



32 份辣椒种质遗传多样性的同工酶分析

隋益虎, 李 敏, 胡能兵, 赵 岩, 苗永美, 张子学

(安徽科技学院 生命科学学院, 安徽凤阳 233100)

摘 要: 基于叶片的过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)及花蕾的酯酶(EST)同工酶谱的聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)分析, 对 32 份辣椒种质的遗传多样性进行了研究。结果表明: (1) 共产生 29 种谱带, 其中 POD 谱带 13 种 234 条, 多态性位点比例(*PPL*)和相对迁移率(*Rf*)变化范围分别为 50.0%~80.0% 和 0.05~0.69; SOD 谱带 8 种 140 条, *PPL*, *Rf* 分别为 100.0%、0.38~0.88; EST 谱带 8 种 163 条, *PPL*, *Rf* 分别为 50.0%~87.5%、0.16~0.89。 (2) 共发现多态位点 26 个, *PPL*、总基因频率(P_i)、等位基因平均数(A)、*Nei* 基因多样性指数(H_e)、Shannon 信息指数(*SII*)、平均遗传一致度(*GI*)和遗传距离(*GD*)分别为 89.66%、0.578 7、1.896 6、0.272 2、0.415 2、0.736 6 和 0.314 3; 32 份辣椒材料的 Jaccard 遗传相似系数为 0.348~0.905, 并聚类为 4 个栽培种群。 (3) 4 个栽培种群内基因多样性(H_s)为 0.143 6; 种群间基因多样性(D_{ST})、基因分化系数(G_{ST})、*GI* 和 *GD* 分别为 0.149 4、0.51、0.784 4 和 0.246 6。 (4) 9 份紫色辣椒种质共发现多态位点 16 个, *PPL*、 P_i 、 A 、 H_e 、*SII*、*GI* 和 *GD* 分别为 55.17%、0.611 1、1.551 7、0.194 1、0.291 9、0.781 6 和 0.249 4。研究认为, 32 份辣椒材料的总体、栽培种间和种内以及紫色材料间遗传分化程度大, 为紫色辣椒杂交育种的亲本选配与绿色品种的遗传改良提供了参考依据。

关键词: 辣椒; 过氧化物酶; 超氧化物歧化酶; 酯酶; 聚类; 遗传多样性

中图分类号: Q814.9

文献标志码: A

Genetic Diversity among 32 Germplasms of the Genus *Capsicum* by Isozyme Analysis

SUI Yihu, LI Min, HU Nengbing, ZHAO Yan, MIAO Yongmei, ZHANG Zixue

(College of Life Science, Anhui Science and Technology University, Fengyang, Anhui 233100, China)

Abstract: Based on analyzed zymograms of leaf peroxidase isozyme (POD), superoxide dismutase (SOD) and bud esterase (EST) by polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE), we studied the genetic diversity of 32 *Capsicum* genus germplasms. The results showed that: (1) A total of 29 kinds of bands were produced, including 13 kinds of 234 POD bands, the proportion of polymorphic loci (*PPL*) and the range of relative mobility (*Rf*) were 50.0%~80.0% and 0.05~0.69; 8 kinds of 140 SOD bands, *PPL* was 100.0%, and *Rf* was 0.38~0.88; 8 kinds of 163 EST bands, *PPL* was 50.0%~87.5%, and *Rf* was 0.16~0.89. (2) 26 polymorphic loci were found, and *PPL*, total gene frequency (P_i), mean number of alleles (A), *Nei*'s genetic diversity index (H_e), Shannon's information index (*SII*), average of genetic identity (*GI*) and genetic distance (*GD*) were 89.66%, 0.578 7, 1.896 6, 0.272 2, 0.415 2, 0.736 6 and 0.314 3, respectively; Jaccard genetic similarity coefficients were in range of 0.348~0.905, by which 32 materials were clustered into 4 cultivated populations/species. (3) Genetic diversity within species (H_s) of 4 cultivated species was 0.143 6, and genetic diversity among species (D_{ST}), gene differentiation coefficients among species (G_{ST}), *GI* and *GD* were 0.149 4, 0.51, 0.784 4 and 0.246 6, respectively. (4) In 9 purple germplasms, 16 polymorphic loci were found, and *PPL*, P_i , A , H_e , *SII*, *GI* and *GD* were 55.17%, 0.611 1, 1.551 7, 0.194 1, 0.291 9, 0.781 6

收稿日期: 2014-01-09; 修改稿收到日期: 2014-03-28

基金项目: 安徽省教育厅自然科学重点项目(KJ2013A074); 安徽科技学院稳定人才基金(ZRC2013349); 国家星火计划(2012GA710029, 2012GA710028)

作者简介: 隋益虎(1970—), 男, 博士, 副教授, 主要从事蔬菜遗传育种研究。E-mail: suiyihu2004@126.com

and 0.249 4, respectively. In conclusion, high genetic differentiation degree among overall tested materials, or among cultivated species and within species, or among purple materials will provide a reference to selecting parents of purple capsicum crossbreeding and genetic improvement of the green variety.

