

梨栽培相关性状的QTL分析

王 龙, 王苏珂, 薛华柏, 苏艳丽, 杨 健*, 李秀根*

(中国农业科学院郑州果树研究所, 郑州 450009)

摘 要:【目的】检测梨栽培相关性状QTL位点, 开发连锁分子标记用于分子标记辅助选择。【方法】以‘红茄梨’和‘晚秀梨’161株F₁代群体为试材, 构建高密度遗传连锁图谱并利用MapQTL5.0软件对梨栽培性状包括1 a(年)生枝长度、1 a生枝粗度、节间长度、叶片长度、叶片宽度和叶柄长度进行QTL分析和定位。【结果】在LG9检测到1个1 a生枝长度QTL, 分别在LG11和LG9检测到1 a生枝粗度QTL, 在LG7检测到了节间长度的QTL, 这些QTL与最近SNP标记的距离为0 cM, 叶片长度、叶片宽度和叶柄长度未检测到QTL位点。【结论】检测到4个置信度大于95%的QTL位点。

关键词: 梨; 栽培性状; QTL

中图分类号: S661.2

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2018)Suppl.-061-05

QTL analysis for cultivated traits in pears

WANG Long, WANG Suke, XUE Huabai, SU Yanli, YANG Jian*, LI Xiugen*

(Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450009, Henan, China)

Abstract: 【Objective】To develop molecular markers linked with cultivated traits for molecular marker-assisted selection through detected QTL loci of pear cultivated traits. 【Methods】The 161 F₁ individuals from the cross between ‘Red Clapp Favorite’ (*Pyrus communis* L.) and ‘Mansoo’ (*P. pyrifolia* Nakai) were used for the high-density genetic map construction. The pear cultivated trait QTLs including annual branch length, annual branch thickness, internode length, leaf length, leaf width and petiole length were analyzed with the MapQTL5.0 software. 【Results】One annual branch length QTL was detected on LG9, and the annual branch thickness QTL was detected on LG11 and LG9, and the internode length QTL was detected on LG7. The distance between these QTLs and the nearest SNP marker was 0 cM. No QTL loci were detected for the leaf length, leaf width and petiole length. 【Conclusion】Four QTLs of three traits were detected, which achieved at >95% confidence level.

Key words: *Pyrus*; Cultivation traits; QTL

我国是梨属(*Pyrus* L.)植物起源中心之一, 面积和产量均居世界首位。随着经济的发展, 人力成本在梨果生产中的比重逐渐增加, 且劳动力逐渐老龄化, 给梨产业发展带来巨大压力。培育易于管理的短枝型品种是解决这一问题的有效策略。而利用分子标记辅助选择技术可加快杂种群体的选择, 有效提高育种效率。目前, 利用遗传连锁图谱对数量性状进行QTL定位, 是开发数量性状连锁分子标记的主要方法。

自2001年Iketani等^[1]以RAPD标记定位梨黑星病抗性位点和梨黑斑病感病位点至今, 关于梨农艺

性状QTL定位的报道主要有抗病性^[1-7]、梨木虱抗性^[8-9]、果实经济性状^[10-14]等。而关于梨栽培性状, 如新梢长度、叶片大小、节间长度等报道较少。笔者以‘红茄梨’×‘晚秀梨’161株F₁代群体为材料, 对梨1 a(年)生枝长度和粗度、叶片大小、节间长度、叶柄长度等农艺性状进行了QTL分析和定位, 以期利用分子标记技术高效选育短枝型梨品种奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

收稿日期: 2018-11-03 接受日期: 2018-12-07

基金项目: 中央级科研院所基本科研业务费专项(1610192018104); 中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ASTIP); 国家梨产业技术体系(CARS-28-06)

作者简介: 王龙, 男, 副研究员, 博士, 主要从事梨遗传育种研究。E-mail: wanglong02@caas.cn

*通信作者 Author for correspondence. Tel: 0371-65330967, E-mail: yangjian@caas.cn; E-mail: lixiugen@caas.cn

