

番茄萼片形态性状的 QTL 初步定位

沈渊博, 王晶, 董文静, 王新宇, 梁燕

(西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100)

摘要: 番茄因独特的风味和丰富的营养而深受人们的喜爱, 随着消费水平的不断提高, 人们对番茄的外观品质也有了更高的要求, 萼片作为番茄果实的重要组成部分, 越来越受到人们的关注。本研究以萼片包被和上卷的番茄材料为亲本构建遗传群体 (P_1 、 P_2 、 F_1 、 F_1' 和 F_2), 分析了萼片性状之间的相关性, 利用 130 对 SSR 标记对 F_2 群体进行分析, 获得了番茄分子标记遗传连锁图谱, 覆盖 12 条连锁群, 遗传图谱长度 4682.22 cM, 标记间平均距离 36.02 cM。共检测到 20 个 QTLs, 其中 2 个与萼片长相关, 3 个与萼片厚相关, 11 个与萼片面积相关, 4 个与萼片卷曲度相关, 未检测到萼片厚和萼片上翘度相关的 QTL。本研究分析了各性状可信度高的 QTLs, 为番茄萼片形态调控及其改良奠定基础。

关键词: 番茄; 萼片形态; 连锁图谱; QTL 定位

Preliminary QTL Mapping of Sepal Morphological Characters in Tomato

SHEN Yuan-bo, WANG Jing, DONG Wen-jing, WANG Xin-yu, LIANG Yan

(College of Horticulture, Northwest Agriculture and Forestry University, Shaanxi Yangling 712100)

Abstract: Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is a globally popular vegetable with special flavor and rich nutrition. Along with the increasing need of the customers on the fruit quality, people have paid attention on the sepals, as an important part of fruits. In this study, the genetic populations (P_1 , P_2 , F_1 , F_1' and F_2) were generated by using tomato genotypes with sepal envelopment and upward curl as parents, respectively. The F_2 population was genotyped using 130 polymorphic SSR markers to obtain the genetic linkage map, which contained twelve linkage groups, with a genetic map length of 4682.22 cM and an average genetic interval of 36.02 between markers. The QTL mapping of six sepal-related morphological traits (sepal length, sepal width, sepal thickness, sepal area, sepal upward curl, and sepal crimpness) enabled identifying 20 QTL, of which two were associated with sepal length, three with sepal thickness, 11 with sepal area, four with sepal crimpness. These high-confident QTL at each trait were further analyzed, and might lay a foundation for deciphering the regulation and improvement mechanisms of tomato sepal morphology.

Key words: tomato; sepal morphology; linkage mapping; QTL localization

番茄 (*Solanum lycopersicum* L.) 作为一种重要的蔬菜作物, 因其独特的风味和丰富的营养而深受

人们的喜爱。随着消费水平的不断提高, 人们不仅关注番茄的口感、风味和营养价值, 而且逐渐对番

收稿日期: 2022-04-19 修回日期: 2022-06-10 网络出版日期: 2022-07-07

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20220419005>

第一作者研究方向为番茄品种选育及推广研究, E-mail: syb777@nwsuaf.edu.cn

通信作者: 梁燕, 研究方向为番茄育种与蔬菜种质资源创新研究, E-mail: liangyan@nwsuaf.edu.cn

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目“番茄杂种优势利用技术与强优势杂交种创制”(2016YFD0101703); 陕西省重点研发计划项目“茄果类蔬菜抗性种质资源创制与新品种选育项目”(2019ZDLNY03-05)

Foundation projects: National Key Research and Development Program of the 13th Five-Year Plan “Tomato Heterosis Utilization Technology and the Creation of Strong Heterotic Hybrid” (2016YFD0101703); Shaanxi Key Research and Development Program “Solanaeous Vegetable Resistance Germplasm Resources Creation and New Variety Breeding Project” (2019ZDLNY03-05)

茄的外观品质提出更高的要求,很多消费者开始关注番茄萼片^[1]。作为花的最外轮器官,萼片具有保护和支撑花瓣的作用,在子房膨大期还可以通过保护子房而提高坐果率^[2-3]。另外,萼片对番茄果实的发育、成熟及品质形成起着促进作用^[4]。在整个生长发育过程中,萼片大小还会影响花器官的光合能力^[5],前人研究表明,*SIMBP21*^[3]、*SICMB1*^[6]、*SIFYFL*^[7]、*LeMADS-MC*^[8]、*SIBRII*^[9]和*SIARF10*^[10]等都参与了番茄萼片大小的调控,对于成熟番茄而言,萼片不但能反映它的新鲜程度、增强视觉美感,而且形态基平的萼片还能够减少其在运输过程中的机械损伤^[11]。因此,番茄萼片形态相关性状是当代番茄育种不可忽视的目标性状。

本课题组从 2009 年开始番茄萼片研究,建立了番茄萼片上翘度和卷曲度的测量描述方法,提出了番茄萼片的五种形态类型(包被、基平、上翘、直立和上卷)及其划分标准^[12],进行了番茄萼片形态性状与 SSR 分子标记的关联分析,定位到与萼片上翘度相关的 5 个分子标记^[1,13]。2021 年王晶等^[14]对番茄萼片形态性状的遗传规律研究表明,番茄萼片形态相关性状(萼片长、萼片宽、萼片厚、萼片面积、萼片上翘度和卷曲度)均受多基因控制,属于数量性状。这些结果为番茄萼片形态性状的定位研究奠定了基础。

