

采用 InDel 和 SSR 标记分析番茄品种基因组 DNA 多态性

申璐¹ 沈火林¹ 柴敏² 王银磊¹ 杨文才^{1*}

(1. 中国农业大学 农学与生物技术学院, 北京 100193;

2. 北京市农林科学院 蔬菜研究中心, 北京 100097)

摘要 番茄 (*Solanum lycopersicum* L.) 基因组序列的出现为开发 InDel 标记提供了基础。本研究选用 18 个 InDel 和 22 个 SSR 标记对我国的 59 个和美国的 23 个鲜食番茄品种的基因组 DNA 多态性进行比较分析, 以探讨 InDel 标记在分子育种中应用的可行性。结果表明: 在 82 个品种中 InDel 标记比 SSR 标记的多态性低; InDel 与 SSR 标记扩增到的条带数在我国的品种中差异显著, 但在美国的品种中差异不显著; InDel 标记扩增到的条带数在我国的品种和美国的品种间差异极显著。聚类分析发现我国育成的番茄品种间遗传差异非常小, 而我国品种与国外品种间遗传差异较大。

关键词 番茄; InDel; SSR; 标记多态性; 基因组 DNA 多样性

中图分类号 S 641.2

文章编号 1007-4333(2011)02-0034-09

文献标志码 A

Genomic DNA polymorphisms in tomato varieties revealed by InDel and SSR markers

SHEN Lu¹, SHEN Huo-lin¹, CHAI Min², WANG Yin-lei¹, YANG Wen-cai^{1*}

(1. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China;

2. Beijing Vegetable Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

Abstract The emergency of genomic sequences in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) provides a base for developing InDel markers. In this study, 18 InDel and 22 SSR markers were used to analyze genomic DNA diversity in 59 Chinese and 23 US fresh-market tomato varieties to investigate the potential use of InDel markers in tomato molecular breeding. Comparison between 59 Chinese and 23 US varieties were also conducted at marker level. The results indicated that InDel marker showed lower polymorphisms than SSR markers in 82 varieties. The number of alleles amplified by InDel primers was significantly lower than that amplified by SSR markers in Chinese varieties. But no obvious difference was observed in US varieties. The number of alleles amplified by InDel primers was significantly lower in Chinese varieties than in US varieties. Cluster analysis indicated that genetic difference was very low among varieties developed by Chinese breeding programs but relatively high between Chinese and foreign varieties.

Key words *Solanum lycopersicum*; InDel; SSR; marker polymorphism; genomic DNA diversity

自 1975 年至今, 人们采用形态学、生物化学和分子标记等方法对来自初生和次生中心的大量番茄 (*Solanum lycopersicum* L.) 材料和野生种进行了遗传多样性分析^[1]。结果发现, 尽管在次生中心存在一定的变异, 但总的说来, 番茄的遗传多样性因驯化和育种选择而迅速减少^[2], 在栽培番茄的基因

组 DNA 中只有 5% 的多态性^[3], 从而阻碍了新品种的培育。

我国的番茄育种研究起步于 20 世纪 80 年代, 通过多年的协作攻关已取得了显著成绩, 先后育成了一系列优良的品种^[4-5]。近 10 年来, 新的育种单位和品种不断涌现, 2001—2007 年番茄产量增加了

收稿日期: 2010-06-11

基金项目: 北京市果类蔬菜产业创新团队资助; 新世纪优秀人才支持计划(NCET-08-0531)

第一作者: 申璐, 本科生, E-mail: 781303099@qq.com

通讯作者: 杨文才, 教授, 博士, 主要从事蔬菜分子育种研究, E-mail: yangwencai@cau.edu.cn

80%, 在 2007—2008 年度达到 3 645 万 t^[6], 使我国一跃成为世界番茄生产大国。但就全国范围来看, 番茄单产较低, 2007 年平均为 23 t/hm², 而国际上至少有 40 个国家的平均单产在 45 t/hm² 以上^[7]。由于我国不是番茄的起源地, 种质资源相对匮乏, 加上消费者对番茄风味的特殊要求, 导致育种单位所采用的育种材料集中在少数种质资源上, 育成的品种遗传差异小。采用 47 个 SSR 和 SNP 标记分析来自中国农业大学、北京市农林科学院蔬菜研究中心、沈阳农业大学和纽内姆公司的 216 份育种材料发现, 无论是育种群体内还是群体间遗传距离都很小^[8]。

