

## 朝天椒辣椒素含量及辣椒表型与亲代相关性分析

毛丹<sup>1,2</sup>, 梁芳芳<sup>3\*</sup>, 孙朝霞<sup>4</sup>, 赵鹏飞<sup>1</sup> (1.河南鼎优农业科技有限公司, 河南郑州 450015; 2.河南省种子站, 河南郑州 450015; 3.河南农业职业学院, 河南中牟 451450; 4.河南红绿辣椒种业有限公司, 河南郑州 450004)

**摘要** 选用朝天椒品系 A1、B173 这 2 份材料的 F<sub>2</sub> 代群体, 运用 SSR 构建辣椒分子连锁图谱, 进行辣椒素、二氢辣椒素含量的 QTL 分析。结果表明, F<sub>2</sub> 个体的辣椒素含量和二氢辣椒素含量的变异范围超出亲本的范围, 为辣椒素和二氢辣椒素的 QTL 性状分子标记筛选提供了较好的遗传基础。利用筛选出来的 62 对 SSR 标记对群体 DNA 进行遗传分析, 共检测到 2 个辣椒素 QTL 位点, 3 个二氢辣椒素 QTL 位点; 将 10 个连锁群与辣椒染色体进行了对应, 以上 5 个 QTL 位点可能均位于 2 号染色体上。该研究对朝天椒辣椒素含量的遗传控制和分子标记辅助选择具有重要意义。

**关键词** 朝天椒; 辣椒素; 二氢辣椒素; 数量性状位点

中图分类号 S641.3 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)04-0048-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.04.015



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

### Capsaicin Content and Phenotype of Correlation Analysis with *Capsicum annuum* Parents

MAO Dan<sup>1,2</sup>, LIANG Fang-fang<sup>3</sup>, SUN Chao-xia<sup>4</sup> et al (1. Henan Dingyou Agricultural Technology Co., Ltd., Zhengzhou, Henan 450015; 2. Henan Seed Station, Zhengzhou, Henan 450015; 3. Henan Vocational College of Agriculture, Zhongmu, Henan 451450; 4. Henan Red and Green Pepper Seed Industry, Zhengzhou, Henan 450004)

**Abstract** In this experiment, F<sub>2</sub> populations of pepper strains A1 and B173 were selected to construct pepper molecular linkage map by SSR, and QTL analysis of capsaicin and dihydrocapsaicin content was carried out. The results showed that the variation range of capsaicin and dihydrocapsaicin content in F<sub>2</sub> individuals were beyond the range of parents. It provided a good genetic basis for molecular marker screening of capsaicin and dihydrocapsaicin trait QTL. The 62 pairs of SSR markers were used for genetic analysis of population DNA. A total of 2 capsaicin QTL loci and 3 dihydrocapsaicin QTL loci were detected. Five QTL locus related to capsaicin and dihydrocapsaicin content were detected on P2 chromosomes. The results will be of great significance for the genetic control of capsaicin content and molecular marker assisted selection.

**Key words** *Capsicum frutescens*; Capsaicin; Dihydrocapsaicin; QTL (Quantitative Trait Loci)

辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 为茄科 (Solanaceae) 辣椒属 (*Capsicum*) 作物, 目前在世界范围内都是主要的经济作物, 特别是在中国和韩国<sup>[1-3]</sup>。朝天椒 (*Capsicum frutescens*) 是辣椒变种, 常作一年生栽培。与辣味相关的辣椒素类物质有辣椒素 (capsaicin)、二氢辣椒素 (dihydrocapsaicin)、高辣椒素、高二氢辣椒素和降二氢辣椒素 5 类<sup>[4]</sup>。辣椒素和二氢辣椒素是起主要作用的辣椒素, 提供了约 90% 的辣感和热感, 约占总量的 90%<sup>[5-6]</sup>。辣椒素 (capsaicin) 具有预防心血管疾病和消化道疾病、减肥等药理作用<sup>[7-11]</sup>。Kim 等<sup>[12]</sup> 研究证明辣椒素能改变细胞相关基因的表达。笔者选用朝天椒品系 A1、B173 这 2 份材料的 F<sub>2</sub> 代群体, 运用 SSR 构建辣椒分子连锁图谱, 进行辣椒素、二氢辣椒素含量的 QTL 分析, 以期检测辣椒素 QTL 位点和二氢辣椒素 QTL 位点, 明确辣椒素含量及辣椒表型与亲代相关性, 为加快高辣朝天椒新品种培育提供理论基础。

