")的方法,包括在 PCR 反应中使用选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或一对 PCR 寡核苷酸引物:由 SEQ ID NO :1 的正向引物和 SEQ ID NO :2 的反向引物代表的引物对 1,其鉴定标记基因座 1;由 SEQ ID NO :3 的正向引物和 SEQ ID NO :4 的反向引物代表的引物对 2,其鉴定标记基因座 2;由 SEQ ID NO :5 的正向引物和 SEQ ID NO :6 的反向引物代表的引物对 3,其鉴定标记基因座 3;由 SEQ ID NO :7 的正向引物和 SEQ ID NO :8 的反向引物代表的引物对 4,其鉴定标记基因座 4;由 SEQ ID NO :9 的正向引物和 SEQ ID NO :10 的反向引物代表的引物对 5,其鉴定标记基因座 5;和由 SEQ ID NO :11 的正向引物和 SEQ ID NO :12 的反向引物代表的引物对 6,其鉴定标记基因座 6。

[0193] 在一个实施方案中,本发明涉及鉴定促成伯粉虱抗性的数量性状基因座("QTL")的方法,包括在 PCR 反应中使用选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或一对 PCR 寡核苷酸引物:由 SEQ ID NO :13 的正向引物和 SEQ ID NO :14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7;由 SEQ ID NO :15 的正向引物和 SEQ ID NO :16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8;由 SEQ ID NO :17 的正向引物和 SEQ ID NO :18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9;由 SEQ ID NO :19 的正向引物和 SEQ ID NO :20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10;由 SEQ ID NO :21 的正向引物和 SEQ ID NO :22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11;由 SEQ ID NO :23 的正向引物和 SEQ ID NO :24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12;和由 SEQ ID NO :25 的正向引物和 SEQ ID NO :26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13。

[0194] 在一个实施方案中,本发明涉及鉴定促成伯粉虱抗性的数量性状基因座("QTL")的方法,包括在 PCR 反应中使用

[0195] a) 选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或一对 PCR 寡核苷酸引物:由 SEQ ID NO :1 的正向引物和 SEQ ID NO :2 的反向引物代表的引物对 1,其鉴定标记基因座 1;由 SEQ ID NO :3 的正向引物和 SEQ ID NO :4 的反向引物代表的引物对 2,其鉴定标记基因座 2;由 SEQ ID NO :5 的正向引物和 SEQ ID NO :6 的反向引物代表的引物对 3,其鉴定标记基因座 3;由 SEQ ID NO :7 的正向引物和 SEQ ID NO :8 的反向引物代表的引物对 4,其鉴定标记基因座 4;由 SEQ ID NO :9 的正向引物和 SEQ ID NO :10 的反向引物代表的引物对 5,其鉴定标记基因座 5;和由 SEQ ID NO :11 的正向引物和 SEQ ID NO :12 的反向引物代表的引物对 6,其鉴定标记基

因座 6 ;和

[0196] b) 选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或一对 PCR 寡核苷酸引物 :由 SEQ ID NO :13 的正向引物和 SEQ ID NO :14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7 ;由 SEQ ID NO :15 的正向引物和 SEQ ID NO :16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8 ;由 SEQ ID NO :17 的正向引物和 SEQ ID NO :18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9 ;由 SEQ ID NO :19 的正向引物和 SEQ ID NO :20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10 ;由 SEQ ID NO :21 的正向引物和 SEQ ID NO :22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11 ;由 SEQ ID NO :23 的正向引物和 SEQ ID NO :24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12 ;和由 SEQ ID NO :25 的正向引物和 SEQ ID NO :26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13。

[0197] 在一个实施方案中,本发明涉及鉴定促成蓟马抗性的数量性状基因座 (" QTL") 的方法,包括在 PCR 反应中使用选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或一对 PCR 寡核苷酸引物 :由 SEQ ID NO :13 的正向引物和 SEQ ID NO :14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7 ;由 SEQ ID NO :15 的正向引物和 SEQ ID NO :16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8 ;由 SEQ ID NO :17 的正向引物和 SEQ ID NO :18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9 ;由 SEQ ID NO :19 的正向引物和 SEQ ID NO :20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10 ;由 SEQ ID NO :21 的正向引物和 SEQ ID NO :22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11 ;由 SEQ ID NO :23 的正向引物和 SEQ ID NO :24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12 ;和由 SEQ ID NO :25 的正向引物和 SEQ ID NO :26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13。

[0198] 在一个实施方案中,本发明涉及通过根据本发明且如本文先前所述的方法鉴定的 QTL,所述 QTL 促成伯粉虱抗性并且位于染色体 3 上。

[0199] 在一个实施方案中,本发明涉及通过根据本发明且如本文先前所述的方法鉴定的 QTL,所述 QTL 促成伯粉虱抗性并且位于染色体 5 上。

[0200] 在一个实施方案中,本发明涉及通过根据本发明且如本文先前所述的方法鉴定的 QTL,所述 QTL 促成蓟马抗性并且位于染色体 5 上。

[0201] 在一个实施方案中,本发明提供包含如下基因组的栽培的辣椒植物,所述基因组包含促成伯粉虱抗性的至少一个 QTL,所述 QTL 位于染色体 3 上,其中所述至少一个 QTL 能够通过处于连锁不平衡中和 / 或与所述 QTL 区连锁和 / 或位于所述 QTL 区中的分子标记,以及代表所述 QTL 下的实际因果突变 (actual causal mutations underlying the QTL) 并由此与表型性状展现出统计学关联的标记来鉴定,所述标记可以使用如 SEQ ID NO :1-12 中所公开的寡核苷酸引物来开发。

[0202] 在一个实施方案中,本发明提供包含如下基因组的栽培的辣椒植物,所述基因组包含促成伯粉虱抗性的至少两个 QTL,所述 QTL 位于染色体 3 和 5 上,其中所述至少两个 QTL 能够通过处于连锁不平衡中和 / 或与所述 QTL 区连锁和 / 或位于所述 QTL 区中的分子标记,以及代表所述 QTL 下的实际因果突变并由此与表型性状展现出统计学关联的标记来鉴定,所述标记可以分别使用如 SEQ ID NO :1-12 和 SEQ ID NO :13-26 中所公开的寡核苷酸引物来开发。

[0203] 在一个实施方案中,本发明提供包含如下基因组的栽培的辣椒植物,所述基因组

包含促成蓟马抗性的至少一个 QTL, 所述 QTL 位于染色体 5 上, 其中所述至少一个 QTL 能够通过处于连锁不平衡中和 / 或与所述 QTL 区连锁和 / 或位于所述 QTL 区中的分子标记, 以及代表所述 QTL 下的实际因果突变并由此与表型性状展现出统计学关联的标记来鉴定, 所述标记可以使用如 SEQ ID NO :13-26 中所公开的寡核苷酸引物来开发。

[0204] 在一个实施方案中, 本发明提供包含如下基因组的栽培的辣椒植物, 所述基因组包含促成伯粉虱和蓟马抗性的至少两个 QTL, 所述 QTL 位于染色体 3 和 5 上, 其中所述至少两个 QTL 能够通过处于连锁不平衡中和 / 或与所述 QTL 区连锁和 / 或位于所述 QTL 区中的分子标记, 以及代表所述 QTL 下的实际因果突变并由此与表型性状展现出统计学关联的标记来鉴定, 所述标记可以分别使用如 SEQ ID NO :1-12 和 SEQ ID NO :13-26 中所公开的寡核苷酸引物来开发。

[0205] 定义

[0206] 如果在本文的下文中没有另行指明, 一般给予本申请范围内使用的技术术语和表述以植物育种和栽培的相关领域中常用于它们的含义。

[0207] “栽培的辣椒”植物在本发明范围内理解为指这样的植物, 其不再处于天然状态, 但是已经通过人的照料进行了发育并用于人的使用和 / 或消费。

[0208] 如用于本说明书和随附权利要求中, 单数形式“一个”、“一种”、和“所述”、“该”包括复数称谓, 除非上下文另外明确指明。由此, 例如, 提到“一株 / 种植物”包括一或多株 / 种植物, 而提到“一个 / 种细胞”包括细胞、组织、等等的混合物。

[0209] “等位基因”在本发明范围内理解为指与不同形式的基因或任何种类的可鉴定遗传元件相同的或相关的各种遗传单元的可选 (alternative) 或变体形式, 因为它们位于同源染色体中的相同基因座, 所以它们在遗传方面是可选的。这些可选或变体形式可以是单核苷酸多态性、插入、倒位、易位或缺失的结果, 或是基因调节 (由例如化学或结构修饰引起的)、转录调节或翻译后修饰 / 调节的结果。在二倍体细胞和生物体中, 给定基因或遗传元件的两个等位基因通常占据一对同源染色体的对应基因座。

[0210] 与数量性状相关的等位基因可以包含各种遗传单元的可选或变体形式, 包括与单个基因或多个基因或它们的产物或者甚至是破坏促成所述 QTL 代表的表型的遗传因子或由该遗传因子控制的基因相同或相关的那些。

[0211] 如本文中所使用的, 术语“标记等位基因”是指当用作标记来定位染色体上含有促成表型性状可变性的等位基因的遗传基因座时, 如本文的上文所定义的遗传单元的可选或变体形式。

[0212] 如本文中所使用的, 术语“育种”及其语法变形指生成子代个体的任何过程。育种可以有性的或无性的, 或其任意组合。育种的例示性非限制性类型包括杂交、自交、重单倍体衍生物生成 (doubled haploid derivative generation)、及其组合。

[0213] 如本文中所使用的, 短语“建立的育种群体”是指在育种程序中, 例如商业化育种程序中, 由亲本产生的和 / 或作为亲本使用的潜在育种配偶体的集合。建立的育种群体的成员通常在遗传上和 / 或表型上得到良好的表征。例如, 可能已经对几种感兴趣的表型性状进行了评估, 例如, 在不同的环境条件下、在多个地点和 / 或在不同的时间进行了评估。取而代之或除此之外, 可能已经鉴定了一个或多个与表型性状的表达相关的遗传基因座, 并且可能已经对所述育种群体中成员就所述一个或多个遗传基因座以及与所述一个或多

个遗传基因座相关的一个或多个遗传标记进行了基因型分型。

[0214] 如本文中所使用的,短语“二倍体个体”是指具有两组染色体的个体,通常是来自它两个亲本各一组。然而,应理解在一些实施方案中,二倍体个体能够从同一个生物体接受其“母本”和“父本”组的染色体,例如当植物自交产生植物的后代时。

[0215] “纯合”在本发明的范围内理解为指同源染色体上一个或多个对应的基因座处同样的等位基因。

[0216] “杂合”在本发明的范围内理解为指同源染色体上一个或多个对应的基因座处不同的等位基因。

[0217] “回交”在本发明的范围内理解为指这样的过程,其中将杂交子代重复地往回与亲本之一杂交。不同的回归亲本可以在后续的回交中使用。

[0218] “基因座”在本发明的范围内理解为染色体上的区域,其包含促成性状的基因或任何其它遗传元件或因子。

[0219] 如本文中所使用的,“标记基因座”是指染色体上的区域,其包含存在于个体基因组中并且与一个或多个感兴趣的基因座相关的核苷酸或多核苷酸序列,其可以包含促成性状的基因或任何其它遗传元件或因子。“标记基因座”也指染色体上的区域,其包含与基因组序列互补的多核苷酸序列,例如用作探针的核酸序列。

[0220] “遗传连锁”在本发明的范围内理解为指特征在遗传上的关联,原因是在相同染色体上基因的位置接近,其通过基因座之间的重组百分比(厘摩, cM)来测量。

[0221] 如本文中所使用的,短语“数量性状”是指能够用数字描述的(即,用数量表示的或定量的)表型性状。数量性状通常在群体的个体之间展现出连续的变化;即,表型性状数值上的差异微小并且分入彼此的等级(grade into each other)。数量表型性状在群体中的频率分布经常展现出铃铛型曲线(即,在两个极值之间呈正态分布)。在本案中,数量性状在群体的个体之间在针对伯粉虱属和/或缨翅目的昆虫的抗性方面展现出连续变化,所述抗性依靠标准化的昆虫抗性测定法来评分,所述测定法使用 1-9 的等级来评定侵染的严重性。

[0222] 数量性状通常是遗传基因座与环境相互作用或多个遗传基因座(QTL)彼此和/或与环境相互作用的结果。数量性状的实例包括植株高度和产量。

[0223] 就本发明而言,术语“共分离”是指关于性状的等位基因和关于标记的等位基因由于在染色体上它们在物理上靠近在一起而趋向于被共同遗传(transmit)的事实(由于它们在物理上接近而使它们之间的重组减少),其导致因为它们在相同染色体上接近而产生的它们的等位基因的非随机联合。“共分离”也指单一植物内存的两个或更多个性状,其中至少一个已知是遗传性的并且无法轻易用偶然性来解释。

[0224] 如本文中所使用的,术语“数量性状基因座”(QTL)和“标记性状关联(marker trait association)”是指遗传标记和影响感兴趣的性状表型的染色体区和/或基因之间的关联。通常,这以统计学来决定;例如,基于一种或多种在文献中公布的方法。QTL 可以是有区别性影响表型性状(数量性状或质量性状)的至少两个等位基因的染色体区和/或遗传基因座。

[0225] 如本文中所使用的,术语“QTL 处的遗传构造”是指在统计学上与感兴趣的表型性状相关并且代表感兴趣的表型性状潜在的遗传基础的基因组区。

[0226] 如本文中所使用的,短语“有性杂交”和“有性生殖”在当前公开的主题的上下文中是指配子融合产生子代(例如,通过受精,如在植物中通过授粉产生种子)。“有性杂交”或“有性受精”在一些实施方案中是将一个个体通过另一个受精(例如,植物中的异花授粉)。术语“自交”在一些实施方案中是指通过自体受精或自花授粉产生种子,即,花粉和胚珠来自同一植物。

