

# 加工番茄早熟性状的相关性分析及 QTL 定位

位江静<sup>1</sup>, 田丽萍<sup>1</sup>, 魏亦农<sup>2</sup>, 贾俊忠<sup>1</sup>, 张超<sup>1</sup>, 薛琳<sup>3</sup>

(1. 石河子大学 生命科学学院 新疆 石河子 832003; 2. 石河子大学 农学院 新疆 石河子 832003; 3. 石河子蔬菜研究所, 新疆 石河子 832003)

**摘要:** 利用加工番茄 TD-13 和 TD-41 杂交的 185 个 F<sub>2</sub> 群体, 分析与早熟性相关的各生育期性状, 并对相关性状进行 QTL 分析。结果表明: 成熟期与始花期、始花节位、结果期、开花至成熟天数呈极显著正相关, 与早期结果数、平均单果重相关性不显著。利用复合区间作图法检测到与加工番茄早熟性状相关的 12 个 QTLs。控制始花期和始花节位的 QTLs 分别检测到 3 个控制成熟期和平均单果重的 QTLs 分别检测到 2 个控制开花至成熟天数和早期结果数的 QTL 分别检测到 1 个。

**关键词:** 加工番茄; 早熟性; 相关性分析; QTL 定位

**中图分类号:** S 641.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)10-0008-04

新疆光、热、水土资源得天独厚, 所生产的番茄酱以品质优良而闻名于世, 是目前全球三大加工番茄主产区之一。但由于受原料生产季节性的限制, 番茄加工企业每年的满负荷生产期只有 40~50 d 左右, 即番茄集中成熟的 8、9 月。在此前后, 企业因原料不足无法达到满负荷生产。而成熟高峰期集中, 使得农民在排队待售的过程中造成不少原料霉变损失, 同时严重影响着番茄酱的质量。因此, 为延长企业生产期, 缓解番茄成熟高峰期交售难的矛盾, 除采用大田育苗移植的办法来促进番茄早熟外, 选用早、中、晚熟品种进行搭配种植, 通过延长供应期来提高种植户和厂家的经济效益就显得十分重要<sup>[1]</sup>。由于新疆存在无霜期短以及早霜威胁严重等气候特点, 推广加工番茄早熟品种显得尤为重要。实践证明早熟品种及其相应的栽培模式推广不仅可以延长加工期、调节高峰期, 同时可以提高单产。加工番茄的产量、成熟期、品质、抗旱性等性状等都属于数量性状, 这类性状由多基因控制, 其遗传基础比较复杂。传统的遗传学是利用生物统计学方法来对导致数量性状变异的所有基因的总效应进行分析, 不能用孟德尔的方法来研究单个基因的作用<sup>[2]</sup>。分子标记的应用使数量性状的

研究取得了突破性进展, Paterson 等利用高密度的遗传连锁图, 借助相应的统计软件, 可将复杂的多基因系统分解为单个孟德尔因子, 使人们能够用研究质量性状的方法来研究数量性状(1988)。谭其猛等指出开花速度与果实发育速度与番茄早熟性有显著相关<sup>[3]</sup>。Powers 和 Lyon(1941)、Kerr(1955)、Williams 和 Gibeft(1960)等研究指出, 番茄早熟性以出苗至果实成熟天数作为早熟性的指标。番茄成熟期的遗传极为复杂, 受多基因支配。余延年认为, 成熟期至少涉及 5 对或 7 对基因<sup>[4]</sup>。杨荣昌等认为番茄早熟性指数是依据早期产量及生育期性状这二方面因素共同决定的综合指标, 它能较为客观地衡量各品种熟性的迟早, 早熟性指数与第一花序着生节位、始花期、开花至成熟天数、平均单果重及早期结果数 5 个性状存在着不同程度的相关<sup>[5]</sup>。

