

番茄疮痂病菌 T3 小种抗性的 QTL 分析

孙会军¹, 张洁云¹, 王园园¹, Scott Jay W.², Francis David M.³, 杨文才^{1,*}

(¹中国农业大学农学与生物技术学院蔬菜系, 北京 100193; ²佛罗里达大学园艺科学系, FL 32611, USA; ³俄亥俄州立大学园艺与作物科学系, OH 44691, USA)

摘要: 利用由抗番茄细菌性疮痂病菌 T3 小种材料 PI114490 构建的回交自交群体分析其抗性遗传规律, 鉴定与抗性连锁的分子标记。从 516 个 SSR、SNP 和 InDel 标记中筛选到 72 个在亲本之间有多态性的标记。单标记分析结果显示, PI114490 对 T3 小种的抗性由分布于 1、3、8 和 11 号染色体上的多个 QTL 控制, 其中 11 号染色体上的 QTL 能提供高达 56.5% 的抗性; 分析各回交自交系的基因型发现, 这些 QTL 之间可能存在互作。这为进一步研究 PI114490 对 T3 小种的抗性机理和抗病育种提供了参考依据。

关键词: 番茄; 回交自交群体; 细菌性疮痂病; T3 抗性; QTL

中图分类号: S 641.2; S 436.412.1⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2011) 12-2297-12

QTL Analysis of Resistance to Bacterial Spot Race T3 in Tomato

SUN Hui-jun¹, ZHANG Jie-yun¹, WANG Yuan-yuan¹, SCOTT Jay W.², FRANCIS David M.³, and YANG Wen-cai^{1,*}

(¹Department of Vegetable Science, College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China; ²Department of Horticultural Sciences, University of Florida, FL 32611, USA; ³Department of Horticulture and Crop Science, The Ohio State University, OH 44691, USA)

Abstract: The objective of this study was to understand genetics of resistance and identify molecular markers tightly linked to the resistance to race T3 using an inbred-backcross population derived from the resistant line PI114490. A core set of 516 SSR, SNP, and InDel markers was screened for polymorphisms among the parents of the IBC population, and 72 polymorphic markers were identified. Single marker-trait analysis suggested that the resistance to race T3 in PI114490 was mediated by multiple QTLs on chromosomes 1, 3, 8 and 11. One QTL on chromosome 11 could contribute 56.5% of phenotypic variation. Genotypic analysis of inbred-backcross lines suggested that interactions among QTLs might exist. These results provide some fundamental information for understanding the mechanism of resistance to race T3 in PI114490 and breeding for resistance.

Key words: tomato; inbred-backcross population; bacterial spot; T3 resistance; QTL

由黄单胞杆菌属(*Xanthomonas*)的 4 个种 *X. euvesicatoria*, *X. vesicatoria*, *X. perforans*, *X. gardneri* (Jones et al., 2004) 引起的番茄疮痂病 (bacterial spot) 是一种严重影响露地番茄 (*Solanum lycopersicum* L.) 生产的细菌性病害 (Stall et al., 2009), 该病一般可造成 20%~43% 的产量损失, 当昼夜

收稿日期: 2011-09-21; 修回日期: 2011-11-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30972003); 教育部留学回国人员科研启动基金项目

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

气温都高且湿度较大时可造成 60% 以上的减产甚至绝产 (Cox, 1966; Lukyanenko, 1991; Pernezny et al., 1996; Stall et al., 2009)。自 20 世纪 40 年代以来, 番茄疮痂病已在中国大多数地区发生, 严重威胁番茄生产 (蒋育昌和曾令芬, 1983; 孙福在 等, 1991; 丁爱云 等, 1997; 李春 等, 1997; 崔元珏 等, 2004, 2005; 张晓敏 等, 2008)。迄今国际上已经鉴定出 5 个病原菌生理小种, T1 和 T2 小种分别属于 *X. euvesicatoria* 和 *X. vesicatoria*, T3、T4 和 T5 小种则都属于 *X. perforans* (Jones et al., 2000, 2005)。中国存在 T1 和 T3 两个小种, 以 T3 为优势小种 (孙福在 等, 1999), 但也可能存在其他小种 (张晓敏 等, 2008)。

目前尚无有效的药物防治该病, 采用抗病品种是一种经济有效的防治途径。通过对包括野生种在内的大量番茄资源进行抗性评价发现, 至少有 5 份番茄材料对 T3 小种具有抗性。育种材料 Hawaii7981 和两份醋栗番茄 (*S. pimpinellifolium*) 材料 PI128216 和 PI126932 对 T3 小种既能产生过敏反应, 又在田间具有部分抗性 (Scott et al., 1996, 2001); 樱桃番茄 (*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) 材料 PI114490 对 T3 小种具有高度抗性, 但不产生过敏反应 (Scott et al., 1995); 潘那利番茄 (*S. pennellii*) 材料 LA716 对 T3 具有抗性 (Astua-Monge et al., 2000; Jones et al., 2005), 这些材料的发现为抗性育种提供了宝贵的资源。抗性遗传研究显示, Hawaii7981、PI128216 和 PI126932 对 T3 小种的抗性均由位于 11 号染色体上的同一个基因控制 (Hutton, 2008; Robbins et al., 2009; Wang et al., 2011); LA716 对 T3 小种的抗性由位于 3 号染色体上的一个单基因控制 (Astua-Monge et al., 2000), 但后续研究没有能够验证其图谱位置 (Stall et al., 2009); 关于 PI114490 对 T3 小种的抗性遗传和分子定位研究目前尚无报道。

回交自交 (inbred-backcross, IBC) 群体是由 Wehrhahn 和 Allard (1965) 提出的用于分析控制数量性状遗传的基因或数量性状位点 (quantitative trait loci, QTL) 的一种方法, 同时也可用来将野生资源中的有利基因渗入到优良育种材料中, 迄今已经在菜豆 (Sullivan & Bliss, 1983)、油菜 (Butruille et al., 1999)、水稻 (Lin et al., 1998)、黄瓜 (Owens et al., 1985; Robbins et al., 2008) 和番茄 (Hartman & St. Clair, 1998, 1999; Doganlar et al., 2002; Kabelka et al., 2002, 2004; Yang et al., 2005a; Robbins et al., 2009) 等作物中得到广泛应用。利用 IBC 群体, 结合分子标记分析, 已经从番茄材料中鉴定出抗 T1 小种的 QTL (Yang et al., 2005a) 和抗 T3 小种的基因 *Rx4* (Robbins et al., 2009)。

为了明确 PI114490 对 T3 小种的抗性遗传规律并对抗性 QTL 进行定位, 本研究中采用分子标记对已经构建的一个以 PI114490 为供体的 IBC 群体进行基因型分析, 并利用该 IBC 群体鉴定 PI114490 对番茄疮痂病 T3 小种的抗性 QTL, 为进一步研究 PI114490 对 T3 小种的抗性机理和在育种中利用其抗性奠定基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料和试验设计

本研究中采用了 IBC 群体来进行番茄疮痂病菌 T3 小种抗性的 QTL 分析。Fla7600 是鲜食番茄品种, 在田间对 T1 和 T4 小种具有部分抗性 (Scott & Jones, 1986; Hutton et al., 2010); PI114490 是樱桃番茄, 对 T1 ~ T4 小种都具有抗性 (Scott et al., 2003); OH9242 是加工番茄品种, 对疮痂病没有抗性。首先将 Fla7600 与 PI114490 杂交获得 F_1 , 然后将 OH9242 与 F_1 杂交并回交两代, 获得 166 个回交系, 再将这 166 个回交系各自自交 5 代, 每代通过一粒传的方法留种, 最终获得 BC_2S_5 群体。