[0227] 如本文中所使用的,短语“遗传标记”是指个体基因组中与一个或多个感兴趣的基因座关联的特征(例如,存在于个体基因组中的核苷酸或多核苷酸序列)。在一些实施方案中,遗传标记是感兴趣的群体中的多态性,或由所述多态性占据的基因座,其取决于上下文。遗传标记包括,例如,单核苷酸多态性(SNP)、插入/缺失(indel)(即,插入/缺失)、简单序列重复(SSR)、限制性片段长度多态性(RFLP)、随机扩增多态性DNA(RAPD)、切割扩增多态性序列(CAPS)标记、多样性阵列技术(DArT)标记和扩增片段长度多态性(AFLP),等等许多其它实例。例如,遗传标记能够用于在染色体上定位含有促成表型性状可变性的等位基因的遗传基因座。短语“遗传标记”也可以指与基因组序列互补的多核苷酸序列,例如用作探针的核酸的序列。

[0228] 遗传标记可以在物理上位于染色体上与它关联的遗传基因座之内或之外的位置中(即分别是基因内的或基因外的)。换言之,虽然当与感兴趣基因座对应的基因或功能性突变在染色体上的位置(例如在基因之外的调控元件内)尚未鉴定且遗传标记和感兴趣基因座之间的重组率非零时通常采用遗传标记,但是当前公开的主题也可以采用在物理上在遗传基因座边界内的遗传标记(例如在与基因对应的基因组序列之内,例如但不限于基因内含子或外显子内的多态性)。在当前公开的主题的一些实施方案中,一种或多种遗传标记包含1-10种标记,而在一些实施方案中,一种或多种遗传标记包含超过10种遗传标记。

[0229] 如本文中所使用的,术语“基因型”是指细胞或生物体的遗传组成。个体的“一组遗传标记的基因型”包括就一种或多种遗传标记基因座而言在个体单倍型中存在的特定等位基因。如本领域中所知,基因型可以涉及单一基因座或多个基因座,无论所述基因座是相关的或不相关的和/或连锁的或非连锁的。在一些实施方案中,个体的基因型涉及一个或多个相关的基因,因为所述基因中的所述一个或多个涉及感兴趣的表型(例如,如本文所定义的数量性状)的表达。因此,在一些实施方案中,基因型包含存在于个体内数量性状的一个或多个遗传基因座处的一个或多个等位基因的概括(summary)。在一些实施方案中,将基因型按照单倍型(在本文的下文中定义)来表示。

[0230] 如本文中所使用的,术语“种质”是指群体或个体的其它组(例如,种)的基因型的全部。术语“种质”也可以指植物材料;例如,作为多种等位基因的贮藏库发挥作用的植物组。短语“适应性种质(adapted germplasm)”是指具有经证实的遗传优越性的植物材料(例如,就给定的环境或地理区域而言);而短语“非适应性种质”、“原种质(raw germplasm)”和“外来种质”是指遗传价值未知或未经证实的植物材料(例如,就给定的环境或地理区域而言);同样,短语“非适应性种质”在一些实施方案中指不属于已经建立的育种群体中的部分并且与已经建立的育种群体中成员没有已知关系的植物材料。

[0231] 如本文中所使用的,术语“杂种”、“杂种植物”和“杂种子代”是指从遗传上不同的亲本产生的个体(例如,遗传上杂合的或大部分杂合的个体)。

[0232] 如本文中所使用的,短语“单交 F_1 杂种”是指由两个近交系之间的杂交产生的 F_1

杂种。

[0233] 如本文中所使用的,短语“近交系”是指遗传上纯合或几乎纯合的群体。例如,近交系可以经由几个循环的兄妹育种或自交或在双单倍体生产中产生。在一些实施方案中,近交系准确地繁殖感兴趣的一个或多个表型性状。“近交种”、“近交个体”或“近交子代”是从近交系采样的个体。

[0234] 如本文中所使用的,术语“双单倍体系”是指产自花粉药培养的稳定的近交系。一些在特定培养基和环境中培养的花粉粒(单倍体)能够发育出含有 n 条染色体的小植株。然后将这些小植株“加倍”并含有 $2n$ 条染色体。这些小植株的子代被命名为“双单倍体”并且基本上不再分离(稳定的)。

[0235] 如本文中所使用的,术语“连锁”及其语法变形是指相同染色体上不同基因座处的多个等位基因趋向于与如果它们的遗传独立而将会按偶然性所预见到的相比更频繁地共同分离,在一些实施方案中是因为它们在物理上接近。

[0236] 如本文中所使用的,术语“基因座”是指染色体上的位置(例如,基因、遗传标记等的位置)。

[0237] 如本文中所使用的,短语“核酸”是指能与核苷酸串对应的,单体单元的任何物理串,包括核苷酸聚合物(例如典型的 DNA、cDNA 或 RNA 聚合物)、修饰的寡核苷酸(例如包含对于生物学 RNA 或 DNA 而言不是典型的碱基的寡核苷酸,诸如 2'-O-甲基化寡核苷酸)等等。在一些实施方案中,核酸可以是单链的、双链的、多链的、或其组合。除非另外指明,当前公开主题的特定核酸序列任选在任何明确指明的序列之外还包含或编码互补序列。

[0238] 如本文中所使用的,短语“表型性状”指个体因其基因组、蛋白质组和 / 或代谢组与环境相互作用所产生的外观或其它可检测特征。

[0239] 如本文中所使用的,短语“抗性”是指在类似环境条件和害虫或病原体压力下,当与易感性植物相比时,植物限制指定害虫或病原体的生长和发育和 / 或它们引起损害的能力。抗性植物在重度害虫或病原体压力下可能展现一些疾病症状或损伤

[0240] 基本上要区分两种水平的抗性。“高或标准抗性”是指当与易感性对应物(counterpart)相比时,在普通害虫或病原体压力下,高度限制指定的害虫或病原体的生长和发育的植物。然而,这些植物在重度害虫或病原体压力下可能展现出一些症状或损害。

[0241] “中等 / 中等抗性”是指这样的植物,其转移昆虫和 / 或限制指定害虫或病原体的生长和发育,或与易感性对应物相比显示出减少的损害,但是与高 / 标准抗性植物相比可能展现出更大范围的症状或损害。当在相似环境条件和 / 或害虫或病原体压力下培养时,中等 / 中等抗性植物仍将比易感性植物显示出严重性显著更低的症状或损害。

[0242] 如本文中所使用的,短语“易感性”是指植物不能充分限制指定害虫或病原体的生长和发育。

[0243] 如本文中所使用的,短语“伯粉虱抗性”或“对伯粉虱侵染的抗性”或“伯粉虱抗性植物”是指能够抵抗昆虫攻击、侵染或群集的植物。可以对某些植物展现的抗性水平进行评分,例如,依靠如本文下文文中在实施例 2A 中所述的标准化昆虫抗性测定法,其使用 1-9 的等级来评定侵染的严重性。

[0244] 在所述昆虫抗性测定法中得分为 1 的植物完全由蛹覆盖并且严重发霉、通常生长受阻,而得分为 9 的植物是完全没有蛹并因此是完全抗性的。标准“易感品种”(例如

Vergasa F1 或 Bikingo F1) 就本发明而言理解为指在如实施例 2A 中所述的昆虫抗性测定法中得分在 3-4 的植物,其中所述植物出现密集地挤在叶上的许多蛹(100-400/叶),通常伴有黑色霉菌。

[0245] “伯粉虱抗性植物”就本发明而言理解为指在如本文下文实施例 2A 中所述的昆虫抗性测定法中得分在 6-9 的范围内,包括 6 和 9 的植物。

[0246] 对伯粉虱侵染的中等或中等抗性始于得分 6,其中所述植物显示中等-相对较低数目的蛹(20-50/叶),其更加规则地分布在叶上。在得分为 7 时,仅存在一些蛹(5-20/叶),其不规则地散布在叶上。得分为 8 的植物仅显示非常少的蛹(1-5/叶)并且在生长或果实发育中受到的影响不明显。

[0247] 因此,就本发明而言,对于伯粉虱侵染为“中等或中等抗性”的植物,应理解为按照如本文下文实施例 2A 中所述的标准化昆虫抗性测定法中测定的范围 1-9 的等级得分在 6-8 之间范围内的植物。如果植物的得分在 8-9 之间的范围内,包括 9,那么应将其理解为“高度抗性的”。

[0248] 如本文中所使用的,短语“蓟马抗性”或“对蓟马侵染的抗性”或“蓟马抗性植物”是指能够抵抗昆虫攻击、侵染或群集的植物。可以对某些植物展现的抗性水平进行评分,例如,依靠如本文下文在实施例 2B 中所述的标准化昆虫抗性测定法,其使用 1-9 的等级来评定基于观察到的摄食损害(银化)所判断的侵染的严重性。

[0249] 在所述昆虫抗性测定法中得分为 1 的植物显示出非常严重的银化,大部分的叶受到损害(>40%银化),而得分为 9 的植物未显示银化损害(0%银化)并因此是完全抗性的。标准“易感品种”(例如 Roxy F1 和 / 或 Snooker F1) 就本发明而言理解为指在如实施例 2B 中所述的昆虫抗性测定法中得分在 3(11%-20%银化)和 4(6%-10%银化)之间的植物,其中所述植物出现分布在整个叶上的许多大的银化斑点。

[0250] “蓟马抗性植物”就本发明而言理解为指在如本文下文实施例 2B 中所述的昆虫抗性测定法中得分在 5-9 的范围内,包括 5 和 9 的植物。

[0251] 对蓟马侵染的中等或中等抗性始于得分 5,其中所述植物显示出更加规则地分布在叶上的中等数目的斑点(3%-5%银化)。在得分为 7 时,植物仅显示出一些小斑点,特别是靠近中间叶脉或叶边缘处(0.1%-1%银化)。得分为 8 的植物仅显示出非常小的斑点并且在生长或果实发育中受到的影响不明显(<0.1%银化)。

[0252] 因此,就本发明而言,对于蓟马侵染为“中等或中等抗性”的植物,应理解为按照如本文下文实施例 2B 中所述的标准化昆虫抗性测定法中测定的范围 1-9 的等级得分在 5-8 之间范围内,特别是在 6-8 之间的植物。如果植物的得分在 8-9 之间的范围内,包括 9,那么应将其理解为“高度抗性的”。

[0253] 术语“染色体 3”和“染色体 5”意指分别包括术语“连锁群 3 和 5”和 / 或“连锁群 3 和 5 的染色体等同物”,并因此在本文能与术语“连锁群 3 和 5”和 / 或“连锁群 3 和 5 的染色体等同物”以相同含义使用。

[0254] 如本文中所使用的,术语“多个(plurality)”指多于一个。因此“多个个体”指至少两个个体。在一些实施方案中,术语多数指多于整体的半数。例如,在一些实施方案中,“群体中的多数”指多于半数的群体中的成员。

[0255] 如本文中所使用的,术语“子代”是指特定杂交的后代。通常,子代产生自两个个

体的繁殖,尽管一些种(特别是一些植物和雌雄同体的动物)能够自交(即,相同植物作为雄性和雌性配子二者的供体)。后代可以是例如,F₁、F₂ 后代或任何后续的世代。

[0256] 如本文中所使用的,短语“质量性状”是指受一种或少数几种展现主要表型效果的基因控制的表型性状。因此,质量性状通常简单地遗传。植物中的实例包括,但不限于,花的颜色、果实颜色和几种已知的疾病抗性如,例如,细菌性斑腐病抗性。

[0257] “基于标记的选择”在本发明范围内理解为指例如使用遗传标记来检测一种或多种来自植物的核酸,其中所述核酸与期望性状有关以鉴定携带关于期望(或不期望)性状的基因的植物,使得那些植物可用于(或避免用于)选择性育种程序。

[0258] “微卫星或 SSR(简单序列重复)标记”在本发明范围内理解为指一类由 DNA 碱基短序列的众多重复组成的遗传遗传,其见于遍及植物基因组的基因座并具有高度多态性的可能性。

[0259] “PCR(聚合酶链式反应)”在本发明范围内理解为指生成相对大量的 DNA 特定区域或基因组亚组的方法,由此使得各种基于那些区域的分析成为可能。

[0260] “PCR 引物”在本发明范围内理解为指特定 DNA 区域的 PCR 扩增中使用的相对较短的单链 DNA 片段。

[0261] “表型”在本发明范围内理解为指遗传控制性状的可区分特征。

[0262] “多态性”在本发明范围内理解为指群体中存在两种或更多种形式的基因、遗传标记、或遗传性状或可以通过例如选择性剪接(alternative splicing)、DNA 甲基化等获得的基因产物。

[0263] “选择性育种”在本发明范围内理解为指使用拥有或展示期望性状的植株作为亲本的育种程序。

[0264] “测试用(tester)”植物在本发明范围内理解为指用于遗传表征要测试的植物中性状的辣椒属的植物。通常,将要测试的植物与“测试用”植物杂交并且对所述杂交的子代中所述性状的分离率进行评分。

[0265] “探针”如本文所使用的是指能够识别并结合特定靶分子或细胞结构并由此使所述靶分子或结构能够被检测的一组原子或分子。具体而言,“探针”指标记的 DNA 或 RNA 序列,其能够用于通过分子杂交来检测互补序列的存在并对互补序列定量。

[0266] 术语“杂交”如本文所使用的是指使用常规杂交条件,优选是指如下杂交条件,其中使用 5×SSPE、1% SDS、1×Denhardt's 溶液作为溶液和/或杂交温度为 35℃ -70℃,优选 65℃。杂交之后,清洗优选首先用 2×SSC、1% SDS,然后再用 0.2×SSC,在 35℃ -75℃ 的温度,特别是 45℃ -65℃,但尤其是 59℃ 进行(关于 SSPE、SSC 和 Denhardt's 溶液的定义,参见上文中引用的 Sambrook 等)。如例如 Sambrook 等(见上文)中所描述的高严谨性杂交条件是特别优选的。若杂交和清洗如上文所指定在 65℃ 进行,则存在例如特别优选的严谨杂交条件。例如在 45℃ 进行杂交和清洗的非严谨杂交条件优选程度较低,而在 35℃ 甚至更低。