2004 年,Frery 等^[15]首先开展番茄萼片性状 QTL 分析,利用 *Solanum lycopersicum* LA925 × *S. pennellii* LA716 组合的 F₂ 群体、高密度 RFLP 和 SSR 共鉴定出 11 个与萼片宽、萼片面积、萼片尖端夹角、SELR、SEDLR (SELR 和 SEDLR 为萼片形状系数,用来区分卵圆形或者三角形)和萼片面积等 6 个萼片性状相关的 QTLs,而番茄萼片上翘度和卷曲度作为衡量番茄萼片形态的重要指标目前并未进行相关定位。为此,本研究以萼片包被和上卷的番茄材料为亲本构建遗传作图群体,利用 SSR 分子标记对番茄萼片上翘度和卷曲度及其他形态相关性状的 QTLs 进行初步定位,以期对番茄萼片形态性状相关调控基因的定位、克隆、功能分析以及后续开展萼片形态性状改良和番茄生产奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料及群体构建

试验采用萼片形态为包被的母本 TI1101-1 (P₁) 和上卷的父本 J53 (P₂) 为亲本材料构建四世

代遗传群体(母本 P₁、父本 P₂、正交 F₁、反交 F₁' 和 F₂),其中 P₁、P₂、F₁ 和 F₁' 各 50 株, F₂ 分离世代 230 株。所有试验材料由西北农林科技大学园艺学院番茄课题组提供。

1.2 方法步骤

1.2.1 DNA 提取及分子标记筛选 取四世代群体 P₁、P₂、F₁、F₁' 和 F₂ 各单株的嫩叶,采用改良 CTAB 法提取 DNA^[16]。双亲及正反交 F₁ 的 DNA 用于多态性 SSR 标记筛选, F₂ 群体的 DNA 用于连锁分析。共 900 对 SSR 引物用于筛选与萼片形态性状连锁的分子标记(部分序列见表 1),引物依据番茄基因组序列(<https://solgenomics.net/>)设计,由 TSINGKE 公司(西安)合成。PCR 反应体系包括 EsTaq mix 5 μL、正反向引物各 1 μL、模板 1 μL、ddH₂O 补至 10 μL;反应程序 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 53 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 30 个循环; 72 °C 再延伸 10 min。PCR 扩增后的产物经过 12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测, 220 V 恒压电泳 90 min, 银染(0.1% 硝酸银)和显色(500 mL ddH₂O+7 g NaOH+4 mL 甲醛)后观察检测结果并记录带型。

1.2.2 萼片形态划分标准及相关性状测定 在果实成熟期,从每个植株的第二、第三或第四花序上分别挑选出 3 个番茄果实,这三个番茄果实的萼片均不受外力挤压,自由生长。利用游标卡尺测量番茄萼片的长、宽、厚、面积、上翘度和卷曲度,并根据萼片上翘度和卷曲度确定萼片形态,具体方法同刘婧仪等^[12]。

1.3 遗传连锁图谱构建

利用 -1、0、1、2 表示电泳条带, F₂ 群体中与 P₁、P₂ 和 F₁ 相同的条带分别用 0、2 和 1 表示,与 P₁、P₂、F₁ 均不相同或者模糊不清的条带的用 -1 表示,从而将同一引物的不同多态性位点转化为数值。用 IciMapping 4.1 软件对所获得的标记位点及萼片形态性状进行分析,采用复合区间作图法,构建番茄萼片形态相关性状的遗传连锁图谱。IciMapping 4.1 软件由中国农业科学院作物科学研究所数量遗传课题组提供(<http://www.isbreeding.net/>)。

1.4 QTL 定位

结合 F₂ 群体表型数据和带型情况,利用 IciMapping 4.1 软件,采用完备区间作图法(ICIM, inclusive composite interval mapping)对番茄萼片形态相关性状进行 QTL 分析,步长 1 cM, LOD ≥ 3 的位点定为有效位点^[17]。

