

云南地方辣椒品种涮辣和雀辣的植物学分类

顾晓振¹, 郑宇峰², 张正海¹, 曹亚从¹, 张宝玺¹, 李锡香¹, 王立浩¹

(¹ 中国农业科学院蔬菜花卉研究所/农业部蔬菜遗传与生理开放实验室, 北京 100081; ² 云南省德宏州农业科学研究所, 德宏 678400)

摘要: 涮辣和雀辣是我国云南地区有特色的两个地方品种。本文分别基于园艺性状和 90 份不同类型的辣椒资源利用均匀覆盖 12 条染色体的 29 个 SSR 标记进行聚类分析。研究表明, 园艺性状以及分子水平上涮辣归属于中国辣椒 (*C. chinense*), 雀辣更倾向归属于灌木辣椒 (*C. frutescens*)。

关键词: 植物学分类; 园艺性状; 遗传结构; 进化树

The Botanical Classification of Local Pepper Varieties ‘Shuan La’ and ‘Que La’ in Yunnan

GU Xiao-zhen¹, ZHENG Yu-feng², ZHANG Zheng-hai¹, CAO Ya-cong¹,
ZHANG Bao-xi¹, LI Xi-xiang¹, WANG Li-hao¹

(¹ Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Vegetable Genetics and Physiology, Ministry of Agriculture, Beijing 100081;

² Dehong Institute of Agricultural Sciences, Dehong Yunnan 678400)

Abstract: Based on 90 accessions of pepper genetic germplasms, phylogenetic analysis of ‘Shuan La’ and ‘Que La’ was carried out using genetic structure and molecular clustering based on 29 SSR makers evenly distributed over 12 chromosomes and using horticultural characters. The results showed that ‘Shuan La’ belongs to *C. chinense* and ‘Que La’ belongs to *C. frutescens* in botanical classification.

Key words: botanical classification; horticultural characters; genetic structure; dendrogram

辣椒又名辣子、海椒、秦椒等, 属于茄科 (*Solanaceae*) 辣椒属 (*Capsicum*) 植物。辣椒的历史最早可以追溯到公元前 6500 ~ 5000 年, 在墨西哥中部拉瓦堪溪谷的遗迹中发现了一年生辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 的种子; 在秘鲁海岸地区遗迹中, 也发现了 2000 年前下垂辣椒 (*C. baccatum*) 的栽培类型种子^[1]; 灌木辣椒 (*C. frutescens*) 的起源中心也在秘鲁海岸地区, 距今已有 3000 多年的历史^[2]。学术界比较一致认为, 5 个栽培种主要起源 3 个地理中心: 一年生辣椒的初级起源中心是墨西哥, 次级起源中心是危地马拉; 中国辣椒 (*C. chinense* Jacq.) 和灌木辣椒的初

级起源中心是亚马逊河流域; 下垂辣椒和茸毛辣椒 (*C. pubescens*) 的初级起源中心是秘鲁和玻利维亚^[3]。

辣椒传入我国后, 形成了十分丰富的地方品种, 其中以一年生辣椒为主, 还有少数其他种。我国云南由于其地形地貌类型复杂, 往往同一地区形成不同气候带, 因此分布有十分丰富的植物种质资源, 也是我国辣椒种质资源最丰富的省份之一^[4]。涮辣和雀辣是云南地方特色品种。涮辣分布于云南省的德宏、保山、西双版纳等亚热带山区, 由于其独特的辣味, 深受当地消费者的喜爱, 据报道涮辣是我国最辣的辣椒^[5]。雀辣主要分布在云南宁洱县的黎明

收稿日期: 2015-09-18 修回日期: 2015-10-11 网络出版日期: 2016-08-12

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20160812.1316.026.html>

基金项目: 公益研究所基金 (ICSCAAS1610032011011); 国家“863”项目 (2012AA100103002); 中国农业科学院科技创新工程 (CAAS-ASTIP-IVF-CAAS); 农业部大宗蔬菜技术产业体系 (CARS-25)

