

# 辣椒不育系 3198A 雄性不育性状的遗传分析

邵元健<sup>1,2</sup>, 吴雯雯<sup>1,2</sup>

(1. 南通科技职业学院, 江苏 南通 226007; 2. 南通市农业生物技术重点实验室, 江苏 南通 226007)

**摘要:**辣椒(*Capsicum annuum* L.)是我国第二大蔬菜作物,而雄性不育性状是辣椒杂交种选育中最重要的性状之一。该研究利用辣椒不育系 3198A 和恢复系 3414-3-5 的杂交后代  $F_2$  分离群体 249 个植株,在观察花药形态的基础上,对花粉育性的分离情况进行了遗传分析。结果表明:不育系、恢复系、保持系三者的花药形态存在明显的差异,不育系的花药瘦小无花粉,恢复系、保持系的花药大而饱满,成熟花粉中充满淀粉粒; $F_2$  代花粉育性分离结果表明,辣椒雄性不育系 3198A 的雄性不育性状受到 3 对隐性核基因的控制,且存在光温敏不育基因。该研究结果将有助于进一步研究辣椒光温敏雄性不育的遗传特性,分离并选育出光温敏不育系,加速辣椒杂交种的推出。

**关键词:**辣椒;核雄性不育;光温敏

**中图分类号:**S 641.303.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)15-0027-04

辣椒是我国第二大蔬菜作物,自 20 世纪 80 年代以来,我国已选育出各种不同类型的辣椒新品种,辣椒产区的主栽品种已更新 3~4 次,对提高我国辣椒单产和改进品质起了重要的作用。其中,辣椒雄性不育系在杂交种的选配中已得到广泛的应用<sup>[1-11]</sup>。

1951 年, MARTIN 等<sup>[12]</sup>首次发现了隐性单基因控制的辣椒核不育材料。至今,辣椒上已发现近 20 个核不育基因<sup>[12]</sup>。其中,只有不育基因 *Dms* 是显性核基因,其余均为隐性基因,表现为无花粉和花粉败育 2 种类型<sup>[13-17]</sup>。同时,研究发现不育材料的花粉育性表现各有不同。DASKALOV<sup>[18-20]</sup> 和 POCHARD<sup>[21]</sup> 利用 X 射线处理干种子,研究发现 5 个隐性核不育基因(*ms3*、*ms4*、*ms6*、*ms7*、*ms8*)。在低温下,不育株会产生正常花粉,表现温敏特性。POCHARD<sup>[21]</sup>、MESHAM 等<sup>[22-23]</sup> 和 PATHAK 等<sup>[24]</sup> 先后发现多个不育基因,多数表现为完全不育。另外, KIM 等<sup>[25]</sup> 在线粒体中发现 *atp6* 基因与花粉育性有关。

我国首次报道辣椒雄性不育材料的是杨世周<sup>[26]</sup>,至

今已发现 3 个隐性核不育基因。杨凤梅等<sup>[27]</sup> 发现天然雄性不育突变体受单隐性基因 *msc1* 控制;而范妍芹等<sup>[28]</sup> 从甜椒中发现天然不育株 AB91,其花粉育性由隐性核不育基因 *msc2* 控制;袁俊水等<sup>[29]</sup> 在湖南农家品种“伏地尖”自交系 235 后代中发现 1 个功能性雄性不育株 235A,受 1 对隐性核基因(*fms*)控制,表现为花冠退化、大部分雄蕊萎缩、没有花丝、花药发育不完整、花萼畸长紧闭、不能开花等功能性缺陷。

该研究利用所发现的辣椒不育系及其配套的保持系和恢复系,构建了不育系和恢复系的  $F_2$  分离群体,重点在高温长日照和低温短日照 2 个阶段的对花粉育性的分离情况进行了调查和遗传分析,旨在了解其对遗传特性及不育的稳定性,从而为其在生产上的应用提供技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

$F_2$  分离群体来自杂交组合 3198-1A(雄性不育系)与 3414-3-5(恢复系)。其中,3198-1A 是从南通启东市干辣椒地方品种混杂群体中选育出的雄性半不育株,再经与雄性不育保持系连续回交后选育而成;3414-3-5 是经测交筛选育成的雄性不育恢复系。试验采用基质盆栽(花盆直径 35 cm、高度 40 cm),水肥按常规方法管理。