Key words: *Capsicum*; POD; SOD; EST; clustering; genetic diversity

同工酶是指催化功能相同而结构及理化性质不同的一组特异性蛋白质,其酶谱的差异主要由基因决定^[1]。同工酶分析是一种有效的生化标记技术,它与形态学以及分子分类方法相比有自身的特点和优点^[2-4],因而被广泛地应用于作物种质资源亲缘关系和遗传多样性分析^[5-9]。

辣椒(*Capsicum*)是中国重要蔬菜作物,每年产量超过 8×10^6 t^[10]。由于辣椒杂种一代具有明显的产量等方面杂种优势^[11],因此杂种优势育种是中国目前乃至今后辣椒育种的主要途径之一^[12],而亲本选配是优势强弱的关键^[13-14]。紫色辣椒是稀有的辣椒种质资源,具有许多抗逆性方面的优点,同时紫色果实风味独特,在特色辣椒育种中极具利用价值和开发前景^[15-16]。近年来笔者课题组通过聚合杂交、自交和回交等方法获得了一批紫色辣椒纯系^[15],为了进一步利用这些资源培育出具有特色的杂交种,本研究通过聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)技术对 32 份辣椒材料(包括紫色与绿色)的过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)及酯酶(EST)等同工酶进行系统分析,旨在揭示这些辣椒种质间的亲缘关系,为紫色辣椒杂种优势育种的亲本选择和绿色辣椒品种的遗传改良提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料来自安徽科技学院辣椒课题组收集的辣椒品种和通过杂交渐渗选育的部分高世代(10 代以上)纯合自交系,共 32 份种质材料(表 1),其中材料 28、31、32 已通过杂交带有美国种质遗传背景。常规育苗,定植于同一日光温室,栽培管理一致。

1.2 方法

1.2.1 同工酶液制备 32 份辣椒材料各选取 3 个单株分别编号,于生长盛期取各单株‘八面风’部位的功能叶(叶片大小为成熟叶片的 50%~75%)0.2 g 制备 POD 和 SOD 同工酶提取液,取其开花前 1~2 d 的花蕾 0.2 g 制备 EST 酶提取液,其中被采集的紫色材料叶、蕾均已明显表现为紫色。各样品在加入少量提取缓冲液后立即冰浴研磨、匀浆,并定容至 1 mL。4 ℃、10 000 r/min 离心 15 min,取上清液即酶提取液,置于-20 ℃冰箱备用。

1.2.2 同工酶电泳 对贮备的酶提取液进行垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳,参照何忠效^[17]及丁玲等^[7]的方法并作适当调整。浓缩胶和分离胶浓度(g/mL)分别为 3%和 9%。电泳时 POD、SOD、EST 的

表 1 供试辣椒材料
Table 1 *Capsicum* materials tested

序号 No.	名称 Breeding code	植株颜色 Plant color	来源 Origin	序号 No.	名称 Breeding code	植株颜色 Plant color	来源 Origin
1	1117	绿色 Green	中国安徽 Anhui, China	17	1205	绿色 Green	中国浙江 Zhejiang, China
2	1110	绿色 Green	中国安徽 Anhui, China	18	1206	绿色 Green	中国江西 Jiangxi, China
3	1007-1	紫色 Purple	中国安徽 Anhui, China	19	9006mgd	深绿色 Dark green	中国安徽 Anhui, China
4	0710-1	紫色 Purple	中国安徽 Anhui, China	20	1105	绿色 Green	美国 USA
5	9007	深紫色 Dark purple	中国安徽 Anhui, China	21	1109	深紫色 Dark purple	中国安徽 Anhui, China
6	7036	深紫色 Dark purple	中国安徽 Anhui, China	22	1118	绿色 Green	中国安徽 Anhui, China
7	XN	绿色 Green	中国广东 Guangdong, China	23	1119	绿色 Green	中国安徽 Anhui, China
8	1106	绿色 Green	中国安徽 Anhui, China	24	1121	绿色 Green	中国江苏 Jiangsu, China
9	1108	深绿色 Dark green	中国安徽 Anhui, China	25	8022	紫色 Purple	中国安徽 Anhui, China
10	1111Ana	绿色 Green	中国安徽 Anhui, China	26	9022	紫色 Purple	中国安徽 Anhui, China
11	1114	绿色 Green	中国甘肃 Gansu, China	27	QPJ	绿色 Green	美国 USA
12	1116	绿色 Green	中国安徽 Anhui, China	28	1104	绿色 Green	美国 USA
13	1125	深绿色 Dark green	中国安徽 Anhui, China	29	QP04	绿色 Green	中国安徽 Anhui, China
14	1126	绿色 Green	中国江西 Jiangxi, China	30	1004	绿色 Green	美国 USA
15	1127	深紫色 Dark purple	中国安徽 Anhui, China	31	1209	绿色 Green	美国 USA
16	1204	紫色 Purple	中国安徽 Anhui, China	32	1210	绿色 Green	美国 USA

