Using the SCAR and CAPS Markers Assisted **Selection Pepper Restorer Research**

Hongyuan Zhang, Min Zhang, Jie Tan, Shuping Huang, Chunli Wang, Xia Chen, Taiming Tan*

Institute of Vegetable, Wuhan Academy of Agriculture Science and Technology, Wuhan Hubei Email: hongyuanzhang2011@163.com, *tantaiminggz@163.com

Received: May 6th, 2017; accepted: May 23rd, 2017; published: May 26th, 2017

Abstract

Pepper (Capsicum annuum L.) tender leaves were used as the research object in this present study. Three pairs of dominant SCAR markers and a pair of co-dominant CAPS markers were applied to detect sixteenth known sterility pepper materials for verifying the feasibility of these primers. Then, the four pairs of primers were used to identify restorer genes in one hundred and twelve unknown pepper materials. The result showed that SCAR and CAPS displayed completely consistent in the sixteenth pepper materials, which were known contain or uncertain restorer gene peppers. In the one hundred and twelve unknown restorer genes pepper resources, one hundred and four materials were identical in the four pairs of primers detection results, including fifty-one had dominant restorer genes, accounted for 49.04%, and twenty-two materials had homozygous restoring genes. SCAR and CAPS molecular markers were combined and established a restorer gene PCR detection method in this present study, which can be used in marker-assisted selection restoring genes and alleles homozygous state.

Keywords

Pepper (Capsicum annuum L.), Rf Gene, Sequence-Characterized Amplified Regions (SCAR), Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (CAPS), Molecular Maker

运用SCAR和CAPS分子标记辅助筛选 辣椒恢复系研究

张洪源,张 敏,谈 杰,黄树苹,王春丽,陈 霞,谈太明*

武汉市农业科学技术研究院蔬菜科学研究所, 湖北 武汉 Email: hongyuanzhang2011@163.com, *tantaiminggz@163.com

收稿日期: 2017年5月6日: 录用日期: 2017年5月23日: 发布日期: 2017年5月26日

*通讯作者。

摘要

以辣椒(Capsicum annuum L.)幼嫩叶片为研究材料,利用3对显性SCAR标记和1对共显性CAPS标记对16份已知育性的辣椒材料进行引物可行性验证,再利用这4对引物对112份未知恢复基因资源的辣椒材料进行恢复基因鉴定。结果表明:SCAR和CAPS在16份辣椒材料中的结果完全一致,112份未知恢复基因辣椒资源鉴定中有104份材料在4对引物检测结果完全一致,其中51份具有恢复基因连锁的特异带型,占比49.04%,且22份具有纯合的恢复基因。本研究将SCAR和CAPS分子标记结合起来建立了与恢复基因RF有关的PCR检测方法,可对辣椒恢复基因及其等位基因纯合状态进行分子标记辅助筛选。

关键词

辣椒,恢复基因,SCAR,CAPS,分子标记

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



Open Access

1. 引言

辣椒(Capsicum annuum L.)属于茄科辣椒属一年生或有限多年生草本作物,原产地墨西哥,明代末年传入我国。辣椒中维生素含量丰富,其果皮一般含有辣椒素而有辛辣,能增进食欲,深受消费者喜爱。1952 年 Martin 等首次报道了辣椒细胞质雄性不育(CMS)现象,其后 Peterson 等在 1958 年发现 CMS 辣椒育性恢复主要 1 个主效恢复基因 Rf 的控制[1] [2]。辣椒具有明显的杂种优势,利用细胞质雄性不育系、保持系和恢复系三系配套制备杂交种可较好解决生产上花药去雄不彻底的问题,确保了杂交种子纯度,降低了制种风险[3]。自上个世纪 90 年代以来,辣椒 CMS 三系配套已被广泛应用于辣椒杂种一代的生产,并取得了较好的经济效益[4]。传统的辣椒育种技术主要根据杂交组合的育性来判断是否具有恢复基因,配组数较多,且耗时耗力,存在一定盲目性。