## 1 材料与方法

**1.1 试验材料** 2019 年 4 月和 5 月, 以朝天椒品系 A1 为父本、品系 B173 为母本配制杂交组合, 2020 年获得 F<sub>1</sub> 单株, 进一步自交产生 F<sub>2</sub>, 2021 年种植 F<sub>2</sub> 分离群体, 同时种植亲本朝天椒品系 A1、B173 和 F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 分离群体共 76 个单株。2019—

2021 年所有试验材料均种植在河南农业职业学院高新科技园试验基地。苗期取样提取基因组 DNA; 果实青熟时采集果实测定辣椒素和二氢辣椒素含量。

**1.2 辣椒素和二氢辣椒素的测定** 利用超高效液相色谱 (UPLC) 测定朝天椒辣椒素和二氢辣椒素含量。

### 1.3 辣椒素含量的 QTL 定位

**1.3.1 基因组 DNA 的提取。** 苗期取辣椒品系 A1、B173、F<sub>1</sub> 和 F<sub>2</sub> 分离群体的幼嫩真叶, F<sub>2</sub> 分离群体按单株取样。DNA 提取方法采用 CTAB 法<sup>[13]</sup>。

**1.3.2 SSR 标记引物。** 利用 300 对均匀分布在辣椒染色体上的 SSR 引物对辣椒亲本进行多样性筛选<sup>[14-17]</sup>。SSR 标记的 PCR 反应采用 25 μL 反应体系, 包括 20 ng 总 DNA、0.2 mmol/L dNTP、0.5 U Taq DNA 聚合酶、2 mmol/L Mg<sup>2+</sup> (10×buffer)、正向和反向引物各 0.33 μmol/L。SSR 标记反应程序: 94 °C 预变性 3 min; 94 °C 30 s, 50 °C 30 s, 72 °C 1 min, 35 次循环; 72 °C 延伸 10 min。PCR 反应产物用 10% 变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳, 电泳缓冲液为 1 倍 TBE, 180 V 恒压电泳 1.0~1.5 h。

**1.3.3 聚丙烯酰胺凝胶电泳和银染显色。** 参考 Mimura 聚丙烯酰胺凝胶电泳和银染显色<sup>[17]</sup>。

**1.3.4 遗传连锁图谱构建和 QTL 定位。** 筛选在父母本间表现多态的 SSR 标记; 利用获得的多态性引物分析 F<sub>2</sub> 群体各单株基因型; 将筛选到的亲本和 F<sub>2</sub> 群体中多态性标记数据导入软件进行分析并构建遗传连锁图<sup>[18]</sup>。采用 Kosambi 函数计算遗传距离, 利用软件区间作图法进行 QTL 定位。

**基金项目** 郑州市第四批“智慧郑州”1125 聚才计划人才团队“朝天椒抗病优质基因资源挖掘及杂交优势利用”(郑政预[2019]673 号); 河南农业职业学院科研创新人才项目 (HNACS-RHR-2021-05)。

**作者简介** 毛丹 (1975—), 男, 河南许昌人, 高级农艺师, 硕士, 从事农作物试验与示范研究。\* 通信作者, 副教授, 硕士, 从事蔬菜教学和研究。

**收稿日期** 2021-12-22; **修回日期** 2021-12-27

## 2 结果与分析

**2.1 标准曲线** 由图 1 和图 2 可知,辣椒素的回归方程为  $Y=10^6 X-568.73, R^2=0.9978$ , 二氢辣椒素的回归方程为  $Y=6386890X+2962.65, R^2=0.9989$ , 表明辣椒素和二氢辣椒素在 0.01~1.00 mg/mL 线性关系良好, 即峰面积与进样量有良好的线性关系。