每孔上样量分别为 15、20、10 μL ,以溴酚蓝为前沿指示剂,电泳过程在 4 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中完成。染色时 POD 采用改良联苯胺法染色,SOD 采用氮蓝四唑法染色,EST 采用醋酸萘酯坚牢蓝法染色。实验重复 3 次,选取谱带清晰的图片拍照、分析,同工酶酶带相对迁移率(R_f) = 酶带迁移距离/溴酚蓝的迁移距离。

1.2.3 数据分析 用 SPSS 16.0 软件进行聚类分析,分层方法设置为 Between groups linkage,二值变量测度方法选择为 Jaccard(系统默认标准化为 0~25)^[18]。用 Popgene 32 软件按 Nei^[19]和丁玲等^[7]方法计算 32 份辣椒材料的多态位点比例(PPL)、总基因频率、平均每个位点等位基因数(A)、Nei 基因多样性指数(H_e)、总基因多样性(H_T)、Shannon 信息指数(SII)等参数;根据聚类结果结合形态学计算类型间基因多样性(D_{ST})、类型内基因多样性(H_S)、类型间的基因分化系数(G_{ST})、类型间 Nei 遗传一致度(GI)和遗传距离(GD)等参数。

2 结果与分析

2.1 同工酶酶谱分析

2.1.1 POD 辣椒叶片 POD 同工酶经 PAGE 电泳表明(图 1):供试材料共产生 234 条 POD 谱带,不同辣椒品种(系)间酶带数量、酶带强弱、相对迁移率等方面均有很大差异。32 个辣椒品种共产生 13 种 POD 同工酶谱带,酶带条数最多的有 9 条(材料

4、18、19、22),条带多态性比例为 80.0%,最少的有 4 条(材料 20),条带多态性比例为 50.0%。由负极向正极方向按电泳迁移率 R_f 的集中程度可分为 2 个区,上半区 8 条谱带, R_f 变化范围为 0.05~0.28,下半区 5 条谱带,变化范围为 0.47~0.69。2 个半区中 R_f 为 0.28 和 0.47 谱带虽然强弱上存在差异,但 32 个辣椒品种均共有,其余均呈现出多态性。 R_f 为 0.05、0.15 和 0.20 谱带只在少数品种中存在,其中 0.20 谱带可作为 8 号品种的特异性谱带。

2.1.2 SOD 辣椒幼叶 SOD 同工酶经 PAGE 电泳表明(图 2):供试材料共产生 140 条 SOD 谱带,不同辣椒品种(系)间酶带数量、酶带强弱、相对迁移率等方面也存在很大的差异。32 个辣椒品种共产生 8 种 SOD 同工酶谱带,酶带条数最多的有 6 条(材料 2、6),最少的有 3 条(材料 18、19、22、23)。没有发现所有材料共有的条带,因而多态性比例均为 100.0%。根据 R_f 的集中程度可分为 3 个区,上半区 4 条谱带, R_f 变化范围为 0.38~0.52,中间区仅一条 0.71 带,下半区 3 条谱带,变化范围为 0.77~0.88。多数辣椒品种具有 R_f 为 0.42、0.52、0.77 和 0.88 谱带,其余谱带只在少数品种中存在。

2.1.3 EST 辣椒花蕾 EST 同工酶经 PAGE 电泳表明(图 3):供试材料共产生 163 条 EST 谱带,各材料的酶谱清晰,不同辣椒品种(系)间酶带数量、酶带强弱、相对迁移率等方面多态性高。32 个辣椒品

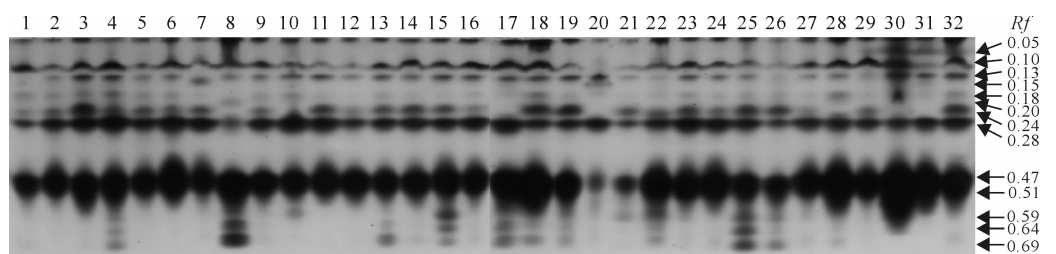


图 1 32 个辣椒材料 POD 同工酶酶谱

Fig. 1 Banding patterns of peroxidase isozyme in 32 *Capsicum* materials

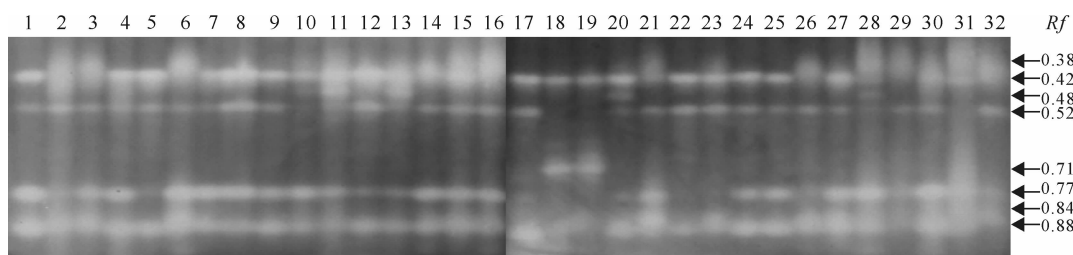


图 2 32 个辣椒材料 SOD 同工酶酶谱

Fig. 2 Banding patterns of superoxide dismutase isozyme in 32 *Capsicum* materials

