

辣椒的辣味遗传控制与辣椒素生物合成研究进展

张正海, 毛胜利, 王立浩, 张宝玺*

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘 要: 辣椒的辣味源于其果实胎座中合成的辣椒素和二氢辣椒素等生物碱类物质。就辣椒辣味的遗传特征, 影响因素, 辣椒素类物质生物合成途径及相关基因进化, 辣味性状 QTL 定位, *Pun1* 和 *pAMT* 基因分子标记辅助选择进行了综述。

关键词: 辣椒; 辣味; 辣椒素类物质; 辣椒素酯类物质; *Pun1* 基因

中图分类号: S 641.3

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2014) 09-1821-12

Progress on Genetic Control of Pungency and Capsaicinoid Biosynthesis in *Capsicum* spp.

ZHANG Zheng-hai, MAO Sheng-li, WANG Li-hao, and ZHANG Bao-xi*

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

Abstract: The pungency of pepper (*Capsicum* spp.) is due to capsaicin, dihydrocapsaicin and other capsaicinoid biosynthesis in glands on the placenta dissepiment of the fruit. This paper reviews the genetic control and environmental effects on pungency, capsaicinoid biosynthesis pathway and evolution, QTL analysis of capsaicinoid content and marker-assisted selection breeding on *Pun1* and *pAMT* in *Capsicum* spp.

Key words: *Capsicum*; pungency; capsaicinoid; capsinoid; *Pun1*

所谓辣椒 (*Capsicum* spp.) 的“辣味”, 是人们食用辣椒及其制品后, 辣椒素结合人体痛觉途径中的辣椒素受体 (Transient receptor potential vanilloid 1, TRPV1) 而产生的灼痛感 (Caterina et al., 1997)。习惯上所称的辣椒素是辣椒素类物质 (Capsaicinoid) 的混合物, 为辣椒果实所特有。目前已发现 20 多种辣椒素类物质 (Bosland & Votava, 2012), 辣椒素 (Capsaicin) 和二氢辣椒素 (Dihydrocapsaicin) 约占辣椒果实中总辣椒素类物质含量的 80% 以上 (Kozukue et al., 2005)。辣椒素类物质由苯丙氨酸和支链脂肪酸两条途径合成于果实胎座和隔膜上的腺体细胞中, 超过 50 个基因家族参与辣椒素类物质的生物合成 (Mazourek et al., 2009; Liu et al., 2013; Kim et al., 2014; Qin et al., 2014)。辣椒辣味的有无为质量性状, 由显性 *Pun1* (最早用 *C* 表示) 基因位点控制, 编码辣椒酰基转移酶 (Acyltransferase, AT), 亦即辣椒素合成酶 (Capsaicin synthase, CS), *Pun1* 基因的突变导致辣椒辣味的丢失 (Blum et al., 2002, 2003; Stewart et al., 2005, 2007)。辣椒辣味的强弱呈数量性状特征, 并受栽培环境等因素的影响 (Harvell & Bosland, 1997; Zewdie & Bosland, 2000b, 2000c; Blum et al., 2003; Ben-Chaim et al., 2006; Gurung et al., 2011, 2012), 目前已定位多个与

收稿日期: 2014-06-19; 修回日期: 2014-09-01

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程项目 (2013-2014); 农业部园艺作物生物学与种质创制重点实验室项目

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: zhangbx@mail.caas.net.cn)

辣椒素含量相关的 QTL (Ben-Chaim et al., 2001, 2006; Blum et al., 2003; Paran et al., 2010; Yarnes et al., 2013)。辣椒辣味的强弱, 即辣椒素类物质含量的多少可通过 HPLC 检测 (Collins et al., 1995), 并转化为表示辣度的史高维尔指数 (Scoville Scale, 或 Scoville Heat Unit, 简称 SHU)。无辣味的辣椒 (甜椒) 不含任何辣椒素类物质, 而世界上最辣的辣椒其 SHU 超过了 200 万 (Bosland et al., 2012; Guinness Book of World Records, 2013)。辣椒因其独特的辛辣味而成为重要的蔬菜和调味品 (Bosland & Votava, 2012), 并且辣椒素类物质具有抗癌、镇痛和减肥等医疗和保健作用 (Fraenkel et al., 2004; Luo et al., 2011; Ludy et al., 2012; Lau et al., 2014; Whiting et al., 2014)。本文就辣椒辣味的遗传控制和分子生物学研究进展进行了综述, 旨在为辣椒辣味遗传育种和辣椒素类物质生物合成研究提供信息和参考。

1 辣椒辣味的形成及辣椒素类物质合成

1.1 辣味的遗传控制及其影响因素

已有的研究表明辣椒的辣味由单显性基因 *Pun1* 控制, 该基因位于辣椒 2 号染色体上 (Blum et al., 2002, 2003; Stewart et al., 2005, 2007), 并且在无辣味辣椒中发现了 3 个等位基因, 分别为 *pun1*¹ (*C. annuum*), *pun1*² (*C. chinense*) 和 *pun1*³ (*C. frutescens*)。另外, Votava 和 Bosland (2002) 报道, 在无辣味辣椒 (*C. chinense*) 中发现第 2 个控制无辣味性状的位点 *Lov* (Loss of vesicle), 但目前未见有关此位点的染色体定位等进一步报道。

辣椒辣味的强弱, 即辣椒素的含量多少, 呈现数量性状遗传特征 (Ribeiro & da Costa, 1990; Blum et al., 2003; Ben-Chaim et al., 2006), 并受外界环境因素的影响 (Harvell & Bosland, 1997; Estrada et al., 1999; Zewdie & Bosland, 2000b, 2000c; Gurung et al., 2011, 2012)。对辣椒种内和种间杂交分析发现, 辣椒素含量的遗传具有杂种优势现象 (Butcher et al., 2013; 仲辉 等, 2013), 具有加性效应和加性—显性效应 (Zewdie & Bosland, 2000a), 以及上位性, 超显性和显性互补等遗传效应 (Garcés-Claver et al., 2007a)。干旱胁迫下, 低辣度 (< 50 000 SHU) 和中辣度 (50 000 ~ 100 000 SHUs) 辣椒的总辣椒素含量升高, 而高辣度 (> 100 000 SHUs) 辣椒的辣椒素含量小幅下降 (Phimchan & Techawongstien, 2012)。海拔高度与辣椒果实的辣椒素及总的辣椒素类物质含量正相关, 但也有的辣椒材料其辣椒素类物质含量在不同的环境下表现比较稳定 (Gurung et al., 2011, 2012), 而且具有较高的狭义遗传力 (Ribeiro & da Costa, 1990)。上述结果表明辣椒基因型对其辣椒素类物质的含量高低起主导作用, 可进行选择育种。

1.2 辣椒素类物质的生物合成与进化

辣椒素是由苯丙氨酸途径合成的香草基胺和由支链脂肪酸途径合成的 8-甲基-6-癸烯酰经辣椒素合成酶 (CS) 催化缩合而成 (图 1)。研究者针对该辣椒素合成途径, 发掘了 *PAL*、*C4H*、*COMT*、*KAS*、*pAMT*、*AT*、*ACL* 和 *Fat* 等多个可能参与辣椒素生物合成的候选基因, 这些基因在辣味辣椒胎座组织中特异表达, 其转录水平与辣椒果实辣味强弱正相关 (Curry et al., 1999; Kim et al., 2001; Aluru et al., 2003; 阮文渊 等, 2011)。利用病毒诱导的基因沉默 (VIGS) 技术分别诱导 *COMT*、*pAMT* 和 *KAS* 基因沉默, 均导致辣椒素含量急剧下降, 从而证实其参与了辣椒素类物质的生物合成 (del Rosario Abraham-Juárez et al., 2008)。

