

油蟠桃组合遗传连锁图谱构建及糖酸性状 QTL 分析

沈志军*, 马瑞娟, 俞明亮, 蔡志翔, 许建兰

(江苏省农业科学院园艺研究所, 南京 210014)

摘 要: 以油桃和油蟠桃组合‘霞光’×‘NF’杂交群体 115 个单株为试材, 使用高效液相色谱测定亲本及各单株果实糖和有机酸含量, 筛选 164 对 SSR 引物和 2 304 对 SRAP 引物组合, 选择符合 1:1 分离比例的标记, 使用 Map Manager QTX20b 软件的 BC₁ 模型构建遗传图谱, 并对 8 个符合正态分布的性状进行与标记间的回归分析以及 QTL 区间分析。构建的图谱经与李属 SSR 参考图谱比对, 发现基本匹配的 8 个连锁群总长度为 1 232.7 cM, 位点间的平均遗传距离为 9.34 cM, 包含 22 个 SSR 标记和 108 个 SRAP 标记, 以及扁平果形 (S) 和非酸 (D) 两个位点。QTL 区间扫描发现, LOD_≥2 的 QTL 区间共有 28 个, LOD_≥3 的有 17 个, LOD_≥5 的有 10 个。风味相关的 QTL 分布在 Group 1、2、4、5、6 连锁群上。Group 1 含 4 个 QTL 区间 (*Glu2*、*Sor2*、*Tsug4*、*SSC3*); Group 2 含 3 个 QTL 区间 (*Glu4*、*Sor3*、*SSC4*); Group 4 含 5 个 QTL 区间 (*Suc2*、*Glu3*、*Glu5*、*Tsug5*、*Taci4*); Group 1、2、4 的 QTL 均对相应性状均表现为负加性效应; Group 5 含 6 个 QTL 区间 (*Suc1*、*Suc3*、*Tsug3*、*Mal1*、*Taci3*、*Taci5*), 大多集中在非酸位点 (D) 附近, 均表现为对糖含量的正加性效应, 对酸含量的负加性效应; Group 6 含 9 个 QTL 区间 (*Glu1*、*Fru1*、*Sor1*、*Tsug1*、*Tsug2*、*Taci1*、*Taci2*、*SSC1*、*SSC2*), 所有 QTL 均对相应性状呈正加性效应。

关键词: 桃; SSR; SRAP; 连锁图谱; 糖; 有机酸; QTLs

中图分类号: S 662.1 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2011) 11-1735-10

Mapping QTLs Controlling Flavor Quality of Peach Using a Cross Population Between Nectarine and Flat Nectarine

SHEN Zhi-jun*, MA Rui-juan, YU Ming-liang, Cai Zhi-xiang, and XU Jian-lan

(Institute of Horticulture, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: Flat nectarine with excellent fruit quality was one of the important objectives of peach breeding currently. A progeny with 115 individuals from a cross of nectarine and flat nectarine (Xianguang × NF) was used as plant materials to construct genetic linkage map and to scan QTLs controlling fruit flavor. Sugars and organic acids, including sucrose, glucose, sorbitol, fructose, malic acid, citric acid and quinic acid, were determined by HPLC. A total of 213 SSR and SRAP loci, which fit the 1:1 Mendelian expectation, were selected for the construction of linkage map by MapManager QTX20b. By comparing to SSR loci from T × E reference map of *Prunus*, eight linkage groups were found to be matched well. A

收稿日期: 2010-06-07; 修回日期: 2010-11-01

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30871681); 国家科技支撑计划项目 (2006BAD01A1702, 2008BAD92B02); 江苏省科技支撑计划项目 (BE2008367); 江苏省自然科学基金项目 (BK2004430); 江苏省科技基础设施建设计划项目 (BM2008008)

* E-mail: shenjaas@yahoo.com.cn; Tel: 025-84390220

1 232.7 cM linkage map was formed with an average distance of 9.34 cM between two loci, and the map contains 22 SSR markers, 108 SRAP markers and two quality traits, flat shape (*S*) and non acid (*D*). Through interval mapping, 28, 17, and 10 QTLs were found when $\text{LOD} \geq 2$, $\text{LOD} \geq 3$, and $\text{LOD} \geq 5$, respectively. QTLs controlling fruit flavor were located on Group 1, Group 2, Group 4, Group 5 and Group 6. QTLs in Group 1 (*Glu2*, *Sor2*, *Tsug4* and *SSC3*), Group 2 (*Glu4*, *Sor3* and *SSC4*) and Group 4 (*Suc2*, *Glu3*, *Glu5*, *Tsug5* and *Taci4*) were all showed to have a negative adding effects to their corresponding traits. Six QTLs located in Group 5 (*Suc1*, *Suc3*, *Tsug3*, *Mal1*, *Taci3*, and *Taci5*) which were mainly around the non-acid loci (*D*), showed a positive adding effects to sugar, and a negative adding effects to organic acid. Nine QTLs were found on Group 6 (*Glu1*, *Fru1*, *Sor1*, *Tsug1*, *Tsug2*, *Qui1*, *Taci1*, *Taci2*, *SSC1* and *SSC2*), and all of them performed to have a positive adding effects to their corresponding traits.

