

# 辣椒基因遗传定位及分子遗传图谱的研究进展

王立浩 张宝玺 杜永臣

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

**摘要:** 对近几年辣椒基因遗传定位、遗传图谱构建及遗传图谱比较研究进行了综述, 阐述了这一领域的主要研究进展, 指出目前研究中存在的主要问题, 并对今后我国辣椒分子标记辅助育种的发展方向作了展望。

**关键词:** 辣椒; 分子遗传定位; 分子遗传图谱

**中图分类号:** S 641.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2005) 06-1147-08

## Review of Research on Genes Molecular Locating and Molecular Linkage Mapping in Pepper

Wang Lihao, Zhang Baoxi, and Du Yongchen

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

**Abstract:** The research of gene molecular locating, molecular linkage mapping on pepper in recent years and the research on comparison of molecular linkage map in Solanaceae were reviewed in this paper. The development on this field was clarified. The direction of the study in this field of our country was also prospected.

**Key words:** Pepper; *Capsicum*; Gene molecular locating; Molecular linkage mapping

辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 在世界上广泛栽培。中国是世界上辣椒栽培面积最大的国家, 2002 年的栽培面积达到了 130 万  $\text{hm}^2$ , 产量约 2 819 万  $\text{t}^{[1]}$ 。重要性状的遗传定位和遗传图谱的研究对于辣椒遗传育种有重要意义。早在 20 世纪 50~60 年代, 遗传育种学家就开始利用辣椒的形态标记将部分控制果实形状和颜色的基因进行了定位<sup>[2]</sup>。由于形态标记数目较少, 形态标记遗传图谱在辣椒育种中的应用非常有限。20 世纪 80 年代, 同工酶 (isozymes)、限制性片段长度多态 (RFLP) 等分子生物学技术的发展, 为构建遗传图谱提供了稳定的易于作图的生化和分子标记, 突破了传统形态多态的限制。90 年代以来, 随着 RAPD、SSR、AFLP 等分子标记技术的发明和应用, 大大丰富了可利用的分子标记的种类, 辣椒分子标记和分子遗传图谱得到了很大的发展。由于分子标记突破了传统标记数目的限制, 而差异本身来自于 DNA, 由此建立的遗传定位和图谱为解决多基因控制的优异农艺性状的定向转育提供了有效的工具。在研究辣椒分子遗传图谱的同时, 遗传图谱的比较研究也在展开。通过茄科蔬菜的图谱比较, 清楚了其进化关系, 以及基因在茄科不同作物之间的分布情况等。不久前康乃尔大学建立了茄科作物基因组学网络 (<http://sgn.comell.edu>), 集中了关于茄科作物基因组学中的大量数据库, 进一步方便世界各国的学者进行比较和研究。本文就辣椒的基因定位和分子图谱的研究及其与茄科蔬菜图谱的比较作一综述。

## 1 辣椒重要农艺性状的分子遗传定位

### 1.1 抗病性及抗虫性

辣椒的病虫害较多。主要的病害有病毒病、疫病、疮痂病、白粉病等, 主要的虫害有茶黄螨、蚜

收稿日期: 2005 - 03 - 18; 修回日期: 2005 - 07 - 22

基金项目: 农业部蔬菜遗传与生理重点实验室资助项目

虫、白粉虱、蓟马、线虫等。近年来抗病基因的遗传定位发展很快,利用部分抗源材料,抗病毒病、疫病、疮痂病、白粉病、及线虫等的基因相继得到了定位。

1.1.1 病毒病 病毒病是辣椒上的重要病害,世界上有 45 种之多。中国至今年共发现了 8 种主要的病毒侵染辣椒,即黄瓜花叶病毒 (CMV)、烟草花叶病毒 (TMV)、马铃薯 X 病毒 (PVX)、马铃薯 Y 病毒 (PVY)、蚕豆萎蔫病毒 (BBWV)、苜蓿花叶病毒 (AMV)、烟草蚀纹病毒 (TEV)、烟草脆裂病毒 (TRV)。其中 CMV、TMV、PVY 发生较为普遍,目前均完成了遗传定位。

烟草花叶病毒:根据与  $L$  基因的抗性情况,将烟草花叶病毒分为了 4 个小种—— $P_0$ ,  $P_1$ ,  $P_{1-2}$ ,  $P_{1-2-3}$ 。已知  $L^0$  基因不抗 TMV 的任何小种;  $L^1$  基因抗  $P_0$  小种,但不抗  $P_1$  小种;  $L^2$  基因抗  $P_1$  小种,但不抗  $P_{1-2}$  小种;  $L^3$  基因抗  $P_{1-2}$ , 但不抗  $P_{1-2-3}$  小种;  $L^4$  基因抗  $P_{1-2-3}$  小种<sup>[3]</sup>。 $L^{0-4}$  基因的定位研究较早,20 世纪 80 年代, Boukema 等<sup>[3]</sup>研究发现  $L^{0-4}$  为复等位基因,位于基因组内的同一位点,其显性关系为  $L^4 > L^3 > L^2 > L^1 > L^0$ 。1995 年, Lefebvre 等把  $L$  定位到分子遗传图谱第  $P_{11}$ -B run 染色体上<sup>[4]</sup>(表 1)。