[0267] “序列同源性或序列同一性”在本文中可互换使用。术语“相同”或百分比“同一性”在两种或更多种核酸或蛋白质序列的语境中指在为了最大对应而比对或比较时,如使用下述序列比较算法之一或通过肉眼检查所测量的,两种或更多种序列或亚序列是相同的或具有特定百分比的、相同的氨基酸残基或核苷酸。若要相互进行比较的两种序列长度不同,

则序列同一性优选涉及较短序列中与较长序列的核苷酸残基相同的核苷酸残基的百分比。序列同一性可使用计算机程序如 Bestfit 程序 (Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive Madison, WI 53711) 按常规测定。Bestfit 利用 Smith 和 Waterman, *Advances in Applied Mathematics* 2(1981), 482-489 的局部同源性算法来寻找两个序列间具有最高序列同一性的区段。在使用 Bestfit 或另一种序列比对程序来测定特定序列是否与本发明参比序列具有例如 95% 同一性时, 优选调整参数使得在参比序列全长上计算同一性百分比且容许参比序列中有占核苷酸总数多至 5% 的同源性缺口。在使用 Bestfit 时, 所谓的任选参数优选保留它们的预设 (“缺省”) 值。在给定序列与上文所述本发明序列之间的比较中出现的偏差可能是由添加、缺失、取代、插入或重组引起的。优选的是, 此类序列比较也可以用程序 “fasta20u66” (2.0u66 版, 1998 年 9 月, William R. Pearson 和弗吉尼亚大学; 还可参见 W. R. Pearson (1990), *Methods in Enzymology* 183, 63-98, 随附实例和 <http://workbench.sdsc.edu/>) 进行。为此目的, 可使用 “缺省” 参数设置。

[0268] 两种核酸序列基本上相同的另一项指标是这两种分子在严紧条件下彼此杂交。短语 “特异性杂交” 指当特定核苷酸序列存在于复杂混合物 (例如总细胞 DNA 或 RNA) 中时, 在严紧条件下一种分子只与该序列结合、形成双链、或杂交。“基本上结合” 指探针核酸与靶核酸之间的互补性杂交, 而且涵盖微小错配, 其可以通过降低杂交介质的严紧性来容许, 用以实现对靶核酸序列的期望检测。

[0269] “严紧杂交条件” 和 “严紧杂交清洗条件” 在核酸杂交实验诸如 Southern 和 Northern 杂交的语境中是序列依赖性的, 而且在不同环境参数下是不同的。较长的序列在较高的温度特异性杂交。关于核酸杂交的详尽指导可参见 Tijssen (1993) *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology-Hybridization with Nucleic Acid Probes part I chapter 2* “Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid probe assays” Elsevier, New York。一般而言, 将高严紧性杂交和清洗条件选择成比特定序列在限定离子强度和 pH 的热解链点 (T_m) 低大约 5°C。通常, 在 “严紧条件” 下, 探针会与其靶亚序列杂交, 但不与其它序列杂交。

[0270] T_m 是 50% 的靶序列与完全匹配的探针杂交的温度 (在限定的离子强度和 pH 下)。将非常严紧的条件选择成等于特定探针的 T_m 。具有超过 100 个互补残基的互补核酸在滤器上在 Southern 或 Northern 印迹中的杂交的严紧杂交条件的一个实例是 50% 甲酰胺及 1mg 肝素, 杂交于 42°C 进行过夜。高严紧性清洗条件的一个实例是 0.15M NaCl 于 72°C 大约 15 分钟。严紧清洗条件的一个实例是用 0.2×SSC 于 65°C 清洗 15 分钟 (关于 SSC 缓冲液的说明参见 Sambrook, 见下文)。通常, 高严紧性清洗之前有低严紧性清洗以消除背景探针信号。用于例如超过 100 个核苷酸的双链体的中高严紧性清洗的一个实例是 1×SSC 于 45°C 15 分钟。用于例如超过 100 个核苷酸的双链体的低严紧性清洗的一个实例是 4-6×SSC 于 40°C 15 分钟。对于短探针 (例如大约 10-50 个核苷酸), 严紧条件通常涉及低于大约 1.0M Na 离子、通常大约 0.01-1.0M Na 离子浓度 (或其它盐) 的盐浓度, 于 pH 7.0-8.3, 而且温度通常是至少大约 30°C。严紧条件还可以通过添加去稳定剂如甲酰胺来实现。一般而言, 特定杂交测定法中用无关探针观察到的信噪比的 2 倍 (或更高) 的信噪比指示检测到特异性杂交。若由核酸编码的蛋白质基本上相同, 则在严紧条件下彼此不杂交的核酸仍然是基本

上相同的。这发生于例如使用遗传密码容许的最大密码子简并性来创建核酸拷贝的时候。

[0271] “植物”是处于任何发育阶段的任何植物，特别是种子植物。

[0272] “植物细胞”是植物的结构和生理单元，包含原生质体和细胞壁。植物细胞可以是分离的单细胞或培养的细胞的形式，或者是更高级的、有组织的单元如例如植物组织、植物器官、和完整植株的一部分。

[0273] “植物细胞培养物”指植物单元的培养物，如例如原生质体、细胞培养物细胞、植物组织中的细胞、花粉、花粉管、胚珠、胚囊、合子和各种发育阶段的胚的培养物。

[0274] “植物材料”指植物的叶、茎、根、花或花的各部分、果实、花粉、卵细胞、合子、种子、插条、细胞或组织培养物、或任何其它部分或产物。

[0275] “植物器官”是植物的独特的且明显有结构的且分化的部分，如根、茎、叶、花芽、或胚。

[0276] 如本文中所使用的，“植物组织”指组织成结构和功能单元的一组植物细胞。包括种植或培养的植物的任何组织。此术语包括但不限于完整植株、植物器官、植物种子、组织培养物和组织成 (organized) 结构和 / 或功能单元的任何植物细胞组。此术语在连同上文所列或此定义以其它方式涵盖的任何特定植物组织类型或在没有任何特定植物组织类型的情况中的使用并非意图排除任何其它类型的植物组织。

[0277] 本发明涉及新的椒类植物，具体涉及辣椒植物，其对昆虫，特别是对伯粉虱属和 / 或缨翅目的昆虫，更特别是对烟粉虱（白粉虱）和 / 或蓟马更特别是西花蓟马是抗性的，特别是中等抗性的，进一步涉及所述植物的种子和果实。本发明还涉及制备和使用这些植物和它们的果实的方法。

[0278] 根据本发明的植物可以通过将两种或更多种亲本基因型杂交来获得，其中至少一种亲本基因型可以具有一个或多个等位基因，特别是一种或多种在促成伯粉虱和 / 或蓟马抗性的相应 QTL 处的等位基因，所述等位基因在另一亲本基因型中不存在或其补足另一基因型，从而获得根据本发明且如本文先前所述的植物。如果超过一个 QTL 促成所述抗性性状的表达并且所述两种原始亲本基因型不提供整组等位基因，那么在育种群体中可以包括其它来源。另一亲本基因型可以促成一种期望的性状，包括市场要求的果实质量如例如 180 克范围的重量，块状的形状 (blocky shape)，光滑的表皮，亮红的色泽。除了果实质量，其它期望的性状有农艺学上重要的特征如例如良好的植株构造，高生产力和对疾病的基本抗性，所述疾病例如，但不限于，TMV (烟草花叶病毒) 和 TSWV (番茄斑萎病病毒)。

[0279] 可以将这些亲本基因型与彼此杂交产生子代种子。所述亲本基因型可以通过自交从不受控制或开放式授粉的田间选择的杂合植株并且采用循环选择流程 (recurrent selection procedure) 而开发的近交系。在连续世代中自交并选择出众的植株。在后续世代中，杂合的情况因自花授粉和选择而转变为纯合系。随着连续几个世代的近交，植物在子代植物中变得越来越纯合和一致。通常，可以实施 5 至 7 代或更多代的自交 (F1 至 F2 ; F3 至 F4 ; F4 至 F5) 和谱系选择以获得在植物和种子特征上一致的并且在连续自体受精条件下将保持一致性的近交系。

[0280] 在近交过程中，在杂合基因座上许多不想要的等位基因将由更有利的等位基因替代，并且从子代中去除不利的或不想要的等位基因。此外，经由基于标记的选择，可以将有利等位基因的数目最大化，因为较不利的等位基因将被鉴定并连续地由更有利的等位基因

替代。

[0281] 在一个方面,根据本发明的植物可以通过将来自祖先植物(特别是野生祖先植物)的昆虫抗性性状逐渐渗入栽培的椒类植物中,特别是栽培的辣椒植物,更特别是c基因座(Blum等(2002)Genome,45:702-705)或pun1基因座(Stewart等(2005)The Plant Journal,42:675-688)为纯合的或二者均为纯合的辣椒植物。

[0282] 在本发明的一个具体实施方案中,可以从中获得伯粉虱和/或蓟马抗性性状的野生祖先是可以从Instituut voor de Veredeling van Tuinbouwgewassen(现为:Centre for Genetic Resources(遗传资源中心)),Wageningen,Netherlands获得的登录号CGN16975的野生辣椒。根据本发明的昆虫抗性性状,其赋予表达此性状的植物对伯粉虱属和/或缨翅目昆虫的侵染,更特别是对烟粉虱(白粉虱)和/或蓟马的侵染,更特别是对西花蓟马的侵染的中等水平的抗性,可供选择地,所述昆虫抗性性状可以获得自辣椒品系061M4387,已经将其样本以登录号NCIMB 41428保藏在NCIMB Ltd,或者获得自品系061M4387包含所述伯粉虱和/或蓟马抗性性状的子代或祖先。

[0283] 因此,在本发明的具体实施方案中,促成所述抗性性状的亲本基因型是近交系,其具有所保藏的辣椒品系061M4387与本发明相关的性质,即在与伯粉虱和/或蓟马抗性相关的QTL处具有基本上相同的基因组构造,已经将所述辣椒品系061M4387的种子样品于2006年8月10日以登录号NCIMB41428保藏在NCIMB。

[0284] 在本发明的另一具体实施方案中,促成所述抗性性状的亲本基因型是杂种,其具有所保藏的辣椒品系061M4387与本发明相关的性质,即在与伯粉虱和/或蓟马抗性相关的QTL处具有基本上相同的基因组构造,已经将所述辣椒品系061M4387的种子样品于2006年8月10日以登录号NCIMB 41428保藏在NCIMB。

[0285] 辣椒品系061M4387产生自作为所述抗性性状供体的、可获得自Centrefor Genetic Resources, Wageningen, Netherlands的、野生的登录号CGN16975与辣椒近交系的杂交。将此杂交的伯粉虱和蓟马抗性子代与不同遗传背景的另外的近交系杂交以最终获得品系061M4387。

[0286] 因此,辣椒品系061M4387或任何其它含有辣椒品系061M4387的伯粉虱和/或蓟马抗性性状的植物品系可以用作来源材料用于将所述抗性性逐渐渗入任何期望的遗传背景中,从而获得对伯粉虱属和/或缨翅目的昆虫,更特别是烟粉虱(白粉虱)和/或蓟马,更特别是西花蓟马的侵染高度或中等抗性,特别是中等抗性的植物;所述辣椒品系061M4387或任何其它含有辣椒品系061M4387的伯粉虱和/或蓟马抗性性状的植物品系可以进一步含有一种或多种期望的性状,如市场要求的果实质量如例如180克范围的重量,块状形状,光滑的表皮,亮红的色泽。除了果实质量,其它期望的性状有农艺学上重要的特征如例如良好的植株构造,高生产力和对疾病的基本抗性,所述疾病例如,但不限于, TMV(烟草花叶病毒)和TSWV(番茄斑萎病病毒)。

[0287] 基于本发明的描述,拥有辣椒品系061M4387(已经将其样本以登录号NCIMB 41428保藏在NCIMB Ltd)或其如上文所述分别含有染色体3上与伯粉虱抗性相关的QTL和/或染色体5上与蓟马和伯粉虱抗性相关的QTL的子代或祖先的技术人员,不难将本发明的伯粉虱抗性性状和/或蓟马抗性性状使用本领域熟知的育种技术转移至各种类型的其它椒类植物中。例如,可以将本发明的性状转移至产生各种类型或形状以及各种成熟颜

色的果实的椒类植物,所述类型或形状例如灯笼椒类,甜椒类,辣椒类,大矩形椒类,圆锥椒类,包括长锥形椒类或块状型椒类,所述颜色例如常绿的、红色、黄色、橙色或乳白色。因此,在一个实施方案中,本发明的植物是能够抗伯粉虱和 / 或蓟马侵染的辣椒植物,所述植物是根据本发明的灯笼椒或甜椒,辣椒,大矩形椒,圆锥椒或长锥形椒。在一个实施方案中,本发明的植物能够产生常绿、红色、黄色、橙色或乳白色椒的果实。在本发明的另一实施方案中,种植椒类植物是为了(杂种)种子或商业化椒类生产。

[0288] 因此,在另一实施方案中,本发明公开将根据本发明的伯粉虱抗性性状和 / 或蓟马抗性性状转移至缺乏所述性状的椒类植物的方法,包括 a) 获得包含所述性状的植物;b) 将其与缺乏所述性状的植物杂交;c) 获得步骤 b) 的杂交的植物;d) 选择步骤 c) 中能够抗根据本发明的伯粉虱和 / 或蓟马侵染的植物。在一个实施方案中,所述方法还包括 e) 将步骤 d) 产生的植物与椒类植物回交,和 f) 选择椒类植物,其能够抗根据本发明的伯粉虱和 / 或蓟马的侵染。在一个实施方案中,所述方法进一步包括获得近交椒类植物,其能够抗根据本发明的伯粉虱和 / 或蓟马侵染,并且在一个实施方案中,所述方法进一步包括将所述近交椒类植物与另一椒类植物杂交以产生杂种椒类植物,其能够抗根据本发明的伯粉虱和 / 或蓟马侵染。在一个实施方案中,通过测定对伯粉虱和 / 或蓟马侵染的抗性得分来选择椒类植物,如本文所述。在一个实施方案中,包含所述性状的步骤 a) 的植物是辣椒品系 061M4387,其样本已经以登录号 NCIMB 41428 保藏在 NCIMB Ltd,或是所述植物的子代或祖先。

