

# 番茄果实有机酸总含量的 QTL 分析

戚 飞, 刘 冠, 李 景 富

(东北农业大学 园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘 要:**以番茄高酸品种“12680”为母本,低酸品种“12574”为父本,配制杂交组合,构建含有 260 个单株的  $F_2$  代群体为试材,采用酸碱滴定法测量果实的总酸含量,并进行遗传图谱构建及 QTL 分析,研究番茄果实中有机酸含量的遗传规律并找到与有机酸含量相关的 QTL 位点。结果表明:在 256 对 AFLP 引物和 185 对 SSR 引物中获得多态性良好的 AFLP 引物 24 对,SSR 引物 17 对;构建连锁图谱,该图谱包括 6 个连锁群,共 42 个标记,覆盖基因组长度 1 358.93 cM,检测 LOD 值大于 2.5 的标记 2 个,贡献率分别为 20.27%、10.98%,均分布在第 2 连锁群上。其中 Ta1 为负向加性效应,Ta2 为正向加性效应。

**关键词:**番茄;含酸量;QTL;SSR;AFLP

**中图分类号:**S 641.201 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)05-0109-05

番茄是现今世界栽培十分广泛的蔬菜作物之一,番茄果实中含酸量是影响番茄果实风味品质的主要因子之一。目前消费者对于番茄果实的风味品质和营养含量正给予越来越多的关注。番茄果实风味主要取决于含糖量、含酸量、糖酸比及挥发性芳香物质等<sup>[1]</sup>,其中糖、酸的绝对含量及糖酸比起主要作用<sup>[2]</sup>。由于糖变化范围较小,而酸变化幅度较大,且含酸量对甜味的影响比含糖量对酸味的影响大,所以,果实糖酸比实际上主要是由酸决定的<sup>[3]</sup>。近年来国内外学者对番茄果实含酸量从不同角度开展了研究,1963 年 Walkof 等用含酸量差异大的 2 份试材进行酸性遗传研究,把果实含酸量分为高酸和低酸,杂交后代分离比例接近于 3:1 和 1:1,因而认为含酸量由一对主效基因控制,高酸为不完全显性,遗传力为 66.4%<sup>[4]</sup>。1966—1967 年 Lower 等用栽培种(低酸)与醋栗番茄(高酸)杂交,认为高酸为不完全显性<sup>[4-5]</sup>。分析结果表明,低 pH 值与高总酸量之间存在高度相关,因此对试材选择时只需鉴定其中之一即可。控制 pH 值有 2~5 对基因,控制全酸有 3~4 对基因,其中一主效基因控制高含酸量。遗传变量中大部分为累积性的。小果 pH 值狭义遗传力为 37.6%,总酸的狭义遗传力为 64.2%。霍建勇等<sup>[6]</sup>用 70 个 RFLP 标记出有 5

个 QTL 与果实 pH 有关。谭其猛<sup>[7]</sup>指出,苹果酸浓度受单基因控制,低浓度为显性,控制柠檬酸和苹果酸含量变异的基因是连锁的,交换价为 0.18。贾俊忠等<sup>[8]</sup>对番茄不同时期可溶性固形物含量进行 QTL 分析,利用品种 TD22 和 HT-1-1-1-1 为亲本构建了 206 个  $F_2$  家系在绿熟期、黄熟期、红熟期对果实可溶性固形物进行比较,在第 1 连锁群找到了可能控制番茄可溶性固形物含量的 2 个 QTL,贡献率都达到 10%以上。然而有关番茄果实有机酸总含量的遗传分析和相关分子标记方面的研究尚鲜见报道。

