

郭广君, 朱雪梅, 潘宝贵, 等. 利用 InDel 分子标记辅助选育辣椒抗黄瓜花叶病毒病种质[J]. 江苏农业学报, 2021, 37(5): 1251-1261.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2021.05.021

利用 InDel 分子标记辅助选育辣椒抗黄瓜花叶病毒病种质

郭广君¹, 朱雪梅^{1,2}, 潘宝贵¹, 刁卫平¹, 刘金兵¹, 高长洲¹, 王述彬¹

(1. 江苏省农业科学院蔬菜研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室, 江苏 南京 210014; 2. 南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 黄瓜花叶病毒(Cucumber mosaic virus, CMV)是危害中国辣椒生产的第一大病毒,创制抗性育种材料、培育抗性品种是防治 CMV 最有效的方法。以高抗 CMV 材料 PBC688 为母本,与感病甜椒材料 G29 为父本杂交,通过连续自交获得 F₆代自交系。利用与抗性基因 *qCmr2.1* 紧密连锁的 3 个 InDel 分子标记,结合人工接种鉴定和农艺性状调查对 109 个株系进行筛选。分子标记鉴定结果显示,携带纯合抗性片段的株系有 28 个,携带纯合感病片段的株系有 65 个,携带杂合片段的株系有 16 个,杂合率为 14.7%。农艺性状调查结果显示,大部分携带 *qCmr2.1* 基因的自交系果实较小,首花节位高,花期和成熟期显著晚于感病材料 G29。筛选到 1 份高抗 CMV 且农艺性状优良的育种材料 H₆-223,人工接种鉴定结果显示,21 个纯合抗病型对 CMV 表现为高抗、抗;在 14 个纯合感病型中,13 个株系表现为感病,1 个株系表现为中抗;9 个杂合型株系的抗病性出现分离,表现为抗、中抗;3 个在分子标记间出现重组的自交系中,H₆-223 表现为高抗,另外 2 个表现为中抗。由研究结果可以看出,3 个 InDel 分子标记可以辅助创制辣椒抗 CMV 种质,创制的高抗 CMV 且农艺性状优良的种质 H₆-223 可进一步用于辣椒抗 CMV 育种。

关键词: 辣椒; 黄瓜花叶病毒; 分子标记辅助选育

中图分类号: S436.418.1⁺2

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2021)05-1251-11

Innovation of pepper germplasm resource with resistance to cucumber mosaic virus by InDel molecular marker assisted selection

GUO Guang-jun¹, ZHU Xue-mei^{1,2}, PAN Bao-gui¹, DIAO Wei-ping¹, LIU Jin-bing¹, GAO Chang-zhou¹, WANG Shu-bin¹

(1. Institute of Vegetable Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Key Laboratory for Horticultural Crop Genetic Improvement, Nanjing 210014, China; 2. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Cucumber mosaic virus (CMV) is the most serious virus threatening the production of pepper in China. Innovation of pepper germplasm resources and breeding varieties with resistance to CMV is the most effective method to prevent CMV. Using the resistant material PBC688 as female parent and the susceptible sweet pepper G29 as male parent, F₆ inbred lines were obtained through successive inbreeding in this study. Totally 109 F₆ inbred lines were identified by three

InDel markers tightly linking to *qCmr2.1*. The pepper germplasms with resistance to CMV were chosen by combining with the artificial inoculation identification and the investigation of agronomic traits. The results of molecular marker identification showed that there were 28 lines carrying homozygous resistant fragment, 65 lines carrying homozygous susceptible fragment, and 16 lines carrying heterozygous fragments. The heterozygous rate was 14.7%. The investigation results of agronomic traits indicated that

收稿日期: 2021-06-07

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32072597); 江苏省农业重大新品种创制项目(PZCZ201714); 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目(CARS-25); 国家重点研发计划“七大农作物育种”重点专项(2017YFD0101900)

作者简介: 郭广君(1986-), 女, 山东聊城人, 博士, 副研究员, 主要研究方向为辣椒遗传育种和分子生物学。(E-mail) ggj-198@163.com

通讯作者: 王述彬, (E-mail) wangsbpep@163.com

most inbred lines carrying *qCmr2.1* gene had smaller fruits, higher node position of the first flower, and significantly later flowering and ripening than susceptible material G29. A breeding material H₆-223 with high resistance to CMV and excellent agronomic characters was screened. The results of artificial inoculation identification indicated that 21 disease-resistant materials with homozygous genotypes showed high resistance or resistance to CMV. The 13 lines with homozygous susceptible fragment were susceptible to CMV and one line was middle resistance to CMV. The resistance to CMV of nine lines with heterozygous genotypes was separated proportionally. Among the three inbred lines with recombinant molecular markers, H₆-223 showed high resistance and the other two showed moderate resistance. In general, we established InDel molecular marker assisted selection system for pepper resistance to CMV, and innovated one germplasm H₆-223 with resistance gene *qCmr2.1* and excellent agronomic traits, which could be applied in breeding for resistance to CMV in pepper.

Key words: pepper; cucumber mosaic virus; molecular marker assisted selection

黄瓜花叶病毒(Cucumber mosaic virus, CMV)是世界十大植物病毒之一,可以侵染超过 100 个科的 1 200 种植物^[1]。刘勇等^[2]调查发现,从辣椒中检出的 33 种病毒中,CMV 的检出率高达 20.29%,超过烟草花叶病毒的检出率(14.64%)而成为危害中国辣椒生产的第一大优势病毒。在辣椒生产过程中,CMV 不仅影响产量,而且危害果实品质,而培育抗性品种是防治 CMV 最经济、最有效的方法,也是中国辣椒抗病育种的主要目标。

国内外育种家通过抗性转育,已经育成了一系列中抗或耐 CMV 的辣椒品种,但高抗 CMV 的品种稀缺^[3]。由于很多新 CMV 病毒株系可突破原有抗性,导致现有品种已无法满足产业需求^[4]。鉴定和转育新的抗 CMV 基因或将多个抗性基因聚合,育成广谱、持久、高抗 CMV 的辣椒品种是解决高抗品种稀缺最有效的方法。目前,人们已经从辣椒上鉴定出 30 多个抗 CMV 相关的数量性状座位(Quantitative trait locus, QTL)和基因,除单显性基因 *Cmr1* 外,其他抗性基因均未得到转育应用^[5]。

传统育种技术通过杂交和回交进行抗性基因转育,通过田间鉴定或人工接种鉴定进行抗性单株的筛选,耗时长、效率低。现代育种技术可以通过分子标记辅助选择(Marker assisted selection, MAS)技术实现抗性基因的快速积累^[6-7]。近年来,高通量基因分型结合新一代测序技术可快速检测与抗病基因紧密连锁的单核苷酸多态性标记,大大缩短了高密度图谱构建、QTL 位点分析和候选基因鉴定所需的时间^[8-10]。随着分子标记开发技术的完善和标记类型的增多,越来越多的基因得到定位和克隆,例如 MAS 技术在辣椒育种中的应用愈发广泛。Barka 等^[11]对辣椒上真菌、细菌、病毒和线虫等引起的相关病害的抗性基因连锁标记开发和抗性基因克隆进行了总结分析。李宁等^[12]根据已有文