狭窄的遗传基础限制了分子标记在分子育种中的应用, 虽然近年来不断开发出来的单核苷酸多态性 (SNP) 标记已经显示出其在栽培番茄遗传研究中的优势^[8-11], 但是目前用 SNP 标记来分析大批量材料的遗传多样性所需要的成本较高, 一般育种单位难以承受。随着番茄基因组序列的出现^[10-13], InDel 标记被开发出来, 它是一种长度多态性标记, 只需要

对 PCR 产物进行凝胶电泳检测即可。目前, InDel 标记已被用于水稻品种的多态性分析^[14]、亚种分化和杂种纯度鉴定^[15]、基因的图位克隆^[16]等, 但在番茄作物上的应用尚无报道。

本研究通过分析 InDel 和 SSR 标记在我国 59 个和美国 23 个番茄品种中的多态性, 探索 InDel 标记在番茄分子育种中的应用潜力。同时通过分析我国部分番茄品种的遗传多样性及其与美国番茄品种在分子标记水平上的差异, 旨在为番茄分子育种工作提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究中所用的我国 59 个番茄品种都是目前生产上正在使用的品种, 主要来自于国内外 30 多个育种单位或种子公司; 美国的 23 个品种来自于北卡、佛罗里达、俄亥俄、加利福尼亚等州 (表 1)。将种子播在装有草炭和蛭石 (质量比为 2:1) 的穴盘中, 每个品种播 15 粒左右, 幼苗供提取 DNA 用。

表 1 供试的 82 个番茄品种及其来源

Table 1 List of 82 tomato varieties and their origin

编号	品种名称	研制、生产或销售来源	编号	品种名称	研制、生产或销售来源
01	金棚一号	陕西省西安市金鹏种苗有限公司	42	粉红佳人	北京中农金土地农业发展研究中心
02	东圣一号	陕西省西安市保冠种苗有限公司	43	釜山金粉	北京丰台区银华特色农业研发中心
03	保冠一号	陕西省西安市临潼区良种场经销部	44	超前大粉	北京华比种苗有限公司
04	早冠 30	陕西省西安三秦种苗公司	45	卢比	辽宁大连广大种子公司
05	精选赛欧	陕西恒信种苗有限公司	46	宝粉	北京金秋宝种苗有限公司
06	国粹 三号	陕西省西安市灞桥种苗有限公司	47	中华粉王	北京科立昌农业研究所
07	金牌国粹	陕西省西安市灞桥种苗有限公司	48	中杂 101	中国农业科学院蔬菜花卉研究所
08	棚乐 618	陕西省西安市北斗种苗公司	49	百琪	山东寿光永盛种子有限公司
09	西方佳丽	河南省庆发种业有限公司	50	春雷	上海园艺科技有限公司
10	绿亨 108 金樽	北京中农绿亨种子科技有限公司	51	超级胜宝	北京兴苑种苗有限公司
11	中农 958	北京中研益农种苗科技有限公司	52	卓越	陕西省西安科瑞发蔬菜研究所
12	中农 968	北京中研益农种苗科技有限公司	53	大棚一号	陕西省西安市惠民种业有限责任公司
13	1857	山东寿光金田种业	54	秦皇 0718	陕西省西安秦皇种苗有限公司
14	朝研 219	辽宁朝阳市蔬菜研究所	55	百利	荷兰瑞克斯旺种子有限公司
15	05 2h-34	中国农科院蔬菜花卉所	56	中杂 105	中国农科院蔬菜花卉研究所
16	06-2	中国农科院蔬菜花卉所	57	美粉一号	北京嘉禾种业有限公司
17	中杂 109	中国农科院蔬菜花卉所	58	秦粉	山西太谷县新科蔬菜种苗中心