种共产生 8 种 EST 同工酶谱带,酶带条数最多的有 8 条(材料 11),条带多态性比例为 87.5%,最少的有 2 条(材料 20),条带多态性比例为 50.0%。其中, Rf 为 0.16 是所有品种共有条带,只是强度有差异; Rf 为 0.38 是多数品种拥有的条带。 Rf 集中程度高的下半区 6 条谱带,变化范围不大,为 0.64~0.89,但多态性丰富。

2.2 聚类分析

SPSS 16.0 分析表明:32 份辣椒材料 Jaccard 遗传相似系数为 0.650 ± 0.103 (平均数 $\pm$ 标准差),最高相似系数为 0.905(材料 22 与 18),最低为 0.348(材料 20 与 18、19)。图 4 显示,在标准化 Jaccard 距离值为 16.0 处,32 份材料可分为 4 大类:I 类包括 4、8、13、17~19、22、25、26 和 28 等 10 份种质,多态性位点 18 个(PPL 为 62.07%);II 类包括 1~3、5、6、7、9~12、14~16、21、23、24、27 和 29 等 18 份种质,多态性位点 19 个(PPL 为 65.52%);III 类包括

30~32 等 3 份种质,多态性位点 12 个(PPL 为 41.38%);IV 仅有 1 份(材料 20),它与其他种质的亲缘关系较远(图 4)。

2.3 同工酶位点的遗传变异分析

Popgene32 分析结果(表 2)表明:32 份材料共发现多态位点 26 个(PPL 为 89.66%),总基因频率(P_t)为 0.5787 ± 0.3470 ,等位基因平均数(A)为 1.8966 ± 0.3099 , Nei 基因多样性指数(H_e ,又称平均期望杂合度)为 0.2722 ± 0.1784 ,Shannon 信息指数(SII)为 0.4152 ± 0.2385 ,平均遗传一致度为 0.7366,平均遗传距离(GD)为 0.3143。可见,参试材料总体遗传变异水平较高。

分别以上述 I~IV 类作为 Popgene 的 4 个 ID,分析 26 个多态位点的遗传多样性与遗传分化,由表 2 可知:4 个类型内基因多样性(H_s)为 0~0.3664,平均 0.1436;类型间基因多样性(D_{ST})为 0.001~0.375,平均 0.1494;类型间的基因分化系数(G_{ST})

