

番茄果重数量性状基因的研究进展及在遗传学教学中的应用

王海燕

四川大学生命科学学院, 成都 610064

摘要: 遗传学发展史上一系列经典的研究案例对学科的发展起了巨大的推动作用, 将这些经典案例与教学内容相结合应用到遗传学课程教学中, 对学生的科学思维和遗传分析能力是一个很好的训练。番茄果重基因的定位与克隆在数量性状基因座研究中是开创性的工作, 完整的体现了植物数量性状基因的研究历程。将其作为一个综合案例应用于遗传学教学, 可以生动直观地给学生展示一个精彩的科学发现过程, 展现遗传学研究的魅力, 激发学生的学习兴趣, 收到了很好的教学效果。

关键词: 遗传学教学; 经典案例; 番茄果重; 数量性状基因座

The study of tomato fruit weight quantitative trait locus and its application in genetics teaching

Haiyan Wang

School of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China

Abstract: The classical research cases, which have greatly promoted the development of genetics in history, can be combined with the content of courses in genetics teaching to train students' ability of scientific thinking and genetic analysis. The localization and clone of gene controlling tomato fruit weight is a pioneer work in quantitative trait locus (QTL) studies and represents a complete process of QTL research in plants. Application of this integrated case in genetics teaching, which showed a wonderful process of scientific discovery and the fascination of genetic research, has inspired students' interest in genetics and achieved a good teaching effect.

Keywords: genetics teaching; classical case; tomato fruit weight; quantitative trait locus

遗传学是生命科学领域发展最为迅速的一门前沿学科, 贯通于生命科学的各个领域, 对探索生命本质、推动整个生物科学的发展起着巨大作用。作为一门实验性学科, 遗传学的每一个重要学说或理论的确立, 均以设计精妙、推理严谨的原创性科学

实验为基础, 这些经典的研究案例都是不可多得的遗传学教学素材^[1]。将这些案例合理地应用到遗传学课程的教学, 对学生的科学思维和遗传分析能力是一个很好的训练。

基因作为遗传信息的基本单位, 是遗传学研究

收稿日期: 2014-11-13; 修回日期: 2015-02-04

基金项目: 四川大学新世纪教育教学改革工程项目资助。

作者简介: 王海燕, 博士, 副教授, 研究方向: 遗传学。E-mail: hayawang@scu.edu.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.14-395

网络出版时间: 2015-2-9 17:09:01

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20150209.1709.003.html>

的核心, 基因的发现、克隆及功能研究贯穿了从经典遗传学到现代分子遗传学研究的整个过程。遗传学课程教学通常是从基因入手, 以基因的结构与功能为主线, 探讨基因表达对生物体发育建成及其行为的决定性作用。新基因的发现是一个复杂而非常具有挑战性的过程, 番茄果重 *fw2.2* 基因的定位与克隆完整的体现了一个控制植物数量性状基因的发现过程, 是数量性状基因座(Quantitative trait locus, QTL)研究中一个开创性的成果^[2]。将其作为一个综合案例应用于遗传学教学, 可以生动直观地给学生展示从遗传学经典连锁图到分子标记遗传图的构建、QTL 定位、克隆及功能验证等一系列精彩的科学发现过程, 展现遗传学研究的魅力。

1 番茄是遗传分析的好材料

番茄是世界范围内广泛栽培和消费的重要蔬菜作物, 也是高等植物中遗传学研究的最深入的物种之一。番茄的遗传资源丰富, 通常用于栽培的属于普通番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill), 包含大量的栽培品种。除此之外, 还有醋栗番茄(*L. pimpinellifolium*)、潘那利番茄(*L. pennellii*)和多毛番茄(*L. hirsutum*)等近缘野生番茄^[3]。野生种内蕴藏着丰富的种质资源, 为改良栽培番茄品质提供了优良的遗传源泉。

番茄基因组小(900 Mb), 染色体数目少($2n=2X=24$), 属于自花授粉植物, 杂交、嫁接都容易。番茄果实的颜色、尺寸和形状等方面存在大量的变异, 便于进行遗传观察和统计分析, 是遗传学研究的良好材料。此外, 数千年的人工选择增加了果实重量、改变了果实形状以满足不同的需求, 这些多样性为研究其变异的分子机制提供了丰富的资源。

2 番茄重要农艺性状的遗传研究及经典连锁图的绘制

番茄的遗传学研究从 20 世纪初开始, 主要针对一些质量性状, 研究工作涉及等位基因的显隐性关系、连锁分析和基因间的相互作用等经典的遗传分析内容。番茄果实颜色是最早研究的性状之一, 果实颜色由果皮颜色和果肉颜色共同决定^[4]。果皮颜色为黄色和透明两种, 由等位基因 *Y/y* 控制; 果肉颜色主要有红、黄、橙 3 种, 由两对等位基因 *R/r*

