

# 番茄种质资源亲缘关系的 SSR 分析

丘漫宇 张素平 郭爽 李伯寿 刘玉平

(广州市农业科学研究院, 广东广州 510308)

**摘要:** 采用 25 对 SSR 特异引物对 20 份番茄材料进行分析, 其中 21 对引物扩增出条带, 18 对引物具有多态性, 扩增出的 66 条谱带中有 52 条具有多态性, 多态率为 78.8%。遗传距离分析结果表明: 20 份番茄材料两两间的遗传距离 (GD) 在 1.489 2~9.180 6 之间, 遗传距离大于 7 的育种材料共有 18 份, 其中 No.1 与 No.15 之间的遗传距离最大, 为 9.180 6。以遗传相似系数 0.67 为标准可将 20 份番茄育种材料划分为 4 大类。

**关键词:** 番茄; 种质资源; 亲缘关系; SSR

中图分类号: S641.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-6346 (2012) 24-0039-04

## Analysis of Tomato Germplasm Phylogenetic Relationship Using SSR Markers

QIU Man-yu, ZHANG Su-ping, GUO Shuang, LI Bo-shou, LIU Yu-ping

(Guangzhou Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510308, Guangdong, China)

**Abstract:** 25 SSR primers were used to study the genetic diversities among 20 accessions of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) germplasm resources detected from 66 bands. There were 52 bands which had polymorphism, and the polymorphism rate was 78.8%. The results of genetic distance analysis showed that the genetic distance of 20 tomato materials were 1.489 2-9.180 6. There were 18 tomato materials which the genetic distance was more than 7, No.1 and No.15 had the largest genetic distance. That was 9.180 6. The result of cluster analysis showed that 20 tomato germplasm resources could be classified into 4 groups.

**Key words:** Tomato; Germplasm resource; Phylogenetic relationship; SSR marker

番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 是世界范围内广泛栽培的蔬菜种类之一, 在我国也是一种重要的蔬菜作物, 因其富含多种维生素、糖类、番茄红素和胡萝卜素而广受欢迎 (刘仲齐等, 2004)。目前市场上广泛栽培的番茄品种大多为杂交种。在杂交种选育过程中, 种质材料间的亲缘关系是作为亲本选择和杂交配组的主要依据。近年来, 随着分子标记技术的成熟和发展, 其在鉴定蔬菜种质材料亲缘关系中的优势越来越明显, SSR 标记以其多态性丰富、重复性好、信息量大和 PCR 技术方便等优势 (艾呈祥等, 2005), 正被广泛的应用于蔬菜遗传多样性的应用研究中。

本试验旨在利用 SSR 分子标记技术对现有的番茄高代自交系进行亲缘关系分析, 划分杂

收稿日期: 2012-06-06; 接受日期: 2012-07-31

基金项目: 广州市科信局应用基础研究专项 (2009J1-C171)

作者简介: 丘漫宇, 女, 高级农艺师, 专业方向: 蔬菜遗传育种及新品种选育, E-mail: 1768265718@qq.com

种优势群,为今后利用杂交优势育种提供理论依据。同时对已育成的番茄品种金丰1号、年丰、益丰的亲本进行遗传距离测定,初步探讨亲本的分子标记遗传差异与杂种优势的相关性。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本试验共选择了20份番茄育种材料(表1),其中No.1、No.2、No.3、No.5、No.6、No.8和No.9是自封顶类型,其余13份材料为无限生长类型, No.18是长货架材料。No.3和No.4是杂交一代番茄品种金丰1号的父本和母本, No.5和No.8是杂交一代番茄品种年丰的父本和母本, No.6和No.7是杂交一代番茄品种益丰的父本和母本。2011年8月12日在温室播种,9月8日定植大棚,每份材料定植20株,待幼苗长至6~7片真叶时混株取3~4片嫩叶于离心管中, -20℃保存,以备提取DNA。