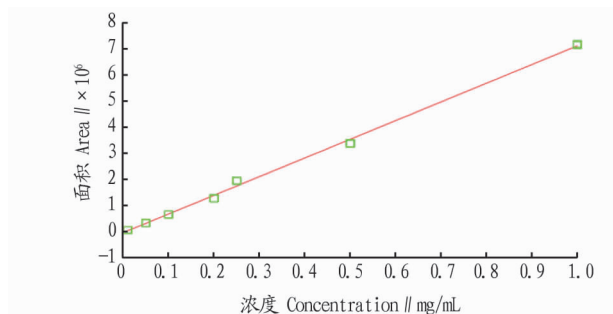


图 1 辣椒素标准曲线

Fig.1 Standard curve of capsaicin

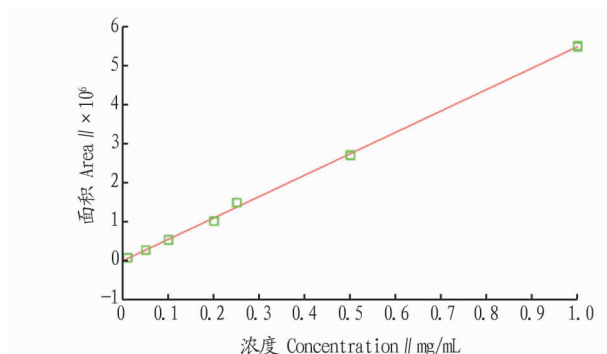


图 2 二氢辣椒素标准曲线

Fig.2 Standard curve of dihydrocapsaicin

量,对  $F_2$  个体的辣椒素和二氢辣椒素含量分析表明,其性状的变异范围超出了亲本的范围(表 1),说明控制这 2 个性状的增效基因和减效基因在双亲中是分散的,这为辣椒素和二氢辣椒素性状 QTL 的分子标记筛选提供了较好的遗传基础。 $F_2$  群体的辣椒素和二氢辣椒素含量均表现出超亲分离现象,适合 QTL 的定位分析。

**2.2 辣椒素和二氢辣椒素含量** 取亲本、杂交  $F_1$  和  $F_2$  分离群体的辣椒样品,测定峰面积,计算辣椒素和二氢辣椒素含

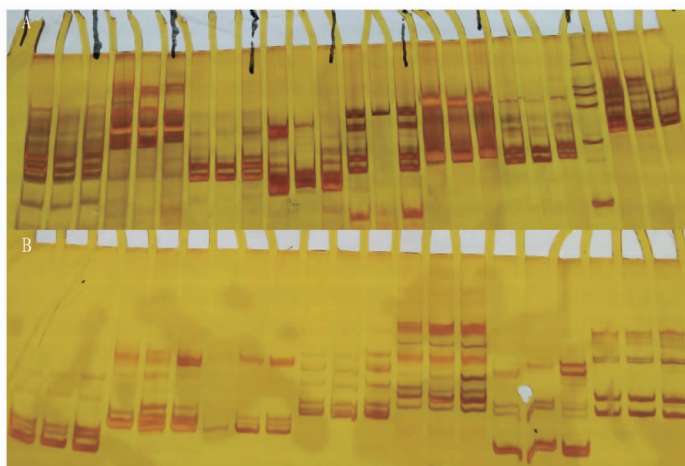
表 1  $F_2$  分离群体及亲本辣椒素和二氢辣椒素含量分析

Table 1 Phenotypic analysis of capsaicin and dihydrocapsaicin content in  $F_2$  isolated population and its parents

成分 Component	亲本 Parent		$F_2$		
	$P_1$ (母本)	$P_2$ (父本)	群体变幅 Group variation	平均值 Average value	标准差 Standard deviation
辣椒素 Capsaicin	2.159	1.893	1.50~2.49	1.758 4	0.230 5
二氢辣椒素 Dihydrocapsaicin	1.663	1.740	1.40~2.52	1.625 9	0.190 0