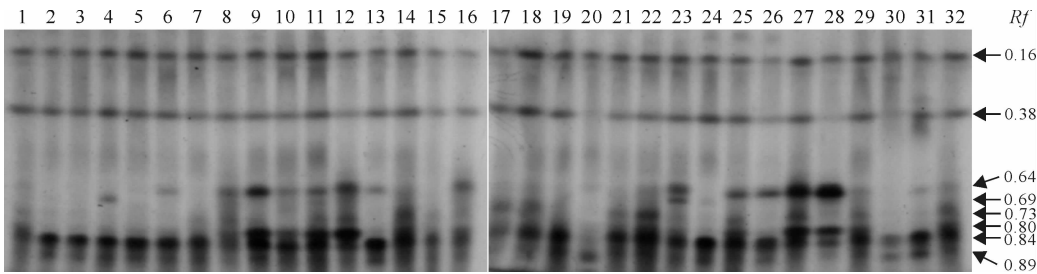


图 3 32 个辣椒材料 EST 同工酶酶谱

Fig. 3 Banding patterns of esterase isozyme in 32 *Capsicum* materials

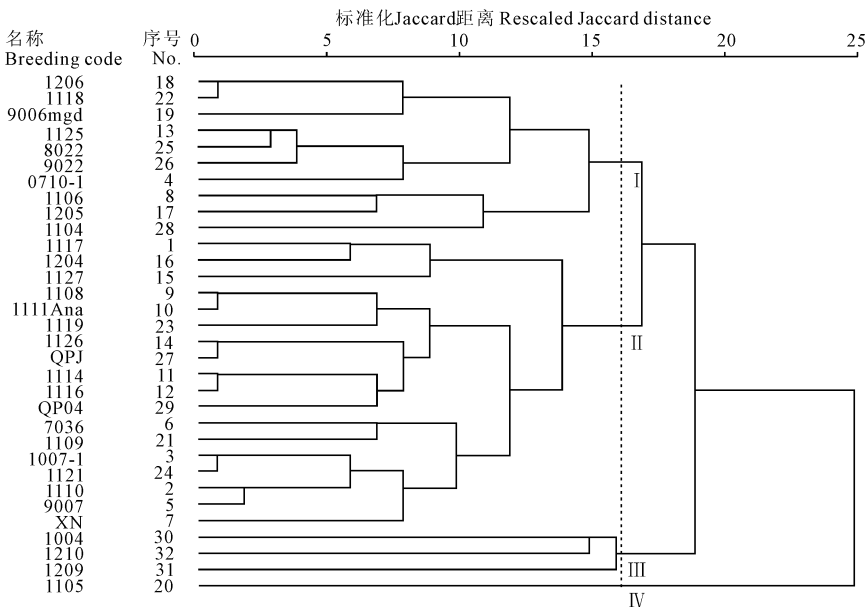


图 4 32 个辣椒种质材料的同工酶聚类图

Fig. 4 Dendrogram of 32 *Capsicum* materials clustered with banding patterns of POD,SOD and EST isozyme

表 2 辣椒同工酶位点的遗传多样性与分化分析

Table 2 Analyses on genetic diversity and differentiation of isozyme loci in *Capsicum*

位点 Locus	H_T	H_S	D_{ST}	G_{ST}
POD-1	0.375 0	0.000 0	0.375 0	1.000 0
POD-2	0.375 0	0.000 0	0.375 0	1.000 0
POD-3	0.152 8	0.111 1	0.041 7	0.272 7
POD-4	0.039 0	0.038 0	0.001 0	0.023 7
POD-5	0.459 8	0.366 4	0.093 4	0.203 1
POD-6	0.025 3	0.024 3	0.001 0	0.039 0
POD-7	0.455 0	0.288 8	0.166 2	0.365 2
POD-10	0.462 8	0.156 0	0.306 8	0.662 9
POD-11	0.439 0	0.127 0	0.312 0	0.710 8
POD-12	0.462 3	0.135 7	0.326 6	0.706 5
POD-13	0.388 9	0.027 0	0.361 9	0.930 7
SOD-1	0.303 6	0.254 5	0.049 1	0.161 6
SOD-2	0.237 9	0.198 2	0.039 7	0.166 9
SOD-3	0.429 8	0.108 1	0.321 7	0.748 5
SOD-4	0.404 3	0.245 9	0.158 4	0.391 9
SOD-5	0.051 4	0.047 2	0.004 2	0.081 3
SOD-6	0.343 5	0.235 0	0.108 5	0.315 9
SOD-7	0.230 3	0.173 3	0.057 0	0.247 5
SOD-8	0.477 7	0.122 0	0.355 7	0.744 6
EST-2	0.477 7	0.122 0	0.355 7	0.744 6
EST-3	0.310 7	0.282 0	0.028 7	0.092 2
EST-4	0.081 1	0.076 4	0.004 7	0.058 0
EST-5	0.240 5	0.226 0	0.014 5	0.060 1
EST-6	0.389 2	0.320 8	0.068 4	0.175 7
EST-7	0.490 5	0.228 9	0.261 6	0.533 3
EST-8	0.393 0	0.248 5	0.144 5	0.367 7
均值 Mean	0.293 0	0.143 6	0.149 4	0.510 0

注: H_T 、 H_S 、 D_{ST} 和 G_{ST} 分别表示总基因多样性、类型内、间基因多样度和类型间基因分化系数。

Note: H_T , H_S , D_{ST} and G_{ST} denote total genetic diversity, within types, among types genetic diversity, and genetic differentiation among types, respectively.

表 3 不同辣椒类型间的遗传一致度和遗传距离

Table 3 Genetic identity and genetic distance of different types of *Capsicum*

类型 Type	遗传一致度或遗传距离 Genetic identity or genetic distance			
	I	II	III	IV
I	—	0.866 2	0.795 4	0.659 2
II	0.143 6	—	0.836 7	0.783 1
III	0.229 0	0.178 3	—	0.765 5
IV	0.416 7	0.244 5	0.267 2	—

注: 对角线上方和下方的数据分别为遗传一致度和遗传距离; 下同。

Note: Data above and below diagonal are Nei's genetic identity and genetic distance, respectively; The same as below.

为 0.0237~1, 平均 0.51。表明总基因多样性的 49% 来源于类型内的遗传分化, 而其余 51% 来自于类型间的遗传分化, 即 4 个辣椒类型间的遗传变异水平略高于类型内的。

对辣椒 4 个类型间 Nei 遗传一致度 (GI) 和遗传距离 (GD) 进行计算表明 (表 3): 4 个类型间的遗传一致度为 0.659 2~0.866 2, 平均值为 0.784 4; 遗传距离为 0.143 6~0.416 7, 平均值为 0.246 6, 其中类型 I 和 II 的遗传一致度最高 (0.866 2), 遗传距离最小 (0.143 6), 而类型 I 和 IV 的遗传一致度最低 (0.659 2), 遗传距离最大 (0.416 7)。

2.4 紫色辣椒种质的遗传变异分析

分别以紫色材料作为 Popgene 的 9 个 ID, 9 份材料共发现多态位点 16 个 (POD-5, POD-10~POD-13, SOD-1~SOD-3, SOD-6, SOD-7, EST-3~EST-8; PPL 为 55.17%), 总基因频率为 0.611 1±0.328 2, 等位基因平均数为 1.551 7±0.506 1, Nei 基因多样性指数为 0.194 1±0.199 7, Shannon 信息指数为 0.291 9±0.287 0, 遗传一致度为 0.781 6