[0289] 在本发明的某些实施方案中,使用标准化的昆虫抗性测定法,例如在本文下文实施例 2 中描述的,来测定产自上述杂交之一的子代植物的抗性水平并选择那些对伯粉虱和 / 或蓟马侵染为中等抗性的子代植物用于进一步育种。

[0290] 在一个实施方案中,本发明公开可以通过上述方法中任一获得的辣椒植物,其中所述植物能够抗如本文所述的伯粉虱和 / 或蓟马侵染。

[0291] 在又另一个实施方案中,本发明公开从缺乏所述性状的椒类植物产生包含根据本发明的伯粉虱和 / 或蓟马抗性性状的植物的方法,包括 a) 获得包含所述性状的植物;b) 将其与缺乏所述性状的植物杂交;c) 获得步骤 b) 的杂交的植物;d) 选择步骤 c) 中能够抗根据本发明的伯粉虱和 / 或蓟马侵染的植物。在一个实施方案中,所述方法还包括 e) 将步骤 d) 产生的植物与椒类植物回交,和 f) 选择椒类植物,其能够抗根据本发明的伯粉虱和 / 或蓟马的侵染。在一个实施方案中,所述方法进一步包括获得近交椒类植物,其能够抗根据本发明的伯粉虱和 / 或蓟马侵染,并且在一个实施方案中,所述方法进一步包括将所述近交椒类植物与另一椒类植物杂交以产生杂种椒类植物,其能够抗根据本发明的伯粉虱和 / 或蓟马侵染。在一个实施方案中,通过测定对伯粉虱和 / 或蓟马侵染的抗性得分来选择椒类植物,如本文所述。在一个实施方案中,包含所述性状的步骤 a) 的植物是辣椒品系 061M4387,其样本已经以登录号 NCIMB 41428 保藏在 NCIMB Ltd,或是所述植物的子代或祖先。

[0292] 在一个实施方案中,本发明公开可以通过上述方法中任一获得的辣椒植物,其中所述植物能够抗如本文所述的伯粉虱和 / 或蓟马侵染。

[0293] 基于本发明的教导,技术人员能够设计寻找性状的新来源的程序,所述性状特别是抗性性状,但尤其是对伯粉虱属和 / 或缨翅目昆虫的抗性。

[0294] 在本发明的一个方面,表达昆虫抗性性状并对伯粉虱属的侵染展现抗性、特别是中等水平抗性的植物可以通过使用标准化伯粉虱抗性测试来鉴定和选择,所述测试产生在椒类育种领域中常用且公认的抗性评级。

[0295] 具体而言,将植物根据标准流程种植和栽培,并根据特殊设计移植。

[0296] 将植物移植成数行,每行的植物数固定。在每行中,一侧用作传播行 (spreader row),并种植易感项 (susceptible entry),或易感亲本品系。行中的另外部分种植要测试昆虫抗性的项目。测试项在数个方阵 (block) 的每一个中是完全随机的,每个方阵 1 株或多株植物 / 项。

[0297] 每周或每两周通过评定各行中距离相等的位置上固定编号的传播行植物 (例如,植物 1、38、75、112、150) 来监测伯粉虱发育。当监测的传播植物的平均侵染达到约 4 的抗性等级时,即蛹以超过 100/ 叶的数目密集地挤在叶上时,进行最终评定。通常,这个阶段在最早的果实成熟时达到 (移植后 3-4 个月)。

[0298] 通过计算每个测试项的平均值并与易感项 (例如易感的传播行等) 比较来分析数据。对平均值的多重比较 (例如 LSD) 表明测试项是否相互有别以及是否与易感对照不同。

[0299] 为了评定严重性,使用了 1-9 的等级 (表 1)。检查植物的叶的远轴侧,并根据 1-9 的等级评定约 5 片受到最严重影响的叶的平均值。将全部测试植物以这种方式评分。

[0300] 在本发明的一个方面,表达昆虫抗性性状并对缨翅目昆虫的侵染展现抗性、特别是中等水平抗性的植物,可以通过使用标准化的蓟马抗性测试来鉴定并选择,所述测试产生在椒类育种领域中常用且公认的抗性评级。

[0301] 具体而言,将植物根据标准流程种植和栽培,并根据特殊设计移植。

[0302] 可供选择地,可以采用标记辅助型育种来鉴定下述那些个体,在所述个体中如本文先前所述,与发明相关的基因座,特别是与发明相关的 QTL 基因座,和 / 或侧翼标记基因座或与之在遗传上连锁的标记基因座,具有有利的基因型,特别是纯合的有利基因型。

[0303] 在本发明的一个实施方案中,在表型评估中记录对伯粉虱和 / 或蓟马侵染的抗性。

[0304] 在另一实施方案中,选择以分子标记为基础,所述分子标记与感兴趣的性状是连锁的。

[0305] 在一个实施方案中,选择以分子标记和表型评估的组合为基础。

[0306] 在近交开发的早期可能已经使用了基于标记的选择,通常是与筛选方法组合,所述筛选方法主要基于能够直观测定并且与关键性能指标相关的表型特征,所述关键性能指标如,例如,植物活力、节间长度、分枝、昆虫抗性如对伯粉虱和 / 或蓟马侵染的抗性、病毒抗性如 TMV (烟草花叶病毒) 和 TSWV (番茄斑萎病病毒) 等,它们与有待在商业化杂交生产中利用的植物的适合性有关。选择也可以以分子标记为基础,所述分子标记可以或可以不与感兴趣的性状连锁。

[0307] 具体而言,基于标记的选择可以与表型选择组合应用或在基于标记的选择之后应用表型选择,从而鉴定如下那些个体,在所述个体中本文先前所述的与发明相关的基因座全部具有纯合的有利基因型。

[0308] 存在几种分子标记类型可以在基于标记的选择中使用,包括但不限于,限制片段长度多态性 (RFLP)、随机扩增多态性 DNA (RAPD)、扩增限制片段长度多态性 (AFLP)、单一序

列重复 (SSR) 和单核苷酸多态性 SNP。

[0309] RFLP 包括使用限制酶在特定短限制性位点处切割染色体 DNA, 多态性产生自所述位点之间的重复或缺失或在所述限制性位点处的突变。

[0310] RAPD 利用低严谨性聚合酶链式反应 (PCR) 扩增, 该扩增使用任意序列的单一引物以生成品系特异性的无名 DNA 片段阵列。所述方法仅需要很少的 DNA 样品并且分析大量的多样性基因座。

[0311] AFLP 需要用限制酶消化细胞 DNA, 其后使用 PCR 并在引物中使用选择性核苷酸以扩增特异性片段。以这种方法, 使用电泳技术使获得的片段可见, 每种引物组合能够测量多达 100 个多样性基因座, 并且每个测试仅需要小量 DNA 样品。

[0312] SSR 分析基于广泛散布于真核细胞基因组的 DNA 微卫星 (短重复) 序列, 将其选择性地扩增以检测简单序列重复中的变化。SSR 分析仅需要很少的 DNA 样品。SNP 使用有效选出 (pick up) 点突变的 PCR 延伸测定法。所述流程每份样品需要非常少的 DNA。可以在典型的基于标记的选择育种程序中使用上述方法中的一种或两种。

[0313] 实现对跨越植物基因组多样性区的核苷酸片段的扩增的最优选方法采用聚合酶链式反应 ("PCR") (Mullis 等, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 51:263-273 (1986)), 其使用包括正向引物和反向引物的引物对, 所述引物对能够与限定多样性的邻近序列以其双链形式杂交。

[0314] 可以采用替代性方法来扩增片段, 如“连接酶链式反应” ("LCR") (Barany, Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S. A.) 88:189-193 (1991)), 其使用两对寡核苷酸探针以指数扩增特定的靶。每对寡核苷酸的序列被选择为允许该对与靶的同一条链的相邻序列杂交。这种杂交形成用于模板依赖性连接酶的底物。与使用 PCR 一样, 所得产物由此在后续循环中充当模板并获得对期望序列的指数扩增。

[0315] 可以用具有多态性位点同一条链的近端和远端序列的寡核苷酸实施 LCR。在一个实施方案中, 将任一寡核苷酸设计成包含具有多态性的实际多态性位点。在这样的一个实施方案中, 反应条件将选择成使得所述寡核苷酸只能在靶分子含有或缺少与所述寡核苷酸上存在的多态性位点互补的特定核苷酸的情况下连接到一起。或者, 寡核苷酸可以选择成使得它们不包含多态性位点 (参见 Segev, PCT 申请 WO 90/01069)。

[0316] 可选择性采用的另一种方法是“寡核苷酸连接测定法” ("OLA") (Landegren 等, Science 241:1077-1080 (1988))。OLA 方案使用设计成能够与靶的单链上的相邻序列杂交的两种寡核苷酸。像 LCR 一样, OLA 特别适合于点突变的检测。然而, 与 LCR 不同, OLA 导致靶序列的“线性”而非指数扩增。

[0317] 还有另一种可以选择性采用的方法是“侵入物测定法 (invader assay)”, 其使用结构特异性瓣状内切核酸酶 (flap endonuclease; FEN) 来切割通过等位基因特异性重叠寡核苷酸与含有单核苷酸多态性 (SNP) 位点的靶 DNA 的杂交形成的三维复合物。与靶分子中 SNP 等位基因互补的寡核苷酸的退火引发裂解酶即热稳定性 FEN 对所述寡核苷酸的切割。可以通过数种不同方法来检测切割。最通常地, 切割产物引发对荧光共振能量转移 (FRET) 盒的次级切割反应以释放荧光信号。或者, 可以直接通过使用荧光偏振 (FP) 探针, 或者通过质谱术来检测切割。侵入切割反应是高度特异性的, 具有低失败率, 而且可以检测 zeptomol (10^{-21} 摩尔) 量的靶 DNA。虽然传统上已将该测定法用于每次反应询问一个样品

中的一种 SNP,但是已经测试了新的基于芯片或基于珠子的方法以使这种有效且准确的测定法能够适合于多路 (multiplexing) 和高通量 SNP 基因型分型。

[0318] Nickerson 等描述了组合 PCR 和 OLA 属性的核酸检测测定法 (Nickerson 等, Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S. A.) 87 :89238927 (1990))。在此方法中,使用 PCR 来实现靶 DNA 的指数扩增,然后使用 OLA 来检测所述靶 DNA。

[0319] 基于在具有所得“二寡核苷酸”的序列的核酸存在下对两种 (或更多种) 寡核苷酸的连接并由此扩增所述二寡核苷酸的方案也是已知的 (Wu 等, Genomics 4 :560 569 (1989)),并且出于本发明的目的可以容易地进行改编。

[0320] 在一个实施方案中,分子标记是由 PCR 扩增的 DNA 片段,例如 SS 标记或 RAPD 标记。在一个实施方案中,扩增的 DNA 片段的存在与否指示了性状本身或性状的特定等位基因的存在与否。在一个实施方案中,扩增的 DNA 片段在长度上的差异指示了性状的特定等位基因的存在,并由此使得区别性状的不同等位基因成为可能。

[0321] 在本发明的一个具体实施方案中,使用简单序列重复 (SSR) 标记在亲本植物和 / 或其祖先中,以及在产自所述亲本植物杂交的子代植物中,鉴定与发明相关的等位基因。简单序列重复是短的、重复的 DNA 序列并且存在于所有真核生物的基因组中且由几个到百余个给定核苷酸基序的重复组成。由于在基因组中特定位置上存在的重复的数目在植物之间通常有所不同,所以可以分析 SSR 以测定特定等位基因的存在与否。

[0322] 在本发明的另一实施方案中,使用 SNP 标记在亲本植物和 / 或其祖先中,以及在产自所述亲本植物杂交的子代植物中,鉴定与发明相关的等位基因。

[0323] 在一个方面,本发明涉及一种标记或一组两个或更多个标记且多至 6 个标记,其包含选自下组的一对由正向引物和反向引物组成的 PCR 寡核苷酸引物:由 SEQ ID NO :1 的正向引物和 SEQ ID NO :2 的反向引物代表的引物对 1,由 SEQ ID NO :3 的正向引物和 SEQ ID NO :4 的反向引物代表的引物对 2,由 SEQ ID NO :5 的正向引物和 SEQ ID NO :6 的反向引物代表的引物对 3,由 SEQ ID NO :7 的正向引物和 SEQ ID NO :8 的反向引物代表的引物对 4,由 SEQ ID NO :9 的正向引物和 SEQ ID NO :10 的反向引物代表的引物对 5,和由 SEQ ID NO :11 的正向引物和 SEQ ID NO :12 的反向引物代表的引物对 6,所述引物在 PCR 反应中导致扩增产物,所述扩增产物展现的分子量或核苷酸序列与在使用相同的一个或多个引物对的 PCR 反应中从辣椒品系 061M4387 可以获得的对应 PCR 扩增产物的分子量或核苷酸序列基本上相同或能够认为是其等位基因。

[0324] 选自由 SEQ ID NOs :1-12 中所示引物序列组成的组的正向和反向引物的任何其它组合也可以在 PCR 反应中使用。

[0325] 在一个方面,本发明涉及一种标记或一组两种或更多种标记且多至 7 种标记,其包含选自下组的一对由正向引物和反向引物组成的 PCR 寡核苷酸引物:由 SEQ ID NO :13 的正向引物和 SEQ ID NO :14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7;由 SEQ ID NO :15 的正向引物和 SEQ ID NO :16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8;由 SEQ ID NO :17 的正向引物和 SEQ ID NO :18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9;由 SEQ ID NO :19 的正向引物和 SEQ ID NO :20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10;由 SEQ ID NO :21 的正向引物和 SEQ ID NO :22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11;由 SEQ ID NO :23 的正向引物和 SEQ ID NO :24 的反向引物代表的引物对