自交回交群体的抗性评价于 2010 年 4—8 月在中国农业大学上庄试验站进行。将 3 个亲本及 166 个回交系的种子播于装有草炭/蛭石 (3:1) 的穴盘中, 出苗 6~8 周后定植到田间。设 3 个重复, 每个重复中每份材料种植 10 株, 按照常规水肥条件进行管理。

1.2 接种物准备、接种和病害评价

所用菌系为番茄疮痂病 T3 小种病原菌 X7938。接种前 3~4 d, 将保存于 4 °C 的试管菌种用接种环刮取少许涂到 YDC 斜面培养基 (Lelliot & Stead, 1987) 上, 在 28 °C 下培养 2~3 d 后, 用无菌水悬浮并稀释成 $3 \times 10^8 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($A_{600} = 0.15$) 的菌液。

在定植一周前采用喷雾法对番茄幼苗进行接种, 并在定植两周后的傍晚再接种 1 次, 每次喷雾到叶片上有悬浮液下滴为止。为了增加湿度, 有利于病害的发生, 从接种后到植株开始坐果期间每周对植株喷灌 1 次。当大约 80% 的材料果实为红色, 到达采收成熟期时, 采用 Horsfall 和 Barratt (1945) 的病害严重度分级法记录每个植株的病级, 然后计算平均数作为每个系的病级。

1.3 QTL 分析策略和标记筛选

为了对 T3 小种的抗性 QTL 进行定位, 先从每条染色体臂上筛选两个在 3 个亲本 PI114490、Fla7600 和 OH9242 间有多态性的标记, 根据 Solanaceae genome network (SGN, <http://www.sgn.cornell.edu/>)、Yang 等 (2004, 2005a) 和 Robbins 等 (2011) 报道的遗传图谱确定标记在染色体上的位置, 通过单标记分析获得与抗性连锁的标记, 然后在标记所在染色体的位置附近增加标记数, 确定 QTL 在染色体上的位置。

共筛选了来自于不同文献或数据库网站的 516 个标记, SSR 标记来自于 SGN 和 Suliman-Pollatschek 等 (2002), 引物名称分别以 “SSR” 和 “TOM” 开头, 在合成 SSR 引物时, 正向引物 5' 端加了 M13 引物的序列 (CACGACGTTGTAAACGAC), 以便采用 LI-COR 公司的 IR² DNA 分析仪对基因型进行分析; 单核苷酸多态性标记 (SNP) 和缺失/插入 (InDel) 标记来自于 Yang 等 (2004) 和 van Deynze 等 (2007); 保守原始区段内含子 (Cosi) 标记来自于 Yang 等 (2005b); 另外, 根据遗传图谱位置随机选择了 74 个 RFLP 标记, 根据其序列设计引物, 对 3 个亲本的基因组 DNA 进行 PCR 扩增和测序分析来获得多态性标记。

1.4 DNA 提取和标记分析

从每份材料的至少 8 个单株上取等量幼嫩叶片混合, 用改进的 CTAB 法 (Kabelka et al., 2002) 提取基因组 DNA。用在 3 个亲本间有多态性的标记 (表 1) 对亲本和整个 IBC 群体进行基因型分析。SNP 和 Cosi 多态性的检测采用酶切 PCR 产物的方法 (Yang et al., 2004, 2005b) 进行。InDel 和 SSR 标记采用 Yang 等 (2005a) 的方法在 LI-COR 公司的 IR² DNA 分析仪上进行。所有引物的 PCR 条件及标记检测方法见表 1。

1.5 数据分析

分子标记的数据记录为 PI114490 纯合型、Fla7600 纯合型、OH9242 纯合型和杂合型, 每个标记在 IBC 群体中的分离比例与 BC₂S₅ 期望值 7:1 的符合度由卡方测验确定。采用 SAS 中的混合线性模型 (mixed linear model) 分析表现型和基因型的连锁关系。具体模型是: $X_{ijk} = \mu + B_i + M_j + G_k(M_j) + \varepsilon_{ijk}$, 其中 X_{ijk} 是表型值, 即第 i 个重复中第 j 个标记第 k 种基因型的病害严重度, μ 为 IBC 群体的病害严重度平均值, B_i 是第 i 个重复的效应值, M_j 是第 j 个标记的效应, $G_k(M_j)$ 是第 k 种基因型在第 j 个标记内的效应, ε_{ijk} 是试验误差。由于在自交回交群体中的基因型不平衡, 因此在进行 F 测验时, 其自由度通过 Satterthwaite 估算 (Netter et al., 1990) 获得, F 测验的计算式为 M_j/G_k

(M_j), F 测验显著 ($P < 0.05$) 表明性状与基因型之间存在连锁关系。用标记解释的变异/总变异 (V_m/V_p) 来估算 QTL 贡献率。

2 结果与分析

2.1 亲本 PI114490、Fla7600 和 OH9242 间多态性标记的鉴定

从 516 个标记中共筛选到 72 个在 3 个亲本 PI114490、Fla7600 和 OH9242 之间具有多态性的标记 (表 1), 占总标记数的 14.0%。其中, PI114490 与 Fla7600 之间的多态性标记比例最高, 为 12.6%, PI114490 与 OH9242 之间的多态性标记占总数的 10.7%, 而 Fla7600 与 OH9242 之间的多态性标记只占总数的 7.2%。所筛选的 516 个标记中包括了 295 个 SSR 标记、109 个 SNP 或 InDel 标记、38 个 Cosi 标记和 74 个由 RFLP 转换的标记, 它们在 3 个亲本间检测到多态性的概率分别为 11.9%、22.0%、23.7% 和 5.4%。尽管所筛选的 516 个标记覆盖了整个基因组, 但 72 个多态性标记只覆盖了 70.0% 左右的基因组区域, 且不均匀地分布在 12 条染色体上, 2 号染色体上的多态性标记最多, 共有 13 个, 6 号染色体上只有 2 个多态性标记, 其余染色体上的多态性标记介于 2~13 个之间 (表 1)。

表 1 在 PI114490、Fla7600 和 OH9242 之间具有多态性的分子标记及其 PCR 条件和检测方法
Table 1 Polymorphic markers among PI114490, Fla7600 and OH9242, their PCR conditions and detecting methods