和 *T/t* 控制, 并且 *tt* 对 *rr* 起隐性上位作用^[5]。这 3 对基因分别位于第 1、3 和 10 号染色体上, 它们的不同组合使成熟番茄果实呈现不同颜色: 红色、粉红色、深黄色、深橙黄色等。生化遗传学研究表明, 番茄果实颜色实质上取决于含有的番茄红素和胡萝卜素等类胡萝卜素的种类、含量和比例。*R* 基因编码八氢番茄红素合成酶(Phytoene synthase 1, PSY1), 是类胡萝卜素合成途径的第一个关键酶; *T* 基因编码该途径下游的类胡萝卜素顺反异构酶(Carotenoid cis-trans isomerase, CRTISO), 该酶的突变导致前番茄红素的积累而产生橙色。这一发现最初就引起人们的困惑, 即在 *ttrr* 双突变体中位于代谢途径下游的基因 *tt* 如何对上游基因 *rr* 产生上位作用。最新的研究表明^[6], *rr* 基因型导致 *psy1* 基因转录受到抑制, 这一抑制可能是通过表观遗传修饰实现的; *tt* 基因型中 CRTISO 酶的缺乏导致类胡萝卜素代谢中间产物大量积累, 由于某些中间产物如前番茄红素的反馈调节作用, 部分恢复了 *psy1* 基因的转录, 从而对上游 *rr* 基因产生上位作用。除 *y*、*r*、*t* 外, 类胡萝卜素合成途径中其他的酶基因突变, 同样会影响类胡萝卜素的组成, 最终使果实表现出不同颜色。此外, 类黄酮合成途径也会影响番茄果实的颜色^[7]。

Lindstrom 和 MacArthur(1925~1931)^[4,8~10]绘制了最早的番茄遗传图谱, 标示了果肉颜色、果皮颜色、植株高矮、果皮绒毛和花序类型等约 20 个基因的粗略位置, 至 1974 年出版的遗传学手册中番茄所定位的基因已有 230 个^[11]。

3 番茄分子标记与高密度作图

番茄果实的重量(或大小)、果实形状等重要的农艺性状则呈现连续的变异, 属于多基因控制的数量性状, 是番茄中研究得最多的数量性状。高密度分子标记连锁图的绘制, 为数量性状研究提供了巨大的帮助。

番茄分子标记的遗传研究始于 Rick 等^[12]对过氧化物酶同工酶的研究, 到 1980 年已有 22 个同工酶位点被标记在番茄的 9 条染色体上^[13]。1987 年总结的以形态标记、抗性基因和同工酶标记等为基础的番茄经典连锁图上, 已将 234 个基因定位于番茄 12 条染色体的 186 个基因座位, 还有 90 个基因定

位于特定的染色体^[14]。RFLP(Restriction fragment length polymorphism)技术创立后,很快被应用于番茄的遗传研究^[15]。1987年的番茄RFLP分子标记连锁图已将160个RFLP分子标记定位于12条染色体上,其中33个为已知的蛋白质水平分子标记^[14]。由于RFLP在现代栽培番茄品种间的多态性不到5%,研究者在构建番茄分子图谱时,主要采用种间杂交的分离群体或后代选系为材料^[16]。1992年Tanksley等^[17]首次发表了番茄的高密度连锁图,该研究以普通番茄 *L. esculentum* cv. VF36-Tm2a 与野生潘那利番茄 *L. pennellii* LA716 种间杂交产生的67个F₂代单株为材料,用从cDNA文库及基因组文库中随机筛选的单/低拷贝序列作为探针,对上述作图群体进行RFLP分析。最终建立的图谱包括1030个分子标记,覆盖1276个图距单位,标记间平均间隔1.2 cM(约900 kb),每条染色体至少包含50个分子标记,并将该图与经典图、细胞学图作了对比,使番茄的遗传图谱达到一个新的水平,是当时高等植物中标记最多的遗传图。

后来的研究者又陆续采用不同的作图群体、不同的分子标记(Random amplified polymorphic DNA (RAPD), Amplified fragment length polymorphism (AFLP), Simple sequence repeats (SSR)等)进行分子标记连锁图的绘制,使番茄的遗传图更趋于饱满。在茄科及相关科的基因组分支数据库SGN(<http://www.sgn.cornell.edu>)中,收集有多个番茄遗传图,其中“Tomato-EXPEN 2000”是番茄遗传连锁图谱中最重要的一张,该图包括1088个CAPS(Cleaved amplified polymorphic sequences)标记、1342个RFLP标记、19个SNP(Single nucleotide polymorphism)标记和155个SSR标记,较好地覆盖了番茄的12条染色体。高密度分子标记连锁图谱的绘制,为番茄遗传资源鉴定、基因定位及基因克隆奠定了良好基础,也加速了数量性状遗传的研究。