表 1 本研究部分多态性引物序列

Table 1 Part polymorphic primer sequences in this study

名称 Name	染色体 Chr.	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer
TES1753	2	GTATTCCCAAATGGAGCCTTG	CCCCTCGAATGGATTTTACA
TES811	2	CACGAGTCGCAGTGAAATGT	GGAGATGCCGTTTTACCTGA
TES1187	3	GTTGTTCTCCGTGTGGGACT	TCGGACACAGCGAATGATAA
TGS64	3	CCAAAACCCAAGGAATAGCA	GGGAAATAAACCAAAATGAGAAGA
TGS534	3	GTTGGAGTTACGAGGTGAGGG	AAATTTTGTCTCGGAACACGA
TGS1518	4	GATTCATTTTTATGGACCATTTTT	AGCTCAATGACGGTTCAAGC
TES2033	4	GTGACATATGTGTGCCCAAT	ACAAATTGAGGAATGGTGGG
SSR43	4	CTCCAAATTGGGCAATAACA	TTAGGAAGTTGCATTAGGCCA
TES177	4	CGTTCAGCTCTGGACAAACA	GGTGGCGGTAAGGTTCTGTA
TGS1160	4	GCTGTATGCCCAAGAACAT	AGCGAACCATTTGGATTGAAA
TGS364	5	CATCGCGTATTCGTCTCTT	GACTTAGTTCTTGCTTATGTTCCA
TES1230	5	GAAGAGAAAACAACCAAAACCA	AGCTTGCCACGACTAGAGAAAA
TGS2519	5	GAAATGAAGGGGGACTAGGGA	CCATCCATTCCGTACCATTTC
TGS1544	5	AAGGACATTCATCACCAATCA	GAGCAACTGGTTTTTGGAGC
TGS232	5	GTCGGGTTGAGTTAGGCTCAG	AAAGTGAAAGGGTGGAGGATT
TGS914	5	GCCAGGCATTCCAACAATACA	TCACTTGTGCAATGAGGTTGA
TGS567	5	GTTTTGGGCATATGCGTTGTA	CTGCTTGCCTCAGATACATCA
TGS38	5	GAATTAGAGGGTTTGTGATACCG	AAAAAGCTTCTGGCTAAGAAAT
TES99	5	GCGCCTAAGCCAAAAACACAT	TCCAAACACAAAACCTTGGGA
SSR62	5	TGCAAATGAATGTCCAGGAT	TCAGCAGAGTTATGCCATGC
TES1594	5	GTGGAGAGAATCACAAGGATGG	TCATCGCATTATAAACAGAGT
TES365	8	GCAGGGCCTGTAAAGTTCCA	TCTTATTCAAATGTTCTACCAATGC
TGS766	8	GATGGGCTATGCTCAAATTGC	AAAAGCACTTCCAGCCAATG
SSR383	9	ATTGTACAAAGACCCGTGGC	GTTGCACACTGGATCAATGC
SSR70	9	TTTAGGGTGTCTGTGGGTCC	GGAGTGCGCAGAGGATAGAG
TES503	9	GCAAATGACGCCAAATTCT	TCCTCCGATTTTTGGAAGTG
TGS426	9	CACGCCCAAGACCTTATTA	GCATGCCTAAATCTATTAATGCC
SSR110	9	TGTAACGTCAAATTCAGGTG	CTCCGCAATGTGTTGTATGG
TGS160	9	GCGAAGGAGGCCATAACATTC	TGGACACTGAAACACAACCAA
SSR233	10	GACCATGGCCTCCTCTCTAT	CGCAAAAAGGGAAAAATGAA
TES1534	10	GACTCTCCAATGCGTGAATCC	ATCATGAATCGTAGACCGGC
TMS17	11	AATGTAACAACGTGTCATGATTC	AAGTCACAACTAAGTTAGGG
TGS2218	11	GATGGTGGTGGTTTTTCATGGT	AAGCGTGATTCTCAAATGGG

2 结果与分析

2.1 番茄萼片形态性状相关性分析

2.1.1 番茄萼片形态性状测定 对四世代番茄萼片长、萼片宽、萼片厚、萼片面积、萼片上翘度和萼片卷曲度进行测定(表 2), 结果表明, 双亲的 6 个性状之间都存在显著性差异; 正反交 F_1 代各个性状大

小基本一致, 不存在显著性差异(除萼片长外)。 F_2 群体萼片形态有包被(上翘度在 $-37.99\sim -17.92^\circ$ 之间, 卷曲度在 $1.15\%\sim 13.22\%$ 之间)、基平(上翘度在 $1.10\sim 34.21^\circ$ 之间, 卷曲度在 $5.51\%\sim 26.95\%$ 之间)、上翘(上翘度在 $35.14\sim 46.11^\circ$ 之间, 卷曲度在 $5.51\%\sim 26.95\%$ 之间)和上卷(上翘度在 $27.32\sim 33.24^\circ$ 之间, 卷曲度在 $31.48\%\sim 90.93\%$) 四种。

表 2 四世代番茄萼片性状数据统计

Table 2 Tomato sepal characters statistics of four generations

性状 Characters	P_1	P_2	F_1	F_1'	F_2			
					包被 Down wrap	基平 Flat spread	上翘 Upwarp	上卷 Upcurl
萼片长 (cm) SEL	12.23a	16.23b	15.14b	15.33c	13.33	14.66	15.91	15.11
萼片宽 (cm) SEW	5.43a	4.91b	4.93b	4.71b	4.23	4.99	4.95	5.10
萼片厚 (cm) SET	2.26a	1.73b	1.73b	1.82b	1.65	1.76	1.97	1.69
萼片面积 (cm^2) SEA	33.17c	39.85a	37.29b	36.10b	24.29	37.37	39.99	37.98
萼片上翘度 ($^\circ$) SEU	-12.4c	55.89a	15.23b	17.54b	-9.92	22.96	38.40	31.49
萼片卷曲度 (%) SEC	3.89c	39.82a	8.70b	7.89b	7.06	12.21	13.36	36.05

不同小写字母表示在 $P<0.05$ 水平下的差异显著性

Different lowercase letters indicate significant difference at the level of $P<0.05$; SEL: Sepal length; SEW: Sepal width; SET: Sepal thickness; SEA: Sepal area; SEU: Sepal upward curl; SEC: Sepal crimpness; the same as below

2.1.2 番茄萼片形态性状相关性分析 对番茄萼片 6 个性状进行相关性分析表明(表 3), 萼片宽和萼片厚与萼片上翘度和卷曲度相关性不显著, 萼片面积与萼片卷曲度显著正相关, 其余性状间均为

极显著正相关。萼片各性状间相关性在 $0.04\sim 0.60$ 之间, 其中, 萼片长和萼片宽相关性最高, 达 0.60 。总体来讲, 大多数萼片性状之间都有一定的相关性。

表 3 四世代番茄萼片形态性状相关性分析

Table 3 Correlation analysis of tomato sepal characters statistics of four generations

