

番茄果实成熟期相关性分析及 QTL 定位

彭 艳, 李 景 富, 何 艳 龙, 许 向 阳, 姜 景 彬, 张 贺

(东北农业大学 园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要:以晚熟番茄 13592 和早熟番茄 13493 杂交的 F_2 为试材, 进行果实成熟期相关性分析, 用 SSR 和 AFLP 构建遗传连锁图谱, 并进行 QTL 分析。结果表明: 成熟期(MS)与白熟至转色期(WT)呈极显著的正相关, 与转色至成熟期(TM)呈显著正相关, 而与始花至白熟期(FWS)呈极显著的负相关。始花至白熟期(FWS)与白熟至转色期(WT)呈极显著的负相关, 与转色至成熟期(TM)呈显著负相关。利用数量性状基因的完备区间作图方法(ICIM)进行 QTL 分析, 共检测出 21 个与番茄果实成熟期相关的 QTLs。其中控制转色至成熟期(TM)的 QTLs 有 14 个, 控制开花至白熟期(FWS)的 QTLs 有 5 个, 控制成熟期(MS)和白熟至转色期(WT)的 QTL 各 1 个。

关键词:番茄; 成熟期; 相关性分析; QTL

中图分类号:S 641.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)14-0090-07

番茄被广泛种植在世界上的许多国家, 它是很多地区人们日常生活的传统食品, 也是一种模式植物被广泛研究^[1-2]。番茄的早熟性研究被育种家和广大生产者重视。培育早熟的番茄新品种, 不仅可以使番茄提早上市, 提高经济效益, 还可以节约能源和调节番茄的周年供应, 避免供过于求等。李景富^[3]认为构成和影响番茄早熟性主要表现在开花速度、果实发育速度及低温下生长发育能力 3 个方面。而番茄果实成熟期根据表面着色面积的多少分为绿熟期、白熟期、转色期、红色成熟期和完熟期 5 个阶段^[4]。由此可知番茄果实成熟, 即色泽由绿转红是色素种类和含量变化所致, 主要是由于叶绿素含量下降和类胡萝卜素含量积累, 其中番茄红素和 β -胡萝卜素是最主要的 2 种色素^[5-6]。

目前对于如何提高番茄果实中番茄红素含量和调控果实成熟过程中类胡萝卜素生物合成以及影响番茄

果实成熟过程中色泽变化的因素等是研究的热点问题。但是对于进入各个成熟期时所需天数, 以及它们与果实成熟期之间的关系的研究还很少有人问津。该试验通过 2 个不同熟期的番茄品种杂交的 F_2 群体, 研究番茄果实发育期与熟期之间的关系, 利用 312 对 SSR 引物和 256 对 AFLP 引物对番茄果实发育期基因进行 QTL 分析, 完成 QTL 在染色体上的定位, 以期分子标记辅助选择育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 植物材料 该试验 2 个亲本采用番茄栽培品种 13592(晚熟)和 13493(早熟)及其杂交后产生的 F_1 , 由 F_1 自交产生的 F_2 群体为试验材料, 2 个亲本均由东北农业大学园艺学院番茄课题组提供。

1.1.2 引物来源 SSR 分子标记引物序列源于网站 (<http://www.sgn.cornell.edu>) 和文献 Suliman Pollatschek 等^[7]、HE 等^[8], AFLP 分子标记采用 256 对 EcoR I/Mse I 引物组合, 并由北京六合华大基因科技股份有限公司合成。

1.2 试验方法

1.2.1 F_2 群体构建 2013 年 6 月以 13592 为母本, 13493 为父本, 在哈尔滨市香坊农场杂交得到 F_1 , 同年冬

第一作者简介:彭艳(1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向为蔬菜育种。E-mail:569168344qq.com.

责任作者:李景富(1943-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 现主要从事番茄种质资源的研究与利用等工作。E-mail:Lijf_2005@126.com.

基金项目:现代农业技术体系专项资助项目(CARS-25); 国家科技支撑计划资助项目(2012BAD02B02-7)。

收稿日期:2015-01-20

天在海南种植 F_1 自交得到 F_2 共 259 个单株,2014 年 3 月末将 2 个亲本, F_1 及 F_2 播种于哈尔滨市香坊农场温室,4 月下旬分苗于大棚中培育,5 月下旬将苗移植到大田进行统一管理。

1.2.2 田间性状统计 幼苗移植到大田后,待植株开花时,每天对植株进行性状调查,2 个亲本和 F_1 分别调查 10 株的性状取其平均值^[9], F_2 群体调查每一个单株的性状。主要调查的性状有以下 4 个,始花期:第一穗花第一朵花开放的日期;始花至白熟期:从开花至果实变白所需天数;白熟至转色期:从果实白熟期至开始转色期所需天数;转色至成熟期:从开始转色至果实始收天数;成熟期:果实始收日期。利用 SPSS 统计软件计算 F_2 群体各个性状之间的相关性分析。