12,其鉴定标记基因座 12 ;和由 SEQ ID NO :25 的正向引物和 SEQ ID NO :26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13,所述引物在 PCR 反应中导致扩增产物,所述扩增产物展现的分子量或核苷酸序列与在使用相同的一个或多个引物对的 PCR 反应中从辣椒品系 061M4387 可以获得的对应 PCR 扩增产物的分子量或核苷酸序列基本上相同或能够认为是其等位基因。

[0326] 选自由 SEQ ID NOs :13-26 中所示引物序列组成的组的正向和反向引物的任何其它组合也可以在 PCR 反应中使用。

[0327] 在一个方面,本发明涉及一种标记或一组两种或更多种标记且多至 13 种标记,其包含选自下组的一对由正向引物和反向引物组成的 PCR 寡核苷酸引物 :由 SEQ ID NO :1 的正向引物和 SEQ ID NO :2 的反向引物代表的引物对 1,由 SEQ ID NO :3 的正向引物和 SEQ ID NO :4 的反向引物代表的引物对 2,由 SEQ ID NO :5 的正向引物和 SEQ ID NO :6 的反向引物代表的引物对 3,由 SEQ ID NO :7 的正向引物和 SEQ ID NO :8 的反向引物代表的引物对 4,由 SEQ ID NO :9 的正向引物和 SEQ ID NO :10 的反向引物代表的引物对 5,和由 SEQ ID NO :11 的正向引物和 SEQ ID NO :12 的反向引物代表的引物对 6,由 SEQ ID NO :13 的正向引物和 SEQ ID NO :14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7 ;由 SEQ ID NO :15 的正向引物和 SEQ ID NO :16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8 ;由 SEQ ID NO :17 的正向引物和 SEQ ID NO :18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9 ;由 SEQ ID NO :19 的正向引物和 SEQ ID NO :20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10 ;由 SEQ ID NO :21 的正向引物和 SEQ ID NO :22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11 ;由 SEQ ID NO :23 的正向引物和 SEQ ID NO :24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12 ;和由 SEQ ID NO :25 的正向引物和 SEQ ID NO :26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13,所述引物在 PCR 反应中导致扩增产物,所述扩增产物展现的分子量或核苷酸序列与在使用相同的一个或多个引物对的 PCR 反应中从辣椒品系 061M4387 可以获得的对应 PCR 扩增产物的分子量或核苷酸序列基本上相同或能够认为是其等位基因。

[0328] 选自由 SEQ ID NOs :1-26 中所示引物序列组成的组的正向和反向引物的任何其它组合也可以在 PCR 反应中使用。

[0329] 在本发明的另一实施方案中,可以使用的分子标记处于连锁不平衡中和 / 或与分别在染色体 3 和染色体 5 上、包含根据本发明的促成伯粉虱和蓟马抗性的 QTL 的 QTL 区连锁和 / 或位于所述 QTL 区中,以及代表所述 QTL 下的实际因果突变并由此与表型性状展现出统计学关联的标记,所述标记可以使用分别如 SEQ ID NO :1-12 和 SEQ ID NOs :13-26 中所公开的寡核苷酸引物来开发。

[0330] 在第一步中,DNA 或 cDNA 样品通过使用已知技术提取 DNA 或 RNA 而获得自合适的植物材料如叶组织。然后使用本领域那些技术人员熟知的聚合物链式反应 (PCR) 方法,使用如下引物来扩增 DNA 样品,所述引物在含有 SSR 的区域的侧翼,所述 SSR 在本文先前公开的与发明相关的 QTL 内或在阈值连锁的区域内。

[0331] 基本上,PCR 扩增的方法包括使用引物或引物对,其包含在要扩增的 DNA 区段侧翼的两个短寡核苷酸引物序列或与所述 DNA 区段连接的衔接序列。重复几个循环的对 DNA 的加热和变性之后,在低温将引物退火到它们的互补序列,并用 DNA 聚合酶延伸退火引物。引物与 DNA 靶序列的相反链杂交。杂交涉及互补 DNA 链的退火,其中互补涉及所述核苷酸的

序列,由此使一条链的核苷酸能够与相反链上的核苷酸键合形成双链结构。使所述引物定向,从而由聚合酶进行的 DNA 合成双向推进经过引物之间的核苷酸序列。这种方法有效地在一个循环中将 DNA 区段的量加倍。由于 PCR 产物与所述引物互补并且能够与所述引物结合,每个连续的循环将上个循环中合成的 DNA 量加倍。这种方法的结果是特定靶片段的指数积累,即大约 2^n ,其中 n 是循环数。

[0332] 通过 PCR 扩增,制备几百万拷贝的由所述引物侧翼包围的 DNA 区段。在不同等位基因中位于侧翼引物之间的重复序列数目或在所述重复序列侧翼的区域中插入或缺失的差异,反映在扩增的 DNA 片段的长度变化中。这些变化能够通过例如在凝胶上以电泳分离所述扩增的 DNA 片段或通过使用毛细管测序仪来检测。通过分析所述凝胶或图谱 (profile),能够测定植物是否含有纯合或杂合状态的期望的等位基因或期望或不期望的等位基因是否从植物基因组缺失。

[0333] 标记分析可以使用从非常嫩的植物的叶组织或从种子提取的 DNA 样品在植物发育早期进行。这允许在育种循环的早期鉴定具有期望的遗传组成的植物并在授粉之前弃去不含所述期望的、与发明相关的等位基因的植物,由此降低育种群体的大小并降低表型分型的需求。

[0334] 另外,通过使用分子标记,能够区别在与发明相关的 QTL 基因座处携带两个拷贝期望的、与发明相关的等位基因的纯合植物和仅携带一个拷贝的杂合植物及不含任何拷贝的有利等位基因的植物之间。

[0335] 在本发明的一个实施方案中,标记基因座可以使用选自下组的一对由正向引物和反向引物组成的 PCR 寡核苷酸引物鉴定:由 SEQ ID NO:1 的正向引物和 SEQ ID NO:2 的反向引物代表的引物对 1,由 SEQ ID NO:3 的正向引物和 SEQ ID NO:4 的反向引物代表的引物对 2,由 SEQ ID NO:5 的正向引物和 SEQ ID NO:6 的反向引物代表的引物对 3,由 SEQ ID NO:7 的正向引物和 SEQ ID NO:8 的反向引物代表的引物对 4,由 SEQ ID NO:9 的正向引物和 SEQ ID NO:10 的反向引物代表的引物对 5,和由 SEQ ID NO:11 的正向引物和 SEQ ID NO:12 的反向引物代表的引物对 6,包括由展现出与 SEQ ID NO:1-12 中给出的寡核苷酸序列共享 90% -99%、特别是 95% -98% 序列同一性的核苷酸序列的正向引物和反向引物组成的寡核苷酸引物。

[0336] 在本发明的一个实施方案中,标记基因座可以使用选自下组的一对由正向引物和反向引物组成的 PCR 寡核苷酸引物鉴定:由 SEQ ID NO:13 的正向引物和 SEQ ID NO:14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7;由 SEQ ID NO:15 的正向引物和 SEQ ID NO:16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8;由 SEQ ID NO:17 的正向引物和 SEQ ID NO:18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9;由 SEQ ID NO:19 的正向引物和 SEQ ID NO:20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10;由 SEQ ID NO:21 的正向引物和 SEQ ID NO:22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11;由 SEQ ID NO:23 的正向引物和 SEQ ID NO:24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12;和由 SEQ ID NO:25 的正向引物和 SEQ ID NO:26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13,包括由展现出与 SEQ ID NO:13-26 中给出的寡核苷酸序列共享 90% -99%、特别是 95% -98% 序列同一性的核苷酸序列的正向引物和反向引物组成的寡核苷酸引物。

[0337] 在本发明的范围内还可以使用的是寡核苷酸分子如引物或探针,特别是由展现出

如下核苷酸序列的正向引物和反向引物组成的引物,所述核苷酸序列在中、特别是在中到高、特别是在高严谨性条件下,分别与表 10 中所示 SEQ ID NO:1-12 中和表 11 中所示 SEQ ID NO:13-26 中给出的正向和反向引物序列的核苷酸序列杂交,或与通过分别使用如 SEQ ID NO:1-12 和 SEQ ID NO:13-26 中给出的正向和反向引物能够获得的序列杂交的核苷酸序列杂交。

[0338] 具体而言,所述杂交反应在高严谨性条件下进行,在所述条件下使用 $5\times$ SSPE、1% SDS、 $1\times$ Denhardt's 溶液作为溶液和 / 或杂交温度为 35°C 到 70°C 之间,且高至 72°C ,优选 65°C 。杂交之后,清洗具体而言在 35°C 到 70°C 之间,且高至 72°C ,优选 65°C ,首先用 $2\times$ SSC、1% SDS,然后用 $0.2\times$ SSC 进行(关于 SSPE、SSC 和 Denhardt's 溶液的定义,参见上文引用的 Sambrook 等)。

[0339] 在本发明的一个方面,可以开发并使用未在本文明确公开的标记或者甚至尚未鉴定的标记。基于本申请中提供的信息,本领域技术人员将有可能鉴定或开发未明确公开但是与所述 QTL 连锁或与公开的标记连锁的标记。本领域技术人员已知在标记辅助型选择中其它标记可以提供至少相等的效用。

[0340] 因此本发明还涉及分子标记,所述分子标记处于连锁不平衡中和 / 或与分别在染色体 3 和染色体 5 上、包含根据本发明的促成伯粉虱和蓟马抗性的 QTL 的 QTL 区连锁和 / 或位于所述 QTL 区中,以及代表所述 QTL 下的实际因果突变并由此与表型性状展现出统计学关联的标记,所述标记可以使用分别如 SEQ ID NO:1-12 和 SEQ ID NOs:13-26 中所公开的寡核苷酸引物来开发。

[0341] 表明 QTL 在基因组上的位置的连续基因组标记在理论上是任意的或非限定性的。概括而言,QTL 的位置通过与所述表型性状展现出统计学关联的一连串标记来表明。因此有可能通过位于所述 QTL 区内的其它标记来表明 QTL 的位置和 QTL(和所述表型)的存在与否。潜在有用的标记的数目是有限的,但是可以非常大,且技术人员可以简单地鉴定本申请公开的那些之外的额外标记。与如本申请公开的抗性连锁的任何标记可以使用在标记辅助型选择中。

[0342] 由此,可供选择的标记因而可以通过技术人员已知的方法开发并用于鉴定和选择具有根据本发明且如本文先前所述的一个或多个数量性状基因座的一个等位基因或一组等位基因的植物。

[0343] 例如,在使用分别如表 10 和表 11 中指明的、展现出如 SEQ ID NO:1-12 和 SEQ ID NOs:13-26 中给出的核苷酸序列的引物对的 PCR 中获得的扩增产物的核苷酸序列,可以通过本领域那些技术人员和基于新测定的 PCR 扩增产物的核苷酸序列设计的新引物或引物对获得。另外,根据本发明并且如本文先前所述的标记可以在椒或其它物种的遗传图谱上定位,特别是茄科(Solanaceae)物种,并且在相同的或同源(homolog)或直系同源区(orthologous region)中的已知标记作图可以用作开发新标记的起点。

[0344] 在使用分别如表 10 和表 11 中指明的、展现出如 SEQ ID NO:1-12 和 SEQ ID NOs:13-26 中给出的核苷酸序列的引物对的 PCR 中获得的扩增产物的核苷酸序列,或其部分,也可以用作杂交探针,例如用于筛选 BAC 文库,以鉴定其它的连锁核苷酸序列。

[0345] 因此,本发明中具体公开的标记也可以在与感兴趣的 QTL 相关的新的或额外的标记的鉴定和 / 或开发中使用,然后所述新的或额外的标记继而能够用于标记辅助型育种和

/ 或所述 QTL 侧翼的重组体搜索和 / 或精细作图和 / 或所述 QTL 的克隆。

[0346] 存在数种可用的、本领域技术人员已知的方法或手段,其能够用于鉴定和 / 或开发处于连锁不平衡中和 / 或与 QTL 区连锁和 / 或位于所述 QTL 区中的标记,以及代表所述 QTL 下的实际因果突变的标记。本领域那些技术人员已知的一些方法包括,但不限于:

[0347] - 在杂交方法中使用公开的序列 / 标记来鉴定感兴趣的区域中的其它序列:如本文公开的引物序列和 / 或能够使用所述如本文公开的引物序列决定的标记 / 基因序列(或其部分)可以作为(杂交)探针,用于从基因组核酸样品和 / 或 RNA 或 cDNA 样品或样品池中分离所述标记侧翼的和 / 或与所述 QTL 区连锁的和 / 或相关的和 / 或对于所述 QTL 区特异性的核酸序列 / 基因(例如筛选基因组资源如 BAC 文库或 gDNA 或 cDNA 文库筛选)。

[0348] - 在 PCR 方法中使用公开的序列 / 标记来鉴定感兴趣的区域中的其它序列:如本文公开的引物序列和 / 或能够使用所述如本文公开的引物序列决定的标记 / (候选)基因序列(或其部分)可以作为(PCR)扩增引物,用于从自特定植物组织分离的或未自特定植物组织分离的和 / 或在所述植物进行特定处理之后的、且来自辣椒或理论上任何其它具有充分同源性的生物体的基因组核酸样品和 / 或 RNA 或 cDNA 样品或样品池中扩增 QTL 区侧翼的和 / 或与所述 QTL 区连锁的和 / 或相关的和 / 或对于所述 QTL 区特异性的核酸序列 / 基因。

[0349] - 在 PCR 方法中使用公开的序列 / 标记来鉴定感兴趣的区域中的其它序列:针对所述标记序列设计内部引物后能够确定一种或多种标记的核苷酸序列 / 基因并用于进一步确定 QTL 区内的和 / 或与所述性状在遗传上连锁的和 / 或与所述性状相关的额外的侧翼序列 / 基因。