4 番茄果重 QTL 的识别与定位

番茄果实的大小及重量由多基因控制,并受环境条件影响,其表型变异是连续的。果实重量等重要数量性状的进化与作物驯化有着非常密切的关系。例如,现代栽培番茄的野生祖先番茄的果实极可能直径小于1厘米且仅有几克重,而现代番茄重量可

高达1000克,直径超过15厘米^[18]。对控制数量性状的基因座开展研究并揭示其作用的分子机制是遗传学研究的热点之一。

Tanksley等^[19]早在1982年就已开始尝试利用同工酶标记对QTL进行定位,并指出构建饱满遗传图的重要意义。1988年,Weller等^[20]以4个同工酶和6个形态学标记的遗传图为基础对包含果重在内的18种番茄数量性状进行了研究。同年,Paterson等^[21]首次用RFLP标记进行果重的QTL分析,并陆续采用不同的作图群体鉴定了多个果重QTL。此后不断地有关于果重QTL的研究报道。

1999年,Grandillo等^[22]总结了从1982到1998年间不同研究组对番茄果重及果形QTL研究的结果,研究涉及7个野生种和7个不同的作图群体。不同的研究组鉴定出的果重QTL数目为3~18个,分布于番茄的12条染色体,对整个番茄染色体组的覆盖率达100%。其中,经过至少两个以上相互独立的研究结构共同确定的果重QTL有28个,分布在12条染色体上。

5 番茄果重 QTL “fw2.2” 的发现与精确定位

1995年,Alpert等^[23]利用番茄2号染色体高密度连锁图的22个RFLP标记进行番茄果重QTL分析,将一个重要的果重QTL“fw2.2”定位在2号染色体的TG91和TG167标记之间,两标记相距1.6 cM左右(图1B)。研究发现所有野生种番茄在此座位上都是小果等位基因,而所有现代栽培品种则都带大果等位基因,小果基因对大果基因是不完全显性。这个QTL对番茄果重的影响占整个果重变异的30%,是一个影响果重的关键QTL。

1996年,Alpert和Tanksley^[24]用fw2.2的两个近等基因系(Near-isogenic line, NIL)进行杂交,它们之间的区别仅在于fw2.2座位不同,用此杂交组合的F₂群体(3472单株)为基础进行高分辨作图,在TG91和TG167之间又增加了新的分子标记TG686、TG687和HSF24。针对6个分子标记CD66、TG91、TG686、TG687、TG167和TG361分别设计PCR引物,对已建立的番茄YAC(Yeast artificial chromosome)文库进行PCR扩增,从中筛选到包含这些分子标记的6个YAC克隆。利用上述6个分子标记作为探针与筛选到的6个YAC克隆杂交,并利用反向

PCR 获得 YAC 两端序列再作为探针进行杂交,最终确定了 6 个 YAC 克隆的方向及重叠关系(图 1A)。为进一步将 *fw2.2* 定位在更精确的区域内,作者利用 RFLP 分析了上述 3472 个 F_2 植株,鉴定出有 55 株在 CD66 和 TG361 标记区间内发生了重组。将这 55 个单株逐一进行果重分析,结果显示,重组位点位于 TG91 和 HSF24 之间的两个重组体(#31 和 #33)果实重量发生明显变化, #33 果重显著降低,因此推测

fw2.2 应位于覆盖 #33 植株重组位点的 YAC264 和 YAC355 的重叠区。

6 *fw2.2* 的克隆及功能验证

Frery 等^[18]详细报道了 *fw2.2* 基因的克隆及验证过程(图 2)。他们用 YAC264 和 YAC355 杂交筛选小果番茄(*L. pennellii* LA716)的果实特异性 cDNA 文库,最终鉴定出 4 个阳性克隆 cDNA27、cDNA38、cDNA44