标记 Marker	染色体 Chromosome	标记类型 Marker type	正向引物序列 (5'-3') Forward primer sequence	反向引物序列 (5'-3') Reverse primer sequence	退火温度/℃ Anneal temp	内切酶 Enzyme	凝胶电泳 Electrophoresis
SSR478	1	SSR	GCAGCATATATCACCTTGGCT	CGTGCTCTCCAATAGTTCACC	50		B
Cf9	1	SNP	CAGGCACAGAGTTACATGGG	CAACCAGTGAAGGAAGGGAG	60	<i>Hae</i> III	A
CosOH47	1	Cosi	TTGCTGATTTTCTTCCCATTTT	GCAGCTGGAGTGAGAGGAAC	56	<i>Bst</i> U I	A
SSR134	1	SSR	CCCTCTTGCCCTAAACATCCA	CGTTGCGAATTCAGATTAGTTG	50	-	C
TOM202	1	SSR	TGGTCACCTTCAACTTTTATAC	AAATGATAATGAAATGGAGTGA	45	-	C
LEOH106	1	SNP	AGGGAGAAATTTGACATACGG	GGACCAACAGCAAATACAAAA	52	<i>Alu</i> I	A
LEVCOH11	1	SNP	CAACCATGTTAGATGTGCCAGT	TAAGAGAGGGGAATGGTGATGT	56	<i>Mnl</i> I	B
LEVCOH12	1	SNP	GGAGAAAGAAGATCCATCAAA GG	ATTAAACAACAGAAGAGAAAC CAG	56	<i>Bsa</i> J I	B
LEOH342	2	InDel	TCCTTTGATTGTTTCAACACC	TCCACAACCTCCCTGAAAAGG	52	-	C
CosOH44	2	SSR	TGCTTCTTGACACCACAACT	TGTTGTCATGGTCCCTTGA	45	-	C
TOM11	2	SSR	ATTGTAATGGTGATGCTCTTCC	CAGTTACTACCAAAAAATAGTCAA ACAC	45	-	C
SSR71	2	SSR	AAATGGCATGGAGAATGGAA	CATCCACTGAGAGCCCAAAG	50	-	C
SSR66	2	SSR	TGCAACAACCTGGATAGGTCG	TGGATGAAACGGATGTTGAA	50	-	C
LEOH23	2	SNP	CTATGCGTTTGTCGGTCTGT	CAAGGTAGTTGAAGGTATGACCA	56	<i>Tsp</i> 509 I	A
SSR96	2	SSR	GGGTTATCAATGATGCAATGG	CCTTTATGTCAGCCGGTGT	50	-	C
SSR104	2	SSR	TTCCATTTGAATTCCAACCC	CCCCTGCACATCAACTGAC	50	-	D
SSR5	2	SSR	TGGCCGGCTTCTAGAAATAA	TGAAATCACCCGTGACCTTT	50	-	C
SSR349A	2	SSR	GAGTGATCATCCATCCTCTCA	GGAAGAGACTTTGGACTAAGGGA	50	-	C
TOM188	2	SSR	CCCACCTTTTACCTCTCCC	GGAAGATGGTATTTTGGAAA	45	-	C
CosOH7	2	Cosi	CATGGATATGGTAATTGGAGGA	CCTTTTCCTGATATGCGTATTC	56	<i>Hinf</i> I	A
LEOH319	2	SNP	TGCAATAAGGCCTGATACGG	ACGCTTGTGCAGCATCAGTA	52	<i>Tsp</i> 509 I	B
LEOH223	3	SNP	ACAAGAGTCGGGTGATGGAC	GCGATGAAATAGCATCACA	52	<i>Tru</i> 1 I	A
LEOH124	3	InDel	CCGTCTCCTTCTCCTCTTT	CTGGCTGGTGTCTTCTCCAT	52	-	C
LEGTOM5	3	SNP	TTAGCCGTGTTGTGAAATCC	GACTTTCAAAAGGCATCCGTC	56	<i>Tru</i> 1 I	A
SSR111	3	SSR	TTCTTCCCTTCCATCAGTTCT	TTTGCTGCTATACTGCTGACA	50	-	C
LEOH185	3	InDel	CGTCACAGTCGCGTAAATGA	CCTTCTCCCAATTTCTCTC	52	-	C
TOM59	3	SSR	TAACACATGAACATTAGTTTGA	CACGTAAAATAAAGAAAGGAAT	45	-	C
CosOH51	3	Cosi	CTCATTTGATACCTCTATTTGTG GTG	TGAGATCTTAAAAGAAACACAT GAGG	56	<i>Rsa</i> I	A
SSR601	3	SSR	TCTGCATCTGGTGAAGCAAG	CTGGATTGCCTGGTTGATTT	50	-	C
SSR320	3	SSR	ATGAGGCAATCTTCACCTGG	TTCAGCTGATAGTTCCTGCG	50	-	C

续表 1

标记 Marker	染色体 Chromosome	标记类型 Marker type	正向引物序列 (5' - 3') Forward primer sequence	反向引物序列 (5' - 3') Reverse primer sequence	退火温 度/℃ Anneal temp	内切酶 Enzyme	凝胶电泳 Electro- phoresis
LEOH127	3	SNP	CAAGGCATCAACCTAATTGGA	TGTAGGCTTGAAAAATAAGAGGA GA	52	<i>Hinc</i> II	A
TOM194	4	SSR	ACGAAGTAATACAGCCAATG	AGCCATCCAACACAAAAACAC	45	-	C
SSR43	4	SSR	CTCCAAATGGGGCAATAACA	TTAGGAAGTTGCATTAGGCCA	50	-	C
LEOH37	4	SNP	TTGATATATCCATGTGTGTCTC	AACACAAAATTAACAACTTAAAT GG	52	<i>Tsp45</i> I	A
TOM210	4	SSR	CGTTGGATTACTGAGAGGTTTA	ACAAAAATTCACCCACATCG	45	-	C
SSR627	4	SSR	TACAGAATAGGGTTTGCCATA	GTTTTAGTGGGTTGTGTGAA	48	-	C
TOM49	5	SSR	AAGAACTTTTGAATGTTGC	ATTACAATTTAGAGAGTCAAGG	45	-	C
TOM152	5	SSR	ATTCAAGGAACTTTGTAGCTCC	TGCATTAAGGTTCAATAATGA	45	-	C
SSR289	5	SSR	AACAATGGCAGGAATCATCC	TGTCCGTCATGTTCTCTCTCC	50	-	C
Rx3	5	SNP	CTCCGAGCGAAGAGTCTAGAGTC	GAAGGCAAAAGGAAAAGGAGAA GGATGG	60	<i>BsrB</i> I	A
LEOH316	5	SNP	GGTTGAGACGTAACATTGAGGA	GCACATGATTTCAATAGTTGGA	52	<i>Mbo</i> II	B
CosOH73	5	CosI	CTTCCCGACAAGCACAAAAA	CGAATGCTCTGTACCATTTCC	56	<i>Alu</i> I	A
SSR47	6	SSR	TCCTCAAGAAATGAAGCTCTGA	CCTTGGAGATAACAACCACAA	50	-	C
SP	6	SNP	AGGGTTGAAGTTCATGGTGG	GATGTTCCCTGAGATATGGA	56	<i>Mva</i> I	E
LEOH1	7	SNP	TCCACATGAAGTAATGGACACAG	TTCTTCGTCAAGATCGGGTA	56	<i>Tsp45</i> I	A
LEOH40	7	SNP	TGAGTTGGTGAACCATGGAA	CCAAAGTTGGGACCTTTTGA	56	<i>Tsp45</i> I	A
SSR45	7	SSR	TGTATCCTGGTGGACCAATG	TCCAAGTATCAGGCACACCA	50	-	C
CosOH64	8	CosI	AAGAAATCCAATGCCAACGGAC	CATTGCCTTGACATATCCTTG	52	<i>Rsa</i> I	A
LEOH343	8	SNP	CAAATGGGTTTGGCTGAAAA	CGCAAACGTATTGAACAGC	52	<i>Mnl</i> I	A
SSR63	8	SSR	CCACAAACAATCCATCTCA	GCTTCGCCATACTGATACG	50	-	C
CosOH42	8	CosI	GGAATTCACATGAAGTAATGGA	TTGATCAAATCGGGCTTAGG	56	<i>Tsp45</i> I	A
SSR383	9	SSR	ATTGTACAAAGACCCGTGGC	GTTGCACACTGGATCAATGC	50	-	C
TOM236	9	SSR	GTTTTTCAACATCAAGAGCT	GGATAGGTTTCGTTAGTGAAC	45	-	C
SSR333	9	SSR	GTTCCCGCTTGAGAAACAAC	CCAATGCTGGGACAGAAGAT	50	-	C
TOM180	10	SSR	ACGGTCCAGTAAGGTTGATG	ATATGAAGATTGGGTTGTAACA	44	-	C
SSR318	10	SSR	GCAGAGGATATTGCATTCGC	CAAACCGAACTCATCAAGGG	50	-	C
SSR248	10	SSR	GCATTCGCTGTAGCTCGTTT	GGGAGCTTCATCATAGTAACG	50	-	C
LEVCOH15	10	InDel	GCAACCACCAATGTTTATTACA	AAGCTAAATCTGGCTTGTGGAG	52	-	C
SL10737i	11	InDel	CCCACTCCTGGGACTCAAATC	TGGACCCACAGGTAATGAGG	57	-	C
pec7	11	InDel	CGTCCCTGATCACTGCTAAA	GCACAGTGCCACGTACTTA	58	-	C
SSR637	11	SSR	AATGTAACAACGTGTATGATTC	AAGTCACAACTAAGTTAGGG	50	-	C
TOM196	11	SSR	CCTCCAAATCCCAAACTCT	TGTTTCATCCACTATCACGA	45	-	C
TOM144	11	SSR	CTGTTTACTTCAAGAAGGCTG	ACTTTAACTTTATTATGCGACG	45	-	C
CosOH57	11	CosI	TGCCCAAAAGCACAGTACAA	CGCCTCTATCTTCCAACTT	52	<i>Tth</i> 111 I	A
LEOH57	11	SNP	TGGTCAACAGATGGTGAAGAA	GGATCCCATGCCAATGAATA	52	<i>Bst</i> U I	A
I2	11	SNP	TGGAGAGTTCCTTACACTTGAG	TTCTCTTCAAGGTAGTTGGCAG	60	<i>Rsa</i> I	A
CT100	12	SNP	TAAGTTGGGGCGAAGGAC	CAGCAGAAAAGCCTTGAGG	58	<i>Rsa</i> I	A
LEOH19	12	SNP	AAGGCTCAGAAAGGGTCCAT	TGAGTTCATCAACACATCACACA	55	<i>BsaB</i> I	A
SSR20	12	SSR	GAGGACGACAACAACAACGA	GACATGCCACTTAGATCCACAA	50	-	C
CosOH1	12	CosI	TGCATACACTTGGTCATGACTTC	GGCTATAGCATGCGTTGGTT	52	<i>TspR</i> I	A
LEOH197	12	InDel	TCTGATGTTGGTAGAGCCATTG	TGATCATAATGTGACGAATCGAA	52	-	C
PtiB	12	SNP	GCCCTGATATGGCAGCACGTC	CAAGGCAGCAACTGCAGCCATC	60	<i>Mnl</i> I	A

