

番茄长花柱性状遗传规律与 QTL 分析

马雅琳, 梁 燕*

(西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100)

摘 要: 以长花柱番茄 ‘J59’ 为材料对其长花柱性状的温度敏感性、遗传规律以及相关 QTL 进行分析: 对两叶一心幼苗分别进行昼夜 18/10 °C、25/18 °C 和 35/25 °C 处理, 发现雌蕊长度、雄蕊长度、花柱长度和柱头外露长度无显著差异, 表明 ‘J59’ 番茄不是温度敏感型长花柱材料; 以长花柱番茄 ‘J59’ 和短花柱番茄 ‘M82’ 为亲本, 构建了 6 个世代遗传分析群体 P_1 、 P_2 、 F_1 、 BC_1P_1 、 BC_1P_2 和 F_2 , 结果显示长花柱性状遗传规律符合 MX2-ADI-AD 模型, 以主基因遗传为主, BC_1P_1 、 BC_1P_2 和 F_2 群体的主基因遗传率分别为 65.51%、90.76% 和 89.10%; 以 F_2 世代为分析群体构建了遗传连锁图谱, 其包含 121 个 SSR, 12 个连锁群, 覆盖基因组长度 2 108.71 cM, 平均标记间距为 17.43 cM; 共检测到 10 个与长花柱性状相关的 QTL, 分布于 Chr1、Chr2、Chr3、Chr4、Chr5、和 Chr12, LOD 值介于 2.53 ~ 26.85 之间, 可解释 1.28% ~ 20.22% 的表型变异率, 其中高于 10% 的位点有 3 个, 占 QTL 总数的 30%。

关键词: 番茄; 长花柱; 遗传模型; 遗传率; QTL 定位

中图分类号: S 641.2

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2020) 02-0264-11

Inheritance and QTL Analysis of Long-style Trait in Tomato

MA Yalin and LIANG Yan*

(College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: In this study, the temperature sensitivity, inheritance and QTL (quantitative trait locus) analysis of long-style trait were performed using a tomato (*Solanum lycopersicum*) material, J59, which shows a long style phenotype. The main results were as follows: when the seedlings at two-leaf stage were treated with different temperature conditions, including 18/10 °C, 25/18 °C, and 35/25 °C in day/night, respectively, the lengths of pistil, stamen, style, and stigma exsertion were not significantly changed, implying that the tomato J59 is not a temperature-sensitive material. Furthermore, the six generations of genetic groups, namely, P_1 , P_2 , F_1 , BC_1P_1 , BC_1P_2 , and F_2 , were constructed using the J59 and M82 (short style) tomatoes as parental materials. Genetic analysis indicated that the long style trait conforms to the MX2-ADI-AD model and is mainly controlled by major genes. The inheritabilities of major genes in BC_1P_1 , BC_1P_2 and F_2 populations are 65.51%, 90.76% and 89.10%, respectively. Moreover, using 121 polymorphic SSR markers, a genetic linkage map was constructed, which consists of 12 linkage groups, and covers a total length of 2 108.71 cM in the genome with an average of 17.43 cM between the adjacent markers. The QTL analysis was performed based on the inclusive composite interval mapping method. Ten

收稿日期: 2019-11-09; 修回日期: 2020-01-05

基金项目: 国家“十三五”重点研发计划项目 (2016YFD0101703)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: liangyan@nwsuaf.edu.cn)

QTLs associated with long-style trait, which distribute in Chr1, Chr2, Chr3, Chr4, Chr5, and Chr12, were detected. *LOD* scores are ranged from 2.53 to 26.85. These QTLs can explain the phenotypic variability of 1.28% - 20.22%, in which, the variabilities of 3 QTLs are higher than 10%, accounting for 30% of the total QTLs.

Keywords: tomato; long style; genetic model; inheritability; QTL mapping

番茄 (*Solanum lycopersium* L.) 是自花授粉作物, 自然状态下其柱头低于雄蕊 (称为短花柱), 当花粉和柱头发育成熟, 花粉散落在柱头上相继完成自花授粉受精过程。因此, 番茄 F_1 代种子的生产需要人工去雄和人工授粉来完成, 制种成本高, 效率低 (Dhaliwal & Cheema, 2008)。而当柱头高于雄蕊 (称为长花柱), 即柱头外露, 由于位置关系无法接受自身花粉完成授粉, 也就无法进一步进行受精作用, 表现为不育 (Chalivendra et al., 2013)。若以这种长花柱材料为母本进行制种, 不仅可免去人工去雄的麻烦, 还可杜绝去雄不及时对种子纯度的影响。番茄长花柱表型不稳定易受环境影响, 特别是高温 (徐鹤林和李景富, 2006; Saeed et al., 2007; Raja et al., 2019), 这限制了其在生产中的应用。所以获得稳定遗传的长花柱材料, 并掌握其遗传规律是应用的前提保障。

研究表明, 番茄长花柱性状受多基因控制, 遗传机制复杂 (Chen & Tanksley, 2004; Miyata et al., 2007)。Levin 等 (1994) 认为番茄长花柱性状因基因类型和环境不同而存在差异, 受 2 ~ 20 个基因控制。人们利用分子标记技术定位到了 3 个与番茄长花柱性状相关的 QTL: *se2.1*、*se5.1* 和 *sty8.1*, 分别位于 Chr2、Chr5 和 Chr8 (Georgiady et al., 2002; Chen & Tanksley, 2004; Chen et al., 2007; Gorguet et al., 2008), 其中 *se2.1* 位点至少包含 5 个紧密连锁的基因: 1 个控制花柱长度的基因 *style2.1*, 3 个控制雄蕊长度的基因 *stamen2.1*、*stamen2.2*、*stamen2.3*, 1 个控制花药开裂的基因 *dehiscence2.1*。研究还发现, 赤霉素 (王燕 等, 2015)、DELLA 蛋白 (Marti et al., 2007) 和 microRNA (Omidvar et al., 2015a, 2015b; Pan et al., 2017) 参与长花柱性状的调控, 并且外源 JA 能逆转高温引起的长花柱性状 (Pan et al., 2019)。也有研究表明调控番茄长花柱性状的基因间存在不同程度的杂合, 并且与番茄的遗传背景密切相关 (张少丽 等, 2011)。可见, 番茄长花柱性状受多种因素的调控。