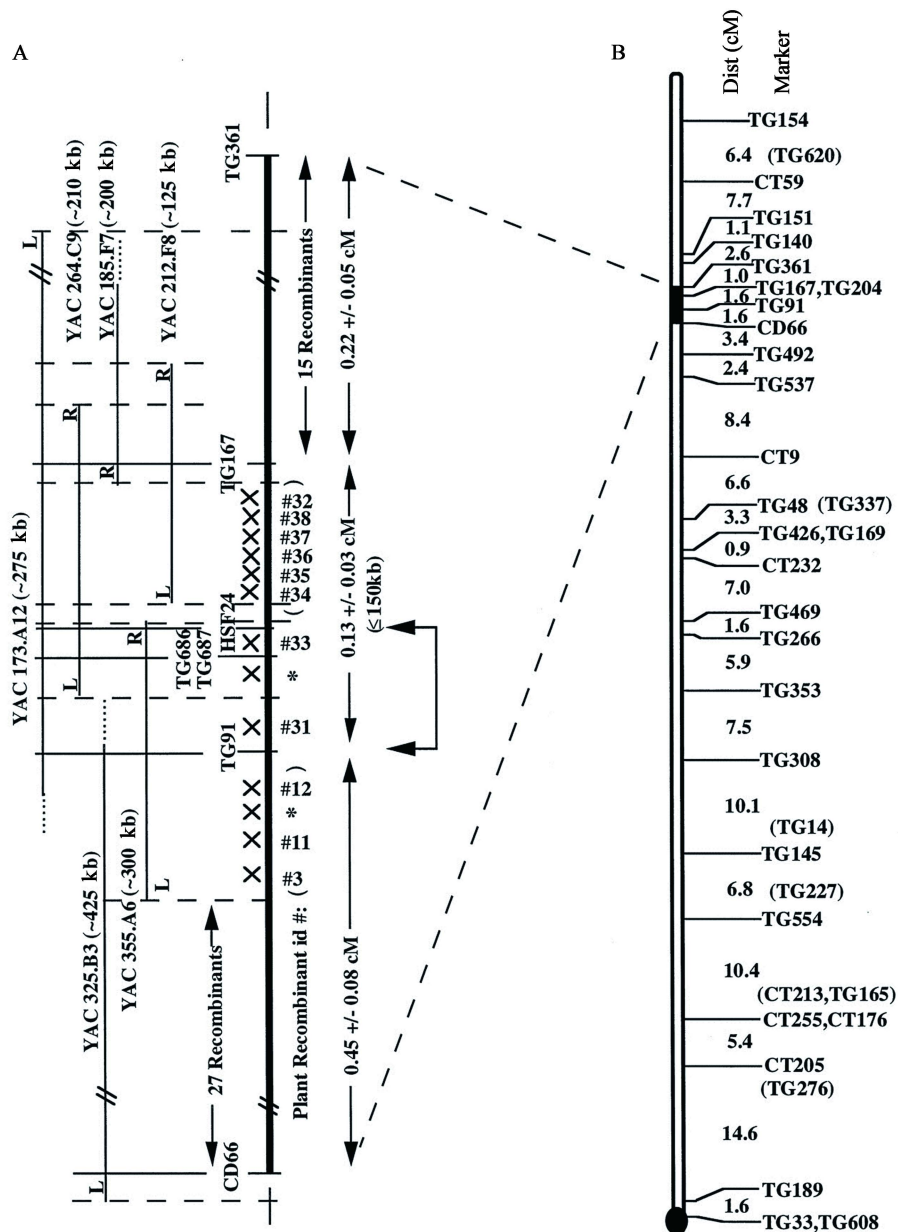


图 1 番茄 2 号染色体 *fw2.2* 座位高分辨率物理图和分子标记连锁图谱

A: *fw2.2* 座位高分辨率物理图; B: 番茄 2 号染色体的分子标记连锁图(引自 Alpert 等^[24], Copyright (1996) National Academy of Sciences, USA)。