注: A. 2%琼脂糖凝胶电泳; B. 4%琼脂糖凝胶电泳; C. 7%变性聚丙烯酰胺凝胶电泳; D. 1%琼脂糖凝胶电泳; E. 3%琼脂糖凝胶电泳。

Note: A. 2% agarose gel electrophoresis; B. 4% agarose gel electrophoresis; C. 7% denaturing polyacrylamide gel electrophoresis; D. 1% agarose gel electrophoresis; E. 3% agarose gel electrophoresis.

2.2 IBC 群体的基因型分析

上述 72 个多态性标记在 3 个亲本间扩增到 159 个等位基因, 其中 13 个在 3 个亲本之间具有各自的特异等位基因, 除此之外, 35 个标记具有 PI114490 的特异等位基因, 17 个标记具有 Fla7600 的特异等位基因, 7 个标记具有 OH9242 的特异等位基因 (表 2), 这些亲本特异性的等位基因因为在

IBC 群体中检测其基因组保留量提供了保障。

表 2 PI114490、Fla7600 和 OH9242 特有等位基因在 IBC 群体中的比例
Table 2 Proportion of alleles specific to PI114490, Fla7600 and OH9242 in the IBC population

等位基因类型 Class of allelic gene	标记数 Number of markers	等位基因频率/% Frequency of alleles					
		PI114490		OH9242		Fla7600	
		范围 Range	平均数 Mean	范围 Range	平均数 Mean	范围 Range	平均数 Mean
Fla7600 特有 Specific to Fla7600	17					0 ~ 20.6	6.7
PI114490 特有 Specific to PI114490	35	1.8 ~ 46.3	12.0				
OH9242 特有 Specific to OH9242	7			40.3 ~ 93.8	82.7		
三亲本均特有 Specific to three parents	13	2.5 ~ 26.4	10.7	53.4 ~ 97.0	76.9	0 ~ 21.6	12.4
总平均 Average			11.4		79.8		9.6

采用 72 个多态性标记对 IBC 群体的 166 个系进行了基因型分析，总的说来，整个 IBC 中杂合子的频率较低，在 0 ~ 9.6%之间，平均为 1.9%，大部分（70.1%）标记所检测到的杂合子频率都低于 3.0%。虽然 PI114490 和 Fla7600 在 IBC 培育过程中都只出现过 1 次，但二者在 IBC 群体中保留下来的基因组信息却略有差异。基于 48 个 PI114490 特异等位基因在 IBC 群体中出现的频率，每个 IBC 系中 PI114490 基因组的比例在 0 ~ 28.1%之间，平均为 12.0%，接近于期望值 12.5%。大部分（74.7%）IBC 系中 PI114490 基因组的比例在 5.1% ~ 20.0%之间，小于 5.1%和大于 20.0%的各占 12.6%左右（图 1）。就 PI114490 的每个等位基因而言，在 IBC 群体中所占的比例在 1.8% ~ 46.3%之间（表 2）。

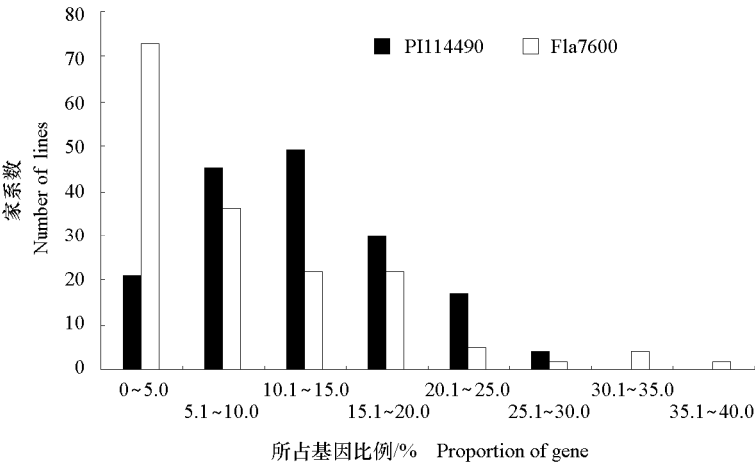


图 1 PI114490 和 Fla7600 基因组在整个 IBC 群体中的分布
Fig. 1 Distribution of PI114490 and Fla7600 genome in the IBC population

Fla7600 的基因组在整个 IBC 群体中的比例略小于 PI114490 的基因组，但基因组所占比例在整个 IBC 群体中的分布较 PI114490 广（图 1）。根据 30 个 Fla7600 特异等位基因在 IBC 群体中出现的频率，每个 IBC 系中 Fla7600 基因组的比例在 0 ~ 36.7%之间，平均为 9.0%，低于期望值 12.5%。44.0%的 IBC 系中 Fla7600 基因组的比例低于 5.1%，但有 3.6%的 IBC 系含有大于 30.0%的 Fla7600 基因组（图 1）。Fla7600 的每个等位基因在 IBC 群体中所占的比例在 0 ~ 21.6%之间（表 2），有 6 个 Fla7600 特异等位基因在 166 个 IBC 系中没有出现，表明在回交过程中出现了 Fla7600 等位基因丢失的现象。

2.3 亲本及 IBC 群体对番茄疮痂病原菌 T3 小种的反应

3 个亲本 PI114490、Fla7600 和 OH9242 对番茄疮痂病原菌 T3 小种菌系的抗性、感性不同, 叶片平均病级分别为 2.5、5.5 和 6.8, 虽然 Fla7600 和 OH9242 的病级相近, 但三者之间的抗性差异显著 ($P < 0.0001$), 表明 Fla7600 对 T3 小种具有一定的抗性, 但远不如 PI114490 的抗性强。