Key words: *Prunus persica*; SSR; SRAP; linkage map; sugars; organic acid; QTLs

性状标记和遗传图谱构建是早期选择 (Marker Assisted Selection, MAS) 的基础。桃遗传连锁图谱的构建开始于 20 世纪 90 年代初, Eldredge 等 (1992) 最初的研究虽然仅获得了两个连锁的 RFLP 标记, 但这标志着桃图谱构建研究的开始。此后欧洲核果联盟、美国等学者相继开展了桃性状标记和遗传图谱构建研究 (Abbott et al., 1998; Lu et al., 1998; Sosinski et al., 1998; Bliss et al., 2002; Blenda et al., 2007), 很多研究利用桃 \times 扁桃 (Chaparro et al., 1994; Etienne et al., 2002)、桃 \times 新疆桃 (Quarta et al., 1998)、桃 \times 山桃 (Dirlewanger et al., 1996, 2002) 等群体构建了包含 SSR、AFLP、RFLP 等诸多标记的数 10 个遗传连锁图谱, 图谱中也对抗白粉病、抗根结线虫、品质性状等 QTL 进行了初步的定位。近年来, 随着分子育种研究在中国的开展, 桃遗传图谱构建研究也相继开始 (乔飞 等, 2006; 曹珂 等, 2009), 并在抗根结线虫、花型等方面开展了相关的研究。当前, 李属植物参考图谱的构建是利用 Texas (扁桃) \times Earlygold (普通桃) 的 F_2 群体, 即 $T \times E$ 群体 (Joobeur et al., 2000; Aranzana et al., 2003), 参考图谱总长度为 519 cM, 含 8 个连锁群、562 个标记, 其中 SSR 标记 264 个 (Dirlewanger et al., 2004; Howad et al., 2005)。参考图谱上的 SSR 标记为后续图谱构建提供了比对信息 (James et al., 2008; 曹珂 等, 2009)。油蟠桃是特异种质资源, 也是近年来桃育种的重要方向; 糖、糖醇及有机酸含量控制着果实的甜酸风味性状, 也是桃育种中最重要的目标性状。进行这些性状的 QTL 定位, 可为桃分子育种研究积累遗传和标记基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

植物材料使用 2000 年配置的霞光 (甜风味油桃) \times NF (酸风味油蟠桃) 的杂交组合作为群体, 2001 年春定植于江苏省农业科学院园艺研究所桃选种圃, 定植密度 $1.0 \text{ m} \times 3.0 \text{ m}$, 群体 115 株。

1.2 性状评价

杂种及亲本果实的采收鉴定集中在 2005—2006 年进行, 每单株采 20 ~ 30 个成熟的果实。果实风味的鉴定参考蒲富慎 (1990) 的方法划分为 5 个等级 (1 酸、2 酸多甜少、3 酸甜适中、4 甜多酸少、5 甜); pH 值和可溶性固形物含量的测定使用果肉匀浆; $\text{pH} \geq 4.0$ 为非酸, $\text{pH} < 4.0$ 为酸 (Yoshida, 1970; Monet, 1979)。蔗糖、果糖、葡萄糖、山梨醇、苹果酸、柠檬酸、奎尼酸含量采用 Agilent 1100 高效液相色谱测定 (沈志军 等, 2007)。总糖 = 蔗糖 + 果糖 + 葡萄糖 + 山梨醇 (单位均为 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 下同)。总酸 = 苹果酸 + 柠檬酸 + 奎尼酸; 糖酸比 = 总糖/总酸。

1.3 DNA 提取及 SSR-PCR 和 SRAP-PCR 反应

取群体各单株及亲本春季初萌发的嫩芽, 液氮速冻后置于 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。DNA 提取参考俞明亮等 (2006) 的 SDS 法。在组合中随机选取甜油蟠桃、酸油蟠桃、甜油桃、酸油桃 4 个类型的 DNA 代表试样, 在代表试样及亲本中筛选桃 SSR 引物 164 对 (引物来源: Huang et al., 1998; Cipriani et al., 1999, 2001; Sosinski et al., 2000; Testolin et al., 2000; Aranzana et al., 2002; Dirlewanger et al., 2002; Georgi et al., 2002; Yamamoto et al., 2002); 筛选 SRAP 引物组合 $48 \times 48 = 2\,304$ 对; 筛选出多态性良好的引物, 用于群体分析。SSR-PCR 参考沈志军等 (2006) 的方法, SRAP 反应体系参考 Li 和 Quiros (2001) 的方法。

1.4 结果的统计和分析

测定的数量性状用 SAS 9.0 软件进行平均值、标准差、偏度、峰度等描述统计, 并用 w 测验进行正态性检验, 以两年的鉴定结果为重复进行各指标的相关性分析。分子标记在群体中的统计参考曹珂等 (2009) 的方法, 经卡方测验, 对符合 1:1 分离比例的标记, 用 Map Manager QTX20b 软件的 BC_1 模型, 在 $P = 0.0001$ 时进行遗传连锁图谱的构建、标记与数量性状的回归分析、以及 QTL 区间的扫描, 最后使用 mapchart 软件作图。

2 结果与分析

2.1 组合群体各指标测定结果和正态性检验

霞光 \times NF 组合群体及亲本甜酸风味指标的测定结果见表 1。果实中 4 种糖或糖醇类组分中以蔗糖含量最高, 3 种有机酸中含量最高的是苹果酸。正态性检验 (w 测验) 结果表明, 蔗糖、葡萄糖、果糖、山梨醇、苹果酸、总糖、总酸、可溶性固形物 8 个指标符合正态分布 (w 测验 $P > 0.05$); 而奎尼酸、柠檬酸、糖酸比、pH 值、风味 5 个测定项目不符合正态分布 (w 测验 $P < 0.05$), 不用于性状与标记间的回归分析。

表 1 NF 和霞光及其杂交群体果实糖、酸含量

Table 1 Statistics of sugar and organic acid traits of NF, Xiaguang and their cross population

性状 Trait	亲本 Parents		群体 Population						
	NF	霞光 Xiaguang	平均值 Mean	标准差 StdDev	最小值 Minium	最大值 Maxium	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis	P (w 测验) P (w test)
蔗糖/ ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) Sucrose	48.92	87.62	46.32	9.85	24.53	82.53	0.674	0.752	0.180
葡萄糖/ ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) Glucose	26.95	16.61	20.11	3.50	11.59	27.30	-0.102	-0.639	0.367
果糖/ ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) Fructose	22.61	13.04	17.81	2.88	10.26	24.49	-0.132	-0.276	0.799
山梨醇/ ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) Sorbitol	17.12	6.63	7.24	3.47	1.09	17.56	0.216	-0.495	0.069
奎尼酸/ ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) Quinic acid	2.63	3.04	2.30	1.02	0.97	6.85	1.467	3.170	0.000
苹果酸/ ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) Malic acid	6.69	2.19	3.73	1.55	0.62	6.98	0.412	-0.500	0.060
柠檬酸/ ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) Citric acid	2.61	2.44	2.53	0.92	1.15	6.18	1.363	2.451	0.000
总糖/ ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) Total sugar	115.61	118.80	90.43	14.85	50.27	125.19	0.077	-0.490	0.539
总酸/ ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) Total acid	11.93	7.67	8.44	2.32	3.09	14.67	0.341	-0.197	0.293
糖酸比 Sugar/acid	9.69	15.49	11.59	4.19	6.27	29.71	1.694	3.638	0.000
可溶性固形物/% SSC	14.71	14.84	11.98	1.72	8.40	16.10	0.111	-0.548	0.404
pH	3.45	4.60	3.99	0.44	3.41	4.87	0.237	-1.582	0.008
风味 Flavor	1	5	2.43	1.34	1.00	5.00	0.099	-1.447	0.011

注: $P > 0.05$ 时表示群体的测定项目符合正态分布。

Note: Normal distribution of the character in the population was found when $P > 0.05$.