性状 Characters	萼片长 SEL	萼片宽 SEW	萼片厚 SET	萼片面积 SEA	萼片上翘度 SEU	萼片卷曲度 SEC
萼片长 SEL	1.00					
萼片宽 SEW	0.60**	1.00				
萼片厚 SET	0.46**	0.47**	1.00			
萼片面积 SEA	0.29**	0.30**	0.18**	1.00		
萼片上翘度 SEU	0.25**	0.05	0.03	0.23**	1.00	
萼片卷曲度 SEC	0.17**	0.04	0.05	0.13*	0.50**	1.00

** 表示在 0.01 水平(双侧)相关性显著; * 表示在 0.05 水平(双侧)相关性显著

** indicates significant correlation at the 0.01 level (bilateral); * indicates significant correlation at the 0.05 level (bilateral)

2.2 番茄萼片形态性状 QTLs 定位及分析

2.2.1 番茄萼片形态性状 SSR 标记筛选及 F_2 群体基因型检测 利用父母本共筛选 900 对 SSR 引物,

从中获得 130 对多态性和重复性均较好的用于 F_2 群体特异性分析, 多态性率为 14.4% 。并对 230 株 F_2 植株进行基因型检测(图 1)。

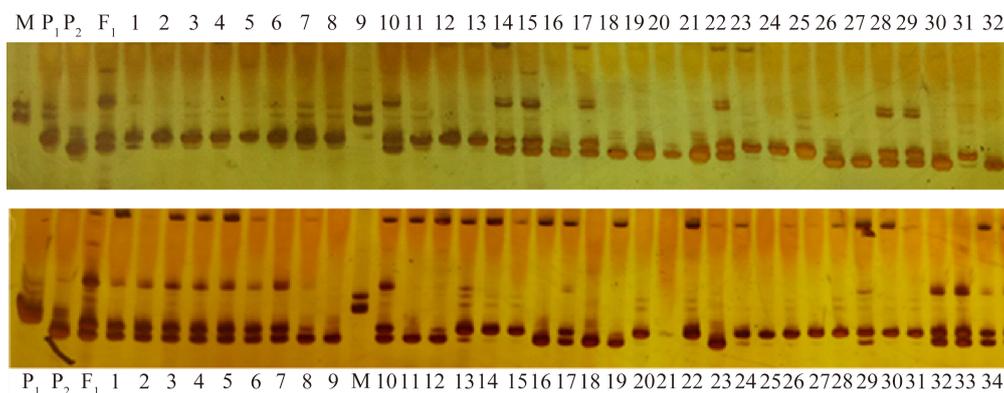


图1 SSR9(上)和 TES64(下)在部分 F₂ 群体的扩增结果

Fig.1 Amplification results of SSR9(above)and TES64(below)in part of F₂ population

2.2.2 番茄分子标记遗传连锁图谱构建 利用筛选出的多态性分子标记构建番茄分子标记遗传连锁图谱(图2),该图谱覆盖基因组长度 4682.22 cM,标记间平均距离 36.02 cM。包含 12 条染色体,单个染色体上的标记分布较均匀,但各个染色体的长度和标记数目存在差异,每条染色体上的标记数在 3~17 个不等,长度在 14.64 cM~633.43 cM 之间。其中,6 号染色体长度为 633.43 cM,含有的标记最多,为 17 个;8 号染色体仅有 3 个 SSR 标记,长度为 102.25 cM;10 号染色体的分子标记平均距离最小,为 22.93 cM;12 号染色体的分子标记间的平均距离最大,为 53.12 cM。

2.2.3 番茄萼片形态性状 QTL 定位及分析 利用 130 个多态性 SSR 标记对 230 株 F₂ 单株进行多态性分析,结合 F₂ 群体单株的萼片形态性状进行区间作图分析,发现 12 条染色体上共有 20 个 QTLs,其中 5 号染色体有 7 个 QTLs,是定位出 QTLs 最多的一条染色体,9 号染色体次之,存在 4 个,8 号、10 号和 11 号染色体均只定位出 1 个萼片面积相关的位点,1 号、6 号、7 号和 12 号染色体未定位到萼片形态性状相关 QTL(图2)。另外,萼片形态性状除了受主效基因的控制之外,还受微效基因的影响,表现出数量性状的特点。结合已得到的遗传连锁图谱、F₂ 群体的基因型和表型数据,对番茄萼片的 6 个形态性状进行 QTL 分析,共定位到 20 个与萼片长、萼片厚、萼片面积和萼片卷曲度相关的 QTLs,未定位到萼片宽和萼片上翘度相关的 QTL(表4)。