续表

编号	品种名称	研制、生产或销售来源	编号	品种名称	研制、生产或销售来源
18	金冠5号	辽宁园艺种苗有限公司	59	倍盈	先正达种子有限公司
19	佳源大粉	辽宁园艺种苗有限公司	60	Fla. 7771	美国 University of Florida
20	东农 708	东北农业大学番茄研究所	61	Fla. 7600	美国 University of Florida
21	普罗旺斯	荷兰德瑞特种业集团	62	Floradade	美国 University of Florida
22	欧盾	北京泽农伟业农业科技有限公司(引进)	63	Tropic	美国 University of Florida
23	宝莱	纽内姆种子有限公司	64	Fla. 7060	美国 University of Florida
24	佳粉 18 号	北京市农林科学院蔬菜研究中心	65	Fla. 7547	美国 University of Florida
25	硬粉 6 号	北京市农林科学院蔬菜研究中心	66	Fla. 7655	美国 University of Florida
26	硬粉 8 号	北京市农林科学院蔬菜研究中心	67	Walter	美国 University of Florida
27	仙客 1 号	北京市农林科学院蔬菜研究中心	68	Fla7775	美国 University of Florida
28	仙客 5 号	北京市农林科学院蔬菜研究中心	69	Fla. 8233	美国 University of Florida
29	仙客 6 号	北京市农林科学院蔬菜研究中心	70	Ohio 11	美国 The Ohio State University
30	秋展 16 号	北京市农林科学院蔬菜研究中心	71	Ohio 12	美国 The Ohio State University
31	08-CZ-49	北京市农林科学院蔬菜研究中心	72	Ohio MR13	美国 The Ohio State University
32	ND115	中国农业大学	73	NC 23E-2 (93)	美国 North Carolina State University
33	ND107	中国农业大学	74	NC353-1	美国 North Carolina State University
34	ND128	中国农业大学	75	NC84173	美国 North Carolina State University
35	加州 600	北京高思顿种子有限公司	76	NC98248	美国 North Carolina State University
36	加州 610	北京高思顿种子有限公司	77	NC99471-3	美国 North Carolina State University
37	蒙特卡罗	北京百幕田种苗有限公司	78	NC99471-4	美国 North Carolina State University
38	金园	北京百幕田种苗有限公司	79	NCEBR1	美国 North Carolina State University
39	中研 988	北京中研益农种苗科技有限公司	80	NCEBR2	美国 North Carolina State University
40	春棚一号	—	81	Rio Grande	—
41	彩虹 102	北京市农业技术推广站	82	T5	美国 University of California

1.2 试验方法

每个品种选取 10 株生长正常的幼苗,在第二片真叶完全展开时,从每株上收集等量的幼嫩叶片混合,采用改良的 CTAB 法^[17]提取基因组 DNA。

根据 Chen 等^[8]、Robbins 等^[18]和本课题组未发表的数据,选取 40 个在鲜食番茄中可能具有多态性的 InDel 和 SSR 标记,这些标记均匀分布于 12 条染色体上,每条染色体上 3~5 个,个别染色体上由于缺少在栽培种表现多态性的标记而只用了 1~2 个(表 2)。选用相同的 PCR 程序来进行 InDel 和 SSR 标记分析。PCR 反应在 20 μ L 的体系中进行,该体系含有 10 mmol/L Tris-HCl(室温下 pH

9.0)、50 mmol/L KCl、1.5 mmol/L MgCl₂、每个 dNTP 100 μ mol/L、每个引物 0.2 μ mol/L、5~10 ng 基因组 DNA 模板和 1 个单位的 Taq DNA 聚合酶。反应首先在 94 $^{\circ}$ C 下变性 3 min;然后是 38 个循环的 94 $^{\circ}$ C 变性 45 s,45 $^{\circ}$ C 退火 45 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s;最后在 72 $^{\circ}$ C 下保持 5 min。PCR 产物在质量分数 6.5% 变性聚丙烯酰胺胶上电泳,然后采用 SILVER SEQUENCETM DNA Sequencing System (Promega)进行银染。

1.3 数据采集与分析

由于本研究中的 InDel 和 SSR 标记都是共显性标记,因此在记录数据时,首先确定每个标记的等

位基因数。在每个等位基因对应的位置,有条带的记为 1,无条带的记为 0,然后转换成每个等位基因的频率,形成频率数字矩阵。采用 NTSYSpc 2.11a^[19] 软件来计算 Nei 氏遗传距离^[20],并构建聚类图。

根据公式 $PIC=1-\sum p_i^{2[21]}$ 来计算多态性信息量(Polymorphism information content, PIC),公式中 p_i 是每个标记的第 i 个等位基因在所分析的品种中的频率。为了将本研究的 59 份材料与美国部分鲜食番茄进行多样性比较,从美国俄亥俄州立大学番茄作图资源数据库中获取了美国 23 个鲜食番茄(表 1)中的等位基因数,并计算了 PIC 值。

采用 T -检验对 SSR 标记与 InDel 标记在我国 59 个番茄品种中扩增条带数、SSR 标记与 InDel 标记在美国 23 个番茄品种中扩增条带数、我国与美国番茄品种间 SSR 标记扩增条带数以及我国与美国番茄品种间 InDel 标记扩增条带数分别进行比较