根据对每个 IBC 系的基因型分析结果, 按照每个基因型至少选择两个系的原则, 共选出了 83 个系进行 T3 小种的抗性鉴定。结果显示, 这些系的叶片平均病级在 3.9 ~ 7.2 之间, 呈偏态分布, 偏向于感病亲本 OH9242 (图 2), 符合 IBC 群体的基因组组成特性。尽管少数 IBC 系在某个重复内的叶片病级低到 2.0 或高到 8.0, 但没有一个 IBC 系的平均病级跟 PI114490 相近, 即 IBC 群体中没有一个系具有与 PI114490 相似的抗性, 表明 PI114490 对 T3 小种的抗性是由多基因控制的。

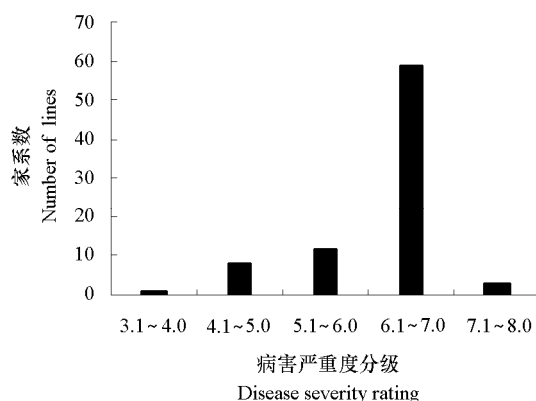


图 2 IBC 群体中 83 个系在接种番茄疮痂病原菌 T3 小种后的病害严重度分级分布

Fig. 2 Distribution of disease severity rating in 83 IBC lines inoculated with tomato bacterial spot race T3 strain

2.4 番茄疮痂病菌 T3 小种抗性 QTL 的鉴定与分析

根据单标记分析结果, 共有分布于 1、3、8 和 11 号染色体上的 12 个标记 (图 3) 与 T3 小种的抗性呈显著相关 ($P < 0.05$), 抗性贡献率在 6.5% ~ 56.5% 之间 (表 3)。位于 1、3、11 号染色体上的 QTL 表现为正效应, 而位于 8 号染色体上的 QTL 表现为负效应, 即 8 号染色体上携带 PI114490 等位基因的材料表现为感病。

由于在构建 IBC 群体时采用了 PI114490、Fla7600 和 OH9242 等 3 个亲本, 并且本研究中发现 Fla7600 对 T3 小种具有部分抗性, 因此, 在分析抗性与标记相关性时将不同亲本的等位基因分开进行。在 1 号和 3 号染色体上, Fla7600 与 OH9242 具有相同的等位基因, 都与感病性相关, 但在 8 号和 11 号染色体上, 大部分标记在不同亲本间扩增到不同的等位基因, 不同亲本的等位基因与抗、感病性的相关性也不同。在 8 号染色体上, 携带 PI114490 等位基因的材料与携带 OH9242 等位基因的材料之间病级差异显著, 携带 Fla7600 等位基因的材料病级介于二者之间, 与二者没有显著差异。11 号染色体上的情况较为复杂, 共有 7 个标记与抗性相关, 抗性贡献率从 7.8% 到 56.5% 不等 (表 3)。SSR637 标记从 3 个亲本中扩增到的等位基因数不同, 且在 IBC 群体中检测到了不同等位基因之间的交换, 因此将各个等位基因看作显性标记进行分析, 等位基因 SSR637a、SSR637c 和 SSR637f 来自于 OH 9242, SSR637b 和 SSR637e 来自于 Fla7600, SSR637d 来自于 PI114490, 这样在 11 号染色体上就有 12 个标记。其中, TOM144 和 pcc7 可以区分 3 个亲本, 携带 PI114490 等位基因的材料和携带 Fla7600 等位基因的材料抗性没有差异, 而与携带 OH9242 等位基因材料的抗性差异明显; CosOH57 和 SSR637d 则显示只有携带 PI114490 等位基因的材料才具有抗性; TOM196、SSR637a、SSR637c、SSR637f 和 SL10737i 不能区分 PI114490 和 Fla7600, 但携带 OH9242 等位基因的材料不

具有抗性；SSR637b、SSR637e 和 LEOH57 不能区分 PI114490 和 OH9242，携带 Fla7600 等位基因的材料具有抗性（表 3）。概括起来，PI114490 和 Fla7600 的 11 号染色体都带有抗 T3 小种的位点。

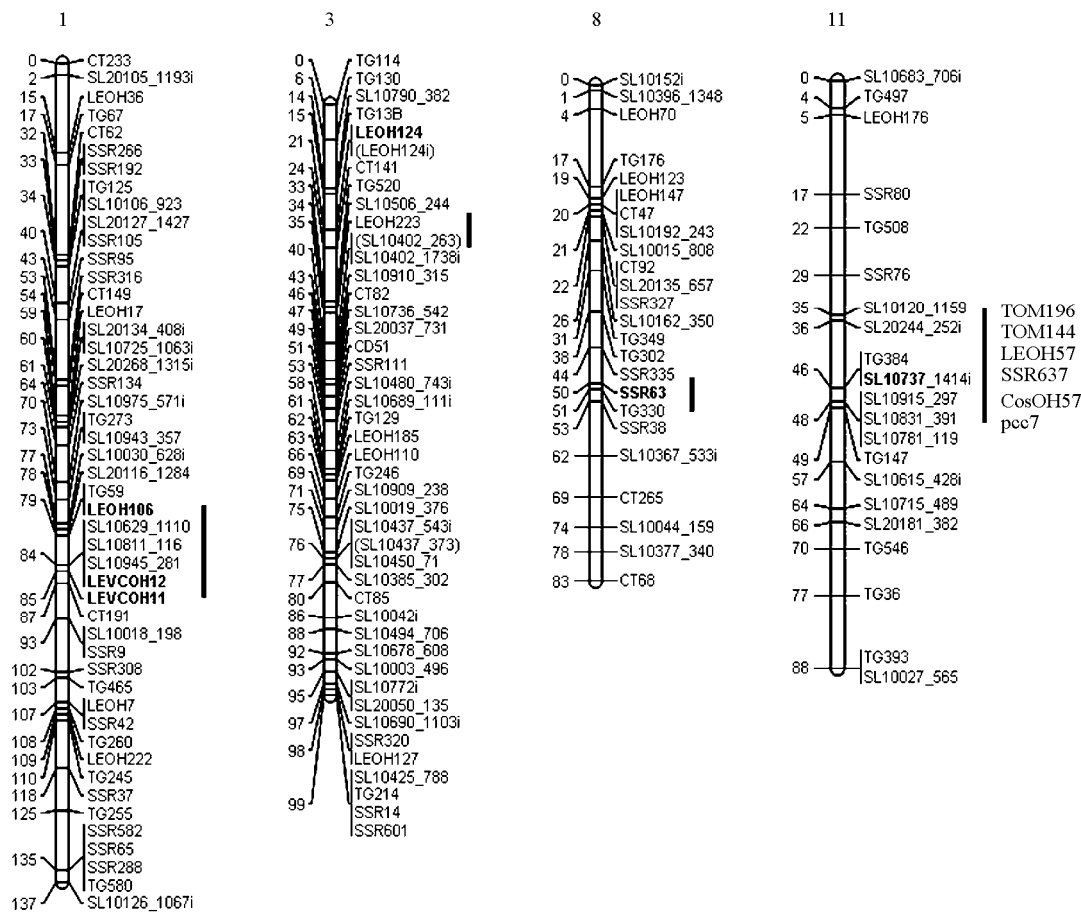


图 3 抗番茄疮痂病菌 T3 小种 QTL 在染色体上的位置

番茄连锁图来自于 Robbins 等（2011），11 号染色体上的标记位置根据番茄基因组序列信息确定，与 T3 小种抗性紧密连锁的标记以粗体标示，染色体右边的黑色粗线是 QTL 在染色体上的位置。

Fig. 3 Positions of QTLs on chromosomes for resistance to race T3 of tomato bacterial spot

The framework map was adapted from Robbins et al. (2011). Map positions of markers on chromosome 11 were determined using the tomato genome sequence information. Markers significantly associated with bacterial spot race T3 resistance were in bold.