黄瓜花叶病毒:国际上多数学者认为目前发现的辣椒抗 CMV 材料的抗性是由多个基因控制的。1997 年, Caranta 等利用抗病材料 Perennial 和感病材料 Yolo Wonder 的 DH 群体进行了抗 CMV 的 QTL 分析,得到了 3 个 QTL,一个在 LG3 上,与多个分子标记有显著的相关关系,为连锁的标记簇,另一个位于染色体 Noir 上;再一个位于染色体 Poupre 上与 QTL (2) 上位互作<sup>[5]</sup>。2001 年, Chain 等利用抗病材料 Perennial 和感病材料 Maor 建立了  $F_2$  群体,又一次进行了定位<sup>[6]</sup>,结果发现了 4 个 QTL,分别位于第 4、6、11 和 UL 连锁群上。其中除了位于第 6 染色体上的 QTL 很可能同 Caranta 等<sup>[5]</sup>报道的 LG3 上的 QTL 相同,其它的均有较大差异: Caranta 发现的位于 Noir 染色体上的 QTL 同  $up$  基因连锁,以及发现的第 3 个 QTL,在 Chain 等的研究中均没有发现(表 1)。

马铃薯 Y 病毒:目前在辣椒上至少发现了 7 个单抗基因和 1 个 QTL。1998 年, Murphy 等对抗马铃薯 Y 病毒基因  $pvr1$  进行了遗传定位<sup>[7]</sup>。1997 年 Caranta 等将  $pvr2$  基因定位于 P4 连锁群上<sup>[8]</sup>。Tank-sley 进一步研究发现,根据分子标记的连锁关系,  $pvr1$ 、 $pvr2$  这两个基因是连锁的<sup>[9,10]</sup>。同时有学者发现  $pvr3$ 、 $pvr5$  没有连锁关系,且同  $pvr1$ 、 $pvr2$  也没有连锁关系<sup>[7,11,12]</sup>。1997 年 Caranta 等在辣椒品种 'CM334' 上发现的  $pvr4$  基因抗 PVY 的所有小种,为显性抗性<sup>[12]</sup>。1999 年 Caranta 等开发了 1 个可以用于  $pvr4$  基因辅助选择的 CAPS 标记<sup>[13]</sup>。在辣椒中还发现了具有数量遗传性状控制的 PVY 抗性,并进行了 QTL 分析,发现共有 9 个 QTL 参与该性状控制,其中有两个上位互作,另有两个 QTL 位点与  $pvr2$ 、 $pvr6$  位点重合<sup>[8,14]</sup>(表 1)。

番茄斑点萎蔫病毒:2000 年 Moury 等利用分离组群分析法 (Bulked Segregant Analysis, BSA) 和 RAPD 标记分析了含有 153 个单株的  $F_2$  群体,开发了 1 个与番茄斑点萎蔫病毒 (Tswv) 紧密连锁的 CAPS 标记,与 Tswv 的连锁距离为  $0.9 \pm 0.6$  cM<sup>[15]</sup>(表 1)。

1.1.2 细菌性病害 疮痂病 (Bacterial spot), 由野油菜黄单胞菌辣椒斑点病致病型 (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) 引起的。根据寄主的抗性反应,病原菌划分了 7 个小种,每个小种都有 1 个抗性基因对应。 $Bs1$  基因抗第 0、2、5 小种,  $Bs2$  基因抗 0、3 小种,  $Bs3$  基因抗 0、1、4 小种,而小种 6 能克服以上 3 个基因。1999 年和 2000 年 Tai 等和 Pierre 等利用 SCAR 标记和 AFLP 标记分别对  $Bs2$  和  $Bs3$  基因进行了定位,其中  $Bs2$  基因的标记完全与抗病基因共分离,而  $Bs3$  基因定位于 P2-Jaune 染色体上<sup>[16,17]</sup>(表 1)。

1.1.3 真菌性病害 辣椒疫病,由辣椒疫霉菌 (*Phytophthora capsici* Lenioan) 引起,1918 年由美国新墨西哥州首先报道,中国在 20 世纪 60 年代报道,目前在国内各省均有发生,且危害程度逐年加重。抗疫病的遗传规律复杂,在 20 世纪 60~70 年代针对部分材料的抗性归结为单隐性或双隐性或寡基因控制,90 年代进一步对部分抗性材料的研究表明,辣椒对疫病的抗性受多个基因控制。1996 年, Lefebvre 等研究了辣椒材料 Perennial 对疫病的抗性规律,确定了抗病基因在图谱上的 QTL,并认为参与抗性决定的位点有上位效应和加性效应<sup>[18]</sup>。2003 年, Thabuis 等将控制 CM334、Van、Perennial, 3

个抗病材料的抗病基因定位到染色体的 18个位置上，并认为存在上位作用<sup>[19]</sup>（表 1）。

辣椒白粉病（Powdery Mildew），由鞑靼内丝白粉菌（*Leveillula tauria*）引起，在 20世纪 70年代报道侵染辣椒等蔬菜作物，近年来在辣椒上有加重的趋势。80年代，在 *Capsicum annuum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum chinese*上均发现了抗源材料<sup>[20, 21]</sup>。1989年 Daubert等发现了性材料 ‘H3’，1995年又报道了其抗性是由寡基因控制<sup>[22]</sup>。2003年，Lefebvre等将该抗性进行了 QTL 定位，染色体 P6、P9、P5、P10、P12上均有抗病位点，P2和 P5有上位作用参与抗性决定<sup>[23]</sup>（表 1）。