第一作者研究方向为辣椒遗传育种, E-mail: nkyljktz@163.com; 郑宇峰为共同第一作者

通信作者: 王立浩, 研究方向为辣椒遗传育种。E-mail: wanglihao@caas.cn

乡、猛野江流域以及磨黑镇的把边江等地区。因果实细小,主要靠鸟类食后排除粪便传播,而得名“小雀辣”^[6]。雀辣在云南主要作为辣椒加工产品的原料。之前有文献报道称涮辣属于灌木状辣椒(*Cap-sicum frutescens* L.)^[7],但分类证据不足。关于雀辣的植物学分类研究还没有相关报道,因此明确涮辣和雀辣的植物学分类十分必要。

本文基于园艺性状和分子标记对涮辣和雀辣的植物学分类进行研究,结果将有利于涮辣和雀辣的认识和利用,同时有利于我国辣椒资源进化和分布的研究。

表 1 90 份辣椒资源信息表

Table 1 The information of 90 pepper germplasm

编号 Code	名称 Name	种 Species	编号 Code	名称 Name	种 Species
1	上海圆椒	<i>C. annuum</i>	45	0818	<i>C. annuum</i>
3	83-163	<i>C. annuum</i>	47	12Q97	<i>C. annuum</i>
4	14SP179	<i>C. annuum</i>	48	9870MN	<i>C. annuum</i>
5	14QR07	<i>C. annuum</i>	49	耐湿椒	<i>C. annuum</i>
6	PM568 Quadrattod' AstiResso	<i>C. annuum</i>	50	伏地尖	<i>C. annuum</i>
7	12CR17	<i>C. annuum</i>	51	猪大肠	<i>C. annuum</i>
8	13CR08	<i>C. annuum</i>	52	11CR32	<i>C. annuum</i>
9	0513	<i>C. annuum</i>	54	11CR33	<i>C. annuum</i>
10	0512	<i>C. annuum</i>	58	Bisbas	<i>C. annuum</i>
11	2007021	<i>C. annuum</i>	59	Ac 1979	<i>C. annuum</i>
12	2007024F6	<i>C. annuum</i>	60	南京早椒	<i>C. annuum</i>
13	0601M	<i>C. annuum</i>	63	益都红	<i>C. annuum</i>
14	13CR12	<i>C. annuum</i>	64	丘北辣椒	<i>C. annuum</i>
15	20081-3	<i>C. annuum</i>	66	Numex R-NakY	<i>C. annuum</i>
16	0516	<i>C. annuum</i>	67	Pimentd' Espelette	<i>C. annuum</i>
19	14Q01	<i>C. annuum</i>	68	鸡泽椒	<i>C. annuum</i>
20	14SP203	<i>C. annuum</i>	69	MS 冀 BC4-3S4	<i>C. annuum</i>
21	KLS	<i>C. annuum</i>	70	子弹头	<i>C. annuum</i>
22	14SP152	<i>C. annuum</i>	71	新辣 2	<i>C. annuum</i>
23	10CR09	<i>C. annuum</i>	72	二金条	<i>C. annuum</i>
24	小马赛	<i>C. annuum</i>	73	Jade Green	<i>C. annuum</i>
25	法国长灯笼	<i>C. annuum</i>	74	蓉椒 2 号	<i>C. annuum</i>
27	98-42-4-2	<i>C. annuum</i>	75	2006073	<i>C. annuum</i>
36	200221	<i>C. annuum</i>	76	07L118	<i>C. annuum</i>
37	09CR21	<i>C. annuum</i>	115	H3	<i>C. annuum</i>
38	茄门	<i>C. annuum</i>	116	Carolina Wonder	<i>C. annuum</i>
39	TOM4	<i>C. annuum</i>	117	DH330	<i>C. annuum</i>
40	7714	<i>C. annuum</i>	123	PBC446	<i>C. annuum</i>
41	吉林三号	<i>C. annuum</i>	124	12S492	<i>C. annuum</i>
42	丹东柿椒	<i>C. annuum</i>	150	CM334	<i>C. annuum</i>
43	易门皱皮辣	<i>C. annuum</i>	151	RP4	<i>C. annuum</i>

