

## Mapatge de gens candidats implicats en la qualitat del fruit al presseguer

Eudald Illa Berenguer

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tesisenred.net](http://www.tesisenred.net)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



**IRTA, Centre de Recerca en  
Agrigenòmica CSIC-IRTA-UAB**  
Departament de Genètica Vegetal



**Universitat de Barcelona**  
Facultat de Biologia  
Departament de Biologia Vegetal

# **MAPATGE DE GENS CANDIDATS IMPLICATS EN LA QUALITAT DEL FRUIT AL PRESSEGUER**

Eudald Illa Berenguer  
Cabriels, juliol 2010



**TESI DOCTORAL**  
**UNIVERSITAT DE BARCELONA**

FACULTAT DE BIOLOGIA  
DEPARTAMENT DE BIOLOGIA VEGETAL  
PROGRAMA DOCTORAT: BIENNI 2006-2008  
"BIOLOGIA DE LES PLANTES EN CONDICIONS MEDITERRÀNIES"

**MAPATGE DE GENS CANDIDATS**  
**IMPLICATS EN LA QUALITAT DEL FRUIT**  
**AL PRESSEGUER**

Memòria presentada per Eudald Illa Berenguer per optar al títol de doctor per la  
Universitat de Barcelona

Eudald Illa Berenguer  
Cabriels, juliol 2010

EL DIRECTOR DE TESI  
Dr. Pere Arús i Gorina

EL DIRECTOR DE TESI  
Dr. Werner Howad

LA TUTORA DE TESI  
Dra. Isabel Fleck i Bou



***'És més útil pensar que saber,  
però encara ho és més observar'***

Johann Wolfgang von Goethe



## AGRAÏMENTS

Sense l'ajuda, el suport i sobretot l'amistat rebuts durant aquests anys, hauria estat gairebé impossible realitzar aquesta tesi. Per això, vull donar les gràcies a tots els han contribuït amb el seu granet de sorra a que això fos una realitat.

En primer lloc m'agradaria agrair aquest treball al Dr. Pere Arús i al Dr. Werner Howad per haver dipositat en mi la confiança necessària per a realitzar aquest treball. Gràcies per el vostre suport, consells, suggeriments, correccions i paciència durant tot aquest temps.

A la Dra. Isabel Fleck, el meu contacte amb la universitat, per ajudar-me, amb la Mercè, a enllestir tota la paperassa que suposa una tesi.

Al Dr. Riccardo Velasco i a la Dra. Michela Troggio que van convertir l'estiu de 2009 en una gran experiència. Many thanks for making me learn a little bit more every day and also for giving me the opportunity to discovering these marvellous places of Trentino. Thanks to Alessandro, Giusi, Lisa, Margherita, Silvia, Massimo, Antonio, Erika and the rest of lab members for making me enjoy life and science in San Michele.

Al llarg d'aquests anys ha passat molta gent pel departament: investigadors, postdocs, estudiants predoctorals, nens de pràctiques... Tots (n'estic pràcticament segur) m'heu donat un cop de mà en algun moment. Gràcies per la vostra amistat i el vostre ajut. M'agradaria agrair de manera especial a la Montse Saladie per tots els bons moments passats tant dins com fora del laboratori, però sobretot pel teu humor i els teus ànims. A la Montse Palaudelmàs per totes les xerrades que hem tingut, la teva amistat i tots els teus consells. A Cèlia, sempre disposada a ajudar, per totes les converses sobre coses útils i inútils que hem arribat a mantenir.

Un altre agraïment molt especial se'l mereix la meva família; els meus pares i l'Elisabet pel seu suport incondicional i per esforçar-se en comprendre les coses estranyes a les que m'he dedicat durant aquests anys.

A tots, moltes gràcies!



Aquesta tesi doctoral ha estat realitzada amb el suport econòmic del Fons Social Europeu i del Departament d'Universitats, Recerca i Societat de la Informació de la Generalitat de Catalunya.

<b>INTRODUCCIÓ</b>	<b>1</b>
<b>1. EL PRESSEGUER COM A OBJECTE D'ESTUDI</b>	<b>3</b>
1.1 POSICIÓ TAXONÒMICA	3
1.2 ORIGEN I DISTRIBUCIÓ DEL PRESSEGUER	5
1.3 IMPORTÀNCIA ECONÒMICA	6
<b>2. GENÈTICA DEL PRESSEGUER</b>	<b>7</b>
<b>3. MARCADORS GENÈTICS</b>	<b>8</b>
3.1 MARCADORS MORFOLÒGICS	8
3.2 MARCADORS BIOQUÍMICS	8
3.3 MARCADORS MOLECULARS	10
3.3.1 RFLPs ( <i>Restriction Fragment Length Polymorphisms</i> )	10
3.3.2 RAPDs ( <i>Random Amplified Polymorphic DNA</i> )	11
3.3.3 AFLPs ( <i>Amplified Fragment Length Polymorphisms</i> )	11
3.3.4 Microsatèl·lits ( <i>Simple Sequence Repeats</i> )	12
3.3.5 SNPs ( <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i> )	14
3.4 APLICACIONS DELS MARCADORS	17
3.4.1 Avaluació de la variabilitat present en col·leccions de germoplasma	18
3.4.2 Construcció de mapes genètics	18
3.4.3 Caràcters quantitativs i anàlisi de QTLs	28
3.4.4 Selecció assistida per marcadors (MAS)	32
<b>4. LA QUALITAT DE FRUIT COM A CARÀCTER DE SELECCIÓ I MILLORA</b>	<b>32</b>
4.1 QUALITAT ORGANOLÈPTICA	33
4.2 QUALITAT NUTRICIONAL	34
<b>OBJECTIUS</b>	<b>35</b>
<b>MATERIAL I MÈTODES</b>	<b>39</b>
<b>1. MATERIAL</b>	<b>41</b>
1.1 MATERIAL VEGETAL	41
1.2 OLIGONUCLEÒTIDS	42
<b>2. TAMPONS I SOLUCIONS</b>	<b>43</b>
<b>3. MÈTODES PER A L'OBTENCIÓ I L'ANÀLISI D'ÀCIDS NUCLEICS</b>	<b>44</b>
3.1 EXTRACCIÓ D'ADN EN GRADIENT DE CLORUR DE CESI (CsCl)	44
3.2 REACCIÓ EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)	46
3.3 PURIFICACIÓ DE PRODUCTES DE PCR	47

3.4 PRECIPITACIÓ D'ÀCIDS NUCLEICS	48
3.5 SEQÜENCIACIÓ DE PRODUCTES DE PCR	48
3.6 ANÀLISI DE MICROSATÈL·LITS	49
3.6.1 Anàlisi de microsatèl·lits per marcatge fluorescent	49
3.6.2 Anàlisi de microsatèl·lits per marcatge radioactiu	50
3.7 ANÀLISI DE SNPs	53
<b>4. CONSTRUCCIÓ DE MAPES GENÈTICS</b>	<b>54</b>
<b><u>PUBLICACIONS</u></b>	<b><u>55</u></b>
<b>CAPÍTOL 1:</b> SATURACIÓ, CONSTRUCCIÓ I COMPARACIÓ DE MAPES DE LLIGAMENT EN QUATRE POBLACIONS DE <i>PRUNUS</i>	57
<b>CAPÍTOL 2:</b> SATURACIÓ DEL GENOMA DE <i>PRUNUS</i> AMB GENS CANDIDATS PER A LA QUALITAT DEL FRUIT	67
<b>CAPÍTOL 3:</b> CARACTERITZACIÓ GENÒMICA DELS PUTATIUS AL·LÈRGENS A PRESSEGUER / AMETLLER I LA SEVA SINTENIA EN POMERA	105
<b>CAPÍTOL 4:</b> ANÀLISI DE QTLs DE QUALITAT DE FRUIT EN UNA POBLACIÓ BC <sub>2</sub> DE PRESSEGUER × <i>PRUNUS DAVIDIANA</i>	123
<b>CAPÍTOL 5:</b> ANÀLISI COMPARATIVA DELS GENOMES DE ROSÀCIES I RECONSTRUCCIÓ D'UN PUTATIU GENOMA ANCESTRAL PER A LA FAMÍLIA	167
<b><u>DISCUSSIÓ GENERAL</u></b>	<b><u>169</u></b>
<b><u>CONCLUSIONS</u></b>	<b><u>211</u></b>
<b><u>BIBLIOGRAFIA</u></b>	<b><u>215</u></b>
<b><u>INFORME DELS DIRECTORS</u></b>	<b><u>241</u></b>
<b>FACTOR D'IMPACTE DE LES PUBLICACIONS</b>	<b>243</b>
<b>CONTRIBUCIÓ DEL CANDIDAT EN PUBLICACIONS AMB MÉS SIGNANTS</b>	<b>245</b>
<b><u>ANNEXES</u></b>	<b><u>247</u></b>

## ABREVIACIONS

- A:** Adenina.
- ADN:** Àcid desoxiribonucleic.
- ADNc:** Àcid desoxiribonucleic complementari.
- AFLPs:** *Amplified Fragment Length Polymorphism.*
- APS:** Persulfat d'amoni.
- ARN:** Àcid ribonucleic.
- BAC:** *Bacterial artificial chromosome.*
- BC:** Retroencreuament.
- C:** Citosina.
- CAPS:** *Cleaved Amplified Polymorphic Sequence.*
- CIM:** Mapatge per intervals compost – *Composite interval mapping.*
- cM:** Centimorgan.
- CTAB:** Bromur de cetiltrimetilamoni.
- cv:** Cultivar.
- dNTPs:** Desoxiribonucleòtids trifosfat.
- ddNTPs:** Dideoxiribonucleòtids trifosfat.
- EDTA:** Àcid etilendiamino tetraacètic.
- Eg4:** Endo- $\beta$ -1,4-glucanasa (EC 3.2.1.4).
- EST:** *Expressed Sequence Tag.*
- F3'h:** Flavonoid 3'-monooxigenasa (EC 1.14.13.21).
- Fk1:** Fructoquinasa 1 (EC 2.7.1.4).
- G:** Guanina.
- g:** Grams.
- GC:** Gen candidat.
- GDR:** *Genome Database for Rosaceae.*
- Hk2:** Hexoquinasa 2 (EC 2.7.1.1).
- HRM:** *High resolution melting.*
- HPLC:** Cromatografia de líquids d'alta pressió.
- IM:** Mapatge per intervals – *Interval mapping.*
- Indel:** Inserció/deleció.
- Kb:** Quilobase.
- LDH:** Línies diplohaploides.
- LOD:** Logaritme en base 10 de OR.
- LRS:** Mètode de màxima versemblança – *Likelihood ratio statistic.*
- LTP:** Proteïna de transferència lipídica.
- M:** Molar.
- MAS:** Selecció assistida per marcadors.
- Mb:** Megabase.
- mg:** Mil·ligram.
- min:** Minut.
- $\mu$ g:** Microgram.
- mL:** Mil·lilitre.
- $\mu$ L:** Microlitres.
- $\mu$ Ci:** Microcuris.
- mM:** Mil·limolar.
- $\mu$ M:** Micromolar.
- nm:** Nanòmetre.
- ng:** Nanogram.
- nM:** Nanomolar.
- OR:** Oportunitat relativa – *odds ratio.*
- pb:** Parell de bases.
- pg:** Picogram.
- PCR:** Reacció en cadena de la polimerasa.
- PI1:** Pectat liasa 1 (EC 4.2.2.2).
- PR:** Proteïna relacionada amb la patogènesi.
- PRF:** Profilina.
- QTL:** Locus de caràcter quantitatiu.
- RAPDs:** *Random Amplified Polymorphic DNA.*
- RFLPs:** Polimorfisme en la longitud dels fragments de restricció – *Restriction fragment length Polymorphism.*
- RILs:** Línies consanguínies recombinants – *Recombinant inbred lines.*
- RMN:** Ressonància magnètica nuclear.
- RosCOS:** *Rosaceae conserved ortholog sequence.*
- r:** Freqüència de recombinació.
- rpm:** Revolucions per minut.
- seg:** Segons.
- SNP:** Polimorfisme de nucleòtid simple – *Single nucleotide polymorphism.*
- SSR:** *Simple sequence repeat.*
- Sus1:** Sacarosa sintasa 1 (EC 2.4.1.13).
- T:** Timina.
- t:** Temps d'extensió.

**Ta:** Temperatura aparellament.

**TA:** Temperatura ambient.

**TEMED:** N,N,N',N'-tetrametiletilendiamina.

**TLP:** Proteïna tipus taumatina.

**x:** Nombre de cromosomes per genoma haploide.

# **INTRODUCCIÓ**



A mesura que l'home va anar coneixent i apreciament els fruits dels arbres silvestres, va iniciar-ne el conreu prop del lloc on habitava a fi de tenir fruita a l'abast de manera més segura i còmoda. Més tard, en intensificar-se el comerç i l'intercanvi entre els diferents pobles, els arbres fruiters més apreciats es van anar escampant per totes aquelles regions en les quals les condicions ambientals eren favorables per al seu desenvolupament. Tot i així, els conreus eren bàsicament destinats al consum familiar o a l'abastament dels mercats més propers.

La substitució d'un conreu enfocat principalment a l'autoconsum per un model d'explotació a gran escala ha tingut lloc de forma força recent al nostre país. Des de principis del segle XX, una demanda creixent per part dels consumidors ha forçat una modernització dels conreus i una selecció de les varietats més adequades. Millorar les característiques agronòmiques per tal de suplir les demandes dels consumidors i, alhora, aportar beneficis als agricultors i a la indústria són els principals objectius dels programes de millora. Entendre la base genètica que controla els caràcters comercialment importants permet als milloradors fer la seva feina de manera més eficient, és a dir, estalviant temps i diners.

## **1. EL PRESSEGUER COM A OBJECTE D'ESTUDI**

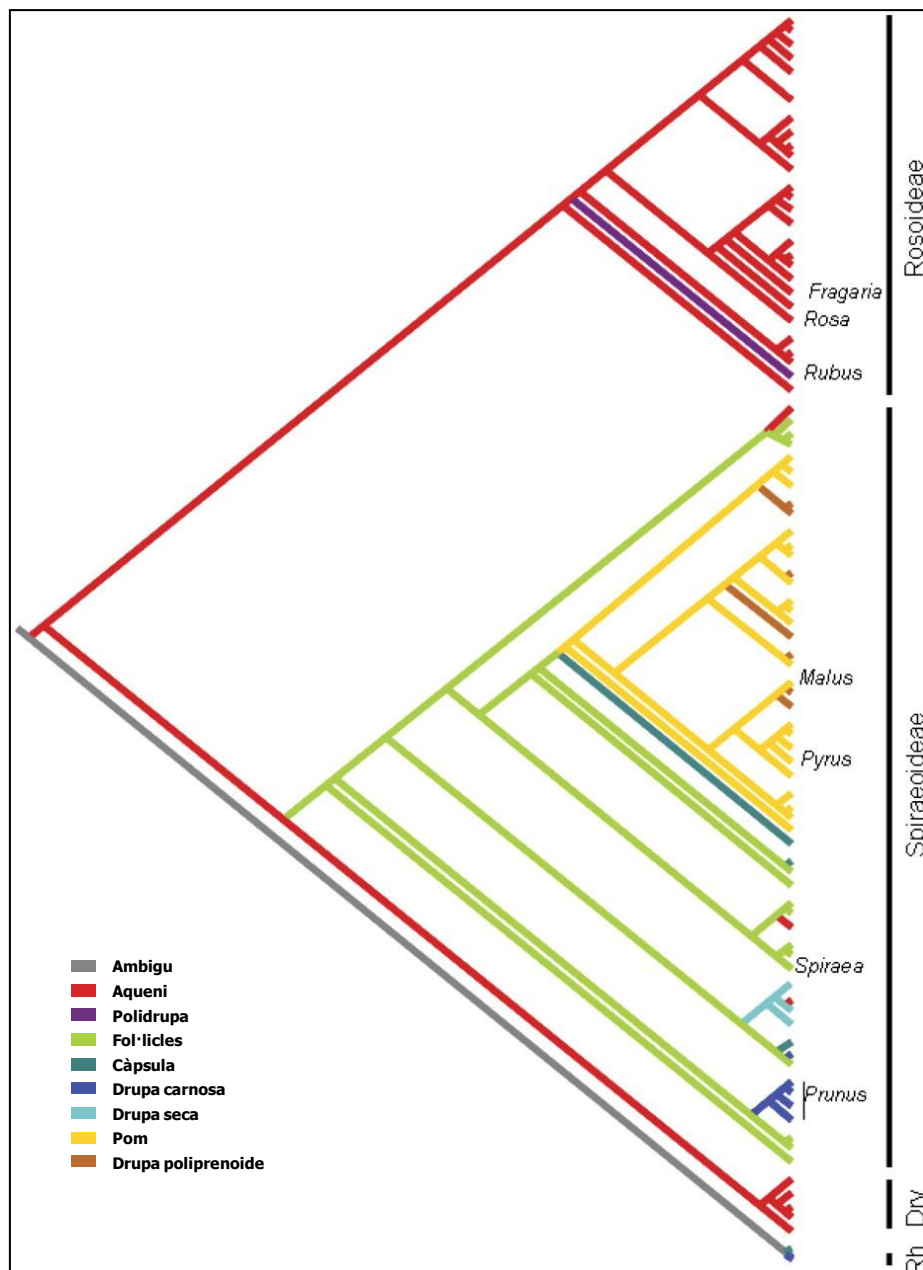
### **1.1 POSICIÓ TAXONÒMICA**

El presseguer, *Prunus persica* (L.) Batsch, és un arbre que pertany a la família de les rosàcies (*Rosaceae*) que comprèn al voltant de 3000 espècies agrupades en més de 100 gèneres (Dirlewanger et al. 2002).

Tradicionalment aquesta família s'ha dividit en quatre subfamílies, basant-se en les característiques de floració i fructificació: *Rosoideae* (*Rosa*, *Fragaria*, *Potentilla* i *Rubus*; fruit=aqueni;  $x=7, 8$  o  $9$ ), *Prunoideae* (*Prunus*; fruit=drupa;  $x=8$ ), *Spiraeoideae* (*Spiraea*; fruit=fol·licle o càpsula;  $x=9$ ) i *Maloideae* (*Malus*, *Pyrus* i *Cotoneaster*; fruit=pom;  $x=17$ ) (Potter et al. 2002). No obstant, estudis filogenètics recents permeten dividir la família *Rosaceae* en tres noves subfamílies en base a la informació obtinguda a partir de la seqüència de sis gens nuclears i quatre gens cloroplàstics.



Aquesta recent subdivisió inclou *Dryadoideae* (inclou *Cercocarpus*, *Dryas* i *Purshia*;  $x=9$ ), *Rosoideae* (inclou *Fragaria*, *Potentilla*, *Rosa*, *Rubus* i altres;  $x=7$ ) i *Spiraeoideae* (inclou diverses espècies amb nombres de cromosomes  $x=8, 9, 15$  o  $17$ ) (Potter et al. 2007; Figura 1). D'acord amb aquesta darrera classificació, els grups taxonòmics que formaven part de *Maloideae* i *Prunoideae* es classifiquen dins la subfamília *Spiraeoideae*, amb el gènere *Malus* localitzat en la tribu *Pyreae* i *Prunus* en la tribu *Amygdaleae* (Potter et al. 2007).



**Figura 1:** Arbre filogenètic de la família *Rosaceae*, en el que es pot apreciar la posició d'algunes espècies econòmicament importants. Les tres subfamílies proposades per Potter et al. (2007) apareixen en el marge dret. *Dry*, *Dryadoideae*. En l'anàlisi filogenètica també s'utilitzaren espècies representatives de la família *Rhamnaceae* (Rh) (Adaptat de Schulaev et al. 2008).

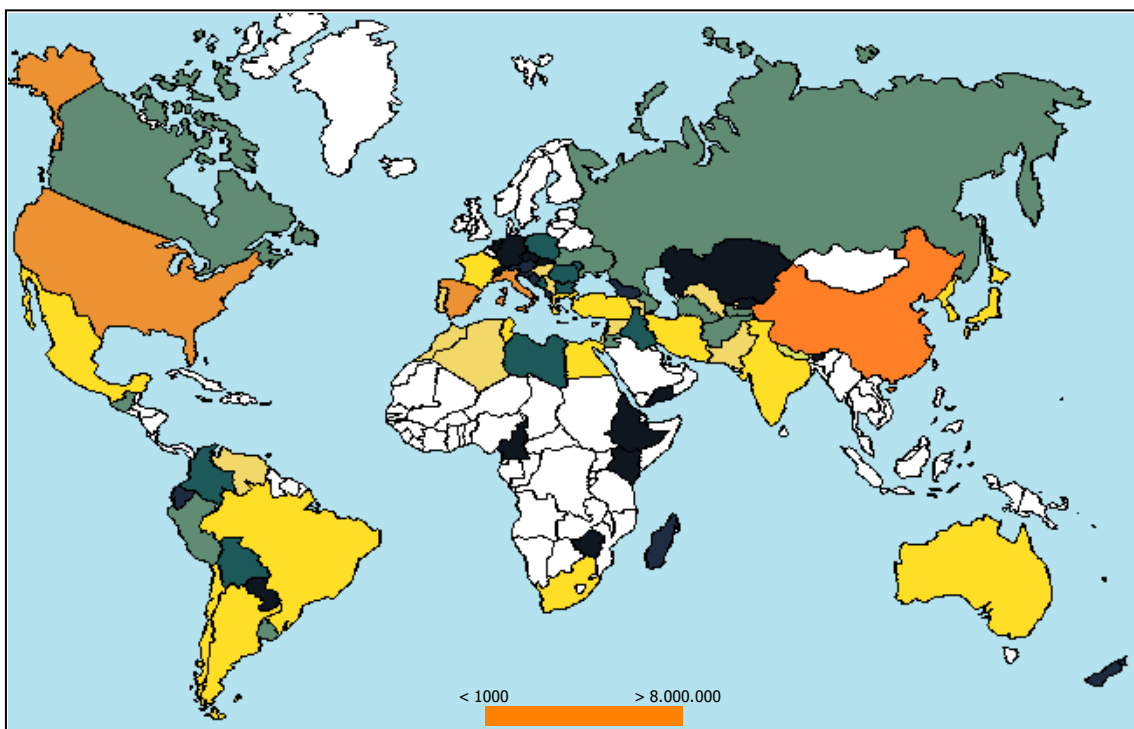
El gènere *Prunus* agrupa un nombre important d'espècies d'arbres en els que el seu fruit, en forma de drupa, presenta la llavor protegida a l'interior d'un endocarp lignificat. Dins del gènere destaquen espècies d'una important rellevància econòmica com el presseguer (*Prunus persica*), la prunera (*P. domestica*), la prunera japonesa (*P. salicina*), l'albercoquer (*P. armeniaca*), el guinder (*P. cerasus*), el cirerer (*P. avium*) i l'ametller (*P. dulcis*). Altres espècies com *P. davidiana*, *P. ferganensis*, *P. kansuensis*, *P. cerasifera* i *P. mira*, que presenten fruits de poca qualitat, destaquen per la seva capacitat d'adaptació enfront nombroses condicions d'estrès, tan d'origen biòtic com abiòtic. Aquestes característiques els hi confereixen un paper agronòmic com a portaempelts o bé com a germoplasma a partir del qual incorporar aquests caràcters a les noves varietats dels conreus més importants.

## **1.2 ORIGEN I DISTRIBUCIÓ DEL PRESSEGUER**

L'origen del presseguer s'ha situat a la Xina (Wang i Zuang, 2001), concretament a la conca del riu Tarim, en la que s'han trobat indicis del seu cultiu que daten entre el 3300 i el 2500 aC. (Faust i Timon, 1995). És en aquesta regió on encara podem trobar presseguers en estat salvatge i on l'espècie presenta la màxima biodiversitat genètica (Yoon et al. 2006). Des d'allà, seguint les rutes comercials entre orient i occident, hauria arribat a Europa a través de l'antiga Pèrsia (República Islàmica d'Iran). No va ser fins segles més tard que la colonització espanyola i portuguesa en primera instància i, posteriorment, l'anglesa introduïren el presseguer al continent americà (Hesse, 1975; Faust i Timon, 1995; Scorza i Sherman, 1996). A mitjans del segle XX, començaren als Estats Units d'Amèrica (EUA) els programes de millora moderna d'aquesta espècie, usant com a material de partida algunes varietats conreades en aquest país i amb la introducció de nou germoplasma d'origen xinès. Aquests programes van tenir molt d'èxit i d'ells en deriven la major part dels cultivars comercials utilitzats en els programes de millora actuals a Europa i els EUA. Això ha generat una reducció dràstica de la variabilitat genètica d'aquests materials. Per tant, i malgrat la variabilitat existent en l'espècie és més gran, la base genètica del presseguer cultivat actualment resulta força limitada (Okie et al. 1985; Scorza et al. 1985).

### 1.3 IMPORTÀNCIA ECONÒMICA

El cultiu del presseguer està adaptat a les zones temperades i subtropicals del planeta, una franja que s'estén entre els 30º latitud nord i els 45º sud (Hesse, 1975; Scorza i Sherman, 1996; Badenes et al. 1998). La producció mundial de préssec i nectarina va superar els 18 milions de tones al 2008, essent la tercera fruita dolça més produïda a nivell mundial després de la poma i la pera. Entre els principals productors de préssec i nectarina trobem la Xina (8,329,329 tones), Itàlia (1,589,118 tones) i els Estats Units d'Amèrica (1,302,536 tones) (FAOSTAT, 2010) (Figura 2).



**Figura 2:** Distribució de la producció mundial de préssec/nectarina durant l'any 2008 (Font: FAOSTAT, 2010).

A nivell europeu la producció de préssec ocupa una extensió de 275,387 hectàrees i genera més de 4 milions de tones. La producció es concentra quasi exclusivament en els països de l'àrea mediterrània: Itàlia, Espanya, Grècia i França, ja que el risc de gelades és inferior que als països del nord d'Europa, on el seu conreu és poc important i es destina quasi exclusivament a l'autoconsum.

Espanya és actualment el segon productor europeu i quart a nivell mundial, amb una producció de 1,159,300 tones (MARM, 2010). A Catalunya, el préssec és juntament

amb la pera i la poma, l'espècie de fruita dolça més important, ocupant una superfície de 17,263 hectàrees i una producció de 343,866 tones (DAR 2010).

Tanmateix, entre totes les espècies de fruiters, el presseguer és segurament la que té un major dinamisme, amb l'aparició de més de 500 novetats comercials en la darrera dècada del segle XX (Fideghelli et al. 1998). Aquest dinamisme sembla veure's afavorit pel fet que els consumidors no solen fixar-se en la varietat que consumeixen i, per tant, mostren una flexibilitat a l'evolució del mercat (Scorza i Okie, 1990). Alhora, el desenvolupament de noves varietats permet un aprovisionament continuat dels mercats des del mes de maig fins a l'octubre i una substitució progressiva de les varietats clàssiques per altres que presenten una qualitat global (coloració, gust, calibre, fermesa) de major interès.

## **2. GENÈTICA DEL PRESSEGUER**

El presseguer, degut a la mida reduïda del seu genoma, la seva proximitat genètica a altres espècies de gran importància econòmica com la pomera, l'ametller, l'albercoquer, la maduixa o el roser, entre altres (Dirlewanger et al. 2004), i el seu relativament curt estadi juvenil (dos o tres anys) fa que sigui considerat model tant pel gènere *Prunus* (Abbott et al. 2002; Schulaev et al. 2008) com per la família sencera de les Rosàcies (Sosinski et al. 2000).

Des d'un punt de vista genètic, el presseguer és una espècie diploide amb  $x=8$  (Jelenkovic i Harrington, 1972) i un genoma petit, d'aproximadament  $0.30 \pm 0.02$  pg d'ADN per nucli haploide o 300 Mb (Baird et al. 1994), pràcticament el doble de la mida del genoma d'*Arabidopsis* (Arumuganathan i Earle, 1991), però més petit que el genoma de *Populus* i *Malus*, aquest últim recentment seqüenciat (Tuskan et al. 2006; Velasco et al. 2010).

El presseguer és autocompatible i encara que és preferentment autògam pot presentar un cert grau de pol·linització creuada. L'existència de pol·linització creuada té efectes en els programes de millora, no només per la necessitat de controlar la pol·linització dels individus, sinó també per la possible contribució en l'augment de l'heterozigositat i el manteniment dels nivells de variabilitat genètica (Byrne, 1990).

### **3. MARCADORS GENÈTICS**

Un marcador genètic és qualsevol polimorfisme genètic d'herència mendeliana simple. Un marcador genètic ideal ha de ser selectivament neutre (no epistàtic), reproduïble i independent de les variacions ambientals, altament polimòrfic (molts al·lels a freqüències intermèdies), codominant (permet diferenciar els dos genotips homozigots entre ells i de l'heterozigot) i discriminant (permet detectar diferències entre individus estretament relacionats).

Els requeriments específics de cadascuna de les aplicacions condicionarà la utilització d'un tipus o altre de marcador.

#### **3.1 MARCADORS MORFOLÒGICS**

Els primers marcadors que es van utilitzar van ser aquells basats en les diferències fenotípiques. Els trets morfològics controlats per un sol gen poden ser utilitzats com a marcadors si la seva expressió resulta primerenca, reproduïble en qualsevol ambient i estan estretament lligats amb el caràcter d'interès. No obstant, a més de ser escassos, presenten un important nombre de limitacions: nivells baixos de polimorfisme, pleiotropia (el mateix gen afecta diversos caràcters), epístasi (altres gens interfereixen en l'expressió d'aquest gen) i alguns són deleteris.

En aquest sentit, el presseguer és l'espècie del gènere *Prunus* millor caracteritzada amb un elevat nombre de gens amb herència mendeliana que controlen caràcters agronòmicament importants (Hesse, 1975; Monet et al. 1996) (Taula 1).

#### **3.2 MARCADORS BIOQUÍMICS**

Els marcadors bioquímics es basen en la variació genètica de les proteïnes. Els més importants són els isoenzims, que van ser descrits per primera vegada al 1957 (Hunter i Marker, 1957) com a variants d'un mateix enzim presents en un mateix individu. Aquesta definició engloba aquelles variants que són producte de diferents gens i que

per tant representen diferents loci (isoenzims), i aquelles que deriven de diferents al·lels d'un mateix gen (al·loenzims).

**Taula 1:** Alguns caràcters morfològics determinats per gens majors descrits al presseguer

Caràcter		Símbol	Referències
<b><u>Caràcters que afecten la flor</u></b>			
Androesterilitat	(fèrtil/estèril)	<i>Ps</i>	Scott i Weinberg, 1944; Chaparro et al. 1994
Color de la flor	(rosa/rosa pàl·lid)	<i>Fc</i>	Yamamoto et al. 2001
Flor doble	(senzilla/doble)	<i>Dl</i>	Lammerts, 1945
Forma del pètal	(showy/non-showy)	<i>Sh</i>	Bailey i French, 1942
<b><u>Caràcters que afecten al fruit</u></b>			
Acidesa	(àcid/subàcid)	<i>D</i>	Monet, 1979
Adhesió de la carn	(clingstone/freestone)	<i>F</i>	Bailey i French, 1949
Vellositat de la pell	(préssec/nectarina)	<i>G</i>	Blake, 1932
Color de la carn	(blanc/groc)	<i>Y</i>	Connors, 1920
Color de la pell	(vermell/verd)	<i>Sc</i>	Yamamoto et al. 2001
Coloració al voltant del pinyol	(vermell/blanc)	<i>Cs</i>	Yamamoto et al. 2001
Forma del fruit	(plana/arrodonida)	<i>S*</i>	Lesley, 1939
Gust de la llavor	(amarga/dolça)	<i>Sk</i>	Werner i Creller, 1997
Pistil policarpel·lar	(mono/poli)	<i>Pcp</i>	Bliss et al. 2002
Textura de la carn	(fibrosa/fina)	<i>M</i>	Bailey i French, 1949
<b><u>Caràcters que afecten a les fulles</u></b>			
Coloració de la fulla	(vermell/verd)	<i>Gr</i>	Blake, 1937
<i>Evergrowing</i>	(caducifoli/perennifoli)	<i>Evg</i>	Rodriguez et al. 1994
Forma de la fulla	(estreta/ampla)	<i>Nl</i>	Yamamoto et al. 2001
Glàndules foliars	(reniformes/globoses)	<i>E</i>	Connors, 1920
<b><u>Resistència a patògens</u></b>			
Resistència a <i>M. incognita</i>	(resistent/susceptible)	<i>Mi</i>	Weinberg et al. 1943
Resistència a <i>M. javanica</i>	(resistent/susceptible)	<i>Mj</i>	Sharpe et al. 1970
Resistència a <i>S. panosa</i>	(resistent/susceptible)	<i>Sf</i>	Dabov, 1983

Malgrat catalitzar la mateixa reacció, aquests enzims presenten variacions en la seqüència aminoacídica que provoquen divergències en els paràmetres físics (càrrega, pI, estructura...), cinètics ( $K_M$ ,  $V_{max}$  ...) i en les propietats de regulació; el que fa possible discriminar entre les diferents isoformes, normalment per mitjà de la seva separació per electroforesi.

Tanmateix, en aquests moments, els isoenzims han estat àmpliament superats per altres marcadors basats en la seqüència de l'ADN. No obstant, se segueixen situant entre els marcadors de bona qualitat més ràpids i econòmics de desenvolupar. La seva limitació fonamental és que tant el nombre de sistemes enzimàtics com el nivell de polimorfisme dels mateixos resulta baix.

### **3.3 MARCADORS MOLECULARS**

El desenvolupament dels marcadors moleculars, basats en l'anàlisi de la variabilitat de l'ADN ha permès solucionar, en gran part, les mancances que presenten la resta de marcadors, ja que es tracta de marcadors que es poden trobar en un nombre pràcticament il·limitat, es distribueixen homogèniament en el genoma i no estan influïts per l'ambient ni solen interaccionar entre ells (Tanksley et al. 1989).

#### **3.3.1 RFLPs (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*)**

Els RFLPs es van desenvolupar a principis dels anys 80 i es van aplicar inicialment a l'estudi del genoma humà (Botstein et al. 1980; Wyman i White, 1980). El primer mapa genètic obtingut en plantes mitjançant RFLPs es va construir anys més tard en tomàquet (Bernatzky i Tanksley, 1986).

Aquests marcadors es basen en la detecció del polimorfisme generat a partir de la digestió de l'ADN genòmic amb enzims de restricció. El polimorfisme, provocat per la variació de les dianes de restricció, es detecta per la metodologia *Southern blot* (transferència, hibridació i detecció de l'ADN genòmic mitjançant sondes radioactives) i acostuma a ser codominant.

Els RFLPs resolen el problema del baix nombre de marcadors dels isoenzims, pel que suposen una eina molt útil per a la caracterització de la variabilitat en col·leccions de germoplasma o pel desenvolupament dels primers mapes de lligament en fruiters (Baird et al. 1996). A més, una de les propietats més importants dels RFLPs és la seva transportabilitat, és a dir, la possibilitat d'utilitzar els marcadors mapats en una

població per estudis de lligament en altres poblacions o inclús en altres espècies més o menys properes.

Entre els seus inconvenients destaquen la lentitud, la complexitat i l'elevat cost de la metodologia (Staub et al. 1996). A més, en espècies autògames o amb un elevat nivell d'endogàmia poden resultar poc informatius, ja que en aquests casos molts RFLPs poden ser monomòrfics (Baird et al. 1996).

### **3.3.2 RAPDs** (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

Els RAPDs van ser els primers marcadors basats en la reacció en cadena de la polimerasa (*Polymerase Chain Reaction* o PCR). Els RAPDs són fragments aleatoris i curts (200-2000 pb) del genoma que s'amplifiquen a partir encebadors curts, d'uns 10 nucleòtids. L'anàlisi dels fragments amplificats es realitza mitjançant electroforesi en gels, generalment d'agarosa.

El polimorfisme es deu bàsicament a diferències en el lloc d'ancoratge dels encebadors o bé a insercions/delecions (indel) en la regió compresa entre dos d'ells. A diferència dels RFLPs, els RAPDs són majoritàriament marcadors dominants – detecten l'existència o no d'un fragment amplificat, el que no permet discriminar l'homozigot, que té dues còpies d'aquest fragment, de l'heterozigot que només en té una –.

El seu principal inconvenient a més de la dominància és la baixa reproductibilitat del patró de bandes obtingut, degut principalment a la mida reduïda dels encebadors i a la baixa temperatura d'hibridació emprada en la PCR (normalment 35°C) (Skroch i Nienhuis, 1995).

### **3.3.3 AFLPs** (*Amplified Fragment Length Polymorphisms*)

A mitjans de la dècada dels 90 es van introduir els marcadors de tipus AFLPs, un sistema que combina la digestió amb enzims de restricció usada als RFLPs i la PCR. Tanmateix, tot i ser un mètode basat en la PCR, el polimorfisme que es detecta sorgeix de les variacions existents en les dianes de restricció (Vos et al. 1995). La metodologia



de detecció consisteix en una digestió de l'ADN genòmic amb dos enzims de restricció, generalment *MseI* i *EcoRI*. El primer és un enzim de tall freqüent, ja que té una diana de només quatre nucleòtids (T↓TAA). En canvi, *EcoRI* reconeix sis nucleòtids (G↓AATTC) i, a diferència d'altres enzims, és insensible a la metilació de la citosina. S'ha suggerit que la sensibilitat de l'enzim a la metilació pot influir en la distribució dels AFLPs en el genoma (Young et al. 1999); conseqüentment la utilització d'AFLPs obtinguts a partir de la digestió amb diferents enzims de restricció pot contribuir a una millor cobertura del genoma (Young et al. 1999; Rajapakse et al. 2001). Els fragments obtinguts a partir de la digestió de l'ADN genòmic són lligats a adaptadors específics als talls generats pels enzims de restricció i, posteriorment, amplificats en dos passos successius. Finalment, els fragments amplificats se separen mitjançant electroforesi en gels d'acrilamida en condicions desnaturalitzants. Generalment, la interpretació dels resultats és del tipus presència o absència del producte amplificat, resultant doncs marcadors dominants. Utilitzant combinacions d'encebadors amb diferents bases selectives o emprant diferents enzims de restricció amb els seus corresponents adaptadors podem disposar d'un nombre pràcticament il·limitat de marcadors (Garcia-Mas et al. 2001).