表 1 辣椒上主要的抗病虫害基因及其遗传定位

Table 1 Major resistance genes in pepper and genetic locus of them

所抗病害 Disease resisted	基因名称 Gene name	显性/隐性 Dominant(d) / recessive(r)	所在染色体 Located chromosome	连锁的标记 Marker linked	最近图距 Distance to marker linked (cM)	参考文献 Reference
烟草花叶病毒 TMV	<i>L<sup>1-4</sup></i>	d	P11-B run	RFLP	6.0	1995, Lefebvre, et al <sup>[4]</sup>
黄瓜花叶病毒 CMV	QTL (3)		3, Noir, Poupre	AFLP, RFLP		1997, Caranta, et al <sup>[5]</sup>
	QTL (4)		4, 6, 11, UL	AFLP, RFLP		2001, Chaim, et al <sup>[6]</sup>
番茄斑点萎蔫病毒 Tsvv	<i>tsv</i>	d	P10	CAPS	0.9 ±0.6	2000, Moury B, et al <sup>[15]</sup>
马铃薯 Y病毒 PVY	<i>Pvr1</i>	d		RFLP	5.4	1998, Murphy, et al <sup>[7]</sup>
	<i>Pvr2<sup>1</sup></i>	d	P4	CAPS	0	Caranta (com. pers)
	<i>Pvr3</i>	r				1999, Caranta, et al <sup>[13]</sup>
	<i>Pvr4</i>	d	P10	CAPS		1999, Caranta, et al <sup>[12]</sup>
	<i>Pvr5</i>	r	P4-Orange	CAPS		
	<i>Pvr6</i>	d	P3	CAPS		
	<i>Pvr7</i>	d	P10-Rouge	CAPS		2000, Crube, et al <sup>[10]</sup>
	QTL (9)			AFLP, RFLP		1997, Caranta, et al <sup>[8]</sup>
疮痂病 Bacterial spot	<i>Bs1</i>					
	<i>Bs2</i>	d		Gene cloned	0	1999, Tai, et al <sup>[16]</sup>
	<i>Bs3</i>	d	P2-Jaune	AFLP/SCAR	2.1	2000, Pierre, et al <sup>[17]</sup>
疫病 Phytophthora capsici	QTL (18)		P5, P11, P6, P10, P12, P2, PY2, P3, P7	AFLP, RFLP		1996, Lefebvre, et al <sup>[18]</sup> 2003, Thabuis, et al <sup>[19]</sup>
白粉病 Powdery mildew	QTL (5)		P6, P9, P10, P5, P12	AFLP, RFLP		2003, Lefebvre, et al <sup>[23]</sup>
线虫 Nematode	<i>N</i>	d				
	<i>Me1</i>	d				
	<i>Me2</i>	d				
	<i>Me3</i>	d	P9	AFLP	2.7 ±1.7	2001, Djian-Caporalino, et al <sup>[25]</sup>
	<i>Me4</i>	d	P9	AFLP	10.0 ±4.0	2001, Djian-Caporalino, et al <sup>[25]</sup>
	<i>Me5</i>	d				

1.1.4 线虫 线虫（Nematodes）是辣椒的主要虫害之一，在美国、地中海等地区均有发生，中国主要发生在南方地区，但随着保护地面积的增加，北方有加重的趋势。根结线虫（*Meloidogyne*）是线虫中最重要的属，有 70多个种，危害较严重的有南方根结线虫（*M. incognita*）、爪哇根结线虫（*M. javanica*）、花生根结线虫（*M. arenaria*）和北方根结线虫（*M. hapla*）等。目前，在辣椒上已经发现并且命名的抗线虫基因至少有 6个（*n*、*Me1*、*Me2*、*Me3*、*Me4*、*Me5*），均为显性单基因控制，其中 *Me3*与 *Me4*连锁，*Me3*对温度稳定<sup>[24]</sup>。2001年 Djian等利用 AFLP技术和辣椒材料 ‘Yolo Wonder’、‘FM687’ 的 DH群体完成了对 *Me3*与 *Me4*的分子遗传定位，二者位于同一条染色体上，相差 9.9 cM，并开发了 1个与它紧密连锁的 AFLP标记，遗传距离为 2.7 ±1.7 cM<sup>[25]</sup>，见表 1。

1.2 果实性状

辣椒果实相关性状多数是由多基因控制的数量性状，最近对其遗传定位的研究比较多，主要集中在果色、果实大小、果实形状、单果质量、辣味等方面。

2001年，Chaim等利用辣椒品种 ‘Maor’ 和 ‘Perennial’ 构成的 F<sub>2</sub> 群体，建成了一个 177个分子标记、1 740 cM的遗传图谱，进而对熟性、株高、单果质量、果实直径、果实长度、果形、果肉

厚、可溶性固形物含量、胎座直径、胎座长度、种子质量、硬度、果实绿色变化、果实红色变化等多个性状进行了 QTL 定位<sup>[26]</sup>。表 2 显示了控制果实性状的 QTL 数目及其位置, 每个性状均有至少 2~5 个 QTL 参与了控制, 在染色体上某些部位较多的聚集了果实相关性状的 QTL (P2、P3、P4、P8、P10), 这些区域在决定果实形状上无疑是非常重要的。

辣椒果色分为未熟期果色和成熟期果色。2003 年 Chain 等报道了对未熟期果实紫色的决定基因 A、控制花药丝紫色的 Fc 基因和控制果形的主要的 QTL 进行分子遗传定位的结果。结果表明 A 基因与 Fc 基因位于染色体的同一位点或紧密连锁, 与 TG63 遗传距离为 3 cM, 并与控制果宽和果形的 QTL 紧密连锁<sup>[27]</sup>。关于成熟期的果色, 红色对黄色是由单显性基因 Y 决定的。1998 年 Lefebvre 等将控制成熟期果色为红色/黄色的 y 基因定位到染色体 Indigo 上<sup>[28]</sup>, 并且认为该基因同 Capsanthin-capsorubin 合成酶基因是相同的 (表 2)。