1.2.3 基因组 DNA 提取 采摘幼苗刚展开的嫩叶叶片,称取 150~200 mg 装于 EP 管中,采用 CTAB 微量提取 DNA 法^[10]。提取 2 个亲本, F_1 、 F_2 群体各单株的基因组 DNA,由于叶片中含酚量大,方法稍作修改。用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量,紫外分光光度计检测浓度。

1.2.4 SSR 反应 SSR 反应体系:DNA 模板 (30~40 ng/ μ L) 1 μ L,正、反向引物 (10 ng/ μ L) 各 1 μ L, $2\times$ Taq Master Mix 7 μ L,加 ddH₂O 至 20 μ L。PCR 程序:94℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 30 s,55℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,35 个循环;72℃ 延伸 10 min,4℃ 终止反应。将扩增产物放于 PCR 仪中 95℃ 变性 5 min,立即放入冰水混合物中,待其充分冷却后用 6% 的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离变性产物,电泳缓冲液浓度为 $1\times$ TBE,电泳后用银染法进行显色,银染参照 BASSAM^[11] 的方法。银染后进行照相机条带记录。

1.2.5 AFLP 标记反应 AFLP 标记采用 *Eco* RI 和 *Mse* I 进行双酶切。具体 AFLP 分子标记方法参考 Vos 等^[12],酶切连接体系:DNA 模板 (100~500 ng) 3.0 μ L, *Eco* RI adapter (5 pmol/ μ L) 1.0 μ L, *Mse* I adapter (50 pmol/ μ L) 1.0 μ L, ATP (10 mmol/L) 1.0 μ L, $10\times$ Buffer 6.0 μ L, *Eco* RI (10 U/ μ L) 0.5 μ L, *Mse* I (10 U/ μ L) 0.5 μ L, T4 DNA Ligase (5 U/ μ L) 0.6 μ L,加 ddH₂O 至 50 μ L,反应程序:

37℃ 酶切,连接 6~8 h (时间不宜过长)。预扩预扩增体系:DNA (酶切连接后产物) 6.0 μ L, *Eco* RI-primer (10 ng/ μ L) 0.6 μ L, *Mse* I-primer (10 ng/ μ L) 0.6 μ L, $2\times$ Taq Master Mix 8.0 μ L,加 ddH₂O 至 25 μ L。反应程序:94℃ 预变性 3 min;94℃ 变性 30 s,56℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,24 个循环;72℃ 延伸 10 min,4℃ 终止反应。取 5 μ L 预扩增产物于 1% 琼脂糖凝胶中检测扩增结果,将预扩产物稀释 40 倍,用于选择性扩增,余下的预扩增产物于 -20℃ 保存。选择性扩增体系:DNA (预扩增产物) 5.0 μ L, Exx (10 ng/ μ L) 1.0 μ L, Mxx (10 ng/ μ L) 1.0 μ L, $2\times$ Taq Master Mix 8.0 μ L,加 ddH₂O 至 25 μ L。反应程序:94℃ 预变性 3 min;94℃ 变性 30 s,65℃ 退火 30 s, (每个循环降低 0.7℃), 72℃ 延伸 1 min, 12 个循环;94℃ 变性 30 s,56℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min, 25 个循环 (每个循环增加 1 s);72℃ 延伸 10 min;4℃ 终止反应。将选择性扩增产物在 PCR 仪中 95℃ 变性 5 min 后立即置于冰水混合物中,待其充分冷却后,用 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离变性产物,银染后进行条带分析。

1.2.6 SSR 与 AFLP 分子标记条带数据记录 SSR 标记与 P_1 一样的带型记为 2,与 P_2 带型一样的记为 0,与 F_1 一样的带型记为 1,缺失的标记记为 -1。AFLP 标记有当 P_1 缺失时, F_2 群体中有条带的记为 10,无条带的记为 2;当 P_2 缺失时, F_2 群体中有条带的记为 12,无条带的记为 0。

1.2.7 遗传连锁图谱的构建及 QTL 分析 运用 QTL IciMapping 3.2 软件进行遗传连锁图谱的构建,在 LOD \geq 3.0 的条件下进行分组。QTL 分析同样采用该软件,以 LOD \geq 2.5 作为阈值检测,采用数量性状基因完备区间作图法 (ICIM),以 1.0 cM 为步长进行扫描,检测可能存在的 QTLs。

2 结果与分析

2.1 F_2 果实成熟期相关性分析

经过田间调查番茄 F_2 果实成熟期的几个性状,由 SPSS 软件分析各个性状之间的相关性,表 1 表明,成熟期与白熟至转色期呈极显著的正相关,其相关系数为 0.442;与转色至成熟期呈显著正相关,而与始花至白熟

表 1 F_2 果实成熟期相关性分析

Table 1 Inheritance relationship of fruit maturate stage for F_2 population

	始花至白熟期 Days of flowering to white-mature stage	成熟期 Mature stage	白熟至转色期 Days of white-mature to turning stage
成熟期 Mature stage	-0.197 **	1	
白熟至转色期 Days of white-mature to turning stage	-0.759 **	0.442 **	1
转色至成熟期 Days of turning to mature stage	-0.139 *	0.127 *	-0.189 **

注: *、** 分别表示 0.05、0.01 显著水平的差异。

Note: *, ** indicate significance at the 0.05 and 0.01 level of probability level respectively.