Mazourek 等 (2009) 全面分析了辣椒素类物质合成代谢网络, 建立了辣椒素类物质生物合成模型 (CapCyc Model), 包括苯丙氨酸生物合成、辣椒素合成的直接前体香草基胺的合成、支链氨基酸合成和代谢以及支链脂肪酸的合成等 4 方面, 其中后两条途径最终可产生各种不同的酰基, 从而

认为其参与不同辣椒素类物质的生物合成。根据 CapCyc 模型中涉及的酶类, Mazourek 等 (2009) 从辣椒中克隆到了除 PAT (Prephenate aminotransferase, 预苯酸转氨基酶), TD (Thr deaminase, 苏氨酸转氨基酶) 和 DHAD (Dihydroxyacid dehydratase, 二羟酸脱水酶) 之外, 包括已报道的 pAMT (Lang et al., 2009), BCAT (Blum et al., 2003) 以及 KasI、FatA 和 AT3 (Aluru et al., 2003) 在内的共 49 个辣椒素类物质生物合成途径候选酶类相关基因。Liu 等 (2013) 通过转录组测序, 检测到包括 PAT, TD 和 DHAD 在内的 52 个 CapCyc 模型的候选基因。Qin 等 (2014) 和 Kim 等 (2014) 分别通过对辣椒全基因组分析获得了 CapCyc 模型 52 个辣椒素类物质合成候选基因中的 51 个和 44 个基因, 并对部分基因的表达特征、多态性和系统进化进行了分析。

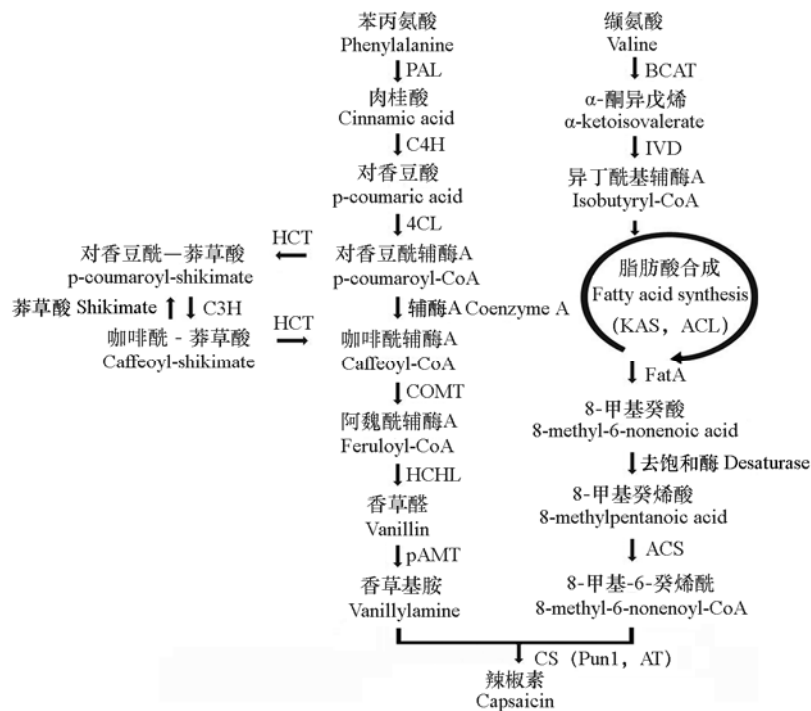


图1 辣椒素合成途径及相关酶 (参考 Mazourek et al., 2009; Kim et al., 2014; Qin et al., 2014)

PAL: 苯丙氨酸裂解酶; C4H: 肉桂酸-4-羟化酶; 4CL: 4-香豆酰-CoA 连接酶; HCT: 羟基肉桂酰转移酶; C3H: 咖啡酰莽草酸/奎宁酸-3-羟化酶; COMT: 咖啡酸转甲氧基酶; HCHL: 羟基肉桂酰基-CoA 水合酶/裂解酶; pAMT: 假定氨基转移酶;

BCAT: 支链氨基酸转移酶; IVD: 异戊酸脱氢酶; KAS: β -酮脂酰-ACP 合成酶; ACL: 酰基载体蛋白;

FatA: 酰基-ACP 硫酯酶; ACS: 酰基-CoA 合成酶; AT: 脂肪酰转移酶; CS: 辣椒素合成酶。

Fig. 1 Pathway of capsaicin synthesis and genes for encode enzymes

(Adapted from Mazourek et al., 2009; Kim et al., 2014; Qin et al., 2014)

PAL: Phenylalanine ammonia lyase; C4H: Cinnamate 4-hydroxylase; 4CL: 4-coumaroyl-CoA ligase; HCT: Hydroxycinnamoyl transferase; C3H: Coumaroyl shikimate/quinate 3-hydroxylase; COMT: Caffeic acid O-methyl transferase; HCHL: Hydroxycinnamoyl-CoA hydratase/lyase; pAMT: Putative aminotransferase; BCAT: Branched-chain amino acid transferase; IVD: Isovalerate dehydrogenase;

KAS: β -ketoacyl-ACP synthase; ACL: Acyl carrier protein; FatA: Acyl-ACP thioesterase;

ACS: Acyl-CoA synthetase; AT: Acyltransferase; CS: Capsaicin synthase.

辣椒素类物质合成 CapCyc 模型 (Mazourek et al., 2009) 候选基因中的 51 个, 在番茄、马铃薯和拟南芥中都有同源基因, 但辣椒中的多个基因家族进行了辣椒特有的独立复制 (Kim et al., 2014; Qin et al., 2014)。例如 Kim 等 (2014) 报道, *PAL*, *BACT*, *C4H*, *KAS*, *ACL*, *COMT*, *FatA*, *AMT* 和 *CS* 在番茄中都有直向同源基因 (Orthologous gene), 除 *BCAT* 和 *FatA* 外, 其它基因的直向同源基因在其一端或者两端多次出现, *CS*, *KAS* 和 *COMT* 更表现深度的复制。辣椒素类物质合成相关基

因大都呈现组织和发育阶段的特异性表达特点, 主要在辣椒胎座发育阶段表达(开花后 16 d、25 d 和果实绿熟期)(Kim et al., 2014; Qin et al., 2014)。CS 在辣味辣椒中特异表达, 其它基因在辣味辣椒和无辣味辣椒中均表达, 从而说明无辣味辣椒的出现, 是由于 CS 基因表达的丧失, 而不是辣椒素合成途径中其它基因表达的实质性变化。基因复制中序列的变异可导致新基因或新功能的产生, 辣椒基因不均等复制的进化和表达的变化是辣椒辣味产生的原因(Kim et al., 2014; Qin et al., 2014)。

2 辣椒 *Pun1* 基因与辣味的关系及其分子标记

2.1 *Pun1* 表达特征及与辣椒素合成的相关性

Pun1 是控制辣椒辣味有无的遗传位点, 编码辣椒酰基转移酶基因(AT, Acyltransferase)(Kim et al., 2001; Lee et al., 2005; Stewart et al., 2005; Lang et al., 2006; Garcés-Claver et al., 2007b)。Kim 等(2001)发现 1 个在辣味辣椒(*C. chinense* ‘Habanero’)胎座中特异表达序列 SB2-66 (BF723664), 与酰基转移酶基因(AT, Acyltransferase)同源, 认为其是辣椒素合成酶基因(CS)。利用不同的辣椒材料, 研究者对 SB2-66(Kim et al., 2001)序列进行了克隆和分析。Stewart 等(2005)报道, SB2-66 与辣味共分离, 认为其是 *Pun1* 位点的基因, 且与 *Pun1* (C) 处于连锁群的同一位置, 并从辣味辣椒 ‘Habanero’ (*C. chinense*) 等材料扩增出该基因的全长, 编码 AT3。Lang 等(2006)从辣味辣椒中克隆了控制辣味有无, 并推断编码 AT 的基因 *Catf-1*。Garcés-Claver 等(2007b)从辣味辣椒中获得了来自 AT3 序列的 362 bp 大小的片段, 但二者均与 SB2-66 完全匹配, 说明其是辣椒辣味基因 *Pun1* 的不同表述或部分片段。综上所述, SB2-66 为 *Pun1* 的候选基因, 编码 AT3(Lee et al., 2005; Stewart et al., 2005)。