1988 年 Tanksley 等报道控制辣味有无的基因与 CD35 连锁<sup>[29]</sup>, 1995 年 Lefebvre 等将其定位于连锁群 7<sup>[4]</sup>。2001 年 Chain 等研究认为控制辣味有无的基因位于染色体 2 上, 最近的分子标记在 10 cM 以上<sup>[6]</sup>。2002 年 Blum 等开发了与 C 基因紧密连锁的分子标记, 发现标记 TG205 与 C 基因共分离<sup>[30]</sup>, 2003 年又将辣椒素含量的 QTL 定位到染色体 7 上<sup>[31]</sup> (表 2)。

果柄的方向受 1 对基因控制, 果柄向下对果柄向上是显性, 命名为 up 基因。1995 年 Lefebvre 等将其定位于染色体 P12, 与其最近的 AFLP 标记有 5 cM 的遗传距离<sup>[4]</sup> (表 2)。

表 2 控制各个果实相关性状的 QTL 数目及其位置

Table 2 Number and locus of genes or QTL controlling the characters of fruits of pepper

性状 Traits	基因名称 Gene name	所在染色体 Located chromosome	连锁标记 Marker linked	最近图距 Distance between marker and gene (cM)	参考文献 Reference
果实相关性状 Fruit-related traits QTL (10)		P2, P3, P4, P6, P7, P8, P9, P10, P11, P12	AFLP, RFLP		2001, Chain, et al <sup>[26]</sup>
未成熟果实颜色 Immature fruit color (purple/green)	A	P10	RFLP (TG63)	3.0	2003, Chain, et al <sup>[27]</sup>
成熟果实颜色 Mature fruit color (red/yellow)	y	P11-B run	RFLP	6.0	1995, Lefebvre, et al <sup>[4]</sup>
辣味有无 Presence of pungency	C	P2	RFLP		1988, Tanksley <sup>[29]</sup> 1995, Lefebvre, et al <sup>[4]</sup>
果实着生方向 Fruit direction	up	P12	AFLP	5.0	1995, Lefebvre, et al <sup>[4]</sup>

### 1.3 雄性不育

目前报道的辣椒的雄性不育有两种, 一种是细胞核雄性不育 (Genic male sterility, GMS), 由单隐性基因控制; 一种是胞质雄性不育 (Cytoplasmic male sterility, CMS)。胞质不育在多种植物中遗传稳定, 其遗传规律相对复杂, 它是由细胞核内的恢复基因和细胞质线粒体内的不育单基因共同作用的。关于辣椒细胞核内的恢复基因, 有单基因和双基因的争论, 但目前更多的学者倾向于单主效基因控制、多微效基因修饰的作用结果。张宝玺等通过 BSA 法, 找到了与主效 Rf 基因连锁的 RAPD 标记, 这些标记对主效恢复基因辅助转育有一定帮助<sup>[32]</sup>; 王立浩等利用 DH 分离群体, 通过分析育性的分离情况, 评价了 CMS 的遗传规律, 得出恢复性受主效基因和 4 个微效基因控制的结论, 并将主效基因定位到 P6 染色体上<sup>[33]</sup>。

## 2 辣椒的分子遗传图谱

### 2.1 辣椒分子遗传图谱的构建

辣椒分子遗传图谱的构建起步较早, 目前每年都有报道在已有图谱上添加新的标记, 或者创建新的遗传图谱。构建图谱的标记从同工酶发展到 RFLP、RAPD、AFLP、SSR 等。根据构建图谱材料双

亲的血缘关系, 可以将图谱分为种内图谱和种间图谱。

2.1.1 种内图谱 种内图谱采用的作图群体均来自于 *C. annuum*。此类图谱的多态标记较少, 但对于育种更有意义。如表 3 所示, 法国农业科学院的 Lefebvre 等一直研究构建该类图谱, 1995 年构建了 1 个包括了 85 个分子标记 (RAPD、AFLP、RFLP) 和控制抗烟草花叶病毒、果柄方向以及辣味基因的 14 个连锁群的分子遗传图谱, 总图距 820 cM, 平均标记间距 9.6 cM, 并将 4 个连锁群同染色体对应<sup>[4]</sup>。2002 年, 又进一步丰富了该图谱, 在原有的基础上, 构建了 3 个分子标记遗传图谱, 分别将 534、594 和 186 个分子标记构建到 20、26 和 18 连锁群上, 添加了抗马铃薯 Y 病毒的基因, 图谱的总跨度分别达到了 1 513、1 688、685 cM, 平均标记间距 13、12.5、13.7 cM, 完成了 6 条连锁群与染色体的对应<sup>[34]</sup>。此外, 2003 年张宝玺等构建了 1 个框架图谱, 8 个连锁群, 图谱的精密密度还有待进一步提高<sup>[35]</sup>; 2004 年, 亚蔬中心 Wang Yongqing 等利用 1 个含有 123 个单株的重组自交系 (CL) 和 AFLP 标记技术, 构建了 1 个 171 个标记共 13 个连锁群, 总跨度 923.5 cM 的遗传图谱<sup>[36]</sup>。