DNA 分子标记辅助筛选通过对恢复基因紧密连锁的分子标记进行检测,可有效加快恢复系的筛选进程。徐小万等[5]利用已公布的 SCAR 标记引物 CRF-SCAR 对 359 份未知育性的辣椒进行恢复基因的鉴定,CRF-SCAR 与 Rf 基因的遗传距离为 5.3 cM,结果显示有 35 份材料有恢复基因特异条带,占比 9.75%。杨娟等[6]利用 175 对均匀分布在辣椒染色体上的 SSR 引物对辣椒不育系 113A、恢复系 139 及其 F2 代群体进行筛选,发现 AF208834 引物和 Rf 基因连锁,遗传距离为 20.8 cM,并且利用 CRF-SCAR 标记对 36 份恢复系材料进行分子标记辅助选择验证,结果表明,30 份恢复系有特异条带,正确率为 83.33%,并从 108 份未知育性材料中,检测到 41 份有恢复基因的材料。先前报道的细胞质不育基因主要有两个[7] [8],即线粒体嵌合基因 orf507 和假基因 Ψatp6-2。最新报道,Jo 等[9]利用 DNA 分子标记图位克隆和生物信息学方法将 Rf 基因确定在 821 Kb 区间,初步确定一个 PPR 基因 CaPPR6 为其主要候选基因,并且认为 CaPPR6 与嵌合基因 orf507 和假基因 Ψatp6-2 均存在较强的核质互作关系。

本研究利用 CaPPR6 候选基因定位的研究结果,选取与 Rf 基因遗传距离和物理距离接近的 3 对 SCAR 引物,对 112 份未知恢复基因资源的辣椒材料进行恢复基因鉴定,并利用 1 对 CAPS 标记引物来检测恢复基因等位位点的纯合度,可明显提高恢复系筛选效率,为育种中辣椒恢复系筛选提供了良好的理论指导。

2. 材料与方法

2.1. 供试材料

供试的 128 份辣椒材料由武汉市农科院蔬菜科学研究所茄果室团队提供,其中已知育性材料 16 份,包含 6 份 CMS 不育系材料、8 份保持系材料和 2 份恢复系材料;其余 112 份辣椒为未知恢复基因材料。试验材料田间编号及其园艺学类型见表 1。

 Table 1. Selected pepper materials and horticulture type

 表 1. 供试辣椒材料及其园艺学类型

实验编号	材料编号	材料类型	实验编号	材料编号	材料类型	实验编号	材料编号	材料类型
1	C100	羊角椒	39	C158	牛角椒	76	C206	羊角椒
2	C103	甜椒	40	C160	甜椒	77	C207	羊角椒
3	C111	羊角椒	41	C161	羊角椒	78	C210	螺丝椒
4	C112	线椒	42	C162	羊角椒	79	C210-1	螺丝椒
5	C115	线椒	43	C163	羊角椒	80	C214	甜椒
6	C116	线椒	44	C164	羊角椒	81	C216	朝天椒
7	C117	线椒	45	C165	炮椒	82	C217	朝天椒
8	C118	线椒	46	C166	炮椒	83	C218	线椒
9	C119	线椒	47	C167	线椒	84	C219	炮椒
10	C120	线椒	48	C168	牛角椒	85	C220	羊角椒
11	C121	羊角椒	49	C170	螺丝椒	86	C221	羊角椒
12	C122	羊角椒	50	C171	炮椒	87	C212	牛角椒
13	C123	羊角椒	51	C172	牛角椒	88	C213	甜椒
14	C124	羊角椒	52	C174	牛角椒	89	C222	羊角椒
15	C125	羊角椒	53	C175	炮椒	90	C223	羊角椒
16	C217	朝天椒	54	C176	炮椒	91	C16	炮椒
17	C130	羊角椒	55	C177	炮椒	92	C69	炮椒
18	C131	羊角椒	56	C178	炮椒	93	C71	羊角椒
19	C132	羊角椒	57	C179	炮椒	94	C73	羊角椒
20	C133	羊角椒	58	C180	牛角椒	95	C84	牛角椒
21	C134	羊角椒	59	C182	炮椒	96	C93	羊角椒
22	C135	羊角椒	60	C183	炮椒	97	C94	羊角椒
23	C138	炮椒	61	C185	牛角椒	98	C95	羊角椒
24	C139	炮椒	62	C186	牛角椒	99	C96	羊角椒
25	C140	羊角椒	63	C187	牛角椒	100	C97	羊角椒
26	C141	羊角椒	64	C188	牛角椒	101	C212-2	牛角椒
27	C142	羊角椒	65	C189	线椒	102	C244	牛角椒
28	C143	羊角椒	66	C192	牛角椒	103	C414	牛角椒
29	C144	羊角椒	67	C193	牛角椒	104	C 大有	牛角椒
30	C145	羊角椒	68	C195	线椒	105	C114	羊角椒
31	C146	羊角椒	69	C196	羊角椒	106	C173	炮椒
32	C147	羊角椒	70	C197	羊角椒	107	C190	牛角椒
33	C148	羊角椒	71	C198	羊角椒	108	C191	牛角椒
34	C151	炮椒	72	C202	羊角椒	109	C194	线椒
35	C153	羊角椒	73	C203	羊角椒	110	C208	炮椒
36	C155	羊角椒	74	C204	牛角椒	111	C209	炮椒
37	C156	炮椒	75	C205	羊角椒	112	C211	螺丝椒
38	C157	牛角椒						