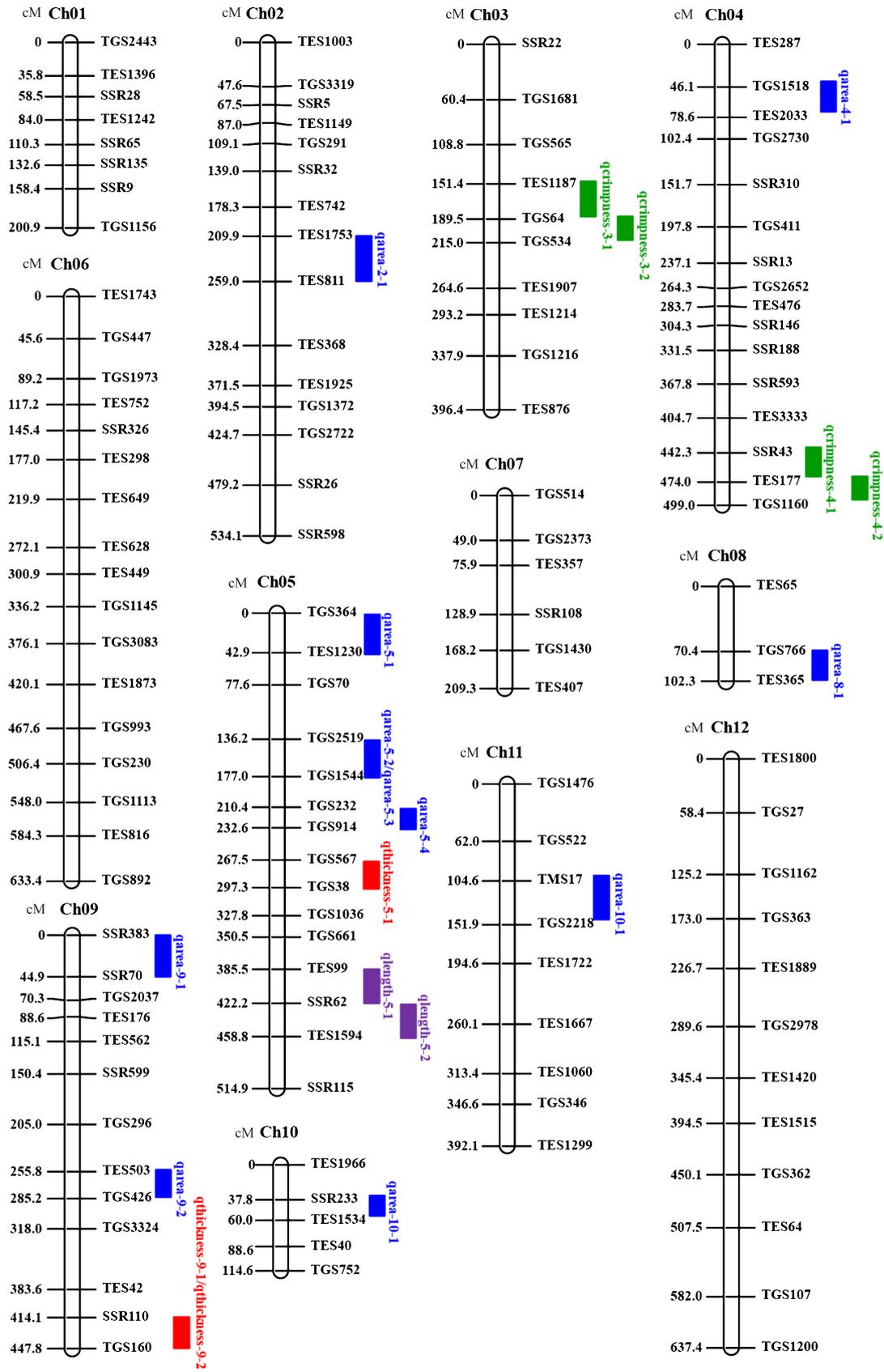
萼片长: 在 5 号染色体上定位到 2 个与萼片长相关的 QTLs, *qlength5-1*、*qlength5-2* 的 LOD 均为 3.22,贡献率分别为 2.23%、2.24%。2 个 QTLs 的加

性效应均为正值,表明其受父本的影响大。

萼片厚: 与萼片厚相关的 QTLs 共 3 个,分布在 5 号和 9 号染色体上,贡献率在 2.54%~7.63% 之间,LOD 值在 3.00~4.11 之间。*qthickness-9-1* LOD 值最大为 4.11,贡献率为 2.84%。3 个 QTLs 均表现出正向加性效应,表明其增效等位基因来自父本。

萼片面积: 共 11 个与萼片面积相关的 QTLs,萼片面积相关的 QTL 在染色体上的分布范围最广,分别位于 2、4、5、8、9、10、11 号染色体上。5 号染色体上定位到 4 个 QTLs,9 号染色体 2 个,2、4、8、10、11 号染色体上各分布 1 个 QTL,11 个 QTLs 的 LOD 值在 3.00~13.49 之间,可解释的遗传变异为 1.11%~6.58%,总贡献率为 47.11%。8 号染色体的 QTL *qarea-8-1* 的贡献率最大,为 6.58%。11 号染色体上 *qarea-11-1* 的 LOD 值最大(LOD 值越大则说明该 QTL 的可信度越高),为 13.49,贡献率为 6.14%。*qarea-2-1*、*qarea-5-4*、*qarea-9-2*、*qarea-10-1*、*qarea-11-1* 的加性效应值均为负值,说明上述增效等位基因来自母本,剩余 6 个 QTLs 的增效等位基因来自父本。

萼片卷曲度: 在 3 号和 4 号染色体上共定位到 4 个与萼片卷曲度相关的 QTLs,4 个位点的贡献率在 3.84%~4.29% 之间,总贡献率为 16.27%。同一染色体上的 QTL 的 LOD 值和贡献率基本相同。例如,3 号染色体上的两个 QTLs *qcrimpness-3-1* 和 *qcrimpness-3-2* 的 LOD 值为 3,贡献率均为 4.29%;4 号染色体 2 个 QTLs *qcrimpness-4-1*、*qcrimpness-4-2*, LOD 值最大均为 3.61,贡献率分别为 3.84%、3.85%;4 个 QTLs 的加性效应均为正值,表明增效等位基因来源于父本。