表 3 已经报道的辣椒分子遗传图谱

Table 3 Molecular genetics linkage maps of pepper published

连锁群数 Number of linkage groups	总图距 Length (cM)	标记 (数) 和基因 Markers (number) and genes	作图群体 (群体大小) Population (size of population)	参考文献 Reference
4		Isozymes (14)	BC <sub>1</sub> NM6-4 ( <i>C. annuum</i> ) × CA4 ( <i>C. chinense</i> )	1984, Tanksley <sup>[37]</sup>
19	720.3	RFLP (192), <i>cf</i> , <i>c</i> , <i>up</i>	F <sub>2</sub> CA133 ( <i>C. annuum</i> ) × CA4 (derived through selfing from a <i>C. chinense</i> cultivar from Peru) (46)	1993, Prince, et al <sup>[9]</sup>
14	820	(RAPD, AFLP, RFLP) (85)	3DH (perennial × Yolo Wonder, Vat × CM334, Yolo Wonder, CM334, YoloY cross each other)	1995, Lefebvre, et al <sup>[4]</sup>
13	1 245.7	(RAPD, AFLP, Isozymes, RFLP) (660)	F <sub>2</sub> NuMex RNaky ( <i>C. annuum</i> ) × PI 159234 ( <i>C. chinense</i> ) (75)	1999, Livingstone, et al <sup>[38]</sup>
16	1 320	RFLP (150), AFLP (430)	F <sub>2</sub> TF68 ( <i>C. annuum</i> ) × Habanero ( <i>C. chinense</i> ) (107)	2001, Kang, et al <sup>[39]</sup>
20	1 513	(RAPD, AFLP, RFLP) (534), <i>C</i> , <i>L</i> , <i>pvr2</i>	DH (H3 × Vania) (101)	2002, Lefebvre, et al <sup>[34]</sup>
26	1 668	(RAPD, AFLP, RFLP) (594), <i>C</i> , <i>L</i> , <i>up</i>	DH (Perennial × Yolo Wonder) (114)	
18	685	(RAPD, AFLP, RFLP) (186), <i>C</i> , <i>Pvr4</i>	F <sub>2</sub> (Yolo Wonder × CM 334) (151)	
8	1 197	AFLP (42)	DH (Perennial × Yolo Wonder) (114)	2003, Zhang B X, et al <sup>[35]</sup>
15	1 720	RFLP (320), AFLP (136), SSR (46)	F <sub>2</sub> (TF68 × <i>C. chinense</i> cv. Habanero) (107)	2003, Lee Je Min, et al <sup>[40]</sup>
13	923.5	AFLP (171)	R L Nacional AG-506 ( <i>Capsicum annuum</i> ) × CNPH703 ( <i>Capsicum annuum</i> ) (123)	2004, Wang Y Q <sup>[36]</sup>
12	1 832	AFLP (1528), RFLP (440), RAPD (288), Isozyme (6), Morphological markers (6)	6 populations	2004, Paran I, et al <sup>[41]</sup>

2.1.2 种间图谱 种间图谱采用的作图群体来自于 *C. annuum* 和其它种, 如 *C. chinense*。此类图谱的多态标记丰富, 更适合做高饱和图谱。康乃尔大学在构建辣椒的种间图谱方面做了大量工作。1984 年, 康乃尔大学的 Tanksley 等构建的世界上第 1 个辣椒的分子遗传图谱即为种间图谱<sup>[37]</sup>; 1993 年, Prince 等利用 CA133 (*C. annuum*) 和 CA4 (*C. chinense*) 杂交和自交得到的包含了 46 个单株的 F<sub>2</sub> 群体, 构建了 192 个 RFLP 标记的连锁图谱, 共 19 个连锁群, 长 720.3 cM, 其中还包括了控制花药丝颜色、果实辣味和果柄方向的 3 个基因<sup>[9]</sup>; 1999 年, Livingstone 等利用 1 个含有 75 个单株的 F<sub>2</sub> 群体, 构建了 1 个 13 个连锁群、460 个 RFLP 标记、7 个同工酶标记的遗传图谱, 总图距 1 245.7 cM<sup>[38]</sup>。韩国近年在图谱的建立和研究工作方面进展很快, 2001 年和 2003 年, Kang 等和 Lee 等分别利用 RFLP、AFLP 和 SSR 标记技术构建了两个分子遗传图谱, 总图距 1 320 cM 和 1 720 cM<sup>[39, 40]</sup>。

2.1.3 图谱的整合 2004 年, 以色列、美国康乃尔大学、法国农业科学院的 Paran、Voort、Lefebvre 等 12 名作者综合 6 个图谱的信息共同发表了 1 个相对完整的辣椒图谱, 包含了 6 个群体、2 262 个分子标记, 总跨度 1 832 cM, 平均标记间距 0.8 cM, 大大增加了图谱的精密密度<sup>[41]</sup> (表 3)。

## 2.2 辣椒分子遗传图谱的比较

辣椒分子遗传图谱的比较研究开展得较早, 主要研究内容包括茄科蔬菜作物的同源性比较, 抗病基因位点比较, 亲缘关系比较等, 但利用图谱比较进行图谱构建和基因克隆的工作还不多。