The black bar at the right side of each chromosome indicated the QTL region.

表 3 与 IBC 群体 T3 抗性显著相关的分子标记

Table 3 Molecular markers significantly associated with response to race T3 of bacterial spot in the IBC population

染色体 Chromosome	标记 Marker	IBC 群体中标记基因型平均病级 Genotypic means of marker classes							P 值 P value	QTL 贡献率/% QTL contribution	LSD _{0.05}	效应 Effect
		PIPI	PI/FL	PI/OH	FLFL	FL/OH	PIFL/OH	OHOH				
1	LEOH106	3.90	-	-	-	6.40	-	-	0.0024	10.9	1.591	PI > FL/OH
1	LEVLOH11	3.90	-	-	-	6.40	-	-	0.0024	10.9	1.591	PI > FL/OH
1	LEVLOH12	3.90	-	-	-	6.41	-	-	0.0023	10.9	1.582	PI > FL/OH
3	LEOH124	5.29	-	-	-	6.42	-	-	0.0196	6.5	0.947	PI > FL/OH
8	SSR63	7.00	-	-	6.78	-	-	6.19	0.0076	11.6	0.815	PI < FL < OH
11	TOM144	5.18	-	-	4.81	-	-	6.66	< 0.0001	56.5	0.588	PI = FL > OH
11	TOM196	-	4.92	-	-	-	-	6.63	< 0.0001	45.3	0.425	PI/FL > OH
11	SSR637a	-	5.11	-	-	-	-	6.57	< 0.0001	36.1	0.431	PI/FL > OH

续表 3

染色体 Chromosome	标记 Marker	IBC 群体中标记基因型平均病级 Genotypic means of marker classes							P 值 P value	QTL 贡献率/% QTL contribution	LSD _{0.05}	效应 Effect
		PIPI	PI/FL	PI/OH	FLFL	FL/OH	PIFL/OH	OHOH				
11	SSR637b	-	-	6.57	5.24	-	-	-	<0.0001	31.8	0.429	PI/OH < FL
11	SSR637c	-	4.93	-	-	-	-	6.58	<0.0001	42.2	0.427	PI/FL > OH
11	SSR637d	5.35	-	-	-	6.43	-	-	0.0105	7.8	0.820	PI > FL/OH
11	SSR637e	-	-	6.56	4.88	-	-	-	<0.0001	39.9	0.456	PI/OH < FL
11	SSR637f	-	5.11	-	-	-	-	6.57	<0.0001	36.1	0.431	PI/FL > OH
11	CosOH57	5.14	-	-	-	6.45	6.00	-	0.0067	11.7	1.445	PI > FL/OH
11	LEOH57	-	-	6.55	5.06	-	-	-	<0.0001	34.5	0.456	PI/OH < FL
11	SL10737i		5.11				6.80	6.66	<0.0001	52.6	0.727	PI/FL > OH
11	pcc7	4.95			5.51			6.50	0.0014	12.5	0.595	PI > FL > OH

注: PIPI. PI114490 纯合型, PI/FL. PI114490 或 Fla7600 纯合型, PI/OH. PI114490 或 OH9242 纯合型, FLFL. Fla7600 纯合型, FL/OH. Fla7600 或 OH9242 纯合型, PIFL/OH. PI 14490 与 Fla7600 或 OH9242, OHOH. OH9242 纯合型。

Note: PIPI. PI114490 homozygotes, PI/FL. PI114490 or Fla7600 homozygotes, PI/OH. PI114490 or OH9242 homozygotes, FLFL. Fla7600 homozygotes, FL/OH. Fla7600 or OH9242 homozygotes, PIFL/OH. PI14490/Fla7600 or OH9242 heterozygotes, OHOH. OH9242 homozygotes.

3 讨论

鉴定与抗性基因紧密连锁的分子标记并通过分子标记辅助选择 (marker-assisted selection, MAS) 策略将抗性基因聚合到同一育种材料或杂交种中, 为培育多抗材料提供了可能。但是, 番茄疮痂病抗性基因大多来自于栽培番茄, 而栽培番茄材料之间多态性较低, 限制了 MAS 在番茄疮痂病抗性育种中的应用。为此, 人们在开发以 PCR 为基础的栽培番茄分子标记方面开展了大量工作, 已获得了包括 SSR、SNP 和 InDel 在内的约 800 个可用于栽培番茄的分子标记 (Yang et al., 2004, 2005b; Frary et al., 2005; van Deynze et al., 2007; Wang et al., 2010; Robbins et al., 2011), 为本研究工作的开展提供了条件。本研究中所用的 SSR、SNP 和 InDel 标记都能在多个栽培番茄材料中揭示多态性 (Yang et al., 2004, 2005b; Robbins et al., 2011), 尽管如此, 也只获得了 72 个在 3 个亲本 PI114490、Fla7600 和 OH9242 间有多态性的标记, 且在 12 条染色体上分布不均, 表明仍需开展栽培番茄分子标记的开发工作。

采用 IBC 群体通过标记性状分析可同时进行 QTL 鉴定和育种, 其优势在于 IBC 群体中每个系的遗传组成是稳定的, 这就为 QTL 的鉴定提供了一个既具有一定的遗传结构又能进行重复试验的群体, 同时由于所用的轮回亲本一般是优良的育种材料或品种, 因此鉴定到的携带 QTL 的 IBC 系可直接用于杂交育种。但是建立 IBC 群体需要的时间较长, 而且利用 IBC 群体难以检测 QTL 之间的上位互作效应 (Kabelka et al., 2002), 另外, IBC 群体不是一个简单的分离群体, 现有 QTL 作图软件还不能用 IBC 群体来直接进行 QTL 作图分析。关联作图技术的出现, 为利用 IBC 群体进行 QTL 作图提供了参考, 利用育种群体中的系谱信息可以对不同遗传背景下的基因或 QTL 互作效应进行估算 (Jansen et al., 2003; Crepieux et al., 2004a, 2004b, 2005), 因此值得尝试采用关联作图技术来分析如 IBC 这样的群体中的 QTL 互作。

樱桃番茄 PI114490 对番茄疮痂病 T1 ~ T4 小种都具有很好的抗性, 采用传统的遗传分析方法, Scott 等 (2003) 发现该材料对 T1 和 T2 小种的抗性分别由 2 ~ 3 个基因控制, 最近, Hutton 等 (2010) 则鉴定出多个对 T4 小种具有抗性的 QTL, 其中位于 11 号染色体上的一个 QTL 贡献了 29.4% 的抗性。本研究中从 4 条染色体上鉴定到控制 T3 小种抗性的 QTL, 1、3 和 8 号染色体上为单个 QTL, 但在 11 号染色体上, 由于所用的标记分布于已知基因组序列的 36 Mb 之间, 目前还难确定有几个 QTL 控制其对 T3 小种的抗性。不过通过分析 IBC 群体中抗病系的基因型组成发现, 携带了 1、3、

8 和 11 号染色体上 PI114490 所有等位基因的材料具有很好的抗性, 仅携带 11 号染色体上 PI114490 所有等位基因的材料则具有中等抗性, 而只携带 11 号染色体上 PI114490 个别等位基因的材料仅比感病亲本略具抗性, 说明 11 号染色体上不是一个 QTL 起作用, 而是几个 QTL 互作共同抗 T3 小种。