该试验用高酸品种“12680”和低酸品种“12574”配制的  $F_2$  代群体为试验材料,测定红熟期番茄果实的有机酸总含量,分析遗传规律,采用 AFLP 和 SSR 分子标记技术构建遗传连锁图谱,分析与总酸含量连锁的 QTL 位点,以期为进一步开展番茄果实有机酸代谢的相关基因定位和克隆研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为东北农业大学园艺学院番茄课题组提供的高酸品种“12680”为父本和低酸品种“12574”母本,2012 年 3 月将亲本种植于东北农业大学园艺站,并进行亲本授粉。2012 年 9 月收获  $F_1$  代种子和亲本种子,10 月播种于东北农业大学连栋温室。2013 年 5 月收获  $F_1$  代自交的  $F_2$  代种子,播种于东北农业大学园艺站加温温室及连栋温室。最后获得  $F_2$  代单株 260 株。取第 1 穗红熟期果实,测定总酸含量。

### 1.2 试验方法

1.2.1 番茄果实有机酸含量的测定 每个植株选取 3

**第一作者简介:**戚飞(1990-),女,硕士研究生,研究方向为蔬菜育种。E-mail:1036860306@qq.com.

**责任作者:**李景富(1943-),男,教授,博士生导师,研究方向为蔬菜遗传与育种及生物技术。E-mail:lijf\_2005@163.com.

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(NSFC 31272171)。

**收稿日期:**2014-11-12

个健康果实,将果实洗净纵切,从中心开始楔形取样,每个果实取 5 g 放入冰箱备用。采用酸碱滴定法<sup>[9]</sup>测定果实总酸含量。有机酸含量(%) =  $\frac{kcV_3V_1}{(wV_2)} \times 100\%$ , 式中,  $w$  为样品重量(g),  $c$  为 NaOH 浓度(mol/L),  $k$  为换算系数,  $V_1$  为提取时样液总量(mL),  $V_2$  为测定时样液总量(mL),  $V_3$  为消耗 NaOH 液量(mL)。3 次重复,取平均值。