期呈极显著的负相关。始花至白熟期与白熟至转色期呈极显著的负相关,相关系数为-0.759;与转色至成熟期呈显著负相关。转色至成熟期与白熟至转色期呈极显著负相关。由此说明番茄果实由白熟到转色,再到成熟所需时间越少,能促进果实成熟;反之白熟至转色,再到成熟所需时间越多,就会延迟果实成熟。就番茄始花到白熟期时间长短而言,不能全面决定番茄果

实是否早熟。

2.2 F_2 群体果实发育期正态检测

为了对番茄果实成熟期进行 QTL 定位分析,首先要对 F_2 259 个单株果实成熟期进行正态分布检验。由表 2 和图 1 可知,各个性状呈连续变化,符合正态分布,具有数量性状遗传的典型特点,可以进行番茄果实发育期的 QTL 分析。

表 2 F_2 群体果实发育期性状表现及正态检验

Table 2 Fruit mature stage of F_2 population and test of normality

性状 Triat	平均值 Average value	最大值 Max	最小值 Min	方差 Variance	标准差 Standard deviation	峰度 Kurtosis	偏度 Skewness
始花期 First-flowering dates	75.154	86	65	8.720	2.953	-0.187	2.138
始花至白熟期 Days of flowering to white-maturate stage	26.780	42	17	22.932	4.789	0.469	-0.454
白熟至转色期 Days of white-maturate to turning stage	13.892	26	3	25.012	5.001	-0.013	-0.656
转色至成熟期 Days of turning to maturate stage	4.815	13	1	4.462	2.112	0.980	1.183
成熟期 Maturate stage	120.660	130	106	8.341	2.888	-0.094	2.024