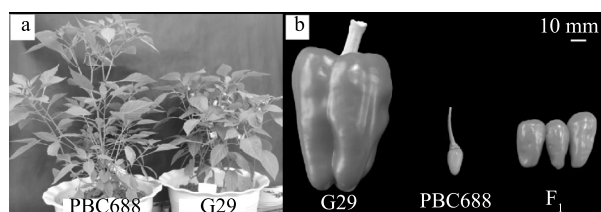
献公布的抗病分子标记对 209 份辣椒资源进行了抗病基因检测,明确了供试种质的抗性基因。中国农业科学院蔬菜花卉研究所利用种间杂交、回交和分子标记辅助筛选技术创制出辣椒抗番茄斑萎病病毒的育种材料 0516Tsw^[13],育成了首个抗番茄斑萎病病毒(TSWV)的甜椒品种中椒 115 号^[14]。综上所述,采用分子标记辅助筛选技术能够快速鉴定种质资源的抗性基因,分子标记辅助回交可以提高抗性基因转育和抗病育种材料的创制效率,加快辣椒抗病育种的进程。

本课题组前期在辣椒抗源材料灌木状辣椒 PBC688(*Capsicum frutescens* cv. PBC688)的 2 号染色体上定位到 1 个抗 CMV 的主效 QTL(*qCmr2.1*),并开发出 3 个与 *qCmr2.1* 紧密连锁的 InDel 分子标记^[15]。抗源材料 PBC688 的果实极小,果实呈椭圆形,单果质量仅为 1.0 g 左右,在江苏地区侧枝多、首花节位高,花期和成熟期晚,无法直接用于抗 CMV 育种。感病材料 *C. annuum* cv. G29 坐果性好,果形为长灯笼形,单果质量约为 50 g,首花节位低,花期和成熟期早,是一个优良的甜椒育种材料(图 1)。据此,利用 PBC688 与 G29 进行种间杂交,将抗性基因 *qCmr2.1* 进行遗传转育,创制新的高抗 CMV 且农艺性状优良的种质材料。本研究利用上述 3 个 InDel 分子标记对创制的 F₆代自交系进行辅助筛选,结合人工接种鉴定和农艺性状调查,检验抗性基因的转育效率,以期筛选高抗 CMV 的育种材料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

母本材料为高抗 CMV 的 *C. frutescens* cv. PBC688,父本材料为高感 CMV 的甜椒材料 G29。2013 年通过父母本种间杂交获得 F₁代杂种(图 1),连续自交 5 代,



a: PBC688、G29 植株; b: PBC688、G29 和 F_1 代的果实。

图1 高抗黄瓜花叶病毒 (CMV) 种质灌木状辣椒 PBC688 (*C. frutescens* cv. PBC688) 和高感 CMV 种质 *C. annuum* cv. G29

Fig.1 Germplasm of *C. frutescens* cv. PBC688 and *C. annuum* cv. G29

2020 年 6 月获得 109 个 F_6 代高代自交系材料。每个自交系选取 2 株代表 1 个自交系的遗传信息,单株留种作为 F_7 代,用于抗 CMV 效果的人工接种鉴定。

1.2 试验方法

2020 年 2-7 月在江苏省农业科学院六合动物科学基地对 F_6 代株系进行农艺性状调查和留种;4-6 月在江苏省农业科学院蔬菜研究所实验室对 F_6 代株系进行分子标记检测;8-10 月在实验室用部分 F_7 代株系进行抗 CMV 效果的人工接种鉴定。

1.2.1 DNA 提取 基因组 DNA 提取使用 DNA 提取试剂盒 (Cat#DP3112, 北京百泰克生物技术有限公司产品),按照说明书要求逐步提取 DNA。使用 1% 琼脂糖凝胶和 Nano Drop One (Thermo Scientific) 检测 DNA 的质量和浓度,调整 DNA 的质量浓度为 40 ng/ μ l。

1.2.2 InDel 分子标记辅助筛选抗 CMV 基因 *qCmr2.1*

用于抗 CMV 基因辅助筛选的 3 对 InDel 分子标记的引物分别为 InDel-2-134-F (5'-TGCTTCAGTTGAGT-TGTCCA-3') + InDel-2-134-R (5'-TAAATCCCCTTGTG-GTGGCT-3')、InDel-2-140-F (5'-GGTTGGTTAGCAT-GGGTGTG-3') + InDel-2-140-R (5'-CGAAACCGAAC-CGTAAAGAC-3')、InDel-2-151-F (5'-ACCCACGACT-TAAACTCAAACT-3') + InDel-2-151-R (5'-TCAA-GAGAGAAATAGTGATGCCA-3')。

PCR 扩增:扩增体系为 20.0 μ l,包含 2.0 μ l DNA 模板、10.0 μ l 2 \times TSINGKE[®] Master Mix、各 0.4 μ l 上下游引物,补充 ddH₂O 至总体积为 20.0 μ l。PCR 扩增程序:94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min;94 $^{\circ}$ C 变性 20 s,55 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 40 s,30 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。将扩增产物于 4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 产物检测:用 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶检测 PCR 扩增产物。电泳结束后,

用银染法染色,观察并记录扩增结果。

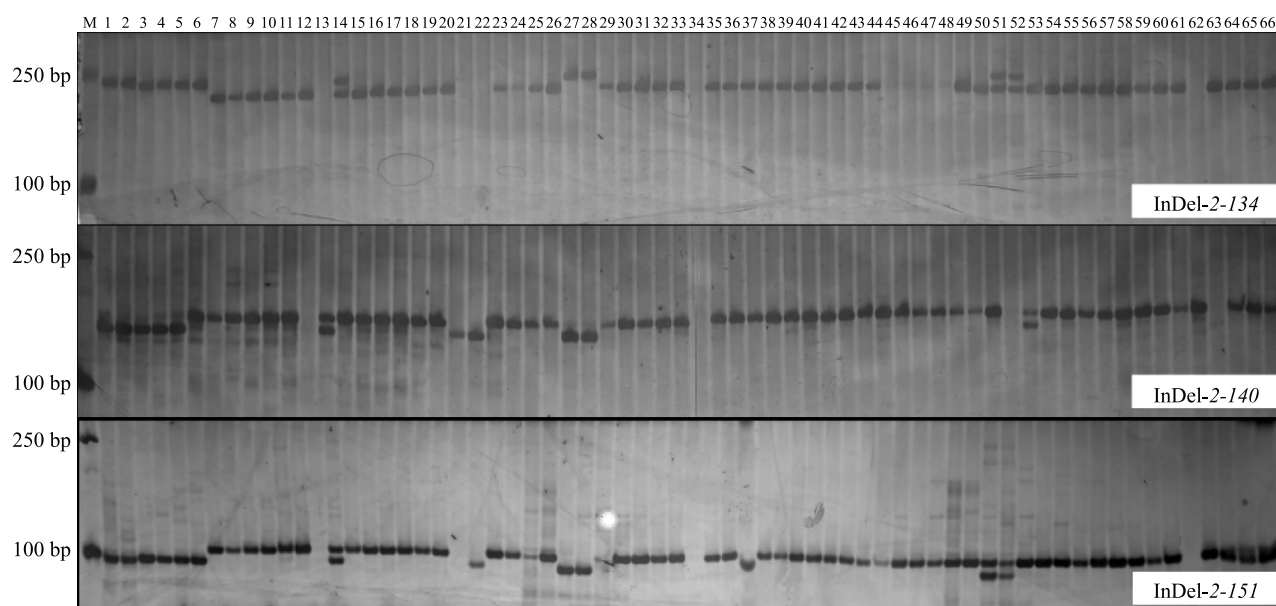
1.2.3 F_6 代自交系果实性状的调查 参照《辣椒种质资源描述规范和数据标准》^[16] 对 F_6 代自交系的果实性状进行调查。