2.2.1 辣椒与茄科其它蔬菜作物的同源关系 从早期的辣椒分子遗传图谱构建开始, 科学家们就利用图谱中的相同标记, 进行辣椒遗传图谱与番茄遗传图谱的比较, 后来扩大到整个茄科蔬菜作物。1993年, Prince等利用构建的辣椒分子遗传图谱与 Tanksley等 1992年构建的高密度的番茄 RFLP图谱, 通过保守的 RFLP标记进行了比较, 结果表明: 辣椒的基因组同番茄的基因组具有大片段同源, 同时高度重排<sup>[9]</sup>。进而 1999年, Livingstone等利用其新建的辣椒分子遗传图谱与番茄、马铃薯和茄子的图谱通过相同的 RFLP在图谱上的分布进行了 12条染色体的深入比较<sup>[39]</sup>, 结果表明: 辣椒上仅有 4个区域没有在番茄上找到同源区域, 染色体 2、6、7、10同番茄整条染色体同源, 部分辣椒染色体与 2~3个番茄染色体同源, 染色体内存在不同程度的重排, 其中第 6染色体并无大片段的重排, 而其它染色体与番茄的重排较多。因此得出结论: 辣椒与番茄的基因含量大致相同; 辣椒与番茄基因组由高度保守的片段组成; 辣椒与番茄的图谱长度接近, 但辣椒的基因组约是番茄的 3倍; 一定数量的染色体重排决定了辣椒与番茄的差异。2002年, Sami Doganlar等构建了 1个茄子 (*Solanum melongena*) 的分子遗传图谱<sup>[42]</sup>, 对比了 Pillen发表的马铃薯 (*solanum tuberosum*) 遗传图谱、Tanksley发表的番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 遗传图谱和 Livingstone发表的辣椒遗传图谱, 得出结论: 马铃薯与番茄的亲缘关系最近, 其次是与茄子, 最后是与辣椒。

2.2.2 茄科蔬菜作物抗病基因的位置关系 2000年, Grube等在茄科蔬菜作物间进行了抗病基因位点的比较, 利用 Pillen发表的马铃薯遗传图谱、Tanksley发表的番茄遗传图谱和 Livingstone发表的辣椒遗传图谱, 以及最近发表的抗病位点的定位, 再利用相同的分子标记进行位点比较, 绘制了图谱, 将番茄、马铃薯、辣椒的抗病基因位点进行了很好的归纳, 同时表明多数的相同或类似病害的抗性基因在茄科蔬菜的基因组上分布的位置是保守的<sup>[43]</sup>。

## 3 问题与展望

作者认为在辣椒基因遗传定位及分子遗传图谱的研究方面还存在以下问题: 1. 目前辣椒分子遗传图谱的标记多为 RFLP、AFLP等标记, 标记的种类比较单一, 一些稳定的、易于操作的标记还有待于开发, 连锁群和染色体的关系还没有一一对应。目前番茄的分子遗传图谱已经发展到 1 668个分子标记, 并由 RFLP、SSR、COS、EST、CAPS、KFG等多种分子标记组成。辣椒的基因组是番茄的 3~5倍, 更需要高密度和多种标记的图谱。2. 对新基因的定位不够。辣椒上很多基因的定位仅集中在几个作图群体, 种内图谱的抗病亲本材料主要有 Perennial、CM334等。对于一些新材料含有的遗传机制不同的基因的定位并不多。3. 对辣椒图谱的利用还不够, 通过比较对其它作物的图谱利用也不够。目前辣椒上的许多农艺性状的基因得到了分子定位, 抗病毒病、疫病、疮痂病等的性状, 果实大小、单果质量等产量相关性状等基因都得到了定位, 但目前国内还没有见到相关的应用研究报道。此外, 基因组比较的思路还没有很好的形成, 应用还不广泛。

传统遗传育种学同分子遗传学和细胞生物学的结合是作物遗传育种发展的必然趋势。国外利用分子标记的辅助选择在辣椒的抗疫病、抗 PVY和品质育种上已有很多成功的范例, 而且从单基因分子标记辅助选择已经发展到 QTL分子标记辅助选择。由于国内该领域研究起步较晚, 在分子标记辅助育种研究的广度和深度上同发达国家相比有明显距离。近年来, 越来越多的国内学者开始认识到分子标记辅助育种的重要性, “十五”期间国家‘863’项目对辣椒分子标记辅助育种也有了较大投入, 经过努力, 我国已经在构建辣椒分子遗传图谱、辣椒雄性不育等重要性状的遗传定位方面取得了一些成绩。作者认为我国的辣椒分子标记和遗传图谱的研究还应该在以下方面努力: 1. 丰富遗传图谱的标记数和种类。利用多种分子标记手段, 特别是基于 PCR、易于操作的分子标记, 如: SSR、SNP、

COS等标记, 利用高重组率的分离群体, 进一步丰富辣椒分子遗传图谱的标记。2 在辣椒育种工作中积极实践分子标记辅助选择。充分利用已有辣椒图谱和重要性状的连锁标记, 进行辣椒的辅助选择。目前国内外报道了大量的与抗病性、丰产性、优良品质性状有关的分子标记, 有些与国内急需解决的问题有关, 例如抗疫病、抗 CMV、雄性不育等, 这些标记应尽快应用到育种中。对于不大适用于大规模作为辅助育种的分子标记, 如: RFLP标记、AFLP标记等, 可以经过改造, 使之成为简单易行、相对稳定的 PCR 标记, 如: CAPS标记或 SCAR 标记等, 用于辅助育种。3. 开展针对新辣椒材料的图谱和分子标记工作。我国辣椒遗传资源丰富, 中期库拥有资源 2 124 份, 部分材料的抗病机制同国外已经报道的作图材料不同, 部分国内优秀的育种材料与国外品种有不同的农艺性状, 因此可以利用国内新的抗原材料或者优秀的育种材料构建分子遗传图谱, 此类图谱在育种工作上更有指导意义。4 在辣椒遗传育种研究中结合比较基因组的方法。通过比较基因组的方法, 可以利用番茄、马铃薯图谱上的分子标记丰富辣椒的遗传图谱; 辣椒上某些基因的克隆可以借助图谱比较, 通过分析其它作物上的序列或图位, 得到更多基因的相关信息, 从而加快基因克隆的速度。