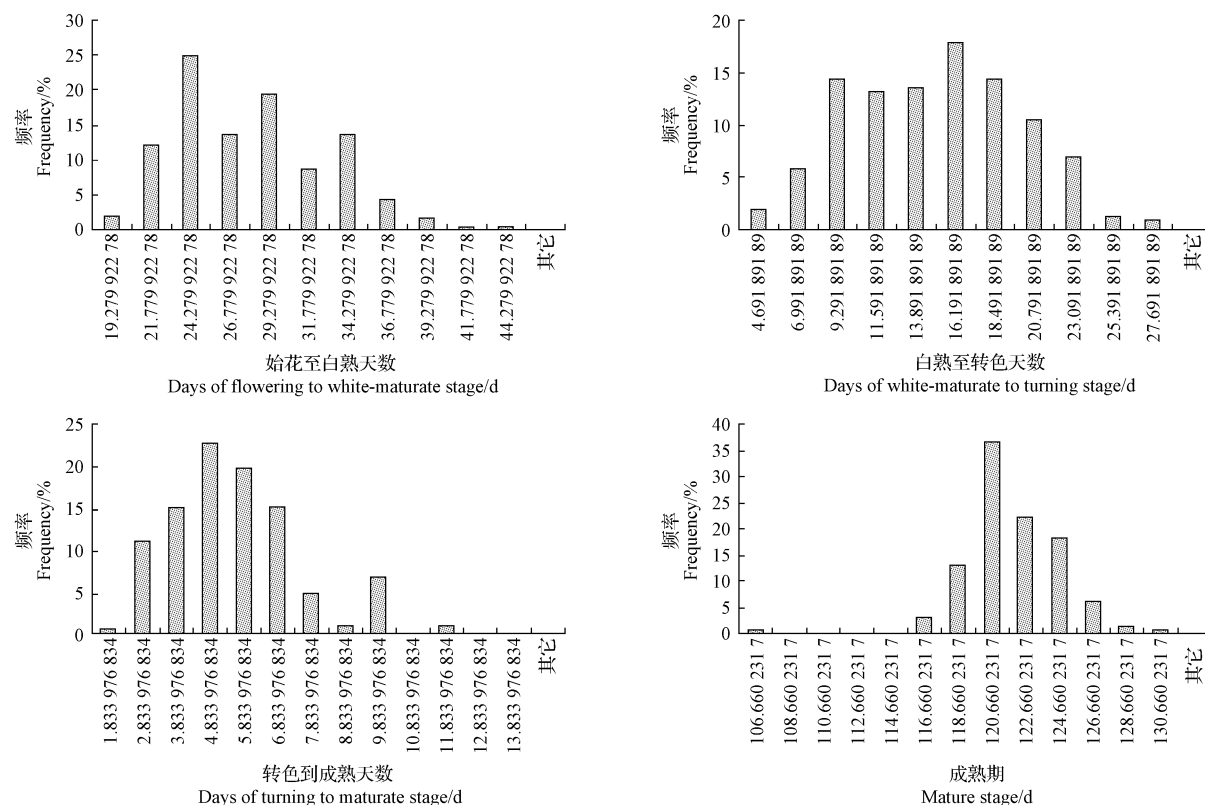


图 1 番茄果实发育期的频率分布图

Fig. 1 Frequency distribution of tomato fruit maturation

2.3 分子遗传连锁图谱的构建

用亲本筛选出具有多态性的 14 对 SSR 引物和 63 对 AFLP 引物标记位点的数据,以及 QTL IciMapping 软件,构建遗传连锁图谱。结果获得一张番茄 SSR 和 AFLP 分子标记遗传连锁图,图谱总长度为 1 353.01 cM,包含 93 个标记位点,2 个标记间平均图距为 14.55 cM。连锁图谱中共有 12 个连锁群,每个连锁群上有 2~40 个

标记位点不等,其中第 2 个连锁群上包含 40 个标记位点,总长度为 730.64 cM。第 12 个连锁群仅有 2 个标记位点,图距为 6.86 cM。2 个相邻标记位点间的最小图距为 3.87 cM,最大图距为 38.02 cM。每 2 个标记间的平均图距最大的为第 6 连锁群,为 27.07 cM;平均图距最小的第 12 连锁群,为 6.86 cM。在第 1、2 连锁群上还有大于 30 cM 的空隙。另有 7 个 SSR 标记单独成一个

连锁群,未能与这 12 个连锁群连锁上。

2.4 QTL 定位

根据田间调查番茄果实成熟期结果,共检测出 21 个 QTLs(表 3 和图 2)。

控制始花至白熟期的 QTL 位点检测出 5 个,4 个 QTLs(FWS-1、FWS-2、FWS-3、FWS-4)在第 2 染色体上,FWS-2 贡献值最大,为 75.752 9%,LOD 值为 5.818 4,在 E07M08-4~E09M11-2 区间,距两侧的遗传距离为 17.90 cM 和 20.12 cM。其次是在第 3 条染色体上的 FWS-5,它的贡献值为 66.762 2%,LOD 值为 4.422 9,在 E06M03~E01M04-6 之间,距离两侧标记的遗传距离为 13.40 cM 和 12.85 cM。贡献值为 49.574 3%的 FWS-3,其 LOD 值为 2.657 8,在 E06M07-3~E15M03-2 之间,距离两侧标记遗传距离为 16.08 cM 和 15.34 cM。FWS-1 的贡献值为 34.440 9%,LOD 值为 3.144 7,在 E10M06-3~E01M01-4 之间,距离两侧标记的遗传距离为 9.02 cM 和 10.74 cM。FWS-4 贡献值为 29.992 9%,LOD 值为 3.298 9,在 E16M11~E10M10 之间,距离两侧标记的遗传距离为 11.00 cM 和 18.29 cM。其中 FWS-1、FWS-3、FWS-4 加性效应值为负,说明该基因来自早熟的父本 13493。控制成熟期(MS)和转色至成熟期(WT)的 QTL 位点各检测出 1 个。MS 位于第 2 条染色体上,其贡献值为 23.88%,LOD 值为 2.611 4,位于 E07M09~

E05M06-3 之间,距离 E07M09 的遗传距离为 13 cM,距离 E05M06-3 为 16.57 cM。WT 在第 1 条染色体上,其贡献值为 18.689 1%,LOD 值为 2.591 8,在 E11M12-1~E11M16 之间,距离两侧标记的距离分别为 11.6 cM 和 0.37 cM,说明 WT 与 E11M16 紧密连锁。MS 的加性效应值为正,说明 MS 来自母本晚熟番茄;而 WT 来自父本番茄 13493。

控制番茄果实转色至成熟期的 QTLs 一共检测出 14 个,它们分别位于第 1、2、3、4 和 9 条染色体上,其中第 2 条染色体上的 QTLs 有 8 个,第 1 和 9 条染色体上各包含 2 个,3 和 4 染色体上各 1 个。其中位于第 1 条染色体上的 TM-2 贡献值最大 52.896 1%,LOD 值为 5.365 7,在区间 E10M13-6~E11M06 之间,与两侧标记的距离分别为 3.19 cM 和 3.53 cM,由于遗传距离较小,说明与两侧的标记连锁紧密,且为主效基因,可以进一步研究克隆。TM-2 的加性效应值为负,说明来自早熟番茄 13493。其次是位于第 3 条染色体上的 TM-11,其贡献值为 34.212 3%,LOD 值为 3.469 7,在 E04M05-2~E15M06-1 之间,与两侧的标记距离为 12.00 cM 和 12.04 cM。然后是 TM-4 位于第 2 条染色体上,贡献值为 30.391 2%,LOD 值为 3.313 8,在 E12M11-1~E11M07-6 之间,与 E11M07-6 之间的距离为 2.31 cM,说明二者连锁距离小,连锁紧密。