分析。

2 结果与分析

2.1 InDel 和 SSR 标记在我国 59 个番茄品种中的多态性

在选用的 18 对 InDel 和 22 对 SSR 引物中,只有 11 对在供试的 59 个番茄品种中具有多态性,其中仅 2 对为 InDel 引物。图 1 是其中 2 个标记 SL10328i 和 TOM152 的 PCR 扩增结果。这 11 对引物扩增到的等位基因数在 2~5 之间,只有 SSR92 和 SSR111 分别扩增到 4 个和 5 个等位基因(表 2)。除 SSR111 标记外,其余 10 个多态性标记均检测到杂合子,品种在不同位点表现杂合状态的数目从 8~44 个不等,在 TOM152 位点表现为杂合状态的品种最多(图 1),占 75%。这与 59 个国内种植的品种均为鲜食类型的杂交种相一致。

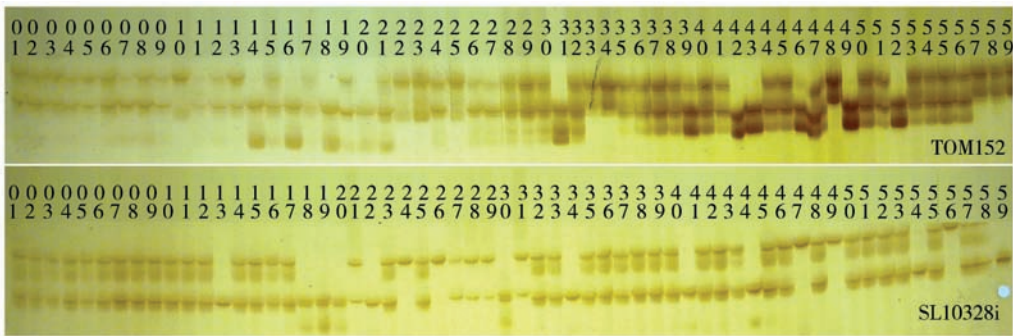


图 1 InDel 标记 SL10328i 和 SSR 标记 TOM152 在我国 59 个品种中的 PCR 扩增产物

Fig. 1 Image of polyacrylamide gel electrophoresis for PCR products in 59 Chinese tomato varieties amplified by InDel marker SL10328i and SSR marker TOM152

表 2 所用标记在 59 个中国番茄品种和 23 个美国番茄品种中扩增到的等位基因数和多态性信息量(PIC)

Table 2 Numbers of alleles amplified by markers and their polymorphism information content (PIC) in 59 Chinese tomato varieties and 23 US tomato varieties

染色体	标记名称	标记类型	中国品种		美国品种	
			等位基因数	PIC	等位基因数	PIC
1	SSR92	SSR	4	0.589 3	—	—
1	SSR134	SSR	1	0.000 0	2	0.385 6
1	SL10975i	InDel	1	0.000 0	1	0.000 0
1	SSR65	SSR	1	0.000 0	1	0.000 0
2	CosOH44	SSR	1	0.000 0	1	0.000 0
2	SL10682i	InDel	1	0.000 0	1	0.000 0
2	SL10279i	InDel	1	0.000 0	1	0.000 0

续表

染色体	标记名称	标记类型	中国品种		美国品种	
			等位基因数	PIC	等位基因数	PIC
2	SSR32	SSR	1	0.000 0	1	0.000 0
3	SL10402	InDel	1	0.000 0	—	—
3	SSR111	SSR	5	0.446 4	3	0.612 5
3	SSR601	SSR	1	0.000 0	1	0.000 0
4	SSR43	SSR	2	0.343 6	2	0.083 2
4	SSR603	SSR	2	0.447 3	2	0.083 2
4	SSR450	SSR	1	0.000 0	2	0.287 3
4	SL10888	InDel	1	0.000 0	3	0.277 0
4	SSR146	SSR	1	0.000 0	2	0.158 8
5	SSR13	SSR	1	0.000 0	1	0.000 0
5	SL20210i	InDel	1	0.000 0	2	0.498 6
5	TOM152	SSR	3	0.538 8	3	0.532 1
6	SL10328i	InDel	2	0.494 8	3	0.265 0
6	SL10543	InDel	1	0.000 0	—	—
6	SSR47	SSR	1	0.000 0	4	0.271 3
7	SSR45	SSR	2	0.491 8	3	0.532 1
8	SSR63	SSR	1	0.000 0	2	0.499 1
8	SL10367i	InDel	1	0.000 0	1	0.000 0
9	Cosi52	InDel	1	0.000 0	2	0.083 2
9	SSR70	SSR	1	0.000 0	3	0.162 6
9	SSR383	SSR	1	0.000 0	3	0.536 9
9	SSR333	SSR	2	0.155 1	2	0.158 8
10	SL10082i	InDel	1	0.000 0	2	0.456 7
10	LEVCOH15	InDel	1	0.000 0	3	0.513 2
10	SSR223	SSR	1	0.000 0	2	0.121 9
11	SL20244i	InDel	1	0.000 0	2	0.255 0
11	TOM196	SSR	3	0.390 5	3	0.552 0
12	SL10925	InDel	2	0.126 4	—	—
12	SL10953	InDel	1	0.000 0	—	—
12	SSR20	SSR	3	0.658 9	2	0.340 3
12	LEOH301	InDel	1	0.000 0	2	0.083 2
12	LEOH197	InDel	1	0.000 0	2	0.042 5
未知	SL20182	InDel	1	0.000 0	—	—