### 1.2 试验方法

根据Suliman-Pollatschek等(2002)的方法及SGN数据库(<http://www.sgn.cornell.edu>)的数据,选取25对在番茄中可能具有多态性的SSR标记,对20份番茄高代自交系育种材料(表1)进行亲缘关系分析,引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.2.1 DNA提取及检测 采用改良的CTAB法(Clark, 1998)提取番茄叶片总DNA,1.5%琼脂糖凝胶电泳检测基因组DNA条带完整性,采用UV9100B型紫外可见分光光度计测定其吸光度值,检测纯度和浓度,并稀释为20 ng · μL<sup>-1</sup>, -20℃冰箱保存备用。

1.2.2 PCR扩增 扩增反应在Thermo PX2 PCR仪上进行,反应体系25 μL,包括10×PCR buffer 2.5 μL、1.6 mmol · L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub> 1.5 μL、0.2 μmol · L<sup>-1</sup> dNTP 2 μL、0.36 μmol · L<sup>-1</sup> Primer 正反各1 μL、2.5 U *Taq* 酶 0.2 μL、20 ng模板DNA 1 μL、ddH<sub>2</sub>O 15.8 μL。PCR反应过程:94℃预变性5 min;94℃变性1 min,54℃退火1 min,72℃延伸2 min,40个循环;最后72℃延伸10 min。PCR扩增产物在质量分数5%变性聚丙烯酰胺凝胶上电泳,银染检测。

1.2.3 数据分析 在扩增产物电泳图谱中的同一迁移位置上,有扩增条带的记为1,无扩增条带的记为0,得到各样品带型分布表。采用POPGEN32软件计算多态位点百分率P(%)、相似系数和遗传距离(GD),并用MTSUS2.11版软件的非加权算术平均法(UPGMA)进行系统聚类分析,构建分子进化系统树。

## 2 结果与分析

### 2.1 SSR标记多态性分析

利用25对SSR引物对20份番茄材料进行SSR分子鉴定。结果表明,有21对引物可以在番茄材料上扩增出条带,18对引物具有多态性,引物7的SSR扩增结果如图1所示。从21对引物的扩增结果中共统计到66条清晰可辨的条带,其中多态性条带为52条,多态率为78.8%,

表1 20份番茄材料的编号及类型

编号	名称	生长类型	果形	果色	单果质量/g
No.1	g-5	自封顶	扁圆	红	100
No.2	g-4	自封顶	圆	红	80
No.3	gf	自封顶	长圆	红	80
No.4	gm	无限生长	扁圆	红	150
No.5	P5	自封顶	扁圆	红	120
No.6	P4	自封顶	圆	红	120
No.7	P3	无限生长	圆	红	150
No.8	P2	自封顶	圆	红	120
No.9	P1	自封顶	圆	红	120
No.10	174260	无限生长	长圆	红	120
No.11	23460	无限生长	圆	红	140
No.12	qdl65	无限生长	扁圆	红	150
No.13	qdl	无限生长	圆	红	150
No.14	Stnf122	无限生长	扁圆	红	180
No.15	Xh60	无限生长	圆	红	100
No.16	Stnf320	无限生长	长圆	红	100
No.17	Tg-8	无限生长	扁圆	红	150
No.18	FS	无限生长	圆	红	150
No.19	1817	无限生长	长圆	红	180
No.20	6560	无限生长	圆	红	120

谱带大小为 100 ~ 1 000 bp。最少的可扩增出 1 条条带, 最多的可扩增出 6 条条带, 平均每对引物可扩增出 3.1 条条带, 其中引物 10 扩增出的多态性谱带最多。