以‘红茄梨’为母本、‘晚秀梨’为父本获得的 161 株 F_1 代实生群体为作图群体, 并进行 QTL 分析和定位。杂交群体种子于 2009 年播种, 2010 年定植在中国农业科学院新乡综合实验基地的梨品种选育圃中, 2016 年对群体栽培性状进行测定。

1.2 方法

1.2.1 总 DNA 的提取 于 2015 年采取杂交群体的新鲜幼叶, 用 CTAB 方法^[15]提取。

1.2.2 表型数据的调查与分析 1 a 生枝长度和粗度测定: 冬季落叶后, 选取 5 个树冠外围枝条, 采用 3 m 长的钢卷尺进行测量, 利用数显游标卡尺测定 1 a 生枝条距离基部 5 cm 处直径, 5 个枝条长度和粗度的平均值作为测定数据。

叶片长度、叶片宽度和叶柄长度的测定: 选取 1 a 生枝条中部叶片进行测定, 每个枝条选 2 枚叶片, 共测定 10 枚叶片, 平均值为测定数据。

将上述数据录入 Excel 2010 软件, 利用 IBM SPSS Statistics 19 软件对表型数据进行描述性统计。

1.2.3 遗传图谱构建 利用前期以‘红茄梨’和‘晚秀梨’161 株 F_1 代群体构建的高密度遗传连锁图谱^[16]。

1.2.4 QTL 分析 利用 MapQTL5.0^[17]软件对相关农艺性状进行 QTL 定位分析, 先根据置换检验(次数 > 1 000)估算各连锁群的 LOD 阈值, 然后采用区间作图法(interval mapping)检测与相关农艺性状相关的标记在连锁群所处的位置, 判断控制相关农艺性状 QTL 的有无及其所在区域, 以各连锁群 LOD \geq 3.0 作为阈值, 采用相对应的置信度 \geq 95%。

2 结果与分析

2.1 梨栽培性状在 F_1 群体中的分离

根据 161 株 F_1 代栽培性状的调查数据, 对 1 a 生枝长度、1 a 生枝粗度、节间长度、叶片长度、叶片宽度、叶柄长度这 6 个性状进行数据分析, 计算其平均值、峰度、偏度(表 1), 结果表明, 这些性状均为正态分布(图 1)。

表 1 F_1 代群体栽培性状的表型分析

Table 1 Phenotypic analysis of cultivation traits for F_1 family

性状 Trait	范围 Range	平均值 Mean	标准差 σ	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis
1 a 生枝长度 Annual branch length/cm	37.00~109.00	65.46	11.01	0.25	1.05
一年生枝粗度 Annual branch thickness/mm	4.37~10.10	6.91	0.99	0.12	0.36
节间长度 Internode length/cm	2.38~4.41	3.49	0.37	0.38	0.26
叶片长度 Leaf length/mm	66.35~134.14	102.31	12.01	-0.25	0.67
叶片宽度 Leaf width/mm	45.54~84.70	62.42	6.47	-0.002	0.33
叶柄长度 Petiole length/mm	19.80~63.33	35.25	7.17	0.93	1.82

2.2 梨栽培性状的 QTL 分析

结合已经构建的连锁图谱, 利用 MapQTL5.0 软件采用区间作图法对梨 1 a 生枝长度、1 a 生枝粗度、节间长度、叶片长度、叶片宽度及叶柄长度 6 个性状进行 QTL 分析, 分别检测到与 1 a 生枝长度、节间长度相关的 QTL 各 1 个, 1 a 生枝粗度 QTL 2 个, 未检测到与叶片长度、叶片宽度及叶柄长度相关的 QTL (图 2), 各个 QTL 位点所在连锁群、峰值、置信度、遗传图谱的位置、最近标记及贡献率见表 2。

3 讨 论

过去几十年来, 育种家对于梨的育种目标主要集中在果实品质和抗性上, 而往往忽略梨的栽培性状的重要性, 在梨性状的遗传研究方面, 也主要偏向于果实品质方面的研究。随着经济的发展, 梨产业