本研究中以具有长花柱性状的番茄为材料, 对长花柱性状的温度敏感性、遗传规律以及相关 QTL 进行分析, 以期为长花柱性状的基因定位、克隆、功能分析以及生产应用提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

番茄 ‘J59’ 为纯和株系, 表现为长花柱, ‘M82’ 表现为短花柱, 均由西北农林科技大学园艺学院番茄课题组提供。

以 ‘J59’ 和 ‘M82’ 为亲本构建 6 个世代群体 P_1 、 P_2 、 F_1 、 F_2 、 BC_1P_1 和 BC_1P_2 。其中 P_1 和 P_2 各种 22 株, F_1 种 16 株, F_2 分离世代种 465 株, BC_1P_1 分离世代种 39 株和 BC_1P_2 种 60 株。

1.2 检测项目及方法

1.2.1 温度敏感性检测

将 ‘J59’ 番茄播种在光照培养箱中, 光周期为 16 h/8 h, 光照强度 8 000 lx, 正常生长管理。参考王勇等 (2009) 的方法, 在幼苗生长至两叶一心时期进行温度处理, 分别为昼夜 18/10 °C、35/25 °C,

以 25/18 ℃ 为对照, 处理 6 d, 之后恢复正常生长条件。设置 3 次重复, 每重复 3 ~ 5 株。用游标卡尺测量各植株花朵的雌蕊长度、雄蕊长度和花柱长度, 并计算柱头外露长度, 即雌蕊与雄蕊长度之差 (Carrera et al., 2012)。

1.2.2 遗传模型分析

以 6 个世代群体为材料, 随机选择第 2 ~ 3 花序上当天开放的 5 ~ 10 朵花, 用游标卡尺测量雌蕊长度和雄蕊长度, 并计算柱头外露长度。以中亲优势和中亲优势率表示杂种优势 (孔繁玲, 2006; 商连光 等, 2017)。中亲优势 (H_m) 为 F_1 平均值 (F_m) 与双亲平均值 (Mid-parents value, MPV) 之差, 中亲优势率 (RH_m , %) 为 $(F_m - MPV) / MPV \times 100$ 。利用 Microsoft Excel 2010 软件整理数据, 并做频率分布柱形图; 采用 SPSS 21 进行统计分析及样本均值 t 检测。利用植物数量性状主基因 + 多基因混合遗传模型分析法, 使用 SEA 软件对番茄 6 个世代群体柱头外露长度数据进行联合分析, 计算出 24 种模型下各世代的极大似然函数值和 AIC (Akaike information criterion) 值; 通过 AIC 值选出备选模型, 并结合适合性检测, 包括 U_1^2 、 U_2^2 、 U_3^2 , Smirnov 检验 (${}_nW^2$), Kolmogorov 检验 (D_n), 根据 AIC 值最小原则和适合性检测结果选出最优模型。然后利用最小二乘法估计出长花柱性状最优模型下的一阶和二阶遗传参数 (曹锡文 等, 2013)。

1.2.3 DNA 提取和分子标记

取亲本及 F_2 代群体各单株的嫩叶, 采用改良 CTAB 法提取 DNA (Boiteux et al., 1999)。亲本的 DNA 用于多态性 SSR 标记筛选, F_2 群体的 DNA 用于连锁分析。900 对 SSR 引物用于筛选与长花柱性状基因连锁的标记, 引物序列来自番茄基因组序列 (<https://solgenomics.net/>), 由 TSINGKE 公司 (西安) 合成。PCR 反应体系为 10 μ L, 包括 5 μ L Mix (TSINGKE), 1 μ L DNA, 3 μ L ddH₂O, 前、后引物各 0.5 μ L。PCR 程序为 94 ℃ 预变性 4 min; 94 ℃ 变性 30 s, 53 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 30 s, 扩增 30 个循环; 最后 72 ℃ 延伸 5 min。PCR 扩增后的产物经过 9% 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。

1.2.4 遗传图谱的构建

以 Microsoft Excel 2010 建立的 F_2 群体 SSR 标记的带型为数据, 利用 IciMapping 4.1 软件对其进行分析并构建遗传图谱。与亲本 ‘J59’ 番茄带型一致的记为 “2”, 与亲本 ‘M82’ 番茄带型一致的记为 “0”, 杂合的带型记为 “1”, 缺失或者模糊不清的带型记为 “-1”。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/>)。

1.2.5 QTL 定位

利用 F_2 群体表型和带型数据, 并结合 IciMapping 4.1 软件、完备区间作图法 (Inclusive composite interval mapping, ICIM) 对番茄长花柱性状进行 QTL 分析, 设置 $LOD = 2.5$, 步长 1 cM, 以 $LOD \geq 2.5$ 的位点为 QTL 有效位点 (王健康, 2009)。QTL 命名规则为: 性状的英文缩写 + 连锁群号 + QTL 编号。

2 结果与分析

2.1 ‘J59’ 番茄长花柱性状温度敏感性检测

温度敏感性检测结果如表 1 所示, ‘J59’ 番茄在 18/10 ℃、25/18 ℃、35/25 ℃ 3 个昼/夜温度处理下, 雌蕊、雄蕊、花柱和柱头外露长度 (t 检测, $P < 0.05$) 均无显著差异, 说明其长花柱性状不

是高温诱导所致，并且低温处理不能改变长花柱性状。

表 1 温度处理对‘J59’番茄花器官长度的影响
Table 1 The effect of temperature treatment on flower organs in ‘J59’ tomato mm

昼/夜温度/℃ Day/night temperature	雌蕊 Pistil	雄蕊 Stamen	花柱 Style	柱头外露 Stigma exsertion
25/18	12.42 a	10.49 a	11.38 a	1.92 a
18/10	12.41 a	10.49 a	11.29 a	1.92 a
35/25	12.43 a	10.48 a	11.84 a	1.93 a

注：不同小写字母表示 0.05 水平差异显著。下同。
Note: Different lowercase letters represent significant difference at 0.05. The same below.