1.2.4 人工接种 CMV 鉴定 F_7 代自交系对 CMV 的抗性 2020 年 7 月选择父母本材料和 47 个 F_7 代自交系育苗,待 4 叶 1 心时用于人工接种 CMV。接种方法参照姚敏等^[17] 建立的 CMV 侵染性克隆法,在农杆菌的介导下进行侵染,并根据实际需求进行改进。构建在 pCB301-2 \times 35S-MCS-HDV_{RZ}-NOS 植物表达载体上的 CMV 侵染性克隆由南京农业大学陶小荣老师提供。高抗 CMV 的父本 PBC688 为抗性对照,易感 CMV 的母本 G29 为感病对照。每个 F_7 代株系人工接种 25 株,5 株接种蒸馏水,5 株接种空白载体,15 株接种 CMV 侵染性克隆。

2 结果与分析

2.1 InDel 分子标记辅助筛选抗 CMV 基因 *qCmr2.1*

本研究利用 3 个与抗 CMV 基因 *qCmr2.1* 紧密连锁的 InDel 分子标记对 109 个 F_6 代自交系进行抗性基因筛选。InDel-2-134 和 InDel-2-151 为侧翼分子标记,InDel-2-140 为中间分子标记,InDel-2-140 与抗性基因连锁最为紧密。由图 2 可以看出,InDel-2-134 在部分株系的扩增条带为 230 bp,与高抗 CMV 材料 PBC688 一致;在部分株系的扩增条带为 211 bp,与感 CMV 材料 G29 一致;在部分株系的扩增条带为杂合状态。InDel-2-140 在部分株系的扩增条带为 168 bp,与 PBC688 一致;在部分株系的扩增条带与 G29 一致,为 178 bp;在部分株系为杂合型。InDel-2-151 在抗 CMV 株系中的扩增条带为 100 bp,在感 CMV 株系中的扩增条带为 107 bp;在部分株系表现为杂合。通过统计分析发现,在 109 个自交系中,28 个自交系的扩增条带与高抗 CMV 材料 PBC688 完全一致;65 个自交系的扩增条带与感 CMV 材料 G29 完全一致;16 个自交系表现为杂合型。在 16 个杂合自交系中,标记间出现重组的自交系有 3 个。自交系 H₆-92、H₆-210 中间标记为杂合型,侧翼标记分别为纯合感病型、纯合抗病型;自交系 H₆-223 侧翼标记为杂合型,中间标记为纯合抗病型(表 1)。上述结果显示,经过 1 次种间杂交和 5 次自交后,3 个标记的纯合率达到 85.3%,其中感病自交系的纯合率为 59.6%,抗病自交系的纯合率为 25.7%,杂合率为 14.7%,重组率为 2.8%。



M: Marker; 1~66: 33 个 F_6 代株系, 每个株系 2 个单株。

图 2 3 个 InDel 分子标记在部分 F_6 代株系中的扩增情况

Fig.2 PCR amplification of three InDel molecular markers in some lines of F_6 population

表 1 F_6 代自交系的分子标记组合及果实性状

Table 1 Molecular marker combination and fruit traits of F_6 inbred lines

序号	种质编号	分子标记组合			果实性状					
		InDel-2-134	InDel-2-140	InDel-2-152	果形	单果质量 (g)	果实纵径 (cm)	果实横径 (cm)	肉厚 (mm)	心室数 (个)
母本	PBC688	0	0	0	椭圆形	1.02±0.14	1.20±0.32	1.13±0.05	1.30±0.02	2.34±0.52
父本	G29	1	1	1	长灯笼形	41.53±4.87	6.93±0.76	4.60±0.41	2.67±0.26	3.67±0.52
1	H ₆ -224	0	0	0	椭圆形	0.63±0.14	1.23±0.14	1.07±0.10	1.10±0.01	2.00±0
2	H ₆ -35	0	0	0	椭圆形	0.93±0.37	1.40±0.09	1.23±0.05	1.03±0.05	2.00±0
3	H ₆ -219	0	0	0	椭圆形	1.57±0.14	1.93±0.23	1.40±0	1.27±0.21	2.67±0.52
4	H ₆ -222	0	0	0	羊角形	1.67±0.05	1.97±0.31	1.33±0.14	1.00±0.09	2.67±0.52
5	H ₆ -180	0	0	0	羊角形	2.27±0.21	2.54±0.25	1.45±0.14	1.21±0.09	2.67±0.52
6	H ₆ -232	0	0	0	羊角形	2.37±0.05	2.51±0.24	1.46±0.12	1.21±0.04	2.67±0.52
7	H ₆ -104	0	0	0	短指形	3.52±0.11	4.13±0.02	1.12±0.20	1.22±0.03	2.00±0
8	H ₆ -7	0	0	0	椭圆形	4.23±0.75	2.10±0.09	1.20±0.09	1.00±0.36	2.00±0
9	H ₆ -226	0	0	0	短锥形	4.33±0.10	3.00±0.15	2.07±0.05	1.47±0.23	3.33±0.52
10	H ₆ -88	0	0	0	短锥形	4.61±0.12	4.10±0.12	2.03±0.15	1.30±0.03	3.00±0
11	H ₆ -44	0	0	0	短锥形	4.70±0.47	2.87±0.27	2.27±0.19	1.67±0.10	3.67±0.52
12	H ₆ -101	0	0	0	短锥形	4.73±1.37	2.10±0.39	2.30±0.24	1.40±0.09	4.00±0
13	H ₆ -228	0	0	0	短锥形	4.83±0.49	2.70±0.32	2.17±0.19	1.30±0.18	3.33±0.52
14	H ₆ -185	0	0	0	羊角形	5.12±0.11	2.65±0.24	1.56±0.12	1.14±0.09	2.67±0.52
15	H ₆ -216	0	0	0	短锥形	5.23±0.21	3.21±0.15	2.36±0.11	2.34±0.02	3.00±0
16	H ₆ -178	0	0	0	羊角形	6.09±0.23	5.23±0.27	2.21±0.14	1.57±0.04	3.00±0
17	H ₆ -239	0	0	0	羊角形	6.32±0.21	5.42±0.23	2.11±0.12	1.65±0.21	2.00±0
18	H ₆ -225	0	0	0	短锥形	7.33±1.80	3.53±0.46	2.73±0.58	1.13±0.05	2.67±0.52
19	H ₆ -240	0	0	0	羊角形	7.47±0.42	5.50±0.27	2.33±0.21	1.70±0.31	2.00±0