**2.3 标记的筛选** 利用已公布的 300 对 SSR 引物对两亲本辣椒品系 A1、品系 B173 及其  $F_1$  进行差异引物筛选,在两亲

本间有差异的引物共有 62 对,占有用于扩增引物的 20.67%(图 3)。



注:在每对引物中的扩增顺序均为父本 A1、母本 B173、 $F_1$ 。A. 从左向右 SSR 引物顺序依次为 Hpms<sub>1</sub>-3、Hpms<sub>1</sub>-5、Hpms<sub>1</sub>-41、Hpms<sub>1</sub>-43、Hpms<sub>1</sub>-62、Hpms<sub>1</sub>-69、Hpms<sub>1</sub>-117、Hpms<sub>1</sub>-139, 其中第 22 个泳道为 Marker DL2000。B. 从左向右 SSR 引物顺序依次为 CAEMS009、CAMS066、CAMS452、CAMS368、CAEMS073、EPMS310、CAMS117

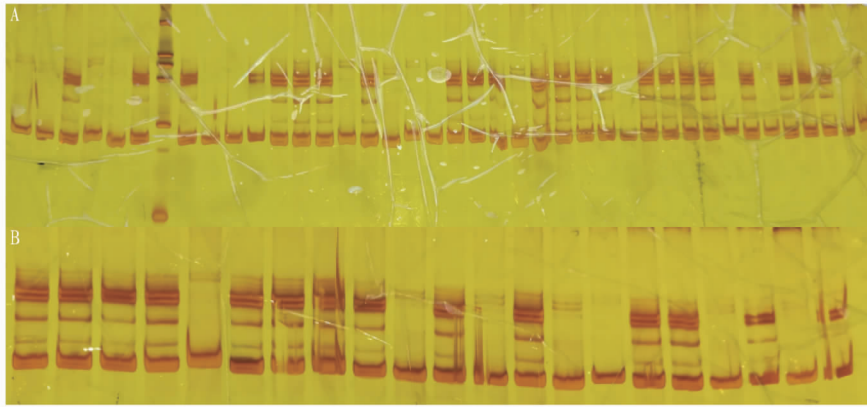
Note: The amplification sequence of each pair of primers is male parent A1, female parent B173 and  $F_1$ . A. The sequence of SSR primers from left to right is Hpms<sub>1</sub>-3, Hpms<sub>1</sub>-5, Hpms<sub>1</sub>-41, Hpms<sub>1</sub>-43, Hpms<sub>1</sub>-62, Hpms<sub>1</sub>-69, Hpms<sub>1</sub>-117 and Hpms<sub>1</sub>-139, of which the 22nd lane is marker DL2000. B. The sequence of SSR primers from left to right is CAEMS009, CAMS066, CAMS452, CAMS368, CAEMS073, EPMS310, CAMS117

图 3 8 对 SSR 引物在父本 A1、母本 B173 和  $F_1$  中的扩增结果

Fig.3 Amplification results of 8 pairs of SSR primers in male parent A1, female parent B173 and  $F_1$

**2.4 群体分析、图谱构建 QTL 位点的定位分析** 利用筛选出来的 62 对 SSR 标记对群体 DNA 进行遗传分析(图 4),对多态性标记位点的分离比例与孟德尔理论分离比例 3:1(完全显性)和 1:2:1(共显性)进行了  $\chi^2$  测验,有 9 对引物表现偏分离,其余均符合孟德尔分离比例。采用 JionMap 4.0 对

标记统计数据进行遗传连锁性分析,构建了由 10 个连锁群构成的遗传连锁图谱,其上共有 65 个 SSR 标记。共检测到 2 个辣椒素 QTL 位点,3 个二氢辣椒素 QTL 位点。参照辣椒遗传连锁图谱,将 10 个连锁群与辣椒染色体进行了对应,以上 5 个 QTL 位点可能均位于 2 号染色体上。