2.2 组合中测定各指标的相关性分析

霞光 × NF 组合群体的 14 个测定性状中，两两之间在 0.05 水平相关的性状有 63 对，在 0.01 水平相关的性状有 55 对（表 2）。果实中总糖含量与蔗糖、葡萄糖、果糖、山梨醇、奎尼酸、糖酸比、可溶性固形物、pH 值、甜味性状均极显著相关；总酸含量与葡萄糖、果糖、山梨醇、奎尼酸、苹果酸、柠檬酸含量极显著正相关，与糖酸比、pH 值、甜味为极显著负相关；扁平性状与葡萄糖、果糖、山梨醇、苹果酸、可溶性固形物为极显著正相关，与 pH 值极显著负相关；pH 值与蔗糖、总糖、糖酸比和甜味极显著正相关，与苹果酸、柠檬酸和扁平性状极显著负相关；该组合中甜味性状与蔗糖、总糖、糖酸比、pH 值极显著正相关，与苹果酸、柠檬酸、总酸含量极显著负相关。

表 2 组合霞光 × NF 主要测定指标 Spearman's 相关系数
Table 2 Spearman's correlation coefficient of measured characteristics

性状 Trait	蔗糖 Sucrose	葡萄糖 Glucose	果糖 Fructose	山梨醇 Sorbitol	奎尼酸 Quinic acid	苹果酸 Malic acid	柠檬酸 Citric acid	总糖 Total sugar	总酸 Total acid	糖酸比 Sugar/ acid	扁平形 Flat shape	可溶性 固形物 SSC	pH
葡萄糖 Glucose	0.316**												
果糖 Fructose	0.280**	0.755**											
山梨醇 Sorbitol	0.290**	0.774**	0.581**										
奎尼酸 Quinic acid	0.235**	0.401**	0.258**	0.412**									
苹果酸 Malic acid	-0.208*	0.180*	0.184*	0.297**	-0.026								
柠檬酸 Citric acid	-0.142	0.027	-0.070	0.007	0.228**	0.457**							
总糖 Total sugar	0.808**	0.755**	0.665**	0.722**	0.393**	0.003	-0.090						
总酸 Total acid	-0.060	0.344**	0.228**	0.426**	0.486**	0.791**	0.705**	0.181*					
糖酸比 Sugar/acid	0.468**	0.077	0.126	-0.023	-0.265**	-0.733**	-0.700**	0.342**	-0.834**				
扁平形 Flat shape	-0.036	0.272**	0.263**	0.252**	0.059	0.237**	-0.014	0.135	0.186*	-0.082			
可溶性固 形物 SSC	0.462**	0.696**	0.504**	0.800**	0.320**	0.111	-0.145	0.761**	0.192*	0.214**	0.252**		
pH	0.415**	-0.019	-0.171*	-0.077	0.116	-0.801**	-0.373**	0.215**	-0.571**	0.623**	-0.241**	0.114	
甜味 Sweet flavor	0.363**	0.130	0.071	0.013	0.082	-0.707**	-0.359**	0.273**	-0.505**	0.597**	-0.122	0.197*	0.786**

*和**分别表示在0.05和0.01水平显著相关。
* and ** means significance at 0.05 level and 0.01 level, respectively.

2.3 SSR 和 SRAP 标记的筛选及在群体中的分离

SSR 标记筛选发现，164 对 SSR 引物中有 31 对引物扩增出的 36 个位点在群体中呈现多态性；多态性引物占总筛选引物的 18.9%；36 个具多态性的标记中有 32 个符合 1:1 的分离比率。2 304 个 SRAP 引物组合中，多态性的引物组合有 170 对；经筛选，选用 100 对 SRAP 引物组合在群体中进行分析；100 对 SRAP 引物共扩增出 192 个多态性位点，其中 181 个标记符合 1:1 分离比例。

2.4 连锁图谱构建

使用 Map Manager QTX20b 软件中的 Kosambi 方法，在 $P = 0.0001$ 时，对 32 个 SSR 标记和 181 个 SRAP 标记进行遗传连锁图谱的构建。结果将 142 个位点构建到 13 个连锁群中，71 个标记未能构建到图谱中。经与参考图谱 SSR 标记（Aranzana et al., 2003；Dirlewanger et al., 2004）的比对，

Group 1 的 BPPCT020, Group 2 的 BPPCT001, Group 3 的 UDP97-403 和 UDP96-008, Group 4 的 BPPCT023 和 BPPCT015, Group 5 的 pchgms4, Group 6 的 UDP96-001 和 BPPCT008, Group 7 的 CPPCT022, 以及 Group 8 的 UDP98-409 均与参考图谱 G1 至 G8 相应的 SSR 标记相对应, 且呈现良好的线性关系。唯 UDP98-407 在 Etienne 等 (2002) 构建的图谱中位于第 6 连锁群, 而本研究中位于 Group 1, 可能是该引物在本研究的组合群体中扩增位点与其不同的缘故。构建的图谱中定位到 8 个连锁群上的标记有 130 个, 含 22 个 SSR 标记和 108 个 SRAP 标记, 以及扁平形 (*S*) 和非酸 (*D*) 两个性状位点 (图 1)。遗传连锁图谱的总长度为 1 232.7 cM, 位点间的平均遗传距离为 9.34 cM。扁平形 (*S*) 定位在第 6 连锁群中, 位于 SRAP 标记 M35-E36-85 与 SSR 标记 MD205-130 之间 (图 1, Group 6); 非酸性状 (*D*) 定位在第 5 连锁群的最上端, *S* 与 *D* 位点所在的连锁群也均与参考图谱相符。