1.2.2 DNA 提取及分子标记 采集亲本、 $F_1$  及  $F_2$  代群体单株真叶 2 g, 采用改良的 CTAB 法<sup>[10]</sup> 提取番茄基因组 DNA, 用分光光度计法检测 DNA 纯度与浓度,  $-20^\circ\text{C}$  保存备用。SSR 引物来源于 sol genomics network 网站的番茄的 SSR 引物(由北京华大基因合成), 共计 185 对。PCR 反应体系为 20  $\mu\text{L}$ , 包括 10  $\mu\text{L}$  Mix, 7  $\mu\text{L}$  dd  $\text{H}_2\text{O}$ , 1  $\mu\text{L}$  模板 DNA, 上下游引物各 1  $\mu\text{L}$ ; SSR 程序为  $94^\circ\text{C}$  预变性 5 min, 循环( $94^\circ\text{C}$  变性 30 s,  $55^\circ\text{C}$  退火 30 s,  $72^\circ\text{C}$  延伸 1 min) 35 次,  $72^\circ\text{C}$  延伸 10 min。采用 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后银染检测谱带。AFLP 引物上游 16 条, 下游 16 条(由北京华大基因合成), 引物设计采用排列组合方式, 共 256 对引物。AFLP 分析方法参考 Vos 等<sup>[11]</sup> 的研究报道。基因组 DNA 采用 EcoRI 和 MseI 酶切。酶切连接体系包括 EcoRI (10 U/ $\mu\text{L}$ ) 0.5  $\mu\text{L}$ , MseI (10 U/ $\mu\text{L}$ ) 0.5  $\mu\text{L}$ , EcoRI adapter (5 pmol/ $\mu\text{L}$ ) 1.0  $\mu\text{L}$ , MseI adapter (50 pmol/ $\mu\text{L}$ ) 1.0  $\mu\text{L}$ , T4 DNA Ligase (5 U/ $\mu\text{L}$ ) 0.6  $\mu\text{L}$ , ATP (10 mmol/L) 1.0  $\mu\text{L}$ , 10 $\times$  Buffer 5.0  $\mu\text{L}$ , 加 dd  $\text{H}_2\text{O}$  至 25  $\mu\text{L}$ 。反应程序为  $37^\circ\text{C}$  酶切与连接 12 h。预扩增体系包括 DNA(酶切连接后产物) 2  $\mu\text{L}$ , EcoRI-primer (EOO 50 ng/ $\mu\text{L}$ ) 0.6  $\mu\text{L}$ , MseI-primer (MOO 50 ng/ $\mu\text{L}$ ) 0.6  $\mu\text{L}$ , 10 $\times$  Buffer 2.0  $\mu\text{L}$ , dNTPs (2.5 mmol/L) 1.6  $\mu\text{L}$ ,  $\text{MgCl}_2$  (25 mmol/L) 1.2  $\mu\text{L}$ , Taq DNA polymerase (5 U/ $\mu\text{L}$ ) 0.2  $\mu\text{L}$ , 加 dd  $\text{H}_2\text{O}$  调至 20  $\mu\text{L}$ 。预扩增的程序:  $94^\circ\text{C}$  3 min;  $94^\circ\text{C}$  30 s,  $56^\circ\text{C}$  30 s,  $72^\circ\text{C}$  1 min, 27 个循环;  $72^\circ\text{C}$  10 min;  $4^\circ\text{C}$  终止反应。预扩增完成后, 取 5  $\mu\text{L}$  预扩增产物和 1  $\mu\text{L}$  Loading Buffer 混合后在 1.2% 的琼脂糖凝胶中检测预扩增结果。根据琼脂糖电泳结果将预扩产物稀释 30 倍为最佳, 用于选择性扩增, 余下的预扩增产物于  $-20^\circ\text{C}$  保存。选择性扩增体系包括 DNA(预扩增产物稀释 20 $\times$ ) 5  $\mu\text{L}$ , Exx (50 ng/ $\mu\text{L}$ ) 1.0  $\mu\text{L}$ , Mxx (50 ng/ $\mu\text{L}$ ) 1.0  $\mu\text{L}$ , 10 $\times$  buffer 2  $\mu\text{L}$ , dNTPs (2.5 mmol/L) 1.6  $\mu\text{L}$ ,  $\text{MgCl}_2$  (25 mmol/L) 1.2  $\mu\text{L}$ , Taq DNA polymerase (5 U/ $\mu\text{L}$ ) 0.2  $\mu\text{L}$ , 加 dd  $\text{H}_2\text{O}$  调至 20  $\mu\text{L}$ 。选择性扩增程序:  $94^\circ\text{C}$  3 min;  $94^\circ\text{C}$  30 s,  $65^\circ\text{C}$  30 s(每个循环降低  $0.7^\circ\text{C}$ ),  $72^\circ\text{C}$  1 min, 12 个循环;  $94^\circ\text{C}$  30 s,  $56^\circ\text{C}$  30 s,  $72^\circ\text{C}$  1 min(每个循环增加 1 s), 25 个循环;  $72^\circ\text{C}$  10 min;  $4^\circ\text{C}$  终止反应。选择性扩增完成后, 在扩增产物中加入 30%~40% 的 Loading buffer 在 PCR 仪中  $95^\circ\text{C}$  变性 5 min 后立即置于冰水混合物中, 用

6% 的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离扩增产物, 银染后进行分析, 银染参照 Bassam 等<sup>[12]</sup> 的方法。

### 1.3 数据分析

对数据进行记录和整理, 表型频次分布用 SPSS 19.0 软件进行绘制和分析。将电泳出的条带按照软件记录要求, SSR 标记与  $P_1$  相同的带型记为 2, 与  $P_2$  相同带型记为 0, 与  $F_1$  相同记为 1, 缺失记为 -1。AFLP 标记有差异带的记为 12, 无差异带记为 0, 缺失记为 -1。运用 QTL IciMapping 对数据进行分析, 做出遗传连锁图谱。QTL 分析使用 QTL IciMapping 软件<sup>[13]</sup>, 以 LOD 值大于 2.5 为有机酸含量的阈值。采用复合区间作图法, 以 1.0 cM 步长在全基因组内进行扫描。