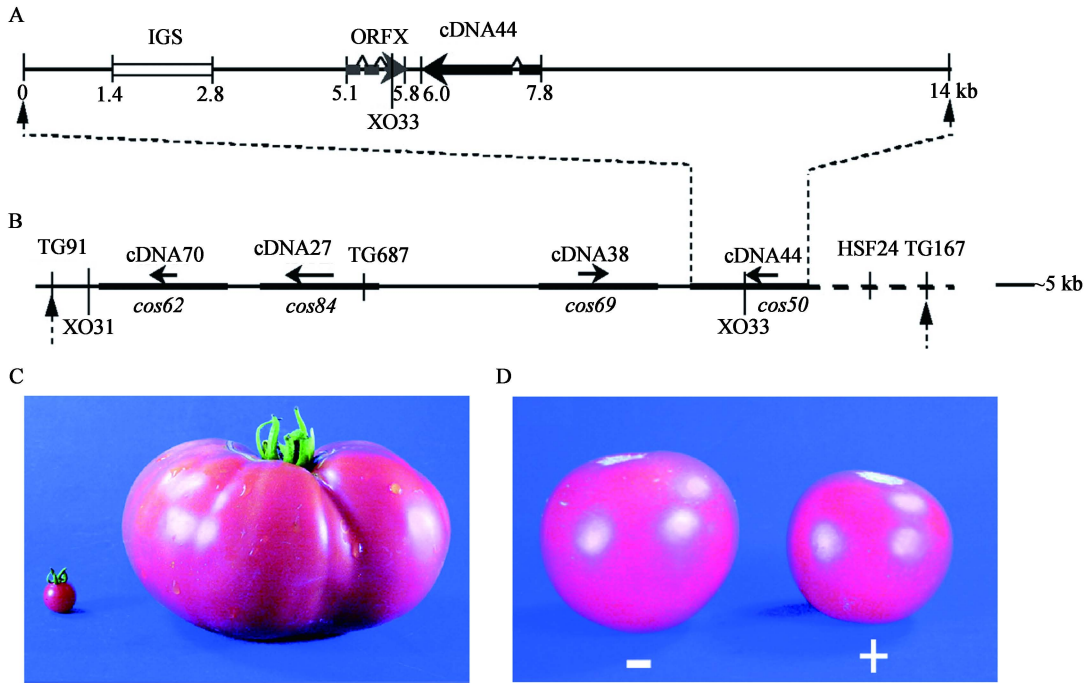


图2 番茄数量性状基因座 *fw2.2* 的克隆及功能验证

A: *cos50* 片段的序列分析; B: *fw2.2* 候选区域的 contig 组成; C: 极端尺寸的番茄, 左边是 *L. pimpinellifolium* 野生番茄, 右边是栽培番茄; D: *cos50* 转基因番茄(+)及对照番茄(-)(引自 Frary^[18])。

和 cDNA70。随后, 用这 4 个 cDNA 克隆筛选小果番茄的基因组 cosmid 文库, 获得 4 个不重叠的 cosmids(*cos50*、*cos62*、*cos69* 和 *cos84*), 分别对应于一个 cDNA 克隆。随后, 这 4 个 cosmids 被用于大果番茄的转基因互补分析。将 4 个 cosmids 分别转化两种大果番茄(鲜食型和加工型), 两种番茄均带有 *fw2.2* 对应的隐性大果基因。由于小果基因是部分显性, 最初转化株(R_0)是杂合的不易观察到明显的重量变化, 因此用 R_0 转基因植株自交获得 R_1 代进行分析。比较 R_1 转基因植株和对照, 发现 *cos50* 片段的转基因植株后代果实平均果重显著小于对照, 最终将 *fw2.2* 定位在 *cos50* 片段中。

对 *cos50* 片段测序发现其中包含两个 ORF, 一个对应于 cDNA44, 另一个为 *ORFX*(663 bp, 在最初的 cDNA 文库中没有检测到)。将 #33 号重组植株与两个亲本植株对应于 *cos50* 区域的基因组序列进行比较, 发现 #33 重组位点位于 *ORFX* 的 5' 端 43~80 nt 处, 因此, 推测 *ORFX* 或其上游区域是 *fw2.2* QTL 的位置。

对栽培番茄及野生番茄 *L. pennellii* 的 *fw2.2* 等位基因

之间进行 *ORFX* 序列比较, 结果发现, 小果基因到大果基因的变异不是由于 *FW2.2* 氨基酸序列的变异, 而在于基因的表达水平, 可能是由于 *fw2.2* 大果基因启动子区域存在的 1~8 个碱基的变异导致 *ORFX* 转录水平降低引起的^[25]。

7 *fw2.2* 的功能及起源研究

fw2.2 被证实与番茄果重的变化相关, 但揭示其作用的分子机制, 则是最困难也最具挑战性的工作。研究者首先对 *ORFX* 基因在番茄花器官中的表达进行了分析^[18]。*ORFX* 的转录水平在早期花器官非常低, 用 Northern 杂交不能检测到, 通过半定量 RT-PCR 分析显示 *ORFX* 在心皮(最终发育成果实)中表达水平最高, 并且小果番茄的转录水平显著高于大果番茄。对两个 *fw2.2* NIL 的花器官结构比较发现, 大果番茄的心皮及萼片显著大于小果番茄, 观察其细胞大小并无显著差异, 因此大果番茄中心皮的增大来自于细胞数目的增加。研究者由此推断 *ORFX* 可能主要通过开花前控制心皮的细胞数量最终影响果实大小。进一步的研究显示, *fw2.2* 小果

基因不仅在转录水平上高于大果基因,其表达起始及持续时间也异于大果基因,这种时空表达模式与果皮的有丝分裂指数呈负相关,进一步证实 *fw2.2* 是果实发育早期细胞分裂的负调控因子^[26]。