分子辅助育种是越来越实用的一种育种技术, 在育种实践过程中利用分子标记对重要农艺性状进行辅助选择, 能够有效提高育种效率<sup>[6-7]</sup>。目前尚未见到利用分子标记技术对加工番茄早熟性进行研究的相关报道。该研究利用 TD-13 和 TD-41 杂交的 F<sub>2</sub> 代群体分析了始花期、始花节位、开花至成熟天数等生育期性状, 并用分子标记对这些性状进行定位, 为加工番茄的早熟育种提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

该研究使用石河子蔬菜研究所提供的 TD-13 和 TD-41 及其杂交后产生的 F<sub>2</sub> 代。TD-13 为加工番茄早熟品种, TD-41 为加工番茄晚熟品种。根据 He<sup>[8]</sup>、Suliman-Pollatschek<sup>[9]</sup> 以及网上 (<http://www.sgn.cornell.edu>) 公布的番茄 SSR 引物序列, 由上海捷瑞生物工程有限

**第一作者简介:** 位江静(1981-), 女, 硕士, 研究方向为番茄遗传育种。E-mail: luckystar09@126.com。

**通讯作者:** 薛琳(1964-), 男, 研究员, 现从事蔬菜育种与栽培研究工作。E-mail: xuelin1806@163.com。

**基金项目:** “十一五”国家科技支撑计划资助项目(2006BA B01A7-3-09)。

**收稿日期:** 2010-03-01

公司合成引物。

1.2 试验方法

1.2.1 F<sub>2</sub> 分离群体的构建 2007 年以 TD-13 为母本, TD-41 为父本配制杂交组合得到 F<sub>1</sub> 代, 同年冬天在海南种植 F<sub>1</sub> 自交得到 F<sub>2</sub>, 群体包括 185 个单株。2008 年 3 月底在石河子蔬菜研究所温室内种植 2 个亲本和 F<sub>2</sub> 群体, 4 月中旬移苗至大田中, 株距 35 cm, 行距 60 cm, 栽培管理同大田一致。

1.2.2 田间性状统计 开花后调查作图群体中每个单株的始花期、始花节位、结果期、成熟期、开花至成熟天数、早期结果数、平均单果重。亲本调查 10 株, 取平均值。

1.2.3 总 DNA 提取 取番茄的鲜嫩叶片采用 Hemming 法提取亲本及作图群体的总 DNA<sup>[19]</sup>, 由于番茄的酚类物质含量较多, 该研究中为防止出现褐化现象对该方法稍作修改。

1.2.4 SSR 反应 优化后的反应体系为 20~40 ng 模板 DNA, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mol/L, dNTPs 0.15 mol/L, 引物 0.1 μmol/L, Taq 聚合酶 0.15 U, 10× Taq Buffer, 总体积 10 μL。PCR 程序为 94℃ 2 min, 95℃ 45 s, 49.3℃ 45 s, 72℃ 1 min, GOTO 2 for 34 Circle, 72℃ 10 min。扩增产物用 8% 的变性聚丙烯酰胺凝胶分离, 电泳缓冲液为 0.5× TBE。电泳后采用银染法显色。

1.2.5 SSR 标记数据的统计及分析 SSR 共显性标记的记录方法: 与亲本 TD-13 相同的纯和带型记为 1, 与亲

本 TD-41 相同的纯和带型记为 2, 2 个亲本杂和带型记为 3, 模糊或缺失带型用 0 代替。并对每个标记的带型在群体中的分布进行  $\chi^2$  测验。

1.2.6 遗传连锁图谱的构建及 QTL 分析 遗传连锁图谱用 Joinmap 3.0 软件进行构建, 最低 LOD 值为 3.0。QTL 定位采用 MapQTL 5.0 软件, 以 LOD 值 2.0 作为阈值检测可能存在的 QTLs, 同时估计 QTLs 的加性效应和可解释的表型变异量。