各引物多态性信息量(PIC)分布在 0.126 4 到 0.658 9 之间, PIC 值与引物扩增到的等位基因数及其频率相关($r=0.86$), 等位基因数越多或者各等位基因出现的频率越接近的, PIC 值越大, 如 SSR20 扩增到的 3 个等位基因的频率分别为 38.1%、35.6% 和 26.3%, 其 PIC 值为 0.658 9。相反, 即使扩增到 2 个等位基因, 但其中 1 个占据主要地位, 则其 PIC 值也不可能高, 如 SL10925 扩增到 2 个等位基因的频率分别为 93.2% 和 6.8%, 其 PIC 值仅为 0.126 4(表 2)。

2.2 InDel 和 SSR 标记在美国 23 个番茄品种中的多态性

本研究所用的 40 对引物中的 34 对被用于对美国 23 个品种进行多态性分析^[18]。25 对能够在这些

品种中揭示多态性(表 2)的引物中, 9 个为 InDel 标记, 16 个是 SSR 标记, 这些引物扩增到的等位基因数在 2~4 之间。PIC 最高的是 SSR111(0.612 5), 最低的是 LEOH197 (0.042 5), 大部分在 0.158 8~0.552 0 之间。由于美国品种全为自交系, 因此, 这些标记没有检测到杂合子。

2.3 InDel 和 SSR 标记多态性比较

InDel 标记在我国 59 个品种中扩增的条带数显著小于 SSR 标记, 在美国 23 个品种中扩增的条带数也比 SSR 标记的少, 但差异不显著。InDel 标记扩增条带数在我国 59 个品种和美国 23 个品种之间差异极显著, 而 SSR 标记扩增条带数在我国 59 个品种和美国 23 个品种之间不存在显著差异(表 3)。

表 3 InDel 和 SSR 标记在我国 59 个番茄品种和美国 23 个番茄品种中扩增条带数的比较

Table 3 Comparison for numbers of bands amplified by InDel and SSR markers in 59 Chinese tomato varieties and 23 US tomato varieties

	我国品种中扩增条带数		美国品种中扩增条带数		SSR 扩增条带数		InDel 扩增条带数	
	SSR	InDel	SSR	InDel	我国品种	美国品种	我国品种	美国品种
平均	1.67	1.08	2.14	1.92	1.67	2.14	1.08	1.92
均方差	4.76	0.96	3.82	2.63	4.76	3.82	0.96	2.63
<i>P</i>	0.012*		0.221		0.060		0.001**	

注: *P* 为单尾 *T*-测验概率值。

2.4 我国 59 个番茄品种间的遗传距离

大部分品种间都存在一定的遗传差异。59 个品种间的平均遗传距离为 0.062 5, 超级胜宝与其余 58 个品种之间的遗传距离最小, 仅为 0.039 3; 欧盾与其他品种间的遗传距离最大, 但也只有 0.116 6。有 5 组品种组内各品种与其他品种间的平均遗传距离相同。第 1 组是精选赛欧、加州 610、中杂 105、春棚一号和蒙特卡罗 5 个品种, 与其他品种的遗传距离为 0.045 7; 第 2 组包括早冠 30、国粹 三号 and 金牌国粹 3 个品种, 与其他品种的遗传距离为 0.046 4。第 3 组为棚乐 618 和超前大粉 2 个品种, 与其他品种的遗传距离为 0.046 7; 第 4 组为中农 958 和金园 2 个品种, 与其他品种的遗传距离为 0.046 8; 第 5 组是粉红佳人和釜山金粉, 与其他品种的遗传距离为 0.051 9。

品种间的遗传距离呈偏态分布(图 2), 遗传距离小于 0.075 0 的占 65.3%, 大于 0.100 0 的占 15.5%, 而大于 0.150 0 的仅占 2.2%。品种间遗传

图 2 基于 InDel 和 SSR 标记数据获得的 59 个番茄品种间的遗传距离分布

Fig. 2 Distribution of genetic distance values obtained from pairwise comparisons of 59 tomato varieties using InDel and SSR marker data