Els AFLPs tenen un elevat grau de reproductibilitat (Jones et al. 1997), que unit a la seva capacitat de detectar polimorfismes i a la seva consistència els converteixen en marcadors àmpliament utilitzats en estudis de diversitat i d'identificació de cultivars. A la vegada, són especialment útils per a la detecció de marcadors lligats a gens pel procediment del *bulk segregant analysis* (Michelmore et al. 1991) encara que el seu caràcter dominant limita la seva aplicació en altres camps com la construcció de mapes o l'anàlisi de caràcters quantitius.

### **3.3.4 Microsatèl·lits (*Simple Sequence Repeats*)**

Els microsatèl·lits o SSRs consisteixen en repeticions en tàndem de seqüències d'1 a 6 nucleòtids flanquejades per seqüències altament conservades (Chambers i MacAvoy, 2000; Zane et al. 2002), tant en individus de la mateixa espècie (Lavi et al. 1994) com en espècies properes (Butcher et al. 2000; Dirlewanger et al. 2002).

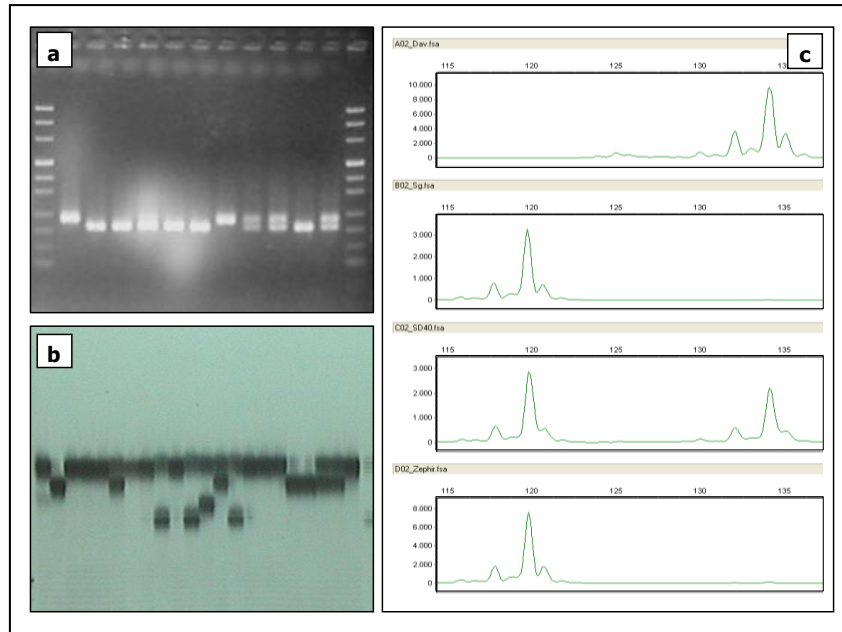
Els SSRs són omnipresents en procariotes i eucariotes, fins i tot en els genomes bacterians més petits (Gur-Arie et al. 2000). Es troben distribuïts per tot el genoma, tant en regions codificants com no codificants, si bé en aquestes últimes es troben en menor freqüència (Wang et al. 1994; Smulders, 1997; Metzgar et al. 2000; Morgante et al. 2002). Aquest biaix en la distribució suggereix un possible paper regulador de l'activitat gènica mitjançant algun mecanisme que impliqui canvis en l'empaquetament de la cromatina o en els processos de replicació, recombinació i reparació de l'ADN (Li et al. 2002; Chistiakov et al. 2006).

La variabilitat en aquestes regions consisteix en modificacions en el nombre de repeticions de la seqüència en tàndem (Amos i Pemberton, 1992), possiblement provocat per errors de la polimerasa durant la replicació de l'ADN (Schlotterer i Tautz, 1992; Jin et al. 1996).

Les repeticions de tipus (AT)<sub>n</sub> i (GT)<sub>n</sub> són les més abundants en plantes, mentre que les repeticions (AC)<sub>n</sub> ho són en animals (Morgante i Olivieri, 1993; Panaud et al. 1995; Roder et al. 1995; Morgante et al. 2002). Aquest patró podria estar relacionat amb l'elevada freqüència en que certs aminoàcids es troben en les plantes, respecte de la seva freqüència en els animals (Tóth et al. 2000).

Els microsatèl·lits són marcadors codominants, hipervariables i altament reproduïbles. Generalment permeten la detecció d'un sol locus, de manera que els individus heterozigots mostren patrons simples de dues bandes, cadascuna d'elles heretada d'un dels progenitors, mentre que els homozigots presenten una sola banda.

El polimorfisme dels microsatèl·lits dona lloc a diferències en la mida dels fragments amplificats, que poden detectar-se per diversos mètodes: electroforesi en gels d'agarosa i tinció amb bromur d'etidi, electroforesi en gels d'acrilamida desnaturalitzants i detecció per marcatge radioactiu i, finalment, electroforesi capil·lar en seqüenciador automàtic i detecció amb marcatge fluorescent (Figura 3).



**Figura 3:** Diferents microsatèl·lits separats mitjançant electroforesi en a) gels d'agarosa i tinció en bromur d'etidi, b) acrilamida en condicions desnaturalitzants i detecció per marcatge radioactiu i c) electroforesi capil·lar i detecció amb marcatge fluorescent.

### 3.3.5 SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*)

Els SNPs són polimorfismes basats en el canvi d'una única base nucleotídica en la seqüència d'ADN que trobem en una població amb una freqüència al·lèlica superior a 1% (Brookes, 1999). Per tant, representen la unitat bàsica de variació genètica i són els més comuns dels marcadors genètics (Cho et al. 1999; Rafalski, 2002). Generalment, són marcadors bial·lèlics encara que formes tri- o tetraal·lèliques, tot i que rares, són possibles. Això es deu a que la probabilitat de que una mutació tingui lloc en la mateixa posició del genoma és molt baixa.

Els SNPs presenten una elevada freqüència respecte altre tipus de marcadors. En general, l'acumulació de SNPs té lloc en menor nombre a les regions codificants que en les no codificants o intròniques (Li i Sadler, 1991). Malgrat no produir un efecte en les proteïnes, els SNPs existents en les seqüències intròniques són emprats per estudis de genòmica comparativa i/o evolutiva. La seva presència en les regions reguladores pot provocar, al seu torn, alteracions en els patrons d'expressió de les proteïnes afectades, mentre que, en les regions exòniques, els SNPs poden provocar modificacions en la seqüència, estructura i activitat de les proteïnes per les que codifiquen.

Excepcionalment, aquestes alteracions poden representar un avantatge evolutiu enfront certs estímuls ambientals.

Per bé que el seu desenvolupament és inicialment costós, els recents progressos tecnològics que han permès l'abaratiment de la seqüenciació de l'ADN els ha convertit en marcadors potencialment més útils i han substituït, o ho faran en els propers anys, els SSRs com a marcadors més utilitzats en la majoria d'espècies.

Existeixen moltes tècniques per a la detecció i genotipatge dels SNPs, escollir-ne una dependrà del número de mostres i SNPs a analitzar i dels recursos disponibles.

### ***Tècniques pel genotipatge de SNPs***

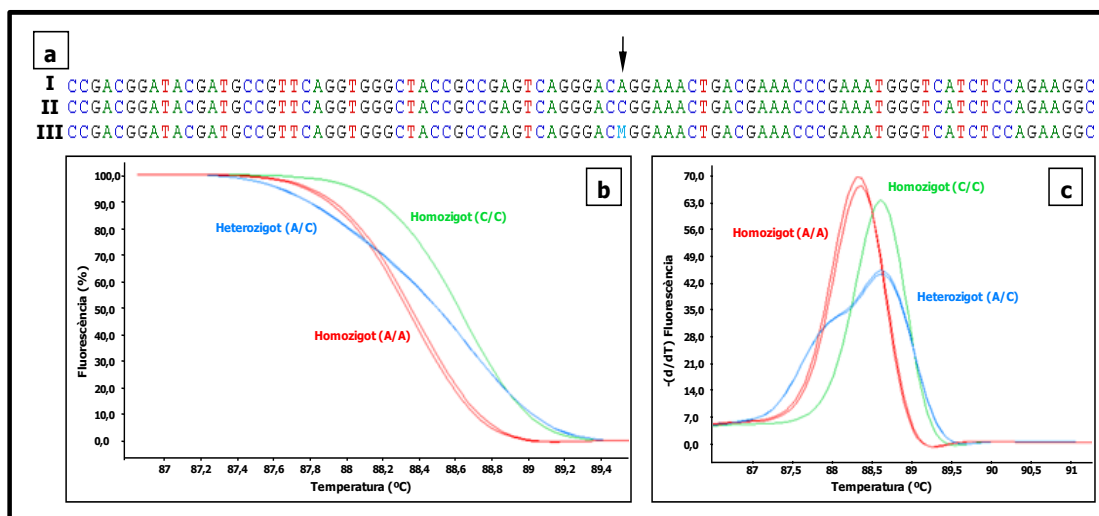
Les tècniques actuals de genotipatge de SNPs van precedides majoritàriament per una etapa d'amplificació. Aquesta etapa inicial d'amplificació al·lel-específica permet incrementar el nombre de molècules disponibles facilitant la detecció i posterior diferenciació. Entre els mètodes més comuns pel genotipatge de SNPs tenim l'extensió d'un únic encebador (*primer extension*), la hibridació, la lligació, el processament enzimàtic (*enzymatic cleavage*) o la seqüenciació directa.

L'extensió d'un únic encebador es basa en l'addició específica d'un sol nucleòtid en una reacció extensió d'un ADN motlle (Sokolov, 1990). La identificació del nucleòtid incorporat té lloc mitjançant fluorescència – SNaPshot<sup>®</sup> (Applied Biosystems, CA) o piroseqüenciació (Ronaghi et al. 1996; Alderborn et al. 2000) – o bé espectrometria de masses per MALDI-TOF (*Matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight*) (Braun et al. 1997; Haff i Smirnov, 1997; Fei et al. 1998; Ross et al. 1998; Cashman et al. 2001; Kim et al. 2002; Sauer et al. 2002).

La hibridació utilitza les diferències existents entre l'estabilitat tèrmica de la doble cadena d'ADN, en aquells casos en que hi ha una complementarietat perfecta, respecte els casos en que existeix algun aparellament erroni. Aquestes diferències es poden detectar a partir de l'anàlisi de les corbes de fusió de l'ADN. Històricament, aquests assajos utilitzaven lectures d'absorbància per monitoritzar la separació dels dúplex d'ADN (SantaLucia i Hicks, 2004). Tanmateix, durant la darrera dècada, el desenvolupament d'una nova generació de fluorocroms, capaços d'unir-se

específicament a l'ADN bicatenari sense interferir en la PCR, ha permès que el monitoratge es pugui realitzar en aparells de PCR en temps real (Wittwer et al. 1997).

L'anàlisi d'alta resolució de la corba de fusió de l'ADN o *High resolution melting analysis* (HRM) és un nou mètode post-PCR, desenvolupat recentment, que permet detectar variacions genètiques com SNPs, SSRs i metilacions de l'ADN en amplicons de PCR (Herrmann et al. 2007b; White et al. 2007; Stephens et al. 2008). En el cas dels SNPs, l'HRM permet discriminar tant els dos amplicons homozigots com el seu heterozigot (Bennet et al. 2003; Zhou et al. 2005; Herrmann et al. 2007a) (Figura 4).



**Figura 4:** Alineament de seqüències i perfils d'HRM de l'amplicó MDP0000475073. (a) Alineament de les 3 variants que tenen lloc en una mateixa posició nucleotídica (fletxa), (b) Perfils de les corbes normalitzades de les 3 variants detectades, (c) Perfil de la derivada de la fluorescència de les mateixes mostres. I=homozigot A/A, II=homozigot C/C i III=heterozigot A/C.

L'aproximació per lligació parteix tradicionalment de tres oligonucleòtids, dos d'ells específics d'al·lel i complementaris a la posició del SNP i un tercer complementari a la seqüència immediatament posterior al SNP (Landegren et al. 1998). Aleshores, si existeix complementarietat perfecta entre la cadena motlle i un dels oligonucleòtids específics, les lligases, enzims capaços d'unir els extrems 3' i 5' de dues cadenes d'àcids nucleics uniran ambdós oligonucleòtids. Posteriorment, només caldrà detectar els productes de lligació.

Els mètodes de processament enzimàtic es basen en la capacitat que tenen els enzims de restricció per processar l'ADN gràcies a un reconeixement específic de la seqüència i

l'estructura. Dins d'aquest conjunt hi trobaríem els marcadors CAPS (*Cleaved Amplified Polymorphic Sequence*) que es basen en la detecció diferencial d'una diana de restricció en un amplicó determinat (Konieczny i Ausubel, 1993; Michaels i Amasino, 1998). Aquesta diana es detecta en un dels al·lels però no en l'altre, el que produeix marcadors codominants que habitualment es poden separar en gels d'agarosa.

La seqüenciació directa dels productes de PCR, si bé és una aproximació costosa, ha estat durant temps un dels mètodes de detecció de SNPs més utilitzats (Kwok i Duan, 2003). La detecció i identificació de polimorfismes és pot realitzar fàcilment utilitzant qualsevol dels programes d'alineament de seqüències disponibles. La presència de pics dobles en el cromatograma és indicatiu de la presència d'un SNP. En canvi, el deteriorament sobtat de la qualitat del cromatograma indica la presència d'un indel.

**Taula 2:** Comparativa dels principals tipus de marcadors moleculars descrits.

	Quantitat d'ADN (µg)	Qualitat de l'ADN	Basats en la PCR	Nº de marcadors	Numero de loci analitzats	Polimorfisme	Codominància	Reproductibilitat	Cost desenvolupament	Cost per anàlisi	Automatització
<b>RFLPs</b>	10	Alta	No	Il·limitat	1 - 3	Mitjà	Sí	Molt Alta	Baix	Alt	Baixa
<b>RAPDs</b>	0,02	Moderada	Sí	Il·limitat	1 - 50	Mitjà	No	Mitjana	Baix	Baix	Moderada
<b>AFLPs</b>	0,5 - 1	Alta	Sí	Il·limitat	20 - 100	Alt	No	Alta	Moderat	Moderat	Moderada
<b>SSRs</b>	0,05	Moderada	Sí	Il·limitat	1 - 4	Molt alt	Sí	Molt Alta	Alt	Baix	Alta
<b>SNPs</b>	0,05	Alta	Sí	Il·limitat	1	Baix	Sí	Molt Alta	Alt	Baix	Molt Alta

### 3.4 APLICACIONS DELS MARCADORS

La genòmica, a més de l'enginyeria genètica, és una àrea important de la biotecnologia vegetal que ha proporcionat eines i oportunitats per facilitar o fer més eficient la millora genètica de les plantes. Els marcadors moleculars són una d'aquestes eines. Els marcadors moleculars s'han emprat en processos de propagació i millora que inclouen identificació i caracterització de germoplasma, anàlisi de pedigrí, identificació de cultivars, l'anàlisi genètica de caràcters d'interès d'herència senzilla i complexa i la selecció assistida per marcadors (MAS, de l'anglès *marker-assisted selection*) d'aquests caràcters.

### **3.4.1 Avaluació de la variabilitat present en col·leccions de germoplasma**

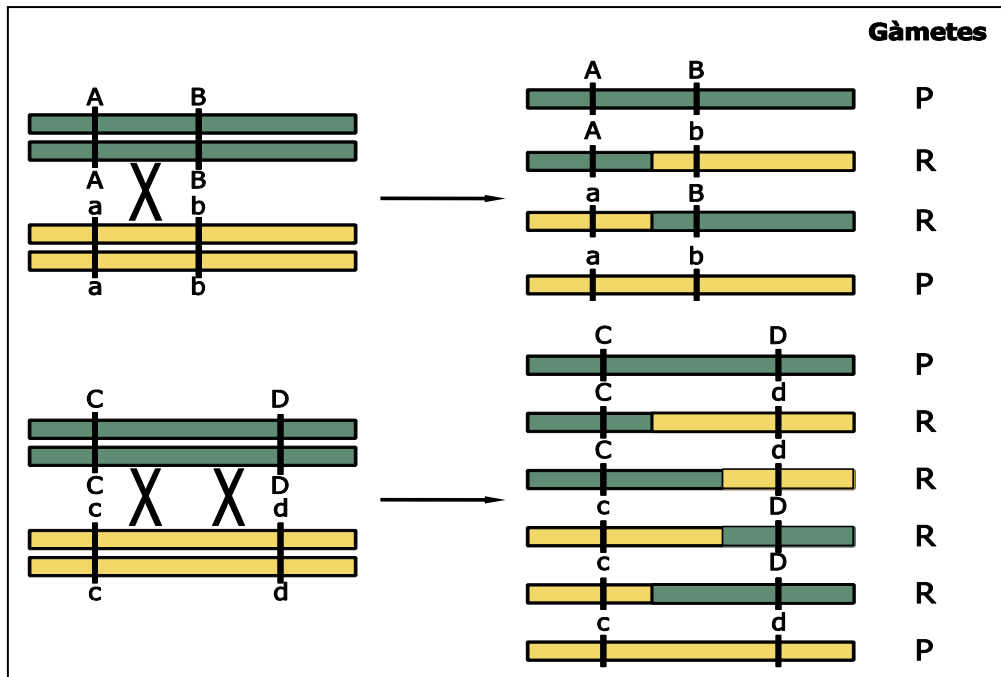
Els programes millora depenen de l'existència de variabilitat genètica en el material vegetal per tal d'assolir els seus objectius. La utilització de marcadors moleculars per l'avaluació de la diversitat al·lèlica en poblacions naturals o en material vegetal prèviament seleccionat permet la identificació de progenitors interessants i el disseny d'encreuaments per tal d'obtenir poblacions segregants amb les característiques de variabilitat desitjades (Tanksley i McCouch, 1997) i que facilitaran el disseny de futures estratègies de selecció (Steele et al. 2004).

### **3.4.2 Construcció de mapes genètics**

Un mapa genètic és una representació simplificada del genoma, en la que els gens o marcadors se situen ordenadament en la seqüència cromosòmica uns respecte als altres utilitzant com a base per a la seva posició la freqüència de recombinació entre parelles de gens o marcadors. Quan un mapa conté un nombre suficient de marcadors, aquests es distribueixen en tants grups, anomenats grups de lligament, com cromosomes té el seu genoma haploide.

Els mapes genètics estan basats en el principi del lligament, l'associació de loci propers entre si que tendeixen a transmetre's conjuntament a la descendència. Durant la meiosis els cromosomes homòlegs poden intercanviar fragments de material genètic (entrecreuament) donant lloc a combinacions al·lèliques diferents a les existents en els parentals (recombinants). Com que, en general, els entrecreuaments es produeixen a l'atzar, la freqüència de recombinació depèn de la distància física existent entre loci. Així, com més allunyats es troben dos loci més possibilitats hi ha que es produeixi un entrecreuament i major serà la freqüència de recombinació entre ells (Figura 5).

Els mapes es construeixen usant una població segregant en desequilibri de lligament (tipus  $F_2$ , retroencreuament, etc.). La freqüència de genotips recombinants entre dos loci permet calcular la freqüència de recombinació que hi ha entre ells, dada que permetrà calcular la distància genètica entre marcadors. A partir de l'anàlisi de la segregació dels diferents marcadors es pot determinar la posició, ordre i distància relativa entre ells.



**Figura 5:** Entrecreuaments entre cromosomes homòlegs produïts durant la meiosi. Els gàmetes obtinguts després de la meiosis són iguals als progenitors (P) o són recombinants (R). Com més baixa és la distància física entre dos marcadors, menor és la possibilitat de la recombinació entre ells. Conseqüentment, la taxa recombinació entre els marcadors C i D hauria de ser major que la que trobem entre A i B (Adaptat de Collard et al. 2005).

Per la construcció de mapes genètics diferenciem tres fases: (a) construcció d'una població de mapatge, (b) identificació de polimorfismes i (c) anàlisi del lligament i càlcul de marcadors.

### ***Construcció d'una població de mapatge***

La construcció d'un mapa de lligament requereix d'una població obtinguda a partir de creuaments controlats. La creació d'aquestes poblacions implica la selecció dels progenitors i el model de creuament més adequats. És fonamental que entre els progenitors existeixi un elevat polimorfisme molecular. A la vegada, si la població ha de ser utilitzada per estudis de variabilitat fenotípica qualitativa o quantitativa, el que en el darrer cas s'anomena anàlisi de QTLs (*Quantitative trait loci*), és important que ambdós progenitors presentin fenotips altament diferenciats per un o més dels caràcters d'interès.

El nombre d'individus necessari per a construir un mapa acostuma a oscil·lar entre els 50 i 250 (Mohan et al. 1997). Poblacions més grans poden ser necessàries per al



mapatge d'alta resolució de gens o QTLs concrets per tal de trobar marcadors que estiguin molt a prop o en aquells casos en que sigui necessari seqüenciar el gen (Tanksley et al. 1995).

Hi ha diferents tipus de població de mapatge, que s'escolliran en funció de les característiques reproductives de l'espècie, com la possibilitat o no de l'autofecundació, la existència o no de línies pures en l'espècie en la que es vulgui treballar i d'altres circumstàncies relacionades amb les segregacions més adequades per estudiar els caràcters fenotípics d'interès (McCouch i Doerge, 1995; Paterson, 1996b). Entre les descendències més utilitzades hi trobem les poblacions  $F_1$  segregants (encreuaments entre individus parcialment heterozigots no o poc relacionats, habitualment emprades en les espècies de reproducció vegetativa com la majoria dels arbres fruiters),  $F_2$ , retroencreuament o *backcross* (BC), línies consanguínies recombinants (*recombinant inbred lines* o RILs) i les col·leccions de línies diplohaploides (LDH) (Figura 6).

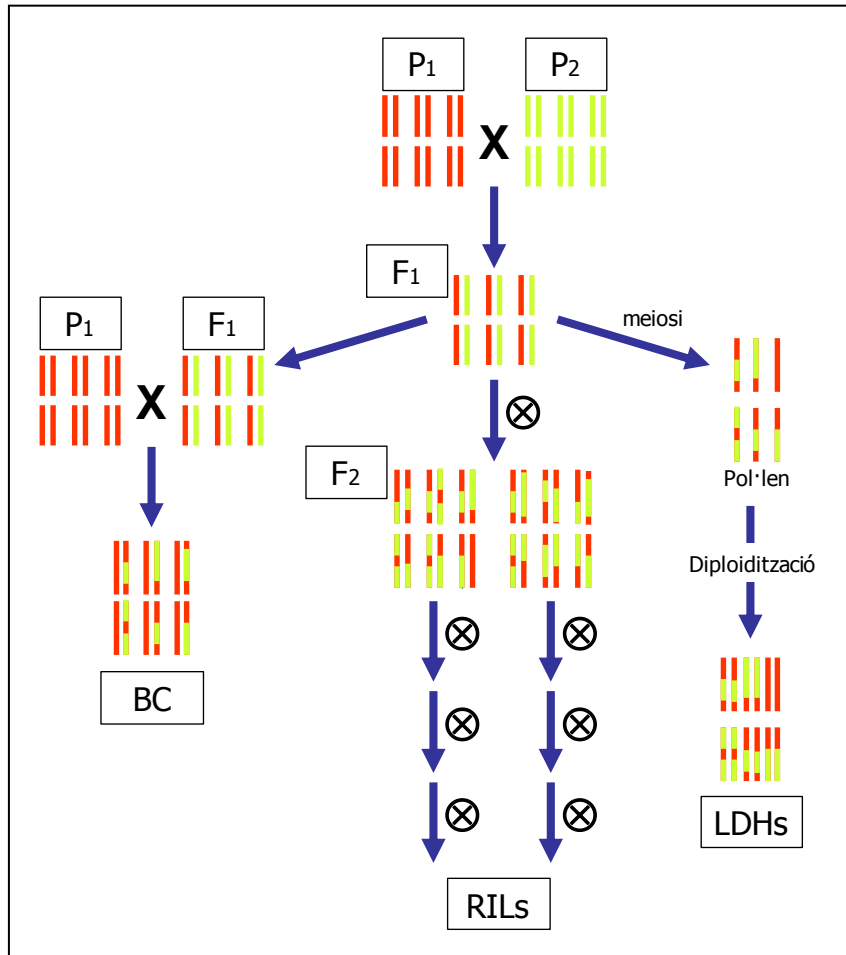
Hi ha diferències importants entre aquests tipus de poblacions. La primera és el nombre de meiosis que generen recombinacions: un sol esdeveniment en poblacions BC o LDHs; dos en poblacions  $F_1$  (evidentment quan es tracta de l'encreuament entre dues línies parcialment heterozigòtiques) o  $F_2$ ; i múltiples en les RILs. Un altre factor a tenir en compte és el temps d'obtenció, més curt per poblacions  $F_1$  que per  $F_2$ , BC o LDHs i llarg pel desenvolupament de RILs, que necessiten generalment sis o més generacions. Una altra diferència és el grau d'homozigosi: les poblacions de tipus  $F_1$ ,  $F_2$  i BC poden presentar individus amb genotips tant homozigòtics com heterozigots. En canvi, les LDHs i les RILs són homozigòtiques per a tots els marcadors.

### ***Identificació de polimorfismes***

Per a la construcció d'un mapa de lligament és fonamental que existeixi polimorfisme entre ambdós progenitors (Young, 1994). La selecció d'un o altre tipus de marcador està condicionada per la disponibilitat en l'espècie estudiada dels diferents tipus de marcadors (particularment en el cas dels SSRs i SNPs), l'adequació d'aquests al tipus d'anàlisi que es vulgui fer i els fons disponibles per a fer l'experiment.

Una vegada que els marcadors polimòrfics han estat identificats, normalment estudiant la seva variabilitat en els progenitors, s'han de genotipar a tota la població i fer una

estudi de l'ajustament entre les freqüències genotípiques observades i les esperades. Les proporcions de segregació esperada per cada locus són, per marcadors codominants, 1:2:1 en poblacions F<sub>2</sub> i 1:1 en BC, RILs i LDHs i, per marcadors dominants, 3:1 en poblacions F<sub>2</sub> i 1:1 en BC, RILs i LDHs. Desviacions d'aquestes freqüències poden ser detectades mitjançant una anàlisi estadística khi-quadrat ( $\chi^2$ ).

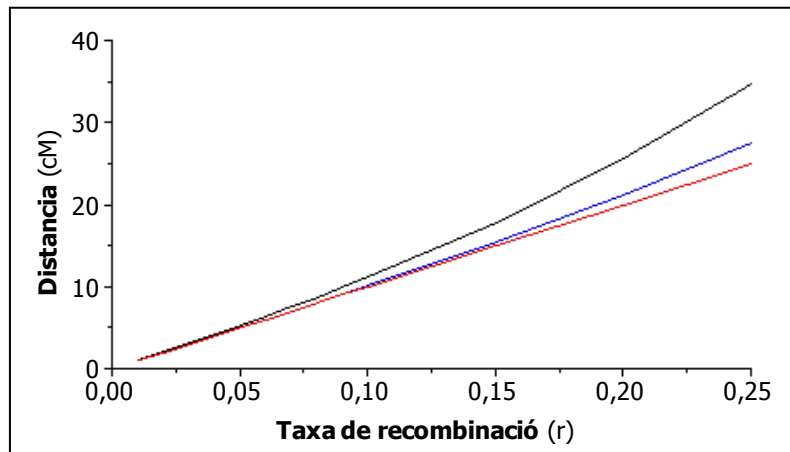


**Figura 6:** Principals tipus de poblacions de mapatge.

### ***Anàlisi del lligament i càlcul de les distàncies genètiques***

Un grup de loci que es troben en un mateix cromosoma i que es poden relacionar entre ells per estar lligats constitueixen un grup de lligament (Liu, 1998). El càlcul de la freqüència de recombinació ( $r$ ) permet estimar si dos loci estan o no lligats. Així, es diu que dos marcadors estan lligats quan la freqüència de recombinació és menor al 50% ( $r < 0.5$ ). A la vegada, dos marcadors estan completament lligats quan la freqüència de recombinació entre ells és igual a 0.

Un cop agrupats els marcadors en un grup de lligament, cal definir l'ordre relatiu més probable entre tots els ordres possibles. Per fer-ho s'han desenvolupat diferents mètodes estadístics (Liu, 1998) que en general es basen en la utilització d'algoritmes que busquen l'ordre que impliqui un menor nombre de recombinacions.



**Figura 7:** Relació entre la freqüència de recombinació (vermell) i la distància genètica. En negre es mostra la distància segons la funció de Haldane (1919) i en blau segons la funció de Kosambi (1944).

La distància genètica entre loci, expressada en centimorgans (cM), es mesura a partir de la freqüència de recombinació calculada entre els marcadors (Paterson, 1996a). Les funcions de mapatge permeten convertir aquestes freqüències de recombinació en distàncies genètiques. Les dues aproximacions més utilitzades són la funció de Kosambi (1944), que assumeix un cert grau d'interferència, és a dir, que la presència d'un esdeveniment de recombinació en un punt del genoma té un efecte negatiu en l'aparició d'altres entrecruaments en les zones adjacents, i la funció de Haldane (1919), que assumeix que no hi ha interferència (Hartl i Jones, 2009; Kearsey i Pooni, 1996). Tant en un cas com en l'altre, quan les distàncies genètiques són petites (<10 cM), la distància és aproximadament igual a la freqüència de recombinació (Figura 7). Tanmateix, aquesta relació no és aplicable quan les distàncies són superiors als 10 cM (Hartl i Jones, 2009).

### 3.4.2.1 Mapes genètics disponibles en el gènere *Prunus*

A partir del desenvolupament dels marcadors moleculars, que començà al tercer quart del segle XX, s'han elaborat nombrosos mapes genètics de moltes de les principals

espècies del gènere *Prunus*. Actualment disposem de mapes de lligament a presseguer (Chaparro et al. 1994; Rajapakse et al. 1995; Lu et al. 1998; Sosinski et al. 1998; Yamamoto et al. 2005; Dirlewanger et al. 2006; Blenda et al. 2007), ametller (Viruel et al. 1995; Joobeur et al. 2000; Ballester et al. 2001; Sánchez-Pérez et al. 2007), cirerer (Stockinger et al. 1996; Dirlewanger et al. 2007; Olmstead et al. 2008), guinder (Wang et al. 2000), albercoquer (Hurtado et al. 2002; Vilanova et al. 2003; Lambert et al. 2004; Dondini et al. 2007; Lalli et al. 2008), ametller × presseguer (Foolad et al. 1995; Joobeur et al. 1998; Jáuregui et al. 2001; Bliss et al. 2002; Dirlewanger et al. 2004; Howad et al. 2005), presseguer × *Prunus ferganensis* (Verde et al. 2005) i *Prunus davidiana* × presseguer (Quilot et al. 2004).

El mapa de la població F<sub>2</sub> del creuament entre ametller (cv. Texas) × presseguer (cv. Earlygold) (T×E) és considerat com el mapa de referència del gènere *Prunus* (Joobeur et al. 1998, Aranzana et al. 2003; Dirlewanger et al. 2004). Aquest mapa conté 562 marcadors, tots ells transferibles (RFLPs i SSRs, bàsicament), que identifiquen els vuit grups de lligament esperats, cobrint un total de 519 cM i detecten la posició de 28 gens majors que controlen alguns caràcters agronòmics com són les resistències a determinades malalties i diverses característiques del fruit, la flor i la planta (Dirlewanger et al. 2004). Aquest mapa ha estat assumit per la comunitat científica com el de referència del gènere *Prunus*, a partir del que s'han numerat els grups de lligament i ha estat utilitzat per molts investigadors com a base per a la selecció de marcadors per a la construcció de mapes en altres poblacions que cobriessin tot el genoma.

### **3.4.2.2 Genotipatge selectiu o bin mapping**

La localització de nous marcadors en un mapa genètic, particularment quan n'hi ha molts, requereix un esforç important en concepte de temps i diners. Una estratègia alternativa és el mapatge selectiu o *bin mapping* (Vision et al. 2000). Aquest mètode parteix d'un mapa genètic saturat (amb una densitat de marcadors que permeti identificar només un grup de lligament per cromosoma) de la població d'estudi on els marcadors hauran estat col·locats amb precisió. Amb aquest mapa es selecciona un subconjunt d'individus de la població de mapatge que són altament informatius (tenen moltes recombinacions i les tenen distribuïdes per tot el genoma considerant el conjunt

de les plantes seleccionades) que permeten mapar nous marcadors utilitzant aquest subconjunt amb una pèrdua el menor possible de precisió. D'aquesta manera és possible situar en el mapa molts marcadors amb un cost i un temps inferior que el que hauria estat necessari usant tota la població.

Els punts de recombinació de les plantes seleccionades pel *bin mapping* (el que anomenem *bin set*) s'utilitzen conjuntament per dividir el genoma en 'bins' o segments cromosòmics compresos entre dos punts de recombinació adjacents o entre un punt de recombinació i l'extrem del cromosoma. Cada bin està definit per una combinació genotípica característica, idealment única, que s'utilitzarà com a signatura. Els nous marcadors són assignats als diferents bins comparant la combinació genotípica obtinguda amb les signatures dels bins existents. Aquesta aproximació podria ser particularment útil en el cas d'aproximacions per gens candidats, on llargues llistes de possibles gens han de ser analitzades per mirar si co-localitzen amb algun gen major específic o QTL (Howad et al. 2005).

El mapatge selectiu s'ha utilitzat amb èxit per saturar el mapa de referència del gènere *Prunus* (Dirlewanger et al. 2004). Utilitzant només 6 dels 88 individus de la població T×E original, es van definir 67 bins en els que es van afegir 264 nous marcadors de tipus SSRs (Howad et al. 2005). Aquesta metodologia també s'ha utilitzat amb èxit en patata (Isidore et al. 2003), poma (van Dyk et al. 2007; Chagné et al. 2008), meló (Fernandez-Silva et al. 2008) i maduixa (Sargent et al. 2008).

### **3.4.2.3 Aplicacions dels mapes genètics**

#### ***Gens candidats i mapes funcionals***

Molts dels caràcters d'interès agronòmic tenen, en general, un component multigènic i, consegüentment, una herència quantitativa. En aquests casos, en que intentar identificar l'element responsable de l'efecte fenotípic esdevé molt complicat, l'aproximació per gens candidats és una opció vàlida.

Els gens candidats (GCs) són gens als quals se'ls pot atribuir una implicació en la variació d'un caràcter fenotípic, ja sigui basant-se en la seva activitat biològica i/o la

seva localització en un mapa genètic. Conseqüentment, un gen candidat pot ser qualsevol gen estructural o regulador de qualsevol via metabòlica implicada en l'expressió del caràcter en el que estem interessats (Plieger et al. 2001). L'aplicació d'aquesta estratègia consisteix en tres etapes consecutives: selecció, localització i validació dels gens candidats.

#### *Selecció dels gens candidats*

Quan la via metabòlica i/o fisiològica relacionada amb el caràcter d'interès és coneguda, el gen candidat pot ser qualsevol dels gens clonats que hi participen. En aquesta situació hem d'endinsar-nos en alguna de les bases de dades disponibles i buscar si existeix alguna seqüència del nostre gen. Sovint, malgrat que el nombre de seqüències disponibles creix ràpidament, aquest sol ser el factor limitant. Quan això passa podem recórrer a col·leccions d'*Expressed Sequence Tags* o ESTs procedents de genoteques d'àcid desoxiribonucleic complementari (ADNc) de diferents estadis de desenvolupament, teixits específics, etc. Per exemple a les Rosàcies disposem de la *Genome Database for Rosaceae* (GDR) (Jung et al. 2007; <http://www.rosaceae.org>) que conté 359,001 ESTs, dels quals 89,166 corresponen al gènere *Prunus*.

#### *Localització dels gens candidats*

Una vegada situat en el mapa de l'espècie estudiada, podem comparar la posició del nostre gen candidat amb la del gen major o QTL del caràcter d'interès. Al mateix temps, ja que ambdues estratègies són complementaries, podem mirar la correlació existent entre la segregació del caràcter fenotípic i el polimorfisme del GC en un conjunt d'individus genealògicament no relacionats.

#### *Validació dels gens candidats*

En el cas que existeixi una co-localització i/o correlació estadística amb un QTL, aleshores caldria realitzar assajos complementaris per validar la participació del gen candidat en la variació del caràcter. La complexitat d'aquests experiments anirà lligada a la naturalesa del caràcter (mono- o poligènic). Generalment estaríem parlant d'assajos de transformació genètica o silenciament genètic.

L'aproximació per gens candidats va ser utilitzada inicialment per a la recerca de gens de resistència a malalties (Leister et al. 1996) i més tard per a molts altres caràcters (Stevens et al. 2007; Costa et al. 2008; Remay et al. 2009). En el gènere *Prunus*,

aquest enfocament ha estat utilitzat per identificar el locus d'autoincompatibilitat (Ushijima et al. 2003), el gen de l'endopoligalacturanasa, que participa durant el procés de maduració en l'estovament del fruit (Lester et al. 1996; Peace et al. 2005), i també en la identificació de regions relacionades amb la resistència a malalties, algunes de les quals co-localitzen amb posicions de resistència ja descrites a la bibliografia (Lalli et al. 2005).