2.5 数量性状和标记的回归分析及 QTL 位点区间分析

数量性状与标记的回归分析, 以及 1 cM 步径的 QTL 区间扫描, 发现的 QTL 位点和 QTL 区间相对应的标记见表 3 和图 1。LOD 大于 2.0 (即 sat 值大于 9.2) 的 QTL 区间共有 28 个, LOD 大于等于 3.0 的区间共有 17 个, LOD 大于 5.0 的区间共有 10 个。

表 3 QTL 区间及区间内相关的标记
Table 3 Characters of QTL intervals and their corresponding markers

数量性状位点 Intervals of QTLs					区间内相关标记位点 Corresponding markers of the QTLs				
名称 Name	位置 Location	LOD	ADD	$R^2/\%$	标记名称 Name	LOD	$R^2/\%$	<i>P</i>	来源 Origin
蔗糖 <i>Suc1</i>	Group 5	3.5	6.53	13	pchgms4	3.5	13	0.00006	6.53 M
蔗糖 <i>Suc2</i>	Group 4	2.8	- 5.99	11	M16-E39-130	2.5	9	0.00072	- 5.59 P
蔗糖 <i>Suc3</i>	Group 5	5.2	7.85	19	无 No	-	-	-	-
葡萄糖 <i>Glu1</i>	Group 6	7.0	4.19	21	BPPCT008	7.0	24	0.00000	3.65 M
葡萄糖 <i>Glu2</i>	Group 1	6.3	- 5.06	22	BPPCT020	6.3	22	0.00000	- 3.49 M
葡萄糖 <i>Glu3</i>	Group 4	2.2	- 2.25	8	M42-E24-290/300	2.0	8	0.00256	- 2.01 P
葡萄糖 <i>Glu4</i>	Group 2	2.6	- 2.41	10	BPPCT001	2.3	9	0.00109	- 2.20 M
葡萄糖 <i>Glu5</i>	Group 4	2.1	- 2.33	8	M44-E43-160	1.8	7	0.00427	- 1.91 M
果糖 <i>Fru1</i>	Group 6	2.1	1.70	8	BPPCT008	1.7	7	0.00542	1.50 M
果糖 <i>Fru2</i>	Group 8	2.1	1.86	8	M59-E45-180	1.9	8	0.00273	1.60 M
山梨醇 <i>Sor1</i>	Group 6	13.0	4.65	41	BPPCT008	13.0	41	0.00000	4.57 M
山梨醇 <i>Sor2</i>	Group 1	10.8	- 5.59	30	BPPCT020	10.8	35	0.00000	- 4.27 M
山梨醇 <i>Sor3</i>	Group 2	3.2	- 2.62	12	M43-E12-80	3.1	12	0.00016	- 2.42 P
苹果酸 <i>Mal1</i>	Group 5	18.8	- 2.48	53	M07-E04-300	3.7	14	0.00004	- 1.26 M
总糖 <i>Tsug1</i>	Group 6	2.8	12.36	10	M11-E61-230	2.4	9	0.00091	9.05 P
总糖 <i>Tsug2</i>	Group 6	4.1	12.10	15	BPPCT008	4.1	15	0.00002	11.75 M
总糖 <i>Tsug3</i>	Group 5	3.6	11.04	13	pchgms4	3.6	13	0.00005	10.98 M
总糖 <i>Tsug4</i>	Group 1	3.5	- 15.64	13	BPPCT020	3.5	13	0.00006	- 10.96 M
总糖 <i>Tsug5</i>	Group 4	3.4	- 11.15	13	M42-E24-290/300	3.4	13	0.00008	- 10.66 P
总酸 <i>Taci1</i>	Group 6	2.7	1.61	10	M39-E15-250	2.7	10	0.00038	1.62 P
总酸 <i>Taci2</i>	Group 6	2.2	1.53	8	M51-E09-245	2.1	8	0.00206	1.42 P
总酸 <i>Taci3</i>	Group 5	2.7	- 1.67	10	M19-E36-320	2.7	10	0.00042	- 1.62 P
总酸 <i>Taci4</i>	Group 4	2.3	- 1.67	9	M60-E32-170	2.0	8	0.00234	- 1.40 P
总酸 <i>Taci5</i>	Group 5	7.7	- 2.97	26	无 No	-	-	-	-
可溶性固形物 <i>SSC1</i>	Group 6	9.5	1.98	32	BPPCT008	9.4	31	0.00000	1.93 M
可溶性固形物 <i>SSC2</i>	Group 6	6.2	1.97	22	M23-E45-220	5.3	19	0.00000	1.48 M
可溶性固形物 <i>SSC3</i>	Group 1	7.8	- 2.43	27	BPPCT020	7.8	27	0.00000	- 1.79 M
可溶性固形物 <i>SSC4</i>	Group 2	3.1	- 1.23	11	M43-E12-80	2.8	11	0.00032	- 1.11 P