酵母双杂交实验显示番茄 *FW2.2* 在细胞膜附近与酪蛋白激酶 CKII 的调节亚基相互作用,以前的研究已经证实酵母和动物中的 CKII 是细胞周期控制信号传导途径的成员^[27],因此, *fw2.2* 这一类基因最终被命名为 CNRs(Cell number regulators)基因。用 *fw2.2* 基因与 GenBank 数据库进行比较,有数百种相似蛋白存在于植物、动物、真菌基因组中,代表了一个古老的真核蛋白家族,该家族蛋白通常富含 Cys,含有 PLAC8 或 DUF614 保守结构域。随后,研究者相继对拟南芥、玉米和大豆等的 CNR 家族基因进行研究,表明 CNR 家族定位于细胞膜,多与调控细胞数目有关,此外还可帮助镉、钙离子的跨膜转运以及大豆根瘤的形成,但究竟如何导致细胞分裂的改变目前尚不清楚^[28]。

系统发生及群体遗传学研究表明, *fw2.2* 大果基因在番茄驯化开始以前就已经存在。*fw2.2* 与其他与果重无关的座位在野生和栽培番茄中的进化速率没有显著的差异,因此, *fw2.2* 大果基因在栽培番茄中固定下来是长期人工选择的结果。而在长期驯化过程中番茄果重的演化,可能是一个包含谱系分类和很多座位基因叠加的漫长过程^[25]。

8 番茄其他果重 QTLs 及基因组的研究

在已鉴定出的番茄果重 QTLs 中,有 6 个座位 (*fw1.1*、*fw2.2*、*fw2.3*、*fw3.1/fw3.2*、*fw4.1* 和 *fw9.1*) 被认为是重要的 QTLs。2013 年,研究者克隆到番茄的第 2 个果重 QTL, *fw3.2(SIKLUH)*,它与 19% 的果重变化相关^[29]。*fw3.2* 编码细胞色素 P450 家族 CYP78A 亚家族成员,该家族蛋白与控制器官和植物大小有关。大果品系通过额外的细胞分裂增加细胞数目导致果皮和间隔组织加大引起果重增加。同样的,位于启动子区域而非编码区的突变导致果重的改变。*fw3.2(SIKLUH)* 的表达时期晚于 *fw2.2(CNR)*。

果实大小/重量的改变,除了与细胞分裂数增加有关以外,也与果实形态结构改变相关,例如果实的子房室数目。几乎所有野生番茄的果实含有 2~4 个子房室,而大果栽培番茄通常包含 8 个或更多,

从而引起果重的增加。控制心皮/子房室数目改变有两个重要 QTLs, *fasciated(fas)*^[30] 和 *locule number(lc)*^[31], 分别位于第 11 和 2 号染色体,其中 *fas* 是一个关键 QTL,两个座位通过上位作用共同影响心皮/子房室数目,其对应的基因 *YABBY2* 和 *WUSCHEL* 已先后被定位克隆并进行了初步的功能研究。

2012 年,栽培番茄 Heinz 1706 的基因组测序完成,同时发表的还有其近缘野生种 *L. pimpinellifolium* LA1589 的基因组草图^[32]。2014 年,野生番茄 *L. pennellii* 的基因组序列发表,揭示了与其抗逆性和独特形态有关的重要基因^[33]。这些数据将加速果重 QTL 鉴定以及更多 QTLs 的精确定位。

9 番茄果重研究案例在遗传学教学中的应用与思考

遗传学课程的教学内容涵盖了从经典的孟德尔遗传分析、数量遗传学到现代分子遗传学及基因组学的诸多方面,在教学过程中如何将各章节内容有机整合起来体现课程的整体性和连贯性,是教学内容设计的一个重要方面。康奈尔大学 Tanksley 领导的课题组针对番茄果重 QTL *fw2.2* 的研究持续了 20 多年,涉及数量性状 QTL 分析、分子标记连锁图的绘制、基因工程、基因组学等多个方面,是一个系统的定位和克隆 QTL 的成功案例,完美的体现了由浅入深、由表及里的遗传学研究过程,体现了遗传学研究的系统性和前沿性。

我们将其作为一个重要案例应用于数量性状遗传学章节的教学中,弥补了多数教科书中这一章节概念繁多、方法抽象和案例缺乏的不足。通过对这一经典科学实验过程的完整再现,使学生对数量性状的特点、研究方法和 QTL 定位与克隆等问题有了清晰而直观的认识,加深了对相关理论的理解和掌握,帮助学生认识到控制数量性状的多基因遗传仍然遵循孟德尔遗传规律,QTL 数量虽多但也是可以定位和克隆研究的。在教学中,我们把数量遗传学章节安排在课程教学内容的最后部分进行讲授,因此,借助于这一案例,可以同时对其他章节中相关的理论与方法进行归纳总结,将遗传多样性、孟德尔遗传、器官发育与基因表达调控、系统进化和基因组研究等相关知识融入到这一案例中,使学生对遗传学知识体系有一个系统的认识,能更直观地