2.2 长花柱性状遗传分析

2.2.1 长花柱性状表型分析

从表 2 可知，‘J59’和‘M82’两亲本柱头外露长度分别为 2.28 和 -1.26 mm，二者显著差异； $F_1(P_1 \times P_2)$ 和 $F_1(P_2 \times P_1)$ 柱头外露长度分别为 0.79 和 0.86 mm，均介于两亲本之间，且二者间无显著差异； BC_1P_1 和 BC_1P_2 两回交群体柱头外露长度分别为 1.02 和 -0.26 mm，均介于两亲本之间，且 BC_1P_1 群体偏向表型值较大的亲本 P_1 ； BC_1P_2 群体偏向表型值较小的亲本 P_2 ； F_2 群体柱头外露长度为 0.78 mm。 F_2 群体和回交群体 BC_1P_2 发生了分离，长花柱株数：近等长花柱株数：短花柱株数的比值分别为 390：8：67 和 21：2：37，不符合 9：6：1 和 1：2：1 的比例，即长花柱性状不符合孟德尔遗传规律。长花柱性状的中亲优势和中亲优势率分别为 0.28 mm 和 54.9%，表明杂交优势在 F_1 代呈上升趋势； F_2 群体中存在正向或负向超出亲本的个体，表明杂交后代超亲分离现象普遍存在；但是 F_2 群体柱头外露长度介于双亲之间，说明这种超亲分离现象并未形成优势。

表 2 番茄 6 世代群体柱头外露长度及长花柱、近等长花柱、短花柱株数统计
Table 2 The statistic of stigma exsertion length and number of long styles, subequal styles, and short styles in six-generation of tomato

世代 Generation	柱头外露长度/mm Stigma exsertion length	长花柱株数 Number of long style plants	近等长花柱株数 Number of subequal style plants	短花柱株数 Number of short style plants
P_1 (J59)	2.28 a	22	—	—
P_2 (M82)	-1.26 c	—	—	22
$F_1(P_1 \times P_2)$	0.79 b	16	0	0
$F_1(P_2 \times P_1)$	0.86 b	16	0	0
BC_1P_1	1.02	39	0	0
BC_1P_2	-0.26	21	2	37
F_2	0.78	390	8	67
中亲优势 H_m	0.28			
中亲优势 $RH_m/\%$	54.9			

由表 3 和图 1 可知，柱头外露长度表现出连续性较好的正态分布趋势，表明它属于多基因控制的数量性状。

表 3 番茄 BC_1P_2 和 F_2 群体柱头外露长度分析
Table 3 Analysis of stigma exsertion length in BC_1P_2 and F_2 population in tomato

世代 Generation	平均值/mm Mean	最大值/mm Highest	最小值/mm Lowest	偏度系数 Skewness	峰度系数 Kurtosis
BC_1P_2	-0.26	1.13	-1.80	-0.02	-0.90
F_2	0.78	3.06	-2.44	-0.68	1.28

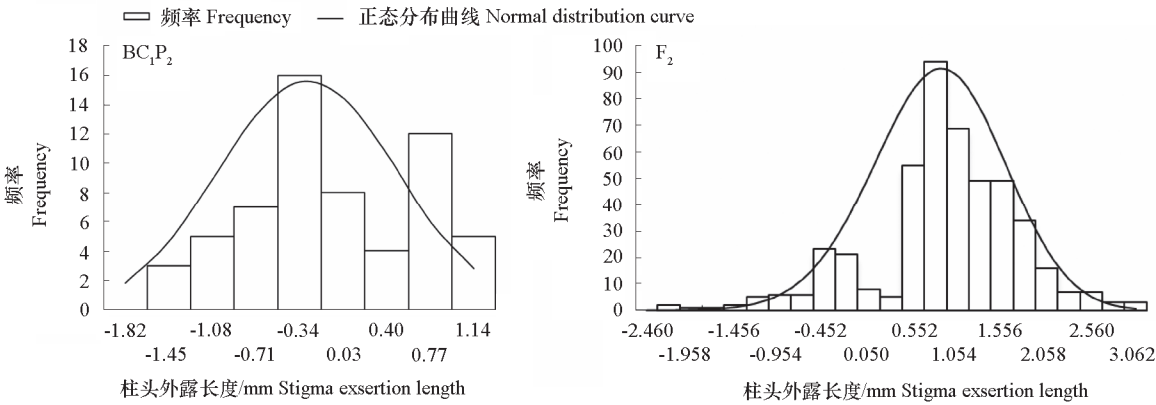


图1 番茄 BC₁P₂ 和 F₂ 群体柱头外露长度分布
Fig. 1 Frequency of stigma exsertion length in BC₁P₂ and F₂ population in tomato

2.2.2 长花柱性状的主基因 + 多基因混合遗传模型分析

利用植物主基因 + 多基因混合遗传模型分离分析法对 6 世代群体进行遗传分析。共检测到 24 种与长花柱性状相关的遗传模型，根据 *AIC* 值最小原则获得 3 个备选模型；对备选模型进行适合性检验 (U_1^2 、 U_2^2 、 U_3^2 、 nW^2 、 D_n)，其中统计量达到显著水平个数最少的为最优模型，即 MX2-ADI-AD 模型 (表 4)。

表 4 各遗传模型极大似然函数值 (MLV)、*AIC* 值 (IECM 算法) 和达到显著性水平个数
Table 4 Maximum likelihood function value (MLV), *AIC* value (IECM algorithm) and the number of reaching significant levels for each genetic model

模型 Model	极大似然函数值 Log_ (Max_likelihoood_value)	<i>AIC</i>	6 个世代达到显著水平 ($P < 0.05$) 数量 Number of significant levels ($P < 0.05$) reached in 6 generation				
			U_1^2	U_2^2	U_3^2	nW^2	D_n
2MG-ADI*	- 615.0673	1 250.1347	0	0	1	0	0
MX2-ADI-ADI*	- 618.9708	1 273.9417	0	0	0	0	0
MX2-ADI-AD*	- 606.8097	1 243.6193	0	0	0	0	0

注：* 备选模型；MG：主基因模型；MX：主基因 + 多基因模型；A：加性效应；D：显性效应；I：上位效应。
Note: * The alternative model; MG: Major gene model; MX: Major gene + polygene model; A: Additive effect; D: Dominant effect; I: Epistatic effect.