## 2 结果与分析

### 2.1 番茄果实有机酸含量的分析

由表 1、图 2 可知, 亲本的有机酸含量的平均值分别为 0.419% 和 0.146%, 分别代表有机酸含量高和低的品种类型, 二者差异显著。 $F_2$  群体有机酸含量差异大, 分布在 0.08513%~0.6055%, 平均值为 0.3743%。偏度为 0.112, 峰度为 -0.602, 偏度系数和峰度系数的绝对值均小于 1。有机酸含量在分离世代群体中的正态分布趋势较明显, 呈现出连续变异, 表现出受多基因控制的数量性状频数分布特点。因此, 用数量遗传学对番茄有机酸含量进行遗传分析是可行的。

表 1 亲本及  $F_2$  群体有机酸含量表现

Table 1 Variation analysis on total acid content in parental and  $F_2$  population

|  | 亲本均值<br>Parents means |             | $F_2$      |          |                |                |
|--|-----------------------|-------------|------------|----------|----------------|----------------|
|  | 父本<br>$P_1$           | 母本<br>$P_2$ | 均值<br>Mean | 方差<br>SD | 偏度<br>Skewness | 峰度<br>Kurtosis |
|  | 含酸量<br>Acid content/% |             |            |          |                |                |
|  | 0.419                 | 0.146       | 0.3743     | 0.0109   | 0.112          | -0.602         |

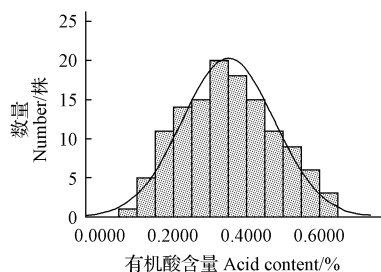


图 1 有机酸含量在  $F_2$  群体中的分布

Fig. 1 Acid content in  $F_2$  population

### 2.2 遗传图谱构建与遗传连锁分析

将提取的 DNA 经 1% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测, 浓度和质量均适用于 PCR 反应。对 2 个亲本进行扩增筛选, 共筛选出在亲本间有多态性且能稳定

遗传的引物。在 185 对 SSR 引物中筛选出 34 对,多态率为 18.4%,在 256 对 AFLP 引物中筛选出 53 对,多态率为 20.7%。

用筛选获得的 SSR 和 AFLP 多态性标记引物,对 F<sub>2</sub> 群体单株进行分析,排除不清晰条带的标记以及表现偏离的标记进行作图,得到一张含有 6 个连锁群的遗传连锁图谱(图 2),将 43 个标记整合到该连锁群上,其中包括 AFLP 标记 19 个,SSR 标记 24 个,覆盖的基因总长度为 1 421.28 cM。标记最多的为第 2 连锁群,标记数目为 19 个,长度为 567.28 cM,标记间平均距离为 29.86 cM。最短的为第 3 连锁群,总长度为 40.01 cM,共 3 个标记,标记间的平均距离为 13.34 cM。

对 F<sub>2</sub> 代统计带型,并将生理指标分段统计数目, F<sub>2</sub> 代的分离比符合正态分布。根据所获得的遗传连锁图谱,再结合果实有机酸含量的田间数据,利用 QTL IciMapping 软件进行 QTL 分析。表 2 表明,在第 2 连锁群上发现了 2 个与有机酸含量紧密相关的 QTL 位点,均为加性效应位点,以性状英文字母缩写和 QTL 编号为依据进行命名 QTL。2 个有机酸含量性状 QTL,分别命名为 Ta1 和 Ta2,LOD 值均大于 2.5,标记 Ta1 与 M7E7 的距离为 4.88 cM,遗传贡献率为 20.27%,加性效应负值,对有机酸总含量表现为减效。标记 Ta2 与 M12E1-3 的距离为 4.38 cM,遗传贡献率为 10.98%,加性效应正值,对有机酸总含量表现为增效。