[0350] - 在作图和 / 或比较性作图方法中使用公开的序列 / 标记来鉴定相同区域中的标记(在其它图谱上定位 QTL):基于如本文公开的位置信息和 / 或标记信息,可以通过遗传作图方法,最终(如果已经需要)通过在(高密度)遗传图谱和 / 或整合型遗传或共有图谱上定位所述公开的标记(通过遗传作图或基于普通标记进行跨图谱外推),来鉴定任何类型的标记。可以鉴定和 / 或获得与公开的标记和 / 或 QTL 区在遗传上连锁的和 / 或位于公开的标记和 / 或 QTL 区附近的已知标记和 / 或新标记,并最终将其用于 QTL(精细)作图和 / 或 QTL 克隆和 / 或 MAS 育种应用。

[0351] - 在“芯片上”(in silico)方法中使用公开的序列 / 标记来鉴定 QTL 区中额外的序列 / 标记 / (候选)基因:如本文公开的引物序列、和 / 或能够使用所述如本文公开的引物序列或基于连锁标记而决定的标记 / (候选)基因序列(或其部分)可以在“芯片上”方法中使用以在序列或蛋白质数据库(例如 BLAST)中查找(额外的)与如本文所述性状在遗传上连锁的和 / 或与所述性状相关的和 / 或位于所述 QTL 区内的侧翼和 / 或同源序列 / 基因和 / 或等位基因多样性(基因组序列和 / 或 cDNA 序列二者或者甚至是蛋白质,并且来自辣椒和 / 或任何其它生物体二者)。

[0352] - 在物理作图方法(在物理图谱或基因组序列上定位 QTL)中使用公开的序列 / 标记:可以将如本文公开的引物序列、和 / 或能够使用所述如本文公开的引物序列或使用与所述本文公开的标记在遗传上连锁的和 / 或位于所述 QTL 区中的其它标记在理论上具有充分同源性的任何生物体的物理图谱和 / 或(完整)基因组序列上定位,以鉴定在 QTL(精细作图)和 / 或 QTL 克隆和 / 或 MAS 育种应用中可以应用的(候选)序列 / 标记 / 基因。

[0353] - 使用公开的序列 / 标记在其它 (物理) 图谱或基因组上定位 QTL (跨物种 对于椒, 其它茄科植物如番茄和马铃薯当然是最感兴趣的, 但是模式物种如拟南芥 (*Arabidopsis*) 可以使用): 如本文公开的引物序列、和 / 或能够使用所述如本文公开的引物序列决定的标记 / 基因序列 (或其部分) 可以在比较基因组或综合作图方法 (synteny mapping approach) 中使用, 以鉴定与所述 QTL 区在遗传上连锁的和 / 或位于所述 QTL 区中并且可应用于 QTL (精细作图) 和 / 或 QTL 克隆和 / 或 MAS 育种应用的同源区和同源和 / 或直系同源序列 / (候选) 基因。

[0354] - 使用公开的序列 / 标记来选择允许通过遗传方法在感兴趣区域中鉴定标记的适合个体: 如本文公开的引物序列和 / 或标记可以用于选择具有不同 / 对比 QTL 等位基因的个体, 其在例如遗传关联方法和 / 或大批分离分析中可以用于鉴定在感兴趣的特定区域 (QTL 区) 中的和 / 或与所述性状相关或遗传上连锁的标记 / 基因。

[0355] - 使用公开的信息来查找 (位置性) 候选基因: 可以使用公开的信息来鉴定位置性和 / 或功能性候选基因, 所述基因可能与所述性状相关和 / 或在遗传上连锁。

[0356] 在一个实施方案中, 本发明因而涉及栽培的辣椒植物, 其包含含有至少一个促成伯粉虱抗性的 QTL 的基因组, 所述 QTL 位于染色体 3 上, 其中所述至少一个 QTL 能够通过表型性状展现出统计学关联的分子标记鉴定, 所述标记可以通过本领域已知方法从含有所述 QTL 的 DNA 区段开发, 所述区段能够获得自具有品系 061M4387 的遗传背景的植物, 特别是获得自具有品系 061M4387 所述 QTL 处的遗传背景或构造的植物, 但尤其是获得自品系 061M4387 的植物 (将品系 061M4387 的植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏在 NCIMB), 或获得自其包含所述 QTL 的子代或祖先, 并且所述区段通过至少一个标记基因座来限定, 特别是至少两个标记基因座, 更特别是至少三个标记基因座并且甚至更特别是至少四个标记基因座, 但尤其是至少五个和多至六个标记基因座, 所述标记基因座在染色体 3 上且与伯粉虱抗性性状共分离并且能够通过选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或 PCR 寡核苷酸引物对来鉴定: 由 SEQ ID NO:1 的正向引物和 SEQ ID NO:2 的反向引物代表的引物对 1, 其鉴定标记基因座 1; 由 SEQ ID NO:3 的正向引物和 SEQ ID NO:4 的反向引物代表的引物对 2, 其鉴定标记基因座 2; 由 SEQ ID NO:5 的正向引物和 SEQ ID NO:6 的反向引物代表的引物对 3, 其鉴定标记基因座 3; 由 SEQ ID NO:7 的正向引物和 SEQ ID NO:8 的反向引物代表的引物对 4, 其鉴定标记基因座 4; 由 SEQ ID NO:9 的正向引物和 SEQ ID NO:10 的反向引物代表的引物对 5, 其鉴定标记基因座 5; 和由 SEQ ID NO:11 的正向引物和 SEQ ID NO:12 的反向引物代表的引物对 6, 其鉴定标记基因座 6。

[0357] 在一个实施方案中, 本发明因而涉及栽培的辣椒植物, 其包含含有至少两个促成伯粉虱抗性的 QTL 的基因组, 所述 QTL 位于染色体 3 和 5 上, 其中所述至少两个 QTL 能够通过表型性状展现出统计学关联的分子标记鉴定, 所述标记可以通过本领域已知方法从含有所述 QTL 的 DNA 区段开发, 所述区段能够获得自具有品系 061M4387 的遗传背景的植物, 特别是获得自具有品系 061M4387 所述 QTL 处的遗传背景或构造的植物, 但尤其是获得自品系 061M4387 的植物 (将品系 061M4387 的植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏在 NCIMB), 或获得自其包含所述 QTL 的子代或祖先, 其中第一 QTL 在供体植物中位于染色体 3 上并且与至少一个标记基因座是遗传上连锁的, 特别是与至少两个标记基因座, 特别是与至少三个标记基因座并且特别是与至少四个标记基因座, 特别是与至少五个标记基因座,

特别是与至少六个标记基因座是遗传上连锁的,所述标记基因座在染色体 3 上且与伯粉虱抗性性状共分离并且能够通过如 SEQ ID NOs :1-12 中给出的 PCR 寡核苷酸引物对 1-6 来鉴定,并且其中第二 QTL 在供体植物中位于染色体 5 上并且与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,特别是与至少两个标记基因座,特别是与至少三个标记基因座并且特别是与至少四个标记基因座,特别是与至少五个标记基因座,特别是与至少六个标记基因座,并且多至七个标记基因座是遗传上连锁的,所述标记基因座在染色体 5 上且与伯粉虱抗性性状共分离并且能够通过选自如 SEQ ID NOs :13-26 中给出的引物对 7-13 的组的 PCR 寡核苷酸引物对来鉴定。

[0358] 在一个实施方案中,本发明因而涉及栽培的辣椒植物,其包含含有至少一个促成蓟马抗性的 QTL 的基因组,所述 QTL 位于染色体 5 上,其中所述至少一个 QTL 能够通过与表型性状展现出统计学关联的分子标记鉴定,所述标记可以通过本领域已知方法从含有所述 QTL 的 DNA 区段开发,所述区段能够获得自具有品系 061M4387 的遗传背景的植物,特别是获得自具有品系 061M4387 所述 QTL 处的遗传背景或构造的植物,但尤其是获得自品系 061M4387 的植物(将品系 061M4387 的植物的代表性种子以登录号 NCIMB41428 保藏在 NCIMB),或获得自其包含所述 QTL 的子代或祖先,并且所述区段通过至少一个标记基因座来限定,特别是至少两个标记基因座,更特别是至少三个标记基因座并且甚至更特别是至少四个标记基因座,但尤其是至少五个和多至六个标记基因座,所述标记基因座在染色体 3 上且与伯粉虱抗性性状共分离并且能够通过选自下组的 PCR 寡核苷酸引物或 PCR 寡核苷酸引物对来鉴定:由 SEQ ID NO :13 的正向引物和 SEQ ID NO :14 的反向引物代表的引物对 7,其鉴定标记基因座 7;由 SEQ ID NO :15 的正向引物和 SEQ ID NO :16 的反向引物代表的引物对 8,其鉴定标记基因座 8;由 SEQ ID NO :17 的正向引物和 SEQ ID NO :18 的反向引物代表的引物对 9,其鉴定标记基因座 9;由 SEQ ID NO :19 的正向引物和 SEQ ID NO :20 的反向引物代表的引物对 10,其鉴定标记基因座 10;由 SEQ ID NO :21 的正向引物和 SEQ ID NO :22 的反向引物代表的引物对 11,其鉴定标记基因座 11;由 SEQ ID NO :23 的正向引物和 SEQ ID NO :24 的反向引物代表的引物对 12,其鉴定标记基因座 12;和由 SEQ ID NO :25 的正向引物和 SEQ ID NO :26 的反向引物代表的引物对 13,其鉴定标记基因座 13。

[0359] 在一个实施方案中,本发明因而涉及栽培的辣椒植物,其包含含有至少两个促成伯粉虱和蓟马抗性的 QTL 的基因组,所述 QTL 位于染色体 3 和 5 上,其中所述至少两个 QTL 能够通过与表型性状展现出统计学关联的分子标记鉴定,所述标记可以通过本领域已知方法从含有所述 QTL 的 DNA 区段开发,所述区段能够获得自具有品系 061M4387 的遗传背景的植物,特别是获得自具有品系 061M4387 所述 QTL 处的遗传背景或构造的植物,但尤其是获得自品系 061M4387 的植物(将品系 061M4387 的植物的代表性种子以登录号 NCIMB 41428 保藏在 NCIMB),或获得自其包含所述 QTL 的子代或祖先,其中第一 QTL 在供体植物中位于染色体 3 上并且与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,特别是与至少两个标记基因座,特别是与至少三个标记基因座并且特别是与至少四个标记基因座,特别是与至少五个标记基因座,特别是与至少六个标记基因座是遗传上连锁的,所述标记基因座在染色体 3 上且与伯粉虱抗性性状共分离并且能够通过如 SEQ ID NOs :1-12 中给出的 PCR 寡核苷酸引物对 1-6 来鉴定,并且其中第二 QTL 在供体植物中位于染色体 5 上并且与至少一个标记基因座是遗传上连锁的,特别是与至少两个标记基因座,特别是与至少三个标记基因座并且特别是

与至少四个标记基因座,特别是与至少五个标记基因座,特别是与至少六个标记基因座,并且多至七个标记基因座是遗传上连锁的,所述标记基因座在染色体 5 上且与伯粉虱和 / 或蓟马抗性性状共分离并且能够通过选自如 SEQ ID NOs :13-26 中给出的引物对 7-13 的组的 PCR 寡核苷酸引物对来鉴定。

[0360] 根据本发明的标记可以在标记辅助型选择和 / 或其中植物具有或不具有所追踪的 QTL 的任何其它方法中使用。标记可以是反式或顺式标记。反式标记表明因外源 (供体) DNA 逐渐渗入受体植物基因组而产生的多态性,所述多态性与受体基因组顺式连锁,即与相对的等位基因连锁。由此,顺式标记与感兴趣的等位基因 (来自供体的有利的 QTL 等位基因) 连锁,而反式标记与相对的等位基因 (来自受体) 连锁。

[0361] 为了测定近交系的效用及其在遗传上促成杂种子代的潜力,进行了与另一近交系的测试杂交,并对所得子代进行了表型评估。通常可以记录的性状包括与果实形状和果实特征相关的性状,所述果实形状和果实特征如尖的或钝的果实、刺激性或非刺激性、红色、黄色或橙色。植株特征如节间长度、生长力和分枝以及特定病毒抗性如 TMV (烟草花叶病毒) 和 TSWV (番茄斑萎病病毒) 也被考虑。

[0362] 对于基因型分型, QTL 作图或关联作图 DNA 提取自合适的植物材料如,例如,叶组织。具体而言,收集多株植物的大批量的叶。使用覆盖整个椒的基因组的多个多态性 SSR、SNP 或任何其它合适的标记类型对 DNA 样品进行基因型分型。

[0363] 基因型和表型数据的结合分析可以使用标准软件进行,例如,软件 QTL Cartographer 和 PlabQTL。可以筛选植物引种 (plant introduction) 和种质在分别公开于表 10 和表 11 中的对应 QTL 处的等位基因,所述筛选使用一种或多种本文公开或本领域那些技术人员已知的技术筛选,基于与所述 QTL 连锁的一个 / 多个标记基因座处的标记或任何其它已知分别位于染色体 3 和染色体 5 上的标记的核苷酸序列,和所述等位基因的分子量。

[0364] 本发明的公开的标记、连锁的标记或 QTL 的核酸序列可以通过技术人员已知的方法测定。例如,包含所述 QTL 的核酸序列或其赋予抗性的部分可以从伯粉虱 / 蓟马抗性供体植物分离,其通过将所述植物的基因组片段化并选择那些含有一个或多个指示所述 QTL 的标记的片段。然后,或替代性地,可以将所述指示所述 QTL 的标记序列 (或其部分) 用作 (PCR) 扩增引物,从而从获得自所述植物的基因组核酸样品或基因组片段扩增一个或多个包含所述 QTL 的核酸片段。QTL 和 / 或任何其它其中包含的标记的核苷酸序列可以通过标准测序方法获得。

[0365] 本发明因而还涉及分离的核酸 (优选 DNA 但不限于 DNA) 序列,该序列包含本发明的 QTL,或其赋予伯粉虱 / 蓟马抗性的部分。因此所述公开的标记可以用于自椒或其它蔬菜作物,特别是茄科作物鉴定和分离一种或多种与伯粉虱 / 蓟马抗性连锁或编码伯粉虱 / 蓟马抗性的标记或基因。

