

# 辣椒雄性不育“三系”线粒体 DNA 的 ISSR 检测

赵 凯<sup>1</sup>, 邓明华<sup>1,2</sup>, 文锦芬<sup>3</sup>, 邹学校<sup>2,\*</sup>, 朱海山<sup>1</sup>, 张竹青<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 云南农业大学园林园艺学院, 昆明 650201; <sup>2</sup> 湖南省农业科学院蔬菜研究所, 长沙 410125; <sup>3</sup> 昆明理工大学现代农业工程学院, 昆明 650224)

以湖南省蔬菜研究所选育的辣椒胞质雄性不育系 9704A、保持系 9704B 和恢复系 9701 为试验材料, 比较“三系”mtDNA 的 ISSR 多态性, 为揭示胞质雄性不育性与 mtDNA 之间的关系积累资料。

利用蔗糖衬垫法提取辣椒黄化苗的线粒体 DNA。PCR 反应总体积为 25  $\mu\text{L}$ , 由 10  $\times$  PCR buffer 2.5  $\mu\text{L}$ , *Taq* 酶 (1 U  $\cdot \mu\text{L}^{-1}$ ) 1  $\mu\text{L}$ , dNTP (10  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 0.5  $\mu\text{L}$ , 引物 (8 pmol  $\cdot \mu\text{L}^{-1}$ ) 2  $\mu\text{L}$ , 模板 DNA (25 ng  $\cdot \mu\text{L}^{-1}$ ) 2  $\mu\text{L}$ , 灭菌去离子水 18.5  $\mu\text{L}$  组成。扩增程序: 95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 2 min, 然后 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 45 s, 55  $^{\circ}\text{C}$  退火 1 min, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 2 min, 40 个循环, 最后 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min, 4  $^{\circ}\text{C}$  终止反应。扩增产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳, 紫外分析仪下观察照相。

比较分析两个材料线粒体 DNA 扩增带间的差异百分率  $D: D = d_{xy} / (N_x + N_y)$ , 其中  $d_{xy}$  为 X 材料和 Y 材料间 DNA 差异条带数,  $N_x$ 、 $N_y$  分别为 X 材料和 Y 材料各自具有的 DNA 条带数。

共用 ISSR 引物 100 个, 其中 21 个引物获得了带型清晰、重复性好的扩增结果, 有效引物占 21%。每个引物可以扩增出 1~7 条较明显的主带, 还有若干不很明显的弱带, 共检测到 126 种扩增片段。其中 4 个引物在不育系与保持系之间扩增出差异条带, 11 个引物在不育系、保持系与恢复系之间扩增出差异带, 10 个引物未能在不育系、保持系和恢复系之间扩增出差异条带。

“三系”间的差异表现为两类: 一类是质的差异, 表现为带谱在某一系列中有或无的差异, 另一类是量的差异, 即组织结构和拷贝数的差异, 表现为某一位置的带在“三系”中都有, 但扩增带谱的亮度不一致, 有的带谱很亮, 而其他系的相应带谱的亮度却很弱。

“三系”中质的差异有以下几种表现形式: (1) 不育系和保持系具备某条带, 而对应的恢复系不具有; (2) 不育系和恢复系具备某条带, 对应的保持系不具有; (3) 保持系和恢复系具备某条带, 对应的不育系不具有; (4) 恢复系具备某条带, 对应的不育系和保持系不具有; (5) 不育系具备某条带, 对应的保持系和恢复系不具有, 这种特异的条带可能与辣椒胞质雄性不育有关; (6) 保持系具备某条带, 对应的不育系和恢复系不具有, 这种特异的条带可能与辣椒胞质雄性不育的保持有关。

对辣椒“三系”线粒体 DNA 的 ISSR 扩增后的条带进行差异分析表明: 不育系和保持系的差异较小, 差异率为 11.9%; 不育系与恢复系的差异为 25.8%; 保持系与恢复系的差异为 26.5%。

利用 POPGENE 软件对辣椒“三系”线粒体 DNA 的 ISSR 标记进行分析, 结果表明, 辣椒不育系与保持系之间的遗传关系较近, 与恢复系之间的遗传距离较远。

**关键词:** 辣椒; 雄性不育; ISSR

**中图分类号:** S 641.3

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2011) S-2577-01

**收稿日期:** 2011-08-01

**基金项目:** 国家大宗蔬菜产业技术体系建设项目 (nycytx-35-gwzj); 农业部公益性行业 (农业) 科研专项 (200903025); 云南省应用基础项目 (2008CD136, 2009CD055)

\* 通信作者 (E-mail: zou\_xuexiao@163.com)