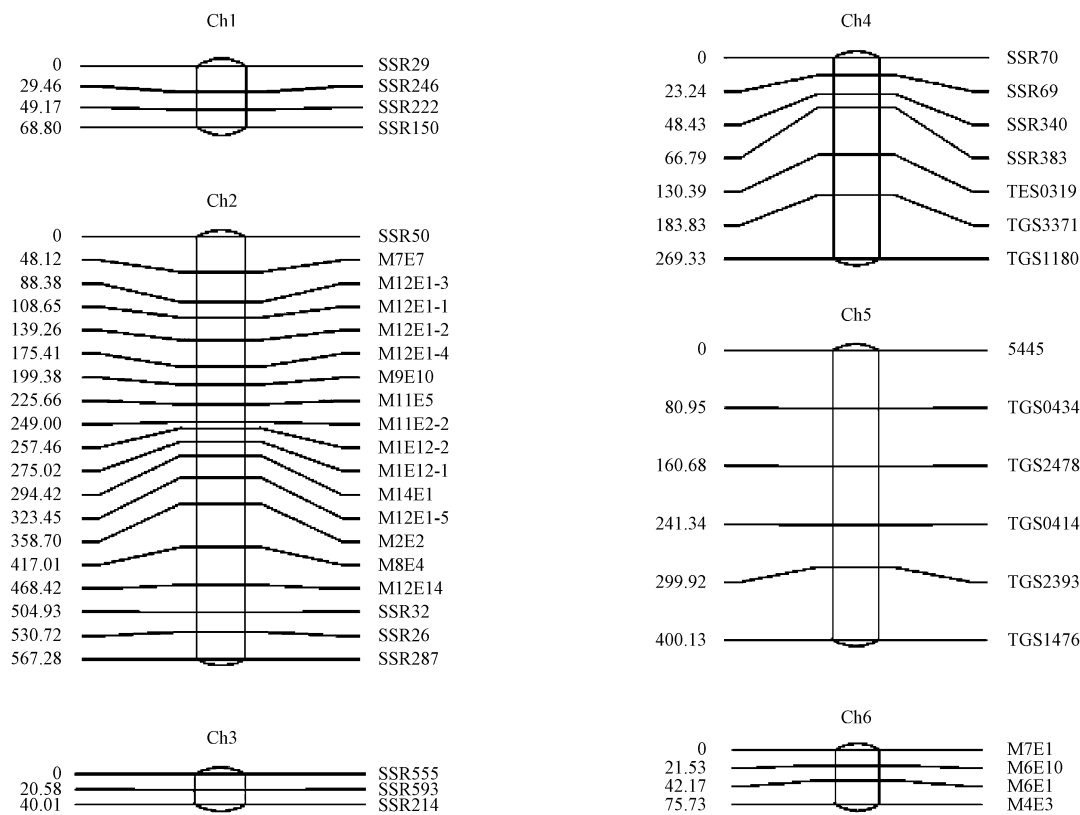


图 2 番茄遗传连锁图谱及有机酸性状 QTL  
Fig. 2 The construction of linkage map and QTLs of acid content in tomato

表 2 番茄果实有机酸含量 QTL

| QTLs of acid content |                      |                  |                          |                    |               |                         |
|----------------------|----------------------|------------------|--------------------------|--------------------|---------------|-------------------------|
| QTL                  | 连锁群<br>Linkage group | 图谱位置<br>Position | 标记区间<br>Interval markers | LOD 值<br>LOD value | 贡献率<br>PVE/ % | 加性效应<br>Additive effect |
| Ta1                  | 2                    | 53.00            | M7E7-M12E1-3             | 2.9502             | 20.2780       | -0.0116                 |
| Ta2                  | 2                    | 84.00            | M7E7-M12E1-3             | 3.4537             | 10.9813       | 0.0052                  |

3 讨论

番茄果实有机酸的含量直接关系到番茄的风味品质,对番茄果实有机酸的 QTL 分析,将为番茄品质改良提供依据。沈志军等<sup>[14]</sup>研究表明,虽然作物的种质资源

丰富,但品种间(尤其是栽培品种间)差异很小,这使得常规育种的杂交组合用于图谱构建时较难获得很高饱和度的图谱。因此,尽管试验中选用的亲本表型差异显著,但 DNA 分析显示亲本间相似性极高,番茄栽培种内基因组 DNA 多态性低,筛选亲本间多态性标记相对较