### ***Genòmica comparativa o sintènia***

La comparació de genomes entre espècies filogenèticament separades permet una visió evolutiva de l'estructura del genoma de les plantes. Aquestes comparacions s'han realitzat a nivell de seqüència entre aràbidopsis, arròs, pollancre i vinya (The French-Italian Public Consortium for Grapevine Genome Characterization 2007).

A la família *Rosaceae*, i a l'espera de que els genomes d'algunes espècies més importants (presseguer, pomera, maduixa o rosa) estiguin disponibles, els estudis de genòmica comparativa s'han realitzat mitjançant la utilització de marcadors comuns entre els mapes genètics d'espècies del mateix gènere o entre espècies de gèneres estretament relacionats. Tanmateix, al tractar-se d'estudis elaborats amb un nombre reduït de marcadors ortòlegs, menys de 100 marcadors comuns, la informació que d'ells en deriva és limitada (Arús et al. 2005).

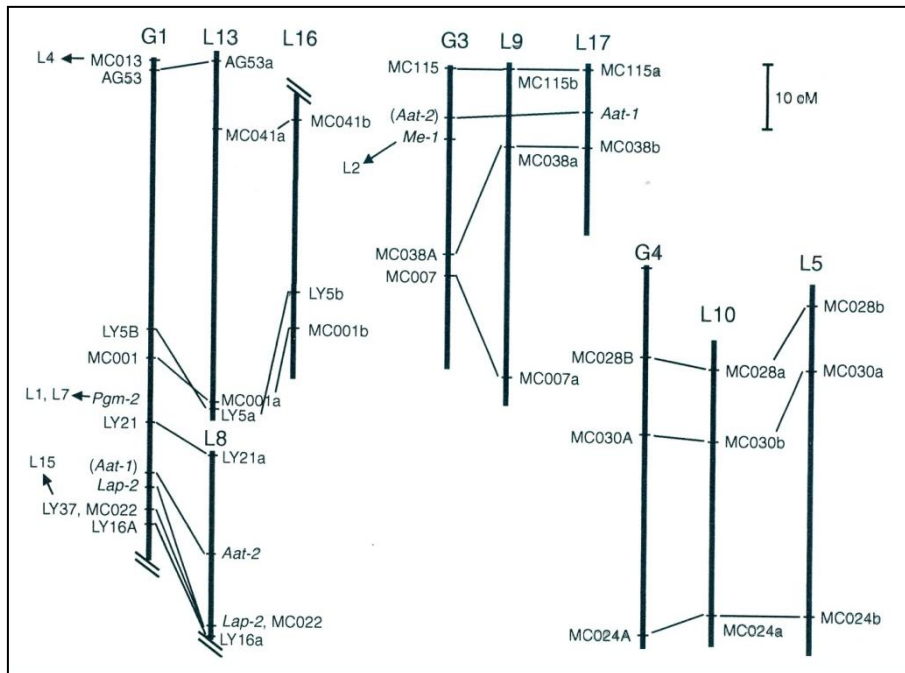
#### *Dins del gènere Prunus*

Nombrosos mapes genètics d'espècies del gènere *Prunus* s'han obtingut a partir de poblacions intra- o interespecífiques. En tots ells els mapes obtinguts amb els marcadors comuns han estat essencialment sintènics i col·lineals (Arús et al. 2005). Aquests resultats suggereixen que el genoma de *Prunus* és comú a totes les espècies del gènere, podent ser tractat com a una entitat genètica única (Dirlewanger et al. 2004). Només dues grans reorganitzacions cromosòmiques, ambdues translocacions recíproques, s'han descrit a *Prunus*. (Jáuregui et al. 2001).

#### *Prunus i Malus*

Fins al moment, les dades per a la comparació d'aquests dos genomes de  $2n=2x=8$  el presseguer i  $2n=2x=17$  la pomera, es limiten als 30 loci comuns (24 RFLP i 6 isoenzims) presents en el mapa de T×E i el mapa de la població 'Prima' × 'Fiesta' de

pomera (Dirlewanger et al. 2004). Encara que l'estudi no és suficientment extens per treure'n conclusions sobre la totalitat dels genomes, la comparació detecta grans zones sintèniques amb distàncies similars entre loci homòlegs i que cada zona sintènica en *Prunus* sol detectar-ne dues a la pomera, un resultat esperat donada la naturalesa amfiploide de la pomera (Figura 8).



**Figura 8:** Comparació entre els mapes genètics de *Prunus* (Joobeur et al. 1998) i pomera (Maliepaard et al. 1998). Només es mostra la posició dels marcadors comuns. Els grups de lligament s'indiquen a *Prunus* amb una G, i a pomera amb una L, seguida d'un número. Dues línies paral·leles obliqües indiquen que només s'inclou un fragment del grup de lligament (Font: Dirlewanger et al. 2004).

#### *Prunus i Fragaria*

La comparació dels genomes diploides de *Prunus* ( $2n = 2x = 16$ ) i *Fragaria* ( $2n = 2x = 14$ ) ha estat realitzada mitjançant 71 marcadors ortòlegs (40 RFLPs, 29 SNPs i 2 SSRs) (Vilanova et al. 2008). Aquests marcadors han estat situats en els mapes de referència de les dues espècies, obtenint una bona cobertura dels genomes tant a *Prunus* (75%) com a *Fragaria* (77%), i mostrant, malgrat l'elevat nombre de translocacions i reorganitzacions cromosòmiques, un clar patró de sintènia.

#### *Prunus i Arabidopsis*

La comparació entre *Prunus* i *Arabidopsis* ha estat analitzada mitjançant 227 RFLPs (Dominguez et al. 2003); 475 ESTs de presseguer (Jung et al. 2006), tots ells mapats



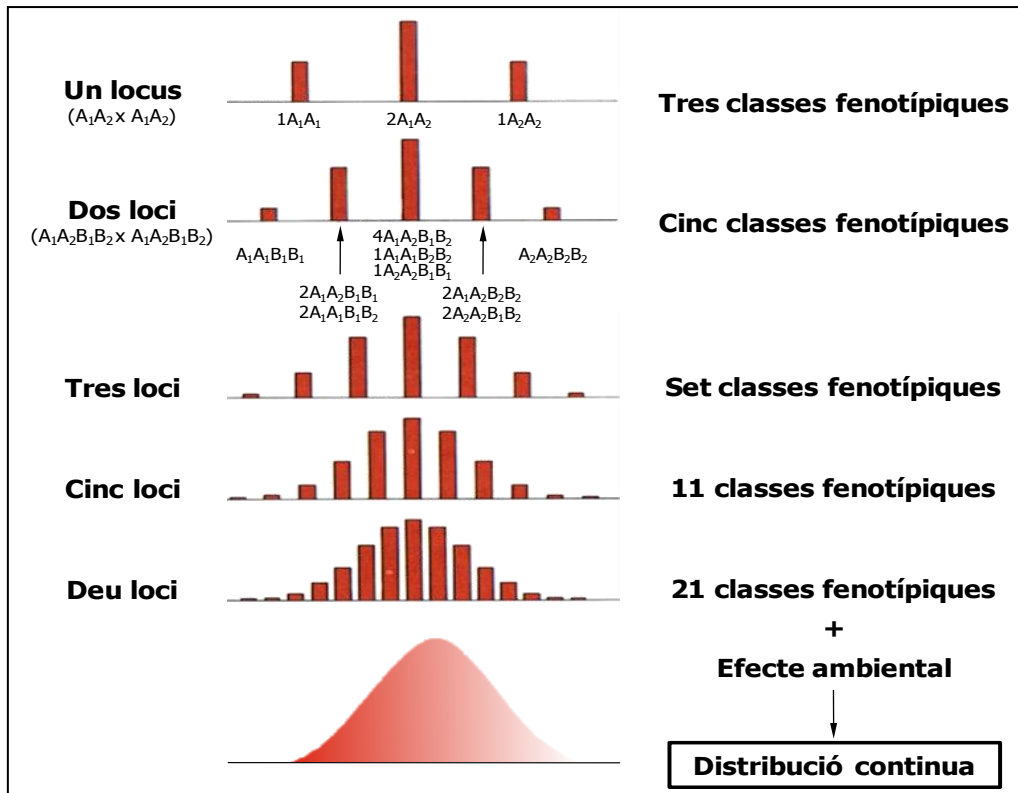
en el mapa de genètic de la població T×E; i 1049 ESTs de presseguer ancorats en el mapa físic (Jung et al. 2006). A nivell de microsintènia, s'ha comparat conjuntament la seqüència completa d'un BAC (*bacterial artificial chromosome*) i la seqüència parcial d'un segon, tots dos de presseguer, amb les seqüències d'arabidopsis (Georgi et al. 2003). En tots els casos, és possible trobar regions sintèniques que, limitades a petits fragments d'ADN, mostren una imatge global fragmentada de la conservació del genoma. El fragment més gran conservat entre *Prunus-Arabidopsis* va ser trobat per Dominguez et al. (2003), en que una regió de 25 cM (que inclou 13 marcadors) del grup de lligament 2 (G2) de *Prunus* que corresponia a un fragment de 5.4 Mb del cromosoma 5 d'*Arabidopsis thaliana*.

### **3.4.3 Caràcters quantitius i anàlisi de QTLs**

Entre els individus d'una espècie o població existeixen diferències bioquímiques, histològiques i fisiològiques que determinen les seves característiques morfològiques i de comportament que constitueixen el seu fenotip. La variació dels diferents caràcters pot ser de naturalesa discreta (qualitativa), quan podem classificar els individus en categories fenotípiques clares, o contínua (quantitativa), quan s'observa un rang de variació continu, que no permet distingir entre classes (Figura 9).

El control de molts dels caràcters d'interès agronòmic sol ser genèticament complexa, doncs es tracta de caràcters amb una herència poligènica i influïts pels factors ambientals.

L'arribada dels marcadors moleculars ha permès la construcció de mapes genètics d'alta densitat que permeten detectar associació entre la variació dels diferents caràcters quantitius i el patró de segregació dels marcadors presents en un mapa. Es denomina locus d'un caràcter quantitiu (QTL) a la regió cromosòmica que conté un o més factors genètics responsables d'una part de la variació d'un caràcter quantitiu (Tanksley, 1993; Zou i Zeng, 2008).



**Figura 9:** La segregació simultània de molts loci genera una variació contínua dels caràcters.

### 3.4.3.1 Mètodes de detecció de QTLs

La utilització de mètodes estadístics esdevé imprescindible a l'hora de demostrar que els gens interactuen els uns amb els altres per tal de produir un efecte significatiu sobre el fenotip. Tradicionalment, els tres mètodes més utilitzats per la detecció de QTLs són l'anàlisi d'un sol marcador, el mapatge per intervals (Lander i Botstein, 1989) i el mapatge per intervals compost (Zeng, 1994; Jansen i Stam, 1994; Jiang i Zeng, 1995).

#### *Anàlisi d'un sol marcador*

L'anàlisi d'un sol marcador és el mètode més simple per a la detecció de QTLs. La detecció es realitza comparant els valors fenotípics del caràcter amb cadascuna de les classes genotípiques del marcador. La comparació de les mitjanes genotípiques es pot realitzar mitjançant mètodes estadístics com proves t-Student, anàlisi de la variància (ANOVA) o regressió lineal simple.

Aquest mètode destaca per la seva simplicitat, doncs no requereix de la utilització d'un mapa de lligament complet ni de programari específic. No obstant, el seu principal inconvenient és la subestimació de l'efecte del QTL i la seva poc acurada posició al mapa provocades per la presència de recombinacions entre el marcador i el QTL. Tanmateix, la utilització d'un elevat nombre de marcadors (en general en intervals de menys de 15 cM) permet minimitzar ambdós problemes (Tanksley, 1993).

### ***Mapatge per intervals***

El mapatge per intervals (IM, de l'anglès *interval mapping*), proposat per Lander i Bolstein (1989), utilitza la informació continguda en els mapes de lligament, analitzant de manera simultània parelles adjacents de marcadors lligats (Lander i Bolstein, 1989). L'ús de marcadors lligats permet situar el QTL en una posició més precisa del mapa localitzada entre dos gens el que fa possible estimar també millor el seu efecte.

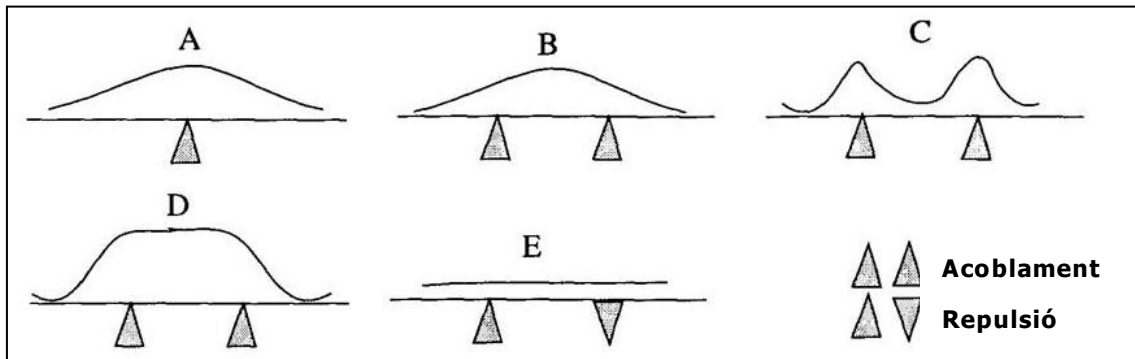
L'anàlisi estadística es desenvolupa mitjançant el mètode que considera la versemblança relativa entre la opció de que existeixi o no un QTL entre dos loci determinats usant el paràmetre LOD (*logarithm of the odds*), o el mètode de màxima versemblança (LRS, de l'anglès *likelihood ratio statistic*). És freqüent representar gràficament els valors de LOD o LRS respecte a la posició dels marcadors del mapa de lligament. Els perfils obtinguts permeten estimar la posició més probable per un QTL.

Malgrat el mapatge per intervals resulta estadísticament més robust que l'anàlisi d'un sol marcador (Lander i Bolstein, 1989; Liu, 1998), aquest mètode també presenta certs inconvenients a destacar. El principal és que cada interval s'analitza independentment de la resta sense tenir en compte la presència d'altres QTLs propers ni considerar possibles interaccions epistàtiques entre QTLs. En aquests casos es produeix una estimació esbiaixada de les posicions i efectes dels QTLs (Figura 10).

### ***Mapatge per intervals compost***

El mapatge per intervals compost (CIM, de l'anglès *Composite Interval mapping*) combina el mapatge per intervals amb la regressió lineal, incloent com a cofactors un subconjunt de marcadors situats fora de l'interval que s'analitza (Jansen, 1993; Jansen i Stam, 1994; Zeng, 1993; Zeng, 1994). Aquests cofactors permeten augmentar la

resolució de l'IM mitjançant una reducció de la variació residual associada a altres QTLs (Zeng, 1993). El problema fonamental amb del CIM resideix en la selecció dels marcadors utilitzats com a cofactors.



**Figura 10:** Problemes en la detecció de QTLs lligats. La detecció d'un sol pic pot ser deguda (A) a la presència d'un únic QTL o (B) a l'existència de diversos QTLs lligats. La presència de perfils (C) bimodals o (D) *plateaus* poden ser indicatiu de diferents QTLs relacionats. Tanmateix, quan dos QTLs lligats es troben en repulsió (efectes contraris), poden no ser detectats (E).

### 3.4.3.2 Mapatge de QTLs.

Malgrat que la utilització de marcadors moleculars per a la identificació de QTLs ja va ser proposada per Sax (1923), la seva utilització no es va generalitzar fins a la dècada dels 80. La primera anàlisi exhaustiva i sistemàtica d'aquest tipus va ser duta a terme en tomàquet per Paterson et al. (1988). En aquest estudi es va utilitzar un mapa construït amb RFLPs per identificar i caracteritzar QTLs de caràcters de qualitat de fruit, incloent mida de fruit, pH, i contingut de sòlids solubles. D'aleshores ençà, s'han realitzat nombrosos estudis d'aquest tipus en moltes espècies diferents.

Tot i que les primeres anàlisis per descomposar els caràcters quantitius en factors mendelians començaren en el gènere *Prunus* gairebé una dècada més tard, nombrosos treballs relacionats amb l'època de floració i maduració, qualitat del fruit, arquitectura de l'arbre i presència de resistències a fitopatògens han estat descrits (Dirlewanger et al. 1996; Abbott et al. 1998; Viruel et al. 1998; Dirlewanger et al. 1999; Yamamoto et al. 2001; Etienne et al. 2002; Verde et al. 2002; Quilot et al. 2004; Dirlewanger et al. 2006; Lambert et al. 2007; Ogundiwin et al. 2007; Sánchez-Pérez et al. 2007; Ogundiwin et al. 2008; Dirlewanger et al. 2009).

#### **3.4.4 Selecció assistida per marcadors (MAS)**

Molts caràcters d'interès agronòmic com la qualitat del fruit (forma, color, sabor i textura), l'arquitectura de la planta i altres caràcters com l'esterilitat masculina, l'autoincompatibilitat i la resistència a malalties estan controlats per un (caràcters monogènics) o més gens (caràcters poligènics o complexos).

Un gen i un marcador lligats en posicions properes es transmeten de manera conjunta a la descendència (Sax, 1923), fent possible la selecció indirecta de gens sense identificar. La selecció assistida mitjançant marcadors permet rastrejar milers de plàntules per la presència del gen d'interès d'una manera precoç i ràpida, minimitzant la despesa en recursos econòmics i humans.

#### **4. LA QUALITAT DE FRUIT COM A CARÀCTER DE SELECCIÓ I MILLORA**

El fruit, en sentit botànic, és l'ovari fecundat (sovint incloent altres peces florals) que conté les llavors. Les funcions que generalment desenvolupa són protegir la llavor, contribuir a la seva dispersió i aportar nutrients a l'embrió fins que aquest esdevingui autosuficient. La fruita és un component molt important de la dieta humana, doncs representa un pilar en l'equilibri dietètic, una bona font de glúcids, fibres vegetals i determinades vitamines i altres micronutrients que actuen sinèrgicament com antioxidants i agents anticancerígens.

El mercat actual exigeix uns productes de màxima qualitat, frescos i sans. Tradicionalment, els criteris de qualitat utilitzats pels diferents elements de la cadena de distribució (productors i comerciants) es basaven en l'aspecte extern del fruit. De fet, fins fa pocs anys, la millora de les varietats s'enfocava a la recerca de plantes d'elevada producció o resistència, millor mida i aspecte o major facilitat de manipulació. No obstant, actualment, el consumidor exigeix altres atributs, de tipus organolèptic i nutricional, addicionals als anteriors.

El concepte de qualitat ha estat definit de moltes maneres diferents al llarg del temps. En sentit genèric, la paraula qualitat significa "grau d'excel·lència o superioritat d'un producte" (Kader et al. 1985). Una definició específica de qualitat de fruit seria "la

major o menor adaptació del producte a les finalitats perseguides pels diferents agents de la cadena productiva i comercial” (Echeverria et al. 2008). El concepte de qualitat difereix àmpliament entre productor, comercial i consumidor. Tanmateix, la opinió d'aquest últim és la que mou el mercat, doncs influeix en les estratègies de producció, manipulació, emmagatzemament, transport i comercialització dels fruits.

#### **4.1 QUALITAT ORGANOLÈPTICA**

Els fruits són productes vius que, després de ser recol·lectats, segueixen patint canvis bioquímics i fisiològics que donaran lloc a modificacions físico-químiques que alteraran les seves característiques sensorials. Així, des de la seva recol·lecció fins al moment del seu consum, la importància relativa de cadascun dels atributs de la fruita va canviant.

Podem considerar la qualitat organolèptica com el conjunt de propietats d'un producte que actuen com a estímul de diversos receptors sensorials de l'organisme. Aquests atributs sensorials es poden agrupar en tres categories principals: sabor, textura i aparença (Kays i Wang, 2000).

Per sabor s'accepta la combinació de sensacions derivades de l'olfacte i el gust. Els principals compostos que intervenen en el sabor dels fruits són els àcids orgànics i els sucres (Pangborn, 1963) responsables de la percepció dels sabors àcid i dolç, respectivament. Mentre que l'aroma serà la responsable de conferir matisos distintius característics d'estadi de maduració, frescor i del cultivar (Seymour et al. 2002). En la majoria dels fruits carnosos, la principal forma de sucre és la sacarosa, seguida de la fructosa i la glucosa (Etienne et al. 2002), mentre que els principals àcids orgànics són el màlic i el cítric. El sorbitol i l'àcid quínic es troben en baixes concentracions (Etienne et al. 2002). Tanmateix el contingut relatiu de cadascun d'ells pot variar en funció de les espècies, varietats i també segons les condicions ambientals i de cultiu a les quals han estat sotmesos.

La textura és un altre dels factors que influeix en l'acceptabilitat de la fruita per part del consumidor. Conceptes com dur, tou, cruixent, sucós, fundent o farinós són utilitzats freqüentment per descriure alguna de les característiques individuals de la textura dels fruits.

La mida, el color, la manca de defectes externs i el grau de maduresa determinaran l'aparença del fruit. L'aparició d'imperficcions pot tenir lloc abans de la collita, com a conseqüència de lesions provocades per l'acció d'insectes, aus, malalties i factors meteorològics com gelades i calamarsades, o durant l'etapa de postcollita. Els defectes produïts durant l'etapa de postcollita poden ser físics, fisiològics o patològics (Snowdon, 1990).

## **4.2 QUALITAT NUTRICIONAL**

Apart de les propietats organolèptiques, s'ha observat que determinats components de la fruita presenten una forta activitat antioxidant capaç de conferir protecció a determinades malalties, com el càncer o les cardiopaties (Wargovich, 2000). Una de les hipòtesis més acceptades atribueix als flavonoides aquest paper protector (Stavric, 1994; Dakora, 1995; Cook i Samman, 1996; Middleton, 1996). Els flavonoides són una gran família de compostos sintetitzats a partir de la fenilalanina que inclouen flavanols (catequines), flavanones, flavanonols, flavonols, flavones, leucoantocianidols, antocianidols i xalcones. Alhora, l'absència o reducció significativa de compostos al·lèrgics, així com la reducció de residus de productes fitosanitaris són característiques cada vegada més sol·licitades pels consumidors com aspectes crucials de la qualitat sanitària de la fruita.

**OBJECTIUS**





L'objectiu general d'aquesta tesi és contribuir a millorar el coneixement sobre la base genètica dels caràcters implicats en la qualitat del fruit del presseguer.

Aquest objectiu es desglossa en els següents punts:

1. Identificar gens implicats en la qualitat del fruit, concretament, aquells que intervenen en la qualitat organolèptica (aroma, color, sabor i textura) i en el seu valor nutricional (al·lèrgens, antioxidants i anticancerígens).
  - 1.1 Identificar els gens candidats implicats en les propietats organolèptiques i nutricionals del fruit del presseguer.
  - 1.2 Localitzar els gens candidats en el mapa de referència del gènere *Prunus*.
  - 1.3 Buscar co-localitzacions dels gens candidats amb gens majors o QTLs descrits en la bibliografia.
  
2. Determinar els principals paràmetres de qualitat del fruit i identificar les regions cromosòmiques responsables de la seva variació en una població segregant.
  - 2.1 Saturar el mapa genètic d'una població amb marcadors altament polimòrfics i transferibles entre les diferents poblacions de *Prunus*. Comparar el mapa obtingut amb d'altres mapes de *Prunus*, incloent el mapa de referència T×E.
  - 2.2 Determinar dels principals paràmetres de qualitat del fruit d'una població segregant durant dos anys consecutius i identificar-ne els QTLs.
  - 2.3 Detectar possibles co-localitzacions entre els QTLs aïllats i els gens candidats mapats en la població T×E.
  - 2.4 Estudiar en la població segregant el grau de polimorfisme dels GCs.
  - 2.5 Localitzar en el mapa els GCs.
  
3. Addicionalment, i com a treball bàsic que ens permeti aprofitar la informació que sobre la genètica de la qualitat de fruit (i altres caràcters) existeix en espècies properes que és conreen pel seu fruit, hem utilitzat els GCs de qualitat de fruit i altres seqüències mapades a *Prunus* per comparar el seu genoma amb el mapa de la maduixa diploide i la seqüència completa de la pomera, tres de les espècies més rellevants de la família *Rosaceae*, el que ens ha portat a:

- 3.1 Estudiar la distribució dels marcadors cartografiats en el mapa de referència de *Prunus* en la seqüència del genoma de *Malus × domestica*.
- 3.2 Desenvolupar nous marcadors basats en seqüències homologues de pomera i presseguer.
- 3.3 Comparar els mapes dels gèneres *Prunus* i *Fragaria*.
- 3.4 Inferir com, partir d'un possible genoma ancestral, s'haurien reorganitzat els diferents cromosomes per donar lloc a les espècies actuals.

# **MATERIAL I MÈTODES**



## 1. MATERIAL

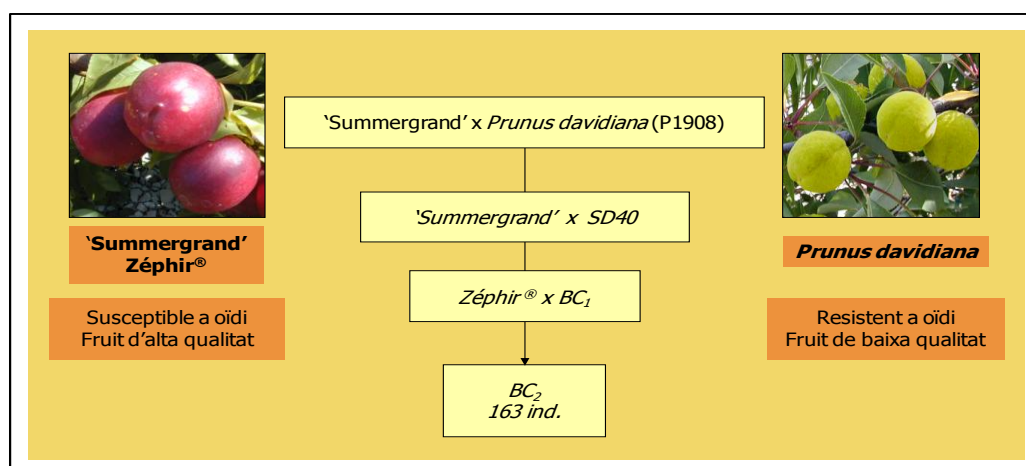
### 1.1 MATERIAL VEGETAL

#### ***Bin mapping set***

El *Bin mapping set* consisteix en 6 individus seleccionats de la població F<sub>2</sub> ametller 'Texas' × presseguer 'Earlygold' més dos parentals: Earlygold (E) i l'híbrid F<sub>1</sub> (H). A la vegada, disposem de dos *sets* de sis plantes cadascun, un per aquells casos en que existeix un al·lel dominant per l'ametller (DB set) i un altre pels al·lels dominants de presseguer (AC set) (Howad et al. 2005).

#### ***Població BC<sub>2</sub>***

La població BC<sub>2</sub> consta de 163 individus que deriven del retroencreuament de *Prunus davidiana* (clon P1908) i dos cultivars diferents de *P. persica* (Figura 11). Aquesta població es troba al Centre d'Avinyó de l'INRA, on va ser desenvolupada (Pascal et al. 1998). Nosaltres l'hem utilitzada en col·laboració amb aquests investigadors dins del marc del projecte Europeu ISAFRUIT (Callesen, 2009). Inicialment, P1908 va ser creuat amb *Prunus persica* cv. Summergrand, nectarina de carn groga desenvolupada a finals de la dècada de 1970, per tal d'obtenir una descendència F<sub>1</sub>. Un sol híbrid F<sub>1</sub> (SD40) va ser seleccionat, pel seu nivell de resistència a oïdi (*Sphaerotheca pannosa* var. *Persicae*), per ser retroencreuat amb 'Summergrand' i produir la progènie BC<sub>1</sub>. A continuació, es va utilitzar una barreja de pol·len dels individus BC<sub>1</sub> per a fecundar una segona varietat comercial, Zéphyr® (cv. Monphir). Aquesta nectarina de polpa blanca, més recent que 'Summergrand', va ser escollida per l'alta qualitat dels seu fruits.



**Figura 11:** Esquema per l'obtenció de la població BC<sub>2</sub>.

## 1.2 OLIGONUCLEÒTIDS

Pel mapatge dels gens candidats es van dissenyar parelles d'encebadors específics mitjançant el programa *Primer3* (Rozen i Skaletsky, 2000; <http://frodo.wi.mit.edu/>) (Annex 1), atenent a diferents criteris. En primer lloc, els encebadors havien de tenir entre 18 i 22 nucleòtids, sent la longitud òptima de 20. La temperatura de fusió de tots ells hauria de ser la mateixa o el més semblant possible. Finalment, sempre que fos possible, els encebadors serien dissenyats en regions circumdants a un SSR, dins la regió 5'-/3'-UTR o bé flanquejants a una seqüència intrònica.

La posició dels introns es va determinar mitjançant la comparació de les seqüències de *Prunus* amb les seqüències homòlogues existents en les bases de dades de *Populus* (Sterky et al. 2004; <http://www.populus.db.umu.se>) i/o d'*Arabidopsis* (Rhee et al. 2003; <http://www.arabidopsis.org>).

Per a l'anàlisi de microsatèl·lits s'han analitzat col·leccions d'encebadors desenvolupades en diferents espècies del gènere *Prunus* (Taula 3).

**Taula 3:** Origen de les col·leccions de microsatèl·lits analitzats i mapats en la població BC<sub>2</sub>

Nom de la col·lecció de SSRs <sup>1</sup>	Espècie	Origen	Referència
BPPCT	<i>P. persica</i>	Genòmic	Dirlewanger et al. (2002)
CPDCT	<i>P. dulcis</i>	Genòmic	Mnejja et al. (2005)
CPPCT	<i>P. persica</i>	Genòmic	Aranzana et al. (2002)
CPSCT	<i>P. salicina</i>	Genòmic	Mnejja et al. (2004)
EPDCU	<i>P. dulcis</i>	ADNc	Mnejja et al. (2010)
EPPCU	<i>P. persica</i>	ADNc	Howad et al. (2005)
M	<i>P. persica</i>	ADNc	Yamamoto et al. (2002)
MA	<i>P. persica</i>	Genòmic	Yamamoto et al. (2002)
PaCITA	<i>P. armeniaca</i>	Genòmic	Lopes et al. (2002)
PceGA	<i>P. cerasus</i>	Genòmic	Downey i Iezzoni, 2000
Pchcms	<i>P. persica</i>	ADNc	Sosinski et al. (2000)
Pchgms	<i>P. persica</i>	Genòmic	Sosinski et al. (2000)
PMS	<i>P. avium</i>	Genòmic	Cantini et al. (2001)
PS	<i>P. cerasus</i>	Genòmic	Sosinski et al. (2000)
UDA	<i>P. dulcis</i>	Genòmic	Testolin et al. (2004)
UDP	<i>P. persica</i>	Genòmic	Cipriani et al. (1999), Testolin et al. (2000)

<sup>1</sup> Els SSRs de cada col·lecció s'anomenen amb les sigles indicades més un número que fa referència a cada SSR dins de la col·lecció.

Per l'estudi de genòmica comparativa es va desenvolupar com a part d'aquest treball un conjunt addicional de marcadors transferibles a partir de l'alineament de tots els ESTs de *Prunus* disponibles a l'*ESTree database* (Lazzari et al. 2008; <http://www.itb.cnr.it/estree>) i 1262 seqüències gèniques de pomera cv. *Golden Delicious* originalment cartografiades en el mapa de referència *Malus × domestica* (Velasco et al. 2010). En total, 155 parells d'encebadors homogèniament distribuïts al llarg dels 17 grups de lligament del mapa de *Malus* (Annex 2). Mitjançant els paràmetres per defecte del programa *Primer3* (Rozen i Skaletsky, 2000; <http://frodo.wi.mit.edu/>), els encebadors van ser dissenyats per obtenir fragments d'una longitud entre 150 i 300 pb.

## 2. TAMPONS I SOLUCIONS

En aquest apartat es descriuen les solucions utilitzades habitualment en diversos protocols. Les solucions específiques de cada tècnica és detallen en els diferents apartats de mètodes.

### TE

Tris-HCl pH 8.0	50 mM
EDTA	5 mM
Guardar a temperatura ambient	

### Tampó de càrrega per ADN 6x

Glicerol	30%
Blau de bromofenol	0.03%
Xilencianol	0.03%
EDTA	50 mM
Guardar a -20°C, pH 8.0	

### Tampó de seqüenciació (TDS):

Tris-HCl pH 9.0	200 mM
MgCl <sub>2</sub>	5 mM
Guardar a -20°C	



## **TBE 10X**

Tris-HCl	89 mM
Àcid bòric	89 mM
EDTA	2 mM
Guardar a temperatura ambient, pH 8.3	

## **3. MÈTODES PER A L'OBTENCIÓ I L'ANÀLISI D'ÀCIDS NUCLEICS**

Les tècniques generals de manipulació i anàlisi d'àcids nucleics s'han realitzat seguint els manuals *Molecular Cloning: a laboratory manual* (Sambrook et al. 1989) i *Current Protocols in Molecular Biology* (Ausubel, 1998). Els mètodes que es descriuen a continuació corresponen a altres metodologies que han estat fonamentals per la realització dels estudis presentats en aquest treball.

### **3.1 EXTRACCIÓ D'ADN EN GRADIENT DE CLORUR DE CESI (CSCL)**

L'extracció de l'ADN genòmic de les fulles joves de presseguer s'ha realitzat seguint el protocol prèviament descrit per Viruel et al. (1995).

- Recollir de 12 g de fulles molt joves, congelar-les en nitrogen líquid, i triturar-les amb el morter.
- Transferir el material vegetal a tubs de centrifuga de polipropilè de 250 mL i afegir-hi 80 mL de tampó d'extracció fred. Homogeneïtzar vigorosament.
- Centrifugar a 2500 rpm durant 15 minuts a 4°C.
- Decantar el sobrenedant i resuspendre el precipitat en 20mL de tampó d'extracció.
- Afegir 25 mL de tampó de lisi i 10 mL de sarcosil. Homogeneïtzar.
- Incubar de 15 a 20 minuts al bany maria a 65°C amb agitació suau.
- Dividir el lisat en 3 tubs polipropilè de 50 mL i afegir-hi un volum de cloroform/alcohol isoamílic (24:1). Barrejar suaument per inversió.
- Agitar durant 20 minuts.
- Centrifugar a 2000 rpm durant 15 minuts a 4°C.

- Transferir el sobrenedant a tubs Falcon de 50 mL. Afegir-hi un volum de cloroform/alcohol isoamílic (24:1) i barrejar suaument per inversió.
- Agitar durant 20 minuts.
- Centrifugar a 2000 rpm durant 15 minuts a 4°C.
- Transferir el sobrenedant a tubs Falcon de 50 mL, afegir 2/3 (v:v) d'alcohol isopropílic fred (-20°C) i invertir suaument els tubs per tal de precipitar l'ADN, que es visualitza com un agregat cotonós de color blanc.
- Amb l'ajuda d'una nansa de vidre transferir l'ADN a un tub Falcon 15 mL amb etanol 70%. Deixar assecar a l'aire.
- Resuspendre l'ADN en el volum mínim de tampó TE.
- Guardar les mostres d'ADN genòmic a 4°C fins que es faci el gradient de CsCl.
- En un tub Falcon de 15 mL pesar 4.025g de CsCl (el més exacte possible). Tarar el tub i afegir l'ADN genòmic i 100 µL de bromur d'etidi a una concentració de 20 mg/mL. Dissoldre el CsCl per inversió.
- Ajustar el pes a 4.16 g amb tampó TE.
- Transferir el contingut a un tub de centrifuga Quick Seal™ (Beckman instruments, CA). Equilibrar els tubs dos a dos i segellar-los.
- Centrifugar a 50,000 rpm durant 16 hores en una ultracentrífuga (Beckman Coulter Optima™ XL-100K Ultracentrifuge).
- Retirar la banda d'ADN i passar-la a un tub Falcon de 15 mL.
- Afegir TE fins assolir un volum final de 5 mL.
- Afegir un volum d'alcohol isoamílic. Barrejar per inversió i esperar fins que se separin dues fases.
- Retirar la fase alcohòlica. Repetir l'operació fins que la fase aquosa quedi neta de restes de bromur d'etidi.
- Recuperar la fase aquosa en un tub Falcon de 50 mL. Afegir-hi TE fins a un volum de 15 mL.
- Afegir 1/10 d'acetat sòdic 3M, pH 5.3, i 2.5 volums d'alcohol etílic al 96% fred (-20°C) per tal de precipitar el ADN.
- Pescar l'ADN amb una nansa de vidre i rentar-lo amb etanol al 70%.
- Resuspendre l'ADN en tampó TE. Guardar a 4°C.
- Comprovar la qualitat de l'ADN per electroforesi en gel d'agarosa i quantificar mitjançant espectrofotometria a una longitud d'ona de 260 nm ( $1 A_{260} = 50\mu\text{g}$  d'ADN). La puresa de l'ADN es pot estimar mitjançant el càlcul de la relació

d'absorbàncies a 260 i 280 nm ( $A_{260}/A_{280}$ ): una relació entre 1.8 i 2.0 correspon a una preparació pràcticament lliure de proteïnes.

<b>Tampó d'extracció</b>		<b>Tampó de lisi</b>	
Sorbitol	500 mM	Tris-HCl a pH 7.5	0.2 M
Tris-HCl a pH 8.0	100 mM	NaCl	2.0 M
EDTA	25 mM	EDTA	0.05 M
Bisulfit sòdic *	20 mM	CTAB	2% (p:v)
* Afegir en el moment d'utilitzar el tampó.		<b>Sarcosil</b>	
		N-Lauril Sarcosina	5% (p:v)

**NOTA:** L'ADN genòmic s'ha de guardar a 4°C (i no a -20°C) per evitar la seva fragmentació. A la vegada, no s'ha de deixar assecar el precipitat translúcid d'ADN ja que després resulta molt difícil de resuspendre.