### 1.2 试验方法

1.2.1 育性调查 花粉育性调查分别在长日高温(7—8

**第一作者简介:**邵元健(1969-),男,博士,教授,现主要从事瓜果分子育种等研究工作。E-mail:173482429@qq.com.

**基金项目:**南通市科技创新与产业化资助项目(HL2013019);江苏省农业科技支撑计划资助项目(BE2011380);江苏高校品牌专业建设工程资助项目(PPZY2015B174)。

**收稿日期:**2016-04-19

月)和短日低温下(9月23—29日)2个主要时段内,于10:00—12:00时段内选取刚开裂的花,每株3朵,每朵取1~2个花药进行镜检,用I-KI溶液染色,每朵花随机选取3个视野,对不育花粉和可育花粉计数,并计算可育花粉的百分率。花药形态观察:取当天即将开花的花观察花药形态(大小、饱满程度等)。

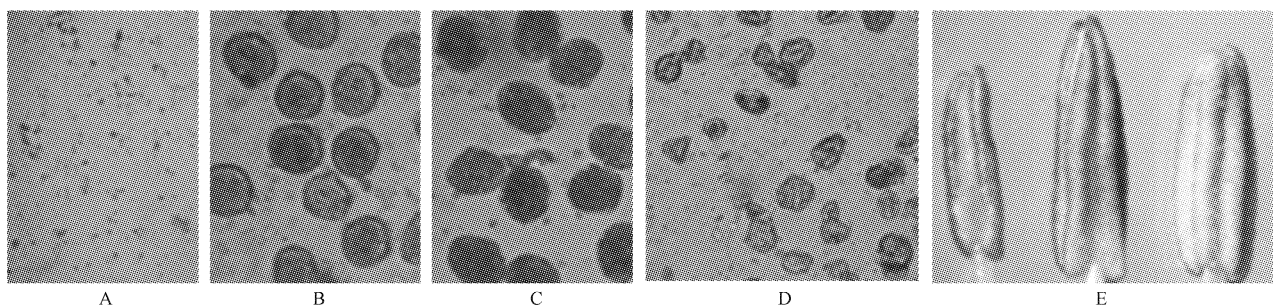
1.2.2 2次结实处理 为在第2阶段能有花可供观察,在第1次开花结实后,每株保留4~5个较大的辣椒果实,将其余果实和花蕾全部摘去,可以促进营养生长和下一批花的形成。

1.2.3  $F_3$  后裔株系鉴定 根据不同时段下育性鉴定的结果,将 $F_2$ 群体中不育株分别处理留种,不育稳定的植株与保持系杂交留种,育性恢复的不育株套袋自交留种,翌年分别种成株系对花粉育性进行后裔鉴定,花粉育性鉴定方法同 $F_2$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 三系雄性器官形态特性比较

雄性不育系、保持系、恢复系及分离世代中半不育株在花药形态、花粉形态、染色情况等方面存在明显的差异(图1)。从花粉形态和染色情况看(图1A~D),雄性不育系的花药内无花粉粒,镜检呈现黄色透明(图1A);保持系与恢复系的花粉圆形、大小正常、染色深,花粉粒中充满淀粉(图1B、C);在分离群体中,除出现三系一样的花粉类型植株外,部分不育植株的花粉多数小或呈三角形、染色浅或透明、无明显淀粉充实(图1D)。从花药形态上看(图1E),不育系(图1E左)的花药短而瘦,平均长度2.2 cm左右;保持系(图1E中)的花药大而饱满,平均长度3.1 cm左右;恢复系(图1E右)的花药中等大小且饱满,长度处于二者之间。



注:A.不育系;B.保持系;C.恢复系;D.分离群体中低育株花粉;E.三系花药大小比较图;不育系(左),保持系(中),恢复系(右)。

Note: A, pollens of sterile line; B, pollens of maintainer line; C, pollens of restorer line; D, pollens of semi-fertility plants in segregation population; E, morphology of anther; the anther of sterile line (left), the anther of maintainer line (middle), the anther of restorer line (right).