中人力成本所占比例逐渐提高, 降低人力成本在生产中所占比例逐渐成为果园取得较高经济效益的重要因素。而梨矮化砧木的研究和利用上远远滞后于产业发展的需求, 因此培育短枝型和生长势中庸的品种对于产业发展显得更为重要。

前人对果树栽培相关性状的 QTL 分析和定位研究中, 主要利用 AFLP 标记和少量 SSR 标记, 笔者难以与本研究进行比较分析。如 Kenis 等^[18]以‘Telamon’和‘Braeburn’2 个苹果品种的杂交 F_1 代群体为试材, 进行苹果生长性状 QTL 定位, 最终在 4、8、10、11、14、15 连锁群检测到了节间长度的 QTL 位点, 其所用的 17 个 SSR(‘Telamon’图谱)和 19 个 SSR 标记(‘Braeburn’图谱)并未在文章中标注出来, 因此笔者难以根据 SSR 标记进行图谱的共线性比对和 QTL 位点的比较。孙文英等^[19]以‘鸭梨’和

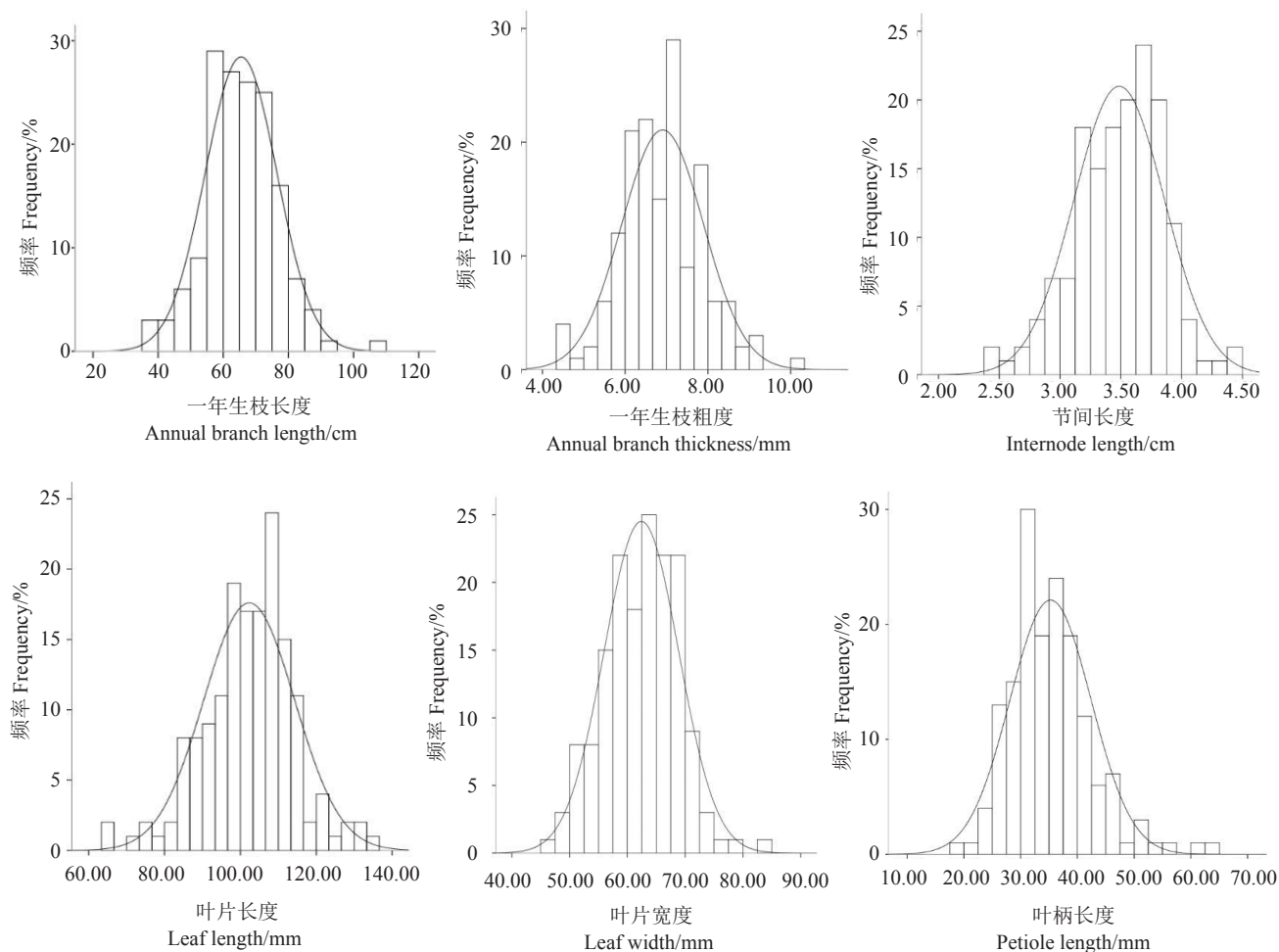
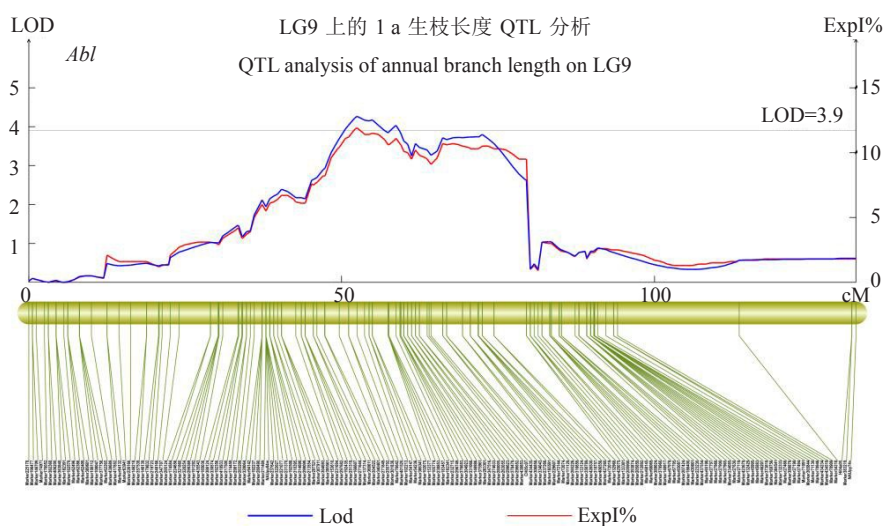