1 材料与方法

1.1 试验材料

涮辣、雀辣材料各 1 份,分别引自云南德宏和普洱,其他供试材料为 88 份(表 1),其中 *C. annuum* 71 份(本课题组)、*C. chinese* 6 份、*C. baccatum* 2 份、*C. pubesens* 2 份、*C. frutescens* 3 份,以及 4 个野生种 *C. cadenasii*、*C. galapagoense*、*C. chacoense*、*C. eximium* 各 1 份(法国农科院,Alain Palloix 博士提供),于 2015 年 3 月定植于中国农业科学院蔬菜花卉研究所南圃场温室,详细信息见表 1。

表 1(续)

编号 Code	名称 Name	种 Species	编号 Code	名称 Name	种 Species
152	perennial	<i>C. annuum</i>	189	PM1265 CHA2	<i>C. chacoense</i>
172	2014056	<i>C. Chinense</i>	190	PM1372 EXI2	<i>C. eximium</i>
173	2014057	<i>C. Chinense</i>	191	PM1780 Maras1	<i>C. annuum</i>
174	2014058	<i>C. Chinense</i>	192	PM1533 Anu7	<i>C. annuum</i>
175	2014059	<i>C. Chinense</i>	193	PM799 Nori3	<i>C. annuum</i>
178	2014062	<i>C. Chinense</i>	194	PM568 Quadrattod [†] AstiResso	<i>C. annuum</i>
179	2014063	<i>C. baceatom</i>	195	PM1788 Ongoy	<i>C. pulescense</i>
180	2014064	<i>C. frutescens</i>	196	涮辣	未知
182	2014066	<i>C. frutescens</i>	197	PBC932	<i>C. Chinense</i>
184	PM1188 CAR2	<i>C. cadenasii</i>	198	12Q17	<i>C. annuum</i>
185	PM1445 ToM4	<i>C. annuum</i>	199	14Q04	<i>C. annuum</i>
186	PM441 MIC1	<i>C. baccatum</i>	200	83-58	<i>C. annuum</i>
187	PM1547 Sicuani1	<i>C. pulescens</i>	837	小米辣	<i>C. frutescens</i>
188	PM1171 GALI	<i>C. galapagoense</i>	841	雀辣	未知

1.2 园艺性状分类方法

涮辣和雀辣园艺性状调查参照国际植物遗传资源委员会(IBPGR)分类系统^[8],分别调查2份材料的花、果实、种子的性状。

1.3 分子分型分类方法

1.3.1 SSR 标记 29个分布于12条染色体的多态性SSR分子标记^[9,10-12],将正向引物的5'端分别用fam、hex、tamar和rox荧光进行标记。引物由上海Sangon公司合成。

取3~5片真叶期的叶片,用CTAB法提取基因组DNA^[13]。1%琼脂糖凝胶电泳检测基因组DNA的提取结果,Biospec-nano微量分光光度计检测浓度和质量。

以DNA为模板进行PCR扩增。PCR反应体系为10 μL:DNA模板3 μL(50 ng/μL),2×GoTaqR-Colorless Master Mix 5 μL,正向引物(10 μmol/L)0.25 μL,反向引物(10 μmol/L)0.25 μL,灭菌ddH₂O 1.5 μL。PCR反应程序:94℃预变性3 min;94℃变性30 s,55℃退火30 s,72℃延伸30 s,共35个循环;72℃延伸10 min;16℃保存。

将PCR产物进行稀释,吸取1 μL,加入8 μL甲酰胺(含有1% Liz500),95℃变性5 min,取出后冰浴5 min。用ABI3130XL基因分析仪进行荧光检测。

1.3.2 群体结构分析方法 原始数据使用Gene-Mapper4.0软件进行分析,获得不同材料的目标片

段长度。利用Structure V2.3^[14]预测和分析群体结构,群体数目(K)设定为1~10,将MCMC(Markov Chain Monte Carlo)开始时的不作数迭代(length of burn-in period)和不作数迭代后的MCMC迭代均设为100000次,重复运行3次。