图1 辣椒花粉及花药形态比较

Fig. 1 Morphology of anther and pollen in pepper

### 2.2 花粉育性的分离特性

2.2.1  $F_2$  代花粉育性的分离特性 由图2可以看出, $F_2$ 群体花粉育性出现明显分离,在不同温光条件下,花粉育性均存在明显的遗传分离,又呈现连续分布的特点,表明花粉育性既受到主基因的控制,同时又受到环境和或微效多基因的影响。另外,对比不同时期的花粉育性分离情况(图2A、B),7—8月花粉育性分离有3个

明显的分离峰,而9月下旬以后,花粉育性在不育区和可育区有2个明显的峰,半不育区域变得平坦,不育和半不育类型的植株数明显减少,而可育植株数明显增多,说明花粉育性受到光温条件的调节,花粉育性得到了不同程度的恢复。其中,29株不育类型中有13株花粉育性出现恢复,16株仍然表现不育;半不育类型总株数减少68株;可育类型株数增加81株(表1)。

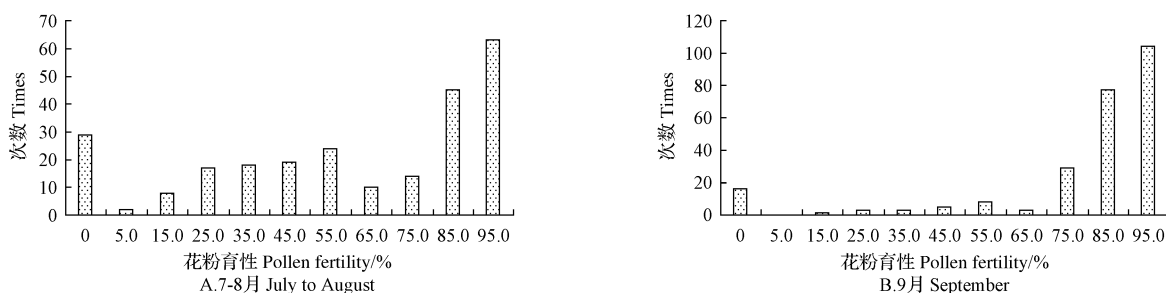


图2  $F_2$  代花粉育性次数分布

Fig. 2 Frequency distribution of pollen fertility of pepper in  $F_2$  population

表 1

F<sub>2</sub> 花粉育性次数分布

Table 1

Frequency distribution of pollen fertility of pepper in F<sub>2</sub> population

7—8 月 July to August				9 月 23 日后 After September 23th			
组	组中值	次数	总	组	组中值	次数	总
Group	Group midpoint	Frequency	Total	Group	Group midpoint	Frequency	Total
0.0	0.0	29	29	0.0	0.0	16	16
0.0~10.0	5.0	2	88	0.0~10.0	5.0	0	20
10.0~20.0	15.0	8		10.0~20.0	15.0	1	
20.0~30.0	25.0	17		20.0~30.0	25.0	3	
30.0~40.0	35.0	18		30.0~40.0	35.0	3	
40.0~50.0	45.0	19		40.0~50.0	45.0	5	
50.0~60.0	55.0	24	132	50.0~60.0	55.0	8	213
60.0~70.0	65.0	10		60.0~70.0	65.0	3	
70.0~80.0	75.0	14		70.0~80.0	75.0	29	
80.0~90.0	85.0	45		80.0~90.0	85.0	77	
90.0~100.0	95.0	63		90.0~100.0	95.0	104	
合计	—	249	249	合计	—	249	249

2.2.2 不育株 F<sub>3</sub> 后裔育性分离鉴定 对 F<sub>2</sub> 代 29 株不育株形成的 29 个株系进行花粉育性鉴定,发现在 7—8 月和 9 月 2 个时段内,16 个株系的花粉育性与其 F<sub>2</sub> 表现一致,稳定表现不育,没有出现育性分离;有 13 个株系在 7—8 月花粉表现不育,而在 9 月花粉育性出现恢复现象,与 F<sub>2</sub> 代表现一致。

2.2.3 花粉育性遗传分离分析 由图 2 A 可以看出,7—8 月花粉育性分布有 3 个明显的分离峰。将花粉育性为 0%、0~60%和大于 60%的植株分别划分为不育组、半不育组和可育组,3 组植株数经卡方测验符合 3 对基因控制的遗传分离比例(可育组:半不育组:不育组=132:88:29≈36:21:7,  $\chi^2=1.064$ ,  $P=0.587$ )(表 1)。从图 2 B 可以看出,9 月 23 日后,花粉育性分布在不育区和可育区有 2 个明显的峰,而半不育区域变得平坦。可育组、半不育组和不育组植株数经卡方测验不符合 9 月 23 日前的 36:21:7 的分离比例(可育组:半不育组:不育组=213:20:16≈36:21:7,  $\chi^2=89.215$ ,  $P=0.000$ )。