难,该研究中筛选 SSR 和 AFLP 标记共 87 对,基本满足作图需要。利用  $F_2$  群体构建含有 6 个连锁群的复合遗传图谱,覆盖基因组长度 1 421.28 cM,检测到 2 个 QTL,对番茄有机酸含量这一重要品质性状进行了初步定位分析。

Sailiba 等<sup>[15]</sup>研究表明,第 2 条染色体上的 QTL 同时决定着含酸量、果重、果实弹性、含糖量、胡萝卜素含量等 12 个性状,这与该试验结果定位在第 2 连锁群基本一致。Walkof 研究表明含酸量由一对主效基因控制,而毛传澡等<sup>[16]</sup>认为 QTL 的贡献率大于 15% 的为主效 QTL,该试验结果得到的 QTL 中,  $Ta1$  的遗传贡献率为 20.27%,由此可推测,  $Ta1$  的价值较大,贡献率高,可能为主效 QTL,可用于进一步的精细定位和图位克隆等深入研究。Fulton 等<sup>[17]</sup>研究表明在第 1、2、3、4、5、6 条染色体上分别存在 1 个 QTL 共同决定着番茄果实有机酸的含量,贡献率分别为 8%、7%、7%、6%、4%、7%。Quilot 等<sup>[18]</sup>研究结果表明在第 2、3、5 条染色体上分别存在 1 个 QTL 共同决定果实有机酸含量,结合以上研究表明,除了第 2 条染色体上存在主效 QTL 之外,还有很多微效 QTL 分布在其它不同染色体上,共同决定这番茄有机酸的含量,需要进一步详细定位。

该试验中定位的 QTL 位点  $Ta1$  与 M7E7 的距离为 4.88 cM,遗传连锁距离最短,但距离相对较远,产生此情况的原因可能有 2 个,一是  $F_2$  代的群体数量不够大,260 株的群体数量还是无法满足更加精细定位的要求。二是试验选取的引物数量不够,所以无法做到遗传距离更近的定位要求。由于受试验群体大小、群体类型、标记类型及标记数量等因素影响,该试验构建的图谱在某些染色体上间隙较大,理论上同一染色体上的连锁群有可能因为某一部分的标记未能被连锁而被打断<sup>[19]</sup>,因此有必要进行更深的研究和探索。此外,基因的表达依赖环境,郭绍贵<sup>[20]</sup>认为影响数量性状表达的重要因素是 QTL 与环境的互作,目前在 QTL 研究中,最困难的是在不同环境条件下找到最稳定的 QTL。另外,于拴仓等<sup>[21]</sup>研究发现数量性状在植物发育过程中是动态变化的,由于有机酸含量是受环境影响较大的性状,且  $F_2$  代群体为临时作图群体不能重复种植,也无法计算基因与环境互作,找到的 2 个 QTL 位点有待于进一步利用重组自交系等永久作图群体进行多年多点的分析和验证<sup>[22]</sup>。

番茄果实有机酸含量的增加减少在育种上均有重要意义,该试验得到 2 个 QTL,对总酸含量表现为一个增效一个减效,因此,今后的分子育种中,在调整有机酸含量方面可以加以利用,同时也可以用来进行种质资源的筛选,培育出不同品种满足不同大众需要。近年来对于番茄果实品质性状的研究更多的集中于可溶性固形物、番茄红素、芳香物质、抗坏血酸、果色、果型、硬度等方