一阶遗传参数与二阶遗传参数如表 5 所示，可以看出，长花柱性状柱头外露长度的平均值为 1.0234 mm；2 对主基因的加性效应 (d_a 、 d_b) 相等，均为 0.9187，表现为增效；显性作用 (h_a 、 h_b) 分别为 - 0.2580、- 0.6433，2 对主基因的显性效应均小于其加性效应，且为负向显性效应；上位效应 (i 、 j_{ab} 、 j_{ba} 、 l) 分别为 - 0.5351、- 0.0519、- 0.7141、0.5714，可知 2 对主基因的加性 × 加性 (i)、加性 × 显性 (j_{ab}) 和显性 × 加性 (j_{ba}) 效应为负向， j_{ba} 最大， j_{ab} 最小；显性 × 显性效应 (l) 为正向，作用较大。多基因的加性效应 [d]、显性效应 [h] 分别为 - 0.05、0.135，均小于主基因的效应。番茄长花柱性状受主基因影响较大，且加性效应 > 显性效应 > 上位效应。BC₁P₁、BC₁P₂、F₂ 的主基因遗传率分别为 65.51%、90.76%、89.1%。

2.3 长花柱性状遗传图谱

用 900 对 SSR 引物对亲本 P₁ 和 P₂ 进行筛选，获得稳定、清晰的多态性引物 121 对，多态率为 13.44%。用于 F₂ 群体基因型分析，建立了包含 12 个连锁群的番茄遗传连锁图谱。该图谱总长 2 108.71 cM，平均图距为 17.43 cM，标记间的最小遗传距离为 1.49 cM，最大遗传距离为 91.19 cM (图 2)。

表 5 番茄长花柱性状相关遗传参数的估计值
Table 5 Estimates of genetic parameter of long-style trait in tomato

一阶参数	估计值	二阶参数	估计值	Estimate	
1 st order parameter	Estimate	2 nd order parameter	BC ₁ P ₁	BC ₁ P ₂	F ₂
<i>m</i>	1.0234	σ_p^2	0.0225	0.0524	0.0744
<i>d_a</i>	0.9187	σ_{mg}^2	0.0427	0.515	0.6082
<i>d_b</i>	0.9187	σ_{pg}^2	0	0	0.0036
<i>h_a</i>	-0.2580	σ_e^2	0.0708	0.0708	0.0708
<i>h_b</i>	-0.6433	h_{mg}^2 (%)	65.51	90.76	89.1
<i>i</i>	-0.5351	h_{pg}^2 (%)	0	0	0.53
<i>j_{ab}</i>	-0.0519				
<i>j_{ba}</i>	-0.7141				
<i>l</i>	0.5714				
[<i>d</i>]	-0.0500				
[<i>h</i>]	0.1350				
<i>h_a/d_a</i>	-0.2808				
<i>h_b/d_b</i>	-0.7002				

注: *m*: 群体的平均值; *d_a*: 第 1 对主基因的加性效应; *d_b*: 第 2 对主基因的加性效应; *h_a*: 第 1 对主基因的显性效应; *h_b*: 第 2 对主基因的显性效应; *i*: 加性 × 加性交互; *j_{ab}*: 加性 × 显性交互; *j_{ba}*: 显性 × 加性交互; *l*: 显性 × 显性交互; [*d*]: 多基因加性效应; [*h*]: 多基因显性效应; *h_a/d_a*: 第 1 对主基因的显性度; *h_b/d_b*: 第 2 对主基因的显性度; σ_p^2 : 表型方差; σ_{mg}^2 : 主基因方差; σ_{pg}^2 : 多基因方差; σ_e^2 为环境方差; h_{mg}^2 (%): 主基因遗传率; h_{pg}^2 (%): 多基因遗传率。

Note: *m*: Average of the population; *d_a*: Additive effect of the first pair of major genes; *d_b*: Additive effect of the second pair of major genes; *h_a*: Dominant effect of the first pair of major genes; *h_b*: Dominant effect of second pair of major genes; *i*: Additive × additive interaction; *j_{ab}*: Additive × dominant interaction; *j_{ba}*: Dominant × additive interaction; *l*: Dominant × dominant interaction; [*d*]: Multi-gene additive effect; [*h*]: Multi-gene dominant effect; *h_a/d_a*: Dominant degree of the first pair of major genes; *h_b/d_b*: Dominant degree of the second pair of major genes; σ_p^2 : Phenotypic variance; σ_{mg}^2 : Main gene variance; σ_{pg}^2 : Multi-gene variance; h_{mg}^2 (%): Main gene inheritability; h_{pg}^2 (%): Multi-gene inheritability.