注:A.从左向右第 1~3 个泳道分别为父本 A1、母本 B173 和杂交  $F_1$ ,第 7 个泳道为 Marker DL2000;A 上的其余泳道包括所有 B 均为  $F_2$  群体中的部分单株扩增

Note:A.The 1st-3rd lanes from left to right are male parent A1,female parent B173 and hybrid  $F_1$  respectively,and the 7th Lane is Marker DL2000.The remaining lanes on A,including all B,are part of the single plant amplification in the  $F_2$  population

图 4 引物 Hpms<sub>1</sub>-43 在部分  $F_2$  群体中的扩增图

Fig.4 Amplification of primer Hpms<sub>1</sub>-43 in some  $F_2$  populations

### 3 结论与讨论

通过采集青熟时果实,对亲本朝天椒品系 A1、B173 和  $F_1$ 、 $F_2$  分离群体的辣椒素和二氢辣椒素含量进行分析,结果表明, $F_2$  群体的辣椒素和二氢辣椒素含量均表现出超亲分离现象,适合 QTL 的定位分析。利用已公布的 300 对 SSR 引物对两亲本朝天椒品系 A1、品系 B173 及其  $F_1$  进行差异引物筛选,在两亲本间有差异的引物共有 62 对,占有用于扩增引物的 20.67%。利用筛选出来的 62 对 SSR 标记对群体 DNA 进行遗传分析,对多态性标记位点的分离比例与孟德尔理论分离比例 3:1(完全显性)和 1:2:1(共显性)进行了  $\chi^2$  测验,有 9 对引物表现偏分离,其余均符合孟德尔分离比例。偏分离位点的发现、标记定位和遗传效应研究都需要有高密度的分子遗传图谱为基础,目前绝大多数重要植物上开展了遗传作图<sup>[19]</sup>。构建了由 10 个连锁群构成的遗传连锁图谱,其上共有 65 个 SSR 标记。共检测到 2 个辣椒素 QTL 位点,3 个二氢辣椒素 QTL 位点。参照辣椒遗传连锁图谱,将 10 个连锁群与辣椒染色体进行了对应,以上 5 个 QTL 位点可能均位于 2 号染色体上。5 个 QTL 位点的发现,初步明确了辣椒素含量及辣椒表型与亲代相关性,为加快高辣朝天椒新品种培育提供理论基础。

#### 参考文献

[1] CHEN C M,HAO X F,CHEN G J,et al.Characterization of a new male sterility-related gene *Camf1* in *Capsicum annuum* L.[J].Molecular biology reports,2011,39(1):737-744.  
[2] 邹学校,张竹青,陈文超,等.辣椒果实性状的遗传分析[J].西北植物学报,2007,27(3):497-501.  
[3] 刘辰,马宁,付楠,等.辣椒 GMS 育性相关候选基因的克隆及表达分析[J].中国农业科学,2014,47(16):3264-3276.