AT3 在辣味辣椒(*Pun1/Pun1*)果实的胎座中特定表达, 并在开花后 20 d 达到峰值, 花后 40~50 d 后停止表达, 而在甜椒(*pun1/pun1*)果实的任何部位和发育阶段均没有表达(Stewart et al., 2005; Lang et al., 2006)。利用烟草脆裂病毒(*Tobacco rattle virus*, TRV)为载体诱导辣椒 AT3 基因沉默, 其辣椒素含量降低了 70%以上, 因而从另一角度证实 SB2-66(AT3)是辣味基因 *Pun1* (C), 控制辣味的有无。另外, 由于辣椒素合成酶(CS)是辣椒素生物合成途径中最终将香草基胺(Vanillylamine)和癸烯酰 CoA (8-methyl-6-nonenoyl-CoA) 转换为辣椒素的酶, 研究者认为 AT3 可能是辣椒素合成酶的编码基因。微共线性分析辣椒和番茄 CS 周围的基因区域, 发现了脂肪酰转移酶基因簇, 辣椒 AT3 的 7 个拷贝经历 5 次不均等串联复制, 辣椒 CS 基因可能在其最后 1 次复制事件后形成(Kim et al., 2014)。AT3 具有 3 次串联重复, AT3-D1 和 AT3-D2 只在果实发育过程中辣椒素类物质的合成阶段显著表达, AT3-D1 在无辣味辣椒中未检测到或仅有痕量表达(Qin et al., 2014)。AT3 (*Pun1*, CS) 基因的克隆和序列分析及以此开发的基于基因型的分子标记, 大大提高了辣椒辣味分子标记辅助选择的效果。

2.2 基于 *Pun1* 基因序列的辣味遗传分子标记

利用 SB2-66 (*Pun1*) 序列信息, Stewart 等(2005)和 Lee 等(2005)等分别获得了该基因的全长, 发现在无辣味辣椒(*C. annuum*)中由于 *Pun1* 的 5'端缺失 2.5 kb (包括假定启动子和第 1 外显子的大部分), 导致 *Pun1* 基因既不转录也不翻译, 从而失去辣味(Stewart et al., 2005)。Qin 等(2014)通过辣椒基因组测序也证实 *Pun1*(AT3-D1)在横跨假定启动子区和第 1 外显子有 2 724/2 930 bp 的缺失。另外, Lang 等(2006)和 Garcés-Claver 等(2007b)除分别获得与辣椒辣味相关的基因 *Catf-1* 和多态性片段(362 bp)外, 也分别扩增到在辣味辣椒和无辣味辣椒中都表达, 且互相完全匹配的基因 *Catf-2* 和大小为 307 bp 的片段, 二者与 *Pun1* 的同源性均超过 80%, 此信息有助于进行

辣椒辣味分子标记辅助选择时设计针对 *Pun1* 基因的特异引物。目前研究者根据 *Pun1* 及其突变体的基因信息已开发了大量实用的辣椒辣味分子标记 (表 1)。

不同的无辣味辣椒种, 其 *Pun1* 基因表现为不同的突变类型。研究者将 *C. annuum* 辣椒特有的无辣味突变位点命名为 *pun1*¹, 而将无辣味 *C. chinense* 和 *C. frutescens* 辣椒中特有 *Pun1* 基因突变位点, 分别命名为 *pun1*² 和 *pun1*³。*pun1*² 第 1 外显子缺失 4 bp, 产生提前终止子, 该基因能正常转录但没有蛋白产生 (Stewart et al., 2007), *pun1*³ 的 3'端有大段的删除, 造成 *Pun1* 蛋白 70 个氨基酸缺失, *pun1*³ 基因座既不转录也不翻译 (Stellari et al., 2010)。针对 *Pun1* 等位基因的特点, 设计特异的引物, 则可以区分不同种的辣味辣椒材料 (Wyatt et al., 2012)。

表 1 基于 *Pun1* 基因的辣味分子标记
Table 1 Gene based molecular markers of *Pun1*

标记来源 Gene/EST	标记类型 Molecular marker	遗传类型 Hereditary type	参考文献 Reference
EST clone (SB2-66)	SCAR	3 显性/2 共显性 3 Dominant/2 Codominant	Lee et al., 2005
<i>Catf-1</i> from SB2-66	CAPS	共显性 Codominant	Lang et al., 2006
EST clone (SB2-66)	SNP/ARMS-PCR	共显性 Codominant	Garcés-Claver et al., 2007b
EST 307 bp from SB2-66			
<i>Pun1</i>	PCR	5 共显性 5 Codominant	Truong et al., 2009
<i>Pun1</i>	PCR	共显性 Codominant	Stewart et al., 2005; Stewart et al., 2007; Stellari et al., 2010; Wyatt et al., 2012
Genome walking of EST 307 bp	PCR	共显性 Codominant	Rodríguez-Maza et al., 2012
<i>Pun1</i> (AT3)	PCR	共显性 Codominant	Chakradhar et al., 2013

3 辣椒素酯类遗传特性与分子标记辅助选择

3.1 辣椒素酯类合成相关 *pAMT* 基因及多态性

辣椒素类物质因其特殊的辛辣刺激性, 使其应用受到一定限制。据报道一类结构和生物活性与辣椒素相似的辣椒素酯类物质 (Capsinoid) 因其较低的辛辣味, 可作为辣椒素类物质很好的替代原料 (Tanaka et al., 2014)。辣椒素酯类物质最初是从辣椒 ‘CH-19’ (*C. annuum*) 无辣味突变体 ‘CH-19 Sweet’ 中发现的 (Yazawa et al., 1989)。目前已分离鉴定的辣椒素酯类物质有辣椒素酯 (Capsiate)、二氢辣椒素酯 (Dihydrocapsiate) 和降二氢辣椒素酯 (Nordihydrocapsiate) (Yazawa et al., 1989; Kobata et al., 1998, 1999), 并报道了多个高含辣椒素酯类物质的种质资源 (表 2)。

表 2 高产辣椒素酯类物质的辣椒资源
Table 2 High capsinoids containing germplasm of *Capsicum* spp.