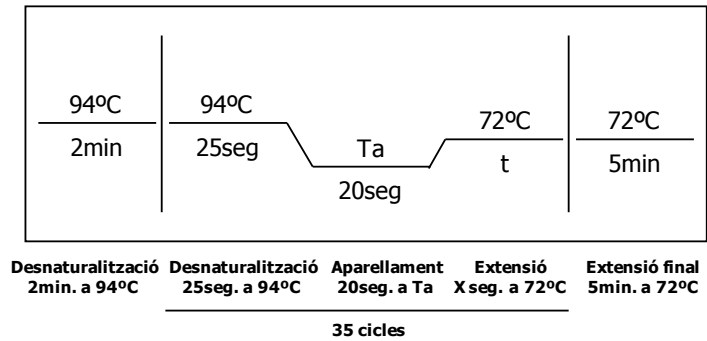
### 3.2 REACCIÓ EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

La tècnica de la reacció en cadena de la polimerasa (PCR) ha estat emprada per amplificar els fragments d'ADN a partir de l'ADN genòmic.

Les condicions de PCR que a continuació es descriuen han estat optimitzades a un volum final de 20 µL per cadascuna de les parelles d'encebadors en un termociclador de gradient PTC-200 (MJ Research, Waltham, Massachusetts).

<b>Condicions generals</b>	
ADN genòmic	40 ng
Tampó 5x Colorless GoTaq® (Promega)	1x
MgCl <sub>2</sub>	1.5 mM
dNTPs	0.5 mM
Encebador directe	0.25 µM
Encebador revers	0.25 µM
ADN polimerasa GoTaq® (Promega)	2.5 unitats
Ajustar a 20 µL amb H <sub>2</sub> O	

En l'esquema següent es mostra el programa que segueix el termociclador:



Es considera que el temps d'extensió (t) és de promig 1 minut per cada kb a amplificar.

Seleccionem com a temperatura d'aparellament òptima aquella que dóna lloc a una única banda i proporciona, alhora, major quantitat de producte de PCR.

El fragment d'interès és amplificat en un termociclador PE GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems) utilitzant les condicions anteriorment descrites i a temperatura d'aparellament fixa.

La comprovació de l'amplificació es realitza analitzant 1/10 del volum total del producte de PCR en un gel d'agarosa entre l'1.5% i el 2%, en funció de la mida dels fragments amplificats.

### 3.3 PURIFICACIÓ DE PRODUCTES DE PCR

El mètode emprat es basa en la utilització d'una reïna que s'uneix a l'ADN, fent possible l'eliminació de restes de dNTPs, encebadors i ions del tampó de PCR de la mostra. En el nostre cas, s'ha utilitzat el kit comercial *High Pure PCR Product Purification kit* (Roche applied Science), seguint les recomanacions del fabricant.

L'ADN obtingut per aquest mètode és de gran puresa i apte per ser utilitzat en tot tipus de reaccions enzimàtiques.

### 3.4 PRECIPITACIÓ D'ÀCIDS NUCLEICS

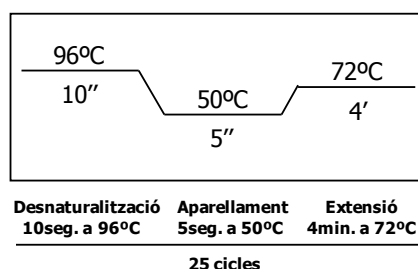
- Afegir 0.1 volums d'acetat sòdic 3M (pH 5.3) i 2 volums d'etanol absolut fred (-20°C). Agitar i mantenir a temperatura ambient durant 15 minuts.
- Centrifugar a 3000 rpm 45 minuts a 4°C.
- Descartar el sobrenedant, afegir 70 mL d'etanol 70% i agitar per inversió.
- Centrifugar a 3000 rpm 15 minuts a 4°C.
- Descartar el sobrenedant. Deixar assecar el *pellet* fins que l'etanol s'evapori. Resuspendre en H<sub>2</sub>O o en el tampó més adequat.

### 3.5 SEQÜENCIACIÓ DE PRODUCTES DE PCR

Per la seqüenciació dels fragments amplificats s'ha utilitzat el kit *BigDye™ terminator v1.1/Sequencing Standard Kit* (Applied Biosystems). La reacció de seqüenciació es realitza en un volum final de 10 µL i les condicions de la reacció s'han optimitzat de la següent manera:

<b>Condicions generals</b>	
Producte de PCR	20 – 40 ng
<i>BigDye™</i> terminator v1.1	2 µL
TDS	2 µL
Encebador a 3,2 µM	1 µL
Ajustar a 10 µL amb H <sub>2</sub> O	

El programa que seguim és el que recomana el fabricant:



Un cop acabada la PCR es precipiten els fragments amplificats amb l'objectiu d'eliminar de la mostra els terminadors (ddNTPs) marcats no incorporats i l'excés d'encebadors. El precipitat es resuspèn en 12 µL de formamida Hi-Di™ (Applied Biosystems) i la

seqüenciació s'ha realitzat en un seqüenciador ABI Prism® 3130xl Genetic Analyser (Applied Biosystems).

L'anàlisi de les seqüències es realitza amb el programa informàtic Sequencher™ versió 4.8 (Gene Codes Corporation; Ann Arbor, MI). Aquest mateix programari ens permet fer una detecció i anàlisi dels polimorfismes (SNPs i indels) presents.

### **3.6 ANÀLISI DE MICROSATÈL·LITS**

L'anàlisi de microsatèl·lits es basa en l'estudi de les repeticions en tàndem de seqüències curtes flanquejades per seqüències altament conservades que es troben disperses per tot el genoma de les cèl·lules eucariotes. Els microsatèl·lits són selectivament amplificats per detectar variacions en el nombre de repeticions.

#### **3.6.1 Anàlisi de microsatèl·lits per marcatge fluorescent**

Cadascun dels loci analitzats s'amplifica per PCR mitjançant una parella d'encebadors específics (Taula 3), dels quals l'encebador directe ha estat marcat amb un fluorocrom. Els fluorocroms utilitzats de manera més freqüent són FAM™, VIC®, NED™ i PET®.

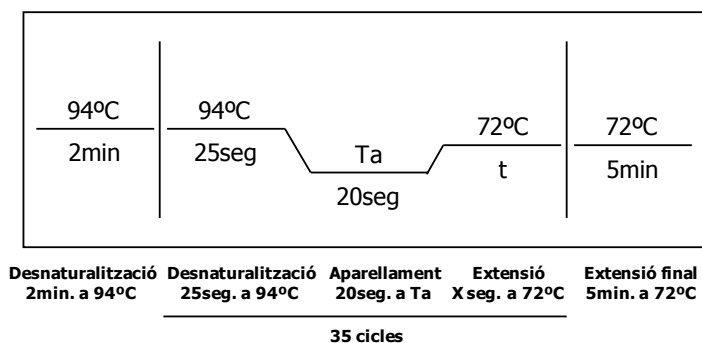
##### **3.6.1.1 Amplificació dels microsatèl·lits**

Les condicions de PCR que a continuació es descriuen han estat optimitzades per un volum final de 10 µL.

<b>Condicions generals.</b>	
ADN genòmic	40 ng
Tampó 5x Colorless GoTaq® (Promega)	1x
MgCl <sub>2</sub>	1.5 mM
dNTPs	0.2 mM
Encebador directe	0.2 µM
Encebador revers	0.2 µM
ADN polimerasa GoTaq® (Promega)	1.5 unitats

Ajustar a 10 µL amb H<sub>2</sub>O

L'amplificació es duu a terme en un termociclador PE GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems) en les condicions indicades a continuació:



### 3.6.1.2 Anàlisi dels productes de PCR

Posteriorment a la seva amplificació, els fragments marcats seran separats en funció de la seva mida mitjançant un equip automatitzat d'electroforesi capil·lar amb detecció fluorescent (ABI Prism® 3130xl Genetic Analyser, Applied Biosystems). Com a marcador intern de pes molecular s'utilitza el GeneScan™ 500 LIZ® (Applied Biosystems). Per optimitzar el rendiment de l'electroforesi, es barregen els productes de diverses amplificacions en funció de la seva mida i del fluorocrom dels encebadors.

Les dades obtingudes van ser analitzades i verificades manualment mitjançant el programari GeneMapper® v4.0 (Applied Biosystems).

### 3.6.2 Anàlisi de microsatèl·lits per marcatge radioactiu

#### 3.6.2.1 Amplificació dels microsatèl·lits

Cadascun dels loci analitzats s'amplifica per PCR amb una parella d'encebadors específics (Taula 3). Les condicions de PCR que a continuació es descriuen han estat ajustades a un volum final de 15 µL.

---

**Condicions generals.**

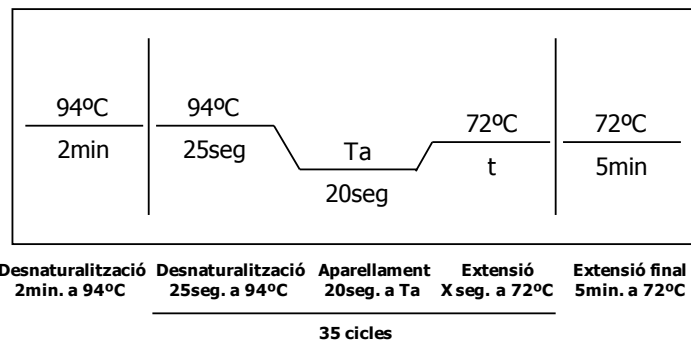
---

ADN genòmic	40 ng
Tampó 5x Colorless GoTaq <sup>®</sup> (Promega)	1x
MgCl <sub>2</sub>	1.5 mM
dATP, dTTP i dGTP	0.13 mM
dCTPs	3 µM
Encebador directe	0.4 µM
Encebador revers	0.4 µM
α[ <sup>33</sup> P] dCTP	0.03 µCi
ADN polimerasa GoTaq <sup>®</sup> (Promega)	1.5 unitats

---

Ajustar a 15 µL amb H<sub>2</sub>O

L'amplificació es duu a terme en un termociclador PE GeneAmp<sup>®</sup> PCR System 2700 (Applied Biosystems) en les condicions indicades a continuació:



### 3.6.2.2 Electroforesi en gel d'acrilamida (PAGE)

A/ Neteja dels vidres (mida 38 x 50 cm)

- Netejar el vidre més gran seguint el següent ordre: H<sub>2</sub>O i sabó, H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O destil·lada, etanol, acetona i etanol.
- Netejar el vidre més petit seguint el següent ordre: H<sub>2</sub>O i sabó, H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O destil·lada, etanol i acetona.
- A la campana, siliconar el vidre més petit amb Sigmacote<sup>®</sup> (Sigma – Aldrich). Deixar assecat durant 5 minuts. Netejar el vidre amb etanol 70%.



## B/ Muntatge

- Muntar l'aparell d'electroforesi vertical seguint les recomanacions del fabricant.
- En un vas de precipitats es barregen:
  - 100 mL acrilamida 6%
  - 400  $\mu$ L de APS 10% (Sigma – Aldrich)
  - 80  $\mu$ L de TEMED (Sigma – Aldrich)
- Injectar la solució entre els dos vidres. Introduir la pinta (5 mm) pel costat pla. Deixar solidificar entre 30 i 60 minuts.
- Un cop solidificat, netejar amb una xeringa les restes d'acrilamida i urea dels pouets.
- Omplir la cubeta superior i inferior amb TBE 1x. Realitzar una pre-electroforesi a una potencia constant de 95W, per escalfar el gel fins a 55°C.

## C/ Electroforesi

- Afegir 5  $\mu$ L de tampó de carrega a cada mostra de PCR marcada radioactivament amb  $\alpha$ [33P] dCTP.
- Desnaturalitzar durant 3 minuts a 94°C. Mantenir en gel.
- Carregar en el gel 3.5  $\mu$ L de la barreja al gel. Córrer l'electroforesi a 95W constants (2900-2300 V, 50-60mA ) durant 90 – 120 minuts.

## D/ Tractament del gel

- Buidar la cubeta superior que conté TBE 1x.
- Desmuntar l'aparell d'electroforesi, vigilant especialment a l'hora de separar els dos vidres.
- Col·locar un paper Whatmann 3MM seqüencialment sobre el gel sense que es formin bombolles, de manera que quedi ben enganxat. Separar amb delicadesa del vidre. Recobrir el gel amb plàstic transparent i col·locar ho entre dos papers de filtre.
- Assecar durant 1 hora a 80°C en un assecador de gels.
- Exposar a un film d'autoradiografia Curix RP2 plus<sup>TM</sup> (Agfa HealthCare). Posteriorment, revelat del film.

<b>Tampó de carrega</b>		<b>Acrilamida 6%*</b>	
Formamida	95% (p:v)	TBE 10x	1x
EDTA	20 mM	Acrilamida:bis-acrilamida (19:1)	6%
Blau de bromofenol	0.03%	Urea	7.5 M
Xilencianol	0.03%	Guardar a 4°C a la foscor	
Guardar a -20°C, pH 8.0		* Filtrar a través de membrana de 0.22µm	

### 3.6.2.3 Interpretació dels patrons de bandes

Les dades obtingudes es van analitzar manualment. Els resultats conflictius van ser reexaminats.



## 3.7 ANÀLISI DE SNPS


L'anàlisi per *high resolution melting* és un mètode basat en les propietats de dissociació de la doble cadena d'ADN, que permet la detecció de SNPs en petits productes de PCR. La presència de SNPs produeix la formació d'heterodúplexs que són distingibles dels homodúplexs perquè canvien la forma de la corba de fusió de l'ADN.


Les condicions de PCR que a continuació es descriuen han estat optimitzades per un volum final de 10 µL.

<b>Condicions generals</b>	
ADN genòmic	20 ng
Master Mix 2x (Roche)	1x
MgCl <sub>2</sub>	2.5 mM
Encebador directe	0.3 µM
Encebador revers	0.3 µM
Ajustar a 10 µL amb H <sub>2</sub> O	

Tant l'amplificació com l'elaboració de la corba de fusió es duu a terme en un sistema de *Real-Time* PCR LightCycler® 480 (Roche Applied Science) en les condicions indicades a continuació:

	Temp.	Temps	Patró de lectura
<b>Desnaturalització</b>	95°C	10 min.	-
<b>Amplificació</b>	95°C	10 seg.	-
45 cicles	Ta	15 seg.	-
	72°C	15 seg.	
<b>HRM</b>	95°C	1 min.	-
	40°C	1 min.	-
	65°C	1 seg.	-
	95°C		
<b>Refrigeració</b>	40°C	10 seg.	-

 Patró de lectura de la fluorescència puntual.

 Patró de lectura de la fluorescència continu

L'anàlisi de les dades experimentals obtingudes es realitza mitjançant el programari *Gene scanning* del LightCycler 480<sup>®</sup> (Roche Applied Science). Aquest programari és capaç d'analitzar la forma de les corbes tant de mostres individuals com de grups de mostres que presenten corbes de fusió similars. No obstant, aquells casos que van resultar ambigus van ser analitzats de nou per seqüenciació.

#### 4. CONSTRUCCIÓ DE MAPES GENÈTICS

Els marcadors s'han col·locat en el mapa de lligament existent de la població BC<sub>2</sub> (Quilot et al. 2004) utilitzant MAPMAKER/EXP versió 3.0 (Lander et al. 1987). Tanmateix, considerant la particularitat de l'encreuament, les taxes de recombinació (r) entre els diversos marcadors s'ha calculat assumint que aquestes són idèntiques pels encreuaments BC<sub>1</sub> i BC<sub>2</sub>, mitjançant el *maximum likelihood method* descrit per Allard (1956). La funció de Kosambi (Kosambi, 1944) ha estat utilitzada per convertir les taxes de recombinació en distàncies genètiques.

Per a la representació dels mapes de lligament i els QTLs s'ha emprat el programari MapChart versió 2.2 (Voorrips, 2002).

**PUBLICACIONES**



## **SATURACIÓ, CONSTRUCCIÓ I COMPARACIÓ DE MAPES DE LLIGAMENT EN QUATRE POBLACIONS DE *PRUNUS***

Per E. ILLA<sup>1</sup>, P. LAMBERT<sup>2</sup>, B. QUILOT<sup>2</sup>, J. M.AUDERGON<sup>2</sup>, E. DIRLEWANGER<sup>3</sup>, W. HOWAD<sup>1</sup>, L. DONDINI<sup>4</sup>, S.TARTARINI<sup>4</sup>, O. LAIN<sup>5</sup>, R. TESTOLIN<sup>5</sup>, D. BASSI<sup>6</sup> i P. ARÚS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IRTA, Centre de Recerca en Agrigenòmica CSIC-IRTA-UAB, Carretera de Cabrils Km 2, 08348 Cabrils, *Spain*

<sup>2</sup>INRA, UR1052, *Unité de Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes (GAFL), Domaine de St Maurice, B.P. 94, F-84143 Montfavet, France*

<sup>3</sup>INRA, UR419, *Unité de Recherches sur les Espèces Fruitières (UREF), B.P. 81, F-33140 Villenave d'Ormon, France*

<sup>4</sup>*Dipartimento di Colture Arboree, University of Bologna, via Fanin 46, Bologna, Italy*

<sup>5</sup>*Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, University of Udine, Via delle Scienze 208, 33100 Udine, Italy*

<sup>6</sup>*Dipartimento di Produzione Vegetale, University of Milan, Via Celoria 2, 20133, Milano, Italy*

Journal of Horticultural Science & Biotechnology (2009)

ISAFRUIT Special Issue 168–175

[http://www.jhortscib.com/isafruit/isa\\_pp168\\_175.pdf](http://www.jhortscib.com/isafruit/isa_pp168_175.pdf)

Un dels objectius del Projecte ISAFRUIT era la realització d'anàlisis genètics en 4 poblacions de *Prunus*, dues de presseguer (*P. persica*) i dues d'albercoquer (*P. armeniaca*), per identificar gens majors i QTLs (*Quantitative Trait Loci*) per a caràcters d'interès relacionats amb la qualitat del fruit. Per això, es requeria l'elaboració de mapes de lligament saturats en cadascuna de les poblacions. A l'inici del projecte, es disposava de mapes de lligament per a una població F<sub>2</sub> intraespecífica de presseguer, una BC<sub>2</sub> presseguer × *P. davidiana* (utilitzant el presseguer com a progenitor recurrent) i una F<sub>1</sub> albercoquer × albercoquer. Hem saturat aquests mapes principalment amb marcadors de tipus microsatèl·lit o SSR (*simple sequence repeats*). A la vegada, s'ha construït un nou mapa, elaborat únicament amb marcadors de tipus SSR, per a una quarta població F<sub>1</sub> albercoquer × albercoquer. La presència de marcadors comuns ha permès comparar els quatre mapes amb el mapa de referència

de *Prunus*, construït a partir d'una població F<sub>2</sub> ametller 'Texas' × presseguer 'Earlygold' (T×E). Com s'havia observat anteriorment, la conservació de la sintènia així com la col·linealitat dels marcadors constitueixen una regla general que proporciona una evidència addicional de l'elevat grau de semblança entre tots els genomes de *Prunus*. L'anàlisi de les distàncies genètiques entre els diferents mapes suggereix que els mapes de genomes similars tenen nivells més alts de recombinació que els construïts amb genomes més allunyats, especialment, en el cas de creuaments interespecífics.

## **SATURACIÓ DEL GENOMA DE *PRUNUS* AMB GENS CANDIDATS PER A LA QUALITAT DEL FRUIT**

Eudald Illa<sup>1\*</sup>, Iban Eduardo<sup>1,2\*</sup>, Jean Marc Audergon<sup>3</sup>, Francesca Barale<sup>2</sup>, Elisabeth Dirlewanger<sup>4</sup>, Zhongshan Gao<sup>5</sup>, Annick Moing<sup>6</sup>, Patrick Lambert<sup>3</sup>, Loick Le Dantec<sup>4</sup>, Xiongwei Li<sup>5</sup>, Jean-Luc Poëssel<sup>3</sup>, Carlo Pozzi<sup>2</sup>, Laura Rossini<sup>2,7</sup>, Alberto Vecchietti<sup>2</sup>, Pere Arús<sup>1</sup> i Werner Howad<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *IRTA. Centre de Recerca en Agrigenòmica CSIC-IRTA-UAB, Carretera de Cabrils Km 2, 08348 Cabrils (Barcelona), Spain.*

<sup>2</sup> *Parco Tecnologico Padano, Via Einstein, Località Cascina Codazza, 26900 Lodi, Italy.*

<sup>3</sup> *INRA-UR1052. Unité de Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes, 84000 BP 94, 84143 Montfavet, France.*

<sup>4</sup> *INRA-UR419. Unité de Recherches sur les Espèces Fruitières, BP 81, F-33140 Villenave d'Ornon, France.*

<sup>5</sup> *Institute of Fruit Science, The State Agriculture Ministry Laboratory of Horticultural Plant Growth, Development and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou, 310029, PR China.*

<sup>6</sup> *INRA-UMR619 Fruit Biology, BP 81, F-33140 Villenave d'Ornon, FR, France*

<sup>7</sup> *Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Produzione Vegetale, Via Celoria 2, 20133 Milano, Italy*

\*Els dos primers autors van contribuir de la mateixa manera en aquest treball

Molecular Breeding, DOI: 10.1007/s11032-010-9518-x

<http://www.springerlink.com/content/x9500005456w616t/>

L'aproximació per gens candidats (GCs) per a la identificació dels gens implicats en l'expressió d'un caràcter requereix del coneixement previ de la posició en el genoma de tants gens potencialment causants de la variabilitat fenotípica observada com sigui possible. Aquesta posició es compara després amb la de gens majors o loci de



caràcters quantitius (QTLs, de l'anglès *quantitative trait loci*) descrits per aquest caràcter i les co-localitzacions gen major–GC o GC–QTL indicaran una possible relació causa-efecte. A partir de col·leccions d'ESTs (*Expression Sequence Tags*), hem seleccionat 273 seqüències corresponents a GCs de rutes metabòliques que afecten el creixement del fruit i a la seva maduració, la textura, el contingut en sucres i àcids orgànics, l'aroma i el color i les hem mapat en el mapa de referència del gènere *Prunus* (T×E), que està construït a partir d'una població F<sub>2</sub> procedent d'un creuament interespecífic entre *P. dulcis* (ametller) i *P. persica* (presseguer). Per aconseguir-ho, hem aplicat una aproximació per *bin mapping*, en que la utilització de només vuit individus: sis plantes altament informatives de la progènie T×E més un dels progenitors i l'individu híbrid F<sub>1</sub> són suficients per determinar la posició d'un determinat marcador. El mapatge selectiu ha resultat ser una estratègia molt eficient. S'han pogut mapar 206 GCs (87%) basant-nos, principalment, en la segregació d'un o més SNPs (polimorfisme de nucleòtid simple) en la seva seqüència. Aquests GCs es troben distribuïts al llarg de tot el genoma de *Prunus* i constitueixen una bona eina per a l'anàlisi genètica dels fruiters d'aquest gènere (presseguer, prunera, albercoquer i cirerer) i ametller. Les co-localitzacions entre els GCs i gens majors o QTLs responsables de la variabilitat natural dels caràcters involucrats en la qualitat de fruit al gènere *Prunus* han estat determinades a partir de la informació disponible en les seves respectives posicions.

Paraules clau: Gen candidat, mapatge selectiu, *Prunus*, Qualitat del fruit, variabilitat dels SNPs.

## CARACTERITZACIÓ GENÒMICA DELS PUTATIUS AL·LÈRGENS A PRESSEGUER / AMETLLER I LA SEVA SINTENIA EN POMERA

Lin Chen<sup>1,2</sup>, Shuiming Zhang<sup>1,5</sup>, Eudald Illa<sup>3</sup>, Lijuan Song<sup>1</sup>, Shandong Wu<sup>2</sup>, Werner Howad<sup>3</sup>, Pere Arús<sup>3</sup>, Eric van de Weg<sup>4</sup>, Kunsong Chen<sup>1</sup> i Zhongshan Gao<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Fruit Science, The State Agriculture Ministry Laboratory of Horticultural Plant Growth, Development and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou, 310029, PR China*

<sup>2</sup>*Allergy Research Center, Zhejiang University, Hangzhou, 310058, PR China*

<sup>3</sup>*IRTA. Centre de Recerca en Agrigenòmica CSIC-IRTA-UAB, Carretera de Cabrils Km2; 08348 Cabrils (Barcelona), Spain*

<sup>4</sup>*Plant Research International, Wageningen University and Research Centre, PO box 16, 6700AA, Wageningen, The Netherlands*

<sup>5</sup>*Key Laboratory of Pomology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, PR China*

BMC Genomics 2008, 9:543 doi:10.1186/1471-2164-9-543

<http://www.biomedcentral.com/1471-2164/9/543>

**Introducció:** Els fruits de diverses espècies de la família *Rosaceae* han estat descrits com una de les causes de reaccions al·lèrgiques. Els al·lèrgens descrits en aquestes espècies pertanyen principalment a quatre famílies de proteïnes: proteïnes relacionades amb patogènesi de tipus 10 (PR-10), proteïnes tipus taumatina (TLP, proteïnes PR-5), proteïnes de transferència lipídica no específiques (nsLTPs, proteïnes PR-14) i profilines (PRF). Aquestes famílies d'al·lèrgens han estat prèviament mapades en pomera (*Mal d1 a 4*) i el subsegüent estudi genètic per determinar la seva variabilitat al·lèlica i les seves propietats hipoal·lèrgèniques s'ha dut a terme recentment. Al presseguer (*Prunus persica*), aquestes famílies al·lèrgògenes s'han denominat *Pru p 1 a 4* i a l'ametller (*Prunus dulcis*) *Pru du 1 a 4*. L'anàlisi genètica amb les eines moleculars disponibles actualment ajudarà a establir les causes per a les diferències existents en quant a l'al·lèrgenicitat dels diferents cultivars de presseguer. Aquest estudi té com a objectius caracteritzar els gens possiblement al·lèrgògens al presseguer, per a una posterior determinació de la seva seqüència i respectiva posició

en els mapes de lligament i comparar-los amb els seus homòlegs prèviament caracteritzats a pomera (*Malus × domestica*).

**Resultats:** S'han identificat vuit gens *Pru p/du 1*, quatre dels quals són nous. Tots els gens *Pru p/du 1* van ser mapats en un mateix bin, al començament del grup de lligament 1 (G1). Cinc gens *Pru p/du 2* van ser mapats en quatre grups de lligament diferents: dos gens *Pru p/du 2.01* molt similars (A i B) a G3, *Pru p/du 2.02* a G7, *Pru p/du 2.03* a G8 i *Pru p/du 2.04* a G1. Es van trobar diferències en l'estructura intrònica – exònica d'aquests gens *Pru p/du 2* així com en la seva seqüència aminoacídica. Tres gens *Pru p/du 3* (3.01–3.03) que contenen un intró i un mini exó de 10 bp s'han mapats en un *clúster* a G6. Dos gens *Pru p/du 4* (*Pru p/du 4.01* i *4.02*) s'han localitzat a G1 i G7, respectivament. El *clúster Pru p/du 1* de G1 s'alinea amb els *clústers Mal d 1* a LG16; *Pru p/du 2.01A* i *B* a G3 amb *Mal d 2.01A* i *B* a LG9; el *clúster Pru p/du 3* de G6 amb *Mal d 3.01* a LG12; *Pru p/du 4.01* a G1 amb *Mal d 4.03* a LG2; i *Pru p/du 4.02* de G7 amb *Mal d 4.02* a LG2.

**Conclusió:** Un total de 18 gens putativament al·lèrgògens de presseguer i/o ametller han estat mapats en 5 grups de lligament. Les seves posicions confirmen l'elevada macrosintènia entre presseguer – ametller i pomera. Aquestes dades ajudaran a identificar els gens clau en les diferències d'al·lèrgenicitat entre els diferents cultivars de presseguer i la resta d'espècies del gènere *Prunus*.

## **ANÀLISI DE QTLS DE QUALITAT DE FRUIT EN UNA POBLACIÓ BC<sub>2</sub> DE PRESSEGUER × *PRUNUS DAVIDIANA***

La recerca realitzada en aquest capítol és part d'un projecte Europeu (ISAFRUIT) en el que han intervingut grups d'investigadors de diversos països. El pla de treball consistí en estudiar el mateix grup de caràcters de qualitat en quatre descendències, dues de préssec i dues d'albercoc. Nosaltres vàrem estar a càrrec d'una de les descendències de préssec (BC2) que està plantada al Centre de l'INRA d'Avinyó. En aquest capítol s'exposen els resultats que vàrem obtenir en aquesta població, per bé que el nostre pla de publicació és fer-ho conjuntament amb els de l'altra progènie de presseguer. L'article en aquest moments està en les primeres fases d'elaboració, a càrrec d'Elisabeth Dirlewanger de l'INRA de Bordeus i hagués estat, per tant, impossible incloure'l aquí. El treball realitzat per cada grup de recerca pel que fa referència a aquesta progènie va ser el següent:

INRA. *Unité de Recherches sur la Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes, 84000 Avignon*, França (Bénédicte Quilot, Patrick Lambert, Jean-Luc Poëssel): manteniment de la població i presa de dades de tots els caràcters de camp i dels relacionats amb els compostos polifenòlics.

INRA. *Unité de Recherches sur les Espèces Fruitières et la Vigne, 33883 Villenave d'Ormon*, França. (Elisabeth Dirlewanger, Annick Moing, Catherine Deborde, Mickael Maucourt, Christel Renaud): obtenció de les dades de ressonància magnètica nuclear (RMN) relacionades amb els continguts de sucres, àcids orgànics i aminoàcids.

IRTA. Centre de Recerca en Agrigenòmica CSIC-IRTA-UAB, Carretera de Cabrils Km 2, 08348 Cabrils (Barcelona) (Eudald Illa, Werner Howad, Pere Arús): anàlisi de QTLs dels caràcters de camp, RMN i polifenols. Anàlisi comparativa de les posicions QTL-gens candidats. Saturació de regions escollides del mapa amb nous SSRs. Mapatge d'alguns gens candidats seleccionats.

**Paraules clau:** *Prunus*, QTL, qualitat de fruit, gens candidats, HRM

## Resum

El control genètic de 73 caràcters agronòmics i bioquímics relacionats amb la qualitat del fruit del presseguer s'ha investigat en una població de retroencreuament avançat derivada d'un encreuament entre *Prunus davidiana* (clon P1908) i dues varietats comercials, 'Summergrand' i 'Zéphyr®'. Un elevat nombre de loci de caràcters quantitativs (QTLs) han estat detectats a partir de les dades fenotípiques obtingudes durant dos anys consecutius. En total s'han identificat 83 QTLs reproduïbles, dels quals 48 explicaven una part important (al voltant del 20% o més) de la variabilitat fenotípica obtinguda. Alguns d'aquests QTLs es situaren en regions genòmiques on també si trobaren gens candidats (GCs) relacionats amb la qualitat del fruit, la posició dels quals al mapa de T×E ha estat trobada en aquesta tesi. Quatre d'aquests gens han estat mapats en la població estudiada, fent possible validar si la seva co-segregació amb les dades fenotípiques corresponia l'esperada suposant que aquests causessin la variabilitat observada.

## Introducció

L'anàlisi conjunta de la segregació dels marcadors moleculars i les dades fenotípiques dels caràcters d'herència quantitativa en descendències de qualsevol espècie permet la localització de regions on es troben un o més gens que expliquen parcialment la variació observada al mapa genètic d'aquestes progènies (Tanksley, 1993). Aquestes regions, anomenades loci de caràcters quantitativs (QTL, de l'anglès *quantitative trait loci*), fan possible la dissecció de la herència del caràcter estudiat en diferents QTLs cadascun dels quals pot ser avaluat individualment per la magnitud del seu efecte, acció gènica, interacció amb altres QTLs i amb el medi (Tanksley, 1993). Des de la seva primera aplicació en tomàquet (Paterson et al. 1988), l'anàlisi dels QTLs s'ha convertit en una eina aplicada rutinàriament en els estudis genètics de caràcters d'interès en plantes, permetent establir metodologies de selecció assistida per marcadors (MAS, de l'anglès *marker-assisted selection*) per a la millora de caràcters quantitativs (Asíns, 2002; Tanksley i Fulton, 2007) i facilitant la clonació d'alguns d'ells (Fridman et al. 2000; Liu et al. 2002; Chen et al. 2007).

Una aproximació a la identificació de gens implicats en l'herència de caràcters quantitativs o qualitativs és la anomenada estratègia dels gens candidats (GCs)

(Plieger et al. 2001). La co-localització en un punt del genoma d'un gen major o QTL i de la seqüència d'un GC (implicat en vies metabòliques potencialment relacionades amb l'expressió del caràcter estudiat) permet establir possibles relacions causa–efecte que s'han de comprovar després amb altres aproximacions genètiques (associació, complementació o ambdues). Aquesta estratègia s'ha vist afavorida en els darrers anys per l'enorme augment de la quantitat de seqüències d'ADN conegudes de moltes espècies, el que és conseqüència del seu progressiu abaratiment degut a importants millores metodològiques que han permès la seqüenciació massiva i que es coneixen globalment com a *Next-Generation Sequencing* (Shendure i Ji, 2008). A *Prunus*, existeixen candidats molt contrastats per a dos caràcters de gran valor econòmic, una RNAsa estilar i un gen F-box com a responsables del sistema d'incompatibilitat gametofítica d'aquest gènere (Ushijima et al. 2003) i el d'un gen que determina el caràcter del fruit de carn dura respecte al de carn tova al presseguer i que correspondria a una endopoligalacturonasa (Peace et al. 2005). Recentment, diverses publicacions han situat al mapa de referència de *Prunus* un nombre molt elevat (>1,000) de seqüències de gens coneguts. Una bona part d'ells són gens relacionats amb la qualitat del fruit (Ogundiwin et al. 2009; Illa et al. Capítol 2) i d'altres són seqüències COS (*Conserved Ortholog Sequences*), que consisteixen en ESTs (*Expressed Sequence Tags*) de rosàcies, poma, maduixa i préssec, homòlogues a gens de còpia única a *Arabidopsis* (Cabrera et al. 2009).

A préssec existeix informació sobre la posició en el mapa de gens majors (Dirlewanger et al. 2004) i QTLs (Dirlewanger et al. 1999; Etienne et al. 2002; Verde et al. 2002; Quilot et al. 2004; Dirlewanger et al. 2005; Dirlewanger et al. 2006) per caràcters de qualitat de fruit, particularment els relacionats amb mesures de camp (forma, mida, color de la pell i la polpa, fermesa de la carn del fruit, èpoques de floració i maduració, etc.) així com d'altres relacionats amb el contingut de sucres i àcids orgànics. Alguns d'ells (Quilot et al. 2004) han estat detectats en la mateixa població que estudiem aquí: la descendència del segon retroencreuament d'un híbrid préssec x *P. davidiana* utilitzant el préssec com a parental recurrent. No obstant, aquesta anàlisi es farà en aquest cas amb un mapa més complet i saturat, gràcies a la millora descrita a Illa et al. (2009), per un conjunt de caràcters més ampli, incloent moltes de les mesures de camp, però amb una anàlisi més a fons dels sucres, àcids orgànics i aminoàcids i amb la inclusió d'un conjunt de metabòlits nous, els polifenols, detectats per cromatografia líquida d'alta pressió (HPLC). Finalment, podrem situar en el mapa la posició dels nous

gens candidats mapats en aquesta tesi per Illa et al. Capítol 2 i comparar-los amb les posicions dels QTLs identificats. Això suposa un augment notable de la informació de que disposem actualment sobre la variabilitat i herència d'aquests caràcters en *P. persica* i alhora permetrà avaluar l'interès dels gens aportats per l'espècie silvestre. Aquesta informació pot ser útil per a aplicar estratègies de millora basades en un coneixement més profund de la genètica dels caràcters d'interès que previsiblement facilitaran la obtenció de noves varietats més atractives i saludables per al consumidor.

## Material i mètodes

### Material vegetal

La població BC2 va ser obtinguda pels investigadors del Centre de Recerca d'Avinyó (sud-est de França) de l'INRA (Pascal et al. 1998; Foulongne et al. 2003; Quilot et al. 2004). Es va generar a partir de l'encreuament del clon P1908 de l'espècie silvestre *P. davidiana* amb *P. persica* cv. Summergrand, una nectarina de carn groga desenvolupada a finals de la dècada de 1970. Un dels híbrids F<sub>1</sub> resultants (SD40) va ser seleccionat pel seu bon nivell de resistència enfront a oïdi (*Sphaerotheca pannosa* var. *persicae*) per donar lloc a la progènie BC<sub>1</sub> per retroencreuament, utilitzant 'Summergrand' com a progenitor recurrent. Es va utilitzar una mescla de pol·len dels híbrids BC<sub>1</sub> per fecundar una altra varietat de presseguer, Zéphyr® (cv. Monphir). Aquesta nectarina de carn blanca, més recent que 'Summergrand', va ser escollida per l'alta qualitat dels seus fruits. Tenint en compte la proporció en els orígens dels al·lels de *P. persica* respecte als de *P. davidiana*, la població obtinguda (anomenada BC2 d'ara en endavant) seria assimilable a una progènie de tipus BC<sub>2</sub>. Tanmateix aquesta població es diferencia d'una població BC<sub>2</sub> real perquè els progenitors utilitzats per obtenir les poblacions BC<sub>1</sub> i BC<sub>2</sub>, malgrat ser molt similars i generalment tenir al·lels distingibles del parental *P. davidiana*, no són idèntics.

La població BC2 consta de 163 individus que, conjuntament amb els tres progenitors, *P. davidiana*, 'Summergrand' i 'Zéphyr®', van ser empeltats en peus de GF305 i sembrats de forma completament aleatòria (en fileres de 5 m i 1.1 m entre fileres) amb 1 arbre per genotip, als terrenys del Centre de Recerca INRA d'Avinyó al 2001. Els arbres van ser cultivats en condicions normals d'irrigació, fertilització i control de

plagues. Les fonts de variabilitat ambiental entre genotips i entre fruits d'un mateix genotip van se minimitzades per podes d'aclarida.