续表1 Continued1

序号	种质编号	分子标记组合			果形	果实性状				
		InDel-2-134	InDel-2-140	InDel-2-152		单果质量 (g)	果实纵径 (cm)	果实横径 (cm)	肉厚 (mm)	心室数 (个)
20	H ₆ -111	0	0	0	羊角形	7.67±1.23	2.53±0.19	2.83±0.10	1.50±0.10	2.33±0.52
21	H ₆ -9	0	0	0	短锥形	8.23±0.75	3.10±0.09	2.80±0.09	1.80±0.36	3.33±0.52
22	H ₆ -217	0	0	0	短锥形	9.13±0.81	4.10±0.15	2.70±0.15	2.03±0.14	3.33±0.52
23	H ₆ -166	0	0	0	羊角形	10.21±1.21	6.08±0.15	2.25±0.04	2.21±0.49	2.33±0.52
24	H ₆ -148	0	0	0	羊角形	10.80±1.65	6.25±0.21	2.82±0.02	2.15±0.34	2.33±0.52
25	H ₆ -11	0	0	0	短锥形	11.37±1.82	3.90±0.32	3.10±0.18	1.83±0.05	3.33±0.52
26	H ₆ -134	0	0	0	羊角形	12.80±1.79	6.37±0.10	2.73±0.05	2.13±0.49	2.33±0.52
27	H ₆ -220	0	0	0	长灯笼形	15.93±0.51	4.97±0.49	3.07±0.21	1.53±0.05	4.00±0
28	H ₆ -243	0	0	0	长灯笼形	19.83±1.98	6.10±0.41	3.33±0.14	1.90±0.09	4.00±0
29	H ₆ -25	1	1	1	圆球形	1.03±0.37	1.22±0.09	1.19±0.05	1.05±0.05	2.00±0
30	H ₆ -177	1	1	1	长灯笼形	1.00±0.24	1.60±0.32	1.03±0.05	1.20±0.02	2.33±0.52
31	H ₆ -29	1	1	1	椭圆形	1.26±0.25	1.35±0.07	0.96±0.04	0.91±0.03	2.00±0
32	H ₆ -163	1	1	1	长灯笼形	1.47±0.23	2.77±0.19	1.30±0.24	1.07±0.14	2.00±0
33	H ₆ -213	1	1	1	羊角形	1.70±0.15	1.97±0.31	1.33±0.14	1.00±0.09	2.67±0.52
34	H ₆ -20	1	1	1	羊角形	1.83±0.29	2.27±0.14	1.30±0.09	1.23±0.05	3.00±0
35	H ₆ -167	1	1	1	羊角形	1.87±0.27	2.60±0.50	1.40±0.15	1.30±0.09	2.33±0.52
36	H ₆ -63	1	1	1	羊角形	1.90±0.27	3.47±0.14	1.17±0.14	1.30±0.15	2.00±0
37	H ₆ -144	1	1	1	长灯笼形	2.00±0.50	2.57±0.42	1.70±0.15	1.23±0.05	2.67±0.52
38	H ₆ -168	1	1	1	长灯笼形	2.13±0.24	2.12±0.32	1.53±0.05	1.21±0.02	3.33±0.52
39	H ₆ -61	1	1	1	羊角形	2.31±0.31	4.30±0.54	1.33±0.05	1.10±0.09	2.33±0.52
40	H ₆ -80	1	1	1	长灯笼形	2.37±0.58	1.80±0.09	1.80±0.09	1.30±0.15	3.00±0
41	H ₆ -89	1	1	1	羊角形	2.50±0.39	2.87±0.36	1.50±0.09	1.33±0.19	2.00±0
42	H ₆ -83	1	1	1	长灯笼形	3.10±0.41	3.03±0.05	1.90±0.24	1.40±0	3.67±0.52
43	H ₆ -120	1	1	1	短指形	3.15±0.23	4.14±0.04	1.22±0.11	1.25±0.03	2.00±0
44	H ₆ -123	1	1	1	长灯笼形	3.33±0.63	2.40±0.18	1.77±0.14	1.20±0	4.00±0
45	H ₆ -84	1	1	1	短指形	3.56±0.21	4.23±0.04	1.02±0.11	1.20±0.03	2.00±0
46	H ₆ -161	1	1	1	椭圆形	3.67±0.81	2.40±0.09	2.00±0.18	1.37±0.05	3.33±0.52
47	H ₆ -139	1	1	1	圆球形	3.83±0.49	2.17±0.26	2.03±0.19	1.50±0.01	2.00±0
48	H ₆ -126	1	1	1	短锥形	3.90±0.47	3.07±0.05	1.90±0.09	1.63±0.29	3.00±0
49	H ₆ -41	1	1	1	短锥形	4.33±0.45	2.72±0.27	2.27±0.21	1.77±0.14	3.33±0.52
50	H ₆ -66	1	1	1	方灯笼形	4.37±0.55	2.80±0.09	2.68±0.08	1.40±0.21	3.00±0
51	H ₆ -42	1	1	1	长灯笼形	5.03±0.05	2.73±0.27	2.27±0.21	1.77±0.14	3.33±0.52
52	H ₆ -82	1	1	1	长灯笼形	5.10±0.50	4.53±0.05	2.13±0.22	1.60±0.05	4.00±0
53	H ₆ -95	1	1	1	长灯笼形	5.63±3.23	4.43±0.27	2.90±0.15	1.23±0.23	3.33±0.52
54	H ₆ -215	1	1	1	羊角形	5.70±0.18	4.93±0.14	1.83±0.05	1.20±0	3.33±0.52
55	H ₆ -109	1	1	1	长灯笼形	5.77±0.36	3.20±0.15	2.50±0.09	1.57±0.05	3.00±0
56	H ₆ -124	1	1	1	长灯笼形	6.13±0.10	4.43±0.29	2.07±0.10	1.33±0.14	3.00±0
57	H ₆ -31	1	1	1	长灯笼形	6.57±1.22	4.60±0.63	2.10±0.09	1.40±0.05	2.00±0
58	H ₆ -164	1	1	1	长灯笼形	6.65±0.52	3.26±0.25	2.12±0.23	1.75±0.11	3.33±0.52
59	H ₆ -141	1	1	1	长灯笼形	6.97±1.60	3.50±0.27	2.23±0.26	1.70±0.15	3.33±0.52
60	H ₆ -127	1	1	1	长灯笼形	7.13±1.66	4.23±0.40	2.30±0.15	1.30±0.15	2.33±0.52
61	H ₆ -105	1	1	1	长灯笼形	7.37±0.40	5.37±0.37	2.43±0.21	0.97±0.05	3.00±0