距离最小的为上述 5 个组内的品种, 它们之间的遗传距离都为 0。而欧盾与佳粉 18 之间的遗传距离

最大,为0.2198。原因在于欧盾(粉红果)为西欧生态型,而佳粉18具有日本保护地番茄品种的一些特点,二者生态型差异较大。

2.5 我国59个番茄品种的聚类分析

在遗传距离0.0800的位置,可以将59个品种分为2个主簇,而美粉一号、东农708和欧盾3个品种不在这2个主簇内(图3)。所获得的2个主簇中又呈现不平衡分布,6个品种绿亨108金樽、百琪、ND128、彩虹102、百利和倍盈聚成1个簇,而剩下的50个品种聚成1个簇。在遗传距离0.0600的

情况下,又可将后者分为3个亚簇,其中第1亚簇包含了43个品种,而第2、第3亚簇分别包含3个和4个品种。除秦粉以外,其余11个来自陕西的品种都在第1亚簇内。同一育种单位的不同品种一般不聚在一起,如北京农林科学院蔬菜研究中心的8个品种分为4组分布在整个聚类图中,而中国农业科学院蔬菜花卉研究所和中国农业大学的材料则随机分布在聚类图中。从聚类分析同时可以看到,国外种子公司品种欧盾、百利和倍盈等与国内品种在分子标记水平上是不同的。