紫色、红色、蓝色和绿色分别代表与萼片长、萼片厚、萼片面积、萼片卷曲度相关的 QTLs

Purple, red, blue and green represent QTL associated with sepal length, sepal thickness, sepal area, and upwarp, respectively

图 2 番茄萼片形态性状的 QTLs 位点分布

Fig.2 QTL sites distribution of tomato sepal morphology characters

表 4 番茄萼片形态性状的 QTL 定位结果

Table 4 QTL results for tomato sepal morphology characters

性状 Characters	QTL	染色体 Chr.	左侧标记 Left marker	右侧标记 Right marker	位置 Location	LOD 值 LOD value	加性效应 Additive effect	贡献率(%) Variance explained	
萼片长 SEL	<i>qlength-5-1</i>	5	TES99	SSR62	2894	3.22	1.70	2.23	
	<i>qlength-5-2</i>	5	SSR62	TES1594	2961	3.22	1.71	2.24	
萼片厚 SET	<i>qthickness-5-1</i>	5	TGS567	TGS38	1169	3.00	0.21	7.63	
	<i>qthickness-9-1</i>	9	SSR110	TGS160	2680	4.11	0.02	2.84	
	<i>qthickness-9-2</i>	9	SSR110	TGS160	3127	3.58	0.03	2.54	
萼片面积 SEA	<i>qarea-2-1</i>	2	TES1753	TES811	1094	3.00	-2.23	1.11	
	<i>qarea-4-1</i>	4	TGS1518	TES2033	75	3.20	0.45	8.16	
	<i>qarea-5-1</i>	5	TGS364	TES1230	0	4.42	0.97	1.74	
	<i>qarea-5-2</i>	5	TGS2519	TGS1544	274	3.04	0.39	6.53	
	<i>qarea-5-3</i>	5	TGS2519	TGS1544	433	6.49	0.19	3.06	
	<i>qarea-5-4</i>	5	TGS232	TGS914	658	3.60	-0.22	5.90	
	<i>qarea-8-1</i>	8	TGS766	TES365	88	3.21	0.17	6.58	
	<i>qarea-9-1</i>	9	SSR383	SSR70	8	4.45	4.73	2.79	
	<i>qarea-9-2</i>	9	TES503	TES426	931	4.70	-0.71	2.08	
	<i>qarea-10-1</i>	10	SSR223	TES1534	40	6.88	-4.16	3.02	
	<i>qarea-11-1</i>	11	TMS17	TGS2218	318	13.49	-6.06	6.14	
	萼片卷曲度 SEC	<i>qcrimpness-3-1</i>	3	TES1187	TGS64	481	3.00	5.26	4.29
		<i>qcrimpness-3-2</i>	3	TES1187	TGS64	539	3.00	5.26	4.29
<i>qcrimpness-4-1</i>		4	SSR43	TES177	3655	3.61	5.07	3.84	
<i>qcrimpness-4-2</i>		4	SSR43	TES177	3718	3.61	5.07	3.85	

加性效应为正表明增效等位基因来源于父本;加性效应为负表明增效等位基因来源于母本

Positive additive effect indicate the synergistic allele is derived from the male parent; Negative additive effect indicates the synergistic allele is derived from the female parent

3 讨论

性状之间的相关性分析可以明确其是否存在依存关系,探讨其相关的方向和大小;也可以通过对一种性状的选择间接达到选择另一种性状的目的,提高育种的效率^[18]。本研究对番茄萼片 6 个性状进行相关性分析,结果表明,萼片宽和萼片厚与萼片上翘度和卷曲度相关性不显著,萼片面积与萼片卷曲度显著正相关,其余性状间均为极显著正相关。周相助等^[19]也证实了萼片长、萼片宽、萼片厚和萼片面积之间联系紧密。郑戎翔^[1]的研究也表明,萼片面积与萼片长和萼片宽极显著正相关;刘婧仪^[13]的研究也得到相同结果,并且萼片上翘度和卷曲度之间也是极显著正相关。

遗传作图的原理是基于染色体的交换与重组^[20]。构建遗传连锁图谱是进行 QTL 定位的前提,在基因定位、克隆、基因组结构与功能的研究中发挥基础作用^[21],并且从分子遗传方面为强化动植物育种提供重要依据。超高密度的遗传连锁图谱有助于提高 QTL 定位速度^[22],遗传连锁图谱的分辨率和精确度与标记密度和群体大小密切相关。在遗传图谱的构建过程中,构建遗传图谱的目的不同,对遗传距离的要求也不同。本研究所建遗传连锁图谱覆盖基因组长度 4682.22 cM,标记间平均距离 36.02 cM,后续可以此图谱为基础进行下一步研究,也可通过扩大作图群体,丰富标记类型以及增加标记数目,如 SNP 和 Indel 标记等,使该图谱更加饱和,更准确地应用于其他农艺性状的定位