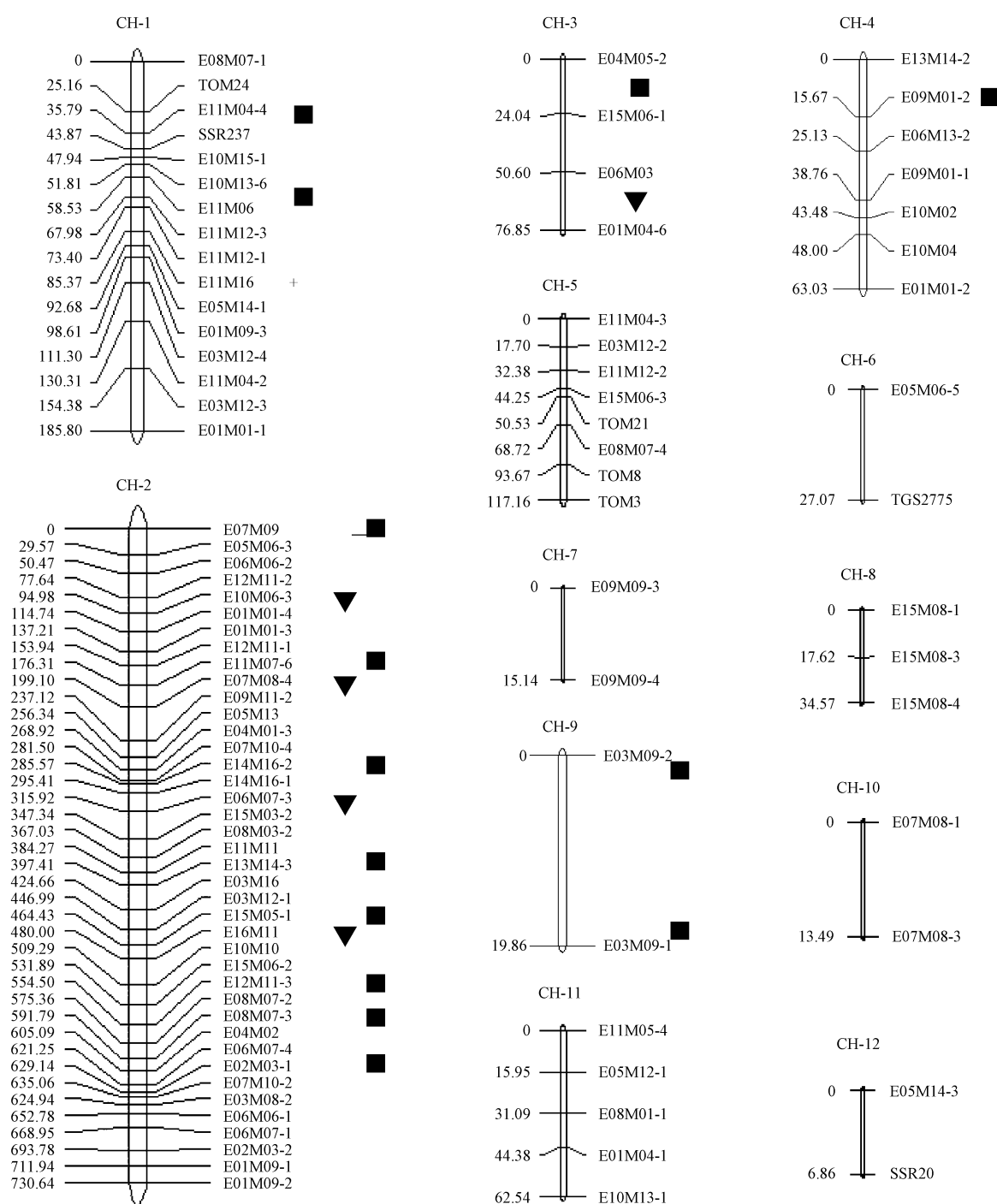
表 3

F₂ 果实发育期 QTLs 检测结果

Table 3

QTLs information for tomato mature stage of F₂ population

性状	性状名称	染色体	位置	标记区间	LOD 值	表型变异解释	加性效应	显性效应
Trait	Trait name	Chromosome	Position	Marker interval	LOD scores	PVE/ %	Add	Dom
始花至白熟期 Days of flowering to white-mature stage	FWS-1	2	104	E10M06-3~E01M01-4	3.144 7	34.440 9	-1.619 0	7.091 8
	FWS-2	2	217	E07M08-4~E09M11-2	5.818 4	75.752 9	1.054 9	8.646 6
	FWS-3	2	332	E06M07-3~E15M03-2	2.657 8	49.574 3	-0.750 5	8.581 5
	FWS-4	2	491	E16M11~E10M10	3.298 9	29.992 9	-2.454 0	-3.335 7
	FWS-5	3	64	E06M03~E01M04-6	4.422 9	66.762 2	1.235 9	8.807 7
成熟期 Maturate stage	MS	2	13	E07M09~E05M06-3	2.611 4	23.878 0	1.508 5	-0.800 9
白熟至转色期 Days of white-mature to turning stage	WT	1	85	E11M12-1~E11M16	2.591 8	18.689 1	-2.264 8	3.021 5
	TM-1	1	37	E11M04-4~SSR237	2.833 5	26.967 8	0.057 6	6.651 6
	TM-2	1	55	E10M13-6~E11M06	5.365 7	52.896 1	-0.161 4	6.679 0
	TM-3	2	1	E07M09~E05M06-3	2.573 4	24.173 8	0.235 1	8.513 2
	TM-4	2	174	E12M11-1~E11M07-6	3.313 8	30.391 2	0.447 5	5.662 1
	TM-5	2	287	E14M16-2~E14M16-1	4.114 2	27.775 5	0.662 0	8.276 6
	TM-6	2	396	E11M11~E13M14-3	2.888 4	23.311 4	0.056 0	8.640 9
	TM-7	2	466	E15M05-1~E16M11	2.604 0	23.275 2	-0.019 8	8.639 6
	TM-8	2	556	E12M11-3~E08M07-2	2.948 5	24.385 0	-0.272 6	8.867 8
	TM-9	2	593	E08M07-3~E04M02	3.083 4	23.780 7	0.206 0	8.518 9