已有研究表明, Hawaii7981 对 T3 小种的抗性基因 *Xv3* 和 PI128216 对 T3 小种的抗性基因 *Rx4* 也都在 11 号染色体上 (Robbins et al., 2009; Wang et al., 2011), 位于染色体长臂的近末端区域, 而本研究中发现的 11 号染色体上的 QTL 分别位于短臂和长臂的近着丝粒区域, 因此这些 QTL 应该与已经报道的两个基因不同, 为新的抗性位点, 从而推断不同材料在 11 号染色体上对 T3 小种的抗性机理可能不同, 既存在单基因控制的抗性, 也存在多个 QTL 共同作用的抗性。

由于番茄疮痂病原菌存在多个种和小种, 温室内鉴定到的过敏反应与田间抗性相关性差, 而且抗性大多呈数量性状遗传 (Scott & Jones, 1989; Somodi et al., 1996; Scott et al., 2001, 2003; Yang et al., 2005a), 因此抗性育种进展较慢。建立 IBC 或高回交世代等群体, 结合分子标记辅助选择, 不但可以快速鉴定抗性基因或 QTL, 而且可以获得可用于育种的中间材料, 本研究的结果也再一次证明了该策略的有效性。到目前为止, 已经鉴定出分别与番茄疮痂病 T1、T3、T4 小种抗性 QTL 紧密连锁的分子标记, Yang 和 Francis (2005) 也已经建立了 T1 小种抗性 QTL 的标记辅助选择体系, 所有这些都为加速番茄疮痂病的抗性育种奠定了基础。

References

- Astua-Monge G, Minsavage G V, Stall R E, Vallejos C E, Davis M J, Jones J B. 2000. *Xv4-avrXv4*: A new gene-for-gene interaction identified between *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* race T3 and the wild tomato relative *Lycopersicon pennellii*. *Mol Plant-Microbe Interact*, 13: 1346 - 1355.
- Butruille D V, Guries R P, Osborn T C. 1999. Linkage analysis of molecular markers and quantitative trait loci in populations of inbred backcross lines of *Brassica napus* L. *Genetics*, 153: 949 - 964.
- Cox R S. 1966. The role of bacterial spot in tomato production in South Florida. *Plant Dis Reprtr*, 50: 699 - 700.
- Crepieux S, Lebreton C, Flament P, Charmet G. 2005. Application of a new IBD-based QTL mapping method to common wheat breeding population: Analysis of kernel hardness and dough strength. *Theor Appl Genet*, 111: 1409 - 1419.
- Crepieux S, Lebreton C, Servin B, Charmet G. 2004a. IBD-based QTL detection in inbred pedigrees: A case study of cereal breeding programs - IBD-based multi-cross QTL mapping. *Euphytica*, 137: 101 - 109.
- Crepieux S, Lebreton C, Servin B, Charmet G. 2004b. Quantitative trait loci (QTL) detection in multicross inbred designs: Recovering QTL identical-by-descent status information from marker data. *Genetics*, 168: 1737 - 1749.
- Cui Yuan-yu, Yang Hua, Sun Xiao-jun, Liao Jian-jun, Hao Wei-li. 2005. Studies on bacterial diseases of tomato in Xinjiang. *Xinjiang Agriculture Sciences*, 42 (4): 229 - 231. (in Chinese)
- 崔元珩, 杨 华, 孙晓军, 廖建军, 郝薇丽. 2005. 新疆番茄细菌性病害研究初报. *新疆农业科学*, 42 (4): 229 - 231.
- Cui Yuan-yu, Yang Hua, Sun Xiao-jun, Zhang Ying-mei, He Ming-cai. 2004. Occurrence and damage of important diseases of processing tomato in Xinjiang. *Xinjiang Agriculture Sciences*, 41 (3): 160 - 163. (in Chinese)
- 崔元珩, 杨 华, 孙晓军, 张英梅, 何明才. 2004. 新疆加工番茄主要病害发生. *新疆农业科学*, 41 (3): 160 - 163.
- Ding Ai-yun, Zheng Ji-fa, Shi Cheng-kui, Zhu Han-cheng, Yu Hong-shui, Wang Chong-jie. 1997. Studies on bacterial scab of tomato in Shandong Province: Identification of pathogen and varieties resistance. *Journal of Shandong Agricultural University*, 28 (2): 191 - 202. (in Chinese)
- 丁爱云, 郑继法, 时呈奎, 朱汉城, 于洪水, 王崇杰. 1997. 山东番茄细菌性疮痂病研究——病原鉴定及品种抗性测定. *山东农业大学学报*, 28 (2): 191 - 202.
- Doganlar S, Frary A, Ku H M, Tanksley S D. 2002. Mapping quantitative trait loci in inbred backcross lines of *Lycopersicon pimpinellifolium* (LA1589). *Genome*, 45: 1189 - 1202.
- Frary A, Xu Y, Liu J, Mitchell S, Tedeschi E, Tanksley S. 2005. Development of a set of PCR-based anchor markers encompassing the tomato genome and evaluation of their usefulness for genetics and breeding experiments. *Theor Appl Genet*, 111: 291 - 312.