续表1 Continued1

序号	种质编号	分子标记组合			果形	果实性状				
		InDel-2-134	InDel-2-140	InDel-2-152		单果质量 (g)	果实纵径 (cm)	果实横径 (cm)	肉厚 (mm)	心室数 (个)
62	H ₆ -68	1	1	1	羊角形	7.53±0.62	3.57±0.21	1.92±0.15	1.32±0.05	3.00±0
63	H ₆ -94	1	1	1	长灯笼形	10.37±0.27	4.00±0.15	2.70±0.24	1.24±0.10	3.33±0.52
64	H ₆ -218	1	1	1	长灯笼形	10.43±0.99	5.40±0.09	2.80±0.15	1.50±0.18	3.33±0.52
65	H ₆ -140	1	1	1	方灯笼形	12.17±1.72	3.50±0.27	2.73±0.49	2.30±0.27	3.67±0.52
66	H ₆ -100	1	1	1	羊角形	12.57±1.25	5.63±0.32	2.20±0.32	1.96±0.21	3.00±0
67	H ₆ -99	1	1	1	羊角形	13.77±4.16	4.93±0.44	2.90±0.54	2.10±0.41	2.33±0.52
68	H ₆ -55	1	1	1	长灯笼形	15.57±0.26	4.40±0.32	3.57±0.05	1.83±0.23	4.33±0.52
69	H ₆ -15	1	1	1	羊角形	15.80±1.59	7.50±0.31	3.03±0.05	2.43±0.14	2.67±0.52
70	H ₆ -103	1	1	1	长灯笼形	17.17±1.61	4.70±0.56	3.83±0.14	1.70±0.18	3.00±0.89
71	H ₆ -96	1	1	1	长灯笼形	17.77±2.69	4.20±0.24	3.43±0.14	2.13±0.19	4.00±0.89
72	H ₆ -56	1	1	1	方灯笼形	19.57±0.22	5.20±0.21	4.55±0.03	2.03±0.21	4.00±0
73	H ₆ -45	1	1	1	长灯笼形	23.07±0.76	6.10±0	3.73±0.23	2.33±0.14	4.00±0
74	H ₆ -93	1	1	1	长灯笼形	25.40±3.57	6.30±0.32	3.83±0.54	1.97±0.36	3.33±0.52
75	H ₆ -50	1	1	1	长灯笼形	34.97±2.20	6.63±0.37	4.47±0.23	2.53±0.14	3.67±0.52
76	H ₆ -117	1	1	1	长灯笼形	35.33±3.74	6.20±0.24	4.37±0.34	2.43±0.23	4.00±0
77	H ₆ -54	1	1	1	长灯笼形	35.70±4.26	6.93±0.49	4.57±0.31	2.50±0.45	3.67±0.52
78	H ₆ -115	1	1	1	长灯笼形	36.47±2.69	5.83±0.23	5.00±0.41	2.50±0.27	4.00±0
79	H ₆ -52	1	1	1	长灯笼形	36.50±2.84	5.93±0.19	4.50±0.09	2.37±0.14	4.00±0
80	H ₆ -48	1	1	1	长灯笼形	37.43±2.04	6.80±0.54	4.53±0.23	2.40±0.18	4.00±0
81	H ₆ -102	1	1	1	长灯笼形	37.47±2.27	6.20±0.09	4.70±0.18	2.40±0.15	4.00±0
82	H ₆ -236	1	1	1	长灯笼形	39.30±8.39	6.97±0.72	4.77±0.63	2.20±0.15	4.00±0
83	H ₆ -53	1	1	1	长灯笼形	39.63±10.49	5.93±0.40	4.70±0.41	2.37±0.29	3.67±1.37
84	H ₆ -118	1	1	1	长灯笼形	43.83±7.86	6.77±0.27	4.83±0.40	2.40±0.09	4.33±0.52
85	H ₆ -237	1	1	1	长灯笼形	45.10±6.33	5.97±0.42	5.17±0.05	2.67±0.14	4.00±0
86	H ₆ -114	1	1	1	长灯笼形	46.10±9.58	7.57±0.57	4.73±0.42	3.40±0.50	3.67±0.52
87	H ₆ -47	1	1	1	长灯笼形	46.87±4.12	5.70±0.32	5.40±0.39	3.00±0.15	3.67±0.52
88	H ₆ -113	1	1	1	长灯笼形	50.40±9.20	6.33±0.05	5.03±0.58	2.67±0.44	4.00±0
89	H ₆ -116	1	1	1	长灯笼形	52.23±5.99	6.07±0.34	5.33±0.27	2.73±0.37	4.00±0
90	H ₆ -154	2	2	2	圆球形	2.67±0.22	2.12±0.10	2.13±0.15	1.41±0.04	2.00±0
91	H ₆ -155	2	2	2	圆球形	3.07±0.04	2.25±0.05	2.31±0.07	1.53±0.06	2.00±0
92	H ₆ -64	2	2	2	羊角形	3.37±0.05	3.60±0.64	1.87±0.05	1.13±0.05	3.00±0
93	H ₆ -149	2	2	2	羊角形	4.52±1.01	3.21±0.13	1.48±0.12	1.13±0.11	2.33±0.52
94	H ₆ -165	2	2	2	羊角形	4.87±2.98	3.00±0.18	1.47±0.05	1.20±0.24	2.33±0.52
95	H ₆ -23	2	2	2	椭圆形	5.13±0.49	2.97±0.34	2.03±0.05	1.67±0.21	3.33±1.03
96	H ₆ -125	2	2	2	方灯笼形	5.23±0.10	4.21±0.15	4.07±0.17	1.25±0.02	3.00±0
97	H ₆ -211	2	2	2	羊角形	5.90±1.03	5.17±0.37	2.00±0.15	1.47±0.05	3.00±0
98	H ₆ -214	2	2	2	短锥形	6.20±1.66	3.47±0.29	2.30±0.24	2.07±0.05	3.00±0
99	H ₆ -235	2	2	2	羊角形	7.17±0.54	4.77±0.27	2.20±0.09	1.60±0.15	3.00±0
100	H ₆ -204	1	1	1	方灯笼形	8.13±0.66	2.63±0.14	2.53±0.05	1.83±0.05	4.00±0
101	H ₆ -221	2	2	2	羊角形	8.13±1.20	5.40±0.24	2.53±0.14	1.47±0.05	2.33±0.52
102	H ₆ -136	1	1	1	长灯笼形	8.63±1.21	4.90±0.50	2.37±0.14	1.70±0.54	2.33±0.52
103	H ₆ -241	2	2	2	羊角形	9.53±2.38	5.83±0.31	2.43±0.29	2.37±0.26	3.00±0