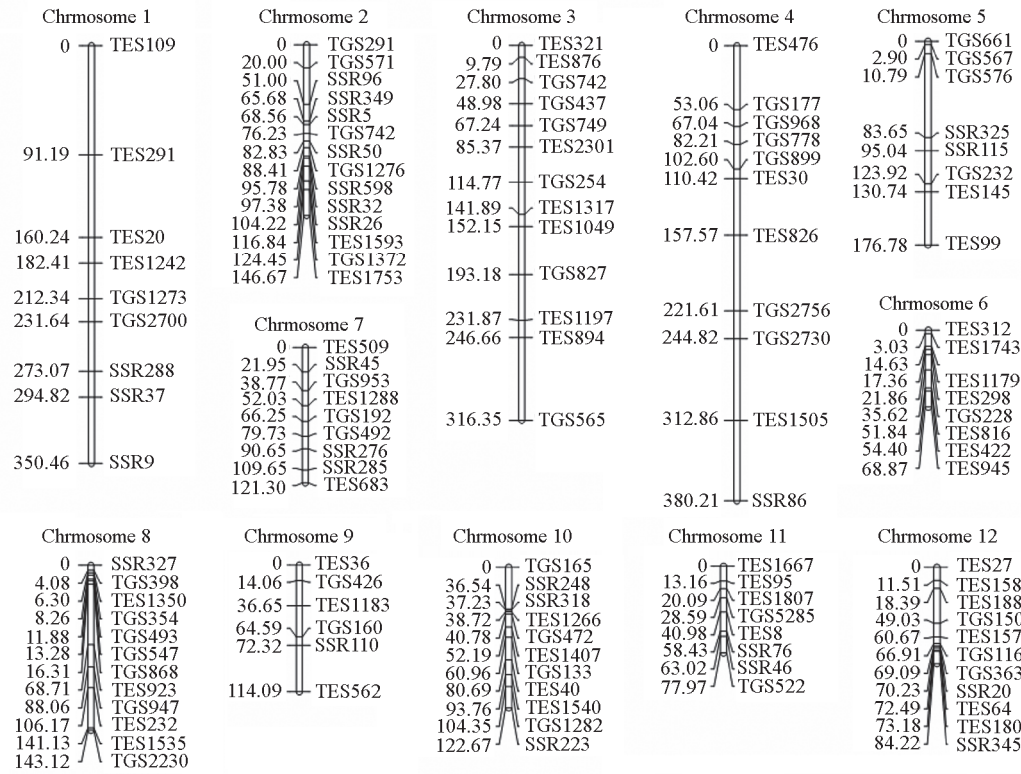


图 2 番茄长花柱性状遗传连锁图
Fig. 2 Genetic linkage map of the long-style trait in tomato

2.4 长花柱性状 QTL 定位

应用完备区间作图法 ICIM, 以 1 cM 的步长在全基因组内进行扫描, 检测长花柱性状的 QTL。在 $LOD \geq 2.5$ 时, 共检测到 10 个 QTL 位点, 为 *qse-1-1*、*qse-2-1*、*qse-2-2*、*qse-2-3*、*qse-2-4*、*qse-3-1*、*qse-3-2*、*qse-4-1*、*qse-5-1*、*qse-12-1*, 分别定位于 6 个连锁群上 (图 3)。

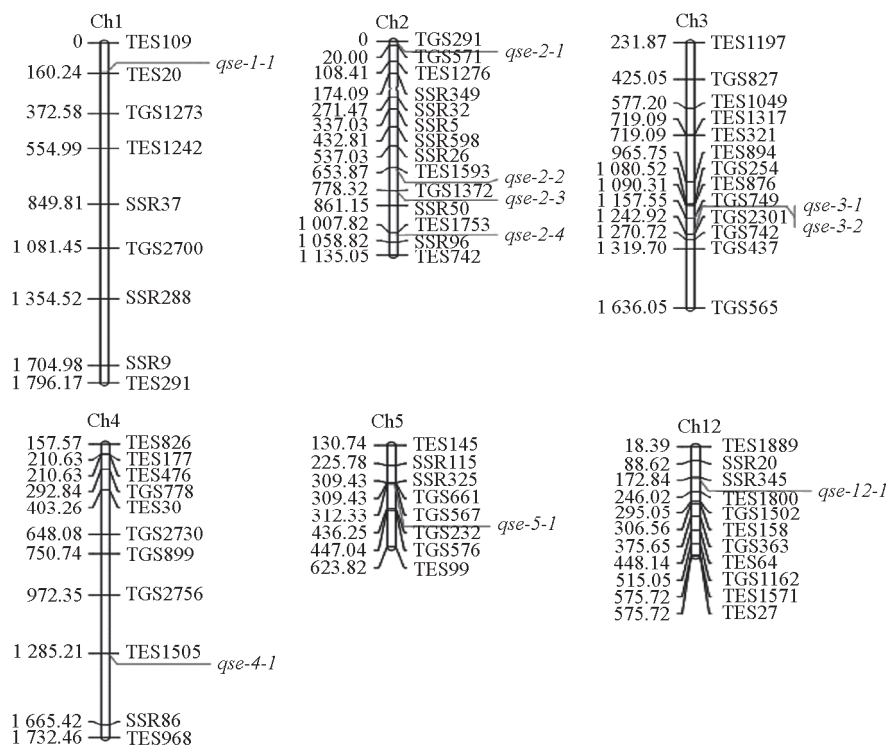


图 3 番茄长花柱性状 QTL 在连锁群的位置

Fig. 3 Locations of QTL for tomato long-style trait on chromosomes

各位点加性效应的扫描结果 (表 6) 表明, 3 个 QTL 位点 *qse-3-1*、*qse-5-1* 和 *qse-12-1* 的加性效应为负, 对提高长花柱性状来说表现为减效加性效应, 其中 *qse-12-1* 的效应较大, 其值为 -0.26% ;

表 6 番茄 F_2 群体长花柱性状 QTL 定位结果

Table 6 Parameters associated with QTL for tomato long-style trait identified in F_2 population

QTL	连锁群 Linkage group	位置/cM Position	左标记 Left marker	右标记 Right marker	LOD	LOD 阈值 Threshold of LOD value	可解释变异率/% Variance explained	加性效应/ % Additive effect
<i>qse-1-1</i>	1	151	TES109	TES20	25.34	2.5	20.22	0.52
<i>qse-2-1</i>	2	5	TGS291	TGS571	3.02	2.5	1.81	0.16
<i>qse-2-2</i>	2	664	TES1593	TGS1372	16.07	2.5	15.22	0.46
<i>qse-2-3</i>	2	783	TGS1372	SSR50	26.85	2.5	18.16	0.52
<i>qse-2-4</i>	2	1 021	TES1753	SSR96	2.53	2.5	2.94	0.17
<i>qse-3-1</i>	3	1 157.87	TGS749	TGS2301	3.96	2.5	1.98	-0.07
<i>qse-3-2</i>	3	1 242.87	TGS749	TGS2301	2.59	2.5	1.28	0.02
<i>qse-4-1</i>	4	1 285.57	TES1505	SSR86	3.35	2.5	1.64	0.13
<i>qse-5-1</i>	5	320.74	TGS567	TGS232	3.15	2.5	3.08	-0.11
<i>qse-12-1</i>	12	183.39	SSR345	TES1800	6.71	2.5	5.20	-0.26