表 4 9 份紫色辣椒的遗传一致度和遗传距离

Table 4 Genetic identity and genetic distance of 9 purple *Capsicum* germplasms

名称 Breeding code	遗传一致度或遗传距离 Genetic identity or genetic distance								
	1007-1	0710-1	9007	7036	1127	1204	1109	8022	9022
1007-1	—	0.793 1	0.862 1	0.896 6	0.758 6	0.827 6	0.827 6	0.724 1	0.793 1
0710-1	0.231 8	—	0.793 1	0.689 7	0.758 6	0.620 7	0.689 7	0.793 1	0.793 1
9007	0.148 4	0.231 8	—	0.827 6	0.689 7	0.758 6	0.758 6	0.724 1	0.724 1
7036	0.109 2	0.371 6	0.189 2	—	0.724 1	0.862 1	0.862 1	0.758 6	0.827 6
1127	0.276 3	0.276 3	0.371 6	0.322 8	—	0.862 1	0.793 1	0.827 6	0.827 6
1204	0.189 2	0.476 9	0.276 3	0.148 4	0.148 4	—	0.793 1	0.758 6	0.758 6
1109	0.189 2	0.371 6	0.276 3	0.148 4	0.231 8	0.231 8	—	0.758 6	0.758 6
8022	0.322 8	0.231 8	0.322 8	0.276 3	0.189 2	0.276 3	0.276 3	—	0.862 1
9022	0.231 8	0.231 8	0.322 8	0.189 2	0.189 2	0.276 3	0.276 3	0.148 4	—

± 0.0606 , 遗传距离为 0.2494 ± 0.0791 , 其中 1007-1 与 7036 一致度最大、距离最小, 0710-1 与 1204 一致度最小、距离最大。可见紫色材料遗传变异水平也很高(表 4)。

3 讨 论

本试验基于 3 种同工酶标记共产生 29 种谱带, 发现 26 个多态性位点, PPL 、 P_i 、 A 、 H_e 、 SII 、 GI 和 GD 分别为 89.66%、0.5787、1.8966、0.2722、0.4152、0.7366 和 0.3143; 根据 Jaccard 遗传相似系数(0.348~0.905), 32 份辣椒种质被聚类成了 I~IV 大类, 说明参试材料的同工酶标记多态性丰富, 总体遗传变异程度高, 遗传基础较宽。基于一般的育种假设即基因型间的最高分子相异性才能意味着表现型的较大杂合性, 才因此有可能产生出优异的杂种后代^[20]。根据杂种优势和远缘杂交理论^[21]可优先在遗传距离大的类型间选择配对亲本, 如 IV 与 I, 其次在 IV 与 III、II, III 与 I, 再次在 III 与 II, I 与 II 中分别选择父、母本, 有望获得优势 F_1 杂种; 当类型间(种间)远缘杂交不亲和时可借助于植物生物技术如胚拯救技术等^[22], 否则考虑类型内选择配对亲本, 亦按距离大、性状互补者优先的原则进行。

本研究总基因多样性的 49% 来源于 I~IV 辣椒类型内的遗传分化, 其余 51% 来自于类型间的遗传分化, 表明类型内、类型间两者多样性水平均很高。其原因在于参试材料中部分种质是通过多年人工育种操作后, 如种间杂交、自交或定向回交等, 使得其后代部分株系更偏向于某一栽培种^[23], 进而类型内(种内)的遗传变异水平也很高。Monteiro 等^[20]单一利用 α/β 酯酶分析辣椒属种质的遗传多样性也得到了相似的结果。可见育种过程中的人工选择对辣椒的种性发展会产生重要影响^[24]。本研究中紫色材料的原始祖先永宁紫椒属 *C. frutescens* 种^[25], 但作为其后代的 9 份紫色材料现已高度分化为 *C. frutescens*(包括材料 4、25 和 26)和 *C. annuum*(包括材料 3、5、6、15、16 和 21)2 个种; 9 份紫色材料共发现多态位点 16 个, PPL 、 P_i 、 A 、 H_e 、 SII 、

GI 和 GD 分别为 55.17%、0.6111、1.5517、0.1941、0.2919、0.7816 和 0.2494, 从而证实紫色材料遗传变异程度也很高。这也为选育紫色辣椒杂交新品种的亲本配组提供了理论参考: 优先配组 GI 最小(0.6207)、 GD 最大(0.4769)的 0710-1 与 1204, 其次是 0710-1 与 7036 或 1109, 1127 与 9007 等; 同样的原则运用于紫色与绿色材料, 分别选择亲本之一, 从而实现绿色品种的遗传改良。