续表1 Continued1

序号	种质编号	分子标记组合			果形	果实性状				
		InDel-2-134	InDel-2-140	InDel-2-152		单果质量 (g)	果实纵径 (cm)	果实横径 (cm)	肉厚 (mm)	心室数 (个)
104	H ₆ -22	1	1	1	羊角形	9.57±0.54	4.47±0.14	2.50±0.09	1.90±0.15	3.00±0
105	H ₆ -78	1	1	1	羊角形	9.83±0.76	4.77±0.42	2.50±0.18	1.53±0.05	4.00±0
106	H ₆ -156	2	2	2	羊角形	10.50±0.78	4.60±0.15	2.80±0.09	1.90±0.15	3.00±0
107	H ₆ -210	0	2	0	短锥形	4.00±0.27	2.63±0.21	2.17±0.23	1.53±0.21	3.00±0
108	H ₆ -92	1	2	1	长灯笼形	7.00±1.73	4.23±0.32	2.50±0.24	1.40±0.09	3.67±0.52
109	H ₆ -223	2	0	2	羊角形	18.77±0.06	8.93±0.44	3.27±0.05	2.13±0.05	2.67±0.52

0:纯合抗病型;1:纯合感病型;2:杂合型。

2.2 F₆ 高代自交系的果实性状

由于 F₆ 代自交系的父母本分别来自 *C. frutescens* 和 *C. annuum*, 种间杂交导致后代群体存在不育材料, 所以 F₆ 代群体只有 109 个自交系。农艺性状调查结果显示, 109 个自交系的果形分离显著, 包括与父本类似的椭圆形小果、与母本相似的长灯笼形甜椒以及父母本中间类型的锥形、羊角形、指形等多种类型(图 3)。单果质量为 0.63~52.23 g, 部分材料表现出超亲遗传, 其中 3 个自交系的单果质量小于父本材料, 6 个自交系的单果质量超过母本材料。结合分子标记鉴定结果分析发现, 携带纯合或杂合抗病基因的自交系材料单果质量偏小, 均未超过 20.00 g。其中 H₆-243 为纯合抗 CMV 材料, 呈长灯笼形, 单果质量为 19.83 g, 约为母本材料的 50%。17 个形状为长灯笼形且单果质量超过 20.00 g 的自交系均携带纯合感病基因(表 1)。在 3 个标记间发生重组的自交系材料 H₆-92 的果实与母本类似, 呈长灯笼形, 单果质量为 7.00 g; H₆-210 果实呈短锥形, 单果质量仅为 4.00 g; H₆-223 果实呈羊角形, 单果质量为 18.77 g, 果实纵径为 8.93, 果实横径为 3.27 cm, 首花节位低, 连续坐果率高, 整株果实数量为 63 个(图 4)。综上所述, H₆-223 是为数不多的携带抗性基因且农艺性状优良的材料, 可进一步用于抗 CMV 育种。

2.3 F₇ 代自交系对 CMV 的抗性

InDel-2-134、InDel-2-140 和 InDel-2-151 这 3 个分子标记, 本研究选择的 47 个 F₇ 代自交系包括 21 个与抗病材料 PBC688 一致的自交系、14 个与感病材料 G29 一致的自交系、9 个杂合状态自交系、3 个在 InDel 分子标记间发生重组的自交系。由表 2 可以看出, 21 个与 PBC688 的 3 个 InDel 分子标记一致的自交系的平均病情指数为 8.18, 其中 5 个株系

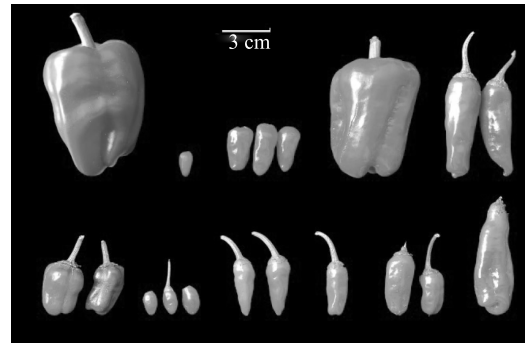


图 3 F₆ 代自交系中的不同果实形状

Fig.3 Different fruit shape of F₆ inbred lines



图 4 3 个 InDel 分子标记间发生重组的 3 个自交系

Fig.4 The three inbred lines with recombination among the three InDel molecular markers

表现为高抗, 16 个株系表现为抗; 14 个与 G29 3 个 InDel 分子标记一致的自交系的平均病情指数为 49.95, 其中 13 个株系表现为感病, 1 个株系表现为中抗; 9 个杂合自交系的平均病情指数为 21.07, 其中 4 个株系表现为抗, 5 个株系表现为中抗, 同一株系内不同单株对 CMV 的抗性出现分离; 3 个分子标记间发生重组的自交系的平均病情指数为 20.25, 其中 2 个株系表现为中抗, 1 个表现为高抗。高抗株系 H₆-223 在 InDel-2-140 标记处的基因型与抗性材料 PBC688 一致, 两翼标记为杂合状态, 其 H₇ 代

的病情指数为 1.48。由以上结果可以看出,人工接种鉴定结果与分子标记鉴定结果具有很高的一致性。结合分子标记鉴定、果实性状调查和人工接种

鉴定结果可以看出,H₆-223 同时具有高抗 CMV 和优良农艺性状,是一份优异的抗 CMV 育种材料。

表 2 部分 F₇代自交系人工接种黄瓜花叶病毒的抗性鉴定结果

Table 2 Identification result of artificial inoculation with cucumber mosaic virus (CMV) in some F₇ inbred lines

种质编号	抗 CMV 接种鉴定		分子标记组合		
	病情指数(DI)	抗性	InDel-2-134	InDel-2-140	InDel-2-151
H ₆ -15	61.48	S	1	1	1
H ₆ -20	60.00	S	1	1	1
H ₆ -22	49.63	S	1	1	1
H ₆ -29	51.11	S	1	1	1
H ₆ -41	45.19	S	1	1	1
H ₆ -42	45.19	S	1	1	1
H ₆ -45	61.48	S	1	1	1
H ₆ -47	46.67	S	1	1	1
H ₆ -48	45.19	S	1	1	1
H ₆ -50	37.78	MR	1	1	1
H ₆ -52	43.70	S	1	1	1
H ₆ -99	50.37	S	1	1	1
H ₆ -114	45.93	S	1	1	1
H ₆ -236	55.56	S	1	1	1
平均	49.95				
H ₆ -9	8.15	R	0	0	0
H ₆ -35	14.07	R	0	0	0
H ₆ -44	8.15	R	0	0	0
H ₆ -88	3.70	HR	0	0	0
H ₆ -101	18.52	R	0	0	0
H ₆ -111	11.85	R	0	0	0
H ₆ -134	6.67	R	0	0	0
H ₆ -148	6.67	R	0	0	0
H ₆ -178	3.70	HR	0	0	0
H ₆ -216	5.19	R	0	0	0
H ₆ -217	10.37	R	0	0	0
H ₆ -219	7.41	R	0	0	0
H ₆ -220	1.48	HR	0	0	0
H ₆ -222	6.67	R	0	0	0
H ₆ -224	5.93	R	0	0	0
H ₆ -225	8.15	R	0	0	0
H ₆ -226	11.85	R	0	0	0
H ₆ -228	18.52	R	0	0	0
H ₆ -239	8.15	R	0	0	0