### **Fenotipatge dels caràcters relacionats amb la qualitat dels fruits**

Els caràcters mesurats es van dividir en tres categories (Taula 1): els basats en dades de planta i fruit amb un mínim processament instrumental (que anomenarem "mesures de camp"), i els que s'obtingueren de l'anàlisi d'extractes de polpa del fruit amb ressonància magnètica nuclear (abreujats "RMN") i amb cromatografia líquida d'alta pressió (abreujats "HPLC"). En total s'obtingueren dades de 73 caràcters dels que 27 eren mesures de camp, 23 RMN i 23 HPLC (Taula 1).

El treball de camp per a la caracterització física i bioquímica dels fruits (dates de floració i maduració, pes del fruit i del pinyol, fermesa de la polpa, coloració, contingut total en sòlids solubles (SSC), acidesa titulable i pH) va ser dut a terme durant els anys 2005 i 2006. La composició de la polpa va ser analitzada mitjançant ressonància magnètica nuclear de protons ( $^1\text{H}$ -RMN) pels metabòlits principals a l'INRA de Bordeus i per cromatografia líquida d'alta pressió (HPLC) pels compostos fenòlics a l'INRA d'Avinyó.

Per cada genotip, es van escollir sis fruits homogenis, sans i sense malmetre per preparar una única mostra per al seu anàlisi bioquímic ( $^1\text{H}$ -RMN i HPLC). Es va eliminar la pela i el pinyol dels sis fruits i la polpa es va congelar immediatament en nitrogen líquid i es va guardar a  $-80^\circ\text{C}$ . Les mostres es van triturar en nitrogen líquid fins a obtenir una pols fina, que es va liofilitzar i conservar a  $-20^\circ\text{C}$  fins a la realització de les anàlisis.

La determinació dels compostos polars es va dur a terme per  $^1\text{H}$ -RMN seguint el protocol descrit anteriorment (Mounet et al. 2007; Deborde et al. 2009) amb petites modificacions. Es va tenir especial cura a l'hora de preparar els extractes. Així, es va afegir una solució de sal sòdica d'àcid etilendiaminotetracètic (EDTA) per permetre la quantificació absoluta dels metabòlits individuals i per millorar la resolució i quantificació dels àcids orgànics (àcid màlic i àcid cítric). Els paràmetres d'adquisició de la RMN van ser minuciosament escollits. Per a la quantificació dels diferents metabòlits es va utilitzar una referència electrònica. Breument, els metabòlits polars es van



extreure a partir de 50 mg de pols de mesocarpi liofilitzada mitjançant una sèrie d'extraccions successives en 2 mL de mescles hidroalcohòliques: 80/20, 50/50 (v/v) i una extracció final en 2 mL d'H<sub>2</sub>O, durant 15 min a 80°C. Els tres sobrenedants van ser assecats parcialment al buit, mesclats, reduïts a sequedat al buit i liofilitzats. Els extractes liofilitzats es van mesclar amb 500 µL de tampó potassi fosfat 400 mM a pH 6.0-0.6 mM EDTA en D<sub>2</sub>O, es van titular amb una solució de KOD a pH 6.0 i es van tornar a liofilitzar. Els espectres quantitius per <sup>1</sup>H-RMN van ser obtinguts a 500.162 MHz i 300 K en un espectròmetre Bruker Avance (Wissembourg, França) amb una sonda inversa de 5 mm, utilitzant un angle d'impuls de 90° i una referència electrònica per a la quantificació. L'assignació dels metabòlits en els espectres d'RMN es va dur a terme per comparació amb els valors de desplaçament químic de protons descrits a la bibliografia (Fan, 1996; Moing et al. 2004; Biais et al. 2009), per comparació amb els espectres dels compostos autèntics i realitzant alguns experiments de 2D COSY RMN en mostres representatives. Les concentracions dels metabòlits en tub de RMN es van calcular utilitzant una referència electrònica (Mounet et al. 2007) calibrada amb estàndards comercials i el contingut absolut dels metabòlits identificats es va determinar en referència al pes sec. Els compostos no identificats es van anomenar utilitzant el valor mig del desplaçament químic del protó i la seva multiplicitat en el grup corresponent de ressonància (per ex. *unknownD4.5* per a un doblet a 4.5 ppm). Aquests compostos es van quantificar en unitats arbitràries.

Els compostos fenòlics i cianogènics es van extreure tres cops a partir de 200 mg de pols liofilitzada del mesocarpi mitjançant una mescla d'etanol fred i H<sub>2</sub>O (70/30, v/v). Els extractes es van evaporar a sequedat durant tota una nit en un concentrador al buit, després es van dissoldre en 300 µL d'H<sub>2</sub>O destil·lada, es van diluir amb 700 µL de metanol per a HPLC i es van filtrar a través d'un filtre PTFE de 0.45 µm, abans de ser analitzats per cromatografia líquida d'alta pressió. Les anàlisis per HPLC es van dur a terme amb un aparell Prominence de Shimadzu (Japó) equipat amb un detector de xarxa de diode i per al control de l'aparell i l'adquisició de les dades es va utilitzar el programari Shimadzu's LcSolution (Japó). Els compostos es van separar per HPLC en fase inversa amb una columna LiChroCART® (250 mm x 4 mm) amb fase sòlida de 4 µm Superspher® 100 RP-18 endcapped, Merck (Darmstadt, Alemanya). Els solvents utilitzats per l'elució en gradient van ser H<sub>2</sub>O acidificada a pH 2.6 amb àcid ortofosfòric (solvent A) i metanol qualitat HPLC (solvent B). Els compostos fenòlics van ser detectats a 280 nm mentre els compostos cianogènics es van analitzar a 262 nm. La

identificació dels compostos es va realitzar per comparació del seu temps de retenció i espectre UV amb el de compostos estàndards d'Extrasynthèse (Genay, França) i Phytolab (Vestenbergsgreuth, Alemanya). A la vegada, aquestes identificacions van ser confirmades per HPLC acoblada a un espectròmetre de masses per comprovar el pes molecular i comparar els patrons de fragmentació amb el dels estàndards. La quantificació de cadascun dels compostos es va realitzar mitjançant corbes de calibratge individuals per a cada compost estàndard i els resultats en van expressar en micrograms per gram de pes sec ( $\mu\text{g/g PS}$ ). Quan no es disposava del compost estàndard corresponent, els resultats es van expressar respecte al compost equivalent més proper. Els compostos no identificats es van expressar en unitats d'àrea per gram de pes sec.

L'anàlisi fenotípica es realitzà durant dos anys consecutius. L'any 2005 es van estudiar 110 individus, per als quals es van prendre dades de 72 caràcters dels 73 estudiats; mentre l'any 2006 es van analitzar 70 caràcters en 121 individus. Així doncs, entre els dos anys es van analitzar 105 individus i 69 caràcters fenotípics comuns (Taula 1).

Els valors promig observats per a cada genotip i cada any es van utilitzar per calcular les correlacions entre cadascun dels caràcters pels anys 2005 i 2006. El càlcul de les correlacions de Pearson es feu mitjançant el programa JMP v5.1.2 per a Windows (SAS Institute, 2004).

### **Anàlisi de QTLs**

L'anàlisi de QTLs es va dur a terme utilitzant el programari WinQTLcartographer versió 2.5 (Wang et al. 2006). La detecció de QTLs es va dur a terme per separat per cada any mitjançant anàlisi d'un sol marcador i mapatge per intervals (IM). Tanmateix, només els resultats derivats de IM es presenten en aquest treball. Un llindar de  $\text{LOD} \geq 2$  va ser escollit per declarar un QTL com a significatiu. No obstant, quan es va detectar un QTL un any amb un  $\text{LOD} \geq 3$  i a l'altre amb un  $\text{LOD} \geq 1.9$ , en la mateixa posició, aquest últim es va tenir en compte.

## Genotipatge dels gens candidats

Sis gens candidats, prèviament mapats en el mapa de referència 'Texas' x 'Earlygold' (T×E) (Illa et al. Capítol 2) i que coincidien amb la posició de QTLs detectats en aquest treball, van ser seleccionats per ser incorporats al mapa genètic de la població BC2. Els GCs van ser amplificats i re-seqüenciats en els progenitors de la progènie BC2 (*P. davidiana*, 'Summergrand' i 'Zéphyr<sup>®</sup>') i en l'híbrid F<sub>1</sub> (SD40) utilitzant els protocols i encebadors descrits a Illa et al. (Capítol 2). L'alineament de les seqüències es va realitzar amb el programa informàtic SEQUENCHER<sup>™</sup> versió 4.8 (Gene Codes Corporation; Ann Arbor, MI). Els GCs que van mostrar polimorfisme a nivell de seqüència (Taula 2) van ser valorats en tota la població BC2.

Els GCs seleccionats es van genotipar per *High Resolution Melting* (HRM) a partir del disseny d'encebadors específics que amplifiquessin un petit fragment de seqüència ( $\leq 100$  pb) al voltant d'un únic polimorfisme, evitant la presència d'altres variacions en la seqüència de la regió d'aparellament dels encebadors (Taula 3). Els encebadors van ser dissenyats utilitzant el programari PRIMER3 (Rozen i Skaletsky, 2000; <http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>) seguint les següents especificacions: temperatura d'aparellament (T<sub>m</sub>) entre 58 i 62°C (òptima 60°C), longitud mitjana dels encebadors de 20 nucleòtids i mida esperada del fragment amplificat per PCR de 100 pb.

Tant la PCR com l'HRM es van realitzar en una placa de 96 pous en un LightCycler<sup>®</sup> 480 (Roche Applied Science). El volum de reacció va ser 10  $\mu$ L, 2.5  $\mu$ L d'ADN genòmic (8 ng· $\mu$ L<sup>-1</sup>) van ser afegits als 7.5  $\mu$ L de la mescla de reacció que conté 2.5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 300 nM dels encebadors directe i revers i 1× HRM master mix (Roche Applied Science).

Per aquest estudi només es va utilitzar un kit de *master mix* comercial. El programa de PCR es va iniciar amb una desnaturalització inicial de 10 min a 95°C, seguida de 45 cicles a 95°C durant 10 s, 60°C a 15 s i 72°C a 15 s. Després de l'amplificació, les mostres es van escalfar a 95°C durant 1 min i després es refredaren a 40°C durant 1 min. Les corbes de fusió van ser generades amb les dades obtingudes de la lectura contínua de la fluorescència durant la rampa final de 65°C a 95°C a 1.1°C/s. Les dades de fluorescència resultants es van processar amb el programari LightCycler480<sup>®</sup> Gene Scanning versió 1.5 (Roche Applied Science).

La informació obtinguda per cada gen candidat es van incorporar al conjunt de dades dels marcadors analitzats en la població BC2 (Illa et al. 2009). L'anàlisi del lligament es va realitzar amb el programari MAPMAKER/EXP V3.0 (Lander et al. 1987). Considerant l'origen particular de la progènie BC2, les freqüències de recombinació entre parelles de marcadors es van calcular com si es tractés d'un BC<sub>1</sub>, ja que utilitzant el mètode de màxima versemblança (Allard, 1956) els estimadors de la fracció de recombinació són els mateixos que per a un BC<sub>2</sub>. La funció de Kosambi (Kosambi, 1944) es va utilitzar per convertir les fraccions de recombinació en distàncies genètiques.

La representació dels mapes de lligament i dels QTLs es va elaborar amb el programari MAPCHART versió 2.2 (Voorrips, 2002), amb les distàncies genètiques en centimorgans (cM).

## **Resultats**

### **Variació i correlació dels caràcters fenotípics**

La distribució dels diferents caràcters va ser molt similar durant els 2 anys (Figura 1). Només alguns trets analitzats van mostrar una distribució normal: pes del fruit, fermesa de la polpa, percentatge de la coloració vermella de la pell, contingut en matèria seca (DMC), inositol i sacarosa. En canvi, la fructosa i la relació entre el contingut de fructosa – glucosa (FGratio) presentaven una distribució bimodal.

Els coeficients de correlació d'Spearman entre els diferents caràcters es mostren a la Taula suplementària S1. Les correlacions entre els dos anys oscil·len entre 0.95 en la data de maduració i 0.08 pel compost fenòlic no identificat a42m. En tots dos anys, es van observar fortes correlacions positives entre la data de maduració i el pH, la concentració de sorbitol i el contingut del compost fenòlic no identificat a89m; correlacions negatives van ser detectades pel contingut de citrat, àcid aspàrtic, alanina, valina i prunasina. A la vegada, la massa del fruit va correlacionar positivament amb la data de floració i el contingut de sacarosa i negativament amb les concentracions de glucosa, xilosa, àcid cafeoilquinic 1, àcid criptoclorogènic i diversos compostos fenòlics sense identificar.

## Detecció dels QTLs

L'anàlisi de QTLs es va realitzar mitjançant mapatge per intervals (IM) en els valors promig observats per a cadascun dels genotips i any. En total es detectaren 319 QTLs ambdós anys, 173 al 2005 i 146 al 2006 (Figura 2, Taula 4), que representaren cadascun entre el 6.9 i el 71.7% de la variació fenotípica dels caràcters analitzats (PEV). Pels 69 caràcters fenotípics comuns analitzats, 83 QTLs van ser estables o reproduïbles, és a dir, detectats el 2005 i 2006 en la mateixa posició del mapa. Els demès QTLs es van considerar poc reproduïbles i es descartaren per anàlisis posteriors. En total, doncs, el nombre de QTLs diferents detectats en el període dels dos anys, considerant només els caràcters mesurats ambdós anys va ser de 227, dels que només 83 foren reproduïbles (37%). Els QTLs trobats pels 27 caràcters agrupats dintre de les mesures de camp varen ser els més reproduïbles (45%), i els obtinguts amb els 23 caràcters HPLC els que menys (32%), mentre que les dades obtingudes amb els 23 caràcters RMN van quedar en una posició intermèdia (37%). Entre els QTLs reproduïbles, 48 (58%) explicaren una part important de la variació fenotípica observada ( $PEV \geq 10\%$  i al menys  $PEV \geq 20\%$  un dels dos anys), i els vam considerar QTLs majors. El nombre de QTLs majors no divergí massa entre els grups de caràcters (13 QTLs per les mesures de camp, 15 pels derivats de RMN i 20 pels derivats de HPLC).

Pel que fa a la data de floració, es va trobar un únic QTL per tots dos anys en el grup de lligament 1 (G1). A la vegada, per tots dos anys, un QTL reproduïble per data de maduració es va poder associar al polimorfisme del marcador AC6 en G2.

Respecte al pes fresc del fruit, es van detectar quatre QTLs diferents, tres d'ells localitzats en G1 i l'altre en G4. A la vegada, entre els marcadors PC60 i CPPCT030 (G6) es va detectar un QTL amb una elevada proporció en la variació observada en el pes del pinyol ( $PEV_{2005} = 31.5\%$  i  $PEV_{2006} = 27.2\%$ ).

Tres QTLs que modulen la coloració vermella de la pell dels fruits es van localitzar en els grups de lligament 2, 5 i 6. Tanmateix, entre tots ells, el que va tenir tingué una major contribució en la variació del caràcter era el QTL situat a la regió inferior del G5, entre els marcadors BPPCT014 i AG108 ( $PEV_{2005} = 20.6\%$  i  $PEV_{2006} = 19.5\%$ ).

A més de tots els QTLs descrits anteriorment, es van detectar nombrosos QTLs que podrien afectar el contingut de diferents metabòlits en la polpa dels fruits. Entre altres, es pot destacar un QTL pel contingut de fructosa que es trobava estretament lligat al marcador PC78 (G1) i que permetia explicar la variació fenotípica del caràcter entre un 40.4 i el 64.7%. A més, a la meitat del G7, s'ha detectat un QTL reproduïble que permetria explicar la variació en el contingut de glucosa fins a un 40.7%.

Alguns dels caràcters bioquímics com l'àcid neoclorogènic i la prunasina, van ser es varen mesurar amb RMN i amb HPLC. Els resultats obtinguts van ser parcialment concordants. Un QTL major per l'àcid neoclorogènic es trobà en ambdós casos a G6, però un altre QTL major en una posició diferent va ser detectat únicament per les dades de HPLC. Pel que fa a la prunasina, vam trobar tres QTLs reproduïbles amb RMN als G2, G5 i G6, dos dels quals (G2 i G6) eren majors. Les dades d'HPLC van permetre únicament detectar-ne un de reproduïble al G6, en una posició propera al trobat per RMN; un altre QTL al G2 va ser detectat només l'any 2005 per HPLC.

### **Co-localitzacions CG – QTL**

Un cop determinada la posició dels diferents QTLs es van identificar vuit co-localitzacions entre els QTLs majors detectats i els GCs mapats a 'Texas' x 'Earlygold' (T×E) (Illa et al. Capítol 2) que vam considerar amb més possibilitats de detectar associacions significatives. Aquestes co-localitzacions es van trobar en tots els grups de lligament a excepció de G2, G6 i G8 i es descriuen en el següent paràgraf.

Dos QTLs estables relacionats amb la coloració de la polpa dessecada (Lpowder i apowder) i que coincidien amb dos QTLs més pel contingut de diferents antocians (antho1 i antho2) s'han detectat a la part baixa de G3. Aquests QTLs co-localitzaven amb el gen *Udgt1* que codifica per l'enzim UDP-glucosa:flavonol 3-O-glucosiltransferasa, enzim que participa en la modificació de les antocianidines. A G4, es situa un gen (*Art*), que codifica per a un altre enzim que intervé en la ruta de síntesi de antocianidines (antocianidin-3-glucòsid ramnosiltransferasa), que co-localitza amb QTLs per la coloració de la polpa dessecada. Pel que fa a la fermesa i al percentatge de coloració vermella de la pell, es van detectar diversos QTLs a la mateixa regió de G5 (al voltant de BPPCT014). Gens que codifiquen per una pectat liasa (*P1*) i una endo-beta-1,4-glucanasa (*Eg4*) co-localitzen amb un QTL de fermesa, i un gen que codifica

per la flavonoid 3'-monooxigenasa (*F3'h*) co-localitza amb un QTL per coloració vermella de la pell. El QTL pel contingut de glucosa descrit a la zona mitjana-baixa de G7 coincideix amb dos QTLs relacionats amb el metabolisme dels sucres descrits anteriorment (Quilot et al. 2004) i amb la posició de dos GCs que codifiquen per una sacarosa sintasa (*Sus1*) i una hexoquinasa (*Hk2*). Un altre co-localització interessant va ser la del QTL pel contingut en fructosa descrit en el G1 i un gen que codifica per una fructoquinasa (*Fk1*), enzim que té un paper rellevant en el metabolisme de la fructosa i la sacarosa.

### **Mapatge dels gens candidats a BC2**

De les vuit co-localitzacions GC – QTL identificades al paràgraf anterior vam decidir centrar-nos en aquelles que es troben en G1, G5 i G7 que impliquen sis gens candidats relacionats amb contingut en sucres, color i fermesa de la carn del préssec. Aquests sis gens candidats, prèviament mapats a 'Texas' x 'Earlygold' (T×E) (Illa et al. Capítol 2), van ser amplificats i re-seqüenciats en els progenitors de la descendència BC2 (*P. davidiana*, 'Summergrand' i 'Zéphyr<sup>®</sup>') i en l'híbrid F<sub>1</sub> (SD40) per tal de detectar la presència de qualsevol tipus de polimorfisme. En quatre dels sis GCs es va detectar com a mínim un polimorfisme a nivell de seqüència (Taula 2). El nombre de SNPs per GC oscil·lava entre 1 (per *Hk2*) i 7 (per *P11*). En total se'n van detectar 12 en una longitud total de 2,574 pb (1 SNP cada 215 pb de mitjana).

Pel mapatge dels 4 GCs es va optar per l'ús de la HRM amb encebadors específics (Taula 3). Els productes de PCR analitzats per HRM tenien una mida que oscil·lava entre els 86 i els 100 pb. En tots els casos, el polimorfisme detectat en la descendència de la població BC2 fou coherent amb els patrons observats en els progenitors. La segregació observada va permetre assignar una posició a cadascun dels gens candidats (Figura 1). En G5, la pectat liasa (*P11*) co-segregava amb el marcador EPDCU4658, mentre que la *F3'h* va localitzar-se entre els marcadors AG46 i BPPCT014. A la vegada, *Sus1* i *Hk2* es troben situats a la part baixa del G7.

Una nova anàlisi de QTLs es va dur terme incorporant la posició dels GCs per tal de veure on es localitzaven els QTLs (Taula 5). Tant els QTLs de fermesa com el que intervé en la coloració vermella de la pell dels fruits seguien trobant-se en la mateixa regió entre els marcadors BPPCT014 i AG108 (G5). En els dos casos, la posició del punt

màxim de LOD del QTL és a prop, però no coincideix amb la localització dels GCs. En G7, el punt màxim de LOD del QTL pel contingut de glucosa coincideix amb la posició de *Sus1*.

## Discussió

Un total de 73 caràcters fenotípics (27 mesures de camp, 23 RMN i 23 HPLC) relacionats amb la qualitat del fruit van ser analitzats durant dos anys consecutius en una població de presseguer derivada del segon retroencreuament de *P. davidiana* i dos cultivars diferents de *P. persica*. Dels 173 QTLs detectats al 2005 i els 146 al 2006, 83 van resultar ser estables durant els dos anys; la resta només es detectà en un dels dos. Aquestes diferències entre els resultats podrien explicar-se considerant que els canvis ambientals entre anys van resultar en una variació fenotíptica que no va permetre detectar el QTL en un d'ells o bé perquè en un dels dos anys s'havia detectat un QTL allà on no hi era. Aquesta manca d'estabilitat entre els QTL detectats en anys diferents coincideix amb els resultats descrits a la bibliografia sobre caràcters relacionats amb la qualitat de la fruita. Utilitzant una població F<sub>2</sub> intraespecífica de préssec, Etienne et al. (2002) i Dirlewanger et al. (1999) van identificar sobre 30 QTLs totals, un QTL estable durant dos anys pel pes fresc i per la concentració de sorbitol i dos per a la data de maduració, el pH, l'àcidesa titulable, el contingut d'àcid màlic i el contingut d'àcid cítric. Verde et al. (2002) en un BC<sub>1</sub> (*P. ferganensis* x préssec) x préssec van detectar només un QTL estable per la data de floració i maduració, i dos pel color del fruit de la pell i el contingut de sòlids solubles dels 12 QTLs totals detectats. A la vegada, Quilot et al. (2004) en la mateixa població que nosaltres van identificar un QTL estable durant dos anys consecutius per set caràcters: data de floració, pes fresc, diàmetre polar del fruit i pel contingut de sòlids solubles, fructosa i àcids cítric i màlic (7 QTLs estables dels 92 QTLs detectats).

Les dades obtingudes en aquest treball ens han permès trobar un nombre relativament alt (83) de QTLs estables que han estat identificats en 7 dels 8 grups de lligament del mapa de la població BC2. Tanmateix, hi ha certes regions que concentren un bon nombre de QTLs (per exemple, la regió terminal del G3 i G5). Aquests QTLs podrien estar produïts per varis gens localitzats en la mateixa zona cromosòmica o als efectes pleiotròpics d'un sol gen que actuaria sobre diversos caràcters.



## **Comparació entre les posicions dels QTLs de qualitat de fruit trobats anteriorment a la població BC2**

L'objectiu principal pel que es va crear la població utilitzada en aquest assaig va ser per estudiar la possible utilitat de *P. davidiana* per a incorporar al presseguer gens de resistència enfront a l'oïdi i a altres malalties i insectes (Foulongne et al. 2003), la gran variabilitat generada per aquest encreuament interespecífic va ser també útil per a estudiar altres caràcters, particularment els relacionats amb la qualitat del fruit (Quilot et al. 2004).

Quilot et al. (2004) van realitzar una anàlisi de QTLs per 25 caràcters durant 2001 i 2002, obtenint un total de 92 QTLs. D'aquests 25 caràcters, 14 són comuns amb el treball que aquí es presenta, fet que ens permet comparar els resultats obtinguts. En general, els resultats van ser bastant semblants, destacant diversos QTLs localitzats com a reproduïbles en ambdós treballs pels següents caràcters: pes del pinyol (G6), data de floració (G1), pes fresc del fruit (G4), contingut de glucosa (G7) i contingut en fructosa (G1). Alguns QTLs reproduïbles a Quilot et al. (2004) només han estat trobats un any en aquest treball, com la data de maduració (G4), el contingut de sòlids solubles (G5), el contingut en matèria seca de la polpa (G5) o el contingut en àcid cítric (G3). Altres caràcters que tenien QTLs estables en aquest treball, només es van trobar un any a Quilot et al. (2004): època de floració (G5), pes fresc del fruit (G1) i contingut d'àcid quínic (G6). A dos caràcters que havien estat estudiats només un any per Quilot et al. (2004) vam trobar QTLs estables en el nostre estudi que eren comuns, és el cas de la coloració de la carn (G1 i G3) i de la pell (G5), que els confirmarien. També hi ha exemples de QTLs estables a Quilot et al. (2004) que no van ser trobats en aquest estudi, com un QTL pel contingut de sòlids solubles (G4), un de contingut de sacarosa (G7) i un de contingut en sorbitol (G4).

### **Co-localitzacions QTL – GC**

En G1, prop del marcador PC78, hem detectat un QTL amb un efecte molt important (PEV > 40%) en el contingut de fructosa dels fruits. En la mateixa regió del mapa de T×E, s'hi va localitzar el gen *Fk1* que codifica per una fructoquinasa, un dels enzims que pot afectar la concentració de fructosa dels fruits (Kanayama et al. 2005). La manca de polimorfisme del fragment del GC que vam seqüenciar en els progenitors de

la població BC2 no permet confirmar o desmentir l'associació de *Fk1* en la variació del caràcter.

Dos GCs (*Pl1* i *Eg4*) relacionats amb la fermesa del fruit es van localitzar en el bin 5:41 de T×E (Illa et al. Capítol 2), entre els marcadors CPSCT006 i CPSCT022. Tant PL1 com EG4 participen en la degradació de la paret cel·lular i, consegüentment, en l'estovament del fruit (Marin-Rodriguez et al. 2002; Peace et al. 2005; Trainotti et al. 2006). La participació de la pectat liasa en l'estovament dels fruits va ser descoberta fa anys en plàtan (Dominguez-Puigjaner et al. 1997; Payasi i Sanwal, 2003), raïm (Nunan et al. 2001) i maduixa (Medina-Escobar et al. 1997). En maduixa, per exemple, l'activitat de la pectat liasa va ser demostrada a partir de la troballa d'un gen antisentit capaç de reduir l'estovament dels fruits de manera significativa (Jimenez-Bermudez et al. 2002). Tanmateix, l'anàlisi de QTLs realitzat després de la incorporació de la posició de *Pl1* al mapa de BC2 treu importància a la co-localització, doncs aquest es troba a 16.1 cM del punt màxim del QTL. En canvi, *Eg4* no ha pogut ser cartografiat en la població BC2.

A la zona terminal de G7, prop de la posició del marcador pchms2 (a 38.7cM de l'extrem del grup de lligament), s'hi va detectar un QTL estable pel contingut de glucosa que coincideix amb altres tres relacionats amb el metabolisme dels sucres: sacarosa, fructosa i contingut total en sucres que s'havien trobat abans (Quilot et al. 2004; Dirlewanger et al. 2006). Aquests QTLs es troben en la mateixa regió del genoma, suggerint que podrien correspondre a un únic QTL (Quilot et al. 2004). Proper a aquest punt, trobem dos gens que codifiquen per una hexoquinasa (*Hk2*) i una sacarosa sintasa (*Sus1*), dos enzims que, per l'activitat que desenvolupen, podrien estar relacionats amb la dolçor dels fruits. La sacarosa sintasa intervé en la conversió reversible de la sacarosa en D-fructosa i UDP-glucosa en el citoplasma (Sun et al. 1992; Zrenner et al. 1995). A la vegada, la hexoquinasa catalitza la primera etapa en el metabolisme de la glucosa, la producció de glucosa 6-fosfat per al seu ús en les principals vies metabòliques com la glucòlisi i la respiració cel·lular, la biosíntesi de sacarosa, la via oxidativa de les pentoses fosfat, la biosíntesi del midó i la síntesi de trehalosa (Granot, 2008). El mapatge dels dos gens va ser possible i es situaren en posicions molt pròximes (39.3 cM de l'inici del grup de lligament per *Hk2* i 39.6 per *Sus1*). L'anàlisi de QTLs posterior al mapatge d'aquests gens indica que el màxim de

LOD del QTL que vam detectar es situa en la posició de *Sus1*, fet que reforçaria el seu valor com a possible gen responsable d'aquest caràcter.

A les zones vermelles de la pell del presseguer s'hi acumula principalment cianidina-3-glucòsid (Tomas-Barberan et al. 2001; Tsuda et al. 2004). L'acumulació d'aquest compost té lloc progressivament durant el desenvolupament del fruit, principalment per l'increment en l'expressió de gens de la biosíntesi d'antocianines com la xalcona sintasa (clau en la biosíntesi de flavonoides), la flavonoid 3'-monooxigenasa, la dihidroflavonol-4-reductasa i la leucoantocianidin dioxigenasa (Tsuda et al. 2004). La co-localització d'un gen que codifica per la flavonoid 3'-monooxigenasa (F3'H) i un QTL relacionat amb la coloració vermella de la pell fa pensar que l'activitat d'aquest enzim podria estar relacionada amb els canvis en la tonalitat vermella de la fruits. La localització d'aquest gen en el mapa va ser possible i, tot i estar localitzat a la regió esperada, no va coincidir amb la posició del màxim de LOD del QTL el que, sense invalidar la seva possible relació causa – efecte amb el caràcter del color de la pell, ho fa menys probable.

A més de les estudiades amb més profunditat, altres co-localitzacions han estat detectades entre els QTLs identificats i els gens candidats per a la qualitat del fruit. Aquestes altres co-localitzacions estan relacionades amb la coloració de la polpa dessecada (Lpowder i apowder) i el contingut d'antocians (*antho1* i *antho2*), totes elles en G3. Aquests QTLs co-localitzaven amb UDP-glucosa:flavonol 3-O-glucosiltransferasa (*Ufgt1*), enzim que participa en la modificació de les antocianidines. A petúnia, els mutants d'aquest locus acumulen glucòsids de cianidina que els confereix una coloració vermella (Kroon et al. 1994). Tanmateix, recentment en la mateixa regió s'ha mapat el factor de transcripció *Myb10*, proposat com a element responsable del control del color del fruit a la cirera (Sooriyapathirana et al. 2010).

## Conclusions

En aquest treball hem estudiat 73 caràcters relacionats amb la qualitat del fruit del presseguer i determinat un nombre important de QTLs estables que determinen la seva herència. La comparació amb els gens candidats mapats anteriorment i aquests QTLs ens ha permès trobar algunes co-localitzacions interessants que hem començat a analitzar en més detall. En els darrers mesos han estat publicats varis treballs que, amb aproximacions semblants, han situat centenars de nous gens potencialment

interessants al mapa de *Prunus* (Cabrera et al. 2009; Ogundiwin et al. 2009). El recent accés (des d'Abril de 2010) a la seqüència completa del genoma del presseguer (<http://www.rosaceae.org/node/355>) obre perspectives molt més àmplies per a la identificació de gens candidats, dirigint la cerca no només en base a la relació de la funció del gen amb el caràcter d'interès sinó també a la posició al genoma d'aquests QTLs, el que permet una focalització molt més precisa d'aquesta cerca. S'obre una nova etapa en la que, a partir de la informació generada en aquest i altres treballs sobre la identificació de les regions genòmiques on hi ha el gens d'interès, sigui possible trobar aquests gens d'una manera més senzilla i exhaustiva, el que resultarà en avenços substancials en la comprensió de la genètica dels caràcters clau de la qualitat del fruit, en la detecció dels seus diferents al·lels i el seu efecte fenotípic i en el desenvolupament de marcadors que permetin seleccionar les variants al·lèliques més interessants en poblacions segregants. D'aquesta manera s'obtindran amb menys esforç i més fiabilitat noves varietats millorades tant pels que les hagin de conrear com per aquells que n'hagin de consumir els fruits.

## **Agraïments**

Aquest treball és part de la recerca realitzada dintre pel projecte ISAFRUIT. El projecte ISAFRUIT està finançat per la Comissió Europea, sota la temàtica prioritària 5– *Food Quality and Safety of the 6<sup>th</sup> Framework Programme of RTD* (Contracte No. FP6-FOOD-CT-2006-016279). Les opinions expressades en aquesta publicació no poden ser considerades com la postura oficial de la Comissió Europea. El grup de l'IRTA és un membre del *CONSOLIDER Center for Basic Genomics and Agro-food Orientation* (CSD2007-00036) finançat pel Ministeri de Ciència i Innovació Espanyol.