其余 7 个 *qse-1-1*、*qse-2-1*、*qse-2-2*、*qse-2-3*、*qse-2-4*、*qse-3-2* 和 *qse-4-1* 的加性效应为正, 对长花柱性状来说表现为增效加性效应, 其中 *qse-1-1* 和 *qse-2-3* 的效应最大, 效应值均为 0.52%。10 个 QTL 的 *LOD* 值介于 2.53 ~ 26.85 之间, 可解释表型变异率为 1.28% ~ 20.22%。其中高于 10% 的位点有 3 个, 占 QTL 总数的 30%, *qse-1-1* 对长花柱性状的可解释表型变异率最大, 为 20.22%, 位于标记 TES109 ~ TGS20 之间; *qse-2-2* 的可解释变异率为 15.22%, 位于标记 TES1593 ~ TGS1372 之间; *qse-2-3* 的可解释表型变异率为 18.16%, 位于 TGS1372 ~ SSR50 之间。

3 讨论

番茄雄性不育分为部位不育 (长花柱)、功能不育、花粉败育和雄蕊退化等 4 种。部位不育是指花器官发育正常, 雄蕊发育正常且能够产生有活力的花粉, 但是由于花柱异长, 柱头外露而无法完成受精而导致的不育现象 (陈玉辉 等, 2004)。研究认为长花柱表型不稳定, 遗传复杂, 且易受外界环境特别是温度的影响 (Gorman & McCormick, 1997; Saeed et al., 2007)。本研究中对 ‘J59’ 番茄进行了温度敏感性检测, 发现高、低温处理下长花柱性状表现稳定, 其雌蕊长度、雄蕊长度、花柱长度、柱头外露长度均无显著差异。Sato 等 (2006) 和 Pan 等 (2019) 认为高温抑制了雄蕊和雌蕊的伸长且前者受到的影响更大, 陈丽等 (2009) 认为低温缩短了柱头外露长度, 存在上述差异的原因可能与番茄材料不同有关。

本研究中利用番茄 6 个世代群体对长花柱性状进行遗传分析, F_1 植株柱头外露长度介于两亲本之间, 且正、反交 F_1 无显著性差异, 故长花柱性状属于显性核基因遗传, 与 Scott 等 (1980) 和 Atanassova (2000) 对长花柱性状遗传的研究一致。利用 SEA 软件分析了番茄长花柱性状遗传规律, 发现其符合 $MX2 + ADI + AD$ 模型。 BC_1P_1 、 BC_1P_2 、 F_2 的主基因遗传率分别为 65.51%、90.76%、89.1%。这一结果可填补番茄长花柱性状遗传模型研究的空缺。长花柱性状表现出连续性较好的正态分布趋势, 表明它属于多基因控制的数量性状, 这与 Rick 和 Dempsey (1969) 及 Levin 等 (1994) 的观点一致。

本研究利用 121 对亲本多态性 SSR 分子标记和 465 株 F_2 群体构建了遗传连锁图谱, 该图谱全长 2 108.71 cM, 包含 12 个连锁群, 标记间平均间距为 17.43 cM。何小红等 (2001) 认为, 如果 QTL 位点的可解释表型变异率为 10%、标记间的距离为 20 cM, 可保证 95% 的置信度。Han 等 (2016) 表示标记间间距越小越有利于基因的定位。阮成江等 (2003) 认为, 用于 QTL 定位的图谱, 分子标记的密度保证在 10 cM 以下, 有利于主基因的定位; 用于基因克隆的图谱需要保证分子标记的密度在 1 cM 以下。由于本研究中只采用了 SSR 分子标记, 且标记在整个染色体中有些区域的分布不均匀, 所以有必要结合其他分子标记来构建更饱满的番茄遗传图谱。

本研究中利用 465 株 F_2 群体和 121 对 SSR 标记, 检测到 10 个与长花柱性状相关的 QTL: *qse-1-1*、*qse-2-1*、*qse-2-2*、*qse-2-3*、*qse-2-4*、*qse-3-1*、*qse-3-2*、*qse-4-1*、*qse-5-1*、*qse-12-1*, *LOD* 介于 2.53 ~ 26.85 之间, 可解释 1.28% ~ 20.22% 的表型变异率。这与前人对长花柱性状的研究不同。Moyel (2007) 利用 *Solanum habrochaites* 与栽培番茄获得近等基因系, 结合 RFLP 标记, 获得 5 个柱头外露性状 QTLs: *se2.1*、*se4.1*、*se5.1*、*se6.1*、*se12.1*, 可解释的表型变异率均大于 50%。Gorguet 等 (2008) 利用 *L. ycopersicon peruvianum* 与 *L. esculentum* ‘E6203’ 获得 IL5-1 群体 183 株, 结合 CAPS、SCAR、RFLP 和 COS 标记, 获得 1 个柱头外露 QTL *se5.1*, 其 *LOD* 为 19.23、可解释 47.9% 的表型变异率, 而本研究获得的 *qse-5-1* 的 *LOD* 为 3.15, 可解释 3.08% 的表型变异率。Georgiady 等 (2002) 利