理解在基因工程和基因组学章节中一些分子生物学技术的实际应用,从整体上把握遗传学的内容及发展方向。通过这一案例的介绍,更进一步促进学生思考该研究中未解答的问题:例如 QTL 存在的问题在哪里?研究难点在哪里?*fw2.2* 还需要哪些后续的研究补充等等。使学生的科研水平和思维能力得到了锻炼和提高。这一经典案例在遗传学教学中的应用,吸引了学生的注意力,激发了学生的学习兴趣,体现出遗传学研究和科学发现的魅力,收到了很好的教学效果。

参考文献

- [1] 袁茵. 经典研究案例分析在大学遗传学教学中的应用. 嘉应学院学报(自然科学), 2013, 31(11): 71–74. [DOI]
- [2] 余诞年. 番茄果重 QTL-*fw2.2* 研究进展及其遗传学和育种学意义. 见: 全国蔬菜遗传育种学术讨论会论文集. 北京: 中国园艺学会, 2002. [DOI]
- [3] 胡小荣, 陶梅, 周红立. 番茄种质资源遗传多样性研究进展. 现代农业科技, 2008, (5): 6–8. [DOI]
- [4] Lindstrom EW. Inheritance in tomatoes. *Genetics*, 1925, 10(4): 305–317. [DOI]
- [5] Jenkins JA, Mackinney G. Inheritance of carotenoid differences in the tomato hybrid yellow \times tangerine. *Genetics*, 1953, 38(2): 107–116. [DOI]
- [6] Kachanovsky DE, Filler S, Isaacson T, Hirschberg J. Epistasis in tomato color mutations involves regulation of *phytoene synthase 1* expression by *cis*-carotenoids. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(46): 19021–19026. [DOI]
- [7] Ballester AR, Molthoff J, de Vos R, Hekkert BTL, Orzaez D, Fernández-Moreno JP, Tripodi P, Grandillo S, Martin C, Heldens J, Ykema M, Granell A, Bovy A. Biochemical and molecular analysis of pink tomatoes: deregulated expression of the gene encoding transcription factor SIMYB12 leads to pink tomato fruit color. *Plant Physiol*, 2010, 152(1): 71–84. [DOI]
- [8] Macarthur JW. Linkage studies with the tomato. *Genetics*, 1926, 11(4): 387–405. [DOI]
- [9] Macarthur JW. Linkage studies with the tomato. . Three linkage groups. *Genetics*, 1928, 13(5): 410–420. [DOI]
- [10] MacArthur JW. Linkage studies with the tomato. . Fifteen factors in six groups. *Roy Can Inst Trans*, 1931, 18: 1–19. [DOI]
- [11] Rick CM. The tomato. In: King R C, ed. *Handbook of Genetics*. New York: Plenum Press, 1974: 247–280. [DOI]
- [12] Rick CM, Zobel RW, Fobes JF. Four peroxidase loci in red-fruited tomato species: genetics and geographic distribution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1974, 71(3): 835–839. [DOI]
- [13] Tanksley SD, Rick CM. Isozymic gene linkage map of the tomato: Applications in genetics and breeding. *Theor Appl Genet*, 1980, 58(2): 161–170. [DOI]
- [14] Mutschler MA, Tanksly SD, Rick CM. Likage maps of the tomato (*Lycopersicon esculentum*). *TGC Rep*, 1987, 37: 5–34. [DOI]
- [15] Bernatzky R, Tanksley SD. Toward a saturated linkage map in tomato based on isozymes and random cDNA sequences. *Genetics*, 1986, 112(4): 887–898. [DOI]
- [16] Miller JC, Tanksley SD. RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theor Appl Genet*, 1990, 80(4): 437–448. [DOI]
- [17] Tanksley SD, Ganai MW, Prince JP, de Vicente MC, Bonierbale MW, Broun P, Fulton TM, Giovannoni JJ, Grandillo S, Martin GB, Messeguer R, Miller JC, Miller L, Paterson AH, Pineda O, Roder MS, Wing RA, Wu W, Young ND. High density molecular linkage maps of the tomato and potato genomes. *Genetics*, 1992, 132(4): 1141–1160. [DOI]
- [18] Frary A, Nesbitt TC, Grandillo S, van der Knaap E, Cong B, Liu JP, Meller J, Elber R, Alpert KB, Tanksley SD. *fw2.2*: A quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size. *Science*, 2000, 289(5476): 85–88. [DOI]
- [19] Tanksley SD, Medina-Filho H, Rick CM. Use of naturally occurring enzyme variation to detect and map genes controlling quantitative traits in an interspecific backcross of tomato. *Heredity*, 1982, 49(1): 11–25. [DOI]
- [20] Weller JI, Soller M, Brody T. Linkage analysis of quantitative traits in an interspecific cross of tomato (*Lycopersicon esculentum* \times *Lycopersicon pimpinellifolium*) by means of genetic markers. *Genetics*, 1988, 118(2): 329–339. [DOI]
- [21] Paterson AH, Lander ES, Hewitt JD, Peterson S, Lincoln SE, Tanksley SD. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. *Nature*, 1988, 335(6192): 721–726. [DOI]
- [22] Grandillo S, Ku HM, Tanksley SD. Identifying the loci responsible for natural variation in fruit size and shape in tomato. *Theor Appl Genet*, 1999, 99(6): 978–987. [DOI]
- [23] Alpert KB, Grandillo S, Tanksley SD. *fw2.2*: a major QTL controlling fruit weight is common to both red- and green-fruited tomato species. *Theor Appl Genet*, 1995, 91(6–7): 994–1000. [DOI]
- [24] Alpert KB, Tanksley SD. High-resolution mapping and isolation of a yeast artificial chromosome contig containing *fw2.2*: a major fruit weight quantitative trait locus in tomato. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(26): 15503–15507. [DOI]
- [25] Nesbitt TC, Tanksley SD. Comparative sequencing in the