[4] KORKUTATA N F,KAVAZ A.A comparative study of ascorbic acid and capsaicinoid contents in red hot peppers (*Capsicum annuum* L.) grown in Southeastern Anatolia Region[J].International journal of food properties,2015,18(4):725-734.  
[5] USMAN M G,RAFII M Y,ISMAIL M R,et al.Capsaicin and dihydrocapsaicin determination in chili pepper genotypes using ultra-fast liquid chromatography[J].Molecules,2014,19(5):6474-6488.  
[6] WU S X,ZENG J M,XIE H,et al.Capsaicin determination and chili sauce discrimination using low-cost and portable electrochemical sensors based on all graphite pencil electrodes[J].Analytical methods,2016,8(39):7025-7029.  
[7] MAIHÖFNER C,SCHMELZ M,FORSTER C,et al.Neural activation during experimental allodynia: A functional magnetic resonance imaging study [J].European journal of neuroscience,2004,19(12):3211-3218.  
[8] KEMPAIAH R K,MANJUNATHA H,SRINIVASAN K.Protective effect of dietary capsaicin on induced oxidation of low-density lipoprotein in rats [J].Molecular and cellular biochemistry,2005,275(1/2):7-13.  
[9] KATAGIRI F,INOUE S,SATO Y,et al.Ecabet sodium raises plasma levels of calcitonin gene-related peptide and substance P in healthy humans[J].Journal of pharmacy and pharmacology,2010,57(6):799-805.  
[10] BARTNESS T J,SONG C K,SHI H F,et al.Brain-adipose tissue cross talk[J].Proceedings of the nutrition society,2005,64(1):53-64.  
[11] 姜越君,刘素纯,李佳莲,等.辣椒素的生理功能及提取研究进展[J].安徽农业科学,2009,37(31):15426-15428.  
[12] KIM J D,KIM J M,PYO J O,et al.Capsaicin can alter the expression of tumor forming-related genes which might be followed by induction of apoptosis of a Korean stomach cancer cell line,SNU-1[J].Cancer letters,1997,120(2):235-241.  
[13] KUMAR S,RAI M.Chile in India[J].Theoretical and applied genetics,2005,75:224-228.  
[14] LEE J M,NAHM S H,KIM Y M,et al.Characterization and molecular genetic mapping of microsatellite loci in pepper[J].Theoretical and applied genetics,2004,108(4):619-627.  
[15] YI G,LEE J M,LEE S,et al.Exploitation of pepper EST-SSRs and an SSR-based linkage map [J].Theoretical and applied genetics,2006,114(1):113-130.

区的实际情况出发,制定出适合国家公园体制创建的法律和相关制度来规范国家公园建设,这也是实现美丽中国建设的基本途径。同时,构建科学合理的法律规划和政策来创建渝东北三峡库区国家公园体制实现自然资源的有效利用。结合渝东北三峡库区的自然资源优势发展生态旅游,既保证了自然资源的原真性和完整性,又带动了当地经济的发展,也达到了人与自然和谐相处的目的。

随着国家公园体制试点工作在全国范围内的有序推进,为渝东北三峡库区国家公园体制的建设打下了基础。借鉴成果试点地区国家公园法律制度规划经验,结合渝东北三峡库区的实际状况,制定适合的法规和政策。

**3.2.2 监管部门统一规范化管理。**为了避免权责不清、重复建设、交叉管理,需要理顺渝东北三峡库区各监管部门的关系,深化自然生态保护管理体制,建设保护优先、适度开发的国家公园体制。《建立国家公园体制总体方案》中指出相关部门要依法对规划进行管理监督,十九大报告提出要对设立专门的机构监管自然生态,生态环境部就承担了此项任务。渝东北三峡库区各生态环境局应该通过采取各种制度,如完善规划检查制度、工作报告制度和严格的考核制度来约束各区(县)监管部门,以防止权力没有用到位。保护地管理问题之中,部门间严重的割裂性和碎片化是渝东北三峡库区国家公园体制管理的当务之急。渝东北三峡库区创建国家公园体制应探索多块牌子整合归并,明确界限,实行统一管理的体制机制,使得管理制度更加明确化、规范化、法律化。

**3.3 万众众创共分享** 国家公园的性质决定了其“全民发展、全民共享”的特征。在我国生态环境建设过程中,公众参与还相对较少。但是全民参与却越来越被认为是环境政策启动、实施和完善的一个重要组成部分。通过建立健全公众参与体系,提高公众参与能力是渝东北三峡库区创建国家公园体制的一项重要工作。

**3.3.1 赋予公众参与国家公园建设的法律权利。**想要促进渝东北地区公众参与的积极性,形成公众的普遍意愿和志向,就必须向大家明确自己与国家公园的关系,包括公众参与的义务和责任以及应当享受的权利。许多国家也都通过制定相关的法律法规让公民享有合法的环境知情权,参与环境事务决策权和环境诉讼参与权。在英国,《最高法院法》《环境信息条例》和《信息自由法案》中都有明确规定公民参与环境建设的合法权利,这对解决环境治理与保护的过程中