2 结果与分析

2.1 F<sub>2</sub> 群体各生理性状的相关性分析

F<sub>2</sub> 群体始花期、始花节位、结果期、成熟期、开花至成熟天数、早期结果数、平均单果重等的相关性分析如表 1 所示。由表 1 可见, 成熟期与始花期、始花节位、结果期、开花至成熟天数呈极显著正相关, 说明始花节位低、开花早, 结果期短的植株成熟所需要的时间短; 始花期与开花至成熟天数、早期结果数呈极显著负相关; 平均单果重与始花期呈显著正相关, 与结果期和早期结果数呈负相关; 表明在早熟加工番茄的选育过程中, 选择开花早、始花节位低、结果期短、早期结果数多的植株在提高番茄的早熟的同时也利于总产量的提高。

2.2 亲本及 F<sub>2</sub> 群体的分子标记多态性筛选

用 480 对 SSR 引物对亲本及 F<sub>2</sub> 群体进行多态性筛选, 得到 75 个多态性引物组合, 多态性比例为 15.6%。

2.3 SSR 分子标记连锁图谱的构建

利用获得的 75 个多态性标记位点数据采用

表 1 F<sub>2</sub> 群体早熟性状的相关性分析  
Table 1 Inheritance relativity of earliness traits for F<sub>2</sub> population

|                                      | 始花期<br>First-flowering<br>dates | 始花节位<br>Node of<br>the first flower | 结果期<br>Fruit stage | 成熟期<br>Mature stage | 开花至<br>成熟天数<br>Days of flowering<br>to mature | 早期<br>结果数<br>Fruit number<br>of early stage |
|--------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|--------------------|---------------------|---|---|
| 始花节位 Node of the first flower        | 0.493 **                        | 1                                   |                    |                     |   |   |
| 结果期 Fruit stage                      | 0.531 ***                       | 0.417 **                            | 1                  |                     |   |   |
| 成熟期 Mature stage                     | 0.393 **                        | 0.239 **                            | 0.589 ***          | 1                   |   |   |
| 开花至成熟天数 Days of flowering to mature  | -0.248 **                       | -0.074 *                            | 0.271 **           | 0.761 ***           | 1   |   |
| 早期结果数 Fruit number of early stage    | -0.296 **                       | -0.112 **                           | -0.080 *           | 0.032 *             | 0.229 **                                      | 1   |
| 平均单果重 Average weight of single fruit | 0.170 **                        | 0.011 *                             | -0.105 **          | 0.043 *             | 0.076 *                                       | -0.398 **                                   |

注 \*、\*\*、\*\*\* 分别表示 0.01、0.1、0.5 显著水平的差异。  
Note: \*, \*\*, \*\*\* indicate significance at the 0.01, 0.1 and 0.5 level of probability level respectively.

表 2 F<sub>2</sub> 群体性状表现及正态检验  
Table 2 Earliness traits of F<sub>2</sub> population and test of normality

|                                      | 峰度 Kurtosis | 偏度 Skewness | 平均值 Average value | 方差 Variance | 标准差 Standard deviation |
|--------------------------------------|-------------|-------------|-------------------|-------------|------------------------|
| 始花期 First-flowering dates            | -0.6195     | -0.0495     | 72.21             | 4.641       | 2.145                  |
| 始花节位 Node of the first flower        | 0.7650      | 0.4965      | 8.209             | 0.629       | 0.789                  |
| 结果期 Fruit stage                      | 1.4467      | 0.8243      | 83.23             | 3.612       | 1.892                  |
| 成熟期 Mature stage                     | -0.3468     | -0.4379     | 118.27            | 13.33       | 3.635                  |
| 开花至成熟天数 Days of flowering to mature  | -0.2790     | -0.0203     | 46.16             | 12.57       | 3.530                  |
| 早期结果数 Fruit number of early stage    | -0.4577     | 0.3822      | 16.42             | 13.11       | 3.606                  |
| 平均单果重 Average weight of single fruit | -0.4105     | 0.1145      | 90.04             | 244.8       | 15.58                  |