	TM-10	2	628	E06M07-4~E02M03-1	3.540 1	24.695 7	0.373 8	8.448 1
	TM-11	3	12	E04M05-2~E15M06-1	3.469 7	34.212 3	0.515 2	4.312 4
	TM-12	4	15	E13M14-2~E09M01-2	2.757 1	23.348 1	0.072 4	8.688 4
	TM-13	9	1	E03M09-2~E03M09-1	2.766 7	23.313 4	-0.071 8	8.667 1
	TM-14	9	19	E03M09-2~E03M09-1	2.828 7	23.681 8	0.170 1	8.569 4



注: ▼始花至白熟期, +白熟至转色期, ■转色至成熟期, —成熟期。

Note: ▼Days of flowering to white-mature stage, +Days of white-mature to turning stage, ■Days of turning to mature stage, —Mature stage

图2 SSR和AFLP分子遗传连锁图及QTLs所在位置

Fig. 2 SSR and AFLP molecular genetic linkage map and location of QTLs

3 结论与讨论

番茄果实成熟期同产量、品质、抗旱性等性状都属于数量性状,数量性状的表型容易受环境条件的影响^[13]。该试验通过对番茄果实成熟期进行相关性分析及QTL定位分析,以期对番茄早熟期有较全面、深入的了解。

该试验通过对番茄成熟期进行相关性分析的结果

表明,成熟期与白熟至转色期呈极显著的正相关,与转色至成熟期呈显著正相关,而与始花至白熟期呈极显著的负相关。始花至白熟期与白熟至转色期呈极显著的负相关,与转色至成熟期呈显著负相关。转色至成熟期与白熟至转色期呈极显著负相关。由此说明番茄果实由白熟到转色,再到成熟所需时间越少,能促进果实成

熟;反之白熟至转色,再到成熟所需时间越多,就会延迟果实成熟。就番茄始花到白熟期时间长短而言,不能全面决定番茄果实是否早熟。许多研究表明,番茄果实发育受到诸多环境因素的影响。不同的光照强度和光质都能够影响番茄果实的色泽变化,适度的光照可促进类胡萝卜素合成,LEE等^[14]发现600~700 nm的红光照射番茄果实3~5 min可加速红色发育,而700~800 nm的远红光照射却有相反的效果。ROBERTSON等^[15]研究表明,温度高低会使果实颜色的深浅受到影响,因为温度会影响番茄红素的含量,低温不利于番茄红素的形成,较高温度也不利于番茄红素的形成,32℃以上时番茄红素的生成停止,番茄红素的合成以18~26℃为适宜温度,15℃时番茄红素显著减少。除此之外,很多激素如乙烯、脱落酸、赤霉素、茉莉酸等也能通过调控色素的形成而影响番茄果实的发育^[16-19]。由此可知,光照、温度和以上提到的激素,其中任何一种因素发生变化均会影响番茄果实各个成熟期时间的长短。