研究。

目前关于番茄萼片形态性状的 QTL 研究较少,并且同一性状的 QTL 之间不存在重叠现象,本研究所得到的 QTLs 为新的位点。Frery 等^[15]利用高密度 RFLP 和 SSR 分子标记对萼片长、萼片宽、萼片面积等进行 QTL 分析,在 3 号染色体上得到了 1 个萼片面积相关的 QTL *sesa3.1*,贡献率为 31.2%,未定位到与萼片长相关的 QTL。刘婧仪^[13]通过关联分析得到了萼片长、萼片宽和萼片厚显著相关联的分子标记 SSR346,贡献率分别为 6.51%、5.93% 和 4.82%,该标记位于 1 号染色体。而本研究则在 5 号染色体上定位到 2 个与萼片长相关的 QTLs,贡献率分别为 2.23% 和 2.24%;与萼片面积相关的 QTLs 11 个,并未在 3 号染色体,而是分散于 2、4、5、8、9、10 和 11 号染色体上,贡献率在 2.08%~6.58% 之间。上述定位结果均无重叠,造成这种现象的原因可能跟亲本遗传背景及标记的类型和数目有关,但也符合其作为数量性状由多个遗传位点控制的复杂性特点^[23]。受到分子标记种类和数量的限制,本研究没有定位到与萼片宽和萼片上翘度相关的 QTL,也可能因为本研究设置的 LOD 阈值较高。

本研究为尽可能避免假阳性,将 LOD 值阈值设为 3.0^[24],最终得到了 20 个番茄萼片形态相关的 QTLs,综合各位点的 LOD 值和贡献率,找出更有研究价值的位点作为下一步工作的重点。其中与萼片长相关的 2 个 QTLs 贡献率和 LOD 值差异并不大,并且都在 SSR62 附近,后续可通过加密标记或加大群体等方式验证是否为同一位点。与萼片厚相关的位点 *qthickness-9-1* LOD 值为 4.11,贡献率为 2.84%;另一位点 *qthickness-5-1* 贡献率较高,为 7.63%,LOD 值为 3.00。与萼片面积相关的 *qarea-11-1* LOD 值最高,为 13.49,贡献率为 6.14%;*qarea-4-1* 的贡献率较大,为 8.16%,LOD 值为 3.20。与萼片卷曲度相关的 4 个 QTLs, *qcrimpness-4-1* 和 *qcrimpness-4-2* 定位在 TES177 附近,LOD 值较大,均为 3.61,贡献率分别为 3.84% 和 3.85%;*qcrimpness-3-1* 和 *qcrimpness-3-2* 则定位在 TGS64 附近,可解释表型变异较大均为 4.29%,LOD 值为 3.00,两对 QTLs 分别定位在同一标记附近,且距离较小,也需进一步确定是否为同一位点。后续研究可以上述位点为突破口,进行番茄萼片形态性状相关基因的精细定位、克隆及功能分析和萼片形态相关性状的改良育种。

4 结论

在前期对番茄萼片形态的遗传规律分析的基础上,构建了番茄萼片长、萼片宽、萼片厚、萼片面积、萼片上翘度和卷曲度这 6 个萼片形态性状的遗传连锁图谱,覆盖 12 条连锁群,基因组长度 4682.22 cM,标记间平均距离 36.02 cM。并进行了 QTL 定位,共检测到 20 个 QTLs,综合各位点 LOD 值及贡献率,最终将 2 个与萼片长相关 *qlength-5-1* 和 *qlength-5-2*, 2 个与萼片厚相关 *qthickness-5-1* 和 *qthickness-9-1*, 2 个与萼片面积相关的 *qarea-4-1* 和 *qarea-11-1*, 4 个与萼片卷曲度相关 *qcrimpness-3-1*、*qcrimpness-3-2*、*qcrimpness-4-1* 和 *qcrimpness-4-2* 作为后期基因定位的研究重点。

参考文献

- [1] 郑戎翔. 番茄萼片性状及其多样性研究. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012
Zheng X X. Study on spal traits and diversity in tomato. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University, 2012
- [2] Vemmos S N, Goldwin G K. The photosynthetic activity of cox's orange pippin apple flowers in relation to fruit setting. *Annals of Botany*, 1994 (4): 385-391
- [3] Li N, Huang B, Tang N, Jian W, Zou J, Chen J, Cao H, Habib S, Dong X, Wei W. The MADS-Box gene *SIMBP21* regulates sepal size mediated by ethylene and auxin in tomato. *Plant & Cell Physiology*, 2017, 58 (12): 2241-2256
- [4] 赵博, 崔萌萌, 缪佩, 刘锐, 王介玲, 冷平. 萼片对番茄果实发育及品质形成的影响. *中国农业大学学报*, 2015, 20 (2): 93-100
Zhao B, Cui M M, Miao P, Liu R, Wang J L, Leng P. Effects of calyx on tomato fruit development and quality formation. *Journal of China Agricultural University*, 2015, 20 (2): 93-100
- [5] 张春牛. 浅谈花萼及其演化. *生物学通报*, 1990 (10): 9
Zhang C N. An introduction to the calyx and its evolution. *Bulletin of Biology*, 1990 (10): 9
- [6] Zhang J, Hu Z, Wang Y, Yu X, Liao C, Zhu M, Chen G. Suppression of a tomato *SEPALLATA* MADS-box gene, *SICMB1*, generates altered inflorescence architecture and enlarged sepals. *Plant Science*, 2018 (3): 75-87
- [7] Vrebalov J. A MADS-box gene necessary for fruit ripening at the tomato *ripening-inhibitor* (*rin*) locus. *Science*, 2002, 296 (5566): 343-346
- [8] Xie Q, Hu Z, Zhu Z, Dong T, Zhao Z, Cui B, Chen G. Overexpression of a novel MADS-box gene *SIFYFL* delays senescence, fruit ripening and abscission in tomato. *Scientific Reports*, 2014, 4: 4367
- [9] Nie S, Huang S, Wang S, Cheng D, Liu J, Lv S, Li Q, Wang X. Enhancing brassinosteroid signaling via overexpression of tomato (*Solanum lycopersicum*) *SIBRI1* improves major agronomic traits. *Frontiers in Plant Science*, 2017 (8): 1386
- [10] Hendelman A, Buxdorf K, Stav R, Kravchik M, Arazi T. Inhibition of lamina outgrowth following *Solanum lycopersicum*