图 1 梨栽培性状在 F₁ 群体中的频率分布

Fig. 1 Frequency distribution of pear cultivation traits in F₁ population

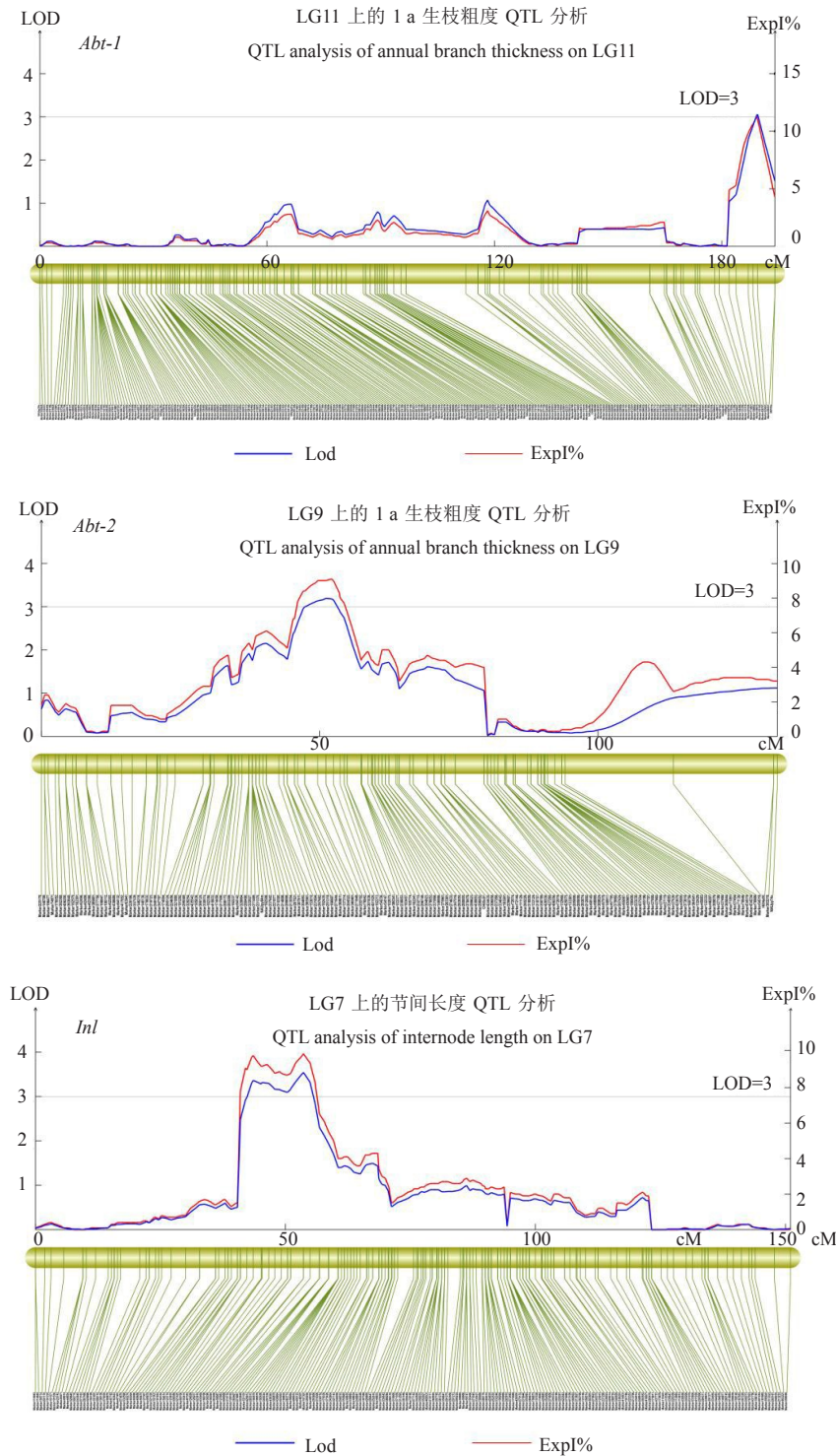


蓝色线为 LOD 值,红色线为贡献率。

Blue line is the LOD value, red line is the expected value.

图 2 梨栽培性状 QTL 分析

Fig. 2 QTL analysis of pear cultivation traits



蓝色线为 LOD 值,红色线为贡献率。

Blue line is the LOD value, red line is the expected value.

图2(续) Fig. 2 (continued)

表 2 梨栽培性状在 F_1 群体中的 QTL 分析
Table 2 QTL analysis of pear cultivation traits in F_1 population

性状 Trait	QTL	连锁群 Linkage group	LOD	置信度 Confidence/%	位置 Position/cM	最近标记 Nearest marker/(Distance·cM ⁻¹)	贡献率 ExPI/%
1 a 生枝长度 Annual branch length	<i>Abl</i>	9	4.26	99.8	52.5	Marker401520(0)	11.9
1 a 生枝粗度 Annual branch thickness	<i>Abt-1</i>	11	3.05	97.7	189.4	Marker325021(0)	11.0
	<i>Abt-2</i>	9	3.19	95.6	51.1	Marker76642(0)	9.0
节间长度 Internode length	<i>Inl</i>	7	3.54	98.0	53.6	Marker56394(0)	9.9