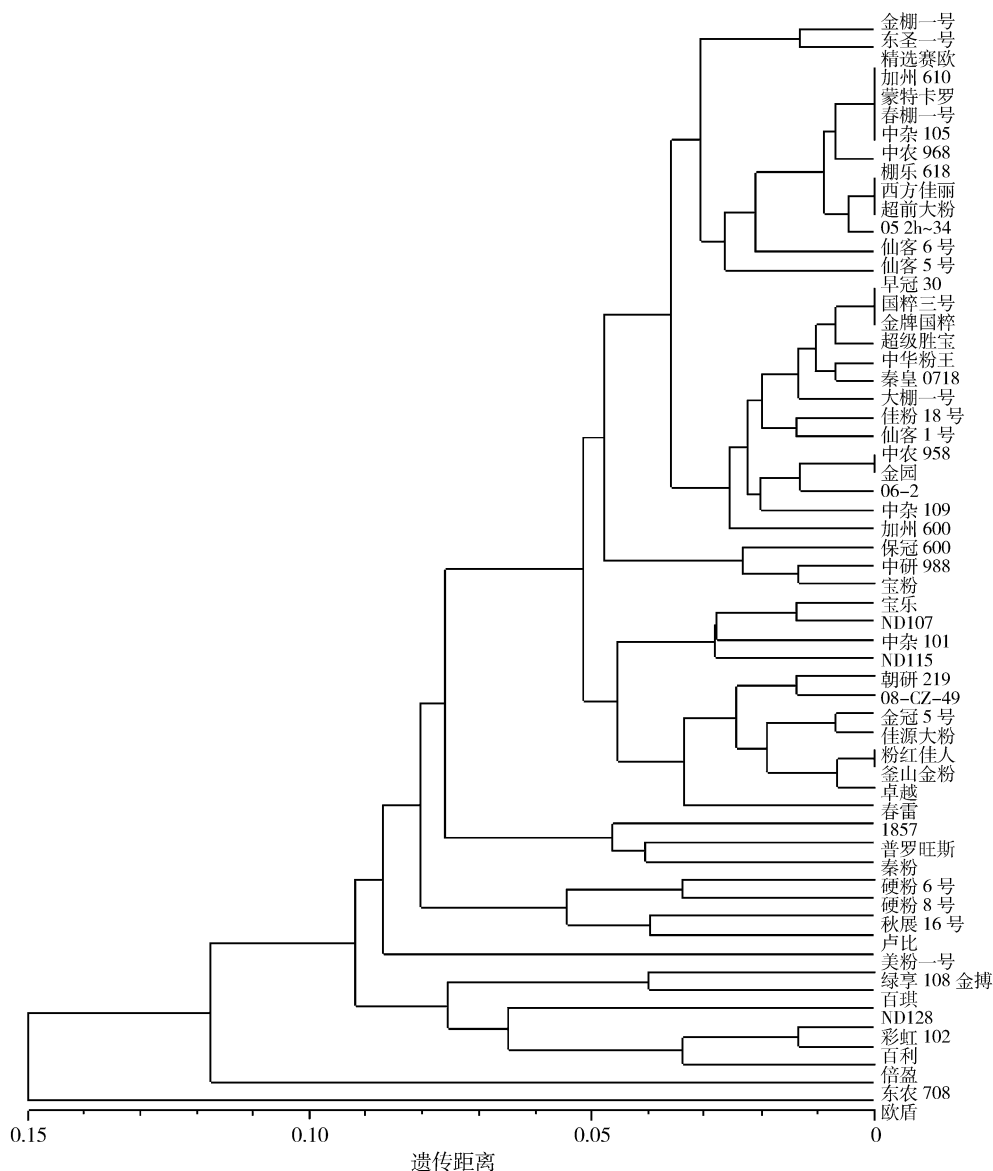


图3 基于40个InDel和SSR标记的Nei氏遗传距离构建的59个番茄品种的UPGMA聚类分析树状图

Fig. 3 Dendrogram of 59 tomato varieties, based on 40 SSR and InDel marker data, and generated from Nei's genetic distance matrix by UPGMA

3 讨 论

1) 栽培番茄的基因组中存在着大量的 InDel 可用作分子标记。已有的研究表明, 14%~22% 的基因含有 InDel, 而含有 SSR 的基因只占总基因数的 4.6%^[11-12], 这些研究结果为分子标记在番茄分子育种中的应用提供了一个美好的前景。但是冯芳君等^[13]发现, 在水稻中 InDel 标记的平均多态性水平显著小于 SSR 标记。本研究选用的 18 个 InDel 标记中, 在我国 59 个品种中表现多态性的有 2 个, 在美国 23 个品种表现多态性的有 9 个, 分别占 InDel 标记总数的 11.1% 和 69.2%, 而 22 个 SSR 标记中在 2 个群体中表现多态性的分别占 SSR 标记总数的 40.9% 和 76.2%, 可见在遗传基础相对窄的群体中, InDel 标记的多态性水平要比 SSR 的低得多, 从而限制了其应用范围。

2) 驯化和育种选择使得栽培番茄的遗传变异急剧变窄^[2], Archak 等^[22]报道印度新近育成的品种遗传基础比早期的窄。笔者最近的研究发现我国番茄品种也存在这一问题, 而且遗传基础比国外的更窄^[8]。虽然本研究中 59 个品种间的遗传距离在 0.039 3~0.116 6 之间, 但是这里的遗传距离估算是在已经选定标记的情况下进行的, 也就是说, 所用的标记是经过筛选的在鲜食番茄中具有多态性的, 如果采用随机挑选标记的方法, 根据前人的研究结果, 本研究中各品种间实际的遗传距离可能只有现在的五分之一左右, 那么这 59 个品种中的最大遗传距离就只有 0.044 0, 与 Miller 和 Tanksley^[3]报道的栽培番茄多态性平均值 5% 接近。

3) 国内种植的品种大多为生长势较强, 适于温室等保护地栽培为主, 而美国的品种大多为自封顶类型, 主要适于露地栽培的美洲生态型, 两者的生态型差异较明显, 体现在标记上 2 品种群间差异大于品种群体内的差异。由于无法获得美国俄亥俄州立大学番茄作图资源数据库中各标记的等位基因的记录方法, 因此, 尽管本项研究采用了相同的标记, 但不能进行遗传多样性的直接比较, 只能通过比较所用标记在 2 个群体中的多态性来判断我国与美国的番茄品种在遗传上的差异。在可比的 34 个标记中, 73.5% 在美国的 23 个品种中有多态性, 而只有 26.5% 在我国的 59 个品种中有多态性, 从一定程度上说明我国的番茄品种比美国的缺乏多样性。另外, 我国番茄育种工作主要是从美国、欧洲、日本引

进杂交种或种质资源, 经进一步分离获得一些自交系后再杂交选育新品种。特别是近几年育成品种利用的种质资源更多地来源于欧洲, 目的是选育保护地硬果品种以改变国内原来的株形、生长势、果形等性状。此外, 由于种质资源的利用更易集中在部分表现突出的品种材料中, 所以其遗传多样性有小于美国番茄品种的趋势。