### 参考文献:

- 1 中华人民共和国农业部主编. 中国农业统计资料. 北京: 中国农业出版社, 2003. 318页
- 2 Peterson P. Linkage of fruit shape and color genes in *Capsicum*. *Genetics*, 1959, 44: 407 ~ 419
- 3 Boukema IW. Resistance to TMV in *Capsicum chacoense* hunz is governed by an allele of the I-locus *Capsicum Newsl*, 1982, 3: 47 ~ 48
- 4 Lefebvre V, Palloix A, Caranta C, Pochard E. Construction of an intraspecific integrated linkage map of pepper using molecular markers and doubled-haploid progenies *Genome*, 1995, 38: 112 ~ 121
- 5 Caranta C, Palloix A, Lefebvre V, Daubeze A M. QTLs for a component of partial resistance to cucumber mosaic virus in pepper: restriction of virus installation in host-cells *Theor Appl Genet*, 1997, 94: 431 ~ 438
- 6 Chain A B, Grube R C, Lapidot M, Jahn M, Paran I. Identification of quantitative trait loci associated with resistance to cucumber mosaic virus in *Capsicum annuum*. *Theor Appl Genet*, 2001, 102: 1213 ~ 1220
- 7 Murphy J F, Blauth J R, Livingstone K D, Lackney V K, Jahn M K. Genetic mapping of the *pvr1* locus in *Capsicum* spp. and evidence that distinct potyvirus resistance loci control responses that differ at the whole plant and cellular level *Mol Plant Microb Interact*, 1998, 11 (10): 943 ~ 951
- 8 Caranta C, Lefebvre V, Palloix A. Polygenic resistance of pepper to potyviruses consists of a combination of isolatespecific and broad-spectrum quantitative trait loci *Mol Plant Microb Interact*, 1997, 10: 872 ~ 878
- 9 Prince J P, Pochard E, Tanksley S D. Construction of a molecular linkage map of pepper and a comparison of synteny with tomato *Genome*, 1993, 36: 404 ~ 417
- 10 Grube R C, Blauth J R, Amedo M S, Caranta A C, Jahn M K. Identification and comparative mapping of a dominant potyvirus resistance gene cluster in *Capsicum*. *Theor Appl Genet*, 2000, 101: 852 ~ 859
- 11 Dogimont C, Palloix A, Daubeze A M, Marchoux G, Gère-Selassie K, Pochard E. Genetic analysis of broad spectrum resistance to potyviruses using doubled haploid lines of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Euphytica*, 1996, 88: 231 ~ 239
- 12 Caranta C, Nemouchi G, Daubeze A M, Phaly T, Palloix A. Resistance to PepMoV and PVY-0 from Avelar are controlled by distinct recessive genes and evidence for independence between *pvr3* and *pvr5*. *Capsicum and Eggplant Newsletter*, 1999, 19: 63 ~ 65
- 13 Caranta C, Thabuis A, Palloix A. Development of a CAPS marker for the *Pvr4* locus: A tool for resistance to pyramiding potyvirus resistance genes in pepper *Genome*, 1999, 42: 1111 ~ 1116
- 14 Caranta C, Palloix A. Both common and specific genetic factors are involved in polygenic resistance of pepper to several potyviruses *Theor Appl Genet*, 1996, 92: 15 ~ 20
- 15 Moury B, Pflieger S, Blattes A, Lefebvre V, Palloix A. A CAPS marker to assist selection of tomato spotted wilt virus (TSWV) resistance in pepper *Genome*, 2000, 43: 137 ~ 142
- 16 Tai T, Dahlbeck D, Stall R E, Peleman J, Staskawicz B J. High-resolution genetic and physical mapping of the region containing the *Bs2* resistance gene of pepper *Theor Appl Genet*, 1999, 99: 1201 ~ 1206
- 17 Pierre M, No 1 L, Lahaye T, Ballvora A, Veuskens J, Ganal M, Bonas U. High-resolution genetic mapping of the pepper resistance locus *Bs3* governing recognition of the *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* AvrBs3 protein *Theor Appl Genet*, 2000, 101: 255 ~ 263
- 18 Lefebvre V, Palloix A. Both epistatic and additive effects of QTLs are involved in polygenic induced resistance to disease: a case study the interaction pepper - *Phytophthora capsici* Leonian *Theor Appl Genet*, 1996, 93: 503 ~ 511
- 19 Thabuis A, Palloix A, Pflieger S, Daubeze A M, Caranta C, Lefebvre V. Comparative mapping of *Phytophthora* resistance loci in pepper germplasm: evidence for conserved resistance loci across solanaceae and for a large genetic diversity *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 1473 ~ 1485