- Hartman J B, St Clair D A. 1998. Variation for insect resistance and horticultural traits in tomato inbred backcross populations derived from *Lycopersicon pennellii*. *Crop Sci*, 38: 1501 - 1508.
- Hartman J B, St Clair D A. 1999. Combining ability for beet armyworm (*Spodoptera exigua*) resistance and horticultural traits of selected *Lycopersicon pennellii*-derived inbred backcross lines of tomato. *Plant Breeding*, 118: 523 - 530.
- Horsfall J G, Barratt R W. 1945. An improved grading system for measuring plant diseases. *Phytopathology*, 35: 655.
- Hutton S F. 2008. Inheritance and mapping of resistance to bacterial spot race T4 (*Xanthomonas perforans*) in tomato, and its relationship to race T3 hypersensitivity, and inheritance of race T3 hypersensitivity from PI126932 [Ph. D. Dissertation]. Gainesville: University of Florida.
- Hutton S F, Scott J W, Yang W, Sim S C, Francis D M, Jones J B. 2010. Identification of QTL associated with resistance to bacterial spot race T4 in tomato. *Theor Appl Genet*, 121: 1275 - 1287.
- Jansen R C, Jannick J L, Beavis W D. 2003. Mapping quantitative trait loci in plant breeding populations: Use of parental haplotype sharing. *Crop Sci*, 43: 829 - 834.
- Jiang Yu-chang, Zeng Ling-fen. 1983. Preliminary report on identification of bacterial spot of tomato. *Yunnan Agricultural Science and Technology*, (1): 29, 48. (in Chinese)
- 蒋育昌, 曾令芬. 1983. 番茄疮痂病鉴定初报. *云南农业科技*, (1): 29, 48.
- Jones J B, Bouzar H, Stall R E, Almira E C, Roberts P D, Bowen B W, Sudberry J, Strickler P M, Chun J. 2000. Systematic analysis of xanthomonads (*Xanthomonas* spp.) associated with pepper and tomato lesions. *Int J Syst Evol Microbiol*, 50 (3): 1211 - 1219.
- Jones J B, Lacy G H, Bouzar H, Minsavage G V, Stall R E, Schaad N W. 2005. Bacterial spot-world wide distribution, importance and review. *Acta Hort*, 695: 27 - 34.
- Jones J B, Lacy G H, Bouzar H, Stall R E, Schaad N W. 2004. Reclassification of the xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *Syst Appl Microbiol*, 27: 755 - 762.
- Kabelka E, Franchino B, Francis D M. 2002. Two loci from *Lycopersicon hirsutum* LA407 confer resistance to strains of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Phytopathology*, 92: 504 - 510.
- Kabelka E, Yang W, Francis D M. 2004. Improved tomato fruit within an inbred backcross line derived from *Lycopersicon esculentum* and *L. hirsutum* involves the interaction of loci. *J Am Soc Hortic Sci*, 129: 250 - 257.
- Lelliot R A, Stead D E. 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. Oxford: Blackwell Scientific Publication.
- Li Chun, Jin Qian, Peng Gang. 1997. Pathogen identification of tomato bacterial scab in Xinjiang. *China Vegetables*, (4): 4 - 6. (in Chinese)
- 李 春, 金 潜, 彭 刚. 1997. 新疆番茄细菌性疮痂病的病原鉴定. *中国蔬菜*, (4): 4 - 6.
- Lin S Y, Sasaki T, Yano M. 1998. Mapping quantitative trait loci controlling seed dormancy and heading date in rice, *Oryza sativa* L., using backcross inbred lines. *Theor Appl Genet*, 96: 997 - 1003.
- Lukyanenko A N. 1991. Disease resistance in tomato//Kallo G. Genetic improvement of tomato. Berlin Heidelberg: Springer Verlag: 99 - 119.
- Netter J, Wasserman W, Kutner M H. 1990. Applied Linear Statistical Models. Homewood: Illinois: Richard D Irwin Inc.
- Owens K W, Bliss F A, Peterson C E. 1985. Genetic analysis of fruit length and weight in two cucumber populations using the inbred backcross line method. *J Am Soc Hortic Sci*, 110: 431 - 436.
- Pernezny K, Datnoff L E, Mueller T, Collins J. 1996. Losses in fresh-market tomato production in Florida due to target spot and bacterial spot and the benefits of protectant fungicides. *Plant Disease*, 80: 559 - 563.
- Robbins M D, Casler M D, Staub J E. 2008. Pyramiding QTL for multiple lateral branching in cucumber using inbred backcross lines. *Mol Breed*, 22: 131 - 139.
- Robbins M D, Darrigues A, Sim S C, Masud M A, Francis D M. 2009. Characterization of hypersensitive resistance to bacterial spot race T3 (*Xanthomonas perforans*) from tomato accession PI 128216. *Phytopathology*, 99: 1037 - 1044.
- Robbins M D, Sim S C, Yang W C, Van Deynze A, van der Knaap E, Joobeur T, Francis D M. 2011. Mapping and linkage disequilibrium analysis with a genome-wide collection of SNPs that detect polymorphism in cultivated tomato. *J Exp Bot*, 62: 1831 - 1845.
- Scott J W, Francis D M, Miller S A, Somodi G C, Jones J B. 2003. Tomato bacterial spot resistance derived from PI 114490: Inheritance of resistance to race T2 and relationship across three pathogen races. *J Am Soc Hortic Sci*, 128: 698 - 703.
- Scott J W, Jones J B. 1986. Sources of resistance to bacterial spot in tomato. *HortScience*, 21: 304 - 306.

- Scott J W, Jones J B. 1989. Inheritance of resistance to foliar bacterial spot of tomato incited by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. J Am Soc Hortic Sci, 114: 111 - 114.
- Scott J W, Jones J B, Somodi G C. 2001. Inheritance of resistance in tomato to race T3 of the bacterial spot pathogen. J Am Soc Hortic Sci, 126: 436 - 441.
- Scott J W, Jones J B, Somodi G C, Stall R E. 1995. Screening tomato accession for resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, race T3. HortScience, 30 (3): 579 - 581.
- Scott J W, Stall R E, Jones J B, Somodi G C. 1996. A single gene controls the hypersensitive response of Ha 7981 to race 3 (T3) of the bacterial spot pathogen. Rpt Tomato Genet Coop, 46: 23.
- Somodi G C, Jones J B, Scott J W, Wang J F, Stall R E. 1996. Relationship between the hypersensitive reaction and field resistance to tomato race 1 of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Plant Disease, 80 (10): 1151 - 1154.
- Stall R E, Jones J B, Minsavage G V. 2009. Durability of resistance in tomato and pepper to xanthomonads causing bacterial spot. Annu Rev Phytopathol, 47: 265 - 284.
- Suliman-Pollatschek S, Kashkush K, Shats H, Hillel J, Lavi U. 2002. Generation and mapping of AFLP, SSRs and SNPs in *Lycopersicon esculentum*. Cell Mol Biol Letts, 7: 583 - 597.
- Sullivan J G, Bliss F A. 1983. Expression of enhanced seed protein content in inbred backcross lines of common bean. J Am Soc Hortic Sci, 108: 787 - 791.
- Sun Fu-zai, Du Zhi-qiang, Jiao Zhi-liang, Zhao Ting-chang, Cheng Bo-ying. 1999. Pathogen and race identification of bacterial spot of pepper and tomato. Acta Phytopathologica Sinica, 29: 265 - 269. (in Chinese)
- 孙福在, 杜志强, 焦志亮, 赵廷昌, 程伯瑛. 1999. 辣椒、番茄细菌性疮痂病及生理小种鉴定. 植物病理学报, 29: 265 - 269.
- Sun Fu-zai, Zhu Hong, Zheng Jian-qiu, Yi Qi. 1991. Occurrence of bacterial spot in Beijing and Datong areas. Plant Protection, 17 (4): 50 - 51. (in Chinese)
- 孙福在, 朱 红, 郑建秋, 易 齐. 1991. 京郊和大同地区发生番茄细菌性疮痂病. 植物保护, 17 (4): 50 - 51.
- van Deynze A, Stoffel K, Buell C R, Kozik A, Liu J, van Der Knaap E, Francis D M. 2007. Diversity in conserved genes in tomato. BMC Genomics, 8: 465.
- Wang H, Hutton S F, Robbins M D, Sim S C, Scott J W, Jones J B, Yang W, Francis D M. 2011. Molecular mapping of hypersensitive resistance from tomato cv. Hawaii 7981 to *Xanthomonas perforans* race T3. Phytopathology, 101: 1217 - 1223.
- Wang Y Y, Chen J, Francis D M, Shen H L, Wu T T, Yang W C. 2010. Discovery of intron polymorphisms in cultivated tomato using both tomato and *Arabidopsis* genomic information. Theor Appl Genet, 121: 1199 - 1207.
- Wehrhahn C, Allard R W. 1965. Detection and measurement of the effects of individual genes involved in the inheritance of a quantitative character in wheat. Genetics, 31: 109 - 119.
- Yang W, Bai X D, Kabelka E, Eaton C, Kamoun S, van der Knaap E, Francis D M. 2004. Discovery of single nucleotide polymorphisms in *Lycopersicon esculentum* by computer aided analysis of expressed sequence tags. Mol Breed, 14: 21 - 34.
- Yang W C, Francis D M. 2005. Marker-assisted selection for combining resistance to bacterial spot and bacterial speck in tomato. J Am Soc Hortic Sci, 130: 716 - 721.
- Yang W, Sacks E J, Lewis-Ivey M L, Miller S A, Francis D M. 2005a. Resistance in *Lycopersicon esculentum* intraspecific crosses to race T1 strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* causing bacterial spot of tomato. Phytopathology, 95: 519 - 527.
- Yang W, Scott J W, Miller S A, Jones J, Francis D M. 2005b. Mining the tomato genome sequence database for molecular markers: Application to bacterial resistance and marker-assisted selection. Acta Hort, 695: 241 - 250.
- Zhang Xiao-min, Wang Hui, Yang Wen-cai. 2008. Preliminary study on the pathogen causing bacterial spot of tomato in Xinjiang and Yunnan. Advances in Horticulture (VIII). Shanghai: Shanghai Jiao Tong University Press: 530. (in Chinese)
- 张晓敏, 王 慧, 杨文才. 2008. 新疆和云南番茄疮痂病原菌初步研究. 园艺学进展 (VIII). 上海: 上海交通大学出版社: 530.