材料 Material	辣椒素酯类物质 Capsinoid	辣椒素类物质/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ DW) Capsaicinoid	参考文献 Reference
CH-19 Sweet (<i>C. annuum</i>)	$(5\ 825 \pm 286) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ DW	110 ± 3	Tanaka et al., 2010a
Himo (<i>C. annuum</i>)	$(1\ 240 \pm 105) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ DW	未检测出 Not detected	Tanaka et al., 2010a
Zavory Hot (<i>C. chinense</i>)	$1\ 812 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ DW	微辣 Mildly pungent	Tanaka et al., 2010b
Aji Dulce strain 2 (<i>C. chinense</i>)	$1\ 797 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ DW	微辣 Mildly pungent	Tanaka et al., 2010b
Belize Sweet (<i>C. chinense</i>)	$732 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ DW	微辣 Mildly pungent	Tanaka et al., 2010b
Maru Salad (<i>C. annuum</i>)	$700 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ DW	未测定 Not measure	Tanaka et al., 2014
509-45-1 (<i>C. annuum</i>)	$1\ 013 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ FW	未检测出 Not detected	Jarret et al., 2014

辣椒 *pAMT* 基因在不同的高产辣椒素酯类材料中呈现多态性。Lang 等 (2009) 报道 ‘CH-19 Sweet’ 材料中辣椒素酯的合成是由于假定氨基转移酶基因 (*putative aminotransferase*, *pAMT*) 功能的缺失而造成的。其 *pAMT* 基因第 1 291 碱基处由于 T 单碱基插入突变生成终止子, 从而阻碍 *pAMT* 基因的翻译。而在另一个高产辣椒素酯的辣椒 ‘Himo’ (*C. annuum*) 中, *pAMT* 基因第 755 碱基处发生

单碱基替换 (C 替换 T), 造成假定磷酸吡哆醛 (PLP, pyridoxal 5-phosphate) 结合区域内的半胱氨酸转变成精氨酸, 影响 *pAMT* 基因的功能 (Tanaka et al., 2010a)。并且 Tanaka 等 (2010b) 报道, 在 3 个高产辣椒素酯的辣椒 (*C. chinense*) 中, ‘Belize Sweet’ 的 *pAMT* 基因在第 8 个外显子内发生 5 碱基插入 (TGGGC) 造成了移码突变; ‘Zavory Hot’ 和 ‘Aji Dulce strain 2’ 的 *pAMT* 基因分别在第 5 和第 3 内含子中插入 1 个转位因子 (Tcc)。利用 ‘CH-19 Sweet’ 和 ‘Himo’ 辣椒 *pAMT* 基因的特点, Lang 等 (2009) 和 Tanaka 等 (2010a) 分别开发了针对 *pAMT* 基因的特定 dCAPS 共显性分子标记。

3.2 辣椒素酯类遗传控制及分子标记

研究表明, 辣椒素酯类的合成对辣椒素合成为隐性性状, 并受 *p-amt* 和 *Pun1* 共同控制。利用只产生辣椒素酯的材料 ‘Himo’ (*C. annuum*) 与主要产生辣椒素的材料 ‘No. 3446’ (*C. annuum*) 和 ‘Yatsufusa’ (*C. annuum*) 杂交, 其 F_1 代主要产生辣椒素类物质, 而 ‘Himo’ 与只产生辣椒素酯类的 ‘CH-19 Sweet’ 杂交后代则主要产生辣椒素酯, 说明辣椒素合成对于辣椒素酯合成为显性 (Tanaka et al., 2010a), 并且在 ‘CH-19 Sweet’ 与辣味辣椒 ‘7P46’ (*C. annuum*), ‘Himo’ 与 ‘No. 3446’ 杂交 F_2 代中, 产生辣椒素酯类与辣椒素类的个体数比值为 1:3, 进一步证实 ‘CH-19 Sweet’ 和 ‘Himo’ 中辣椒素酯的合成由单隐性基因 (*p-amt*) 控制 (Lang et al., 2009; Tanaka et al., 2010a)。

Han 等 (2013) 研究发现, 辣椒素酯类物质的有无与辣味基因 *Pun1* 的基因型共分离, 不论 *pAMT* 的基因型如何, *pun1* 基因型的辣椒不产生辣椒素酯类物质, 而且 *pAMT* 基因型的不同突变类型与辣椒素酯类的含量高低没有联系, 说明 *Pun1* 不但控制辣椒素的生物合成, 且与辣椒素酯类物质的产生相关。Tanaka 等 (2014) 应用 *Pun1* (Lee et al., 2005) 和 *pAMT* (Lang et al., 2009) 分子标记辅助选择, 结合表型分析从 ‘Murasaki’ 与 ‘CH-19 Sweet’ 的杂交后代中选育出果实比 ‘CH-19 Sweet’ 大, 辣椒素酯含量适中、适合鲜食的新品种 ‘Maru Salad’。

4 辣椒辣味相关基因连锁图谱的构建与 QTL 定位

4.1 辣椒素合成相关基因连锁分析

研究表明, 辣椒辣味有无由显性单基因位点 (*Pun1*) 控制, 无辣味辣椒 (甜椒) 辣味丢失是由 *Pun1* 基因的突变引起的。Tanksley 等 (1988) 最早报道了与辣椒 *Pun1* 位点连锁的 RFLP 标记 CD35, 并由 Ben-Chaim 等 (2001) 将其位点定位到了辣椒 2 号染色体上, 二者遗传距离为 10.8 cM。而后, 研究者利用不同的遗传图谱, 获得了遗传距离更近 (0.4 ~ 3.6 cM) 的不同连锁标记 (表 3)。辣椒 *Pun1* 位点候选基因序列 SB2-66 (Kim et al., 2001) 发现后, Stewart 等 (2005) 和 Lee 等 (2005) 分别将此序列定位到与 *Pun1* 相同的位置。利用 *Pun1* 基因序列已经开发了基于基因自身多态性信息的分子标记 (表 1), 大大提高了辣椒辣味分子标记辅助选择的针对性和准确性。

除辣味 *Pun1* (*C*) 基因的连锁标记外, 研究者也对辣椒素合成途径中的其它候选基因进行了定位分析。Aluru 等 (2003) 分离到了辣椒素支链脂肪酸合成途径中的 β -酮脂酰-ACP 合酶 (KAS), 酰基-ACP-硫酯酶 (FatA) 和酰基运载蛋白 (ACL) 候选基因克隆, 并将 KAS 和 ACL 定位到 1 号染色体上, FatA 定位到 6 号染色体上。Blum 等 (2003) 为证实辣椒素合成相关基因对辣椒素含量 1 个主效 QTL (*cap*) 的作用, 对包括上述 3 个基因在内的 12 个基因克隆构建了连锁图谱, 发现其对 *cap* 没有显著影响, 也与定位于 2 号染色体上的控制辣椒辣味有/无的位点 *Pun1* (*C*) 没有联系。Mazourek 等 (2009) 利用 182 个个体的种间杂交 (*C. annuum* ‘A44750157’ \times *C. chinense* ‘PI152225’)

F₂ 代群体, 构建了遗传连锁图谱并定位了包含 *Pun1* (Stewart et al., 2005) 以及 *pAMT*, *KAS1* 和 *FatA* (Aluru et al., 2003; Blum et al., 2003) 等一批辣椒素生物合成相关候选基因。

表 3 辣椒 *Pun1* 遗传连锁图及其分子标记
Table 3 Genetic linkage mapping of *Pun1* in *Capsicum* spp.

群体 Population	染色体 Chromosome	基因位点 Locus	标记类型 Molecular marker	标记名称 Marker name	遗传距离/ cM Genetic distance	参考文献 Reference
<i>C. annuum</i> 'Maor' × <i>C. annuum</i> perennial F ₂ (n = 180)	2	C	RFLP	CD35	10.8	Tanksley et al., 1988; Ben-Chaim et al., 2001
<i>C. annuum</i> 'Maor' × <i>C. Frutescens</i> 'BG 2816' F ₂ (n = 242)	2	C	RFLP CAPS	TG 205 1a2	共分离 Co-segregated 0.4 ± 0.3	Blum et al., 2002
<i>C. annuum</i> 'ECW123R' × <i>C. annuum</i> 'CM334' F ₂ (n = 121)	未见报道 Not reported	C	EST	CS (SB2-66)	共定位 Co-localization	Lee et al., 2005
<i>C. annuum</i> 'Tongari' × <i>C. annuum</i> 'Fushimi-amanaga' F ₂ (n = 103)	未见报道 Not reported	C	CAPS	SCY-800	3.6	Minamiyama et al., 2005
<i>C. annuum</i> 'Maor' × <i>C. Frutescens</i> 'BG 2816' F ₂ (n = 242)	2	<i>Pun1</i>	EST	SB2-66	共定位 Co-localization	Stewart et al., 2005
<i>C. annuum</i> 'K9-11' × <i>C. annuum</i> 'AC2258' DH population (n = 176)	Linkage group 3	C	AFLP SSR	M12E2-6 PAP-SSR	4.0 0.6	Sugita et al., 2005