续表2 Continued2

种质编号	抗 CMV 接种鉴定		分子标记组合		
	病情指数 (DI)	抗性	InDel-2-134	InDel-2-140	InDel-2-151
H ₆ -240	2.22	HR	0	0	0
H ₆ -243	4.44	HR	0	0	0
平均	8.18				
H ₆ -23	14.07	R	2	2	2
H ₆ -64	12.59	R	2	2	2
H ₆ -149	17.04	R	2	2	2
H ₆ -156	25.19	MR	2	2	2
H ₆ -165	25.93	HR	2	2	2
H ₆ -211	25.19	MR	2	2	2
H ₆ -214	27.41	MR	2	2	2
H ₆ -221	17.04	R	2	2	2
H ₆ -241	25.19	MR	2	2	2
平均	21.07				
H ₆ -92	27.41	MR	1	2	1
H ₆ -210	31.85	MR	0	2	0
H ₆ -223	1.48	HR	2	0	2
平均	20.25				
PBC688(抗病对照)	2.22	HR	0	0	0
G29(感病对照)	45.19	S	1	1	1

病情指数 (DI) = $\sum (\text{病级} \times \text{该病级株数}) / (9 \times \text{总株数}) \times 100$ 。免疫: DI = 0; 高抗: $0 < DI \leq 5.0$; 抗: $5.1 < DI \leq 20.0$; 中抗: $20.1 < DI \leq 40.0$; 感病: $DI > 40.0$ 。S: 感病; MR: 中抗; R: 抗病; HR: 高抗。0: 纯合抗病型; 1: 纯合感病型; 2: 杂合型。

3 讨论

黄瓜花叶病毒为世界十大植物病毒之一,可侵染果树、蔬菜和观赏植物等 100 多个科的 1 200 多种植物,其中茄科蔬菜,特别是辣椒、番茄极易受 CMV 侵染^[18]。在中国,抗 CMV 育种一直是辣椒抗病育种的主要目标之一,但 CMV 病毒株系类型多、变异快、重组频繁、传播媒介多、寄主范围广,而高抗 CMV 辣椒资源稀缺、抗性机制复杂、抗性基因在转育过程中易丢失,以上原因导致目前生产上推广的辣椒品种不能满足抗 CMV 的需求^[3]。鉴定和应用新的抗 CMV 基因或将多个抗性基因聚合,育成广谱、持久、高抗 CMV 的辣椒品种是解决高抗 CMV 品种稀缺最有效的方法^[19]。

目前,人们已经从辣椒上鉴定出 30 多个抗 CMV 相关的 QTL 和基因,除显性基因 *Cmr1* 外,其他抗性基因均未得到转育应用,根本原因在于抗性基因和抗性机制尚不清晰^[3]。笔者所在课题组在

C. frutescens cv. PBC688 的 2 号染色体上定位到 1 个抗 CMV 的主效 QTL (*qCmr2.1*),预测的候选基因 *Ca02g19570* 与拟南芥中抗 CMV 基因 *RCY1* 同属于 NBS-LRR 家族基因,经基因表达模式分析和病毒诱导的基因沉默 (VIGS) 技术验证,明确了 *Ca02g19570* 是辣椒抗 CMV 的抗性基因,与其紧密连锁的 InDel 标记可用于辣椒抗 CMV 的辅助筛选^[15, 20]。

本研究通过 3 个与 *qCmr2.1* 紧密连锁的 InDel 标记分析显示, F₆ 代自交系 3 个 InDel 分子标记的纯合率为 85.3%, 其中感病自交系的纯合率为 59.6%, 抗病自交系的纯合率为 25.7%, 杂合率为 14.7%。这一结果说明,经过 1 代种间杂交和 5 代自交, F₆ 代自交系材料不能达到完全纯合的状态。王立浩等^[13] 研究发现,经过 1 次杂交和 5 次回交,果实的大小和单果质量快速提高,但方差较大,说明群体内基因尚未纯合。郭聚领等^[21] 利用重测序技术和生物信息学相结合的方法对甘蓝型油菜 BC₃F₃

世代中选单株进行背景分析发现,背景回复率不能完全纯合,中选单株的背景回复率较高的 2 个单株的背景回复率分别为 97.93% 和 98.18%。前期未经过分子标记辅助筛选, F_6 代纯合抗病材料比例显著低于纯合感病材料,笔者猜测其原因可能是父母本分别为 *C. fruticencens* 和 *C. annuum*,种间杂交导致后代群体存在不育材料,而抗性基因与不良农艺性状连锁遗传,导致携带抗性基因的株系不育率更高。卢倩倩等^[22]利用白菜根肿病基因连锁标记对 F_2 代单株进行分子标记辅助筛选,同样发现携带纯合抗病基因的植株偏少。

109 个自交系中在 3 个分子标记间发生重组的自交系为 3 个,重组率为 2.8%,说明在抗性基因转育过程中,基因间重组效率低,会导致不良农艺性状的连锁累赘。在本研究中,通过农艺性状调查发现,携带纯合或杂合抗病基因的自交系果实较小,首花节位高,花期、成熟期显著晚于母本材料。研究还发现,首花节位、花期及成熟期这 3 个与果实成熟相关的性状有 6 个显著关联的单核苷酸多态性(SNP)定位到了 2 号染色体的 154 815 667~155 002 754 bp 区域^[23]。本研究所用 3 个分子标记的物理区间为 152 845 012~153 206 189 bp,与果实成熟相关性状的定位区间毗邻,它们之间很有可能连锁遗传,最终导致首花节位高以及花期和成熟期晚。祝光涛^[24]通过比较栽培种番茄和野生番茄基因组的相似性发现,抗病基因在栽培种中的应用导致较大外源 DNA 片段的渗入,而这些长 DNA 片段在栽培种中的渗入可能会产生严重的连锁累赘。在小麦抗赤霉病育种过程中,丰产性与赤霉病抗性之间的矛盾是小麦育种的世界性难题^[25-27]。综上,在抗病基因转育过程中需要综合利用分子标记辅助选择和常规育种策略,从而创制出抗病性强、综合农艺性状优良的育种材料,才能更好地推进抗病品种选育。

本研究通过人工接种 CMV 鉴定 F_7 代自交系对 CMV 的抗性显示,3 个 InDel 分子标记与感病材料 G29 一致的 14 个自交系的平均病情指数为 49.95,其中 13 个株系表现为感病,1 个株系表现为中抗;3 个 InDel 分子标记与抗病材料 PBC688 一致的 21 个自交系的平均病情指数为 8.18,其中高抗株系 5 个,抗病株系 16 个;而杂合基因型的株系单株抗性出现了分离,当自交系的中间分子标记 InDel-2-140 与抗病材料 PBC688 一致时,后代单株均表现出抗病。