到目前为止有很多的分子标记出现,但SSR分子标记和AFLP分子标记分布均匀,多态性高,重复性好技术可靠,条带丰富清晰等特点,被广范用于遗传连锁图谱的构建^[20-21]。该试验通过用SSR和AFLP 2种分子标记构建了一张包含了7个SSR标记位点和86个AFLP标记位点的遗传连锁图谱。该遗传连锁图谱有12个连锁群,标记间最小距离为3.78 cM,平均距离为14.55 cM。标记间平均距离小于20 cM,满足QTL定位的要求^[22]。但是标记在连锁中的分布不均匀,还需要继续增加标记的数目,或开发新的标记,使标记均匀分布在各个染色体上。

迄今为止,有很多研究是针对番茄数量性状QTL分析的。鲁亚辉等^[23]利用SSR、CAPS和Indel标记检测出10个与可溶性固形物含量相关的QTLs和6个与β胡萝卜素含量相关的QTLs。SUMUGAT等^[24]利用BC₁F₂群体,检测出12个与番茄开花时间相关性状的QTLs。PATERSON等^[25]和ESHED等^[26]分别定位了6个和15个与番茄果重有关的QTLs。该试验一共检测出5个控制始花至白熟期的QTLs位点,14个控制转色至成熟期的QTLs位点,控制成熟期和白熟至转色期各检测出1个QTL位点。由于数量性状遗传基础复杂,且受环境影响大,只有充分了解控制番茄果实成熟期的QTLs间的关系、相互影响程度、作用方式,才能最终在育种实践中应用,从而培育出新的品种。

参考文献

- [1] 张展,高祥华.制酱番茄良种良法技术[J].新疆农业科技,2006(15):141-142.
- [2] 杜永成.美国加工番茄生产[J].中国蔬菜,2001(5):27.
- [3] 李景富.中国番茄育种学[M].北京:中国农业出版社,2011.
- [4] ALBA R, MARIE-MICHÈLE Cordonnier - Pratt, PRATT L H. Fruit-localized phytochromes regulate lycopene accumulation independently of ethylene production in tomato[J]. Plant Physiol, 2000, 123: 363-370.
- [5] 姚建刚,张贺,徐向阳,等.番茄果实成熟过程中色泽变化的研究进展[J].中国蔬菜,2010(8):1-6.
- [6] FRASER P D, TRUESDALE M R, BIRD C R, et al. Carotenoid biosynthesis during tomato fruit development (Evidence for tissue-specific gene expression) [J]. Plant Physiol, 1994, 105: 405-413.
- [7] SULIMAN POLLATSCHEK S, KASHKUSH K, SHATS H, et al. Generation and mapping of AFLP, SSRs and SNPs in *Lycopersicon esculentum* [J]. Cellular and Molecular Biology Letters, 2002, 7: 583-597.
- [8] HE C, POYSA V, YU K. Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers and their use in determining relationships among *Lycopersicon esculentum* cultivars [J]. Theor Appl Genet, 2003, 106 (2): 363-373.
- [9] 李轲,李志博,魏亦农.棉花早熟性状的相关性分析和QTL定位[J].新疆农业科学,2010,47(1):78-81.
- [10] WILLIAMSON V M, HO J Y, WU F F, et al. A PCR-based marker tightly linked to the nematode resistance gene, Mi, in tomato [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1994, 87: 757-763.
- [11] BASSAM B J, CAETANO ANOLLES G, GRESSHOFF P M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels [J]. Anal Biochem, 1991, 196: 80-83.
- [12] VOS P, HOGERS R, BLEEKER M. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting [J]. Nucleic Acids Research, 1995, 23: 4407-4414.
- [13] 位江静,田丽萍,魏亦农,等.加工番茄早熟性状的相关性分析及QTL定位[J].北方园艺,2010(10):8-11.
- [14] LEE G H, BUNN J M, HAN Y J, et al. Initiating or delaying ripening of tomatoes with light [J]. Horticult Abstr, 1996, 66: 6037.
- [15] ROBERTSON G H, MAHONEY N E, GOODMAN N, et al. Regulation of lycopene formation in cell suspension culture of VENT tomato (*Lycopersicon esculentum*) by CPTA, growth regulators, sucrose, and temperature [J]. Journal of Experimental Botany, 1995, 46: 667-673.
- [16] BIRD C R, RAY J A, FLETCHER J D, et al. Using antisense RNA to study gene function: inhibition of carotenoid biosynthesis in transgenic tomatoes [J]. Bio Technol, 1991, 9: 635-639.
- [17] 翁倩,周宝利,于洋,等. ABA、BR 和 ETH 对番茄果实番茄红素含量的影响 [J]. 沈阳农业大学学报, 2007, 38(6): 784-787.
- [18] FRAY R G, GRIERSON D. Identification and genetic analysis of normal and mutant phytoene synthase genes of tomato by sequencing, complementation and co-suppression [J]. Plantmol Biol, 1993, 22: 589-602.
- [19] 李劲,萧浪涛,蔺万煌.植物内源茉莉酸类生长物质研究进展 [J]. 湖南农业大学学报, 2002, 28(1): 78-83.
- [20] 刘杨,陈火英,魏毓棠.番茄 SSR 遗传连锁图谱的构建及几个产量相关性状的 QTLs 的定位 [J]. 自然科学进展, 2005, 15(6): 748-752.
- [21] 许向阳,于亭亭,赵婷婷,等.番茄果实光滑基因 F 的分子标记筛选及种质资源鉴定 [J]. 东北农业大学学报, 2014, 45(6): 1-7.
- [22] 孙亚东,梁燕. QTL 定位方法及其在番茄品质性状研究中的应用 [J]. 长江蔬菜, 2008(12b): 1-4.
- [23] 鲁亚辉,杜永臣,王孝宣,等. 契斯曼尼番茄果实中可溶性固形物和 β-胡萝卜素含量相关基因 QTL 分析 [J]. 园艺学报, 2012(11): 2151-2158.
- [24] SUMUGAT M R, NEW LEE O, NEMOTO K, et al. Quantitative trait loci analysis of flowering-time-related traits in tomato [J]. Scientia Horticulturae, 2010, 123(3): 343-349.