由于本研究的聚类结果与按多年栽培的植物形态学表现分类基本一致, 如 I 类包括的 10 份种质具有主茎木质化程度高的灌木状辣椒类型的特征, 归属于 *C. frutescens* 栽培种; II 类包括的 18 份种质具有一年生辣椒的特征, 归属于 *C. annuum* 栽培种; 同样 III 类包括的 3 份种质具有多花等特征, IV 类中的 1 份材料具有羽状图案花瓣等特征, 分别归属于 *C. chinense* 和 *C. baccatum* 栽培种。说明作为基因表达产物的同工酶, 可用作一种重要的生化遗传标记进行辣椒资源的亲缘关系鉴定和多样性研究^[2,5]。同时, 研究中的部分特色材料如紫色辣椒 7036 在此前曾用于 RAPD 分子聚类^[25], 结果与本研究一致, 均归属于 *C. annuum* 种; 此外, 在棉花^[26]、木豆^[27]、菊花^[4,28]等许多植物上也有同工酶与分子标记、农艺性状分类结果相吻合的报道。在育种实践中, 任何一种检测遗传多样性的方法都有各自的优点和局限性, 找不到一种能代替其他方法的技术^[29], 近年来尽管开发了许多分辨率更高、基于 DNA 的不同类型遗传标记, 但在大多数情况下, 标记物提供的信息类型相同, 而且考虑到降低成本和节省时间的必要性, 同工酶似乎是更合适的技术^[3], 甚至有人主张只用一种同工酶系统即可^[20]。尽管同工酶具有发育时期差异性^[30]、组织特异性^[31]和受条件影响^[32]等特点, 但只要试验控制在相同的栽培环境下, 并选取适当时期的相同器官, 其酶谱仍相对比较稳定, 具有较好的重复性, 这被本试验以及其他学者的研究所证实^[33-35]。本试验中其它种质材料的分子标记聚类是否与同工酶聚类结果一致尚待下一步研究。

参考文献:

- [1] TANKSLEY S D, ORTON T J. Isozymes in plant genetics and breeding, Part A[M]. Amsterdam: Elsevier, 1983: 303-401.
- [2] ZHANG H L(张海利), CHEN Y B(陈勇兵), XU J(徐 坚), et al. The classification of pepper with the POD isozyme electrophoresis[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*(安徽农业科学), 2008, 36(21): 8952-8953, 9007(in Chinese).
- [3] ZEIDLER M. Electrophoretic analysis of plant isozymes[J]. *Acta Universitatis Palackianae Olomucensis Facultas Rerum Naturalium Biologica*, 2000, 38: 7-16.
- [4] CHENG H(程 华), LI L L(李琳玲), YUAN H H(袁红慧), et al. Analysis and comparison of POD isozyme for *Chrysanthemum* 'Fubai-