1.3.3 进化树构建方法 利用PowerMarker V2.5^[15]软件,采用C. S. Chord1967方法(Cavalli-sforzaetal., 1967)计算遗传距离。采用UPGMA方法在MEGA中构建分子进化树。

2 结果与分析

2.1 涮辣与雀辣的园艺性状分类

涮辣花较小,每个开花节上花常双生,有时三至数朵簇生,花冠黄白色,花梗偏斜,花朵呈下垂状,花萼绿色,花柱白色,柱头较高高出花药。其果实俯垂呈锥形,果面粗糙有棱沟并有疙瘩状突起,绿熟果呈现绿色,生理成熟呈现鲜红色,果实辣味极强并带有芳香,种子量较少(图1)。

雀辣生长周期是一年或多年生。花单生,青熟果呈乳白色,果实成熟后鲜红,风味独特,具有特香、特小、特脆、特辣等4个特点。雀辣区别于涮辣最显著的特点是果柄基部有环状突起,果柄与花冠形成明显角度,花冠绿白色,花梗直立,花瓣常外卷(图2)。

根据其主要园艺性状(表2),对照国际植物遗传资源委员会(IBPGR)分类系统,涮辣在园艺性状上倾向于*C. Chinense*,而雀辣倾向属于*C. frutescens*。



A:花;B:果实
A: Flower, B: Fruit
图 1 涮辣的花和果实

Fig. 1 The flower and fruit of ‘Shuan La’



A:花;B:果实
A: Flower, B: Fruit
图 2 雀辣的花和果实

Fig. 2 The flower and fruit of ‘Que La’

2.2 群体遗传结构分析

为了解雀辣和涮辣在基因组水平上的遗传背景,本研究利用 29 个多态性 SSR 分子标记对 90 份辣椒材料进行了群体遗传结构分析。

本试验材料除雀辣和涮辣 2 份材料外,其余材料的种名信息都已经明确。当 K =9,试验材料分为 9 个群体,STRUCTURE 软件能将遗传差异较大的种间材料进行区分(图 3)。*C. annuum* 包含 3 个亚群,即亚群 3、亚群 6 和亚群 7;亚群 1 包括 4 份材料,其中有 3 份材料属于 *C. frutescens*,雀辣也在这一

表 2 涮辣、雀辣园艺性状表
Table 2 The horticultural characters of ‘Shuan La’ and ‘Que La’

名称	园艺性状
Name	Horticultural characters
涮辣	①种子棕黄色
	②每个节位上花常三至数朵簇生
	③花冠黄白色
	④花梗俯垂
	⑤果柄基部有缢痕
	⑥果面粗糙有棱沟并有疙瘩状突起
	⑦果实辣味极强并带有芳香
雀辣	①种子棕黄色
	②花柄与花冠呈明显锐角
	③花冠绿白色,花瓣常外卷
	④花梗直立
	⑤果柄基部有环状突起
	⑥果实成熟后细小鲜红

亚群当中;亚群 2 包括 7 份材料,涮辣也归于这一类群,其余 6 份材料属于 *C. chinense*;亚群 4 含有 1 份材料,属于 *C. eximium*;亚群 5 包括 3 份材料,其中有 2 份材料是 *C. baccatum*,1 份材料是野生种 *C. chacoense*;亚群 8 包括紫花野生种 *C. cadenasii* 材料 1 份和 *C. pubesens* 材料 2 份;亚群 9 含 1 份材料属于 *C. galapagoense*。