表 3 F<sub>2</sub> 代早熟性状 QTL 的检测结果

| 性状                                   | QTL 名称       | LOD 值      | 标记区间                     | 标记间距离               | 表型变异     | 加性效应     |
|--------------------------------------|--------------|------------|--------------------------|---------------------|----------|----------|
| Trait                                | QTLName      | LOD Scores | Marker Interval          | Marker Distance/ cM | Variance | Additive |
| 始花期 First flowering dates            | qSSR-170     | 2.3        | SSR128-TOMB1923336       | 0.715               | 4.40     | -0.0188  |
|                                      | qSSR-180     | 2.3        | SSR40a-TOMTC153573       | 1.29                | 4.37     | -0.422   |
|                                      | qLEaat-185   | 2.28       | LEaat006-LEaat008        | 1.927               | 4.23     | -0.701   |
| 始花节位 Node of the first flower        | qSSR-181     | 2.63       | SSR40a-TOMTC153573       | 1.29                | 5.88     | -0.276   |
|                                      | qTOM-190     | 2.62       | TOMB1928480-TOMAW616118  | 3.691               | 5.73     | -0.216   |
|                                      | qLEaat-sl102 | 2.79       | LEaat016-TOMTC154854     | 1.069               | 5.29     | 0.878    |
| 成熟期 Mature stage                     | qTOM-195     | 2.62       | TOMB1924757-TOMAW616118  | 2.22                | 12.27    | 1.326    |
|                                      | qSSR-111     | 3.08       | TOMB1926036a-53186       | 1.317               | 12.48    | 0.413    |
| 开花至成熟天数 Days of flowering to mature  | qTOM-195     | 2.83       | TOMAW616118-TOMB1924757  | 2.22                | 11.72    | -0.134   |
| 早期结果数 Fruit number of early stage    | qSSR-179     | 2.65       | TOMTC158504-SSR40a       | 2.79                | 12.02    | 1.27     |
| 平均单果重 Average weight of single fruit | qTOM-130     | 3.13       | TOMTC154506-TOMTC154210b | 5.653               | 22.43    | 5.54     |
|                                      | qSSR-143     | 2.52       | SSR43a-TOMTC164455       | 3.00                | 22.26    | -3.22    |

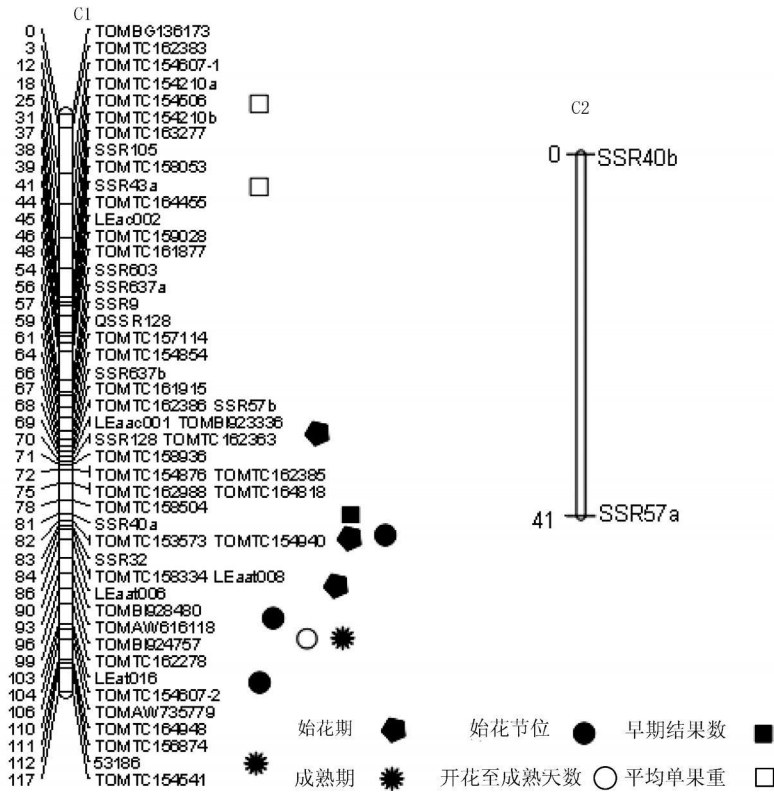


图 1 F<sub>2</sub> 群体中早熟相关性状的 QTL 在连锁图中的位置

Fig. 1 Location of QTLs detected for earliness correlation traits in F<sub>2</sub> populations