4.2 辣椒素含量的 QTL 定位

辣椒辣味的强弱, 即辣椒素含量的多少, 呈现数量性状的遗传特征 (Zewdie & Bosland, 2000a, 2000b)。目前已经定位了多个控制辣椒素含量的 QTL 位点 (表 4)。Blum 等 (2003) 在辣椒 7 号染色体上发现一个辣椒素主效 QTL, *cap*。而后, Paran 等 (2010) 又在该染色体上检测到新的 QTL 并命名为 *cap7.2*, 而将 *cap* 命名为 *cap7.1*。Ben-Chaim 等 (2006) 在辣椒 3、4 和 7 号染色体上共检测到 6 个控制辣椒素类物质含量的 QTL, 其中 *cap7.2* 与 Paran 等 (2010) 报道的 *cap7.1* 拥有相同的与各自 QTL 相连锁的标记 UBC20, 从而认为这两个 QTL 具有直向同源性。Yarnes 等 (2013) 利用重组自交系群体 (RILs) 建立了高密度的遗传连锁图, 发现了 12 个与辣椒素类含量相关的 QTL, 分别位于 3、4、5、6、7、10 和 11 号染色体上。

目前, 除 1、2、9 和 12 号染色体外, 其余染色体上均发现与辣椒素类物质含量相关的 QTL。然而, 尚未发现有 QTL 与任何辣椒素合成相关的基因被定位为在同一区域 (Blum et al., 2003; Paran et al., 2010), 说明这些 QTL 可能在辣椒素合成过程中起调节作用。

5 高辣椒素辣椒种质资源

哈瓦那辣椒 (Habanero, *C. chinense* Jacq.) 曾一度是世界上最辣的一类辣椒, 然而 2007 年以来更辣的辣椒不断被发现 (表 5)。印度鬼椒 (Bhut Jolokia) 是著名的高辣度辣椒, 其辣度指数超过了 100 万 (Bosland & Baral, 2007), 但 Bosland 等 (2012) 报道, 'Trinidad Moruga Scorpion' (*C. chinense* Jacq.) 辣度指数最高超过了 200 万。目前世界吉尼斯纪录最辣的辣椒是 'Carolina Reaper' (*C. chinense* Jacq.), 其辣度指数最高可达到 220 万。在中国, 目前人们认为较辣的涮辣 (*C. frutescens* L.) 和海南黄灯笼椒 (*C. chinense* Jacq.), 其辣度指数分别为 355 800 和 125 550 (Deng et al., 2009; 李海龙等, 2012)。

表 4 辣椒素含量 QTL 定位

Table 4 QTL analysis for capsaicinoid content *Pun1* in *Capsicum* spp.

群体 Population	标记类型 Molecular marker	表型 Phenotype measured	QTL 名称 QTL ID	LOD 值 LOD score	贡献率/% R^2	参考文献 Reference
<i>C. annuum</i> 'Maor' × <i>C. Frutescens</i> 'BG 2816' F ₂ (n = 242)	RFLP; CAPS	CAP; DHCAP	<i>cap</i>	14.2 ~ 15.9	34 ~ 38	Blum et al., 2003
<i>C. annuum</i> 'NuMex Rnaky' × <i>C. frutescens</i> 'BG 2814-6' F ₂ (n = 396)	SSR; AFLP; RFLP	CAP	<i>cap3.1</i>	3.2 ~ 3.9	13 ~ 16	Ben-Chaim et al., 2006
		CAP	<i>cap4.1</i>	3.3	14	
		CAP	<i>cap4.2</i>	3.8 ~ 4.2	14 ~ 19	
		CAP	<i>cap7.1</i>	4.8 ~ 5.7	16 ~ 17	
		CAP	<i>cap7.2</i>	4.0	21 ~ 25	
		DHCAP	<i>dhc4.1</i>	3.2 ~ 4.5	12 ~ 20	
		DHCAP	<i>dhc4.2</i>	3.1 ~ 3.9	12	
		DHCAP	<i>dhc7.1</i>	3.2 ~ 4.5	9 ~ 14	
		DHCAP	<i>dhc7.2</i>	3.1	19	
		NDHC	<i>ndhc7a.1</i>	3.2 ~ 5.0	15 ~ 22	
		Total ¹	<i>total3.1</i>	3.1	12	
			<i>total4.1</i>	3.2 ~ 4.2	12 ~ 18	
			<i>total4.2</i>	3.9 ~ 4.0	13 ~ 16	
			<i>total7.1</i>	4.2 ~ 5.2	11 ~ 14	Paran et al., 2010
			<i>total7.2</i>	3.5 ~ 3.8	17~23	
<i>C. annuum</i> 'Maor' × <i>C. frutescens</i> 'BG 2816' F ₂ (n = 242)	RFLP; SSR	CAP; DHCAP	Cap 7.1	9.24 ~ 14.37	27 ~ 36	
		CAP; DHCAP	Cap 7.2	7.08 ~ 8.88	21 ~ 24	
<i>C. annuum</i> 'Maor' × <i>C. annuum</i> 'perennial' F ₃ (n = 180)	RFLP; AFLP; RAPD	Total ²	Cap 7.1	3.22 ~ 3.44	14 ~ 16	Paran et al., 2010
		Total ²	Cap 8.1	3.7	19	
<i>C. annuum</i> 'NuMex Rnaky' × <i>C. frutescens</i> 'BG 2814-6' RILs (n = 105)	EST-based genetic map	DHCAP	3.1	2	13 ~ 16	Yarnes et al., 2013
		NDHC	4.2	2	11 ~ 26	
		CAP; Total ¹	4.13	2	9 ~ 10	
		CAP; DHCAP; Total ¹	4.14	2	9 ~ 26	
		CAP	4.15	2	22	
		DHCAP	4.16	2	11	
		NDHC	5.4	2	14 ~ 17	
		NDHC	6.8	2	14	
		NDHC	7.3	2	12	
		NDHC	10.2	2	12	
		NDHC	10.3	2	12	
		NDHC	11.8	2	12	

注: CAP: 辣椒素; DHCAP: 二氢辣椒素; NDHC: 降二氢辣椒素。Total¹: CAP, DHCAP 与 NDHC 之和; Total²: CAP 与 DHCAP 之和。

Note: CAP: Capsaicin; DHCAP: Dihydrocapsaicin; NDHC: Nordihydrocapsaicin. Total¹: Total capsaicinoid of CAP, DHCAP and NDHC; Total²: Total capsaicinoid of CAP and DHCAP.

表 5 高产辣椒素类物质的辣椒资源

Table 5 High capsaicinoids containing germplasm of *Capsicum* spp.

材料名称 Material	种 Species	来源 Origin	辣度指数 SHU	参考文献 Reference
Red Savina (Habanero)	<i>C. chinense</i> Jacq.	未见报道 Not reported	577 000	Guinness Book of World Records, 2006
Bhut Jolokia	<i>C. chinense</i> × <i>C. frutescens</i>	印度 India	1 001 304	Bosland & Baral, 2007; Bosland et al., 2012
			1 019 687	Guinness Book of World Records, 2007
Butch T Scorpion	<i>C. chinense</i> Jacq.	特立尼达和多巴哥 Trinidad & Tobago	1 463 700	Guinness Book of World Records, 2011.
Trinidad Moruga Scorpion	<i>C. chinense</i> Jacq.	特立尼达和多巴哥 Trinidad & Tobago	1 207 764	Bosland et al., 2012
Carolina Reaper	<i>C. chinense</i> Jacq.	未见报道 Not reported	1 569 300	Guinness Book of World Records, 2013
Tezpur	<i>C. frutescens</i> L.	印度 India	855 000	Mathur et al., 2000
涮辣 Shuanla	<i>C. frutescens</i> L.	中国 China	355 800	Deng et al., 2009
海南黄灯笼椒	<i>C. chinense</i> Jacq.	中国 China	125 550*	李海龙 等, 2012
Hainan Huangdenglongjiao				

* 此 SHU 指数根据 Collins 等 (1995) 的方法由 $8.37 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 换算而来。

* Means the SHU is converted from $8.37 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ according to the method of Collins et al., (1995) .