- 20 Ullassa B A, Rawal R D, Sohi H S, Sing D P. Reaction of sweet pepper genotypes to anthracnose leaf spot and powdery mildew. *Plant Dis*, 1981, 65: 600 ~ 601
- 21 Desphande A, Anand N, Pathak C S, Sridhar T S. New sources of powdery mildew resistance in *Capsicum* species. *Capsicum Newslett*, 1985, 4: 75 ~ 76
- 22 Daub ~~de~~ A M, Pochard E, Palloix A. Resistance to *Leveillula taurica* in pepper (*Capsicum annuum* L.) is oligogenically controlled and stable in Mediterraneans. *Plant Breeding*, 1995, 114: 327 ~ 332
- 23 Lefebvre V, Daub ~~de~~ A M, J Rouppe van der Voort, Peleman J, Bardin M, Palloix A. QTLs for resistance to powdery mildew in pepper under natural and artificial infections. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 661 ~ 666
- 24 黄三文, 张宝玺, 郭家珍, 杨桂梅, 朱德蔚. 辣(甜)椒根结线虫的危害、防治和抗病育种. *园艺学报*, 2000, 27 (增刊): 515 ~ 521  
Huang S W, Zhang B X, Guo J Z, Yang G M, Zhu D W. The damage, control and resistance breeding of root-knot nematode in pepper. *Acta Horticulturae Sinica*, 2000, 27 (Suppl): 515 ~ 521 (in Chinese)
- 25 Djian-Caporalino C, Pijarowski L, Fazari A, Samson M, Gaveau L, O'Byrne C, Lefebvre V, Caranta C, Palloix A, Abad P. High-resolution genetic mapping of the pepper (*Capsicum annuum* L.) resistance loci *Me3* and *Me4* conferring heat-stable resistance to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). *Theor Appl Genet*, 2001, 103: 592 ~ 600
- 26 Chaim A B, Paran I, Grube R C, Jahn M, Wijk R V, Peleman J. QTL mapping of fruit-related traits in pepper (*Capsicum annuum*). *Theor Appl Genet*, 2001, 102: 1016 ~ 1028
- 27 Chaim A B, Borovsky Y, Jong W D, Paran I. Linkage of the A locus for the presence of anthocyanin and fsl0. 1 a major fruit-shape QTL in pepper. *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 889 ~ 894
- 28 Lefebvre V, Kunta M, Camara B, Palloix A. The capsanthin-capsorubin synthase gene: a candidate gene for the y locus controlling the red fruit colour in pepper. *Plant Mol Biol*, 1998, 36: 785 ~ 789
- 29 Tanksley S D, Bematky R, Lapitan N L, Prince J P. Conservation of gene repertoire but not gene order in pepper and tomato. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1988, 85: 6419 ~ 6423
- 30 Blum E, Liu K, Mazourek M, Yoo E Y, Jahn M, Paran I. Molecular mapping of the C locus for presence of pungency in *Capsicum*. *Genome*, 2002, 45: 702 ~ 705
- 31 Blum E, Mazourek M, O'Connell M, Curry J, Thorup T, Liu K, Jahn M, Paran I. Molecular mapping of capsaicinoid biosynthesis genes and quantitative trait loci analysis for capsaicinoid content in *Capsicum*. *Theor Appl Genet*, 2003, 108: 79 ~ 86
- 32 Zhang B X, Huang S W, Yang G M, Guo J Z. Two RAPD markers linked to a major fertility restorer gene in pepper. *Euphytica*, 2000, 113: 155 ~ 161
- 33 Wang L H, Zhang B X, Lefebvre V, Huang S W, Daub ~~de~~ A M, Palloix A. QTL analysis of fertility restoration in cytoplasmic male sterile pepper. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 1058 ~ 1063
- 34 Lefebvre V, Pfieger S, Thabuis A, Caranta C, Blantes A, Chauvet J-C, Daub ~~de~~ A M, Palloix A. Towards the saturation of the pepper linkage map by alignment of three intraspecific maps including known-function genes. *Genome*, 2002, 45: 839 ~ 854
- 35 张宝玺, 王立浩, 黄三文, 郭家珍, 杨桂梅, 堵玫珍. 辣椒分子遗传图谱的构建和胞质不育恢复性的 QTL 定位. *中国农业科学*, 2003, 36 (7): 818 ~ 822  
Zhang B X, Wang L H, Huang S W, Guo J Z, Yang G M, Du M Z. Construction of a molecular linkage map and QTL analysis of fertility restorer of *Capsicum annuum* L. *Scientia Agricultura Sinica*, 2003, 36 (7): 818 ~ 822 (in Chinese)
- 36 Wang Y Q. Construction of a molecular linkage map of pepper (*Capsicum* sp.) using AFLP markers and RFLP population 2004, <http://www.arc-acridc.org/html-files/moleader.html>
- 37 Tanksley S D. Linkage relationships and chromosomal locations of enzyme-coding genes in pepper, *Capsicum annuum*. *Chromosoma*, 1984, 89: 352 ~ 360
- 38 Livingstone K D, Lackney V K, Blauth J R, Wijk R V, Jahn M K. Genome mapping in *Capsicum* and the evolution of genome structure in solanaceae. *Genetics*, 1999, 152: 1183 ~ 1202
- 39 Kang B C, Nahm S H, Huh J H, Yoo H S, Yu J W, Lee M H, Kim B D. An interspecific (*Capsicum annuum* × *C. chinense*) F<sub>2</sub> linkage map in pepper using RFLP and AFLP markers. *Theor Appl Genet*, 2001, 102: 531 ~ 539
- 40 Lee J M, Kim B D. Combined genome mapping of RFLP-AFLP-SSR in pepper. *Genomics and Informatics*, 2003, 1 (2): 108 ~ 112
- 41 Paran I, J R van der Voort, Lefebvre V, Jahn M, Landry L, M van Schriek, Tanyolac B, Caranta C, Chaim A B, Livingstone K, Palloix A, Peleman J. An integrated genetic linkage map of pepper (*Capsicum* spp.). *Molecular Breeding*, 2002, 13: 251 ~ 261
- 42 Doganlar S, Frary A, Daunay M C, Lester R N, Tanksley S D. A comparative genetic linkage map of eggplant (*Solanum melongena*) and its implications for genome evolution in the Solanaceae. *Genetics*, 2004, 161: 1697 ~ 1711
- 43 Grube R C, Radwanski E R, Jahn M. Comparative genetics of disease resistance within the Solanaceae. *Genetics*, 2000, 155: 873 ~ 887