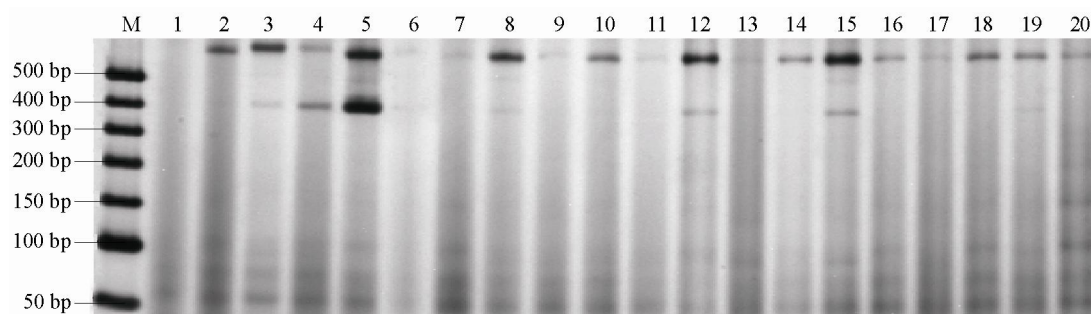


图 1 引物 7 对 20 份番茄材料的 SSR 扩增图谱

M, DL500 DNA Marker; 1~20, 番茄材料。

## 2.2 遗传距离分析

遗传距离是衡量样品间相似性程度的度量, 遗传距离数值越大表明材料间的差异越明显。采用 UPGMA 法对 SSR 扩增结果进行遗传距离计算, 结果表明 20 份番茄材料两两间的遗传距离 (GD) 在 1.489 2 ~ 9.180 6 之间, 遗传距离大于 7 的育种材料有 18 份, 其中 No.1 与 No.15 之间的遗传距离最大, 为 9.180 6, 表明这些材料间的遗传差异较大, 亲缘关系较远, 可以据此指导田间的育种实践, 减少亲本选择和杂交配组的盲目性。

No.3 与 No.4 为金丰 1 号的父本和母本, 遗传距离为 2.681 7; No.5 与 No.8 为年丰的父本和母本, 遗传距离为 3.205 2; No.6 与 No.7 为益丰的父本和母本, 遗传距离为 7.193 1。在生产实际中, 益丰的产量、品质、抗病性等田间表现均明显优于金丰 1 号和年丰。可见, 这 3 个番茄品种的田间表现与其亲缘关系的分子检测结果一致, 即亲缘关系越远, 杂种优势越明显。