### 3 讨论

3.1 花粉雄性不育受到主基因的控制,同时表现一定的光温特性和遗传复杂性。

F<sub>2</sub> 代的育性分离结果表明,辣椒雄性不育系 3198A 的雄性不育性状受到 3 对隐性主基因的控制,且从 2 个不同光温时期的育性分离结果可推断存在光温敏主基因。但 7—8 月花粉育性实际分离比例与理论比例经卡方测验符合 3 对基因控制的分离比例,而 9 月 23 日后育性实际分离比例与理论比例差异显著。原因可能是 9 月 23 日后,光温敏不育基因功能恢复后,育性基因之间

的相互作用方式可能发生了变化。其实质有待通过后裔鉴定、或通过构建等基因系、或基因定位后,可进一步研究基因之间的互作效应。

### 3.2 育性转换的临界温度和临界光照时长

辣椒虽然属于短日照植物,但对光照长短要求并不严格,在南通地区 6—9 月均可开花结实,而其最适生长温度在 15~28℃。该研究发现,不育材料在 9 月 23 日后出现育性恢复现象,而在此阶段光照和温度正好也都有明显的变化。因此,该研究只能初步判断花粉育性受到温光的影响,尚不能分辨出雄性不育是光敏型、温敏型、还是光温敏互作型 SSSS 要研究雄性不育的类型,需要通过人工气候室设计温、光不同条件进行研究,找到育性转换的准确光温临界点,并区分出其属于光敏、温敏、光温敏互作等不同类型。

(致谢:试验材料由南通科技职业学院沈素香老师提供,特此感谢。)

### 参考文献

- [1] 邹学校,周群初,戴雄泽,等.辣椒雄性不育系 9704A 的选育[J]. 湖南农业科学,2000(5):39-40.
- [2] 刘金兵,孙洁波,王述彬,等.中熟辣椒新品种江蔬 3 号的选育[J]. 中国辣椒,2001(2):26-27.
- [3] 常绍东,黄贞,黄邦海,等.早熟辣椒新品种辣优 2 号的选育[J]. 中国蔬菜,2002(1):22-23.
- [4] 范妍芹,刘云.甜椒雄性不育两用系一代杂种‘冀研 6 号’[J]. 园艺学报,2002,29(3):101.
- [5] 耿三省,梁红军.优质出口型干鲜两用辣椒新品种-京辣 2 号[J]. 蔬菜,2007(11):16-17.
- [6] 杨凤梅,薛庆华,杨高强,等.辣椒三系杂种沈研 13 号选育[J]. 辣椒杂志,2008(2):13-14.
- [7] 范妍芹,刘云,严立斌,等.利用雄性不育系育成大果型甜椒新品种



‘冀研 12 号’[J]. 园艺学报, 2009, 36(12): 1845-1846.

[8] 朱卯芬, 刘童光, 戴祖云, 等. 辣椒雄性不育三系品种安辣 6 号的选育[J]. 中国瓜菜, 2009(1): 20-21.

[9] 耿三省, 陈斌, 张晓芬, 等. 我国辣椒育种动态及市场品种分布概况[J]. 辣椒杂志, 2011(3): 5-8, 13.

[10] 刘玲, 李显日, 王广华, 等. 国内辣椒雄性不育育种及分子生物学研究进展[J]. 生物技术进展, 2011, 1(4): 254-259.

[11] 薛玉梅, 薛庆华, 杨高强. 早熟、优质干椒三系杂交种沈研 16 号的选育[J]. 吉林蔬菜, 2011(2): 77-78.

[12] MARTIN J A, CRAWFORD J H. Several types of sterility in *Capsicum frutescens*[J]. Proc Amer Soc Hort Sci, 1951, 57: 335-338.

[13] 邵元健, 吴雯雯, 沈素香, 等. 辣椒雄性核不育基因的遗传研究及其在杂交育种中的应用[J]. 热带亚热带植物学报, 2013, 21(1): 93-99.

[14] DASKALOV S, POULOS J M. Updated capsicum gene list[J]. Caps and Eggp Newsl, 1994(13): 16-26.

[15] SHIFRISS C. Additional spontaneous male sterile mutant in *Capsicum annuum* L. [J]. Euphytica, 1973, 22: 527-529.