## **Bibliografia**

- Allard RW (1956) Formulas and tables to facilitate the calculation of recombination values in heredity. *Hilgardia* 24:235-278
- Asíns MJ (2002) Present and future of quantitative trait locus analysis in plant breeding. *Plant Breeding* 121:281-291
- Biais B, Allwood JW, Deborde C, Xu Y, Maucourt M, Beauvoit B, Dunn WB, Jacob D, Goodacre R, Rolin D, Moing A (2009) <sup>1</sup>H NMR, GC-EI-TOFMS, and Data Set Correlation

for Fruit Metabolomics: Application to Spatial Metabolite Analysis in Melon. *Analytical Chemistry* 81:2884-2894

Cabrera A, Kozik A, Howad W, Arús P, Iezzoni A, Knaap E (2009) Development and bin mapping of a Rosaceae Conserved Ortholog Set (COS) of markers. *BMC Genomics* 10:562

Chen K-Y, Cong B, Wing R, Vrebalov J, Tanksley SD (2007) Changes in Regulation of a Transcription Factor Lead to Autogamy in Cultivated Tomatoes. *Science* 318:643-645

Deborde C, Maucourt M, Baldet P, Bernillon S, Biais B, Talon G, Ferrand C, Jacob D, Ferry-Dumazet H, de Daruvar A, Rolin D, Moing A (2009) Proton NMR quantitative profiling for quality assessment of greenhouse-grown tomato fruit. *Metabolomics* 5:183-198

Dirlewanger E, Cosson P, Boudehri K, Renaud C, Capdeville G, Tauzin Y, Laigret F, Moing A (2006) Development of a second-generation genetic linkage map for peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and characterization of morphological traits affecting flower and fruit. *Tree Genetics & Genomes* 3:1-13

Dirlewanger E, Cosson P, Renaud C, Monet R, Poëssel JL, Moing A (2005) New detection of QTLs controlling major fruit quality components in peach. *Acta Horticulturae* 713:65-72

Dirlewanger E, Graziano E, Joobeur T, Garriga-Caldere F, Cosson P, Howad W, Arús P (2004) Comparative mapping and marker-assisted selection in *Rosaceae* fruit crops. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101:9891-9896

Dirlewanger E, Moing A, Rothan C, Svanella L, Pronier V, Guye A, Plomion C, Monet R (1999) Mapping QTLs controlling fruit quality in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch). *Theoretical and Applied Genetics* 98:18-31

Dominguez-Puigjaner E, Llop I, Vendrell M, Prat S (1997) A cDNA Clone Highly Expressed in Ripe Banana Fruit Shows Homology to Pectate Lyases. *Plant Physiology* 114:1071-1076

Etienne C, Rothan C, Moing A, Plomion C, Bodenes C, Svanella-Dumas L, Cosson P, Pronier V, Monet R, Dirlewanger E (2002) Candidate genes and QTLs for sugar and organic acid content in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Theoretical and Applied Genetics* 105:145-159

Fan TWM (1996) Metabolite profiling by one- and two-dimensional NMR analysis of complex mixtures. *Progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy* 28:161-219

- Foulongne M, Pascal T, Arús P, Kervella J (2003) The potential of *Prunus davidiana* for introgression into peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] assessed by comparative mapping. *Theoretical and Applied Genetics* 107:227-238
- Fridman E, Pleban T, Zamir D (2000) A recombination hotspot delimits a wild-species quantitative trait locus for tomato sugar content to 484 bp within an invertase gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97:4718-4723
- Granot D (2008) Putting plant hexokinases in their proper place. *Phytochemistry* 69:2649-2654
- Illa E, Lambert P, Quilot B, Audergon JM, Dirlewanger E, Howad W, Dondini L, S.Tartarini, Lain O, Testolin R, Bassi D, Arús P (2009) Linkage map saturation, construction, and comparison in four populations of *Prunus*. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology ISAFRUIT Special Issue*:168-175
- Jimenez-Bermudez S, Redondo-Nevado J, Munoz-Blanco J, Caballero JL, Lopez-Aranda JM, Valpuesta V, Pliego-Alfaro F, Quesada MA, Mercado JA (2002) Manipulation of Strawberry Fruit Softening by Antisense Expression of a Pectate Lyase Gene. *Plant Physiology* 128:751-759
- Kanayama Y, Kogawa M, Yamaguchi M, Kanahama K (2005) Fructose Content and the Activity of Fructose-related Enzymes in the Fruit of Eating-quality Peach Cultivars and Native-type Peach Cultivars. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 74:431-436
- Kosambi DD (1944) The estimation of map distance from recombination values. *Annals of Eugenics* 12:172-175
- Kroon J, Souer E, Graaff Ad, Xue Y, Mol J, Koes R (1994) Cloning and structural analysis of the anthocyanin pigmentation locus *Rt* of *Petunia hybrida*: characterization of insertion sequences in two mutant alleles. *The Plant Journal* 5:69-80
- Lander ES, Green P, Abrahamson J, Barlow A, Daly MJ, Lincoln SE, Newburg L (1987) MAPMAKER: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics* 1:174-181
- Liu J, Van Eck J, Cong B, Tanksley SD (2002) A new class of regulatory genes underlying the cause of pear-shaped tomato fruit. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99:13302-13306
- Marin-Rodriguez MC, Orchard J, Seymour GB (2002) Pectate lyases, cell wall degradation and fruit softening. *Journal Experimental Botany* 53:2115-2119

- Medina-Escobar N, Cárdenas J, Moyano E, Caballero JL, Muñoz-Blanco J (1997) Cloning, molecular characterization and expression pattern of a strawberry ripening-specific cDNA with sequence homology to pectate lyase from higher plants. *Plant Molecular Biology* 34:867-877
- Moing A, Maucourt M, Renaud C, Gaudillère M, Brouquisse R, Lebouteiller B, Gousset-Dupont A, Vidal J, Granot D, Denoyes-Rothan B, Lerceteau-Köhler E, Rolin D (2004) Quantitative metabolic profiling by 1-dimensional <sup>1</sup>H-NMR analyses: application to plant genetics and functional genomics. *Functional Plant Biology* 31:889-902
- Mounet F, Lemaire-Chamley M, Maucourt M, Cabasson C, Giraudel J-L, Deborde C, Lessire R, Gallusci P, Bertrand A, Gaudillère M, Rothan C, Rolin D, Moing A (2007) Quantitative metabolic profiles of tomato flesh and seeds during fruit development: complementary analysis with ANN and PCA. *Metabolomics* 3:273-288
- Nunan K, Davies C, Robinson S, Fincher G (2001) Expression patterns of cell wall-modifying enzymes during grape berry development. *Planta* 214:257-264
- Ogundiwin E, Peace C, Gradziel T, Parfitt D, Bliss F, Crisosto C (2009) A fruit quality gene map of *Prunus*. *BMC Genomics* 10:587
- Pascal T, Kervella J, Pfeiffer F, Sauge MH, Esmenjaud D (1998) Evaluation of the interspecific progeny *Prunus persica* cv. Summergrand x *Prunus davidiana* for disease resistance and some agronomic features. *Acta Horticulturae* 465:185-192
- Paterson AH, Lander ES, Hewitt JD, Peterson S, Lincoln SE, Tanksley SD (1988) Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. *Nature* 335:721-726
- Payasi A, Sanwal GG (2003) Pectate lyase activity during ripening of banana fruit. *Phytochemistry* 63:243-248
- Peace CP, Crisosto CH, Gradziel TM (2005) Endopolygalacturonase: a Candidate Gene for Freestone and Melting Fleshin Peach. *Molecular Breeding* 16:21-31
- Plioger S, Lefebvre V, Causse M (2001) The candidate gene approach in plant genetics: a review. *Molecular Breeding* 7:275 - 291
- Quilot B, Wu BH, Kervella J, Genard M, Foulongne M, Moreau K (2004) QTL analysis of quality traits in an advanced backcross between *Prunus persica* cultivars and the wild relative species *P. davidiana*. *Theoretical and Applied Genetics* 109:884-897
- Rozen S, Skaletsky H (2000) Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. *Methods Molecular Biology* 132:365-386
- Shendure J, Ji H (2008) Next-generation DNA sequencing. *Nature Biotechnology* 26:1135-1145

- Sooriyapathirana S, Khan A, Sebolt A, Wang D, Bushakra J, Lin-Wang K, Allan A, Gardiner S, Chagné D, Iezzoni A (2010) QTL analysis and candidate gene mapping for skin and flesh color in sweet cherry fruit (*Prunus avium* L.). *Tree Genetics & Genomes*:doi:10.1007/s11295-11010-10294-x
- Sun J, Loboda T, Sung S-JS, Black CC, Jr. (1992) Sucrose Synthase in Wild Tomato, *Lycopersicon chmielewskii*, and Tomato Fruit Sink Strength. *Plant Physiology* 98:1163-1169
- Tanksley S, Fulton T (2007) Dissecting quantitative trait variation—examples from the tomato. *Euphytica* 154:365-370
- Tanksley SD (1993) Mapping polygenes. *Annual Review of Genetics* 27:205-233
- Tomas-Barberan FA, Gil MI, Cremin P, Waterhouse AL, Hess-Pierce B, Kader AA (2001) HPLC-DAD-ESIMS Analysis of Phenolic Compounds in Nectarines, Peaches, and Plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49:4748-4760
- Trainotti L, Pavanello A, Zanin D (2006) PpEG4 is a peach endo-beta-1,4-glucanase gene whose expression in climacteric peaches does not follow a climacteric pattern. *Journal Experimental Botany* 57:589-598
- Tsuda T, Yamaguchi M, Honda C, Moriguchi T (2004) Expression of anthocyanin biosynthesis genes in the skin of peach and nectarine fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 129:857-862
- Ushijima K, Sassa H, Dandekar AM, Gradziel TM, Tao R, Hirano H (2003) Structural and Transcriptional Analysis of the Self-Incompatibility Locus of Almond: Identification of a Pollen-Expressed F-Box Gene with Haplotype-Specific Polymorphism. *Plant Cell* 15:771-781
- Verde I, Quarta R, Cedrola C, Dettori MT (2002) QTL analysis of agronomic traits in a BC<sub>1</sub> peach population. *Acta Horticulturae* 592
- Voorrips RE (2002) MapChart: Software for the Graphical Presentation of Linkage Maps and QTLs. *Journal of Heredity* 93:77-78
- Wang S, Basten CJ, Zeng ZB (2006) Windows QTL Cartographer 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC <http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>
- Zrenner R, Salanoubat M, Willmitzer L, Sonnewald U (1995) Evidence of the crucial role of sucrose synthase for sink strength using transgenic potato plants (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Journal* 7:97-107

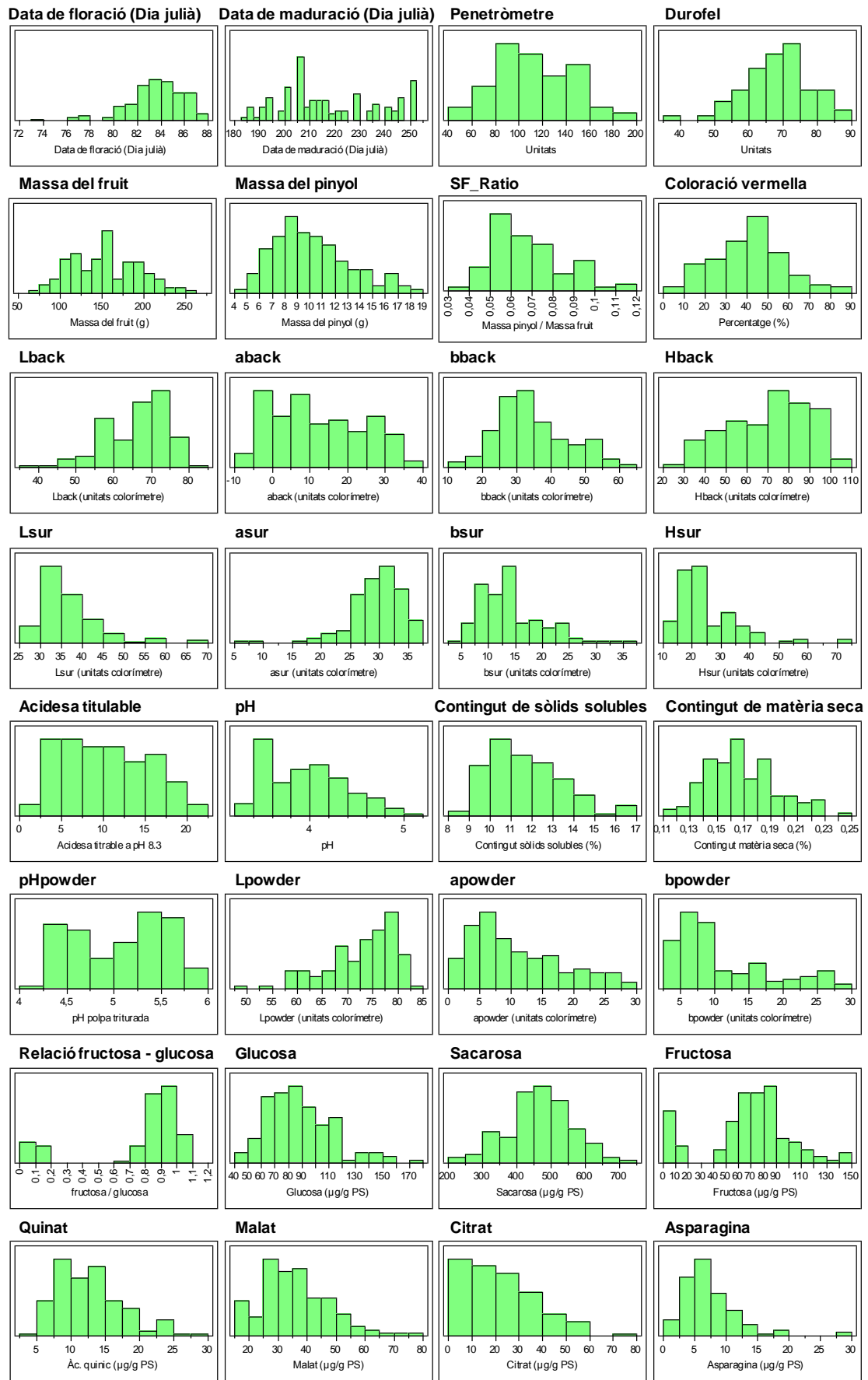


## Figures

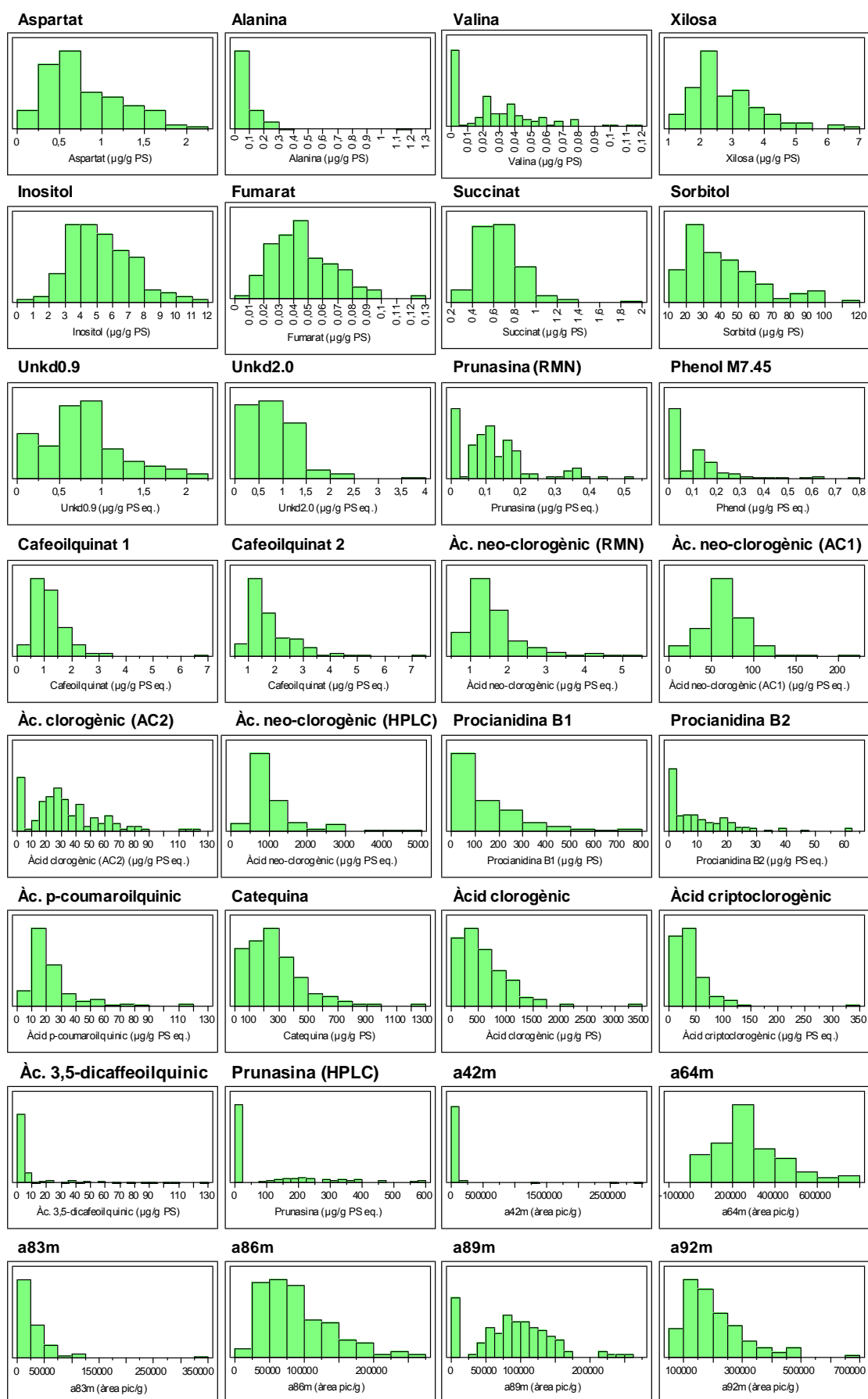
**Figura 1:** Distribució dels diferents caràcters mesurats als individus de la població BC2 durant els anys 2005 (taronja) i 2006 (verd).

**Figura 2:** Localització dels QTLs detectats en la població BC2 durant 2 anys consecutius. Els marcadors de color taronja corresponen als gens candidats relacionats amb qualitat de fruit mapats en aquest treball. *Ftime*, data de floració; *Mtime*, data de maduració; *Pmeter*, fermesa (penetròmetre); *Durofel*, fermesa (durofel); *Fmass*, pes de fruit fresc; *SMass*, pes del pinyol en fresc; *SF\_ratio*, pes del pinyol/ pes del fruit; *OverColour*, percentatge de coloració vermellosa de la pell (anotació visual); *Lback*, brillantor (de 0 (negre) a 100% (blanc)) \_ background; *aback*, de vermell (128) a verd (-128) \_ background; *bback*, de groc (128) a blau (-128) \_ background; *Hback*, hue angle \_ background; *Lsur*, brillantor (de 0 (negre) a 100% (blanc)) \_ surimpression; *asur*, de vermell (128) a verd (-128) \_ surimpression; *bsur*, de groc (128) a blau (-128) \_ surimpression; *Hsur*, hue angle \_ surimpression (Minolta colorímetre); *TA*, acidesa titulable; *SSC*, Contingut en sòlids solubles; *DMC*, contingut de matèria seca de la polpa; *pHpowder*, pH de la pols; *Lpowder*, brillantor (de 0 (negre) a 100% (blanc)) \_ pols; *apowder*, de vermell (128) a verd (-128) \_ powder; *bpowder*, de groc (128) a blau (-128) \_ powder, *FGratio*, relació fructosa/glucosa; *Glc*, glucosa; *Fruc*, fructosa; *Sucr*, Sacarosa; *Xyl*, xilosa; *Ino*, inositol; *Qui*, quinat; *Cit*, citrat; *Mal*, malat; *Suc*, succinat; *Asn*, asparagina; *Asp*, aspartat; *Ala*, alanina; *Val*, valina; *Unkd0.9*, compost no identificat amb doblet a 0.9; *Unkd2.0*, compost no identificat amb doblet a 2.0; *PrunNMR*, prunasina (M7.55); *Phenol*, Fenol (M7.45); *CQ1*, cafeoilquinat 1; *CQ2*, cafeoilquinat 2; *NeoChloroNMR*, àcid neoclorogènic; *AC1*, àcid neoclorogènic (isoforma *cis*); *AC2*, àcid clorogènic (isoforma *cis*); *NeoChloroHPLC*, àcid neoclorogènic; *ProcyanB1*, procianidina B1; *ProcyanB2*, procianidina B2; *pCQ*, àcid p-coumaroilquínic; *Cat*, catequina; *Chloro*, àcid clorogènic; *Crypto*, àcid criptoclorogènic; *DCQ*, àcid 3,5-dicafeoilquínic; *Antho1*, curomanina; *Antho2*, antocià no identificat; *PrunHPLC*, prunasina; *a42min*, pic a 42 min; *a64m*, pic a 64 min, *a83m*, pic a 83.8 min, *a86m*, pic a 86.7 min, *a89m*, pic a 89.8 min, *a92m*, pic a 92.6 min, *a93m*, pic a 93.4 min, *a95m*, pic a 95.1 min, *a96m*, pic a 96.9 min; i *a98m*, pic a 98.7.

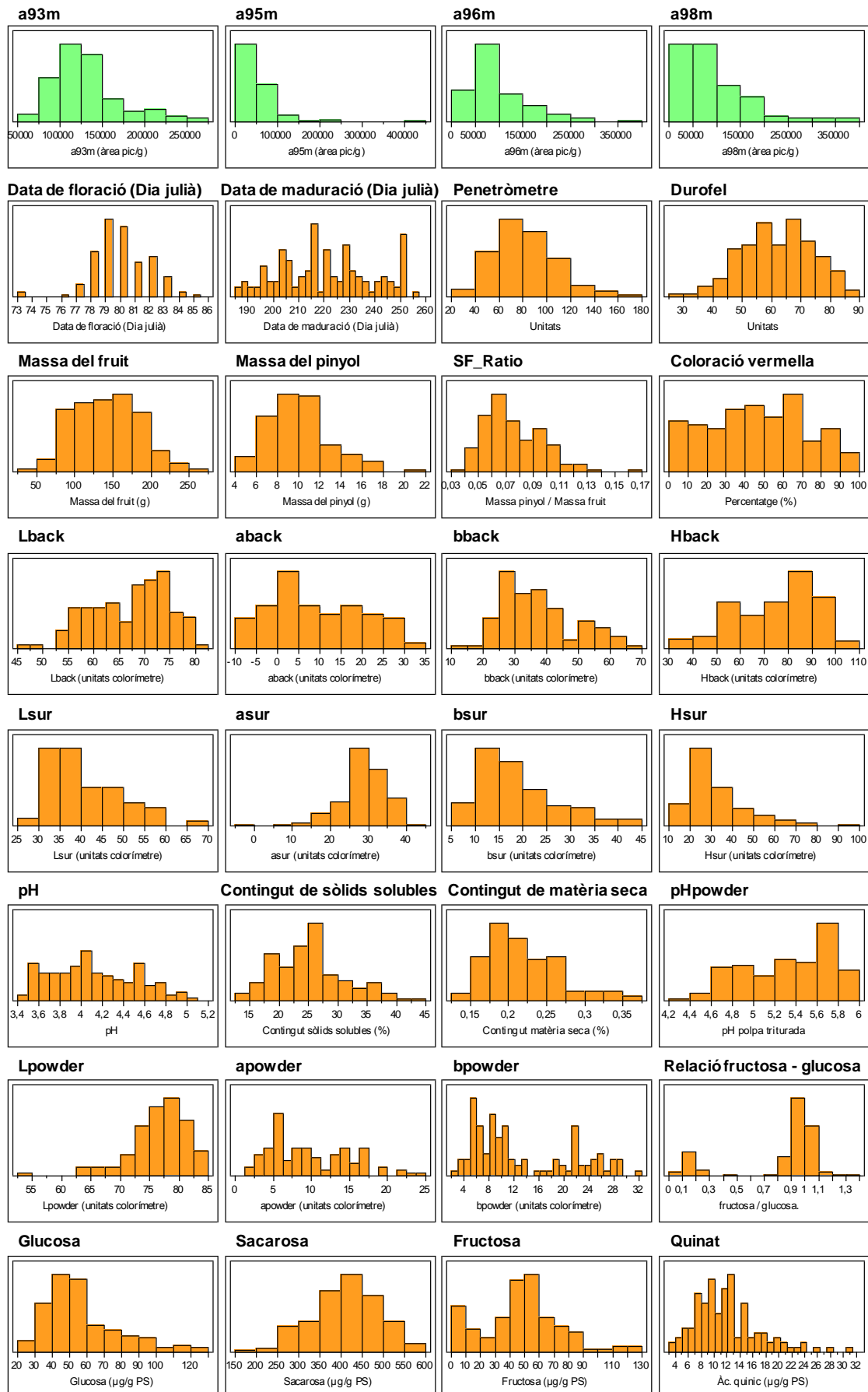
**Figura 1:**



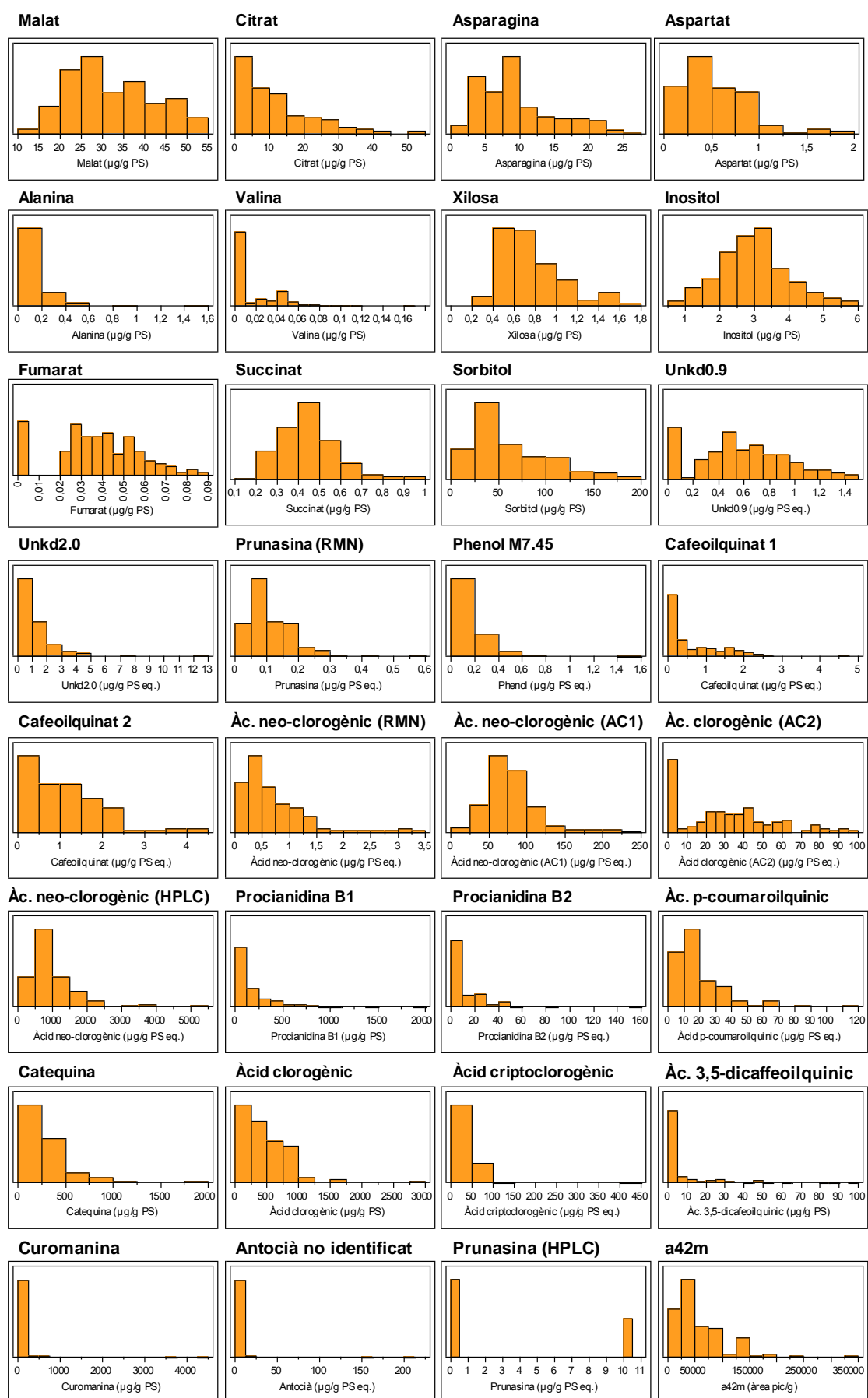
**Figura 1 (continuació):**



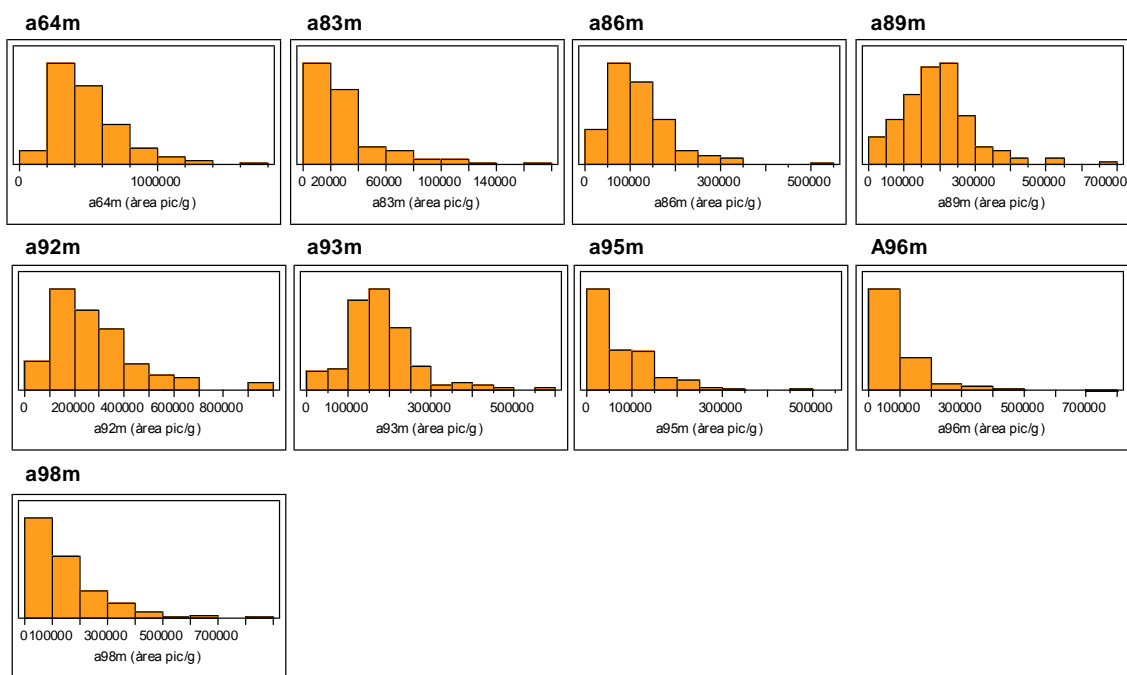
**Figura 1 (continuació):**



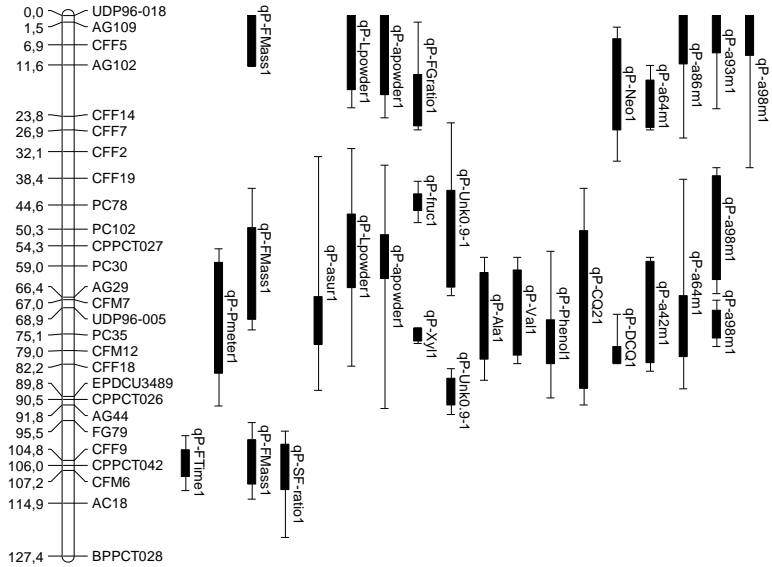
**Figura 1 (continuació):**



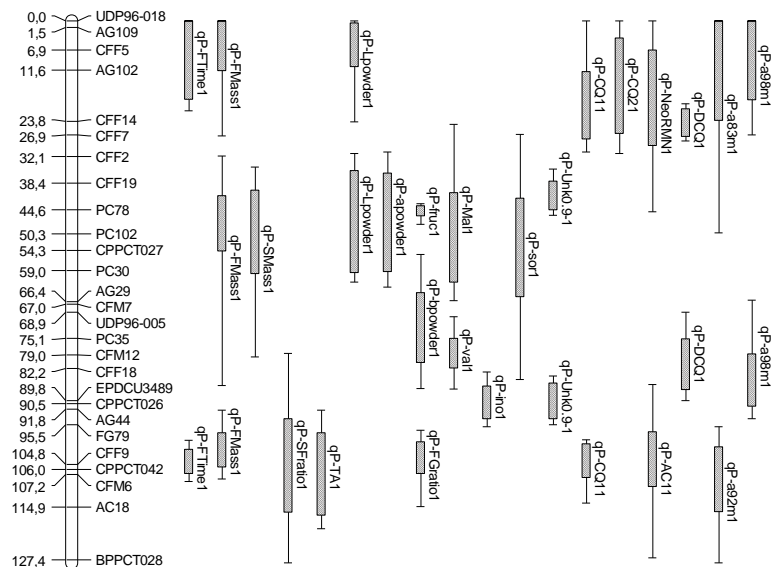
**Figura 1 (continuació):**



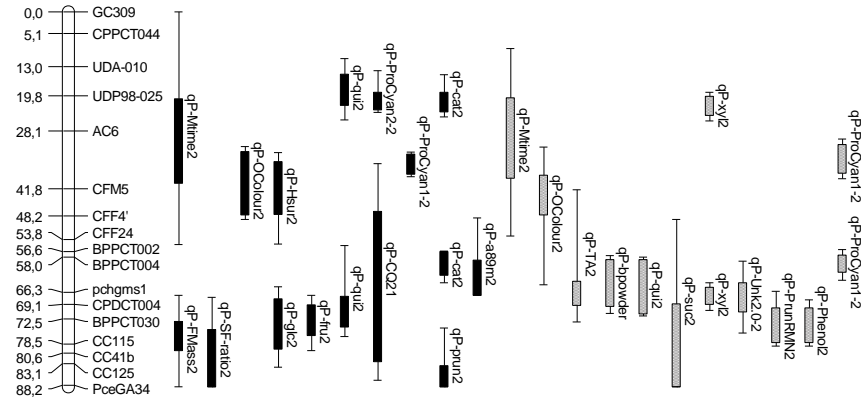
### G1



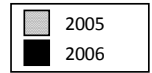
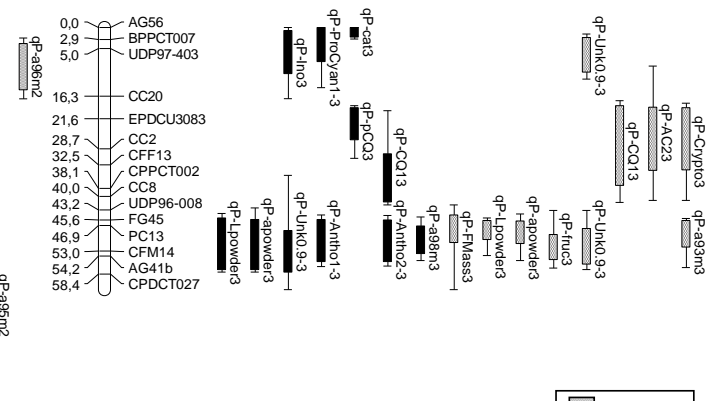
### G1



### G2



### G3









## Taules

**Taula 1:** Caràcters relacionats amb la qualitat del fruit analitzats a la població BC2 durant 2005 i 2006.

	<b>Acrònim</b>	<b>2005</b>	<b>2006</b>
<b>Mesures de camp: Caràcters agronòmics</b>			
Data de floració (Calendari Julià)	Ftime	x	x
Data de maduració (Calendari Julià)	Mtime	x	x
Préssec/nectarina	Peach	x	x
Fermesa (penetròmetre)	Pmeter	x	x
Fermesa (Durofel)	Durofel	x	x
Pes fresc del fruit (g)	Fmass	x	x
Pes fresc del pinyol (g)	Smass	x	x
Relació de masses del pinyol i el fruit	Sfratio	x	x
<b>Mesures de camp: Caràcters de la carn</b>			
Acidesa titulable	TA	-	x
Contingut de matèria seca de la polpa	DMC	x	x
Contingut de sòlids solubles (índex refractomètric)	SSC	x	x
pH	pH	x	x
pH de la pols (a Bordeus)	pHpowder	x	x
<b>Mesures de camp: Coloració de la pell (anotació visual)</b>			
Polpa vermella	Bloody	x	-
Percentatge de coloració vermellosa de la pell (anotació visual)	OverColor	x	x
<b>Mesures de camp: Coloració de la pell (colorímetre)</b>			
Brillantor (de 0 (negre) a 100% (blanc)) _ background	Lback	x	x
de vermell (128) a verd (-128) _ background	aback	x	x
de groc (128) a blau (-128) _ background	bback	x	x
hue angle _ background (Minolta colorimeter)	Hback	x	x
Brillantor (de 0 (negre) a 100% (blanc)) _ surimpression	Lsur	x	x
de vermell (128) a verd (-128) _ surimpression	asur	x	x
de groc (128) a blau (-128) _ surimpression	bsur	x	x
hue angle _ surimpression (Minolta colorimeter)	Hsur	x	x
<b>Mesures de camp: Color de la polpa dessecada utilitzant un colorímetre</b>			
Brillantor (de 0 (negre) a 100% (blanc)) de la pols (a Bordeus)	Lpowder	x	x
de vermell (128) a verd (-128) de la pols (a Bordeus)	apowder	x	x
de groc (128) a blau (-128) de la pols (a Bordeus)	bpowder	x	x
hue angle _ de la pols (a Bordeus)	Hpowder	x	x
<b>RMN: Sucre solubles</b>			
Relació entre fructosa i glucosa	FGratio	x	x
Fructosa	Fruc	x	x

**Taula 1:** (Continuació)

	<b>Acrònim</b>	<b>2005</b>	<b>2006</b>
<b>RMN: Sucre solubles</b>			
Glucosa	Glc	x	x
Inositol	ino	x	x
Sacarosa	Sucr	x	x
Sorbitol	Sor	x	x
Xilosa	Xyl	x	x
<b>RMN: Àcids orgànics</b>			
Citrat	Cit	x	x
Fumarat	Fum	x	x
Malat	Mal	x	x
Quinat	Qui	x	x
Succinat	Suc	x	x
<b>RMN: Aminoàcids</b>			
Asparagina	Asn	x	x
Aspartat	Asp	x	x
Alanina	Ala	x	x
Valina	Val	x	x
<b>RMN: Compostos fenòlics</b>			
Àcid neoclorogènic	NeochloroRMN	x	x
Cafeoilquinat 1	CQ1	x	x
Cafeoilquinat 2	CQ2	x	x
Fenol (M7.45)	Phenol	x	x
Prunasina (M7.55)	PrunRMN	x	x
<b>RMN: Compostos no identificats</b>			
Compost no identificat amb doblat a 0.9	Unkd0.9	x	x
Compost no identificat amb doblat a 2.0	Unkd2.0	x	x
<b>HPLC: Compostos fenòlics</b>			
Àcid neoclorogènic (isoforma <i>cis</i> )	AC1	x	x
Àcid clorogènic (isoforma <i>cis</i> )	AC2	x	x
Àcid neoclorogènic	AcNeo	x	x
Procianidina B1	ProcyanB1	x	x
Procianidina B2	ProcyanB2	x	x
Àcid p-coumaroilquínic	pCQ	x	x
Catequina	Cat	x	x
Àcid clorogènic	AcChloro	x	x
Àcid criptoclorogènic	AcCrypto	x	x
Àcid 3,5-dicafeoilquínic	DCQ	x	x
Curomanina (antocià 1)	Antho1	x	-
Antocià no identificat	Antho2	x	-
Prunasina	Prun	x	x

**Taula 1:** (Continuació)

	<b>Acrònim</b>	<b>2005</b>	<b>2006</b>
<b>HPLC: Compostos no identificats</b>			
42min	a42m	x	x
64min	a64m	x	x
83.8min	a83m	x	x
86.7min	a86m	x	x
89.8min	a89m	x	x
92.6min	a92m	x	x
93.4min	a93m	x	x
95.1min	a95m	x	x
96.9min	a96m	x	x
98.7min	a98m	x	x

**Taula 2:** Característiques principals dels gens candidats analitzats a la població BC2.

Gen Candidat	Anotació	BIN T×E	Mida de l'amplicó (pb)	Codificant		No codificant	
				Mida	Poli- morfisme	Mida	Poli- morfisme
CGPAA2668	Pectat liasa	5:41	603	315	2	288	5
CGPAA3279	Endo-beta-1,4-glucanasa	5:41	424	260	0	164	0
CGPPB3190	Fructoquinasa	1:28	410	410	0	0	0
CGPPB3491	Flavonoid 3'-monooxigenasa	5:46	539	245	1	294	1
CGPPB5756	Hexoquinasa	7:56	267	267	1	0	0
CGPPB6189	Sacarosa sintasa	7:56	331	248	1	83	1

**Taula 3:** Seqüències dels encebadors i mida dels amplicons utilitzats per al genotipatge dels gens candidats a la població BC2 mitjançant HRM.