4 对检测引物委托南京金斯瑞公司合成,PCR mix 试剂购于武汉擎科生物科技有限公司,DNA 核酸染液购于北京天根公司, $Bgl ext{ II }$ 限制性内切酶购于北京 NEB 公司。主要仪器有 PCR 仪(Bio-RAD 公司)和 凝胶成像系统(天根公司)。

2.2. 试验方法

选取辣椒幼嫩叶片,采用 CTAB 法提取 DNA,4 对检测引物信息见表 2。先利用4 对引物对16 份已知恢复基因的辣椒材料进行 PCR 检测,验证检测是否具有一致性,然后再将这4 对引物对112 份未知恢复基因的材料进行 PCR 鉴定。

SCAR 和 CAPS 引物的 PCR 扩增体系统一采用 12 μ L 反应体系,包括 6 μ L 2 × PCR mix (含 Taq 酶、dNTP和溴酚蓝染液)、2.5 μ M 正向引物和反向引物各 1.5 μ L,1 μ L DNA 溶液(浓度 50 ng/ μ L)和 2 μ L ddH₂O。 PCR 扩增程序:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min (分);94 $^{\circ}$ C,30 sec (秒),60 $^{\circ}$ C,60 sec,72 $^{\circ}$ C 延伸 50 sec,30 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min;12 $^{\circ}$ C,hold (终止反应)。

CAPS 引物 PCR 扩增后,向 12 μ L PCR 反应体系中加入 2 × Cutsmart buffer (NEB, USA) 2 μ L, $Bgl\ II$ 限制性内切酶 0.2 μ L(5 U),ddH2O 补充至 20 μ L 酶切反应体系。酶切反应条件:37°C孵育 6 h 或者过夜(无星火效应)。分别从 PCR 反应体系和酶切反应体系中取 6 μ L 扩增产物用于 1.5%琼脂糖电泳,最后进行紫外凝胶成像和拍照记录。

3. 结果与分析

3.1. SCAR 和 CAPS 引物适用性验证

己有的研究报道[5] [9] [10]认为 CRF-SCAR、3336-last2-SCAR、120K-end-SCAR 为显性标记,在恢复系材料中分别能扩增出 890 bp、1639 bp 和 1026 bp 特异带;Co1Mod1-CAPS 为共显性标记[10],在辣椒中扩增特异片段长度为 1177 bp,恢复系特异扩增片段经 Bgl II 限制性内切酶酶切后可产生 601 bp 和 576 bp 两条片段。根据 2016 年 Jo 等[10]的遗传连锁图谱和物理图谱结果,Rf 基因定位于一个 821 kb 的区间,其中 3336-last2-SCAR、120K-end-SCAR 和 Co1Mod1-CAPS 与 Rf 候选基因的物理距离分别为 246 kb、32 kb 和 2 kb。