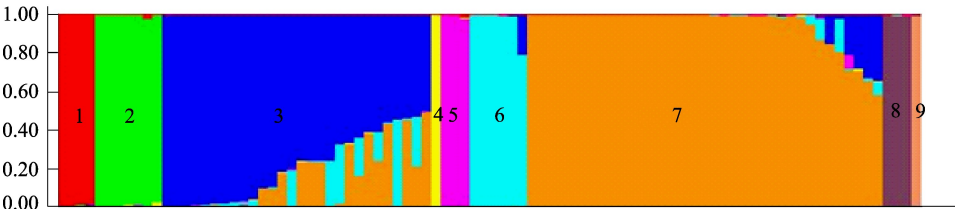


图 3 Structure 分析得到的 9 个亚群
Fig. 3 Nine clusters inferred by Structure analysis

从图中可以看出,亚群 3、6、7 与其他 6 个亚群相比,其遗传背景混杂,即存在亚群间类型材料。野生种 *C. cadenasii* 与 *C. pubesens* 归为一组,是由于其亲缘关系较近,都属于辣椒的紫花组,正反交具有亲和性。涮辣与 *C. chinense* 品种材料归于一组,说明涮辣在遗传构成上属于 *C. chinense*;而雀辣与灌木状辣椒材料归于一组,说明雀辣在遗传构成上更倾向于 *C. frutescens*。

2.3 分子标记的聚类分析

基于 29 个多态性 SSR 标记,将 90 份辣椒材料用 UPGMA 法构建进化树(图 4),在遗传距离为 0.1 处将其分为 10 个类群。第 I 类群只有 1 份辣椒材料为 189 号,属于 *C. chacoense*。第 II 类群含有 1 份材料为 188 号,属于 *C. galapagoense*。这 2 份材料都为野生种,在遗传距离小于 0.1 时聚为一类,说明其

亲缘关系较其他栽培种和野生种更近。第 III 类群含有 4 份材料,编号为 180、182、837 和 841 号(雀辣),其中前 3 份材料都属于 *C. frutescens*,可见雀辣在分子水平上属于 *C. frutescens*。第 IV 类群包含 7 份辣椒材料,编号 196 号的涮辣包含在这一类中,其余 6 份材料都为 *C. Chinense*,可见在分子水平上,涮辣与 *C. Chinense* 中的材料亲缘关系最近。第 V 类群包含 2 份材料都属于 *C. baceatom*。第 VI 类群包含 1 份材料为 190 号,属于野生种 *C. eximium*,在遗传距离小于 0.07 时,其与 *C. pubesens* 中的辣椒材料聚为一类,说明该野生种与 *C. pubesens* 亲缘关系较近,都为紫花族。第 VII 类群包含 2 份材料属于 *C. pubesens*。第 VIII 类群包含 1 份材料属于野生种 *C. cadenasii*。第 IX 类群和第 X 类群都是一年生辣椒品种(*Capsicum annum*)。