Gen Candidat	Abreviatura	SNP	Seqüència de directe (5'→3')	Seqüència de revers (5'→3')	Mida de l'amplicó (pb)
Pectat liasa	<i>Pl1</i>	C/T	CCAGCTCCTGATGCTGTAAA	AACATGAGGATGCACCAGAA	100
Flavonoid 3'-monooxigenasa	<i>F3'h</i>	G/T	TGTCGAAGATCATCCAAAGC	GATTTGGTGTTCACCGTA	98
Hexoquinasa	<i>Hk2</i>	C/A	CTGATCCGAAGCAAATAGTGA	AAGGGTCAAGACCAGGGTAG	94
Sacarosa sintasa	<i>Sus1</i>	G/T	CTAGGATCTGCCCTGCTCTT	TCTGGCTACCACATTGATCC	86

**Taula 4:** Localització en els grups de lligament, efectes i contribucions dels QTLs de caràcters de qualitat de fruit analitzats al 2005 i 2006. LG, grup de lligament. A la columna "Locus" hi ha el marcador que presentava una associació més forta amb el caràcter. La posició dels marcadors es dóna en cM respecte la posició inicial de cada grup de lligament. El valor LOD indica el valor de l'associació entre el QTL i el marcador, mentre que PEV significa el percentatge de la variació explicada per a al QTL considerat. En negreta els QTLs detectats ambdós anys. Subratllats i en negreta els QTLs majors (al menys PEV≥10% i un dels dos anys PEV≥20%).

Caràcter	2005					2006				
	LG	Locus	Posició (cM)	LOD	PEV	LG	Locus	Posició (cM)	LOD	PEV
<b>Mesures de camp: Caràcters agronòmics</b>										
Data de floració	1	<b>CFM6</b>	<b>109</b>	<b>3.29</b>	<b>13.12</b>	1	CFF5	11	3.75	14.32
	5	pchgms4	50	2.04		5	<b>BPPCT14</b>	66	3.16	11.69
Data de maduració	2	<b>AC6</b>	<b>36</b>	<b>2.04</b>	<b>12.64</b>	2	<b>AC6</b>	34	2.15	10.41
						4	CC59	47	2.21	8.00
Fermesa (penetròmetre)	1	AG29	63	2.77	11.22					
	5	<b>CPPCT040</b>	<b>6</b>	<b>2.67</b>	<b>10.84</b>	5	<b>CPPCT040</b>	6	4.97	17.70
	5	<b>AG108</b>	<b>73</b>	<b>5.23</b>	<b>20.14</b>	5	<b>BPPCT014</b>	66	3.55	13.08
						6	CFM6'	85	2.06	8.33
Fermesa (durofel)	5	AG46	62	8.13	32.72					
	7	AG104	28	2.16	8.91					
	1	<b>AG109</b>	<b>3</b>	<b>2.76</b>	<b>11.83</b>	1	<b>AG109</b>	3	2.91	10.73
	1	<b>PC30</b>	<b>59</b>	<b>3.48</b>	<b>15.26</b>	1	<b>CFF19</b>	37	3.57	13.98
	1	<b>CFM6</b>	<b>109</b>	<b>2.79</b>	<b>11.93</b>	1	<b>FG79</b>	104	3.30	13.05
	2	CC115	83	2.46	10.84					
Pes de fruit						3	UDP96-008	47	2.89	10.34
						4	CC129	13	4.62	16.01
	4	<b>CC138</b>	<b>56</b>	<b>1.94</b>	<b>10.65</b>	4	<b>CC138</b>	50	5.04	15.02
	6	CPPCT021	85	3.75	16.72					
						7	MA020a	35	2.87	12.37
						1	PC102	46	3.14	11.18
Pes del pinyol						4	CC138	56	3.00	12.15
	6	<b>CPPCT030</b>	<b>62</b>	<b>7.85</b>	<b>31.53</b>	6	<b>PC60</b>	59	7.89	27.24
	1	<b>CFM6</b>	<b>109</b>	<b>4.45</b>	<b>17.90</b>	1	<b>FG79</b>	101	2.42	10.10
Relació pinyol -fruit	2	<b>CC115</b>	<b>83</b>	<b>2.36</b>	<b>10.10</b>	2	<b>CC115</b>	83	2.27	8.50
	6	<b>CFM6'</b>	<b>64</b>	<b>14.77</b>	<b>45.10</b>	6	<b>PC60</b>	58	11.29	34.90
Contingut en matèria seca	5	AG46	61	2.03	10.10					

**Taula 4:** (Continuació)

Caràcter	2005					2006				
	LG	Marcador	Posició (cM)	LOD	PEV	LG	Marcador	Posició (cM)	LOD	PEV
<b>Mesures de camp: Caràcters de la carn</b>										
Préssec/nectarina	<b>5</b>	<b>AG46</b>	<b>61</b>	<b>Perfect</b>	<b>100.0</b>	<b>5</b>	<b>BPPCT014</b>	<b>67</b>	<b>43.18</b>	<b>80.90</b>
Acidesa titulable						1	CFF9	108	2.76	10.33
Contingut sòlids solubles	5	AG46	60	2.67	12.24	6	CPPCT008	2	2.94	12.58
<b>Mesures de camp: Coloració de la pell (anotació visual)</b>										
Polpa vermella	1	AG109	2	4.10	17.50					
	3	PC13	51	5.05	25.30					
Coloració vermella de la pell	<b>2</b>	<b>CFM5</b>	<b>46</b>	<b>2.06</b>	<b>8.30</b>	<b>2</b>	<b>CFM5</b>	<b>46</b>	<b>2.44</b>	<b>9.00</b>
	<b>5</b>	<b>BPPCT014</b>	<b>66</b>	<b>4.96</b>	<b>20.61</b>	<b>5</b>	<b>AG108</b>	<b>71</b>	<b>5.08</b>	<b>19.47</b>
	<b>6</b>	<b>FG1</b>	<b>18</b>	<b>2.71</b>	<b>12.16</b>	<b>6</b>	<b>FG1</b>	<b>18</b>	<b>2.38</b>	<b>8.62</b>
<b>Mesures de camp: Pigmentació utilitzant un colorímetre</b>										
Bback	6	CFM2	50	2.64	11.10					
Lsur	5	BPPCT014	66	5.26	24.08					
						7	CPPCT039	6	2.36	8.74
Asur	1	PC35	74	3.72	17.80					
	5	AG46	62	2.52	14.17					
	6	CPPCT021	67	2.60	12.44					
Bsur	5	BPPCT014	66	3.24	15.28					
						7	CPPCT039	6	2.53	9.33
Hsur	2	CFM5	48	2.93	20.73					
	5	BPPCT014	66	4.82	21.86					
						7	CPPCT039	6	2.39	8.86
<b>Mesures de camp: Color de la polpa dessecada utilitzant un colorímetre</b>										
	<b>1</b>	<b>AG109</b>	<b>1</b>	<b>5.00</b>	<b>21.71</b>	<b>1</b>	<b>AG109</b>	<b>3</b>	<b>5.30</b>	<b>19.91</b>
	<b>1</b>	<b>PC30</b>	<b>55</b>	<b>3.70</b>	<b>16.99</b>	<b>1</b>	<b>CFF19</b>	<b>37</b>	<b>5.23</b>	<b>22.29</b>
Lpowder						1	CFF18	86	2.96	12.71
	<b>3</b>	<b>UDP96-008</b>	<b>47</b>	<b>4.88</b>	<b>23.24</b>	<b>3</b>	<b>UDP96-008</b>	<b>47</b>	<b>14.51</b>	<b>43.09</b>
	<b>4</b>	<b>EPDCU5060</b>	<b>0</b>	<b>6.66</b>	<b>28.55</b>	<b>4</b>	<b>CC51</b>	<b>7</b>	<b>5.00</b>	<b>18.84</b>
	1	UDP96-018	0	2.84	13.43					
Apowder	<b>1</b>	<b>PC30</b>	<b>55</b>	<b>2.90</b>	<b>14.11</b>	<b>1</b>	<b>CFF19</b>	<b>39</b>	<b>3.98</b>	<b>15.60</b>
	<b>3</b>	<b>PC13</b>	<b>51</b>	<b>3.54</b>	<b>19.86</b>	<b>3</b>	<b>FG45</b>	<b>49</b>	<b>8.18</b>	<b>26.95</b>
	<b>4</b>	<b>EPDCU5060</b>	<b>0</b>	<b>5.20</b>	<b>23.98</b>	<b>4</b>	<b>CC51</b>	<b>5</b>	<b>6.07</b>	<b>20.81</b>
						1	PC35	74	2.68	9.79
Bpowder	<b>2</b>	<b>CPDCT004</b>	<b>68</b>	<b>2.15</b>	<b>12.50</b>	<b>2</b>	<b>BPPCT002</b>	<b>66</b>	<b>5.38</b>	<b>22.91</b>
	6	FG1	20	2.63	14.96					
	<b>6</b>	<b>CFF8'</b>	<b>47</b>	<b>3.91</b>	<b>19.25</b>	<b>6</b>	<b>CFF8'</b>	<b>49</b>	<b>4.23</b>	<b>15.52</b>
Hpowder						6	pchcms5	40	2.34	8.70

**Taula 4:** (Continuació)

Caràcter	2005					2006				
	LG	Marcador	Posició (cM)	LOD	PEV	LG	Marcador	Posició (cM)	LOD	PEV
<b>RMN: Sucre solubles</b>										
Relació	1	AG102	22	2.87	12.1					
Fructosa-Glucosa						1	CFF9	106	2.92	11.7
	<b>1</b>	<b>PC78</b>	<b>42</b>	<b>11.23</b>	<b>40.4</b>	<b>1</b>	<b>PC78</b>	<b>44</b>	<b>22.51</b>	<b>64.7</b>
	2	pchgms1	77	2.50	14.2					
Fructosa						3	PC13	51	3.15	11.7
	5	FG26	9	2.25	9.1					
	7	pchcms2	40	2.87	11.2					
	2	BPPCT030	77	3.72	17.1					
	5	MA026a	2	3.93	21.0					
Glucosa	5	CPPCT038	45	2.72	13.2					
	6	BPPCT025	50	2.26	9.2					
	<b>7</b>	<b>pchcms2</b>	<b>40</b>	<b>11.04</b>	<b>40.7</b>	<b>7</b>	<b>pchcms2</b>	<b>40</b>	<b>7.04</b>	<b>23.5</b>
Sacarosa						4	CPDCT045	42	2.45	11.2
Sorbitol						1	PC102	46	2.35	8.6
	1	PC35	76	9.37	41.6					
Xilosa						2	UDP98-025	23	7.08	35.2
						2	pchgms1	72	4.28	14.9
	<b>6</b>	<b>CFM2</b>	<b>50</b>	<b>3.13</b>	<b>12.9</b>	<b>6</b>	<b>CFM2</b>	<b>50</b>	<b>3.26</b>	<b>11.6</b>
						1	EPDCU3489	90	2.67	9.6
Inositol	3	CPPCT044	3	3.43	16.5					
						4	CC3	46	4.00	14.0
						6	CPPCT021	69	2.55	10.1
<b>RMN: Àcids orgànics</b>										
	3	CPPCT002	42	2.24	9.7					
Citrat	4	AC1	8	3.55	14.4					
	7	MA020a	33	2.79	14.2					
Malat						1	PC30	57	2.13	8.9
	2	UDP98-025	21	2.96	19.2					
Quinat	<b>2</b>	<b>pchgms1</b>	<b>76</b>	<b>5.47</b>	<b>24.5</b>	<b>2</b>	<b>pchgms1</b>	<b>72</b>	<b>7.45</b>	<b>24.9</b>
	<b>6</b>	<b>CFF8'</b>	<b>47</b>	<b>8.95</b>	<b>34.8</b>	<b>6</b>	<b>CFF8'</b>	<b>49</b>	<b>10.11</b>	<b>33.4</b>
						7	CC63b	21	3.09	11.1
Succinat						2	CC41b	85	2.53	9.2
<b>RMN: Aminoàcids</b>										
						6	BPPCT008	32	3.44	15.8
Asparagina	6	PC60	59	4.38	18.8					
	<b>6</b>	<b>CPPCT021</b>	<b>63</b>	<b>4.17</b>	<b>21.6</b>	<b>6</b>	<b>CPPCT021</b>	<b>61</b>	<b>4.02</b>	<b>19.3</b>
Àcid aspàrtic	1	CPPCT027	50	2.3	9.5					
	4	CC52	79	2.84	13.9					



**Taula 4:** (Continuació)

Caràcter	2005					2006				
	LG	Marcador	Posició (cM)	LOD	PEV	LG	Marcador	Posició (cM)	LOD	PEV
<b>RMN: Aminoàcids</b>										
Alanina	1	PC35	75	5.69	22.5					
	<b>5</b>	<b>AG46</b>	<b>56</b>	<b>2.27</b>	<b>10.3</b>	<b>5</b>	<b>AG33</b>	<b>75</b>	<b>2.66</b>	<b>9.5</b>
	<b>6</b>	<b>BPPCT008</b>	<b>31</b>	<b>3.07</b>	<b>13.3</b>	<b>6</b>	<b>CFM2</b>	<b>50</b>	<b>2.06</b>	<b>7.5</b>
	<b>7</b>	<b>pchcms2</b>	<b>40</b>	<b>3.52</b>	<b>16.1</b>	<b>7</b>	<b>pchcms2</b>	<b>40</b>	<b>2.24</b>	<b>8.1</b>
	<b>1</b>	<b>CFM12</b>	<b>79</b>	<b>6.69</b>	<b>23.5</b>	<b>1</b>	<b>CFM12</b>	<b>79</b>	<b>3.17</b>	<b>11.5</b>
Valina	<b>4</b>	<b>CC51</b>	<b>4</b>	<b>5.5</b>	<b>19.7</b>	<b>4</b>	<b>CC51</b>	<b>4</b>	<b>2.69</b>	<b>9.7</b>
	<b>5</b>	<b>AG33</b>	<b>75</b>	<b>2.38</b>	<b>9.0</b>	<b>5</b>	<b>AG33</b>	<b>75</b>	<b>3.45</b>	<b>12.5</b>
	7	pchcms2	36	2.2	6.9					
<b>RMN: Compostos fenòlics</b>										
Àcid neo-clorogènic						1	AG102	20	2.26	10.0
	4	CPDCT045	42	3.02	58.0					
	<b>6</b>	<b>CFM2</b>	<b>52</b>	<b>6.45</b>	<b>25.3</b>	<b>6</b>	<b>CPPCT021</b>	<b>67</b>	<b>8.07</b>	<b>26.4</b>
Cafeoilquinat 1 (CQ1)						1	CFF14	25	2.82	10.2
						1	CFM6	109	3.12	11.2
	<b>3</b>	<b>CFF13</b>	<b>39</b>	<b>2.79</b>	<b>18.3</b>	<b>3</b>	<b>EPDCU3083</b>	<b>27</b>	<b>2.34</b>	<b>9.8</b>
	<b>4</b>	<b>CPDCT045</b>	<b>42</b>	<b>5.72</b>	<b>47.4</b>	<b>4</b>	<b>CPDCT045</b>	<b>42</b>	<b>5.20</b>	<b>22.4</b>
	<b>6</b>	<b>CPSCT012</b>	<b>37</b>	<b>5.72</b>	<b>26.6</b>	<b>6</b>	<b>PC60</b>	<b>57</b>	<b>5.24</b>	<b>18.0</b>
Cafeoilquinat 2 (CQ2)						1	AG102	18	2.70	12.7
	1	PC30	61	2.58	12.2					
						4	AC1	8	3.10	11.1
	<b>6</b>	<b>CPSCT012</b>	<b>39</b>	<b>7.17</b>	<b>28.5</b>	<b>6</b>	<b>FG1</b>	<b>20</b>	<b>2.36</b>	<b>9.1</b>
Fenol						6	CPPCT030	62	5.93	21.0
	1	CFM12	79	3.53	13.6					
						2	BPPCT030	83	5.25	22.7
	4	CC129	14	3.11	12.0					
	<b>5</b>	<b>pchgms4</b>	<b>50</b>	<b>3.18</b>	<b>12.1</b>	<b>5</b>	<b>CPPCT038</b>	<b>38</b>	<b>3.23</b>	<b>21.6</b>
	<b>6</b>	<b>BPPCT008</b>	<b>29</b>	<b>2.58</b>	<b>11.7</b>	<b>6</b>	<b>CFM2</b>	<b>50</b>	<b>4.62</b>	<b>16.1</b>
	<b>7</b>	<b>MA020a</b>	<b>31</b>	<b>3.44</b>	<b>13.1</b>	<b>7</b>	<b>MA020a</b>	<b>36</b>	<b>2.45</b>	<b>13.1</b>
Prunasina	1	CFM12	79	4.19	17.6					
	2	UDP98-025	19	5.82	40.1					
	<b>2</b>	<b>CC115</b>	<b>83</b>	<b>2.38</b>	<b>11.1</b>	<b>2</b>	<b>BPPCT030</b>	<b>77</b>	<b>6.63</b>	<b>26.0</b>
	<b>5</b>	<b>pchgms4</b>	<b>50</b>	<b>4.02</b>	<b>16.7</b>	<b>5</b>	<b>CPPCT038</b>	<b>43</b>	<b>2.64</b>	<b>10.0</b>
	<b>6</b>	<b>BPPCT025</b>	<b>54</b>	<b>7.4</b>	<b>27.6</b>	<b>6</b>	<b>CFM2</b>	<b>50</b>	<b>8.32</b>	<b>27.2</b>
	7	MA020a	31	4.69	19.2					

**Taula 4:** (Continuació)

Caràcter	2005					2006				
	LG	Marcador	Posició (cM)	LOD	PEV	LG	Marcador	Posició (cM)	LOD	PEV
<b>RMN: Compostos no identificats</b>										
Unk0.9	<b>1</b>	<b>PC30</b>	<b>59</b>	<b>2.76</b>	<b>12.9</b>	<b>1</b>	<b>PC78</b>	<b>42</b>	<b>8.36</b>	<b>30.4</b>
	<b>1</b>	<b>EPDCU3489</b>	<b>90</b>	<b>3.65</b>	<b>13.7</b>	<b>1</b>	<b>EPDCU3489</b>	<b>90</b>	<b>5.51</b>	<b>18.9</b>
						3	UDP97-403	7	4.31	23.7
	<b>3</b>	<b>PC13</b>	<b>53</b>	<b>2.48</b>	<b>12.4</b>	<b>3</b>	<b>PC13</b>	<b>53</b>	<b>4.63</b>	<b>18.9</b>
Unk2.0	<b>6</b>	<b>UDP96-001</b>	<b>15</b>	<b>12.63</b>	<b>39.9</b>	<b>6</b>	<b>UDP96-001</b>	<b>15</b>	<b>12.93</b>	<b>39.0</b>
						2	pchgms1	72	4.19	14.6
	6	CFF25	8	2.09	8.3					
	<b>6</b>	<b>CPPCT021</b>	<b>73</b>	<b>2.97</b>	<b>17.5</b>	<b>6</b>	<b>CFM2</b>	<b>50</b>	<b>2.41</b>	<b>8.8</b>
<b>HPLC: Compostos fenòlics</b>										
Àcid neoclorogènic	1	AG102	20	2.90	13.32					
	4	AC1	8	5.49	21.37					
	4	CC75	31	2.97	13.42					
	<b>6</b>	<b>FG1</b>	<b>20</b>	<b>5.96</b>	<b>24.58</b>	<b>6</b>	<b>FG1</b>	<b>24</b>	<b>3.85</b>	<b>17.87</b>
	<b>6</b>	<b>CFM2</b>	<b>52</b>	<b>6.61</b>	<b>25.23</b>	<b>6</b>	<b>CFM1</b>	<b>55</b>	<b>11.73</b>	<b>37.49</b>
Àcid cis-neoclorogènic (AC1)	7	CC132	44	2.45	10.31					
						1	CFF9	106	2.49	8.99
	4	AC1	8	3.49	13.87					
	4	CC75	31	2.87	12.40					
Àcid cis-clorogènic (AC2)	6	FG1	18	2.41	10.09					
	<b>7</b>	<b>pchcms2</b>	<b>40</b>	<b>3.21</b>	<b>14.22</b>	<b>7</b>	<b>pchcms2</b>	<b>40</b>	<b>4.00</b>	<b>14.10</b>
						3	EPDCU3083	25	2.45	9.55
Àcid clorogènic	5	CPPCT040	6	2.13	9.80					
						6	CFF12	65	2.28	8.27
						3	EPDCU3083	25	2.87	11.65
Àcid criptoclorogènic	<b>4</b>	<b>AC1</b>	<b>8</b>	<b>2.09</b>	<b>7.72</b>	<b>4</b>	<b>AC1</b>	<b>8</b>	<b>3.29</b>	<b>11.67</b>
	<b>4</b>	<b>CC75</b>	<b>31</b>	<b>2.61</b>	<b>9.98</b>	<b>4</b>	<b>CC75</b>	<b>31</b>	<b>4.42</b>	<b>15.36</b>
	<b>6</b>	<b>pchcms5</b>	<b>40</b>	<b>3.91</b>	<b>14.03</b>	<b>6</b>	<b>CFM1</b>	<b>55</b>	<b>7.90</b>	<b>26.62</b>
Àcid p-cumariolquínic	3	CC20	21	5.85	35.86					
	4	AC1	8	2.84	12.28					
	<b>6</b>	<b>pchcms5</b>	<b>40</b>	<b>9.99</b>	<b>35.93</b>	<b>6</b>	<b>CPPCT030</b>	<b>62</b>	<b>12.92</b>	<b>39.51</b>
Àcid 3,5-dicafeoilquínic						1	CFF14	24	2.69	9.67
	<b>1</b>	<b>CFM12</b>	<b>80</b>	<b>5.04</b>	<b>35.49</b>	<b>1</b>	<b>CFM12</b>	<b>78</b>	<b>5.96</b>	<b>20.32</b>
	<b>4</b>	<b>CC129</b>	<b>15</b>	<b>15.89</b>	<b>53.58</b>	<b>4</b>	<b>AC1</b>	<b>8</b>	<b>17.62</b>	<b>52.02</b>
	4	CPDCT045	42	14.23	71.66					
Prunasina	6	FG1	24	2.57						
	2	CC125	91	2.27	10.95					
	<b>6</b>	<b>CPST012</b>	<b>35</b>	<b>2.19</b>	<b>9.91</b>	<b>6</b>	<b>PC60</b>	<b>59</b>	<b>9.19</b>	<b>33.82</b>

**Taula 4:** (Continuació)

Caràcter	2005					2006				
	LG	Marcador	Posició (cM)	LOD	PEV	LG	Marcador	Posició (cM)	LOD	PEV
<b>HPLC: Compostos fenòlics</b>										
Catequina	<b>2</b>	<b>UDP98-025</b>	<b>23</b>	<b>8.17</b>	<b>51.61</b>	<b>2</b>	<b>UDP98-025</b>	<b>25</b>	<b>4.29</b>	<b>32.09</b>
	<b>2</b>	<b>BPPCT002</b>	<b>62</b>	<b>5.25</b>	<b>27.50</b>	<b>2</b>	<b>pchgms1</b>	<b>74</b>	<b>6.29</b>	<b>24.90</b>
	3	AG56	0	4.27	26.23					
	<b>6</b>	<b>CPPCT008</b>	<b>2</b>	<b>4.80</b>	<b>28.60</b>	<b>6</b>	<b>CPPCT008</b>	<b>0</b>	<b>4.27</b>	<b>17.34</b>
	7	CC132	46	3.49	20.04					
Procianidina B1	<b>2</b>	<b>AC6</b>	<b>40</b>	<b>6.90</b>	<b>56.45</b>	<b>2</b>	<b>AC6</b>	<b>38</b>	<b>8.23</b>	<b>54.45</b>
						2	BPPCT002	62	4.37	16.03
	3	AG56	2	8.84	49.45					
						5	CPPCT038	43	4.17	14.88
						6	CPPCT008	2	4.14	16.41
Procianidina B2	7	CC132	46	4.56	26.31					
	<b>2</b>	<b>UDP98-025</b>	<b>23</b>	<b>6.48</b>	<b>49.51</b>	<b>2</b>	<b>CFM5</b>	<b>50</b>	<b>5.71</b>	<b>25.04</b>
	5	AG46	58	2.37	11.15					
Curomanina (antocià 1)	<b>6</b>	<b>CFF25</b>	<b>5</b>	<b>3.95</b>	<b>16.11</b>	<b>6</b>	<b>UDP96-001</b>	<b>12</b>	<b>4.90</b>	<b>18.97</b>
	7	CC132	44	3.24	13.87					
	1	PC35	75	2.54	9.20					
Antocià no identificat (Antho2)	3	PC13	51	3.11	11.68					
	1	PC35	75	2.5	9.00					
	3	PC13	51	2.80	10.31					
<b>HPLC: Compostos no identificats</b>										
a42m	1	PC30	61	7.46	35.64					
	4	CC51	7	6.43	26.21					
	4	CPDCT045	42	4.71	37.00					
	6	pchcms5	40	7.05	26.89					
	7	MA020a	37	5.55	33.87					
a64m	1	AG102	22	4.23	19.74					
	1	PC35	74	5.25	21.87					
						2	pchgms1	72	5.04	17.33
	4	CC51	7	4.34	21.87					
						5	CC41a	36	2.17	10.65
a83m	<b>6</b>	<b>CFM1</b>	<b>53</b>	<b>8.15</b>	<b>30.12</b>	<b>6</b>	<b>CFF8'</b>	<b>47</b>	<b>8.46</b>	<b>30.48</b>
	<b>6</b>	<b>CPPCT021</b>	<b>63</b>	<b>8.84</b>	<b>41.48</b>	<b>6</b>	<b>CFF6'</b>	<b>65</b>	<b>4.07</b>	<b>18.19</b>
						1	CFF5	7	2.06	7.48
	4	EPDCU5060	0	4.77	19.88					
	<b>5</b>	<b>UDP97-401</b>	<b>17</b>	<b>10.92</b>	<b>55.61</b>	<b>5</b>	<b>UDP97-401</b>	<b>17</b>	<b>3.43</b>	<b>22.19</b>
					<b>5</b>	<b>pchgms4</b>	<b>53</b>	<b>7.79</b>	<b>27.62</b>	
	<b>7</b>	<b>MA020a</b>	<b>37</b>	<b>2.83</b>	<b>61.97</b>	<b>7</b>	<b>pchcms2</b>	<b>40</b>	<b>4.65</b>	<b>23.60</b>

**Taula 4:** (Continuació)

Caràcter	2005					2006				
	LG	Marcador	Posició (cM)	LOD	PEV	LG	Marcador	Posició (cM)	LOD	PEV
<b>Compostos no identificats mitjançant HPLC</b>										
a86m	1	CFF5	7	4.66	11.06					
	4	EPDCU5060	0	4.81	20.33					
	<b>4</b>	<b>CC138</b>	<b>58</b>	<b>2.22</b>	<b>13.52</b>	<b>4</b>	<b>CPDCT045</b>	<b>38</b>	<b>5.70</b>	<b>22.09</b>
						4	CC52	81	4.68	18.06
						5	CFF22	10	8.49	27.44
a89m						5	AG46	64	2.99	12.09
	6	CFM1	53	2.36	9.52	6	PC60	57	2.51	9.04
						2	UDP98-025	21	2.97	12.35
	<b>2</b>	<b>BPPCT030</b>	<b>77</b>	<b>2.59</b>	<b>11.33</b>	<b>2</b>	<b>BPPCT002</b>	<b>68</b>	<b>2.72</b>	<b>10.40</b>
	8	CPPCT058	11	4.68	27.63					
a92m						1	CPPCT042	110	2.14	7.90
	4	CC129	13	3.43	14.14					
a93m	<b>6</b>	<b>CPPCT021</b>	<b>69</b>	<b>3.94</b>	<b>15.91</b>	<b>6</b>	<b>PC60</b>	<b>57</b>	<b>7.83</b>	<b>25.63</b>
	1	AG109	1	2.04	8.21					
						3	UDP96-008	47	7.85	26.17
a95m						4	AC1	10	2.70	10.62
	7	CFF11	25	2.33	9.24					
						2	pchgms1	74	2.69	10.56
a96m	4	CC129	15	3.73	16.96					
						6	PC60	57	2.85	10.20
						2	CPPCT044	10	4.14	30.60
	<b>5</b>	<b>AG46</b>	<b>56</b>	<b>6.75</b>	<b>26.02</b>	<b>5</b>	<b>AG46</b>	<b>60</b>	<b>7.35</b>	<b>29.02</b>
a98m	6	PC60	57	2.19	8.89					
	<b>1</b>	<b>UDP96-018</b>	<b>0</b>	<b>3.48</b>	<b>15.28</b>	<b>1</b>	<b>AG109</b>	<b>3</b>	<b>2.80</b>	<b>11.30</b>
	1	PC78	44	5.15	24.13					
	<b>1</b>	<b>PC35</b>	<b>74</b>	<b>5.30</b>	<b>23.40</b>	<b>1</b>	<b>CFF18</b>	<b>86</b>	<b>5.16</b>	<b>20.09</b>
	3	PC13	51	5.37	25.47					
a98m						4	EPDCU5060	0	4.20	14.80
	4	AC1	12	5.07	22.02					
	<b>5</b>	<b>UDP97-401</b>	<b>17</b>	<b>2.78</b>	<b>16.63</b>	<b>5</b>	<b>CFF22</b>	<b>12</b>	<b>5.90</b>	<b>21.09</b>
						6	PC60	57	2.62	9.42
					<b>6</b>	<b>CFM6'</b>	<b>69</b>	<b>2.95</b>	<b>11.27</b>	

**Taula 5:** Resultats de l'anàlisi de QTLs elaborat posteriorment a la saturació del mapa de lligament de la població BC2 amb els diferents GCs. Només apareixen els QTLs implicats en la co-localització.

Caràcter	2005					2006				
	LG	Locus	Posició (cM)	LOD	PEV	LG	Locus	Posició (cM)	LOD	PEV
Fermesa	5	CPPCT040	7	2.84	11.49	5	CPPCT040	7	4.96	17.33
(penetròmetre)	5	AG108	78	5.43	21.07	5	BPPCT014	72	3.55	13.06
Coloració vermella de la pell	5	BPPCT014	72	4.92	20.62	5	BPPCT014	72	5.08	17.27
Glucosa	7	<i>Sus1</i>	45	11.04	43.30	7	<i>Sus1</i>	45	7.73	25.30

## Material suplementari

**Taula suplementària S1:** Coeficient de correlació entre els caràcters del fruit pels 110 genotips mesurats al 2005 (per sobre la diagonal) i els 121 mesurats al 2006 (per sota la diagonal) per a la població BC2. La diagonal indica el coeficient de correlació entre els 2 anys i 105 genotips eren comuns als 2 anys. Els coeficients de correlació van ser calculats amb un valor mitjà per cada genotip a partir del promig de 6 rèpliques. *Ftime*, data de floració; *Mtime*, data de maduració; *Pmeter*, fermesa (penetròmetre); *Durofel*, fermesa (durofel); *Fmass*, pes de fruit fresc; *SMass*, pes del pinyol en fresc; *SF\_ratio*, pes del pinyol/ pes del fruit; *OverColour*, percentatge de coloració vermellosa de la pell (anotació visual); *Lback*, brillantor (de 0 (negre) a 100% (blanc)) \_ background; *aback*, de vermell (128) a verd (-128) \_ background; *bback*, de groc (128) a blau (-128) \_ background; *Hback*, hue angle \_ background; *Lsur*, brillantor (de 0 (negre) a 100% (blanc)) \_ surimpression; *asur*, de vermell (128) a verd (-128) \_ surimpression; *bsur*, de groc (128) a blau (-128) \_ surimpression; *Hsur*, hue angle \_ surimpression (Minolta colorímetre); *TA*, acidesa titulable; *SSC*, Contingut en sòlids solubles; *DMC*, contingut de matèria seca de la polpa; *pHpowder*, pH de la pols; *Lpowder*, brillantor (de 0 (negre) a 100% (blanc)) \_ pols; *apowder*, de vermell (128) a verd (-128) \_ powder; *bpowder*, de groc (128) a blau (-128) \_ powder, *FGratio*, relació fructosa/glucosa; *Glc*, glucosa; *Fruc*, fructosa; *Sucr*, Sacarosa; *Xyl*, xilosa; *Ino*, inositol; *Qui*, quinat; *Cit*, citrat; *Mal*, malat; *Suc*, succinat; *Asn*, asparagina; *Asp*, aspartat; *Ala*, alanina; *Val*, valina; *Unkd0.9*, compost no identificat amb doblet a 0.9; *Unkd2.0*, compost no identificat amb doblet a 2.0; *PrunNMR*, prunasina (M7.55); *Phenol*, Fenol (M7.45); *CQ1*, cafeoilquinat 1; *CQ2*, cafeoilquinat 2; *NeoChloroNMR*, àcid neoclorogènic; *AC1*, àcid neoclorogènic (isoforma *cis*); *AC2*, àcid clorogènic (isoforma *cis*); *NeoChloroHPLC*, àcid neoclorogènic; *ProcyanB1*, procianidina B1; *ProcyanB2*, procianidina B2; *pCQ*, àcid p-coumaroilquinic; *Cat*, catequina; *Chloro*, àcid clorogènic; *Crypto*, àcid criptoclorogènic; *DCQ*, àcid 3,5-dicafeoilquinic; *Antho1*, curomanina; *Antho2*, antocià no identificat; *PrunHPLC*, prunasina; *a42min*, pic a 42 min; *a64m*, pic a 64 min, *a83m*, pic a 83.8 min, *a86m*, pic a 86.7 min, *a89m*, pic a 89.8 min, *a92m*, pic a 92.6 min, *a93m*, pic a 93.4 min, *a95m*, pic a 95.1 min, *a96m*, pic a 96.9 min; i *a98m*, pic a 98.7. \*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001.



# **ANÀLISI COMPARATIVA DELS GENOMES DE ROSÀCIES I RECONSTRUCCIÓ D'UN PUTATIU GENOMA ANCESTRAL PER A LA FAMÍLIA**

Eudald Illa<sup>1</sup>, Daniel J. Sargent<sup>2</sup>, Elena Lopez Girona<sup>2</sup>, Jill Bushakra<sup>3</sup>, Alessandro Cestaro<sup>4</sup>, Ross Crowhurst<sup>5</sup>, Massimo Pindo<sup>4</sup>, Antonio Cabrera<sup>6</sup>, Esther van der Knaap<sup>6</sup>, Amy Iezzoni<sup>7</sup>, Susan Gardiner<sup>3</sup>, Riccardo Velasco<sup>4</sup>, Pere Arús<sup>1</sup>, David Chagné<sup>3</sup>, Michela Troglio<sup>4</sup>

<sup>1</sup>IRTA, Centre de Recerca en Agrigenòmica CSIC-IRTA-UAB, Carretera de Cabrils Km 2, 08348 Cabrils (Barcelona), *Spain*.

<sup>2</sup>*East Malling Research, New Road, East Malling, Kent ME19 6BJ UK.*

<sup>3</sup>*The New Zealand Institute for Plant & Food Research Limited, Palmerston North Research Centre, Private Bag 11600, Palmerston North 4442, New Zealand.*

<sup>4</sup>*IASMA Research and Innovation Centre, Foundation Edmund Mach, Via E Mach 1, 38010 San Michele all'Adige (TN), Italy.*

<sup>5</sup>*The New Zealand Institute for Plant & Food Research Limited, Mt Albert Research Centre, Private Bag 92169, Auckland 1142, New Zealand.*

<sup>6</sup>*Department of Horticulture and Crop Science, The Ohio State University/Ohio Agricultural Research and Development Center, Wooster OH 44691, USA.*

<sup>7</sup>*Department of Horticulture, Michigan State University, East Lansing MI 48824, USA.*

Genome Biology, enviat

Direccions de correu electrònic:

EI: [eudald.illa@irta.cat](mailto:eudald.illa@irta.cat)

DJS: [dan.sargent@emr.ac.uk](mailto:dan.sargent@emr.ac.uk)

ELG: [elena.lopez@irta.cat](mailto:elena.lopez@irta.cat)

JB: [Jill.Bushakra@plantandfood.co.nz](mailto:Jill.Bushakra@plantandfood.co.nz)

AC: [alessandro.cestaro@iasma.it](mailto:alessandro.cestaro@iasma.it)

RC: [Ross.Crowhurst@plantandfood.co.nz](mailto:Ross.Crowhurst@plantandfood.co.nz)



MP: [massimo.pindo@iasma.it](mailto:massimo.pindo@iasma.it)  
ACa: [cabrera.16@buckeyemail.osu.edu](mailto:cabrera.16@buckeyemail.osu.edu)  
EVK: [vanderknaap.1@osu.edu](mailto:vanderknaap.1@osu.edu)  
AI: [iezzoni@msu.edu](mailto:iezzoni@msu.edu)  
SG: [Sue.Gardiner@plantandfood.co.nz](mailto:Sue.Gardiner@plantandfood.co.nz)  
RV: [riccardo.velasco@iasma.it](mailto:riccardo.velasco@iasma.it)  
PA: [pere.arus@irta.cat](mailto:pere.arus@irta.cat)  
DC: [David.Chagne@plantandfood.co.nz](mailto:David.Chagne@plantandfood.co.nz)  
MT: [michela.troggio@iasma.it](mailto:michela.troggio@iasma.it)

**Introducció:** El estudis de genòmica comparativa a la família *Rosaceae* s'han dut a terme mitjançant la utilització de marcadors comuns entre els mapes genètics d'espècies del mateix gènere o entre espècies de gèneres estretament relacionats. El progressiu augment dades de seqüència i altres recursos genòmics tant per *Prunus* com per *Fragaria* permet fer comparacions entre aquests dos gèneres i el genoma recentment seqüenciat de *Malus × domestica*.

**Resultats:** En aquest estudi, hem realitzat un anàlisi comparatiu detallat utilitzant la seqüència dels marcadors moleculars mapats genèticament en els mapes de referència de *Prunus* i *Fragaria* i la seqüència completa del genoma de *Malus*. La correspondència entre les posicions dels diferents marcadors és elevada i permet una identificació clara de blocs sintènics conservats en els tres genomes. La utilització de 129 marcadors comuns ha permès reconstruir el genoma d'un hipotètic ancestre comú per les *Rosaceae*.