将 SCAR 和 CAPS 引物对已知育性的 16 份辣椒材料进行引物适用性验证(图 1),结果发现在不育系 (CMS line)和保持系(Maintainer line)中 CRF-SCAR、3336-last2-SCAR、120K-end-SCAR 均无恢复系特异性条带,而在恢复系(Restores line)中均含有恢复系特异性条带;Co1Mod1-CAPS 引物经 PCR 扩增和 Bgl II 限制性内切酶酶切后在恢复系中可产生恢复系特异性带型。说明这 4 对引物在鉴定是否含有恢复基因的辣椒材料中具有较强的一致性。

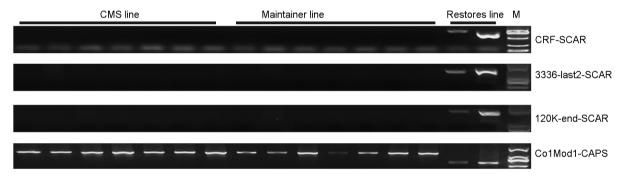
Table 2. Information of SCAR and CAPS primers 表 2. SCAR 引物和 CAPS 引物信息

引物名称	引物序列(5'-3')	参考文献 [9]		
3336-last2-SCAR	F: CATCGAACTGATACGGAAGGAC R: TAACACTACTTGGGGAAAGCG			
120K-end-SCAR	F: TAAAAAAATAGCGGGGGGTAAG R: CCACTTGTCTTGAAGCACTC			
Co1Mod1-CAPS	F: CCACCCCAAACGTAAGGGATC R: CAACTTAGCCAATACAATCCCAC	[9]		
CRF-SCAR	F: GTACACACCACTCGTCGCTCCT R: TTCTTGGGTCCCTTTCTTCCAA	[10]		

3.2. SCAR 和 CAPS 标记辅助筛选辣椒恢复系材料

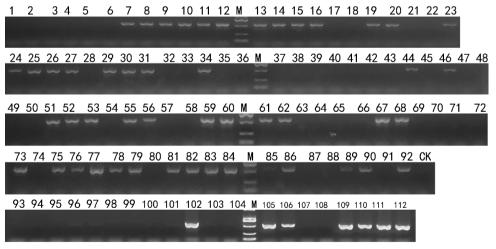
上述结果显示,这 4 对引物在已知育性的辣椒材料中表现了较强的一致性。因此,利用这些引物对112 份未知恢复基因辣椒材料开展恢复系筛选。CRF-SCAR 检测结果显示,55 份辣椒材料含有恢复基因,见图 2;3336-last2-SCAR 检测结果显示,56 份辣椒材料含有恢复基因,见图 3;120K-end-SCAR 检测结果显示,58 份辣椒材料含有恢复基因,见图 4;Co1Mod1-CAPS 引物经 PCR 扩增和 Bgl II 限制性内切酶酶切后显示,57 份辣椒材料含有恢复基因,其中有22 份为纯合恢复基因位点的材料,见图 5。

将以上 PCR 检测结果进行整合与分析(见表 3), 4 对引物检测结果中,有 104 份辣椒材料在这 4 对标记中的检测结果一致,占比 92.86%,仅有 8 份材料的结果不一致,占比 7.14%。8 份检查结果不一致的材料编号分别为 C132、C174、C179、C180、C210、C210-1、C220 和 C414,其中 C132 和 C174 仅在120K-end-SCAR 标记中出现不一致; C179、C180、C210、C210-1 和 C414 在 CRF-SCAR 标记中出现不一致; C85 在 Co1Mod1-CAPS 标记中出现不一致。不同标记之间检查结果的差异可能是由于不同的标记与 Rf 基因遗传连锁关系强弱导致。检查的结果表明,联用三对显性 SCAR 标记和一对共显性 CAPS 标记检测结果仍具有较高的一致性,其检测方便、重复性好、实验成本低,并且能区别恢复基因的杂合度,因此具有广泛的实用性。



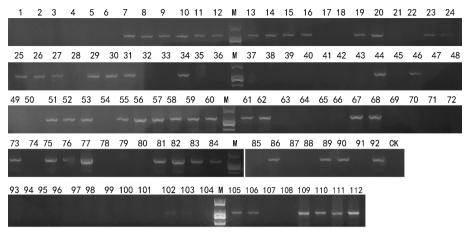
注: CMS line 代表辣椒不育系材料, Maintainer line 代表辣椒保持系材料, Restores line 代表辣椒恢复系材料; M 为 DL2000 maker。