Joinmap 3.0 软件构建连锁图谱, 初步构建了一个包含 54 个位点的连锁图(见图 1)。该连锁图共有 2 个连锁群, 标记间的最小遗传距离为 0.17 cM, 最大遗传距离为 41 cM, 总长为 158 cM, 平均图距为 2.87 cM, 基本可以满足 QTL 定位的要求。由于微卫星标记本身的特点, 还有 21 个标记未能定位到相应的染色体上。标记在 12 个连锁群上的分布是不均匀的, C1 连锁群包含标记最多, 达到 52 个, C2 连锁群包含标记最少, 只有 2 个。

2.4 加工番茄早熟性相关性状在 F<sub>2</sub> 群体中的表现

对 F<sub>2</sub> 代 185 个群体进行相关性状正态分布检验以便进行 QTL 定位。为了确定性状是否符合正态分布, 对各个性状进行峰度和偏度计算(见表 2), 结果发现各

相关性状均符合正态分布, 具有数量性状遗传的典型特征, 可以进行加工番茄早熟性的 QTL 分析。

2.5 QTL 分析

利用复合区间作图法<sup>[1]</sup>共检测到 12 个与加工番茄早熟性相关的 QTLs(LOD≥2.0)(见表 3), 分布在 2 个连锁群上, 解析 4.23%~22.43%的表型变异, 这些 QTLs 在连锁图上的分布如图 1 所示。其中控制始花期的 QTLs 检测到 3 个, 位于染色体 C1 上, 解释 4.40%、4.37%、4.23%的表型变异。这 3 个 QTLs 的加性效应均为负值, 说明这 4 个负效等位基因均来自 TD-13。在染色体 C1 LEaat006-LEaat016 区间还检测到了始花节位、成熟期、早期结果数、开花至成熟天数的 QTLs, 分别

解释 5.29%、12.27%、12.02%、11.72%的表型变异。这些 QTLs 的发现,说明在第 1 染色体相距 16.42 cM 的区域是控制加工番茄生育期的重要区域。说明该区域附近可能存在控制加工番茄早熟的基因,因此应进一步对该 QTLs 区域进行精细定位,并可以克隆到与生育期相关的早熟基因并应用到加工番茄早熟性的遗传改良中。

3 结论与讨论

根据相关性状分析结果,研究所用的 F<sub>2</sub> 群体的成熟期与始花期、始花节位、结果期、开花至成熟天数呈极显著正相关,在加工番茄早熟育种中除应选择开花早、始花节位低、结果期短的植株,同时还要考虑早期结果数和平均单果重的影响。

该研究利用 SSR 标记初步构建了一张包含 54 个标记,标记间最小距离为 0.17 cM,平均距离为 2.87 cM 的遗传连锁图,标记间距离较小,可以较好的进行 QTL 的定位。但由于该研究的标记数目有限,标记在连锁群中的分布很不均匀,有必要继续增加标记的数目,以使标记分布更均匀。

到目前为止,利用遗传连锁图谱对番茄数量性状进行 QTL 的研究很多。Paterson<sup>[12]</sup> 等利用 RFLP 标记筛选到一些与可溶性固形物含量相关的 QTL 位点。Chen F Q 等<sup>[13]</sup> 通过区间作图法鉴定出 8 个影响番茄红素的 QTLs。Salibac V 等<sup>[14]</sup> 通过区间作图法检测到位于第 2 条染色体的长臂端有与番茄果实甜度相关的 QTL。刘杨等<sup>[15]</sup> 利用 SSR 标记检测到位于第 2、5 号染色体上有与每序花数相关的 QTL。该研究对加工番茄早熟生育期性状进行 QTL 分析,共检测到 12 个与早熟性相关的 QTLs,均位于第 1 染色体上,为利用分子标记辅助选择方法对早熟相关性状进行选择育种奠定了基础。

参考文献

[1] 崔金鑫,李燕,陈国刚,等.不同熟性加工番茄生育期特性的比较[J].安徽农学通报 2008,14(5): 51-53.