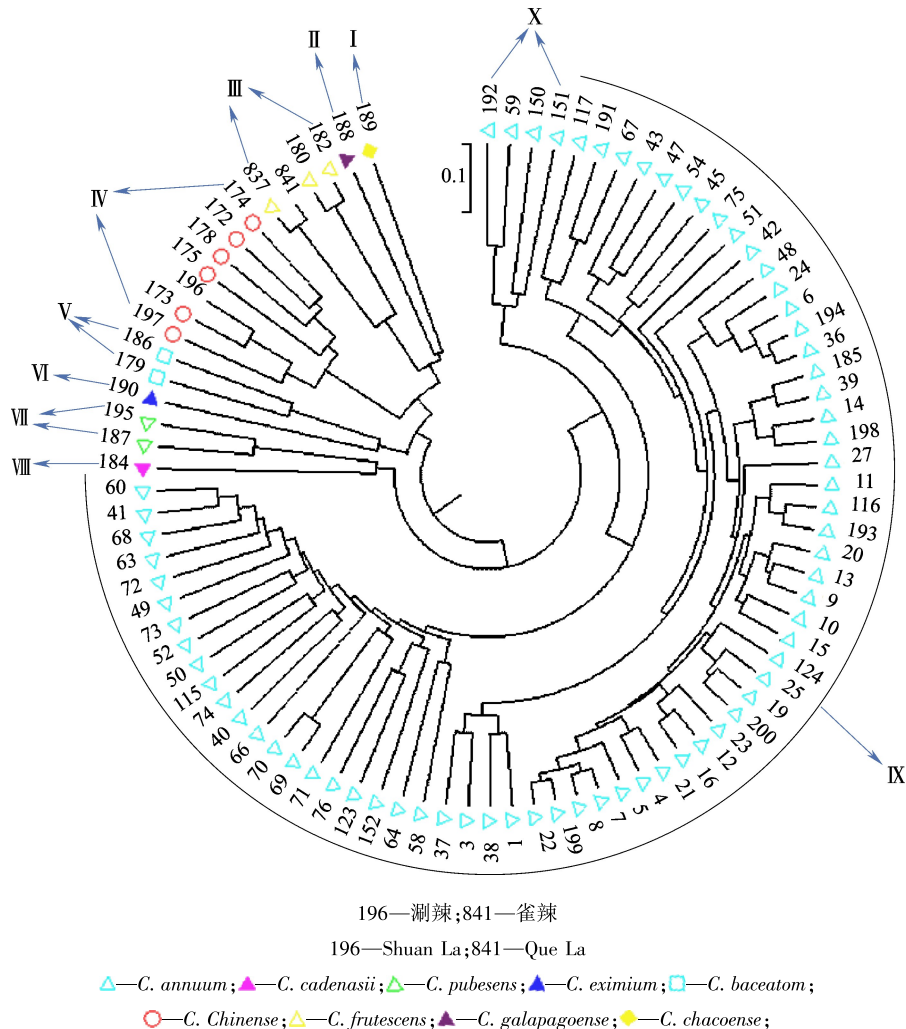


图 4 基于 SSR 标记数据的 90 份辣椒材料的 UPGMA 聚类图

Fig. 4 UPGMA dendrogram of 90 pepper genotypes by SSR maker

3 讨论

本文调查了涮辣与雀辣园艺性状,雀辣与涮辣在花冠颜色、花梗与花瓣形态以及花柱长短等性状上存在差异。经分析,涮辣的园艺性状倾向于 *C. Chinense*, 而雀辣更倾向于 *C. frutescens*。之前有关涮辣的文章报道中,将涮辣命名为 *Capsicum frutescens* L. CV. *Shuanlaense* L. DZhou. H. Liuet. P. H. LiCV. NOV^[16-18], 属 *C. frutescens*, 本研究不认同。*C. frutescens* 与 *C. Chinense* 亲缘关系较近,地域分布大体相同,在园艺性状上有很多相似之处,*C. Chinense*、*C. frutescens*、*C. annum* 可能来自共同的祖先^[19],因此对其进行植物学分类时容易造成混淆。

传统的植物分类都是以植物的形态特征为依据,即根据茎、叶、花、果实等器官的特征进行分类。分子生物学的出现和发展,为植物分类提供了更加丰富的研究手段,对于深入研究生物演化,界定有争议的分类群体具有重要的指导作用。之前关于涮辣和雀辣的植物学分类研究主要集中在园艺性状,而在分子水平的研究没有相关的文献报道。本文基于 29 个 SSR 分子标记,对 5 个栽培种和 4 个野生种的 90 份辣椒材料进行遗传结构分析和进化树的研究,分析结果都表明,涮辣在分子水平更倾向于 *C. Chinense*;而雀辣在分子水平属于 *C. frutescens*。