Figure 1. The result of SCAR and CAPS molecular marker detection **图** 1. SCAR 和 CAPS 分子标记检测结果



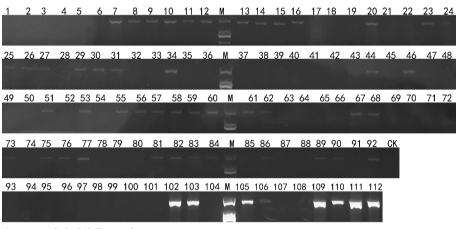
注: 1-112 为实验编号, M 为 DL2000 marker。

Figure 2. CRF-SCAR primer detection result **图 2.** CRF-SCAR 引物检测结果



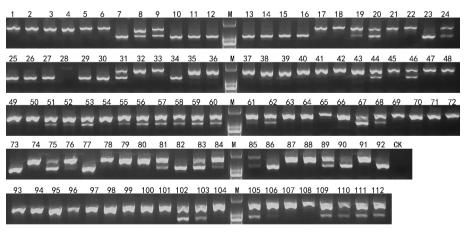
注: 1-112 为实验编号, M 为 DL2000 marker。

Figure 3. 3336-last2-SCAR primer detection result 图 3. 3336-last2-SCAR 引物检测结果



注: 1-112 为实验编号, M 为 DL2000 marker。

Figure 4. 120K-end-SCAR primer detection result **图 4.** 120K-end-SCAR 引物检测结果



注: 1-112 为实验编号, M 为 DL2000 marker。

Figure 5. Co1Mod1-CAPS primer detection result 图 5. Co1Mod1-CAPS 引物检测结果

Table 3. The test results of four molecular marker 表 3. 4 对分子标记引物检测结果

实验编号	A	В	С	D	实验编号	A	В	С	D	实验编号	A	В	С	D
1	r	r	r	rr	39	r	r	r	rr	76	R	R	R	Rr
2	r	r	r	rr	40	r	r	r	rr	77	R	R	R	RR
3	r	r	r	rr	41	r	r	r	rr	78	R	r	r	rr
4	r	r	r	rr	42	r	r	r	rr	79	R	r	r	rr
5	r	r	r	rr	43	r	r	r	rr	80	r	r	r	rr
6	r	r	r	rr	44	R	R	R	Rr	81	R	R	R	RR
7	R	R	R	RR	45	r	r	r	rr	82	R	R	R	Rr
8	R	R	R	Rr	46	R	R	R	Rr	83	R	R	R	Rr
9	R	R	R	Rr	47	r	r	r	rr	84	R	R	R	Rr
10	R	R	R	RR	48	r	r	r	rr	85	r	r	r	Rr
11	R	R	R	RR	49	r	r	r	rr	86	R	R	R	RR
12	R	R	R	RR	50	r	r	r	rr	87	r	r	r	rr
13	R	R	R	RR	51	R	R	R	Rr	88	r	r	r	rr
14	R	R	R	RR	52	R	R	r	Rr	89	R	R	R	Rr
15	R	R	R	RR	53	R	R	R	Rr	90	R	R	R	RR
16	R	R	R	RR	54	r	r	r	rr	91	r	r	r	rr
17	r	r	r	rr	55	R	R	R	Rr	92	R	R	R	RR
18	r	r	r	rr	56	R	R	R	Rr	93	r	r	r	rr
19	R	R	r	Rr	57	r	R	R	Rr	94	r	r	r	rr
20	R	R	R	Rr	58	r	R	R	Rr	95	r	r	r	rr
21	r	r	r	rr	59	R	R	R	Rr	96	r	r	r	rr
22	r	r	r	rr	60	R	R	R	Rr	97	r	r	r	rr
23	R	R	R	RR	61	R	R	R	Rr	98	r	r	r	rr
24	R	R	R	Rr	62	R	R	R	Rr	99	r	r	r	rr
25	R	R	R	RR	63	r	r	r	rr	100	r	r	r	rr
26	R	R	R	RR	64	r	r	r	rr	101	r	r	r	rr
27	R	R	R	RR	65	r	r	r	rr	102	R	R	R	Rr
28	r	r	r	rr	66	r	r	r	rr	103	r	R	R	Rr
29	R	R	R	RR	67	R	R	R	Rr	104	r	r	r	rr
30	R	R	R	RR	68	R	R	R	Rr	105	R	R	R	Rr
31	R	R	R	Rr	69	r	r	r	rr	106	R	R	R	Rr
32	r	r	r	rr	70	r	r	r	rr	107	r	r	r	rr
33	r	r	r	rr	71	r	r	r	rr	108	r	r	r	rr
34	R	R	R	RR	72	r	r	r	rr	109	R	R	R	Rr
35	r	r	r	rr	73	R	R	R	RR	110	R	R	R	Rr
36	r	r	r	rr	74	r	r	r	rr	111	R	R	R	Rr
37	r	r	r	rr	75	R	R	R	RR	112	R	R	R	Rr
38	r	r	r	rr										