- genus *Lycopersicon*: implications for the evolution of fruit size in the domestication of cultivated tomatoes. *Genetics*, 2002, 162(1): 365–379. [DOI]
- [26] Cong B, Liu JP, Tanksley SD. Natural alleles at a tomato fruit size quantitative trait locus differ by heterochronic regulatory mutations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(21): 13606–13611. [DOI]
- [27] Cong B, Tanksley SD. FW2. 2 and cell cycle control in developing tomato fruit: a possible example of gene co-option in the evolution of a novel organ. *Plant Mol Biol*, 2006, 62(6): 867–880. [DOI]
- [28] van der Knaap E, Chakrabarti M, Chu YH, Clevenger JP, Illa-Berenguer E, Huang ZJ, Keyhaninejad N, Mu Q, Sun L, Wang YP, Wu S. What lies beyond the eye: the molecular mechanisms regulating tomato fruit weight and shape. *Front Plant Sci*, 2014, 5: 227. [DOI]
- [29] Chakrabarti M, Zhang N, Sauvage C, Muños S, Blanca J, Cañizares J, Diez MJ, Schneider R, Mazourek M, McClead J, Causse M, van der Knaap E. A cytochrome P450 regulates a domestication trait in cultivated tomato. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(42): 17125–17130. [DOI]
- [30] Cong B, Barrero LS, Tanksley SD. Regulatory change in YABBY-like transcription factor led to evolution of extreme fruit size during tomato domestication. *Nat Genet*, 2008, 40(6): 800–804. [DOI]
- [31] Muños S, Ranc N, Botton E, Bérard A, Rolland S, Duffé P, Carretero Y, Le Paslier MC, Delalande C, Bouzayen M, Brunel D, Causse M. Increase in tomato locule number is controlled by two single-nucleotide polymorphisms located near WUSCHEL. *Plant Physiol*, 2011, 156(4): 2244–2254. [DOI]
- [32] The Tomato Genome Consortium. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature*, 2012, 485(7400): 635–641. [DOI]
- [33] Bolger A, Scossa F, Bolger ME, Lanz C, Maumus F, Tohge T, Quesneville H, Alseekh S, Sørensen I, Lichtenstein G, Fich EA, Conte M, Keller H, Schneeberger K, Schwacke R, Ofner I, Vrebalov J, Xu YM, Osorio S, Aflitos SA, Schijlen E, Jiménez-Gómez JM, Rynagajlo M, Kimura S, Kumar R, Koenig D, Headland LR, Maloof JN, Sinha N, van Ham RCHJ, Lankhorst RK, Mao LY, Vogel A, Arsova B, Panstruga R, Fei ZJ, Rose JK, Zamir D, Carrari F, Giovannoni JJ, Weigel D, Usadel B, Fernie AR. The genome of the stress-tolerant wild tomato species *Solanum pennellii*. *Nat Genet*, 2014, 46(9): 1034–1038. [DOI]

(责任编辑: 陈德富)