6 讨论

辣椒素类物质由辣椒素合成酶催化香草基胺和各种支链脂肪酸(9~11个碳原子)合成,参与编码辣椒素生物合成相关酶的基因超过50个(Mazourek et al., 2009)。目前已通过构建cDNA文库(Curry et al., 1999; Kim et al., 2001),转录组(Liu et al., 2013)和基因组测序(Kim et al., 2014; Qin et al., 2014)等途径获取了相关候选基因,并对*Pun1*(*CS*, *AT*)、*pAMT*、*KAS*和*HCT*等部分基因的功能,进化和多态性进行了研究(Reddy et al., 2014)。然而,辣椒素类物质的生物合成途径涉及多种中间产物和酶的参与,且辣椒素酯类物质的合成也与*pAMT*和*Pun1*有关(Lang et al., 2009; Han et al., 2013),全面研究相关基因或酶的作用和功能,对揭示不同辣椒素类物质和辣椒素酯类物质的合成和调控有重要意义(Aza-González et al., 2011)。

*Pun1*是目前研究较多的控制辣椒辣味有无的基因位点(Stewart et al., 2005),认为其编码酰基转移酶基因(*AT3*),是辣椒素合成酶(*CS*)的基因(Stewart et al., 2005; Lang et al., 2006; Kim et al., 2014)。*Pun1*在辣味辣椒胎座中特异表达(Stewart et al., 2005; Lang et al., 2006; Kim et al., 2014; Qin et al., 2014),但辣椒素酯类物质的有无与辣味基因*Pun1*的基因型共分离(Han et al., 2013),*PAL*和*KAS*的表达量在*Pun1*隐性突变体*pun1*¹中显著降低,而在*pun1*²中则保持不变,甚至升高。从而表明,*Pun1*不仅是控制辣椒素类和辣椒素酯类物质合成的关键基因,并可能反馈调节辣椒素类物质生物合成(Stewart et al., 2005)。

辣椒果实中辣椒素类物质含量的多少决定了辣味的强弱,呈数量遗传特征(Blum et al., 2003; Ben-Chaim et al., 2006)。Qin等(2014)发现,*AT3-D1*和*AT3-D2*在辣味辣椒果实辣椒素类物质合成阶段显著表达,但*AT3-D1*在无辣味辣椒中未检测到或者微量表达,*AT3-D2*在无辣味辣椒中的表达可能使其能产生微量的辣椒素和二氢辣椒素,从而说明*Pun1*位点上*AT3-D1*和*AT3-D2*的剂量补偿效应造成了辣椒辣味的强弱变化。Keyhaninejad等(2014)报道,与植物次级代谢相关的转录因子AP2/ERF家族中的*Erf*和*Jerf*基因在花后16~20 d辣椒素合成之前的果实发育早期表达,其表达量与辣椒素含量的高低相关,认为*Erf*和*Jerf*参与调控辣椒辣味的强弱。相关研究表明,辣椒素合成途径相关基因多态性以及植物次级代谢的转录因子等研究,有助于揭示辣椒辣味,即辣椒素含量高低的变化。

References

- Aluru M R, Mazourek M, Landry L G, Curry J, Jahn M M, O'Connell M A. 2003. Differential expression of fatty acid synthase genes, *Acl*, *Fat* and *Kas*, in *Capsicum* fruit. *J Exp Bot*, 54: 1655 - 1664.
- Aza-González C, Núñez-Palencia H G, Ochoa-Alejo N. 2011. Molecular biology of capsaicinoid biosynthesis in chili pepper (*Capsicum* spp.). *Plant Cell Reports*, 30 (5): 695 - 706.
- Ben-Chaim A, Borovsky Y, Falise M, Mazourek M, Kang B C, Paran I, Jahn M. 2006. QTL analysis for capsaicinoid content in *Capsicum*. *Theor Appl Genet*, 113: 1481 - 1490.
- Ben-Chaim A, Paran I, Grube R, Jahn M, van Wijk R, Peleman J. 2001. QTL mapping of fruit related traits in pepper (*Capsicum annuum*). *Theor Appl Genet*, 102: 1016 - 1028.
- Blum E, Liu K, Mazourek M, Yoo E Y, Jahn M M, Paran I. 2002. Molecular mapping of the *C* locus for presence of pungency in *Capsicum*. *Genome*, 45: 702 - 705.
- Blum E, Mazourek M, O'Connell M A, Curry J, Thorup T, Liu K, Jahn M M, Paran I. 2003. Molecular mapping of capsaicinoid biosynthesis genes and quantitative trait loci analysis for capsaicinoid content in *Capsicum*. *Theor Appl Genet*, 108: 79 - 86.
- Bosland P W, Baral J. 2007. 'Bhut Jolokia' - The world's hottest known chili pepper is a putative naturally occurring interspecific hybrid.