注: R 为显性 Rf 基因缩写; r 为隐形 Rf 基因缩写。A、B、C 和 D 对应编号分别为 CRF-SCAR、3336-last2-SCAR、120K-end-SCAR 和 Co1Mod1-CAPS 引物。

Table 4. Four molecular markers detection result in the 104 pepper materials **表 4.** 4 对分子标记在 104 份材料中的鉴定结果

园艺学类型 检测总数		含恢复基因数及比例	Co1Mod1-CA	Co1Mod1-CAPS 检测结果		
			RfRf	Rfrf		
羊角椒	46	21 (20.19%)	16	5		
炮椒	19	14 (13.46%)	3	11		
线椒	12	7 (6.73%)	2	5		
牛角椒	18	5 (4.81%)	0	5		
朝天椒	3	3 (2.88%)	2	1		
螺丝椒	2	1 (0.96%)	0	1		
甜椒	4	0 (0%)	0	0		
总数	104	51 (49.04%)	22	29		

3.3. 恢复基因与辣椒园艺学性状关联分析

综合表 2 和表 3 辣椒园艺学性状和恢复基因筛选结果, 4 对引物检测结果一致的 104 份辣椒材料中有 51 份含有恢复基因, 占比 49.04%。Co1Mod1-CAPS 检测结果表明, 22 份为纯合恢复基因辣椒材料。羊角椒、炮椒、线椒、牛角椒、朝天椒、螺丝椒和甜椒有恢复基因的材料所占数量和比例分别为 21 (20.19%)、14 (13.46%)、7 (6.73%)、5 (4.81%)、3 (2.88%)、1 (0.96%)和 0 (0%) (表 4)。说明恢复基因在短果形的羊角椒和小果形炮椒中均有较高分布。先前的研究表明[5] [11],小果型辣椒较为原始,不育恢复基因在相对原始的类型中分别较多,本研究结果与前人的结果基本一致。但随着辣椒的近缘种杂交及人工选育,不育恢复基因出现了向多种类型分布扩大的趋势。

4. 讨论

CMS 雄性不育恢复系筛选是辣椒 "三系"配套的关键环节,使用恢复系可将恢复不育系子代育性,由于不用进行人工去雄,简化了制种程序、降低了人力成本,而且可以提高种子纯度,具有明显的优越性。有研究表明[5] [11],在辣椒三系选育中不育系资源非常丰富,而恢复系资源相对较少,且核质互作的恢复系源多数是小果形辣椒。因此,筛选出恢复力强的恢复系对辣椒 CMS "三系"配套及其应用推广具有重要意义。

本研究通过 DNA 分子标记技术及 Rf 恢复基因的精细定位结果,利用三对 SCAR 标记和一对 CAPS 标记对已知育性的 12 份辣椒材料进行引物适用性检测,并对 112 份辣椒材料进行恢复基因筛选。3 对 SCAR 显性标记筛选出含有 Rf基因的辣椒材料,再用共显性的特性 CAPS 标记来判断等位基因是否纯合。结果显示这 4 对引物在已知育性的辣椒材料中检测一致,采用这 4 对标记引物筛选出了 104 份检测一致的辣椒材料,其中恢复基因资源的辣椒材料 51 份,22 份含有纯合位点的恢复基因。恢复基因主要分布于长果形的羊角椒和小果形炮椒中,随着辣椒的近缘种杂交及人工选育,不育恢复基因出现了向多种类型分布扩大的趋势。