用 *L. pimpinellifolium* 获得的 147 株 F₂ 群体定位到 *sty8-1*, 其可解释 25% 的表型变异率, 而本研究中未在 Chr8 上检测到对长花柱性状具有重大影响的位点。Bernacchi 和 Tanksley (1997) 利用 *L. hirsutum* f. *typicum* 与 *L. esculentum* 获得的 395 株回交群体、结合 RFLP 分子标记, 定位到位点 *se2.1*。Fulton 等 (1997) 利用 *L. peruvianum* (LA1708) 与 *L. esculentum* ‘E6203’ 获得的回交群体, 结合 RFLP 标记, 定位到位点 *se2.1*。Chen 和 Tanksley (2004) 利用野生番茄 *L. pennellii* 渐渗系 L2-5 (长花柱材料) 与其近等基因系获得的 F₂ 群体定位到位点 *se2.1*, 且认为该位点对长花柱性状影响较大。Moyel (2007) 的研究表明其定位到的 *se2.1* 与 Georgiadis 等 (2002)、Bernacchi 和 Tanksley (1997)、Chen 和 Tanksley (2004) 在 Chr2 上定位到的 *se2.1* 是同一个位点。而本研究中定位到的 *qse-2-1*, LOD 为 3.02, 可解释的表型变异率仅为 1.81%。经过 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库和番茄基因组序列 (<https://solgenomics.net/>) 比对发现, 本研究中获得的 *qse-2-1* 与 *se2.1*、*qse-5-1* 与 *se5.1*、*qse-4-1* 与 *se4.1* 均不是同一个位点。存在上述差异的原因可能是研究者使用了不同的番茄材料和分子标记, 并且群体的类型和大小以及分子标记的数量对 QTL 的定位也有重大影响, 同时也说明了控制番茄长花柱性状遗传的复杂性。本研究中 3 个位点 *qse-1-1*、*qse-2-2* 和 *qse-2-3*, 可解释表型变异率分别为 20.22%、15.22% 和 18.16%, 均高于 10%, 后续研究将以这 3 个位点为突破口, 实现长花柱性状基因的精细定位、克隆和功能分析, 为该性状在生产中应用提供一定的理论依据。

References

- Atanassova B. 2000. Functional male sterility in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and its application in hybrid seed production. *Acta Physiologiae Plantarum*, 3 (22): 221 - 225.
- Bernacchi D, Tanksley S D. 1997. An interspecific backcross of *Lycopersicon esculentum* × *L. hirsutum*: linkage analysis and a QTL study of sexual compatibility factors and floral traits. *Genetics*, 147: 861 - 877.
- Boiteux L S, Fonseca M E N, Simon P W. 1999. 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*, 124 (1): 32 - 38.
- Cao Xi-wen, Liu Bing, Zhang Yuan-ming. 2013. SEA: a software package of segregation analysis of quantitative in plants. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 36 (6): 1 - 6. (in Chinese)
- 曹锡文, 刘兵, 章元明. 2013. 植物数量性状分离分析 Windows 软件包 SEA 的研制. *南京农业大学学报*, 36 (6): 1 - 6.
- Carrera E, Ruiz-Rivero O, Peres L E P, Atares A, Garcia-Martinez J L. 2012. Characterization of the protera tomato mutant shows novel functions of the SIDEELLA protein in the control of flower morphology, cell division and expansion, and the auxin-signaling pathway during fruit-set and development. *Plant Physiology*, 160 (3): 1581 - 1596.
- Chalivendra S C, Lopez-Casado G, Kumar A, Kassenbrock A R, Royer S, Tovar-Mendez A, Covey P A, Dempsey L A, Randle A M, Stack S M, Rose J K C, McClure B, Bedinger P A. 2013. Developmental onset of reproductive barriers and associated proteome changes in stigma/styles of *Solanum pennellii*. *Journal of Experimental Botany*, 64 (1): 265 - 279.
- Chen K, Cong B, Wing R, Vrebalov J, Tanksley S D. 2007. Changes in regulation of a transcription factor lead to autogamy in cultivated tomatoes. *Science*, 318 (5850): 643 - 645.
- Chen K Y, Tanksley S D. 2004. High-resolution mapping and functional analysis of *se2.1*: a major stigma exertion quantitative trait locus associated with the evolution from allogamy to autogamy in the genus *Lycopersicon*. *Genetics*, 168 (3): 1563 - 1573.
- Chen Li, Tan Li-li, Wang Yong. 2009. Preliminary study on physiological mechanism of temperature sensitive male sterile tomato. *Journal of Northeast Agricultural University*, 40 (1): 31 - 35. (in Chinese)
- 陈丽, 谭丽丽, 王勇. 2009. 番茄温敏型功能雄性不育生理机制的初步研究. *东北农业大学学报*, 40 (1): 31 - 35.