本文经过园艺性状和分子标记分析都表明:涮辣属于 *C. Chinense*,雀辣属于 *C. frutescens*。

辣椒属的种间亲缘关系不同,种间可交配性和杂种育性存在差异。因此,对辣椒地方品种的植物学分类研究,将指导育种家对种质资源进行驯化、培育和改造。

参考文献

- [1] Garrett R B. Our heritage from the American Indians[J]. Journal of the Illinois State Archaeological Society, 1954, 4(1): 24-27
- [2] 邹学校. 辣椒遗传育种学[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 9
- [3] Pickersgill B. The domestication of chili peppers. The Domestication and Exploitation of Plants and Animals[J]. The domestication of chili peppers, 1969: 443-450
- [4] 邓明华, 文锦芬. 云南灌木辣椒资源[J]. 辣椒杂志, 2009(1): 36-37
- [5] 王顺庆, 郑宇峰, 赵从新, 等. 特色辣椒——涮辣[J]. 蔬菜, 2009(1): 8-9
- [6] 罗承良, 陆显荣. 宁洱县野生小雀辣辣椒生长特性及人工栽培技术[J]. 现代农业科技, 2012(5): 151-154
- [7] 孟金贵, 张卿哲, 王硕, 等. 涮辣与辣椒属 5 个栽培种亲缘关系的研究[J]. 园艺学报, 2012, 39(8): 1589-1595
- [8] Eshbaugh W H. Genetic resources of *Capsicum* [J]. International Board for Plant Genetic Resources, 1983: 20
- [9] Lee J M, Nahm S H, Kim Y M, et al. Characterization and molecular genetic mapping of microsatellite loci in pepper [J]. Theor Appl Genet, 2004, 108: 619-627
- [10] Yi G, Lee J M, Lee S, et al. Exploitation of pepper EST-SSRs and an SSR-based linkage map [J]. Theor Appl Genet, 2006, 114(1): 113-130
- [11] Nagy I, Stágel A, Sasvári Z, et al. Development, characterization, and transferability to other Solanaceae of microsatellite markers in pepper (*Capsicum annum* L.) [J]. Genome, 2007, 50(7): 668-688
- [12] Portis E, Nagy I, Sasvári Z, et al. The design of *Capsicum* spp. SSR assays via analysis of in silico DNA sequence, and their potential utility for genetic mapping [J]. Plant Sci, 2007, 172(3): 640-648
- [13] Fulton T M, Chunwongse J, Tanksley S D. Microprep protocol for extraction of DNA from tomato and other herbaceous plants [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1995, 13: 207-209
- [14] Weir B S, Cockerham C C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure [J]. evolution, 1984: 1358-1370
- [15] Liu K, Muse S V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis [J]. Bioinformatics, 2005, 21(9): 2128-2129
- [16] 文锦芬, 邓明华. 灌木辣椒——涮辣的组织培养 [J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(3): 511
- [17] 官自朝, 彭志勇. 涮辣及栽培技术 [J]. 蔬菜, 2002(6): 12-13
- [18] 邓明华, 文锦芬. 云南涮辣的生物学术特征及其栽培技术要点 [J]. 辣椒杂志, 2008(1): 19-20
- [19] Pickersgill B. Cytogenetics and evolution of *Capsicum* L [J]. Chromosome engineering in plants, 1991: 139-160

欢迎订阅 2017 年《草业学报》

《草业学报》是由中国科协技术协会主管,中国草学会、兰州大学主办,国内外公开发行的学术性期刊。本刊为中国科学引文数据库(CSCD)核心期刊、中国科技论文统计源期刊、英国 CABI 文摘数据库来源期刊、《中国生物学文摘》中国生物学文摘数据库收录期刊、中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊、《中国学术期刊(光盘版)》全文收录期刊、《万方数据—数字化期刊群》入网期刊,荣获“百报强刊”、“百种中国杰出学术刊物”、“中国精品科技期刊”、“中国科技论文在线优秀期刊一等奖”。

本刊主要报道国内外草业科学及其相关领域,如畜牧学、农学、林学、经济学等领域的高水平理论研究和科技创新成果,发表国内外草业领域创新性的研究论文,刊载学术价值较高的草业科学专论、综述、评论等。其读者对象主要是从事农林牧渔、园林绿化、生态环境、国土资源等领域的科研管理及教学等专业技术人员。

月刊,每期定价 25 元,全年 300 元。国内邮发代号:54-84,全国各地邮局均可订阅,若错过订期,可在本编辑部直接办理订阅。

地址:兰州市嘉峪关西路 768 号《草业学报》编辑部

邮编:730020

电话/传真:0931-8913494

E-mail:cyxb@lzu.edu.cn

网址: <http://cyxb.lzu.edu.cn>