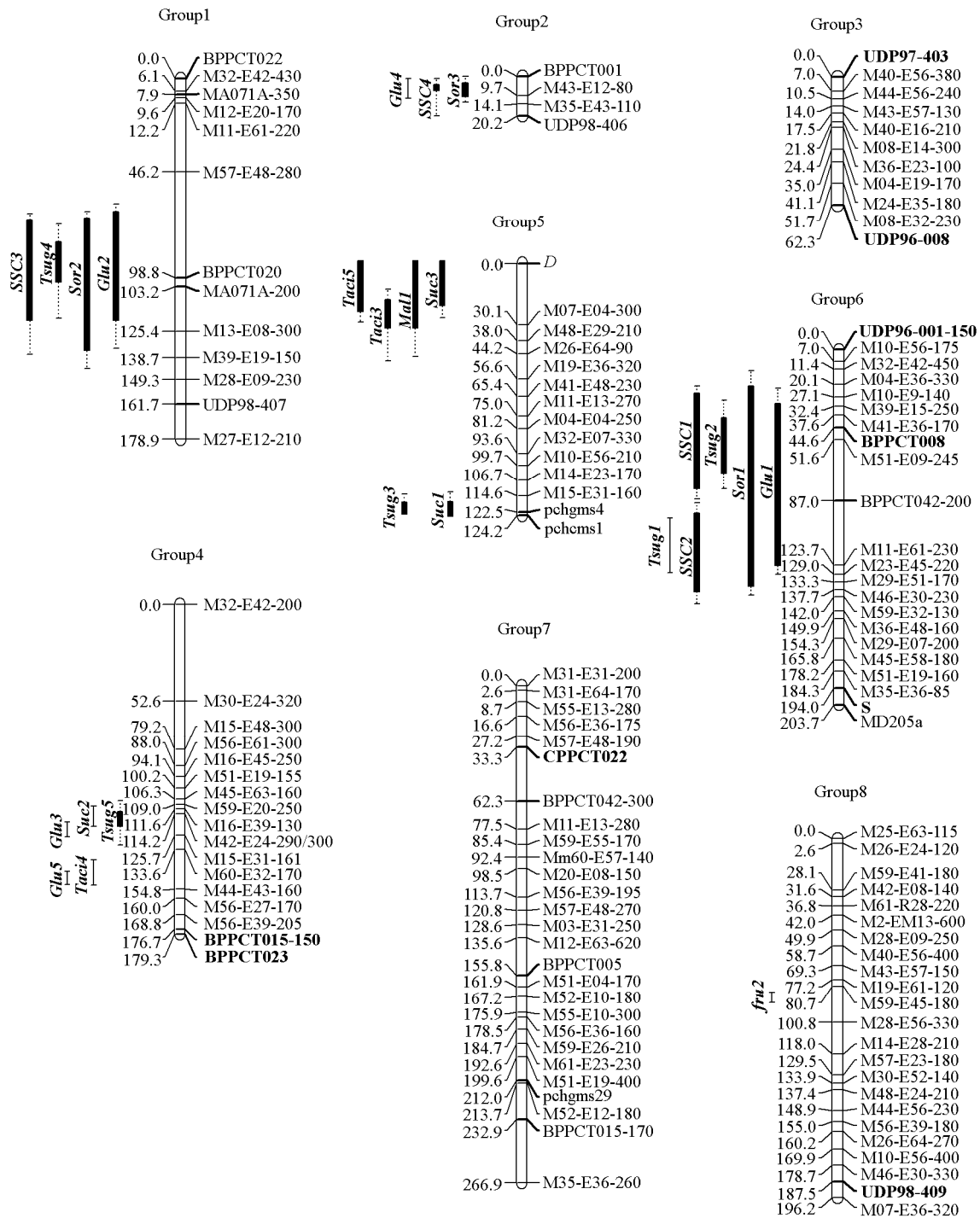


图 1 连锁图谱和糖酸相关的数量性状位

Suc 表示蔗糖, Glu 表示葡萄糖, Fru 表示果糖, Sor 表示山梨醇, Mal 表示苹果酸, Tsug 表示总糖, Taci 表示总酸, SSC 表示可溶性固形物。

Fig. 1 Linkage map of SSR and SRAP markers, and distribution of QTLs controlling fruit flavor

QTLs included in this map are Suc (Sucrose), Glu (Glucose), Fru (Fructose), Sor (Sorbitol), Mal (Malic acid), Tsug (Total sugar), Taci (Total acid), and SSC (Soluble solid content).

甜酸相关的 QTL 主要分布在 Group 1、Group 2、Group 4、Group 5、Group 6 连锁群上, Group 3 和 Group 7 未发现与甜酸相关 QTL 的分布, Group 8 上仅有 1 个 LOD 较小 (2.1) 的与果糖相关的 QTL (*Fru2*)。Group 1 上分布了葡萄糖 (*Glu2*)、山梨醇 (*Sor2*)、总糖 (*Tsug4*)、可溶性固形物 (*SSC3*) 4 个 QTL 区间, Group 2 上分布了山梨醇 (*Sor3*)、葡萄糖 (*Glu4*) 和可溶性固形物 (*SSC4*) 的 QTL, Group 4 上分布了蔗糖 (*Suc2*)、葡萄糖 (*Glu3*、*Glu5*)、总糖 (*Tsug5*)、总酸 (*Taci4*) 的 QTL。这 3 个连锁群的 QTL 均对相应性状表现为负加性效应, 且以 Group 1 上的 QTL 解释表型变量最高。

Group 5 上分布了蔗糖 (*Suc1*、*Suc3*)、总糖 (*Tsug3*)、苹果酸 (*Mal1*)、总酸 (*Taci3*、*Taci5*) 的 QTL 区间; 该连锁群上糖的 QTL 均表现对糖含量的正加性效应, 对酸含量的负加性效应。很多 QTL 集中在非酸位点 (*D*) 附近, 如 *Mal1*、*Taci3*、*Taci5*、*Suc3*, 因而 *D* 位点一方面控制蔗糖含量的增加, 另一方面控制苹果酸含量的减少, 有利于促进甜风味的形成。

Group 6 上分布了葡萄糖 (*Glu1*)、果糖 (*Fru1*)、山梨醇 (*Sor1*)、总糖 (*Tsug1*、*Tsug2*) 4 个糖含量相关的 QTL, 总酸 (*Taci1*、*Taci2*) 两个酸相关的 QTL, 以及可溶性固形物相关 QTL (*SSC1*、*SSC2*), 所有 QTL 均对相关性状呈正加性效应。且 *Glu1*、*Sor1*、*SSC1* 的 LOD 值分别为 7.0、13.0、9.5, 且能解释较高的表型变量, 分别为 21%、41%、32% (表 3)。