面<sup>[23]</sup>,而对于总酸度的研究还不够深入。田间试验与室内分析相结合,找出糖酸与风味品质性状的相关性,是一个值得深入研究的课题。

### 参考文献

- [1] 齐乃敏,杨少军,朱龙英,等. 番茄主要品质性状的遗传研究进展[J]. 上海农业学报,2006(4):140-143.
- [2] Visser T, Schaap A A, de Vries D P. Acidity and sweetness in apple and pear[J]. Euphytica, 1968, 17: 153-167.
- [3] 刘金义,崔海荣,王龙,等. 梨果实酸/低酸性状的 SSR 分析[J]. 果树学报,2011(3):389-393.
- [4] Lefort B M, Rodolphe F, Charcosset A. New prospects for the genetic analysis of quantitative traits I The search for important loci[J]. Biofutur, 1990, 91: 30-31, 34-37.
- [5] 余延年,吴定华,陈竹君. 番茄遗传学[M]. 长沙:湖南科学技术出版社,1999:286-300.
- [6] 霍建勇,刘静,冯辉,等. 番茄果实风味品质研究进展[J]. 中国蔬菜,2005(2):38-40.
- [7] 谭其猛. 蔬菜育种[M]. 北京:中国农业出版社,1984:169-180.
- [8] 贾俊忠,田丽萍,薛琳,等. 番茄可溶性固形物的动态 QTL 及相关性状[J]. 遗传,2010(10):1077-1083.
- [9] 郝建军. 植物生理学实验技术[M]. 北京:化学工业出版社,2006:141-145.
- [10] 梁宏伟,王长忠,李忠,等. 聚丙烯酰胺凝胶快速、高效银染方法的建立[J]. 遗传,2008(10):1379-1382.
- [11] Vos P, Hogers R, Bleeker M. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting[J]. Nucleic Acids Research, 1995, 23: 4407-4414.
- [12] Bassam B J, Caetano A G, Gresshoff P M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels[J]. Anal Biochem, 1991, 196: 80-83.
- [13] 谭瑞娟,文自翔,顾翠华,等. 大豆高密度 SNP 标记遗传图谱构建方法的比较[J]. 河南农业大学学报,2013(6):671-676.
- [14] 沈志军,马瑞娟,俞明亮,等. 油蟠桃组合遗传连锁图谱构建及糖酸性状 QTL 分析[J]. 园艺学报,2010(11):1735-1744.
- [15] Sailba C V, Causse M, Langlois D, et al. Genetic analysis of organoleptic quality in fresh market tomato. I. Mapping QTLs for physical and chemical traits[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 102: 2-3, 259-272.
- [16] 毛传澡,程式华. 水稻农艺性状 QTL 定位精确性及其影响因素的分析(综述)[J]. 农业生物技术学报,1999(4):386-394.
- [17] Fulton T M, Bucheli P, Voirol E, et al. Quantitative trait loci (QTL) affecting sugars, organic acids and other biochemical properties possibly contributing to flavor, identified in four advanced backcross populations of tomato[J]. Euphytica, 2002, 127(2): 163-177.
- [18] Quilot B H, Wu B, Kervella J E, et al. QTL analysis of quality traits in an advanced backcross between *Prunus persica* cultivars and the wild relative species *P. davidiana*[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109: 884-897.
- [19] 吕丽华,王怀松,付秋实,等. 甜瓜果肉  $\beta$ -胡萝卜素含量的 QTL 分析[J]. 华北农学报,2012(5):80-85.
- [20] 郭绍贵. 西瓜枯萎病 R 基因同源序列的克隆与分析[D]. 扬州:扬州大学,2005.
- [21] 于拴仓,王永健,郑晓鹰. 大白菜耐熟性 QTL 定位与分析[J]. 园艺学报,2003(4):417-420.
- [22] 刘识,王学征,栾非时,等. 西瓜果实总糖含量 QTL 分析[J]. 果树学报,2013(1):75-80.
- [23] 李晓蕾,李景富,康立功,等. 番茄品质遗传及育种研究进展[J]. 中国蔬菜,2010(14):1-7.