以上结果表明,人工接种鉴定结果与分子标记鉴定结果基本吻合,中间分子标记 InDel-2-140 与抗性基因 *qCmr2.1* 的连锁最为紧密,筛选准确度最高。苏晓梅^[28]通过基因型分析发现, F_2 群体中具有纯合抗病基因型的为 12 株,而人工选育的单株中具有纯合抗病基因型的为 3 株,这一结果说明,传统的田间选择方法降低了目标基因(纯合抗病)入选率,而利用分子标记筛选可以防止目标基因丢失。郭聚领等^[21]利用与油酸含量性状基因连锁的 InDel 分子标记辅助选择高油酸含量的甘蓝型油菜,结果显示,改良材料的种子油酸含量明显高于轮回亲本且差异极显著,说明利用分子标记辅助选择进行油酸含量改良是可行的。以上研究结果表明,利用分子标记进行目的基因的辅助选择效率更高,可以有效地应用于植物育种。

综上所述,本研究以高抗 CMV 种质 PBC688 为母本和感病甜椒品种 G29 为父本,通过种间杂交和连续自交获得了 F_6 代自交系,辅以 InDel 分子标记筛选结合农艺性状调查和人工接种鉴定,建立了辣椒抗 CMV 分子标记辅助筛选体系,并创制出 1 份高抗 CMV 且农艺性状优良的自交系材料 H₆-223,可用于后续的辣椒抗 CMV 育种。

参考文献:

- [1] SCHOLTHOF K B G, ADKINS S, CZOSNEK H, et al. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology[J]. Molecular Plant Pathology, 2011, 12(9): 938-954.
- [2] 刘勇,李凡,李月月,等. 侵染我国主要蔬菜作物的病毒种类、分布与发生趋势[J]. 中国农业科学, 2019, 52(2): 239-261.
- [3] 于海龙,张正海,曹亚从,等. 辣椒抗黄瓜花叶病毒病研究进展[J]. 园艺学报, 2019, 46(9): 1813-1824.
- [4] 王少立,谭玮萍,杨园园,等. 山东省辣椒主要病毒种类的分子检测与鉴定[J]. 中国农业科学, 2017, 50(14): 2728-2738.
- [5] 郭广君,王述彬,刘金兵,等. 植物抗黄瓜花叶病毒基因研究进展[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(6): 1430-1436.
- [6] RIBAUT J M, HOISINGTON D. Marker-assisted selection: new tools and strategies[J]. Trends in Plant Science, 1998, 3(6): 236-239.
- [7] JOSHUA N C, PARTHA S B, DAMIEN J P. Back to the future: revisiting MAS as a tool for modern plant breeding[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2019, 132(3): 647-667.
- [8] KUMAR S, BANKS T W, CLOUTIER S. SNP discovery through next-generation sequencing and its applications[J]. International Journal of Plant Genomics, 2012, 831460: 1-15. DOI:10.1155/

- 2012/831460.
- [9] MAMMADOV J, AGGARWAL R, BUYARAPU R, et al. SNP markers and their impact on plant breeding[J]. International Journal of Plant Genomics, 2012, 728398: 1-11. DOI: 10.1155/2012/728398.
- [10] AMDADUL H M, AKTER S, JUNG Y J, et al. Genome sequencing, a milestone for genomic research and plant breeding[J]. Plant Breeding and Biotechnology, 2016, 4(1): 29-39.
- [11] BARKA G D, LEE J. Molecular marker development and gene cloning for diverse disease resistance in pepper (*Capsicum annuum* L.): current status and prospects[J]. Plant Breeding and Biotechnology, 2020, 8(2): 89-113.
- [12] 李 宁, 宫丽媛, 高升华, 等. 辣椒种质的抗性基因分子标记检测[J]. 中国蔬菜, 2020(8): 19-32.
- [13] 王立浩, 张正海, 毛胜利, 等. 甜椒抗番茄斑点萎蔫病毒的种质创新[J]. 中国蔬菜, 2016(2): 19-23.
- [14] 王立浩, 张宝玺, 张正海, 等. 抗番茄斑点萎蔫病毒甜椒新品种中椒 115 号的选育[J]. 中国蔬菜, 2019(4): 80-81.
- [15] GUO G J, WANG S B, LIU J B, et al. Rapid identification of QTLs underlying resistance to *Cucumber mosaic virus* in pepper (*Capsicum frutescens*) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2017, 130(1): 41-52.
- [16] 李锡香, 张宝玺. 辣椒种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 51-54.
- [17] 姚 敏, 张天奇, 田志超, 等. 农杆菌介导的 CMV 侵染性克隆及 2b 缺失突变体构建[J]. 中国农业科学, 2011, 44(14): 3060-3068.
- [18] PALUKAITIS P, ROOSSINCK M J, DIETZGEN R G, et al. Cucumber mosaic virus[J]. Annals of the Phytopathological Society of Japan, 2012, 31(1): 281-348.
- [19] 郭广君, 刁卫平, 刘金兵, 等. 辣椒抗黄瓜花叶病毒病研究进展[J]. 华北农学报, 2015, 29(增刊 1): 77-84.
- [20] 张根莲, 郭广君, 潘宝贵, 等. 辣椒抗黄瓜花叶病毒病候选基因功能鉴定[J]. 分子植物育种, 2020, 18(17): 5537-5543.
- [21] 郭聚领, 石笑蕊, 辛 强, 等. 分子标记辅助选育甘蓝型油菜高油酸 pol TCMS 不育两用系及其恢复系[J]. 中国油料作物学报, 2021, 43(3): 418-425.
- [22] 卢倩倩, 孟 艳, 张妮南, 等. 分子标记辅助选择创制抗根肿病橙色大白菜新种质[J/OL]. 分子植物育种[2021-02-09]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210209.0931.004.html>.
- [23] 赵 红. 我国辣椒核心种质评价及其主要园艺性状的全基因组关联分析[C]. 北京: 中国农业科学院, 2018.
- [24] 祝光涛. 番茄重要农艺性状的全基因组关联分析及野生种质在栽培种的渐渗分析[C]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
- [25] 胡中泽, 衣政伟, 王 安, 等. 小麦抗赤霉病品种筛选[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(15): 118-124.
- [26] 刘建军, 李豪圣, 陈雪燕, 等. 利用分子标记辅助选择创制抗赤霉病小麦新品系[J]. 山东农业科学, 2021, 53(5): 74-79.
- [27] 袁 谦, 侯 颖, 赵永涛, 等. 小麦赤霉病抗性鉴定圃的构建及应用[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(17): 125-128.
- [28] 苏晓梅. 番茄前景标记和背景标记的开发与应用研究[C]. 北京: 中国农业科学院, 2014.

(责任编辑: 徐 艳)