3 讨论

3.1 桃遗传连锁图谱的构建

虽然桃种质资源丰富, 但自交能结实, 品种间 (特别是栽培品种间) 差异很小 (Marilyn et al., 1996)。这使得常规育种的杂交组合 (通常是两个性状优良的栽培品种进行杂交) 用于图谱构建时较难获得很高的图谱饱和度。本研究中使用 164 对 SSR 引物进行筛选, 仅有 31 对 SSR 引物表现出多态性; 2 304 个 SRAP 引物组合, 仅有 170 对表现出多态性。亲本之间差异较小是限制饱和图谱构建的最大因素, Etienne 等 (2002) 利用 Ferjalou Jalousia[®] × Fantasia (两个桃栽培品种的组合) 进行图谱构建时也存在同样的问题。因而很多研究者利用桃种间或桃与近缘种之间的杂交组合构建遗传连锁图谱 (Dirlewanger et al., 1996; Quarta et al., 1998; Joobeur et al., 2000; Bliss et al., 2002; Aranzana et al., 2003; Dirlewanger et al., 2004; Howad et al., 2005; 曹珂 等, 2009)。尽管种间或与近缘种之间的杂交群体已经在图谱构建中广泛应用, 但均未进行品质相关性状的 QTL 定位研究, 可能是因为野生资源果实品质性状与栽培品种差异较大, 需要进行多代回交才能获得理想的品质性状分离群体的缘故。

3.2 关于风味品质相关的 QTL 的定位

Dirlewanger 等 (1999) 利用 Ferjalou Jalousia[®] × Fantasia F₂ 群体的 63 个单株, 进行了 QTL 作图研究, 在构建的 9 个连锁群中, 除了 Group 2 和 Group 7 没有糖酸相关 QTL 的分布, 其余 7 个连锁群均有分布。Dirlewanger 等 (1999) 构建图谱使用的标记是同工酶、RFLP、RAPD、IMAs 和 AFLP, 而本研究使用的标记是 SSR 和 SRAP 标记, 但本研究的 Group 5 与 Dirlewanger 的 Group 5 均含有 *D* 位点, 因而是同一连锁群, 经比对发现 Dirlewanger 在 Group 5 定位了苹果酸、柠檬酸、蔗糖、果糖的 QTL。本研究也在该连锁群定位了苹果酸和蔗糖的 QTL, 但未发现果糖的 QTL 区间 (本研究柠檬酸含量未作分析)。此外, Dirlewanger 构建图谱的 Group 6 也定位了 *S* 位点, 与本研究中的 Group 6 一致。经比对发现 Dirlewanger 在第 6 连锁群的上端定位了山梨醇、柠檬酸和苹果酸的 QTL 位点, 这与本研究在 Group 6 定位山梨醇 QTL 一致, 但本研究并未在该区域发现与苹果酸显著相关的 QTL

区间,而是发现了果糖 QTL 区间;在靠近 *S* 位点附近(即 Group 6 下端),Dirlewanger 定位了蔗糖的 QTL,但本研究却未发现。在 Dirlewanger 等(1999)研究的基础上,Etienne 等(2002)同样利用 Ferjalou Jalousia[®] × Fantasia F₂ 群体 63 个单株进行了风味相关 QTL 的分析,研究中同时使用 T × E (普通桃 × 扁桃)群体的 52 个单株,用于连锁群与参考图谱的比对。Etienne 等(2002)在 G4 上定位了果糖、葡萄糖、可溶性固形物的 QTL;在 G5 的低酸(*D*)位点附近定位了苹果酸、蔗糖、柠檬酸、pH、可滴定酸相关的 QTL 位点;在 G6 连锁群定位了蔗糖和可溶性固形物的 QTL。在本研究获得的 QTL 位点与 Etienne 等(2002)发现的 QTL 存在相同之处,如同样在 Group 4 发现了葡萄糖的 QTL,在 Group 5 发现了苹果酸、蔗糖的 QTL,在 Group 6 发现了可溶性固形物的 QTL;但也存在一些差异,如本研究在 Group 1、Group 2 发现的山梨醇、葡萄糖和可溶性固形物相关的 QTL,在 Etienne 等(2002)的图谱上并没有出现,本研究中没有在 Group 6 上发现蔗糖的 QTL,Etienne 等(2002)在 G6 上发现了蔗糖的 QTL。导致图谱 QTL 位点不同的原因可能是亲本不同的缘故,也可能是不同年份气候条件的差异,导致单株果实品质性状存在年度间差异,如 Dirlewanger 等(1999)发现不同年份测定结果会对 QTL 产生一定的漂移,这也是本研究中使用两年数量性状测定结果的主要原因。

3.3 QTL 定位与品种选育

可溶性糖和有机酸是果实风味的重要组成部分,果实的风味品质取决于可溶性糖和有机酸的含量和类型。桃果实中主要的可溶性糖是蔗糖、果糖和葡萄糖,主要的有机酸是苹果酸、柠檬酸和奎尼酸。尽管果实的 pH 是一种持续变化的性状,但桃果实根据其 pH 值可以划分为两类:普通酸型(pH < 4.0)和低酸型(pH ≥ 4.0),从甜风味的桃中获得的显性位点非酸 *D* 对酸性状是显性。Dirlewanger 等(1999)发现 *D* 位点附近存在苹果酸、柠檬酸、可滴定酸和 pH 值相关的 QTL 位点,因而 *D* 位点可能与苹果酸和柠檬酸的代谢或调控相关;国内也有学者开展了桃果实非酸性状的分子标记研究,吴俊等(2004)通过筛选 RAPD 和 AFLP 标记,获得了与非酸性状紧密连锁的两个 AFLP 标记(1.47 cM、2.99 cM),其后又成功地将其中一个标记转化为 SCAR 标记(吴俊 等,2009)。本研究中虽然未能获得与 *D* 位点紧密连锁的分子标记,但同样发现 *D* 位点对果实中的酸含量起着最重要的控制作用,因为桃果实中最主要的有机酸苹果酸的 *Mal1* 区间覆盖了 *D* 位点;且该位点一方面控制苹果酸的减少,另一方面控制蔗糖含量的增加,所以对糖酸比的提高十分有利,在育种中值得重视。

本研究中发现的 QTL 中,葡萄糖相关的 *Glu1* (Group 6)、*Glu2* (Group 1) 分别能解释 21% 和 22% 的表型变量;山梨醇相关的 *Sor1* (Group 6) 和 *Sor2* (Group 1) 分别能解释 41% 和 30% 的表型变量;*SSC1* (Group 6)、*SSC2* (Group 1) 分别能解释 32% 和 22% 的表型变量。这些 QTL 区间均有匹配程度较高的 SSR 或 SRAP 标记存在,这些标记在育种中有一定的利用潜力。然而一些 QTL,如:苹果酸相关的 *Mal1* (Group 5) 能解释 53% 的表型变量,但本研究发现的该区间内的标记 M07-E04-300 仅能解释 14% 的表型变量;总酸 *Taci5* (Group 5) 能解释 26% 的表型变量,但其区间内不存在相关分子标记。这些均需要通过进一步的标记筛选以丰富图谱上该区域的标记数量。