# 陕甘两省花椒疫霉病原鉴定及其拮抗菌筛选

王洁菲, 曹支敏, 白露超, 汤毅, 周雪

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100)

**摘要:**以采自陕西、甘肃的花椒疫霉菌为试材,依据病原菌的菌落与繁殖体特征、rDNA-ITS 及  $\beta$ -tubulin 基因序列分析和致病性测定,研究该病菌的种类与分布,并对花椒疫霉菌拮抗菌进行了筛选。结果表明:陕西宝鸡地区的花椒疫霉菌系 *Pfs3*、*Pfs4*、*Pbjt* 和 *Pfs5* 为苎麻疫霉 (*Phytophthora boehmeriae* Sawada);甘肃陇南地区菌系 *Pcsx*、*Pwmc*、*Pwqh*、*Pwbs3* 和 *Pwbs2* 为多寄主疫霉 (*Phytophthora multivora* Scott & Jung),从花椒园土壤中分离筛选出 1 株对疫霉菌具有拮抗效果的放线菌 zy-1,初步鉴定为链霉菌之一种 (*Streptomyces* sp.)。

**关键词:**花椒;疫霉;形态学;rDNA-ITS; $\beta$ -tubulin;致病性;拮抗作用

**中图分类号:**S 763.15 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)05-0113-07

由疫霉菌 (*Phytophthora* spp.) 引起的花椒疫霉病 (亦称黑胫病) 在我国陕西、甘肃两省的种植区时有发生,成为常见的一种花椒重要的枝干病害<sup>[1-2]</sup>。该病害的发生部位常集中在花椒茎基部,受到侵染的树皮会发生腐烂和凹陷,颜色由褐色逐变成黑色,病斑不断扩展,到最后环绕树干,造成树萎蔫枯死,导致园内树体全部

死亡。目前有关花椒疫霉菌的鉴定仍有争议<sup>[3-4]</sup>,由于其发生规律仍不完全清楚,影响了该病害的有效防控<sup>[1]</sup>。

疫霉菌传统形态学分类主要依据为:菌落形态及其菌丝膨大、厚垣孢子的产生与否;孢子囊的形状、大小、长宽比、有无乳突及其厚度、脱落性和柄的有无;雄器的类型和着生方式;卵孢子是否充满藏卵器及其壁的厚度等。据此,余永年<sup>[5]</sup>将中国疫霉菌分为 27 种。世界疫霉菌约为 90 种<sup>[6]</sup>,但由于疫霉菌的形态、生物学特性易受环境条件影响,而呈现出较大的变异性,单纯采用形态学鉴定,使得形态和习性相似的种难以区分。因此,分子系统学分析现已成为国内外疫霉分类技术的重要手段。其中利用 rDNA-ITS 与  $\beta$ -tubulin 基因进行菌种鉴定

**第一作者简介:**王洁菲(1987-),女,陕西西安人,硕士,研究方向为森林菌物学。E-mail:hiwjf0932@126.com.

**责任作者:**曹支敏(1954-),男,陕西富平人,教授,博士生导师,现主要从事森林病理学与菌物学等研究工作。E-mail:zmcao@nwsuaf.edu.cn.

**基金项目:**国家“十二五”科技支撑计划资助项目(2012BAD19B0804)。

**收稿日期:**2014-09-22

## QTL Analysis for Total Organic Acid Content in Tomato Fruit

QI Fei, LIU Guan, LI Jing-fu

(College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

**Abstract:** An AFLP and SSR genetic linkage map was constructed in tomato with a 260 intraspecific  $F_2$  population derived from a cross between high acid content line ‘12680’ as female parent and low acid content line ‘12574’ as male parent. Total acid content was determined by acid-base titration, total organic acid genetic development was studied to find QTL position related to organic acid content. The results showed that, in totally chose 256 pairs of AFLP molecule markers, 185 pairs of SSR molecule markers, 24 pairs of AFLP molecule markers and 17 pairs of SSR molecule markers had favorable polymorphism.  $F_2$  generation were analyzed for patterns to construct the six linkage groups. It contained 41 molecule markers, the total length of 1 358.93 cM. There were two markers detected the LOD scores greater than 2.5, genetic contribution rate were 20.27% and 10.98%. The 2 QTLs distributed in 2 linkage groups, among which *Ta1* was negative additive effects, *Ta2* was positive additive effect.

**Keywords:** tomato; acid content; QTL; AFLP; SSR