[16] SHIFRISS C, FRANKEL R. A new male sterility gene in *C. annuum* L. [J]. J Amer Soc Hort Sci, 1969, 94: 385-387.

[17] SHIFRISS C, RYLSKI I. A male sterile (*ms-2*) gene in California wonder pepper[J]. Hort Sci, 1972, 7(1): 36.

[18] DASKALOV S. A male sterile (*Capsicum annuum* L.) mutant[J]. Theor Appl Genet, 1968, 38: 370-372.

[19] DASKALOV S. Two new male sterile mutants by pepper (*C. annuum*) [J]. C R Acad Sci Agr Bulg, 1971(4): 291-294.

[20] DASKALOV S. Investigation of induced mutants in *Capsicum annuum* L. III. Mutants in the variety Zlaten Medal[J]. Genet Plant Breeding, 1973 (6): 419-429.

[21] POCHARD E. Induction of three male sterility mutations in red pepper

(*C. annuum* L.) by mutagenic treatment of monoploid material[M]. In: La sterility male chez les plantes hort, EUCARPIA, 1970: 93-95.

[22] MESHRAM L D, CHOUDHARI R V, KUKADE B Y, et al. Functional male sterility in hot chilli (*Capsicum annuum* L.) [C]. Proc 8th Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding on Capsicum and Eggplant, Rome, Italy, 1992: 7-10 Deppt, 61-65.

[23] MESHRAM L D, NARKHEDE M N. Natural male sterile mutant in hot chilli[J]. Euphytica, 1982, 31: 1003-1005.

[24] PATHAK C S, SINGH D P, DESHPANDE A A. Male and female sterility in chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. Capsicum Newsl, 1983(2): 95-96.

[25] KIM H, KIM B D. The organization of mitochondrial *atp6* gene region in male fertile and CMS lines of pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. Curr Genet, 2006, 49: 59-67.

[26] 杨世周. 辣椒雄性不育两用系的选育[J]. 园艺学报, 1981, 8(3): 49-53.

[27] 杨凤梅, 杨世周, 姜恩国, 等. 辣椒 AB92 雄性不育两用系选育及利用[J]. 辽宁农业科学, 1994(6): 15-18.

[28] 范妍芹, 郭景印. 甜椒雄性不育系选育初报[J]. 华北农学报, 1994 (9): 14.

[29] 袁俊水, 李锁平. 一个辣椒功能性雄性不育系的花器形态及遗传研究[J]. 遗传, 2000, 22(1): 29-30.

[30] GRZEGORZ B, CEZARY W, PIOTR G, et al. Mapping of the *ms8* male sterility gene in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) on the chromosome P4 using PCR-based markers useful for breeding programmes[J]. Euphytica, 2012, 186: 453-461.

[31] LEE J, HAN J H, AN C G, et al. A CAPS marker linked to a genic male-sterile gene in the colored sweet pepper, ‘Paprika’ (*Capsicum annuum* L.) [J]. Breed Sci, 2010, 60: 93-98.

## Genetic Analysis on Pollen Fertility of a Male Sterility Line 3198A in Pepper

SHAO Yuanjian<sup>1,2</sup>, WU Wenwen<sup>1,2</sup>

(1. Nantong Science and Technology College, Nantong, Jiangsu 226007; 2. Nantong Key Laboratory of Agricultural Biotechnology, Nantong, Jiangsu 226007)

**Abstract:** Pepper (*Capsicum annuum* L.) is the second important vegetable in China. Male sterility is one of the most important traits in hybrid pepper breeding. In this study, the anther morphology of three lines, sterile line, maintainer line and restorer line were observed. And genetic analysis of the separation of pollen fertility was conducted in a  $F_2$  population with 249 lines derived from the cross between 9108A (a sterile line) and 3414-3-5 (a restorer line). Significant difference of anther morphology was observed among three lines. The anther of sterile line was small and shrunken with no pollen, whereas the anther of maintainer line and restorer line was bigger with abundant pollens and the matured pollens were full of starch. In addition, based on the analysis of the ratio of fertility segregation in  $F_2$  population, three genic recessive genes were responsible for the male sterile, of them, a photo-thermo sensitive gene existed. The observations would facilitate the further study on the photo-thermo sensitive characteristics, to isolate and select PTGMS breeding lines, and thereby to accelerate the breeding process of pepper hybrids.

**Keywords:** pepper (*Capsicum annuum* L.); genic male sterility; photo-thermo sensitive