## 2.3 聚类分析

从 SSR 标记的遗传聚类分析图可以看出 (图 2), 以遗传相似系数 0.67 为标准可将 20 份番

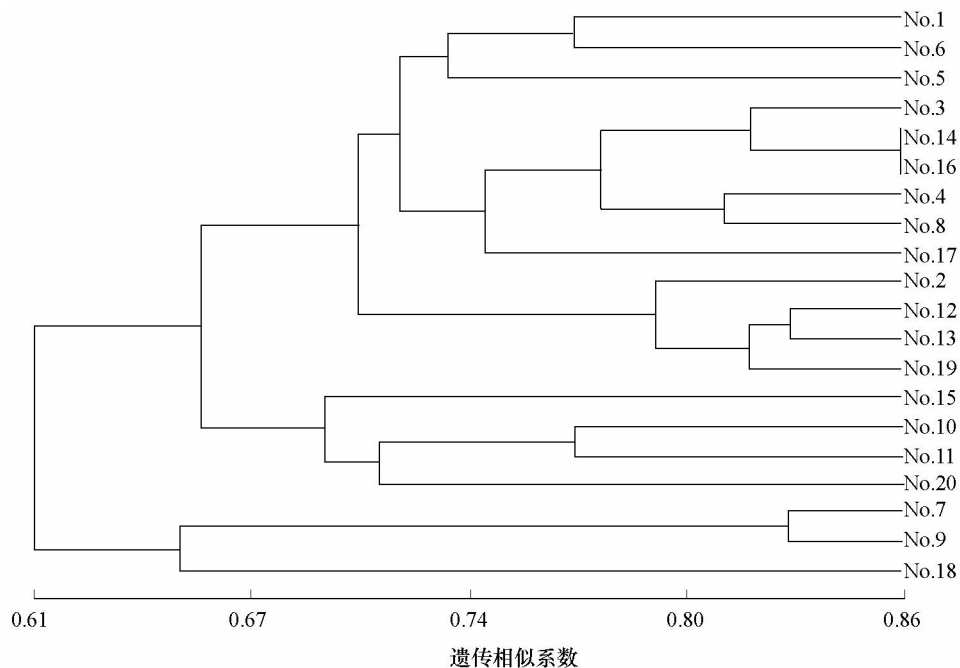


图 2 20 份番茄材料 SSR 标记的聚类分析图

茄育种材料划分为4大类,第1类共有13份材料,包括6份自封顶类型和7份无限生长类型;第2类共有4份材料,均为无限生长类型;第3类有2份材料,1份为自封顶类型,1份为无限生长类型;第4类只有No.18 1份材料,为无限生长类型的长货架材料,与其余19份番茄材料的遗传距离介于4.5153~7.6303之间,表明长货架材料的遗传背景较常规番茄育种材料的遗传差异较大,育种实践中可以考虑引入长货架育种材料来改善番茄育种材料的结构,突破目前遗传基础趋于狭窄的局限。金丰1号和年丰的父母本均聚在了第1类,表明它们之间的遗传相似系数较大,亲缘关系较近;益丰的父本和母本遗传距离较远,分别聚在了第1类和第3类。

### 3 结论与讨论

杂种优势的强弱取决于双亲性状间的互补性,在一定范围内,双亲的基因差异越大,亲缘关系越远,杂种优势就越明显。遗传多样性和亲缘关系分析是番茄遗传育种研究的重要内容,有利于杂种优势群的划分,在育种实践中指导亲本的选择和选配。而DNA分子标记技术的发展为种质资源亲缘关系的研究提供了新的手段和方法(金凤媚等,2004)。在番茄遗传多样性研究中,赵凌侠等(2002)用RAPD分子标记对番茄属9个种的43份材料进行了遗传多样性分析,将43份材料分为4个类群。姚祝平等(2010)利用AFLP分子标记对44份番茄材料进行了遗传多样性和亲缘关系分析,从64对引物组合中筛选出15对用于扩增,共获得364条多态性条带,将44份番茄材料分成5个复合组和1个独立组。

本试验选用了在育种实践中用于配制杂交组合或将用于配制组合的20份高代纯系番茄育种材料作为供试材料,意在将田间育种实践与实验室理论分析相结合,有针对性的分析育种材料之间的遗传距离,明确这些育种材料间的亲缘关系,一方面为田间育种实践提供理论依据和参考,另一方面为实验室理论分析寻找田间实证。从这些材料中选择遗传距离较大的材料进行杂交组合,在一定程度上可以减少田间亲本选择和杂交配组的盲目性。

本试验的聚类分析结果中,并没有将生长类型相同的材料全部划分为一类,而是在各类群间交叉出现,这可能是由于以下两方面原因造成的:首先,由于供试材料均为高代自交系育种材料,材料之间经过了多代的杂交和回交,难免会出现遗传背景的交叉;其次,生长类型只是其所有性状的一个组成部分,并不能代表所有基因组的组成,同时并没有针对生长类型进行引物的特异选择,从而无法将不同的生长类型完全区分开,因此出现交叉现象。所以,在今后的亲缘关系分析中,在引物的选择方面,可以考虑针对特定的某几个目标性状,选择针对性较强的引物进行遗传多样性和亲缘关系分析。

#### 参考文献

- 艾呈祥, 陆璐, 马国斌, 刘志昕. 2005. SSR 标记技术在甜瓜杂交种纯度检验中的应用. 园艺学报, 32(5): 902-904.
- 金凤媚, 薛俊, 夏时云, 刘仲齐. 2004. SSR 标记技术在番茄遗传育种上的应用. 天津农业科学, 10(4): 13-17.
- 刘仲齐, 薛俊, 张要武. 2004. 番茄分子连锁图谱的发展和分子标记辅助育种. 天津农业科学, 10(1): 37-40.
- 姚祝平, 叶青静, 杨悦俭, 王荣青, 阮美颖, 周国治. 2010. 番茄种质遗传多样性的 AFLP 分析. 浙江农业学报, 22(2): 156-160.
- 赵凌侠, 李景富, 唐克轩, 许向阳, 开国银. 2002. 番茄属基因组 DNA 遗传多样性 RAPD 分析. 福建农林大学学报: 自然科学版, 31(2): 228-233.
- Clark. 1998. 植物分子生物学实验手册//顾红雅, 礼嘉译. 北京: 高等教育出版社: 6-9.
- Suliman-Pollatschek S, Kashkush K, Shats H, Hillel J, Lavi U. 2002. Generation and mapping of AFLP, SSRs and SNPs in *Lycopersicon esculentum*. Cellular & Molecular Biology Letters, 7: 583-597.