‘京白梨’的 F_1 代群体为材料,利用 AFLP 和 SSR 标记构建遗传图谱,并对新梢生长量、新梢粗度、节间长度等栽培性状进行了 QTL 分析和定位,通过其定位节间长度 QTL 位点所在连锁群的 SSR 标记和蔷薇科基因组数据库 (<https://www.rosaceae.org/>) 比对确认其染色体号后发现,笔者与孙文英未有定位在同一连锁群的节间长度 QTL 位点。Segura 等^[20]以 ‘Starkrimson’ 和 ‘Granny Smith’ 苹果品种的 125 株 F_1 代群体为试材,把节间长度 QTL 位点定位到了第 3、7、10 和 16 连锁群,其中定位在第 7 连锁群的 QTL 位点区间为 41.9~61.0 cM,与本研究定位到第 7 连锁群节间长度 QTL 位点所在区间大体一致,有可能为同一位点。

本研究基于 SSR 和 SNP 标记构建的高密度遗传连锁图谱,分别检测到了 1 a 生枝长度和粗度、节间长度的 QTL 位点,这些位点都有紧密连锁的 SNP 标记(遗传距离为 0 cM),且在以前的研究中也定位了这些标记在梨基因组上的物理位置,这些研究不仅可应用于梨分子标记辅助育种,也为以后研究这些性状相关候选基因的筛选、克隆及功能验证奠定了良好的基础。

参考文献 References:

- [1] I KETANI H, ABE K, YAMAMOTO T, KOTOBUKI K, SATO Y, SAITO T, TERA I O, MATSUTA N, HAYASHI T. Mapping of disease-related genes in Japanese pear using a molecular linkage map with RAPD markers [J]. *Breeding Science*, 2001, 51(1): 179-184.
- [2] TERA KAMI S, ADACHI Y, IKETANI H, SATO Y, SAWAMURA Y, TAKADA N, NISHITANI C, YAMAMOTO T. Genetic mapping of genes for susceptibility to black spot disease in Japanese pears [J]. *Genome*, 2007, 50(1): 735-741.
- [3] DONDINI L, PIERANTONI L, GAIOTTI F, CHIODINI R, TARTARINI S, BAZZI C, SANSAVINI S. Identifying QTLs for fire-blight resistance via a European pear (*Pyrus communis* L.) genetic linkage map [J]. *Molecular Breeding*, 2004, 14(4): 407-418.
- [4] MONTANARI S, PERCHEPIED L, RENAULT D, FRIJTERS L, VELASCO R, HORNER M, GARDINER S E. A QTL detected in an interspecific pear population confers stable fire blight resistance across different environments and genetic backgrounds [J]. *Molecular Breeding*, 2016, 36(1): 47.
- [5] PIERANTONI L, DONDINI L, CHO K H, SHIN I S, GENNARI F, CHIODINI R, TARTARINI S, KANG S J, SANSAVINI S. Pear scab resistance QTLs via a European pear (*Pyrus communis*) linkage map [J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2007, 3(1): 311-317.
- [6] WON K, BASTIAANSE H, KIM Y K, SONG J H, KANG S S, LEE H C, CHO K H, BREWER L, SINGLA G, GARDINER S E, CHAGNE' D, BUS V G M. Genetic mapping of polygenic scab (*Venturia pirina*) resistance in an interspecific pear family [J]. *Molecular Breeding*, 2014, 34(4): 2179-2189.
- [7] PERCHEPIED L, LEFORESTIER D, RAVON E, GUÉRIF P, DENACE' C, TELLIER M, TERA KAMI S, YAMAMOTO T, CHEVALIER M, LESPINASSE Y, DUREL C E. Genetic mapping and pyramiding of two new pear scab resistance QTLs [J]. *Molecular Breeding*, 2015, 35(1): 197.
- [8] DONDINI L, FRANCESCHI P D, ANCARANI V, CIVOLANI S, FANO E A, MUSACCHI S. Identification of a QTL for psylla resistance in pear via genome scanning approach [J]. *Scientia Horticulturae*, 2015, 197: 568-572.
- [9] PERCHEPIED L, GUÉRIF P, RAVON E, DENANCÉ C, LAURENS F, ROBERT P, BOUVIER L, LESPINASSE Y, DUREL C E. Polygenic inheritance of resistance to *Cacopsylla pyri* in a *Pyrus communis* × *P. ussuriensis* progeny is explained by three QTLs involving an epistatic interaction [J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2016, 12(6): 108.
- [10] YAMAMOTO T, TERA KAMI S, TAKADA N, NISHIO S, ONOUE N, NISHITANI C, KUNIHISA M, INOUE E, IWATA H, HAYASHI T, ITAI A, SAITO T. Identification of QTLs controlling harvest time and fruit skin color in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) [J]. *Breeding science*, 2014, 64(4): 351-361.