有效发挥公众的积极性、主动性,弥补政府以及各部门在处理环境问题的不足上发挥着举足轻重的作用<sup>[9]</sup>。因此,渝东北三峡库区在国家公园体制的创建中探索科学、有效的公众参与机制是非常必要的,这能有效地确保公众的知情权与参与权,发挥公众的主体作用。通过赋予公众参与国家公园建设的法律权利,使公众参与国家公园的管理具有合法性并不断探索完善相关的体制机制,实现保护与利用双赢的局面。

**3.3.2 保证利益主体深度参与创建。**创建国家公园是一项十分复杂而艰巨的任务,仅靠国家政府的力量是不够的,社会利益主体作为国家公园的受益群体,首先得是利益的建设者,在渝东北国家公园的建立、规划、保护、管理和运行等环节都应积极主动地参与进去<sup>[10]</sup>。

渝东北生态涵养发展区现有常住人口约 800 万,广泛的群众基础需要国家和政府极力引导,促使利益主体参与到建设中去。在这一过程中,可以鼓励公益性组织和相关利益主体参与其建设和管理,从而最大限度地发挥利益主体的积极性,进而确保渝东北三峡库区在国家公园体制建设中能有效发挥各方的作用。在渝东北三峡库区国家公园体制建设的过程中,充分吸收利益主体的意见和建议,通过多元参与、充分讨论、利益平衡等程序,审慎地展开实施步骤,是创建符合渝东北人民利益的国家公园的重要保证。

## 参考文献

- [1] 方世南.习近平生态文明思想的永续发展观研究[J].马克思主义与现实,2019(2):15-20.
  - [2] 孙金龙.中华民族永续发展的千年大计[J].人民周刊,2020(13):68-70.
  - [3] 习近平.习近平谈治国理政:第三卷[M].北京:外文出版社,2020.
  - [4] 国务院.国务院关于实施西部大开发若干政策措施的通知:国发[2000]33号[A/OL].(2000-10-26)[2000-01-07].http://www.gov.cn/gongbao/content/2001/content\_60854.htm.
  - [5] 钟林生,肖练练.中国国家公园体制试点建设路径选择与研究议题[J].资源科学,2017,39(1):1-10.
  - [6] 习近平.决胜全面建成小康社会夺取新时代中国特色社会主义伟大胜利[M].北京:人民出版社,2017.
  - [7] 13个部门印发《建立国家公园体制试点方案》[EB/OL].(2015-05-20)[2015-05-20].http://www.occn.com.cn/chanye/201505/wotpy20085416.shtml.
  - [8] 中共中央关于坚持和完善中国特色社会主义制度 推进国家治理体系和治理能力现代化若干重大问题的决定[J].支部建设,2019(34):10-23.
  - [9] 唐芳林,王梦君.国外经验对我国建立国家公园体制的启示[J].环境保护,2015,43(14):45-50.
  - [10] 彭琳,杜春兰.面向规划管理的国外国家公园监测体系研究及启示:以美国、加拿大、英国为例[J].中国园林,2019,35(8):39-44.
- (上接第 50 页)
- [16] MINAMIYAMA Y, TSURO M, HIRAI M. An SSR-based linkage map of *Capsicum annuum* [J]. Molecular breeding, 2006, 18(2): 157-169.
  - [17] MIMURA Y, INOUE T, MINAMIYAMA Y, et al. An SSR-based genetic map of pepper (*Capsicum annuum* L.) serves as an anchor for the alignment of major pepper maps [J]. Breeding science, 2012, 62(1): 93-98.
  - [18] VAN OOIJEN J W. JoinMap 4: Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations [M]. Wageningen, Netherlands: Kyazma BV, 2006.
  - [19] 宋完亮, 孙学振, 张天真. 偏分离及对植物遗传作图的影响 [J]. 农业生物技术学报, 2006, 14(2): 286-292.