- HortScience, 42: 222 – 224.
- Bosland P W, Coon D, Reeves G. 2012. ‘Trinidad Moruga Scorpion’ pepper is the world’s hottest measured chile pepper at more than two million Scoville heat units. HortTechnology, 22 (4): 534 – 538.
- Bosland P W, Votava E J. 2012. Peppers: Vegetable and spice Capsicums. UK: CABI.
- Butcher J D, Crosby K M, Yoo K S, Patil B S, Jifon J L, Rooney W L. 2013. Heterosis in different F₁ *Capsicum annuum* genotypes for fruit traits, ascorbic acid, capsaicin, and flavonoids. Sci Hort, 159: 72 – 79.
- Caterina M J, Schumacher M A, Tominaga M, Rosen T A, Levine J D, Julius D. 1997. The capsaicin receptor: A heat-activated ion channel in the pain pathway. Nature, 389: 816 – 824.
- Chakradhar T, Reddy B P, Srinivas N, Reddy P. 2013. Identification and validation of an allele specific marker associated with pungency in *Capsicum* spp. Current Trends in Biotechnology and Pharmacy, 7 (1): 544 – 551.
- Collins M D, Wasmund L M, Bosland P W. 1995. Improved method for quantifying capsaicinoids in *Capsicum* using high-performance liquid chromatography. HortScience, 30: 137 – 139.
- Curry J, Aluru M, Mendoza M, Nevarez J, O’Connell M A. 1999. Transcripts for capsaicinoid biosynthetic genes are differentially accumulated in pungent and non-pungent *Capsicum* spp. Plant Sci, 148: 47 – 57.
- del Rosario Abraham-Juárez M, del Carmen Rocha-Granados M, López M G, Rivera-Bustamante R F, Ochoa-Alejo N. 2008. Virus-induced silencing of *Comt*, *pAmt* and *Kas* genes results in a reduction of capsaicinoid accumulation in chili pepper fruits. Planta, 227 (3): 681 – 695.
- Deng M H, Wen J F, Zhu H S, Zou X X. 2009. The hottest pepper variety in China. Genet Resour Crop Evol, 56: 605 – 608.
- Estrada B, Diaz J, Merino F, Bernal M A. 1999. The effect of seasonal changes on the pungency level of padron I pepper fruit. Capsicum and Eggplant Newsletter, 18: 28 – 31.
- Fraenkel L, Bogardus S T, Concato J, Wittink D R. 2004. Treatment options in knee osteoarthritis: The patient’s perspective. Archives of Internal Medicine, 164 (12): 1299 – 1304.
- Garcés-Claver A, Gil-Ortega R, Alvarez-Fernandez A, Arnedo-Andrés M. 2007a. Inheritance of capsaicin and dihydrocapsaicin, determined by HPLC-ESI/MS, in an intraspecific cross of *Capsicum annuum* L. J Agric Food Chem, 55: 6951 – 6957.
- Garcés-Claver A, Moore Fellman S, Gil Ortega R, Jahn M M, Arnedo-Andrés M S. 2007b. Identification, validation and genotyping of a single nucleotide polymorphism SNP associated with pungency in *Capsicum* spp. Theor Appl Genet, 115 (7): 907 – 916.
- Gurung T, Techawongstien S, Suriarn B, Techawongstien S. 2011. Impact of environments on the accumulation of capsaicinoids in *Capsicum* spp. HortScience, 46: 1 – 6.
- Gurung T, Techawongstien S, Suriarn B, Techawongstien S. 2012. Stability analysis of yield and capsaicinoids content in chilli (*Capsicums* pp.) grown across six environments. Euphytica, 187 (1): 11 – 18.
- Han K, Jeong H J, Sung J, Keum Y S, Cho M C, Kim J H, Kwon J K, Kim, B D, Kang B C. 2013. Biosynthesis of capsinoid is controlled by the *Pun1* locus in pepper. Mol Breeding, 31: 537 – 548.
- Harvell K, Bosland P W. 1997. The environment produces a significant effect on pungency of chiles. HortScience, 32: 1292.
- Jarret R L, Bolton J, Perkins L B. 2014. 509-45-1, a *Capsicum annuum* pepper germplasm containing high concentrations of capsinoids. HortScience, 49 (1): 107 – 108.
- Keyhaninejad N, Curry J, Romero J, O’Connell M A. 2014. Fruit specific variability in capsaicinoid accumulation and transcription of structural and regulatory genes in *Capsicum* fruit. Plant Sci, (215 – 216): 59 – 68.
- Kim M, Kim S, Kim S, Kim B D. 2001. Isolation of cDNA clones differentially accumulated in the placenta of pungent pepper by suppression subtractive hybridization. Mol Cells, 11: 213 – 219.
- Kim S, Park M, Yeom S I, Kim Y M, Lee J M, Lee H-A, Seo E, Choi J, Cheong K, Kim K T, Jung K, Lee G W, Oh S K, Bae C, Kim S B, Lee H-Y, Kim S Y, Kim M-S, Kang B C, Jo Y D, Yang H B, Jeong H J, Kang W-H, Kwon J K, Shin C, Lim J Y, Park J H, Huh J H, Kim J-S, Kim B D, Cohen O, Paran I, Suh M C, Lee S B, Kim Y-K, Shin Y, Noh S J, Park J, Seo Y S, Kwon S Y, Kim H A, Park J M, Kim H J, Choi S B, Bosland P W, Reeves G, Jo S-H, Lee B W, Cho H T, Choi H S, Lee M S, Yu Y, Choi Y Do, Park B, van Deynze A, Ashrafi H, Hill T, Kim W T, Pai H S, Ahn H K, Yeom I, Giovannoni J J, Rose J K C, Sørensen I, Lee S J, Kim R W, Choi I Y, Choi B-S, Lim J S, Lee Y H, Choi D. 2014. Genome sequence of the hot pepper provides insights into the evolution of

- pungency in *Capsicum* species. *Nat Genet*, 46: 270 – 278.
- Kobata K, Sutoh K, Todo T, Yazawa S, Iwai K, Watanabe T. 1999. Nordihydrocapsiate, a new capsinoid from the fruit of a nonpungent pepper, *Capsicum annuum*. *J Nat Prod*, 62: 335 – 336.
- Kobata K, Todo T, Yazawa S, Iwai K, Watanabe T. 1998. Novel capsaicinoid-like substances, capsiate and dihydrocapsiate, from the fruits of nonpungent cultivar, CH-19 Sweet, of pepper (*Capsicum annuum* L.). *J Agric Food Chem*, 46: 1695 – 1697.
- Kozukue N, Han J S, Kozukue E, Lee S J, Kim J A, Lee K R, Levin C E, Friedman M. 2005. Analysis of eight capsaicinoids in peppers and pepper-containing foods by high-performance liquid chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry. *J Agric Food Chem*, 53: 9172 – 9181.
- Lang Y, Kisaka H, Sugiyama R, Nomura K, Morita A, Watanabe T, Tanaka Y, Yazawa S, Miwa T. 2009. Functional loss of pAMT results in biosynthesis of capsinoids, capsaicinoid analogs, in *Capsicum annuum* cv. CH-19 Sweet. *Plant J*, 59: 953 – 961.
- Lang Y, Yanagawa S, Sasanuma T, Sasakuma T. 2006. A gene encoding a putative acyl-transferase involved in pungency of *Capsicum*. *Breeding Sci*, 56: 55 – 62.
- Lau J K, Brown K C, Dom A M, Witte T R, Thornhill B A, Crabtree C M, Perry H E, Brown J M, Ball J B, Creel R G, Damron C L, Rollyson W D, Stevenson C D, Hardman W E, Valentovic M A, Carpenter A B, Dasgupta P. 2014. Capsaicin induces apoptosis in human small cell lung cancer via the TRPV6 receptor and the calpain pathway. *Apoptosis*, 19: 1190 – 1201.
- Lee C J, Yoo E Y, Shin J H, Lee J, Hwang H S, Kim B D. 2005. Nonpungent *Capsicum* contains a deletion in the capsaicinoid synthetase gene, which allows early detection of pungency with SCAR markers. *Mol Cells*, 19: 262 – 267.
- Li Hai-long, Zhang Jun-qing, Lai Wei-yong, Fu Nai-guang, Tan Yin-feng. 2012. Determination of capsaicin in Huangdenglong pepper and different variety of *Capsicum*. *Chinese Wild Plant Resources*, 31 (4): 32 – 34. (in Chinese)
- 李海龙, 张俊清, 赖伟勇, 符乃光, 谭银丰. 2012. 海南黄灯笼椒与不同品种辣椒的辣椒素含量测定. *中国野生植物资源*, 31 (4): 32 – 34.
- Liu S, Li W, Wu Y, Chen C, Lei J. 2013. De Novo transcriptome assembly in chili pepper (*Capsicum frutescens*) to identify genes involved in the biosynthesis of capsaicinoids. *PLoS ONE*, 8 (1): e48156.
- Ludy M J, Moore G E, Mattes R D. 2012. The effects of capsaicin and capsiate on energy balance: Critical review and meta-analyses of studies in humans. *Chem Senses*, 37 (2): 103 – 121.
- Luo X J, Peng J, Li Y J. 2011. Recent advances in the study on capsaicinoids and capsinoids. *Eur J Pharmacol*, 650 (1): 1 – 7.
- Mathur R, Dangi R S, Das S C, Malhotra R C. 2000. The hottest chilli variety in India. *Curr Sci India*, 79: 287 – 288.
- Mazourek M, Pujar A, Borovsky Y, Paran I, Mueller L, Jahn M M. 2009. A dynamic interface for capsaicinoid systemsbiology. *Plant Physiol*, 150: 1806 – 1821.
- Minamiyama Y, Kinoshita S, Inaba K, Inoue M. 2005. Development of a cleaved amplified sequence (CAPS) marker linked to pungency in pepper. *Plant Breeding*, 124: 288 – 291.
- Paran I, Akler T, Jones G. 2010. QTLs for capsaicinoids content in *Capsicum* // Prohens J, Rodriguez-Burruezo A. *Advances in genetics and breeding of Capsicum and eggplant*. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia, 273 – 278.
- Phimchan P, Techawongstien S. 2012. Impact of drought stress on the accumulation of capsaicinoids in *Capsicum* cultivars with different initial capsaicinoid levels. *HortScience*, 47 (9): 1204 – 1209.
- Qin C, Yu C, Shen Y, Fang X, Chen L, Min J, Cheng J, Zhao S, Xu M, Luo Y, Yang Y, Wu Z, Mao L, Wu H, Ling-Hu C, Zhou H, Lin H, González-Morales S, Trejo-Saavedra D L, Tian H, Tang X, Zhao M, Huang Z, Zhou A, Yao X, Cui J, Li W, Chen Z, Feng Y, Niu Y, Bi S, Yang X, Li W, Cai H, Luo X, Montes-Hernández S, Leyva-González M A, Xiong Z, He X, Bai L, Tan S, Tang X, Liu D, Liu J, Zhang S, Chen M, Zhang L, Zhang L, Zhang Y, Liao W, Zhang Y, Wang M, Lv X, Wen B, Liu H, Luan H, Zhang Y, Yang S, Wang X, Xu J, Li X, Li S, Wang J, Palloix A, Bosland P W, Li Y, Krogh A, Rivera-Bustamante R F, Herrera-Estrella L, Yin Y, Yu J, Hu K, Zhang Z. 2014. Whole-genome sequencing of cultivated and wild peppers provides insights into *Capsicum* domestication and specialization. *P Natl Acad Sci USA*, 111: 5135 – 5140.
- Reddy U K, Almeida A, Abburi V L, Alaparthy S B, Unselt D, Hankins G, Park M, Choi D, Nimmakayala P. 2014. Identification of gene-specific polymorphisms and association with capsaicin pathway metabolites in *Capsicum annuum* L. collections. *PLoS ONE*, 9 (1): e86393.
- Ribeiro A, da Costa C P. 1990. Inheritance of pungency in *Capsicum chinense* Jacq. (Solanaceae). *Rev Brasil Genet*, 13: 815 – 823.