4) 前人的研究表明, 我国早期番茄育种的目标相对单一, 表现为在有限的资源中选育较少的性状(如高产), 致使育成品种的遗传基础非常接近^[8]。近年来, 随着人们生活水平的不断提高, 饮食习惯也悄然改变, 对品种的多样化要求越来越高。然而由于品种更新需要一定的时间, 目前国内自主育成的品种的遗传变异可能依然会较小。不过, 由于育种选择的原因, 导致我国和国外的番茄品种在聚类上又各自成簇^[8]。本项研究的聚类分析也有同样的趋势, 欧盾(粉果)、百利(大红果)、倍盈(大红果)等国外品种的株形、长势、果实特性均有别于我国原有的品种, 而其他品种大多为传统的国内品种类型。它们主要来源于日本保护地生态型和美国的美洲生态型(如金棚 1 号)或国内品种与西欧温室品种的中间杂交类型(如 ND107 等), 聚类时各自成簇。因此, 在番茄育种中应该注重选用外来资源特别是野生资源来拓展我国栽培番茄的遗传基础, 为我国番茄育种的持续发展奠定基础。

致谢 我国的 59 个番茄品种的种子由北京市果类蔬菜产业创新团队提供, 谨致谢忱。

参 考 文 献

- [1] Robertson L D, Labate J A. Genetic resources of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and wild relatives [C]. Razdan M K, Mattoo A K. Genetic improvement of solanaceous crops. Vol. 2. Tomato. USA: Science Publishers, 2007: 1-27
- [2] Bai Y L, Lindhout P. Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future? [J]. Annals of Botany, 2007, 100: 1085-1094
- [3] Miller J C, Tanksley S D. RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon* [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1990, 80: 437-448
- [4] 杜永臣, 严准, 王孝宣, 等. 番茄育种研究主要进展: 文献综述 [J]. 园艺学报, 1999, 26(3): 161-169
- [5] 徐鹤林, 李景富. 中国番茄 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2007
- [6] FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United

- Nations statistical databases[DB/OL]. (2009) <http://faostat.fao.org>
- [7] 农业展望编辑部. 2007年世界番茄主产国(地区)番茄收获面积、单产和总产排序[J]. 农业展望, 2008, 4(10): 44
- [8] Chen J, Wang H, Shen H L, et al. Genetic variation in tomato populations from four breeding programs revealed by single nucleotide polymorphism and simple sequence repeat markers [J]. *Scientia Horticulturae*, 2009, 122: 6-16
- [9] Yang W C, Bai X D, Kabelka E, et al. Discovery of single nucleotide polymorphisms in *Lycopersicon esculentum* by computer aided analysis of expressed sequence tags [J]. *Molecular Breeding*, 2004, 14: 21-34
- [10] Yang W C, Miller S A, Scott J W, et al. Mining tomato genome sequence databases for molecular markers: application to bacterial resistance and marker assisted selection [J]. *Acta Horticulturae*, 2005, 695: 241-250
- [11] Van Deynze A, Stoffel K, Buell C R, et al. Diversity in conserved genes in tomato [J]. *BMC Genomics*, 2007, 8: 465
- [12] Wang Y Y, Chen J, Francis D M, et al. Discovery of intron polymorphisms in cultivated tomato using both tomato and Arabidopsis genomic information [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2010, 121: 1199-1207
- [13] Mueller L A, Lankhorst R K, Tanksley S D, et al. A snapshot of the emerging tomato genome sequence [J]. *Plant Genome*, 2009, 2: 78-92
- [14] 冯芳君, 罗利军, 李荧, 等. 水稻 InDel 和 SSR 标记多态性的比较分析 [J]. *分子植物育种*, 2005, 3(5): 725-730
- [15] 冯芳君. SSR 和 InDel 标记在水稻籼粳亚种分化与杂种纯度鉴定中的应用 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2006
- [16] 潘存红, 王子斌, 马玉银, 等. InDel 和 SNP 标记在水稻图位克隆中的应用 [J]. *中国水稻科学*, 2007, 21(5): 447-453
- [17] Kabelka E, Franchino B, Francis D M. Two loci from *Lycopersicon hirsutum* LA407 confer resistance to strains of *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis* [J]. *Phytopathology*, 2002, 92: 504-510
- [18] Robbins M D, Sim S C, Yang W C, et al. Mapping and linkage disequilibrium analysis with a genome-wide collection of SNPs that detect polymorphism in cultivated tomato [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, DOI: 10.1093/jxb/erq367
- [19] Rohlf F J. NTSYS-Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System [M]. New York: Exeter Publisher, 1998
- [20] Nei M. Genetic distance between populations [J]. *American Naturalist*, 1972, 106: 283-292
- [21] Weir B S. Genetic Data Analysis-methods for Discrete Population Genetics [M]. Sunderland: Sinauer Associates Inc, 1990
- [22] Archak S, Karihaloo J L, Jain A. RAPD markers reveal narrowing genetic base of Indian tomato cultivars [J]. *Current Science*, 2002, 82: 1139-1143

(责任编辑: 袁文业)