[0366] 其它连锁的标记或本发明的 QTL 的核苷酸序列也可以例如如下解析 : 测定与所述 QTL 相关的一种或多种标记的核苷酸序列,并针对所述标记序列设计其后可用于进一步测定所述标记序列之外的序列的引物。例如,本文公开的 SSR 标记或在所述 QTL 区中预测的任何其它标记和 / 或与所述 QTL 连锁的任何其它标记的核苷酸序列可以通过测序所述标记的 PCR 扩增产物获得,其是本领域熟知的。或者可供选自地,在 PCR 中使用所述标记序列或

使用所述标记序列作为杂交探针以通过例如但不限于 BAC 筛选来鉴定连锁的核苷酸序列。

实施例

[0367] 以下实施例提供示例性实施方案。在本公开和本领域一般技术水平的启发下,那些技术人员将理解以下实施例仅旨在示例,并且在不背离本文要求保护的主题的前提下可以采用多种变化、修改和改变。

[0368] 实施例 1:育种史椒的育种系 061M4387

[0369] 使用如下文实施例 2 中所述的定量生物测定法结合适当的培养条件,鉴定了一个野生辣椒登录项 (accession) 作为对烟粉虱和对蓟马侵染的抗性的来源。登录号为 CGN16975 且登录名为 AC 1979 的这种野生登录项的种子获得自 Instituut voor de Veredeling van Tuinbouwgewassen(现为 Centre for Genetic Resources), Wageningen, Netherlands。通过将这种供体椒类植物与易感性受体椒类植物杂交创造了针对伯粉虱和蓟马抗性分离的群体。创造了由总共 333 个 DH 品系组成的分离群体用于鉴定促成伯粉虱和蓟马抗性的一个或多个 QTL。

[0370] 将抗性的最初来源野生登录项 CGN16975 与在 Westland(荷兰)选择的先正达荷兰近交种 (Dutch inbred of Syngenta) 杂交。这种杂交的 F3 子代被鉴定为对 Almeria(西班牙)的白粉虱是抗性的,特别是中等抗性的(肉眼观察)。

[0371] 然后在前一段中提及的 F3 和在 Almeria 开发的先正达品系之间产生了 (BC1) 杂交。这种杂交的子代被鉴定为对白粉虱和蓟马是抗性的,特别是中等抗性的(在 Agadir-Morocco;蓟马-肉眼观察),并用于下一杂交 (BC2)。

[0372] BC2 是用于 Almeria(西班牙)开发的先正达双单倍体品系生成的。从这种杂交的 F2 中的植物家族发展出数株 (= 333) 双单倍体以表征白粉虱和蓟马抗性性状的遗传。在它们之中,以登录号 NCIMB 41428 保藏在 NCIMB 的品系 061M4387 显示出对烟粉虱和蓟马侵染的中等抗性。

[0373] 实施例 2:抗性测定法

[0374] 2A 伯粉虱抗性-测试方案

[0375] 2A.1 植物栽培

[0376] 根据标准流程播种和栽培植物

[0377] 具体而言,将植物播种在例如装填有 pH 6.5-7.5 的充分沥干的、松散土壤的 77 个复盘 (multitray) (4.2×4.2×5.9cm 的多个盆 (multipot)) 并在通道 (tunnel) 中培养大约一个月。为所述植物施用 EC2 的 N 4.0-6.0P 0.35-1.0,K 4.0-6.0 肥料 (fertilized)。

[0378] 根据特殊设计(见下文)移植所述植物并根据标准流程培养。在植物培养过程中,植物通常需要受到针对伯粉虱之外的寄生虫的保护。使用对伯粉虱群体发育仅具有很小影响的杀虫剂进行化学处理。

[0379] 2A.2 昆虫培养和接种

[0380] 为了确保伯粉虱群体稳定和均匀的发育并获得更严紧的测试条件,进行了使用伯粉虱对植物的早期接种。为此使用了单独的小塑料温室,其中在标准条件下栽培椒类作物。使用天然存在的伯粉虱群体接种测试材料。

[0381] 两种方法可以用于接种:

[0382] 1) 使用笋瓜作为诱杀性植物,将 2-3 周龄的笋瓜幼苗置于具有伯粉虱培养物的小塑料温室中 4-6 小时。由于伯粉虱成虫对笋瓜具有强烈的偏好,它们将迅速飞至笋瓜幼苗。然后小心地将带有伯粉虱成虫的笋瓜植株用塑料袋包裹,并转移至实验管道并均匀地释放在植物上。接种始于移植之后大约 10 天,并且视需要可以持续 1-2 周。

[0383] 2) 在移植之前,将栽培在盘中的幼嫩的椒幼苗放置在具有伯粉虱培养物的小塑料温室中 4-5 天,允许成年伯粉虱在幼嫩植物上产卵。其后可以将植物移植到较大的双管(bitunnel)。

[0384] 2A.3 实验设计

[0385] 使用在 Agadir 的具有 8 行的大双管,每行约 2×150 株植物。在每一行,使用一侧作为传播行并种植易感项(现存 F1,例如 Bikingo F1 或 Vergasa F1,或易感亲本系)。在该行的其它部分种植测试项。测试项完全随机化,在至少 7 个方阵中的每一个中每个方阵具有 1 株或多株植物/条目(block)。

[0386] 2A.4 数据采集

[0387] 每周或每两周通过在各行中评定 5 株处于等距位置的传播行植物(植株 1、38、75、112、150)来监测伯粉虱发育。当检测到的传播植物的平均侵染为大约 4(表 1)时,通常是在最早的果实成熟时(移植后 3-4 个月),进行最终评定。

[0388] 为了评定严重性,使用 1-9 的等级(表 1)。检查植物叶的远轴侧并根据 1-9 的等级评定大约 5 片受到最严重感染的叶的平均值。全部测试植物以这种方式评分。

[0389] 表 1:用于 WF 抗性的评定等级。

[0390]

等级	描述 WF	蛹数目 ¹
9	无蛹	0
8	非常少的蛹	1-5
7	不规则地散布在叶上的一些蛹	5-20
6		20-50
5	更规则地分布在叶上的中等数目的蛹	50-100
4		100-200

[0391]

3	许多蛹,密集地挤在叶上(出现黑色霉菌)	200-400
2		400-700
1	植物完全由蛹覆盖,并且严重发霉,通常生长受阻	700-1000

[0392] 1:对每片叶的蛹数目的估计:空蛹壳和成熟的蛹

[0393] 2A.5 数据分析

[0394] 通过计算每个测试项的平均值并与易感项(例如易感传播行等)比较来分析数据。对平均值的多重比对(例如 LSD)表明测试项是否彼此有别以及是否与易感对照不同。

[0395] 2A.6 结果

[0396] 2A.6.1 抗性测试

[0397] 表 2 显示了对保藏的品系 061M4387(含 QTL1(在本文称为染色体 3 的 QTL)和 QTL2(在本文称为染色体 5 的 QTL),参见实施例 3)、它的两个祖先和抗性供体在阿加迪尔(摩洛哥)进行的伯粉虱筛选的一些结果。育种史在实施例 1 中阐释。证明了保藏的品系 061M4387 在变化的昆虫压力、季节和条件下与标准易感性品种或品系相比显著更好。

[0398] 表 2:使用保藏的品系 061M4387 和它的一些祖先的测试结果

[0399]

项目	抗性品系	易感对照 ¹		测试	备注
CGN16975 (供体)	非常强的抗性*				*在育种试验中 用肉眼评分
BC1F3	非常强的抗性*	非常易感*		2002 年春	
CGN16975 (供体)	平均值 n	平均值	LSD ²		昆虫压力相对 较低
BC1F4	8.8 20	6.6	0.4	2002 年 12 月	
保藏的品系	平均值 n	平均值	LSD		中-高的昆虫压 力
061M4387	8.0 7	4.2	1.2	2005 年 8 月	
061M4387	6.4 7	3.0	1.5	2005 年 11 月	非常高的昆虫 压力
061M4387	6.7 20	3.8	0.6	2006 年 6 月	高昆虫压力
061M4387	8.0 10	5.2	1.4	2007 年 2 月	中等昆虫压力

[0400] ¹ 在以上试验中,使用 Vergasa F1、Bikingo F1 或亲本系(均为易感性)同时作为易感对照和传播行。

[0401] ² LSD 区间 ($P < 0.05$) 是基于对试验中包括的许多项目的平均值的比较(未显示)。

[0402] 2A.6.2 与抗性相关的 QTL 鉴定

[0403] 表 3 显示对于为了鉴定与抗性相关的 QTL 而从 BC2F2 开发的一组 333 个 DH 品系进行筛选的结果(参见实施例 1 和 3)。对 DH 品系进行了两项测试:测试 1 在 2005 年春种植并在 8 月计分,第二测试在 2005 年 9 月种植并在 11 月计分。在 8 月的平均侵染与 11 月相比较低(表 3)。在 11 月的试验中,温室中的一些盆具有非常高的昆虫压力,因而无法获得可靠的表型。因此将那些盆排除在分析之外。

[0404] 鉴定了两个 QTL (参见实施例 3)。染色体 3 上的 QTL (QTL1) 具有最高的 LOD 值 (高达 50), 染色体 5 上的 QTL (QTL2) 具有较小的 LOD 值 (高达 5)。

[0405] 基于侧翼标记, 鉴定了 69 个 DH 品系不含 QTL, 57 个 DH 品系仅含 QTL1, 38 个 DH 品系仅含 QTL2, 而 63 个 DH 品系同时拥有 QTL1 和 QTL2。

[0406] QTL1 的效果在两个试验中都是显著的, 并且在 8 月的试验中评估为 1.3 个等级单位而在 11 月的试验中评估为 1.9 个等级单位 (表 3)。由于在 8 月的侵染较低, 许多得分为 7-8 的品系达到极值 (plafond), 有可能使品系之间的差异最小化。在 11 月的试验中, 品系之间的差异较大, 原因是较高的侵染水平。

[0407] QTL2 的效果在 8 月的试验中比 11 月的试验更显著 (0.6 个等级单位)。

[0408] 表 3: 对于为了鉴定与抗性相关的 QTL 而从 BC2F2 开发的一组 333 个 DH 品系进行筛选的结果

	无 QTL	QTL1	QTL2	QTL1&2
[0409] 8 月	5.9a*	7.2c	6.5b	7.6d
11 月	4.1a	6.0b	4.3a	6.1b
[0410] 平均值	5.0	6.6	5.4	6.8

[0411] *: 相似的字母说明在观察期间内没有统计学差异 (LSD, $P < 0.05$)

[0412] 2A.6.3 测试 QTL1 在 5 个 BC3 家族中的效果

[0413] 为了评估 QTL1 在不同背景家族中的效果, 用 5 种不同的 BC 亲本和一种含有 QTL1 的衍生的抗性品系制备了五种 BC3。将源自这些 BC3 的 556 个 DH 品系针对 QTL1 进行了基因分型并且在阿加迪尔 (2007 年 2 月, 表 4) 在与先前所述的相同条件下进行了测试。对于不同的家族评估的 QTL1 的效果为 1.8-2.3 个等级单位 (表 4), 确认了 QTL1 的显著作用 (双向 ANOVA (Two-way ANOVA), 均方 QTL1 = 521.3, $F = 698.7$, $P < 0.001$, 家族和 QTL1 存在之间没有相互作用)。

[0414] 表 4: 在 2007 年 2 月在阿加迪尔测试的 5 个 BC3 家族中 QTL1 对伯粉虱的效果

[0415]

家族	QTL1 存在	平均值	n	差异
1	无 QTL	5.2	51	1.8
	QTL1	7.0	46	
2	无 QTL	4.7	47	2.0
	QTL1	6.8	38	
3	无 QTL	5.2	60	2.1
	QTL1	7.3	145	
4	无 QTL	4.9	37	2.2
	QTL1	7.2	57	
5	无 QTL	4.9	42	2.3
	QTL1	7.3	33	
		总计	556	

[0416] 2A. 6. 4 在源自供体 CGN16975 与两个良种椒品系的杂交的一组 60 个 DH 品系中测试 QTL1 和 2 对伯粉虱损害的效果。

[0417] 将抗性的最初来源野生登录项 CGN16975 与两个良种品系 (A 和 B) 杂交。从这两种 F1 共衍生了 60 个双单倍体品系 (来自品系 A 的 34 个和来自品系 B 的 26 个)。这些品系中的 58 个大部分测试了两次 (在 2003 年 12 月和 2004 年 12 月之间) 伯粉虱抗性。

[0418] 表 5: 在源自野生登录项 CGN16975 和 2 个良种椒品系的 F1 的小 DH 群体中估计的 QTL1 和 2 对伯粉虱抗性的效果。给出的是 2 次测试的平均值。

[0419]

	无 QTL	QTL1	QTL2	QTL1&2
	n=11	n=17	n=17	n=13
平均值	4.0a*	5.9.0b	5.1ab	5.9b

[0420] *: 相似的字母说明没有显著差异 (ANOVA, 其后用 Fisher 最小显著性差异法比对平均值进行比较, $LSD, P < 0.05$)。** 在 $P = 0.06$ 与无 QTL 有显著差异。

[0421] 在这些群体中 QTL1 的效果被评估为在大约 1.9 个等级单位, 而 QTL 2 的效果被评估为在 1.1 个等级单位。

[0422] 2B 蓟马抗性 - 测试方案

[0423] 2B. 1 植物栽培

[0424] 在标准泥炭土中播种植物, 并在 14 天之后移植到 $7 \times 7 \times 8 \text{ cm}$ 盆中。在温室中以 $20^\circ\text{C} / 18^\circ\text{C}$ 和 16 小时 / 8 小时的昼 / 夜培养植物。播种约 1 个月后, 将植物转移至 $1 \times 1 \times 1 \text{ m}$ 的笼中, 其盖有防止蓟马离开笼子的尼龙网 ($0.07 \times 0.27 \text{ mm}$)。在每个笼中放 400-500 只蓟马。1 周之后重复此过程以确保高昆虫压力。首次接种之后三至四周, 进行观察。