结合这 4 对辣椒恢复基因紧密连锁的分子标记,可快速地对苗期含恢复基因辣椒的材料进行检测,提高了恢复系筛选的正确率,可防止恢复基因流失,减少育种上盲目的测交工作,对育种实践具有较强的理论参考价值。

基金项目

本课题得到湖北省科技支撑计划项目(2015BBA202)和武汉市农科院创新项目(CX201606-05, 2017)资助。

参考文献 (References)

- [1] Martin, J. and Crawford, J.H. (1951) Several Types of Sterility I Capsicum Frutescens. *Proceedings of the American Society of Horticultural Science*, **57**, 335-338.
- [2] Peterson, P.A. (1958) Cytoplasmically Inherited Male Sterility in Capsicum. American Naturalist, 92, 111-119. https://doi.org/10.1086/282017
- [3] Chen, S. (1997) Male Sterility in Pepper (Capsicum annuum L.). Euphytica, 93, 83-88. https://doi.org/10.1023/A:1002947907046
- [4] 马越, 黄炜, 吉姣姣, 巩振辉, 尹川川. 几个辣椒核质互作雄性不育材料的育性调查[J]. 北方园艺, 2012(11): 5-7.
- [5] 徐小万,黄旺平,吴智明,李涛,李颖,王恒明.应用分子标记筛选辣椒雄性不育恢复系研究[J].广东农业科学,2015,42(23):139-144.
- [6] 杨娟, 王雯, 沈火林. 辣椒恢复基因 SSR 标记定位及分子标记辅助选择育种[J]. 中国瓜菜, 2010, 23(5): 1-5.
- [7] Kim, H.J., Baek, K.H., Lee, S.W., Kim, J., Lee, B.W., Cho, H.S., Kim, W.T., Choi, D. and Hur, C.G. (2008) Pepper EST Database: Comprehensive in Silico Tool for Analyzing the Chili Pepper (*Capsicum annuum*) Transcriptome. *BMC Plant Biology*, **8**, 101. https://doi.org/10.1186/1471-2229-8-101
- [8] Li, J., Pandeya, D., Jo, Y.D., Liu, W.Y. and Kang, B.C. (2013) Reduced Activity of ATP Synthase in Mitochondria Causes Cytoplasmic Male Sterility in Chili Pepper. *Planta*, 237, 1097-1109. https://doi.org/10.1007/s00425-012-1824-6
- [9] Jo, Y.D., Ha, Y., Lee, J.H., Park, M., Bergsma, A.C., Choi, H., *et al.* (2016) Fine Mapping of Restorer-of-Fertility in Pepper (*Capsicum* L.) Identified a Candidate Gene Encoding a Pentatricopept Repeat (PPR)-Containing Protein. *Theoretical and Applied Genetics*, **129**, 2003-2017. https://doi.org/10.1007/s00122-016-2755-6
- [10] Jo, Y.D., Kim, Y.M., Park, M.N., Yoo, J.H., Park, M.K., Kim, B.D. and Kang, B.C. (2010) Development and Evaluation of Broadly Applicable Markers for Restorer-of-Fertility in Pepper. *Molecular Breeding*, 25, 187-201. https://doi.org/10.1007/s11032-009-9318-3
- [11] 沈火林, 蒋健箴, 王志源, 等. 辣椒雄性不育系选育及遗传研究[J]. 北京农业大学学报, 1994, 20(1): 25-30.



期刊投稿者将享受如下服务:

- 1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
- 2. 为您匹配最合适的期刊
- 3. 24 小时以内解答您的所有疑问
- 4. 友好的在线投稿界面
- 5. 专业的同行评审
- 6. 知网检索
- 7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: http://www.hanspub.org/Submission.aspx

期刊邮箱: <u>br@hanspub.org</u>