- ju' and eight cultivars of *Chrysanthemum*[J]. *Northern Horticulture*(北方园艺), 2012, (22): 99—103(in Chinese).
- [5] CONICELLA C, ERRICO A, SACCARDO F. Cytogenetic and isozyme studies of wild and cultivated *Capsicum annuum*[J]. *Genome*, 1990, **33**(2): 279—282.
 - [6] ZARRE S, RAJAIY M, EBRAHIMZADEH H, et al. Isozyme variation in some populations of a rare endemic species *Astragalus submitis* (Fabaceae) in Iran[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2004, **32**(7): 675—684.
 - [7] DING L(丁玲), CHEN F D(陈发棣), FANG W M(房伟民). Genetic diversity among 27 materials in 8 species of *Dendranthema* by isozyme analysis[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2007, **27**(2): 249—256(in Chinese).
 - [8] ZHANG C P(张翠萍), YUAN J Y(袁建玉), GONG Y Q(龚义勤), et al. Radish germplasm identification with isozyme analysis[J]. *China Vegetables*(中国蔬菜), 2010, (2): 28—32(in Chinese).
 - [9] LI H(李红), YANG ZH(杨墨), LI B(李波), et al. Analysis of peroxidase isozyme of different alfalfa varieties[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*(黑龙江畜牧兽医), 2012, (8): 78—80(in Chinese).
 - [10] KOLE C. Genome mapping and molecular breeding in plants[M]//PARAN I, BEN-CHAIM A, KANG B C, et al. *Vegetables: Capsicums*. Heidelberg: Springer-Verlag, 2007, 5: 209—226.
 - [11] ZOU X X(邹学校), MA Y Q(马艳青), DAI X Z(戴雄泽), et al. Scale pepper hybrid seed production technology using cytoplasmic male sterility[J]. *China Vegetables*(中国蔬菜), 2008, (5): 45—47(in Chinese).
 - [12] YU W ZH(余文中), ZHAN Y F(詹永发), LIU C ZH(刘崇政), et al. Technical measures to improve the quality of pepper hybrid seed production[J]. *Journal of Changjiang Vegetables*(长江蔬菜), 2011, (11): 29—30(in Chinese).
 - [13] DONG Y Y(董媛媛), YU M N(俞咪娜), LI X B(李小白), et al. Diversity analysis of *Brassica napus* by EST-SSR and RAPD markers[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*(核农学报), 2008, **22**(5): 611—616, 660(in Chinese).
 - [14] 侯金珠. 辣椒杂种优势的预测及其亲本选配的研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2009.
 - [15] SUI Y H(隋益虎), QIAN CH T(钱春桃), CHEN J F(陈劲枫), et al. Fruit setting rate and major photosynthetic characteristics of purple chili peppers during summer conditions[J]. *Acta Horticulturae Sinica*(园艺学报), 2011, **38**(1): 77—86(in Chinese).
 - [16] HU N B(胡能兵), SUI Y H(隋益虎), ZHANG Z X(张子学), et al. Observation of pigment in purple pepper and extraction system optimization of leaf purple pigment[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2012, **32**(12): 2 450—2 456(in Chinese).
 - [17] 何忠效, 张树政. 电泳(第2版)[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 278—298.
 - [18] 卢纹岱. SPSS for Windows 统计分析(第2版)[M]. 北京: 电子工业出版社, 2002: 338—395.
 - [19] NEI M. Analysis of gene diversity in subdivided populations[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1973, **70**(12): 3 321—3 323.
 - [20] MONTEIRO E R, BRONZATO A R, ORASMO G R, et al. Genetic diversity analysis of *Capsicum* spp. germplasm bank accessions based on α/β -esterase polymorphism[J]. *Genetics and Molecular Research*, 2013, **12**(2): 1 155—1 167.
 - [21] 曹家树, 申书兴. 园艺植物育种学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2001: 88—158.
 - [22] CHENG ZH F(程志芳), QIAN CH T(钱春桃), CHEN X J(陈学军), et al. Interspecific hybridization and identification of hybrid in *Capsicum*[J]. *Acta Horticulturae Sinica*(园艺学报), 2007, **34**(4): 883—888(in Chinese).
 - [23] CHEN X J(陈学军), ZHOU K H(周坤华), FANG R(方荣), et al. Production and identification of interspecific hybrids between *C. frutescens* and *C. chinense*[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*(植物遗传资源学报), 2012, **13**(5): 907—911(in Chinese).
 - [24] SUN L Y(孙凌云), GAI SH P(盖树鹏), FAN ZH CH(樊治成), et al. RAPD analysis of chili (Pimiento) (*Capsicum annuum*) germplasm[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2005, **25**(5): 870—875.
 - [25] 隋益虎. 辣椒紫色性状遗传分析、相关基因克隆和种间杂种创制[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
 - [26] LIU G Q(刘根齐), JIAO CH ZH(焦传珍), JIANG R Q(姜茹琴), et al. A study on genetic character of cultivar Shiyuan321 from *G. barbadense* $\times$ *G. thurberi* $\times$ *G. hirsutum* using isozyme and RAPD techniques[J]. *Acta Genetica Sinica*(遗传学报), 2000, **27**(11): 999—1 005(in Chinese).
 - [27] JIANG H P(蒋慧萍), LI Y R(李杨瑞). Research of genetic diversity on pigeon pea collected in different areas using methods of isozyme, RAPD maker, morphology[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*(西南农业学报), 2010, **23**(2): 483—486(in Chinese).
 - [28] SHAO Q S(邵清松), GUO Q SH(郭巧生), ZHANG ZH Y(张志远). ISSR analysis for genetic diversity of *Chrysanthemum morifolium* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*(中草药), 2009, **40**(12): 1 971—1 975(in Chinese).
 - [29] FALK D A, HOLSINGER K E. Genetics and Conservation of Rare Plants[M]//SCHAAL B A, LEVERICH W J, ROGSTAD S H. A comparison of methods for assessing genetic variation in plant conservation biology. New York: Oxford University Press, 1991: 123—134.
 - [30] CUI X CH(崔西辰), ZHANG Q(张清), DENG ZH R(邓志瑞). Isoenzymes of *Capsicums* in different development stages[J]. *Journal of Shanghai University*(Nat. Sci. Edi.) (上海大学学报·自然科学版), 2005, **11**(6): 645—651(in Chinese).
 - [31] DAI L F(戴亮芳), LUO X D(罗向东), WANG SH B(王述彬). Comparative analysis of peroxidase isozymes in cytoplasmic male sterility line and its maintainer of *Capsicum*[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2005, **25**(10): 1 960—1 964(in Chinese).
 - [32] DENG ZH R(邓志瑞), LUO L(罗琳). Catalytic activity and isozyme patterns of superoxide dismutase in four species of *Capsicums* under Cd²⁺ stress[J]. *Journal of Shanghai University*(Nat. Sci. Edi.) (上海大学学报·自然科学版), 2009, **15**(2): 216—220(in Chinese).
 - [33] SMED E, VAN GEYT J P C, OLEO M. Genetical control and linkage relationships of isozyme markers in sugar beet (*B. vulgaris* L.) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1989, **78**(1): 97—104.
 - [34] KARIHALOO J L, GOTTLIEB L D. Allozyme variation in the eggplant, *Solanum melongena* L. (Solanaceae) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1995, **90**(3—4): 578—583.
 - [35] LUNA-CAVAZOS M, BYE R, JIAO M J. The origin of *Datura metel* (Solanaceae): genetic and phylogenetic evidence[J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2009, **56**(2): 263—275.