[0425] 2B. 2 昆虫培养和接种

[0426] 维持蓟马的活培养物并用于抗性实验。

[0427] 从所述培养物收集 400-500 只蓟马（包括成虫和幼虫两种）到小管中，所述小管带有标准昆虫吸取设备。然后将含蓟马的小管释放到测试笼中。接种之后将温度升到 24℃ 保持（昼 / 夜）。

[0428] 2B.3 实验设计

[0429] 在每个笼中放置一株或多株抗性对照（优选 CGN16975）和一株或多株易感性对照（例如 Roxy F1 和 / 或 Snooker F1）。在一个笼中可以放置总共 57 株植物。将植物（包括对照植物）针对于每个笼随机化。以这种方法测试针对伯粉虱进行了测试的 DH 品系（参见上文实施例 1）的蓟马抗性。进行了 7 次连续的实验以测试全部 333 个 DH 品系，每个品系（最多）12 株植物。

[0430] 2B.4 数据采集

[0431] 当易感性对照植株的平均侵染为 3-4 时（表 6），进行最终评定。通常这在接种后 3-4 周达到。

[0432] 为了评定银化损害，使用了 1-9 的等级（表 6）。检查了植物叶的远轴侧，并且根据 1-9 的等级评定了大约 2-3 片受到最严重感染的叶的平均值。以这种方法对全部测试植物进行评分。

[0433] 表 6：用于由西花蓟马引起的银化损害的评定等级

[0434]

等级	蓟马损害描述	%银化 ¹
9	无银化损害	0
8	微小的斑点	<0.1
7	一些小斑点，特别是靠近叶的中间叶脉或边缘	0.1-1
6		1-2
5	中等数目的斑点，更规则地分布在叶上	3-5
4		6-10
3	出现许多大银化斑点，分布在整個叶上	11-20
2		21-40
1	非常重的银化，大部分叶损坏	>40

[0435] ¹:对 2-3 片最受感染的叶的 %银化的估计

[0436] 2B.5 数据分析

[0437] 通过计算每个测试项的平均值并与易感项（例如 Roxy F1 和 / 或 SnookerF1）进行比较来分析数据。对平均值的多重比较（例如 LSD）表明了测试项是否彼此有别以及是否与易感对照不同。

[0438] 2B.6 结果

[0439] 2B.6.1 抗性测试

[0440] 表 7 作为一个实例显示了 CGN16975、两种易感对照（Roxy F1 和 SnookerF1）和拥

有 QTL1 和 QTL2 的保藏品系 061M4387 的结果。给出了 3 个独立测试的平均值,每个测试大约为 12 株植物 / 项。保藏品系与两种易感对照品系 Snooker F1 和 Roxy F1 相比显示了显著较低的银化,但是与供体 CGN16975 相比银化较多。这表明保藏品系与标准品种相比具有提高的抗性水平。

[0441] 表 7:保藏品系 061M4387、CGN16975 和两个易感品种 (Roxy F1 和 Snooker F1) 的表型分型结果

项目	n	银化*
Snooker F1	36	3.5a
Roxy F1	36	3.8a
061M4387	31	5.8b
CGN16975	36	7.3c

[0442]

[0443] *:相似的字母说明没有显著差异 (ANOVA, 其后用 Fisher 最小显著性差异法 (Fisher's Least Significance Difference method) 比对平均值进行比较, $LSD, P < 0.05$)。

[0444] 2B. 6. 2 与对蓟马的抗性相关的 QTL 鉴定

[0445] 对 333 个 DH 品系 (参见实施例 1) 的 QTL 分析 (参见实施例 3) 揭示了染色体 5 上的 QTL, 其具有高达 12 的 LOD 值。这个 QTL 与在伯粉虱 QTL 作图中鉴定的 QTL2 位于相同的区域中 (参见实施例 2A. 6)

[0446] 染色体 5 上关于伯粉虱的 QTL 和关于蓟马的 QTL 位于相同染色体区。其可能是具有针对伯粉虱和蓟马二者的效果的 QTL 或是两个连锁的 QTL。

[0447] 2B. 6. 3 在从 BC2F2 开发的一组 333 个 DH 品系中测试 QLT2 对蓟马损害的效果

[0448] 基于 333 个 DH 的大组, 与对于伯粉虱所进行的 (参见 2A. 6) 相类似地评估蓟马 QTL 的效果。QTL 显示了约 0.8 个等级单位的显著效果 (表 8)。

[0449] 表 8:在 333 个 DH 品系的大 BC2F2 群体中评估的 QTL 2 对蓟马损害 (银化) 的效果 (排除了可能的重组体)。

[0450]

	无 QTL n=122	QTL2 n=91
银化	4.5	5.3*

[0451] * 显著差异 (t 检验, $t = -8.29, P < 0.001$)。

[0452] 2B. 6. 4 在源自供体 CGN16975 和两个良种椒品系的杂交的一组 60 个 DH 品系中测试 QTL2 对蓟马损害的效果

[0453] 对同一组 60 个源自登录项 CGN16975 与两个良种品系 (A 和 B, 参见 2A. 6. 4 节) 的杂交的 DH 品系中的 53 个进行两次蓟马测试并检查 QTL2 的存在。

[0454] QTL2 显示了 1.0 个等级单位的显著效果 (表 9), 其与在 2B. 6. 3 中所述的 333 个 DH 的大组中 (表 8) 的水平相当。

[0455] 表 9:在源自野生登录项 CGN16975 和 2 个良种椒品系之间 F1 的小 DH 群体中估计

的 QTL2 对蓟马损害（银化）的效果

[0456]		无 QTL	QTL2
		n=26	n=27
	银化	4.3	5.3*

[0457] * 显著性差异 (t 检验, $t = -3.86$, $P < 0.001$)。

[0458] 实施例 3 :QTL 作图

[0459] 3.1 对伯粉虱抗性的 QTL 作图

[0460] 使用上文实施例 2A 中所述的定量生物测定法与适当的培养条件组合, 鉴定了对伯粉虱的抗性的来源。通过将这种椒类植物与易感受体椒类植物杂交创造了针对伯粉虱抗性分离的群体。创造了由总共 333 个 DH 品系组成的分离群体用于鉴定促成伯粉虱抗性的 QTL。遵循标准方案从每个 DH 品系中 8 株独立植物的叶的集合 (pool) 和群体的亲本植物提取 DNA。使用数百个 SSR 来筛选群体的亲本从而鉴定在亲本之间有多态性的 SSR。其后使用鉴定的多态性 SSR 标记对 DH 群体进行基因型分型。基于如此获得的分离数据, 使用常用的软件 Mapmaker 和 Joinmap 制成了分子标记图谱。所述标记表现出在群体亲本之间有多态性的基因组区。

[0461] QTL 作图, 即基因型和表型数据的联合分析使用 QTL Cartographer 软件来进行。鉴定的 QTL 位于不同染色体上, 包括染色体 3 上的 QTL, 其被证明与伯粉虱抗性相关。将该 QTL 依靠定位在遗传图谱上的标记和已知位于该 QTL 区中的标记的标记等位基因来表征。由此确定一个 / 多个赋予抗性的 DNA 序列的位置。与伯粉虱抗性相关的 QTL 的详细信息, 即侧翼标记和位于该 QTL 区中的标记呈现在表 10 中。

[0462] 3.2 对蓟马抗性的 QTL 作图

[0463] 采取如上文实施例 3.1 中所述的相同方法对与蓟马抗性相关的 QTL 进行作图。

[0464] 证实与蓟马抗性相关的 QTL 被鉴定在染色体 5 上。将该 QTL 依靠定位在遗传图谱上的标记和已知位于该 QTL 区中的标记的标记等位基因来表征。由此确定一个 / 多个赋予抗性的 DNA 序列的位置。与蓟马抗性相关的 QTL 的详细信息, 即侧翼标记和位于该 QTL 区中的标记呈现在表 11 中。

[0465]

表 10: 与伯粉虱抗性相关的 QTL 的详细信息, 即侧翼标记和位于该 QTL 区中的标记

伯粉虱抗性 QTL #	染色体 #	标记基座	连锁的标记	正向引物	F 引物序列 ID 号	反向引物	R 引物序列 ID 号
1	3	1	LM1001	TGCTGGGAAAGAT CTCAAAAGG	SEQ.ID.NO:1	ATCAAGGAAGCAAAC CAATGC	SEQ.ID.NO: 2
1	3	2	LM 1002	GCAGCGTTACCAA ATAACCG	SEQ.ID.NO: 3	TGTTTGCTATTCAATAT ATGCTTTGA	SEQ.ID.NO: 4
1	3	3	LM 1003	GGAAGCTTAGCCA CACATC	SEQ.ID.NO: 5	ACCATATTCCGACTT TGAAC	SEQ.ID.NO: 6
1	3	4	LM 1004	TCCATCATCGACT GGAGAC	SEQ.ID.NO: 7	TGTTCAATTGGCTTCT GTG	SEQ.ID.NO: 8
1	3	5	LM 1005	GCAAGTAGAACAA AGGGTAGG	SEQ.ID.NO: 9	TATTTGAAGGTTGTGC GAC	SEQ.ID.NO: 10
1	3	6	LM 1006	TCATCACATTCAC TCATTTTC	SEQ.ID.NO: 11	TTGATTTCATTTCAGAT AGTTCAAG	SEQ.ID.NO: 12

[0466]

表 11: 与蓟马抗性相关的 QTL 的详细信息, 即侧翼标记和位于该 QTL 区中的标记

伯粉虱/ 蓟马抗性 QTL #	染色 体 #	标记 基因座	连锁的 标记	正向引物	F 引物序列 ID 号	反向引物	R 引物序列 ID 号
2	5	7	LM 2001	CTTTGGAGGTAG CGGTATG	SEQ.ID.NO:13	CAACAAACGAACCAC AATG	SEQ.ID.NO:14
2	5	8	LM 2002	CCCGTTTACAAG CAAAGAG	SEQ.ID.NO:15	GACCCCTGAAGAACC TCTC	SEQ.ID.NO:16
2	5	9	LM 2003	TCTCTTGTGTCAGAC ACGTG	SEQ.ID.NO:17	CTTCTTGGAGGCATTT TTG	SEQ.ID.NO:18
2	5	10	LM 2004	TGTAGGATTACAA GAACATTATCG	SEQ.ID.NO:19	GCGAGCTATTACACC GAAG	SEQ.ID.NO:20
2	5	11	LM 2005	TAGGTGGGAATA CACTGGG	SEQ.ID.NO:21	CCCAGATCTACCAAG GAGTC	SEQ.ID.NO:22
2	5	12	LM 2006	TCGGCCTGACTA GTATTGAC	SEQ.ID.NO:23	CGGGTACCAGATGTA GGG	SEQ.ID.NO:24
2	5?	13	LM 2007	ATCGTGAGGTGA GTACGAG	SEQ.ID.NO:25	TACCTACATACCCCCA CCC	SEQ.ID.NO:26

[0467] 保藏

[0468] 申请人已经在有效日期 2006 年 8 月 10 日对至少 2500 粒辣椒品系 061M4387 的

种子在 NCIMB Ltd, Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen, AB21 9YA, Scotland 以登录号 NCIMB 41428 进行了保藏。

[0469] 前述发明已经出于清楚和理解的目的通过例举和实例进行了详细描述。然而,显而易见的是某些变化和修饰如单个基因修饰和突变、体细胞克隆变体、选自大群体的快速近交 (instant inbred) 植物的变体个体等可以在本发明的范围内进行实践,仅受随附权利要求范围的限定。因此,尽管前述发明已经在本文中进行了一些详细描述,但是显然可以在本发明的范围内实施变化和修饰,仅受随附权利要求范围的限定。

[0470] 本文所引的全部参考文献通过引用以其整体并入本申请。

序列表

<110> 先正达参股股份有限公司 (Syngenta Participations AG)

<120> 昆虫抗性植物

<130>N1070 EP/A BS

<160>26

<170>PatentIn version 3.4

<210>1

<211>22

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒 (Capsicum annuum)

<400>1

tgctgggaaa gatctcaaaa gg 22

<210>2

<211>21

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>2

atcaaggaag caaaccaatg c 21

<210>3

<211>20

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>3

gcagcgttac caaataaccg

20

<210>4

<211>26

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>4

tgttttgctat tcaatatatg ctttga

26

<210>5

<211>19

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>5

ggaagcttag ccacacatc

19

<210>6

<211>21

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>6

accatatttc cgactttgaa c

21

<210>7

<211>19

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>7

tccatcatcg actggagac

19

<210>8

<211>19

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>8

tgttcaattg gcttctgtg

19

<210>9

<211>21

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>9

gcaagtagaa caaagggtag g

21

<210>10

<211>19

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>10

tatttgaagg ttgtgcgac

19

<210>11

<211>22

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>11

tcatcacatt cacttcattt tc

22

<210>12

<211>24

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>12

ttgattcatt tcagatagtt caag

24

<210>13

<211>19

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>13

ctttggaggt agcggtatg

19

<210>14

<211>19

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>14

caacaaacga accacaa tg

19

<210>15

<211>19

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>15

cccgtttaca agcaaagag

19

<210>16

<211>19

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>16

gacccctgaa gaacctctc

19

<210>17

<211>19

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>17

tctcttgtca gacacgtcg	19
<210>18	
<211>19	
<212>DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 辣椒	
<400>18	
cttcttggag gcatttttg	19
<210>19	
<211>24	
<212>DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 辣椒	
<400>19	
tgtaggatta caagaacatt atcg	24
<210>20	
<211>19	
<212>DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 辣椒	
<400>20	
gcgagctatt acaccgaag	19
<210>21	
<211>19	
<212>DNA	
<213> 人工序列	

<220>

<223> 辣椒

<400>21

taggtgggaa tacactggg

19

<210>22

<211>20

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>22

cccagatcta ccaaggagtc

20

<210>23

<211>20

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>23

tcggcctgac tagtattgac

20

<210>24

<211>18

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>24

cgggtaccag atgtaggg

18

<210>25

<211>19

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>25

atcgtgaggt gagtacgag

19

<210>26

<211>19

<212>DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 辣椒

<400>26

tacctacata cccccaccc

19