育种实践经验认为使用甜风味的蟠桃作亲本对提高后代的甜风味有利,这可以通过 Dirlewanger 等(1999)在靠近 *S* 位点附近定位的蔗糖的 QTL 得到解释(Ferjalou Jalousia[®] × Fantasia 组合的母本为甜风味的蟠桃),但本研究中并未在 *S* 位点附近定位到显著的甜酸风味相关的 QTL。这可能是由于作为父本的‘NF’为酸风味的蟠桃,与传统育种中利用蟠桃改善甜风味的目标相反,本研究是利用母本‘霞光’的甜风味来改善父本 NF 油蟠桃的酸风味,后代中的确出现了一些风味甜、品质优良的油蟠桃单株。

References

- Abbott A G, Rajapakse S, Sosinski B, Scorza R, Callahan A, Lu Z X, Sossey-Alaoui K, Gannavarapu M, Reighard G, Ballard R E, Baird W V. 1998. Construction of saturated linkage maps of peach crosses segregating for characters controlling fruit quality, tree architecture and pest resistance. *Acta Horticulturae*, 465: 41 – 49.
- Aranzana M J, Pineda A, Cosson P A, Dirlewanger E, Ascasibar J, Cipriani G, Ryder C D, Testolin R, Abbott A G, King G J, Iezzoni A F, Arus P. 2003. A set of simple-sequence repeat (SSR) markers covering the *Prunus* genome. *Theoretical and Applied Genetics*, 106 (5): 819 – 825.
- Aranzana M J, Garica Mas J, Carbo J, Arus P. 2002. Development and variability analysis of microsatellite markers in peach. *Plant Breeding*, 121 (1): 87 – 92.
- Blenda A V, Verde I, Georgi L L, Reighard G L, Forrest S D, Muñoz-Torres M, Baird W V, Abbott A G. 2007. Construction of a genetic linkage map and identification of molecular markers in peach rootstocks for response to peach tree short life syndrome. *Tree Genetics & Genomes*, 3: 341 – 350.
- Bliss F A, Arulsekara S, Foolad M R, Becerra V, Gillen A M, Warburton M L, Dandekar A M, Kocsisne G M, Mydin K K. 2002. An expanded genetic linkage map of *Prunus* based on an interspecific cross between almond and peach. *Genome*, 45: 520 – 529.
- Cao Ke, Wang Li-rong, Zhu Geng-rui, Fang Wei-chao, Chen Chang-wen. 2009. Genetic linkage maps constructing and markers linked with pistil development and double petal gene in peach. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (2): 179 – 186. (in Chinese)
- 曹珂, 王力荣, 朱更瑞, 方伟超, 陈昌文. 2009. 桃遗传图谱的构建及两个花性状的分子标记. *园艺学报*, 36 (2): 179 – 186.
- Chaparro J X, Werner D J, O'Malley D, Sederoff R R. 1994. Targeted mapping and linkage analysis of morphological isozyme, and RAPD markers in peach. *Theoretical and Applied Genetics*, 87: 805 – 815.
- Cipriani G, Lot G, Huang W G, Marrazzo M T, Peterlunger E, Testolin R. 1999. AC/GT and AG/CT microsatellite repeat in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]: Isolation, characterization and cross-species amplification in *Prunus*. *Theoretical and Applied Genetics*, 99: 65 – 72.
- Cipriani G, Marrazzo M T, Gaspero G D, Testolin R. 2001. DNA microsatellite in fruit crops: Isolation, length polymorphism, inheritance, somatic stability and cross-species conservation. *Acta Horticulturae*, 546: 145 – 150.
- Dirlewanger E, Cosson P, Howad W, Capdeville G, Bosselut N, Claverie M, Voisin R, Poizat C, Lafargue B, Baron O, Laigret F, Kleinhentz M, Arus P, Esmenjaud D. 2004. Microsatellite genetic linkage maps of myrobalan plum and an almond-peach hybrid—location of root-knot nematode resistance genes. *Theoretical and Applied Genetics*, 109 (4): 827 – 838.
- Dirlewanger E, Cosson P, Tavaud M, Poizat C, Moing A, Zanetto A, Aranzana M J, Arus P. 2002. Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweetcherry (*Prunus avium* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 105: 1, 127 – 138.
- Dirlewanger E, Pascal T, Zuger C. 1996. Analysis of molecular markers associated with powdery mildew resistance in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] × *Prunus davidiana* hybrids. *Theoretical and Applied Genetics*, 93: 909 – 919.
- Eldredge L, Ballard R, Baird W V, Abbott A, Morgens P, Callahan A, Scorza R, Monet R. 1992. Application of RFLP analysis to genetic linkage mapping in peach. *HortScience*, 27 (2): 160 – 163.
- Etienne C, Rothan C, Moing A, Plomion C, Bodénès C, Svanella-Dumas L, Cosson P, Pronier V, Monet R, Dirlewanger E. 2002. Candidate genes and QTLs for sugar organic acid content in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Theoretical and Applied Genetics*, 105 (1): 145 – 159.
- Georgi L L, Wang Y, Yvergnaux D, Ormsbee T, Iñigo M, Reighard G, Abbott A G. 2002. Construction of a BAC library and its application to the identification of simple sequence repeats in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Theoretical and Applied Genetics*, 105: 1151 – 1158.
- Howad W, Yamamoto T, Dirlewanger E, Testolin R, Cosson P, Cipriani G, Monforte A J, Georgi L, Abbott A G, Arus P. 2005. Mapping with a few plants: Using selective mapping for microsatellite saturation of the *Prunus* reference map. *Genetics*, 171: 1305 – 1309.
- Huang W G, Cipriani G, Morgante M, Testolin R. 1998. Microsatellite DNA in *Actinidia chinensis*: isolation, characterization, and homology in related species. *Theoretical and Applied Genetics*, 97: 1269 – 1278.
- James W O, Audrey M S, Antonio C, Suneth S S, Sue H, Gloria I, Wang D, Chen C Y, Esther K, Amy F I. 2008. Construction of an intra-specific sweet cherry (*Prunus avium* L.) genetic linkage map and synteny analysis with the *Prunus* reference map. *Tree Genetics & Genomes*, 4: 897 – 910.