DOI:10.11937/bfyy.201514025

四川扁桃组织培养技术研究

乔改霞^{1,2}, 陈春伶^{1,2}, 徐美隆^{1,2}, 朱 强¹

(1. 宁夏林业研究所 种苗生物工程国家重点实验室, 宁夏 银川 750004; 2. 国家经济林木种苗快繁工程技术研究中心, 宁夏 银川 750004)

摘 要:四川扁桃是一种具有良好经济和生态价值的灌木树种, 开发利用前景广阔。以四川扁桃一年生嫩枝切段为试材, 采用外植体芽诱导的方法, 研究不同培养基对四川扁桃组织培养的影响。结果表明: 适合四川扁桃外植体芽诱导培养基为 MS+6-BA 0.8 mg/L+IAA 1.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L, 分化培养基为 MS+6-BA 0.4 mg/L+IAA 0.8 mg/L+NAA 0.01 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L, 生根培养基为 1/2MS+IBA 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L。

关键词:四川扁桃; 组织培养; 植株再生

中图分类号:S 722.8; Q 945.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)14-0096-03

四川扁桃(*Amygdalus tangutica*)属蔷薇科(Rosaceae)桃属(*Amygdalus*)灌木, 又名西康扁桃、唐古特扁桃、松潘扁桃, 主要分布四川南坪、松潘、康定等地, 在海拔

1 500~4 600 m 的地带分布最多, 青海、甘肃和陕西也分布^[1]。四川分布区年均温度 8~15℃, 年均降水量 500~800 mm, >10℃年积温 2 500~4 600℃, 无霜期在 210~280 d, 年日照数约 1 200~2 400 h, 1 月均温 -6~0℃, 7 月均温 22~30℃^[2]。四川扁桃是我国西部地区重要的生态树种和野生木本油料植物, 其根系发达, 抗逆性强, 生长量大, 是良好的水土保持和造林树种^[3], 同时也是扁桃(*Amygdalus communis*)良好的矮化种质、优良的蜜源和观赏植物^[4]。近年研究发现, 四川扁桃种仁含油丰

第一作者简介:乔改霞(1988-), 女, 陕西榆林人, 本科, 现主要从事植物组织培养等研究工作。E-mail:534790912@qq.com.

责任作者:陈春伶(1983-), 女, 硕士, 助理研究员, 现主要从事植物生物技术等研究工作。

基金项目:国家林业行业公益专项资助项目(201104041)。

收稿日期:2015-03-16

[25] 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 polymorphisms[J]. Nature, 1998, 335: 721-726.

[26] ESHEN Y, ZAMIR D. An introgression line population of *Lycopersicon pennellii* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield associated QTL[J]. Genetics, 1995, 141(3): 1147-1162.

Correlation Analysis and QTL Mapping in Fruit Mature Period of Tomato

PENG Yan, LI Jingfu, HE Yanlong, XU Xiangyang, JIANG Jingbin, ZHANG He
(College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

Abstract: Taking F₂ population which was developed from an intraspecific cross between early-maturity tomato 13493 and late-maturity tomato 13592 as material, to analyze the correlation of fruit mature of tomato. A molecular linkage map of the cross was constructed by SSR and AFLP, which was used for the QTL mapping. The results showed that mature stage(MS) was significantly positive correlated with white-mature to turning stage(WT), and was positively correlated with turning to mature stage(TM), and was significantly negative correlated with flowering to white-mature stage(FWS). Flowering to white-mature stage(FWS) was significantly negative correlated with white-mature to turning stage(WT), and was negative correlated with turning to mature stage(TM). A total of 21 QTLs were detected for the fruit mature period of tomato by inclusive composite interval mapping(ICIM), including 14 QTLs for turning to mature stage(TM), 5 QTLs for flowering to white-mature stage(FWS) and 1 QTL for the maturity stage and the white-mature to turning stage.

Keywords: tomato; mature period; correlation analysis; QTL