- Rodríguez-Maza M J, Garcés-Claver A, Park S W, Kang B C, Arnedo-Andrés M S. 2012. A versatile PCR marker for pungency in *Capsicum* spp. *Mol Breeding*, 30 (2): 889 – 898.
- Ruan Wen-yuan, Jia Cheng-guo, Li Yan-lei, Guo Qing-xun. 2011. Cloning and expression of *Kas* gene related to capsaicin biosynthesis in *Capsicum annuum* L. *Journal of Northeast Agricultural University*, 42 (1): 103 – 108. (in Chinese)
- 阮文渊, 贾承国, 李彦磊, 郭庆勋. 2011. 辣椒中辣椒素生物合成途径基因*Kas*克隆及表达研究. *东北农业大学学报*, 42 (1): 103 – 108
- Stellari G M, Mazourek M, Jahn M M. 2010. Contrasting modes for loss of pungency between cultivated and wild species of *Capsicum*. *Heredity*, 104: 460 – 471.
- Stewart C J, Kang B C, Liu K, Mazourek M, Moore S L, Yoo E Y, Kim B D, Paran I, Jahn M M. 2005. The *Pun1* gene for pungency in pepper encodes a putative acyltransferase. *Plant J*, 42: 675 – 688.
- Stewart C Jr, Mazourek M, Stellari G M, O'Connell M, Jahn M. 2007. Genetic control of pungency in *C. chinense* via the *Pun1* locus. *J Exp Bot*, 58: 979 – 991.
- Sugita T, Kinoshita T, Kawano T, Yuji K, Yamaguchi K, Nagata R, Shimizu A, Chen L, Kawasaki S, Todoroki A. 2005. Rapid construction of a linkage map using high-efficiency genome scanning/AFLP and RAPD, based on an intraspecific, doubled-haploid population of *Capsicum annuum*. *Breeding Sci*, 55: 287 – 295.
- Tanaka Y, Hosokawa M, Miwa T, Watanabe T, Yazawa S. 2010a. Newly mutated putative-aminotransferase in nonpungent pepper (*Capsicum annuum*) results in biosynthesis of capsinoids, capsaicinoid analogues. *J Agric Food Chem*, 58: 1761 – 1767.
- Tanaka Y, Hosokawa M, Miwa T, Watanabe T, Yazawa S. 2010b. Novel loss-of-function putative aminotransferase alleles cause biosynthesis of capsinoids, nonpungent capsaicinoid analogues, in mildly pungent chili peppers (*Capsicum chinense*). *J Agric Food Chem*, 58: 11762 – 11767.
- Tanaka Y, Yoneda H, Hosokawa M, Miwa T, Yazawa S. 2014. Application of marker-assisted selection in breeding of a new fresh pepper cultivar (*Capsicum annuum*) containing capsinoids, low-pungent capsaicinoid analogs. *Sci Hortic*, 165: 242 – 245.
- Tanksley S D, Bernatzky R, Lapitan N L, Prince J P. 1988. Conservation of gene repertoire but not gene order in pepper and tomato. *P Natl Acad Sci USA*, 85: 6419 – 6423.
- Truong H T H, Kim K T, Kim S, Kim H R, Cho M C, Woo J G. 2009. Development of gene-based markers for the *Pun1* pungency gene in pepper (*Capsicum* spp.) for marker assisted selection. *Hortic Environ Biotechnol*, 50: 358 – 365.
- Votava E J, Bosland P W. 2002. Novel sources of non-pungency in *Capsicum* species. *Capsicum and Eggplant Newsletter*, 21: 66 – 68.
- Whiting S, Derbyshire E J, Tiwari B. 2014. Could capsaicinoids help to support weight management? A systematic review and meta-analysis of energy intake data. *Appetite*, 73: 183 – 188.
- Wyatt L E, Eannetta N T, Stellari G M, Mazourek M. 2012. Development and application of a suite of non-pungency markers for the *Pun1* gene in pepper (*Capsicum* spp.). *Mol Breeding*, 30: 1525 – 1529.
- Yarnes S C, Ashrafi H, Reyes-Chin-Wo S, Hill T A, Stoffel K M, Van Deynze A, Gulick P. 2013. Identification of QTLs for capsaicinoids, fruit quality, and plant architecture-related traits in an interspecific *Capsicum* RIL population. *Genome*, 56 (1): 61 – 74.
- Yazawa S, Suetome N, Okamoto K, Namiki T. 1989. Content of capsaicinoids and capsaicinoid-like substances in fruit of pepper (*Capsicum annuum* L.) hybrids made with 'CH-19 Sweet' as a parent. *J Jpn Soc Hort Sci*, 58: 601 – 607.
- Zewdie Y, Bosland P W. 2000a. Capsaicinoid inheritance in an interspecific hybridization of *Capsicum annuum* × *C. chinense*. *J Am Soc Hortic Sci*, 125: 448 – 453.
- Zewdie Y, Bosland P W. 2000b. Evaluation of genotype, environment, and genotype-by-environment interaction for capsaicinoids in *Capsicum annuum* L. *Euphytica*, 111: 185 – 190.
- Zewdie Y, Bosland P W. 2000c. Pungency of chile (*Capsicum annuum* L.) is affected by node position. *HortScience*, 35: 1174.
- Zhong Hui, Sun Ling-qiang, Mu Qi-yun, Chu Jin-ping, Liu Jian-ping. 2013. Different types of dried chilies spiciness assessment and hybridizing genetic analysis. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 29 (22): 114 – 119. (in Chinese)
- 仲 辉, 孙令强, 牟其芸, 楚金萍, 刘建萍. 2013. 不同类型干制辣椒辣度评估及辣度杂优遗传分析. *中国农学通报*, 29 (22): 114 – 119.