- Chen Yu-hui, Xu Xiang-yang, Li Gui-ying, Li Jing-fu. 2004. Review of advances in the male sterility in tomato. Journal of Northeast Agricultural University, 35 (2): 151 - 153. (in Chinese)
- 陈玉辉, 许向阳, 李桂英, 李景富. 2004. 番茄雄性不育研究进展. 东北农业大学学报, 35 (2): 151 - 153.
- Dhaliwal M S, Cheema D S. 2008. Development of male sterile lines of tomato and assessment of their utility in hybrid development. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding, 68 (1): 44 - 46.
- Fulton T M, Nelson J C, Tanksley S D. 1997. Introgression and DNA marker analysis of *Lycopersicon peruvianum*, a wild relative of the cultivated tomato, into *Lycopersicon esculentum*, followed through three successive backcross generations. Theoretical and Applied Genetics, 95: 895 - 902.
- Georgiady M S, Whitkus R W, Lord E M. 2002. Genetic analysis of traits distinguishing outcrossing and self-pollinating forms of currant tomato, *Lycopersicon pimpinellifolium* (Jusl.) Mill. Genetics, 161 (1): 333 - 344.
- Gorguet B, Eggink P M, Ocana J, Tiwari A, Schipper D, Finkers R, Visser R G F, van Heusden A W. 2008. Mapping and characterization of novel parthenocarp QTLs in tomato. Theoretical and Applied Genetics, 116 (6): 755 - 767.
- Gorman S W, McCormick S. 1997. Male sterility in tomato. Critical Reviews in Plant Sciences, 16 (1): 31 - 53.
- Han K, Jeong H, Yang H, Kang S, Kwon J, Kim S, Choi D, Kang B. 2016. An ultra-high-density bin map facilitates high-throughput QTL mapping of horticultural traits in pepper (*Capsicum annuum*). DNA Research, 23 (2): 81 - 91.
- He Xiao-hong, Xu Chen-wu, Kuai Jian-min, Li Tao, Sun Chang-sen. 2001. Statistical methods for mapping quantitative trait loci. Genetics, (5): 482 - 486. (in Chinese)
- 何小红, 徐辰武, 蒯建敏, 李 韬, 孙长森. 2001. 构建数量性状基因图谱的几种统计方法. 遗传, (5): 482 - 486.
- Kong Fan-ling. 2006. Quantitative genetics in plants. Beijing: China Agricultural University Press. (in Chinese)
- 孔繁玲. 2006. 植物数量遗传学. 北京: 中国农业大学出版社.
- Levin I, Cahaner A, Rabinowitch H D, Elkind Y. 1994. Effects of the *ms10* gene, polygenes and their interaction on pistil and anther-cone lengths in tomato flowers. Heredity, 73 (1): 72 - 77.
- Marti C, Orzaez D, Ellul P, Moreno V, Carbonell J, Granell A. 2007. Silencing of DELLA induces facultative parthenocarp in tomato fruits. Plant Journal, 52 (5): 865 - 876.
- Miyata M, Yamamoto T, Komori T, Nitta N. 2007. Marker-assisted selection and evaluation of the QTL for stigma exsertion under *Japonica* rice genetic background. Theoretical and Applied Genetics, 114 (3): 539 - 548.
- Moyel L C. 2007. Comparative genetics of potential prezygotic and postzygotic isolating barriers in a *Lycopersicon* species cross. Journal of Heredity, 98 (2): 123 - 135.
- Omidvar V, Mohorianu I, Dalmay T, Fellner M. 2015a. MicroRNA regulation of abiotic stress response in *7B-1* male-sterile tomato mutant. Plant Genome, 8 (3): 1 - 13.
- Omidvar V, Mohorianu I, Dalmay T, Fellner M. 2015b. Identification of miRNAs with potential roles in regulation of anther development and male-sterility in *7B-1* male-sterile tomato mutant. BMC Genomics, 16: 878.
- Pan C T, Yang D D, Zhao X L, Jiao C, Yan Y Q, Lamin-Samu A T, Wang Q M, Xu X Y, Fei Z J, Lu G. 2019. Tomato stigma exsertion induced by high temperature is associated with the jasmonate signalling pathway. Plant Cell and Environment, 42 (4): 1205 - 1221.
- Pan C T, Ye L, Zheng Y, Wang Y, Yang D D, Liu X, Chen L F, Zhang Y W, Fei Z J, Lu G. 2017. Identification and expression profiling of microRNAs involved in the stigma exsertion under high-temperature stress in tomato. BMC Genomics, 18: 843.
- Raja M M, Vijayalakshmi G, Naik M L, Basha P O, Sergeant K, Hausman J F, Khan P S S V. 2019. Pollen development and function under heat stress: from effects to responses. Acta Physiologiae Plantarum, 41 (4): 47.
- Rick C M, Dempsey W H. 1969. Position of the stigma in relation to fruit setting of tomato. Botanical Gazette, 130: 180 - 186.

- Ruan Cheng-jiang, He Zhen-xiang, Qin Pei, Xie Min. 2003. Analysis of correlation and principal component of quantitative traits of *Kosteletzkya virginica*. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Science Edition)*, 27 (5): 6 - 10. (in Chinese)
- 阮成江, 何祯祥, 钦佩, 谢民. 2003. 海滨锦葵数量性状的相关和主成分分析. *南京林业大学学报 (自然科学版)*, 27 (5): 6 - 10.
- Saeed A, Hayat K, Alikhan A, Iqbal S. 2007. Heat tolerance studies in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *International Journal of Agriculture & Biology*, 4 (9): 649 - 652.
- Sato S, Kamiyama, M, Iwata T, Makita N, Furukawa H, Ikeda H. 2006. Moderate increase of mean daily temperature adversely affects fruit set of *Lycopersicon esculentum* by disrupting specific physiological processes in male reproductive development. *Annals of Botany*, 97 (5): 731 - 738.
- Scott J W, William L, George J. 1980. Breeding and combining ability of heterostylous genotypes for hybrid seed production in *Lycopersicon esculentum* Mill. *Euphytica*, 29: 135 - 144.
- Shang Lian-guang, Gao Zhen-yu, Qian Qian. 2017. Progress in understanding the genetic basis of heterosis in crops. *Chinese Bulletin Botany*, 52 (1): 10 - 18. (in Chinese)
- 商连光, 高振宇, 钱前. 2017. 作物杂种优势遗传基础的研究进展. *植物学报*, 52 (1): 10 - 18.
- Wang Jian-kang. 2009. Inclusive composite interval mapping of quantitative trait genes. *Acta Agronomica Sinica*, 35 (2): 239 - 245. (in Chinese)
- 王健康. 2009. 数量性状基因的完备区间作图法. *作物学报*, 35 (2): 239 - 245.
- Wang Yan, Pan Chang-tian, Wang Jie, Qin Li, Zou Tao, Lu Gang. 2015. Effects of gibberellin on tomato stigma exertion and hormone-related gene expression under moderate heat stress. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, (4): 449 - 457. (in Chinese)
- 王燕, 潘长田, 王洁, 秦力, 邹滔, 卢钢. 2015. 赤霉素对亚高温胁迫下番茄花柱外露及相关基因表达的影响. *浙江大学学报 (农业与生命科学版)*, (4): 449 - 457.
- Wang Yong, Chen Li, Tan Li-li, Chen Dian. 2009. Determination of temperature sensitive period and analysis of related indicators in long style tomato T431. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (S): 1976. (in Chinese)
- 王勇, 陈丽, 谭丽丽, 陈典. 2009. 番茄长花柱突变体 T431 温敏时期的确定及相关生理指标分析. *园艺学报*, 36 (S): 1976.
- Xu He-lin, Li Jing-fu. 2006. *Tomatoes in China*. Beijing: China Agriculture Press. (in Chinese)
- 徐鹤林, 李景富. 2006. 中国番茄. 北京: 中国农业出版社.
- Zhang Shao-li, Shao Jing-cheng, Hu Zhi-feng. 2011. Research progress on exerted-stigma male sterile germplasm in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *China Vegetables*, (12): 20 - 24. (in Chinese)
- 张少丽, 邵景成, 胡志峰. 2011. 番茄长花柱型雄性不育研究进展. *中国蔬菜*, (12): 20 - 24.