- Joobeur T, Periam N, Vicente M C, King G J, Arús P. 2000. Development of a second generation linkage map for almond using RAPD and SSR markers. *Genome*, 43: 649 – 688.
- Li G, Quiros C F. 2001. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: Its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. *Theoretical and Applied Genetics*, 103: 455 – 461.
- Lu Z X, Sosinski B, Reighard G L, Baird W V, Abbott A G. 1998. Construction of a genetic linkage map and identification of AFLP markers for resistance to root-knot nematodes in peach rootstocks. *Genome*, 41: 199 – 207.
- Marilyn L, Warburton, Fredrick A B. 1996. Genetic diversity in peach (*Prunus persica* L. Batch) revealed by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and compared to inbreeding coefficients. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 12 (6): 1012 – 1019.
- Monet R. 1979. Genetic transmission of the non-acid character. Incidence on selection for quality. INRA, Eucarpia Symposium on Tree Fruit Breeding, Angers, 273 – 276.
- Pu Fu-shen. 1990. Descriptors of fruit tree germplasm. Beijing: China Agriculture Press: 67. (in Chinese)
- 蒲富慎. 1990. 果树种质资源描述符. 北京: 中国农业出版社: 67.
- Qiao Fei, Wang Li-rong, Fan Chong-hui, Zhu Geng-rui, Fang Wei-chao. 2006. A general genetic linkage map for peach established by using RAPD and AFLP markers. *Journal of Fruit Science*, 23 (5): 766 – 769. (in Chinese)
- 乔 飞, 王力荣, 范崇辉, 朱更瑞, 方伟超. 2006. 利用 AFLP 和 RAPD 标记构建桃的遗传连锁图谱. *果树学报*, 23 (5): 766 – 769.
- Quarta R, Dettori M T, Verde I, Marchesi U, Palombi M A. 1998. Genetic analysis of agronomic traits and genetic linkage mapping in a BC₁ peach population using RFLPs and RAPDs. *Acta Horticulturae*, 465: 51 – 58.
- Shen Zhi-jun, Ma Rui-juan, Yu Ming-liang, Xu Jian-lan. 2006. Effects of main factors in SSR-PCR of peach on amplified products. *Jiangsu J of Agr Sci*, 22 (1): 76 – 80. (in Chinese)
- 沈志军, 马瑞娟, 俞明亮, 许建兰. 2006. 桃SSR-PCR主要因子对扩增产物的影响. *江苏农业学报*, 22 (1): 76 – 80.
- Shen Zhi-jun, Ma Rui-juan, Yu Ming-liang, Cai Zhi-xiang, Song Hong-feng, Li Xiao. 2007. Regularity analysis of sugar and acid in fruit development of peach [*Prunus persica* (L.) Batsh]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 22 (6): 127 – 132. (in Chinese)
- 沈志军, 马瑞娟, 俞明亮, 蔡志翔, 宋宏峰, 李 晓. 2007. 桃果实发育过程中主要糖及有机酸含量的变化分析. *华北农学报*, 22 (6): 127 – 132.
- Sosinski B, Gannavarpu M, Hager L C, Beck L E, King G J, Rvder C D, Rajapakse S, Baird W V, Ballard R E, Abbott A G. 2000. Characterization of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Theoretical and Applied Genetics*, 101: 421 – 428.
- Sosinski B, Sossey-Alaoui K, Rajapakse S, Glassmoyer K, Ballard R E, Abbott A G, Lu Z X, Baird W V, Reighard G, Tabb A, Scorza R. 1998. Use of AFLP and RFLP markers to create a combined linkage map in peach [*Prunus peasica* (L.) Batsch] for use in marker assisted selection. *Acta Horticulturae*, 465: 61 – 89.
- Testolin R, Marrazzo T, Cipriani G, Quarta R, Verde I, Dettori M T, Pancaldi M, Sansavini S. 2000. Microsatellite DNA in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and its use in fingerprinting and testing the genetic origin of cultivars. *Genome*, 43 (3): 512 – 520.
- Wu Jun, Shu Huai-rui, Zhang Kai-chun, Zhang Xiao-ming, Jiang Li-jie. 2009. Development and validation of scar markers linked to the non-acid/acid trait of fruit in peach. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (8): 1120 – 1126. (in Chinese)
- 吴 俊, 束怀瑞, 张开春, 张晓明, 姜立杰. 2009. 桃果实非酸/酸性状SCAR标记的转化与验证. *园艺学报*, 36 (8): 1120 – 1126.
- Wu Jun, Shu Huai-rui, Zhang Kai-chun, Zhang Xue-ning, Jiang Li-jie. 2004. Preliminary screening molecular markers linked to non-acid/acid fruit traits in peach. *Scientia Agricultura Sinica*, 37 (12): 1892 – 1898. (in Chinese)
- 吴 俊, 束怀瑞, 张开春, 张学宁, 姜立杰. 2004. 桃果实非酸/酸性状分子标记的初步筛选. *中国农业科学*, 37 (12): 1892 – 1898.
- Yamamoto T, Mochida K, Imai T, Shi Y Z, Ogiwara I, Hayashi T. 2002. Microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] derived from enriched genomic and cDNA libraries. *Molecular Ecology Notes*, 2: 3, 298 – 301.
- Yoshida M. 1970. Genetical studies on the fruit quality of peach varieties. I Acidity. *Bull Hort Res Sta* A9: 1 – 15.
- Yu Ming-liang, Ma Rui-juan, Shen Zhi-jun, Zhang Zhen. 2006. Molecular markers linked to specific characteristics of *Prunus persica* (L.) Batsch. *Acta Horticulturae sinica*, 33 (3): 511 – 517. (in Chinese)
- 俞明亮, 马瑞娟, 沈志军, 章 镇. 2006. 桃果肉颜色、果皮茸毛和花粉育性性状的分子标记. *园艺学报*, 33 (3): 511 – 517.