- AUXIN RESPONSE FACTOR 10 (*SLARF10*) derepression. *Plant Molecular Biology*, 2012, 78 (6): 561-576
- [11] 郑戎翔, 闫见敏, 罗雷, 梁燕. 番茄萼片形态的初步观察. *中国蔬菜*, 2011 (14): 61-63
Zheng X X, Yan J M, Luo L, Liang Y. Preliminary observation of tomato sepal shape. *China Vegetables*, 2011 (14): 61-63
- [12] 刘婧仪, 杨建华, 秦蕾, 李翠, 梁燕. 番茄花萼在蕾期至果实红熟期的发育形态学及其多样性研究. *植物遗传资源学报*, 2015, 16 (2): 300-306
Liu J Y, Yang J H, Qin L, Li C, Liang Y. Development and diversity of calyx morphology from bud stage to fruit maturity in tomato. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2015, 16 (2): 300-306
- [13] 刘婧仪. 番茄萼片形态学性状与 SSR 分子标记的关联分析. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014
Liu J Y. Association analysis of calyx morphology traits with SSR markers in tomato. Yangling: Northwest A & F University, 2014
- [14] 王晶, 刘婧仪, 梁燕. 番茄萼片形态性状遗传分析. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2020, 48 (6): 62-69, 78
Wang J, Liu J Y, Liang Y. Inheritance analysis on tomato sepal morphology. *Journal of Northwest Agriculture and Forestry University: Natural Science Edition*, 2020, 48 (6): 62-69, 78
- [15] Frary A, Fritz L A, Tanksley S D. A comparative study of the genetic bases of natural variation in tomato leaf, sepal, and petal morphology. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 109 (3): 523-533
- [16] Boiteux L S, Fonseca M, Simon P W. Effects of plant tissue and DNA purification method on randomly amplified polymorphic DNA-based genetic fingerprinting analysis in carrot. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1999, 124 (1): 32-38
- [17] 王建康, 盖钧镒. 利用杂种 F₂ 世代鉴定数量性状主基因 - 多基因混合遗传模型并估计其遗传效应. *遗传学报*, 1997 (5): 432-440
Wang J K, Gai J Y. Identification of major gene and polygene mixed inheritance model and estimation of genetic parameters of a quantitative trait from F₂ progeny. *Acta Genetica Sinica*, 1997 (5): 432-440
- [18] 刘子记, 申龙斌, 杨衍, 曹振木. 甜椒核心种质遗传多样性与亲缘关系分析. *江苏农业科学*, 2016, 44 (5): 199-202
Liu Z J, Shen L B, Yang Y, Cao Z M. Genetic diversity and kinship analysis of core germplasm of *Capsicum annuum* var. *grossum*. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2016, 44 (5): 199-202
- [19] 周相助, 刘明月, 严逸男, 尚春雨, 林义章, 李祖亮, 胡炜辉, 吴章洪, 钟凤林. 番茄花萼形态多样性、相关性分析及因子模型构建. *热带作物学报*, 2018, 39 (2): 280-286
Zhou X Z, Liu M Y, Yan Y N, Shang C Y, Lin Y Z, Li Z L, Hu W H, Wu Z H, Zhong F L. Morphological diversity, correlation analysis and mathematic model construction of tomato sepals. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2018, 39 (2): 280-286
- [20] 张天真. 作物育种学总论. 第三版. 北京: 中国农业出版社, 2011: 57
Zhang T Z. Reform of crop breeding. 3rd edition. Beijing: China Agriculture Press, 2011: 57
- [21] 詹海仙, 杜晨晖, 李睿, 尚彩玲, 张瑜, 胡楠, 裴香萍. 药用植物质量性状的分子研究进展. *世界科学技术: 中医药现代化*, 2020 (8): 2893-2898
Zhan H X, Du C H, Li R, Shang C L, Zhang Y, Hu N, Pei X P. Research progress of quality characters in medicinal plants. *Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology*, 2020 (8): 2893-2898
- [22] Han K, Jeong H J, Yang H B, Kang S M, Kang B C. An ultra-high-density bin map facilitates high-throughput QTL mapping of horticultural traits in pepper (*Capsicum annuum*). *DNA Research*, 2016, 23 (2): 81-91
- [23] 陈红霖, 胡亮亮, 杨勇, 郝曦煜, 李姝彤, 王素华, 王丽侠, 程须珍. 481 份国内外绿豆种质农艺性状及豆象抗性鉴定评价及遗传多样性分析. *植物遗传资源学报*, 2020, 21 (3): 549-559
Chen H L, Hu L L, Yang Y, Hao X Y, Li S T, Wang S H, Wang L X, Cheng X Z. Evaluation and genetic diversity analysis of agronomic and bruchid sesistance using 481 worldwide mungbean germplasm. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2020, 21 (3): 549-559
- [24] 李慧慧, 张鲁燕, 王建康. 数量性状基因定位研究中若干常见问题的分析与解答. *作物学报*, 2010, 36 (6): 918-931
Li H H, Zhang L Y, Wang J K. Analysis and answer to frequently asked question in quantitative trait locus mapping. *Acta Agronomica Sinica*, 2010, 36 (6): 918-931