[2] 方宣钧,吴为人,唐纪良.作物 DNA 标记辅助育种[M].北京:科学出版社,2007:57-64.  
[3] 谭其猛.蔬菜育种[M].北京:农业出版社,1980.  
[4] 余延年,吴定华,陈竹君.番茄遗传学[M].长沙:湖南科学技术出版社,1999.  
[5] 杨荣昌,徐鹤林.番茄早熟性构成及遗传相关分析[J].江苏农业科学,1992(2):48-50.  
[6] Bartoszewski G, Niedziela A, Szwacka M, et al. Modification of tomato taste in transgenic plants carrying a thaumatin gene from *Thaumatococcus daniellii*Benth [J]. Plant Breeding, 2003, 122(4): 347-351.  
[7] Zhang Y M. Advances on methods for mapping QTL in plant[J]. Chinese Science Bulletin 2006, 51(23): 2809-2818.  
[8] He C, PoysaV, Yu K. Development and characterization of simple sequence repeat(SSR)markers and their use in determining relationships among *Lycopersicon esculentum* cultivars [J]. TheorAppl Genet, 2003, 106(2): 363-373.  
[9] Sulman-Pollatschek S, Kashkush K, ShatsH, et al. Generation and mapping of AFLP, SSRs and SNPs in *Lycopersicon esculentum* [J]. Cellular &Molecular Biology Letters, 2002(7):583-597.  
[10] Hemming M N, Basuki S, McGrath D J, et al. Fine mapping of the tomato I-3 gene for fusarium wilt resistance and elimination of a co-segregating resistance gene analogue as a candidate for I-3 [J]. Theor Appl Genet, 2004, 109: 409-418.  
[11] Zeng Z B. Theoretical basis of separation of multiple linked genes effects on mapping quantitative trait loci [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 1993, 90: 10972-10976.  
[12] Paterson A H, Lander E S, Hewitt J D, et al. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphism [J]. Nature 1988, 335: 721-726.  
[13] Chen F Q, Foolad M R, Hyman J, et al. Mapping of QTLs for lycopene and other fruit traits in a *Lycopersicon esculentum* × *L. pimpinelli folium* cross and comparison of QTLs across tomato species [J]. Molecular Breeding, 1999(5): 283-299.  
[14] Sailla C V, Causse M, Langbis D, et al. Genetic analysis of organoleptic quality in fresh market tomato. I. Mapping QTLs for physical and chemical traits [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 102: 2-3: 259-272.  
[15] 刘杨,陈火英,魏毓棠.番茄 SSR 遗传连锁图谱的构建及每序花数性状的 QTL 定位[J].南京农业大学学报,2005,28(4): 30-34.

Correlation of Earliness Traits and QTL Mapping in Processing Tomato

WEI Jiang-jing<sup>1</sup>, TIAN Li-ping<sup>1</sup>, WEI Yi-nong<sup>2</sup>, JIA Jun-zhong<sup>1</sup>, ZHANG Chao<sup>1</sup>, XUE Lin<sup>3</sup>

(1. College of Life Science, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000; 2. College of Agriculture Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000; 3. Shihezi Vegetable Institute, Shihezi Xinjiang 832000)

**Abstract:** 185 F<sub>2</sub> segregating population which were derived from a cross between TD-13 and TD-41 were used to analyze the correlation of earliness traits between growth periods. And QTLs detection of these traits were employed in this population. The results showed that the days of maturity were positively correlated with the days of first flowering, first flowering node, fruiting period, the days from flowering to maturity, but no correlation with fruite number, average weight of each fruite. A total of 12 QTLs were detected by composite interval mapping, including 3 QTLs for the days of first flowering and first flowering node; 2 QTLs for maturity and average weight of each fruite; 1 QTL for flowering and the days from flowering to maturity.

**Key words:** processing tomato; earliness; correlation; QTL mapping