- [11] SAEED M, BREWER L, JOHNSTON J, MCGHIE T K, GARDINER S, HEYES J A, CHAGNÉ D. Genetic, metabolite and developmental determinism of fruit friction discolouration in pear [J]. *BMC Plant Biology*, 2014, 14(1): 241.
- [12] WU J, LI L T, LI M, KHAN M A, LI X G, CHEN H, YIN H, ZHANG S L. High-density genetic linkage map construction and identification of fruit-related QTLs in pear using SNP and SSR markers [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(20): 5771-5781.
- [13] 韩明丽,刘永立,郑小艳,杨健,王龙,王苏珂,李秀根,腾元文. 梨遗传连锁图谱的构建及部分果实性状 QTL 的定位[J]. *果树学报*, 2010, 27(4): 496-503.
HAN Mingli, LIU Yongli, ZHENG Xiaoyan, YANG Jian, WANG Long, WANG Suke, LI Xiugen, TENG Yuanwen. Construction of a genetic linkage map and QTL analysis for some fruit traits in pear[J]. *Journal of Fruit Science*, 2010, 27(4): 496-503.
- [14] 张瑞萍,吴俊,李秀根,杨健,王龙,王苏珂,张绍铃. 梨 AFLP 标记遗传连锁图谱构建及果实相关性状的 QTL 定位[J]. *园艺学报*, 2011, 38(10): 1991-1998.
ZHANG Ruiping, WU Jun, LI Xiugen, YANG Jan, WANG Long, WANG Suke, ZHANG Shaoling. Construction of AFLP genetic linkage map and analysis of QTLs related to fruit traits in pear[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2011, 38(10): 1991-1998.
- [15] IKETANI H, MANABE T, MATSUTA N, AKIHAMA T, HAYASHI T. Incongruence between RFLPs of chloroplast DNA and morphological classification in east Asian pear (*Pyrus* spp.) [J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1998, 45(6): 533-539.
- [16] WANG L, LI X G, WANG L, XUE H B, WU J, YIN H, ZHANG S L. Construction of a high-density genetic linkage map in pear (*Pyrus communis* × *Pyrus pyrifolia* Nakai) using SSRs and SNPs developed by SLAF-seq[J]. *Scientia Horticulturae*, 2017, 218: 198-204.
- [17] VAN OOIJEN J W. MapQTL® 5. Software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations[CP]. Wageningen, Netherlands, 2004.
- [18] KENIS K, KEULEMANS J. Study of tree architecture of apple (*Malus × domestica* Borkh.) by QTL analysis of growth traits[J]. *Molecular Breeding*, 2007, 19(3): 193-208.
- [19] 孙文英,张玉星,张新忠,乐文全,张海娥. 梨分子遗传图谱构建及生长性状的 QTL 分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2009, 10(2): 182-189.
SUN Wenyong, ZHANG Yuxing, ZHANG Xinzong, LE Wenquan, ZHANG Haie. Construction of a genetic linkage map and QTL analysis for some growth traits in pear[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2009, 10(2): 182-189.
- [20] SEGURA V, DENANCÉ C, DUREL C E, COSTES E. Wide range QTL analysis for complex architectural traits in a 1-year-old apple progeny[J]. *Genome*, 2007, 50(2): 159-171.