**Conclusió:** Un genoma que contingui 9 cromosomes seria el candidat més probable com a progenitor ancestral de *Rosaceae*. El nombre de translocacions cromosòmiques observat entre els gèneres estudiats ha resultat baix. No obstant, el nombre d'inversions identificades entre *Malus* i *Prunus* basat en 784 marcadors ha resultat molt més alt del que s'esperava. Això suggereix un paper important d'aquestes inversions en l'evolució d'aquests dos gèneres o de les *Rosaceae*.

# **DISCUSSIÓ GENERAL**



El projecte europeu ISAFRUIT, on s'emmarca la major part de la recerca d'aquesta tesi, té com a objectiu principal la necessitat d'augmentar el consum de fruita (Callesen, 2009). Aquest increment en el consum de fruita hauria de provenir d'un augment en la sensibilització dels consumidors enfront dels efectes beneficiosos derivats de la seva ingesta, especialment la prevenció de nombroses malalties cròniques com el càncer, les malalties coronàries, la diabetis, les cataractes, l'artritis i la malaltia d'Alzheimer entre altres (Steinmetz i Potter, 1996; van Duyn i Pivonka, 2000; Dai et al. 2006). El projecte pretén contribuir a aquest objectiu a partir d'una aproximació multidisciplinària en la que intervenen experts en ciències socials, nutrició i salut, agronomia dels conreus, comportament postcollita, desenvolupament de nous productes processats i genètica dels caràcters relacionats amb la qualitat del fruit. Els participants d'ISAFRUIT són més de 300 científics de 60 organitzacions de recerca majoritàriament europees, i amb participació de grups nord-americans i neozelandesos.

Aquest interès entre la dieta i la salut ha portat a un augment significatiu en el desenvolupament d'aliments funcionals, aliments frescos o processats que aporten un benefici a la salut més enllà del seu valor nutritiu bàsic (Arvanitoyannis i Van Houwelingen-Koukaliaroglou, 2005). Els aliments funcionals es creen afegint "nutracèutics", com prebiòtics o probiòtics als productes alimentaris. En la darrera dècada s'han elaborat nombrosos estudis per tal de definir les propietats nutracèutiques dels fruits, especialment aquelles amb les quals podrien aportar un benefici a la salut (Kaur i Kapoor, 2001; Tomas-Barberan i Espin, 2001; Garcia-Alonso et al. 2004; Yao et al. 2004). Aquestes propietats han estat investigades en diferents espècies fruiteres com préssec i pera (Carbonaro i Mattera, 2001), pruna (Lombardi-Boccia et al. 2003), kiwi (Benge et al. 2000; Amodio et al. 2007), maduixa i móra (Asami et al. 2003) i tomàquet (Caris-Veyrat et al. 2004).

Una àrea de preocupació creixent és el nombre significatiu de consumidors que pateixen reaccions al·lèrgiques a la fruita. La majoria de cultius fruiters en zones temperades i subtropicals pertanyen a la família *Rosaceae*. Fruits com la poma (Hoffmann-Sommergruber, 2005; Fernández-Rivas et al. 2006), la pera (Karamloo et al. 2001), el préssec (Fernández-Rivas et al. 1997; Pastorello et al. 1999), la cirera (Scheurer et al. 1997; Scheurer et al. 2004), la pruna (Pastorello et al. 2001),

l'albercoc (Pastorello et al. 2000) i llavors com l'ametlla (Tawde et al. 2006) han estat descrites com a causants de reaccions al·lèrgiques a Europa.

Dins de la tecnologia de producció del préssec, un dels àmbits en els que s'ha produït una major innovació és en la millora genètica, ja que en poc més de 15 anys la gamma varietal en préssec i nectarina s'ha renovat quasi totalment (Iglesias i Carbó, 2009). La important reconversió varietal ha permès una millor qualitat de la fruita, més adaptada tant a les exigències de la producció com de la distribució i del consumidor. La primera generació de milloradors van posar tot el seu èmfasi en millorar les característiques externes de la fruita com la forma, la mida, el color o la fermesa de la carn. Tanmateix el mercat actual exigeix atributs de tipus organolèptic i nutricional addicionals als anteriors. Entendre la base genètica que controla cadascun dels caràcters determinarà la nostra capacitat per a manipular-los per obtenir fruits més atractius i sans per al consumidor.

### **MAPATGE DE GENS CANDIDATS IMPLICATS EN LA QUALITAT DEL FRUIT**

Alguns dels gens (gens majors) que expliquen individualment una part molt gran de la variabilitat d'un caràcter, i que poden ser estudiats com a segregacions mendelianes (Bassi i Monet, 2008), estan entre els més importants per la millora genètica de la qualitat del fruit: el gen que determina el caràcter àcid o subàcid de la carn (*D/d*) (Monet, 1979), el gen responsable de la consistència de la carn tova o dura (*M/m*) (Bailey i French, 1949) que té un efecte important sobre la textura i fermesa del fruit i un dels gens que determina el color, groc o blanc, de la carn del fruit (*Y/y*) (Bailey i French, 1949). A la vegada, molts altres caràcters relacionats amb la qualitat de la fruita presenten una herència quantitativa resultat de l'acció i interacció d'un nombre més o menys gran de gens i de la interacció d'aquests amb el medi ambient.

Una primera aproximació a la caracterització de la variabilitat genètica tant quantitativa com qualitativa la vam fer basant-nos en el mapatge de gens candidats (Plieger et al. 2001). Per a aquest propòsit vam seleccionar un conjunt de 273 gens que vam considerar que podien jugar un paper rellevant en la determinació del fenotip de caràcters relacionats amb la qualitat del fruit. Aquests gens es van seleccionar d'entre les seqüències de préssec existents en les bases de dades, a partir dels coneixements disponibles sobre la bioquímica, la biologia molecular i la fisiologia de la maduració del fruit i de diferents aspectes implicats en la qualitat d'aquest. L'aproximació per GCs es

va utilitzar inicialment per buscar gens de resistència a malalties (Leister et al. 1996) i, més tard, per molts altres caràcters (Stevens et al. 2007; Costa et al. 2008; Remay et al. 2009). A *Prunus*, aquest enfocament ha estat utilitzat per identificar els gens relacionats amb autoincompatibilitat (Ushijima et al. 2003), el gen de la endopoligalacturonasa que participa en l'estovament del fruit (Lester et al. 1996; Peace et al. 2005), en la identificació de les regions involucrades en conferir resistència enfront a determinades malalties (Lalli et al. 2005) i, més recentment, en la localització de 133 gens candidats per a la textura del fruit, la pigmentació, el sabor i la capacitat de resposta als tractaments de fred necessaris per a la conservació postcollita del préssec (Ogundiwin et al. 2009).

En el present estudi es van mapar 206 GCs relacionats amb creixement i maduració del fruit, textura, color, aroma i contingut en sucres i àcids orgànics i 18 gens putativament al·lèrgens de presseguer i/o ametller. Els GCs han estat cartografiats en el mapa de referència de *Prunus* utilitzant el mapatge selectiu o *bin mapping* (Howad et al. 2005). Aquesta aproximació també ha estat aplicada amb èxit per altres autors. Cabrera et al. (2009) van mapar 613 marcadors derivats de seqüències ortòlogues conservades a rosàcies (RosCOS) i van trobar un percentatge lleugerament inferior de polimorfisme (78%) al que nosaltres vam trobar (87%) i Ogundiwin et al. (2009) van cartografiar 114 GCs, obtenint un polimorfisme del 71 o el 86%, en funció del tipus de GCs estudiats. En aquest moment, el nombre total de GCs mapats mitjançant mapatge selectiu a T×E és de 332 [206 GC mapats en el Capítol 2, 18 putatius al·lèrgens (Chen et al. 2008; Capítol 3), a més dels 114 assignats per Ogundiwin et al. (2008, 2009) i els 10 mapats per Sargent et al. (2009), menys 16 que van ser comuns].

La majoria dels GCs es van distribuir a l'atzar en 57 dels 67 bins del mapa de T×E. Els bins on no vam trobar GCs van ser generalment aquells que cobreixen una distància més petita. Aquesta distribució en el mapa de referència va ser similar a la obtinguda amb altres marcadors, principalment RFLPs i SSRs (Dirlewanger et al. 2004). Tanmateix, encara que els gens per a la majoria de les vies metabòliques no solen estar agrupats en les plantes (Field i Osbourn, 2008), diversos grups de gens van ser localitzats en els bins 1:14 (*Spl1*, *Spl3*, i *Spl5*), 2:45 (*Pme1* i *Pme4*), 4:18 (*Lox1* a *Lox5*)

i 7:31 (*Fba2* i *Fba3*). Una situació similar es va trobar en el mapatge dels principals al·lèrgens en presseguer *Pru p 1* (PR-10) i *Pru p 3* (LTP) (Chen et al. 2008; Capítol 3).

La freqüència de SNPs entre ametller i presseguer s'ha estimat en 1 SNP cada 149 pb. Aquests resultats són consistents amb els valors descrits anteriorment a la població T×E (Sargent et al. 2009) i amb estimacions similars en altres espècies molt variables com l'ametller (Wu et al. 2008), el blat de moro (Ching et al. 2002), el sègol (Varshney et al. 2007) i la poma (Chagné et al. 2008). Aquestes dades confirmen la diversitat genètica entre els dos genomes i, atesa la poca variabilitat del presseguer, va ser fonamental en la decisió d'utilitzar aquest encreuament interespecífic per construir el mapa de referència. Les dades també mostren que els progenitors préssec i ametller divergeixen entre ells com si fossin dos genotips distants d'una espècie molt variable, indicatiu de la proximitat entre els genomes d'aquestes dues espècies.

Malgrat el nombre d'estudis sobre QTLs relacionats amb la qualitat de la fruita és per ara limitat en les fruites de pinyol (Abbott et al. 2008), diverses co-localitzacions entre GC i un gen major o un QTL implicat en la qualitat del fruit van ser identificades. Aquestes co-localitzacions, així com les descrites per Ogundiwin et al. (2008 i 2009) i Sooriyapathirana et al. (2010), poden ser útils per identificar els gens responsables de la variabilitat natural d'aquests caràcters. La no co-localització entre un QTL o un gen major i un GC descarta una possible relació causa – efecte entre ells. No obstant, el fet de trobar-la no la confirma, ja que l'efecte real sobre el caràcter podria ser degut a un altre gen de la mateixa regió on mapa el QTL. Caldrà, doncs, una verificació funcional mitjançant assajos de complementació via transformació genètica i/o estudis estructurals com els d'associació genètica per validar-la.

## **ANÀLISI DE QTLs DE QUALITAT DEL FRUIT EN UNA POBLACIÓ BC2**

Una de les activitats realitzades dins del projecte ISAFRUIT consistí en realitzar anàlisis genètiques en quatre poblacions de *Prunus*, dues de préssec (*P. persica*) i dues d'albercoc (*P. armeniaca*), per tal d'identificar gens majors i QTLs per a diversos caràcters relacionats amb la qualitat del fruit. Per aquest motiu era necessari construir mapes genètics saturats i mesurar aquests caràcters en cadascuna d'aquestes poblacions. L'anàlisi conjunta de la segregació dels marcadors moleculars i les dades

fenotípiques va permetre la localització en el mapa genètic d'aquesta població de regions amb gens majors o QTLs que explicaven parcialment la variació observada.

Nosaltres vam fer l'anàlisi de QTLs d'una de les descendències de préssec, una població derivada del retroencreuament de *P. davidiana* i dos cultivars de *P. persica* (BC2). El mapa genètic de la població BC2 ha estat saturat amb 59 microsatèl·lits (Illa et al. 2009; Capítol 1). El mapa resultant cobreix un total de 575.1 cM, amb una densitat de 4.14 cM per cada marcador, i conté 139 marcadors (41 RFLPs, 69 SSRs i 29 AFLPs). El mapa cobreix la majoria dels grups de lligament del mapa de referència de *Prunus* (Dirlewanger et al. 2004). El G8, abans representat només per un sol marcador, en té ara set que cobreixen pràcticament tota la distància d'aquest grup de lligament al mapa T×E de referència de *Prunus*. Aquest mapa comparteix 82 marcadors comuns (majoritàriament SSRs i alguns RFLPs) amb la resta de mapes saturats (J×F i L×B) o construïts *de novo* (G×M) a raó del projecte europeu i amb T×E, el que va permetre comparar aquests cinc mapes que provenen de quatre espècies de *Prunus* (presseguer, albercoquer, ametller, i *P. davidiana*). L'anàlisi va confirmar la sintènia i co-linealitat dels marcadors entre tots els mapes, d'acord amb les observacions anteriors que indicaven que tots els *Prunus* tenen en comú el mateix genoma (Arús et al. 2005).

La progènie BC2 es va avaluar durant dos anys consecutius (2005 i 2006) per a 73 caràcters fenotípics, incloent-hi les dates de floració i maduració del fruit, el pes fresc, el color de la pell, el pH i el contingut en sòlids solubles. A la vegada, els principals metabòlits polars van ser quantificats utilitzant <sup>1</sup>H-RMN i els compostos fenòlics mitjançant HPLC-DAD. En total es van analitzar 27 caràcters corresponents a mesures de camp i 46 caràcters bioquímics del fruit, 23 dels quals, van ser determinats mitjançant RMN i 23 més utilitzant HPLC.

El mapatge per intervals va permetre detectar 173 QTLs al 2005 i 146 QTLs al 2006, 83 dels quals van resultar ser estables durant els dos anys. D'aquests 83 QTLs, 48 van ser considerats QTLs majors ja que explicaven una part important de la variació fenotípica observada (més d'un 10% cada any i més d'un 20% al menys un any). Aquests QTLs majors serien inicialment els més interessants des del punt de vista de la millora genètica, ja que justificarien una selecció assistida per marcadors (MAS); la



despesa de la utilització dels marcadors es veuria compensada amb un guany important en el caràcter fenotípic seleccionat.

La comparació dels resultats amb d'altres obtinguts en estudis semblants (Dirlewanger et al. 1999; Etienne et al. 2002; Verde et al. 2002; Quilot et al. 2004) també suggereix una reproductibilitat mitjana dels QTLs d'un any a l'altre (sempre per sota del 40% del total de QTLs detectats), posant de manifest un efecte important de l'ambient en els caràcters estudiats o, per contra, la detecció de QTLs espuris en algun dels anys. Molts dels QTLs trobats en aquest estudi ho foren també en el treball anterior de Quilot et al. (2004) utilitzant la mateixa població, per bé que els que coincidien amb els detectats en altres poblacions varen ser escassos. Això es pot explicar en part perquè les poblacions analitzades tenien bases genètiques molt diferents: Dirlewanger et al. (1999) i Etienne et al. (2002) utilitzaren la F<sub>2</sub> d'un encreuament molt consanguini entre dues varietats de préssec, Verde et al. (2002) un BC<sub>1</sub> d'un encreuament entre préssec i *P. ferganensis* i Quilot et al. (2004), al igual que nosaltres, un BC<sub>2</sub> en que el parental donant era *P. davidiana*. Conseqüentment, la base de la variabilitat estudiada en els dos darrers casos era la de l'espècie silvestre, que té com a element d'interès la possibilitat d'incorporar nous al·lels al préssec, una espècie poc variable (Mnejja et al. 2010), però que no té perquè implicar els mateixos gens que els que són variables per cada caràcter al préssec cultivat. Altres elements d'heterogeneïtat que podrien explicar la poca reproductibilitat dels QTLs en diferents poblacions són les diferències en la metodologia de mesura dels caràcters estudiats i el fet que la selecció del moment òptim de maduració del préssec, determinant de la qualitat de les dades obtingudes, és encara un aspecte molt subjectiu.

La posició dels 83 QTLs reproduïbles va ser comparada amb els 206 GCs localitzats al mapa de T×E (Capítol 2). Diferents co-localitzacions GC/QTL van ser identificades en G1 (fructosa), G3 (coloració de la polpa dessecada i contingut d'antocians), G4 (coloració de la polpa dessecada), G5 (fermesa i coloració de la pell del fruit) i G7 (glucosa). De les vuit co-localitzacions identificades entre els QTLs detectats (Capítol 4) i els GCs mapats recentment (Illa et al.; Capítol 2), vam decidir centrar-nos en *Fk1* (G1), *Eg4* (G5), *Pl1* (G5), *F3h* (G5), *Hk2* (G7) i *Sus1* (G7).

La seqüenciació dels sis GCs seleccionats als progenitors de la BC<sub>2</sub> va permetre detectar almenys un SNP en quatre d'ells: *Pl1*, *F3h*, *Hk2* i *Sus1*. Cadascun d'aquests

SNPs distingia dos genotipus en la descendència BC2: un homozigot i un heterozigot. La localització dels GCs en el mapa genètic es va realitzar mitjançant la tècnica de la *high resolution melting* (HRM). Aquest mètode s'ha aplicat amb èxit a la cartografia genètica (Chagné et al. 2008; Croxford et al. 2008; Lehmsiek et al. 2008; Kennerson et al. 2009; Wu et al. 2009b), doncs permet la detecció de polimorfismes en l'ADN bicatenari d'una manera simple, ràpida i econòmica (Liew et al. 2004).

Les posicions dels marcadors obtinguts al mapa de la BC2 van ser les esperades d'acord amb el *bin mapping* a T×E. L'anàlisi de QTLs posterior seguí situant els gens dins de l'interval de confiança dels QTLs amb els que co-localitzaven, per bé que només en un cas (*Sus1*) va coincidir amb el màxim del LOD per aquests QTLs. Aquest GC sembla més interessant que els altres per procedir a una anàlisi en més profunditat de la seva possible implicació amb el fenotip de contingut en glucosa del fruit: en una primera fase podria basar-se en l'anàlisi genotípic i fenotípic d'una col·lecció de varietats i, posteriorment, en l'anàlisi d'associació consegüent. En aquest sentit, un resultat positiu podria ser utilitzat per a desenvolupar marcadors al·lel-específics que permetessin seleccionar pel contingut en glucosa en poblacions segregants de presseguer.

## **MAPATGE COMPARATIU ENTRE ELS GENOMES DE PRESSEGUER, POMERA I MADUIXA DIPLOIDE**

Una de les contribucions dels mapes genètics a la biologia vegetal és que fan possible la comparació de diferents genomes a partir d'estudiar la posició al mapa (o a la seqüència d'ADN, si aquesta està disponible) de marcadors obtinguts de seqüències homòlogues en cadascuna de les espècie; una eina cabdal per a l'estudi de l'evolució dels genomes. De manera general, els resultats d'aquestes comparacions indiquen que el genoma està molt conservat i manté nivells alts de sintènia (els marcadors es troben als mateixos cromosomes o fragments cromosòmics) i de co-linealitat (conservació de l'ordre i l'orientació dels marcadors en un cromosoma o fragment cromosòmic) entre espècies de la mateixa família (Schmidt, 2002; Paterson et al. 2004), però aquesta conservació resulta molt més fragmentada entre espècies de famílies diferents (Dominguez et al. 2003; Jung et al. 2006). Exemples d'estudis de sintènia es poden trobar en famílies econòmicament importants com *Poaceae*, *Solanaceae*, *Brassicaceae* i *Leguminosae* (Devos i Gale, 2000; Doganlar et al. 2002; Lukens et al. 2003; Kalo et al. 2004; Wu et al. 2010).

En la família *Rosaceae* també existeix informació, encara que incompleta, sobre la comparació dels genomes de les espècies de major valor econòmic, particularment en els dels fruiters de pinyol (*Prunus*), la pomera i la maduixera (Arús et al. 2005). Sabem que tots els membres del gènere *Prunus* tenen una estructura del genoma gairebé idèntica (Dirlewanger et al. 2004) i que el mateix passa entre la pomera i la perera (Celton et al. 2009). Altres comparacions han estat també descrites entre gèneres més allunyats dins mateixa la família, com *Fragaria* i *Prunus* (Vilanova et al. 2008) i, encara que només és parcial, entre *Malus* i *Prunus* (Dirlewanger et al. 2004).

En aquest treball hem dut a terme una anàlisi comparativa molt detallada entre la seqüència dels marcadors que trobem en el mapa de referència de *Prunus* (Dirlewanger et al. 2004) i en el de *Fragaria* diploide (Sargent et al. 2006) amb la seqüència completa del genoma de *Malus × domestica* (Velasco et al. 2010). En total, 784 marcadors presents en el mapa referència de *Prunus*, que corresponen a 988 loci del genoma de *Malus*, s'han utilitzat per a la comparació. La densitat d'aquests marcadors va ser molt elevada, superior en general a la d'estudis similars considerats com a molt exhaustius en altres famílies: un marcador cada 0.65 cM a *Prunus* (que correspon a un locus cada 0.76 Mb a *Malus*) en comparació amb un marcador cada 1.6 cM en un anàlisi entre *B. napus* i *A. thaliana* (Parkin et al. 2005) o un marcador cada 6.9 cM en la comparació entre *Capsicum annuum* i *S. lycopersicum* (Wu et al. 2009a). La comparació entre *Fragaria* i *Malus* es realitzà amb un nombre inferior de marcadors (148 marcadors a *Fragaria* que detectaren 164 loci a *Malus*), el que correspon a un marcador cada 4.24 cM en *Fragaria* i un locus cada 3.64 Mb a *Malus*. Els tres genomes es pogueren comparar amb 129 marcadors comuns.

El nivell de conservació dels genomes de les tres espècies va ser elevat d'acord amb el que s'esperava en comparar genomes de la mateixa família. Les nostres dades van ser consistents amb la naturalesa tetraploide del genoma de *Malus*, ja que cada regió sintènica de les espècies diploides va correspondre, gairebé sempre, a dues de la pomera. La comparació basada en 129 marcadors comuns va permetre determinar que el genoma de *Prunus* és més proper al de la pomera (es va estimar que diferien en 19 translocacions i 14 inversions) que al de la maduixa (30 translocacions i 45 inversions). Aquests resultats són consistents amb les dades filogenètiques basades en la comparació de seqüències gèniques (Potter et al. 2007). A l'utilitzar els 784 marcadors

disponibles a *Prunus* el nombre de translocacions van ser les mateixes, però es va descobrir un nombre gairebé cinc vegades més gran d'inversions (65). Malgrat no podem descartar que una part d'aquestes inversions siguin degudes a errors en l'ensamblatge de la seqüència de *Malus* o en el mapatge de gens a *Prunus*, els nostres resultats indiquen que hi ha un nombre important de petites inversions, la major part (71%) d'una mida inferior a l'1% del genoma de la pomera (7.5 Mb), que no podrien ser detectades en comparacions amb densitats de marcadors inferiors. Aquests resultats podrien conferir a les petites inversions un paper important en l'evolució dels genomes de plantes, o al menys en alguns d'ells, tal i com s'ha descrit en *Drosophila* (Bhutkar et al. 2008). El paper d'aquestes inversions es podrà estudiar en més detall a mesura que nous genomes d'espècies properes es vagin seqüenciant.

A partir d'un hipotètic genoma ancestral de les rosàcies de  $x=9$  vam poder reconstruir els genomes de les tres espècies. El genoma ancestral difereix en quatre translocacions o fissions/fusions amb el del presseguer, tres amb el de la maduixa i vuit amb el de la pomera que, en ser aquesta tetraploide, donaria com a resultat una freqüència de rearranjaments cromosòmics d'aquests tipus similar a les tres espècies. Aquesta evolució a partir del genoma ancestral permet també reconèixer dues parelles de cromosomes homeòlegs i altament sintènics a la pomera, procedents cadascun d'ells de la fusió entre fragments de dos cromosomes ancestrals, el que suggereix que aquests rearranjaments són monofilètics i que estaven presents a les dues espècies, els genomes de les quals varen formar el de la pomera. Aquests resultats indiquen una semblança entre aquests dos genomes i una distància respecte al de *Prunus*, reforçant la hipòtesi de que el genoma de *Malus* es va generar a partir dels de dues espècies de la subfamília *Spiraeoideae* amb genomes de  $x=9$  (Evans i Campbell, 2002) o inclús es podria tractar d'un autotetrapoliploide a partir d'una *Spiroideae* tal com suggereixen Velasco et al. (2010), i no pas d'una espècie originada per un genoma de la tribu *Amygdaleae*, semblant a *Prunus* ( $x=8$ ), i un altre de la *Spiroideae* ( $x=9$ ) (Sax, 1933).

La comparació elaborada en aquest treball (Capítol 5) proporciona una base sòlida per la genòmica comparativa entre les tres espècies econòmicament més rellevants de la família *Rosaceae*. Una vegada la seqüència del genoma de les tres espècies sigui disponible hauria de ser possible realitzar una anàlisi complerta d'aquesta sintènia. No obstant, les dades actuals permeten tenir una visió suficientment acurada com per

poder començar a utilitzar aquesta informació per a la transferència del coneixement genètic entre les diferents espècies d'aquesta important família de plantes (Peace i Norelli, 2008).

## **CONCLUSIONS**



1. S'han identificat 273 seqüències no redundants de les col·leccions d'ESTs de *Prunus* com a putatius gens candidats implicats en la qualitat del fruit al presseguer.
2. Mitjançant el mapatge selectiu, s'han pogut localitzar en el mapa de referència del gènere *Prunus* 224 gens candidats relacionats amb la qualitat del fruit (206) i el contingut d'al·lèrgens (18) de préssec.
3. El mapatge de tres nous marcadors (UDP-glucosa 6-deshidrogenasa, Enoil-ACP Reductasa (NADH) i MDP0000144421) ha permès identificar tres nous bins en el mapa de T×E. Amb la seva incorporació el nombre total de bins ha incrementat a 70. Els bins nous es van codificar com 5:42, 6:02 i 7:34, segons la nomenclatura de Howad et al. (2005).
4. El grau de polimorfisme genètic de la població T×E és elevat (1 SNP cada 149 pb). El mapatge selectiu en aquesta població és un mètode eficaç per a mapar molts marcadors ràpidament i amb un baix cost baix. Això fa d'aquesta progènie una eina valuosa pel mapatge.
5. S'han identificat co-localitzacions dels gens candidats amb gens majors o QTLs descrits en la bibliografia. Aquestes co-localitzacions estan relacionades principalment amb el metabolisme dels sucres (contingut de glucosa, fructosa, sacarosa i sorbitol) i amb la síntesi i acumulació de flavonoides.
6. El mapa genètic de la població BC2, derivada del segon retroencreuament d'un híbrid préssec x *P. davidiana* amb préssec, ha estat saturat amb 59 microsatèl·lits. El mapa resultant cobreix un total de 575.1 cM, amb una densitat de 4.14 cM per cada marcador, i conté 139 marcadors (41 RFLPs, 69 SSRs i 29 AFLPs) distribuïts en els vuit grups de lligament esperats.
7. Un total de 73 caràcters fenotípics (27 agronòmics, 23 RMN i 23 HPLC) relacionats amb la qualitat del fruit han estat analitzats durant dos anys consecutius a la població BC2. Dels 173 QTLs detectats al 2005 i els 146 al 2006, 83 van resultar ser estables durant els dos anys. D'aquests, 48 foren QTLs majors.



8. De la comparació de les posicions dels QTLs estables detectats en la població BC2 i els GCs relacionats amb la qualitat del fruit mapats a T×E es van identificar vuit co-localitzacions.
9. En la població BC2 s'han localitzat quatre gens candidats implicats en la qualitat del fruit. Només un d'ells, el gen de la sacarosa sintasa (*Sus1*) que co-localitza amb un QTL de contingut en glucosa, coincidí amb el màxim del QTL.
10. L'anàlisi genètica de les quatre poblacions de *Prunus*, dues de préssec (*P. persica*) i dues d'albercoc (*P. armeniaca*) incloses en el projecte ISAFRUIT mostren una conservació de la sintènia i la co-linealitat entre marcadors. Això proporciona una evidència addicional sobre de l'elevada similitud entre tots els genomes del gènere *Prunus*.
11. S'han desenvolupat 155 nous marcadors basats en seqüències homologues de pomera i presseguer per a facilitar una anàlisi completa de la sintènia. Noranta-quatre d'aquests (60.7%) han estat localitzats mitjançant *bin mapping* en el mapa T×E.
12. Els marcadors RosCOS presenten un elevat nivell de transferibilitat entre els diferents genomes de la família *Rosaceae*. Només 4 de les 549 seqüències analitzades no es van trobar en la seqüència del genoma de *Malus × domestica*.
13. L'anàlisi comparativa detallada entre la seqüència dels marcadors que trobem en el mapa de referència de *Prunus* i el de *Fragaria* i la seqüència completa del genoma de *Malus × domestica* mostra l'existència d'amplis blocs sintènics, el que facilitarà la transferència del coneixement genètic entre les tres espècies.
14. A partir d'un hipotètic genoma ancestral de les rosàcies de nou cromosomes, s'han reconstruït els genomes de la pomera, el presseguer i la maduixa, permetent interpretar l'evolució dels seus genomes a partir d'un genoma comú.

## **BIBLIOGRAFIA**



- Abbott A, Georgi L, Yvergniaux D, Inigo M, Sosinski B, Wang Y, Blenda A, Reighard G (2002) Peach: The model genome for *Rosaceae*. Proceedings of the International Symposium on Tropical and Subtropical Fruits, Vols 1 and 2:145-155
- Abbott AG, Arús P, Scorza R (2008) Genetic engineering and genomics. In: Layne D, Bassi D (eds) The peach: botany, production and uses. CABI, Cambridge, USA, pp 85-105
- Abbott AG, Rajapakse S, Sosinski B, Lu ZX, Sossey-Alaoui K, Gannavarapu M, Reighard G, Ballard RE, Baird WV, Scorza R, Callahan A (1998) Construction of saturated linkage maps of peach crosses segregating for characters controlling fruit quality, tree architecture and pest resistance. *Acta Horticulturae* 465:41-50
- Alderborn A, Kristofferson A, Hammerling U (2000) Determination of Single-Nucleotide Polymorphisms by Real-time Pyrophosphate DNA Sequencing. *Genome Research* 10:1249-1258
- Allard RW (1956) Formulas and tables to facilitate the calculation or recombination values in heredity. *Hilgardia* 24:235-278
- Amodio ML, Colelli G, Hasey JK, Kader AA (2007) A comparative study of composition and postharvest performance of organically and conventionally grown kiwifruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87:1228-1236
- Amos B, Pemberton J (1992) DNA fingerprinting in non-human populations. *Current Opinion in Genetics & Development* 2:857-860
- Aranzana MJ, Carbó J, Arús P (2003) Microsatellite variability in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]: cultivar identification, marker mutation, pedigree inferences and population structure. *Theoretical and Applied Genetics* 106:1341-1352
- Aranzana MJ, Garcia-Mas J, Carbó J, Arús P (2002) Development and variability analysis of microsatellite markers in peach. *Plant Breeding* 121:87-92
- Arumuganathan K, Earle E (1991) Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Molecular Biology Reporter* 9:208-218
- Arús P, Yamamoto T, Dirlewanger E, Abbott AG (2005) Synteny in the *Rosaceae*. In: Janick J (ed) *Plant Breeding Reviews*. John Wiley and Sons Inc, USA, pp 175-211
- Arvanitoyannis IS, Van Houwelingen-Koukaliaroglou M (2005) Functional foods: a survey of health claims, pros and cons, and current legislation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 45:385-404
- Asami DK, Hong Y-J, Barrett DM, Mitchell AE (2003) Comparison of the Total Phenolic and Ascorbic Acid Content of Freeze-Dried and Air-Dried Marionberry,

- Strawberry, and Corn Grown Using Conventional, Organic, and Sustainable Agricultural Practices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:1237-1241
- Ausubel FM (1998) *Current Protocols in Molecular Biology*. Wiley, New York
- Badenes ML, Martinez-Calvo J, Llacer G (1998) Analysis of peach germplasm from Spain. *Fourth International Peach Symposium, Vols 1-2:243-250*
- Bailey JS, French AP (1942) The inheritance of blossom type and blossom size in peach. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 40:248-250
- Bailey JS, French AP (1949) The inheritance of certain fruit and foliage characters in the peach. *Massachusetts Agricultural Experiment Station Bulletin:452*
- Baird WV, Ballard RE, Rajapakse S, Abbott AG (1996) Progress in *Prunus* mapping and application of molecular markers to germplasm improvement. *HortScience* 31:1099-1106
- Baird WV, Estager AS, Wells JK (1994) Estimating nuclear DNA content in peach and related diploid species using laser flow cytometry and DNA hybridization. *American Society for Horticultural Science* 119:1312-1316
- Ballester J, Socias I Company R, Arús P, De Vicente MC (2001) Genetic mapping of a major gene delaying blooming time in almond. *Plant Breeding* 120:268-270
- Benge JR, Banks NH, Tillman R, de Silva HN (2000) Pairwise comparison of the storage potential of kiwifruit from organic and conventional production systems. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 28:147 - 152
- Bennett CD, Campbell MN, Cook CJ, Eyre DJ, Nay LM, Nielsen DR, Rasmussen RP, Bernard PS (2003) The Light-Typer: high-throughput genotyping using fluorescent melting curve analysis. *BioTechniques* 34:1288-1293
- Bernatzky R, Tanksley SD (1986) Toward a saturated linkage map in tomato based on isozymes and random cDNA sequences. *Genetics* 112:887-898
- Bhutkar A, Schaeffer SW, Russo SM, Xu M, Smith TF, Gelbart WM (2008) Chromosomal Rearrangement Inferred From Comparisons of 12 *Drosophila* Genomes. *Genetics* 179:1657-1680
- Blake MA (1932) The J. H. Hale peach as a parent in peach crosses. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 29:131-136
- Blake MA (1937) Progress in peach breeding. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 35:49-53
- Blenda AV, Verde I, Georgi LL, Reighard GL, Forrest SD, Muñoz-Torres M, Baird WV, Abbott AG (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*
- Bliss FA, Arulsekar S, Foolad MR, Becerra V, Gillen AM, Warburton ML, Dandekar AM, Kocsisne GM, Mydin KK (2002) An expanded genetic linkage map of *Prunus* based on an interspecific cross between almond and peach. *Genome* 45:520-529
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32:314-331
- Braun A, Little DP, Koster H (1997) Detecting CFTR gene mutations by using primer oligo base extension and mass spectrometry. *Clinical Chemistry* 43:1151-1158
- Brookes AJ (1999) The essence of SNPs. *Gene* 234:177-186
- Butcher PA, Decroocq S, Gray Y, Moran GF (2000) Development, inheritance and cross-species amplification of microsatellite markers from *Acacia mangium*. *Theoretical and Applied Genetics* 101:1282-1290
- Byrne DH (1990) Isozyme Variability in Four Diploid Stone Fruits Compared with Other Woody Perennial Plants. *Journal of Heredity* 81:68-71
- Cabrera A, Kozik A, Howad W, Arús P, Iezzoni A, Knaap E (2009) Development and bin mapping of a Rosaceae Conserved Ortholog Set (COS) of markers. *BMC Genomics* 10:562
- Callesen O (2009) ISAFRUIT: The total chain approach. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology ISAFRUIT Special Issue*:1
- Cantini C, Iezzoni AF, Lamboy WF, Boritzki M, Struss D (2001) DNA Fingerprinting of Tetraploid Cherry Germplasm Using Simple Sequence Repeats. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 126:205-209
- Carbonaro M, Mattera M (2001) Polyphenoloxidase activity and polyphenol levels in organically and conventionally grown peach (*Prunus persica* L., cv. Regina bianca) and pear (*Pyrus communis* L., cv. Williams). *Food Chemistry* 72:419-424
- Caris-Veyrat C, Amiot M-Jp, Tyssandier V, Grasselly D, Buret M, Mikolajczak M, Guillard J-C, Bouteloup-Demange C, Borel P (2004) Influence of Organic versus Conventional Agricultural Practice on the Antioxidant Microconstituent Content of Tomatoes and Derived Purees; Consequences on Antioxidant Plasma Status in Humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:6503-6509
- Cashman JR, Zhang J, Leushner J, Braun A (2001) Population distribution of human flavin-containing monooxygenase form 3: Gene polymorphisms. *Drug Metabolism and Disposition* 29:1629-1637

- Celton J-M, Chagne D, Tustin S, Terakami S, Nishitani C, Yamamoto T, Gardiner S (2009) Update on comparative genome mapping between *Malus* and *Pyrus*. *BMC Research Notes* 2:182
- Chagné D, Gasic K, Crowhurst RN, Han Y, Bassett HC, Bowatte DR, Lawrence TJ, Rikkerink EHA, Gardiner SE, Korban SS (2008) Development of a set of SNP markers present in expressed genes of the apple. *Genomics* 92:353-358
- Chambers GK, MacAvoy ES (2000) Microsatellites: consensus and controversy. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology* 126:455-476
- Chaparro JX, Werner DJ, O'Malley D, Sederoff RR (1994) Targeted mapping and linkage analysis of morphological isozyme, and RAPD markers in peach. *Theoretical and Applied Genetics* 87:805-815
- Chen L, Zhang S, Illa E, Song L, Wu S, Howad W, Arús P, Weg E, Chen K, Gao Z (2008) Genomic characterization of putative allergen genes in peach/almond and their synteny with apple. *BMC Genomics* 9:543
- Ching A, Caldwell K, Jung M, Dolan M, Smith O, Tingey S, Morgante M, Rafalski A (2002) SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines. *BMC Genetics* 3:19
- Chistiakov DA, Hellemans B, Volckaert FAM (2006) Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture* 255:1-29
- Cho RJ, Mindrinos M, Richards DR, Sapolsky RJ, Anderson M, Drenkard E, Dewdney L, Reuber TL, Stammers M, Federspiel N, Theologis A, Yang WH, Hubbell E, Au M, Chung EY, Lashkari D, Lemieux B, Dean C, Lipshutz RJ, Ausubel FM, Davis RW, Oefner PJ (1999) Genome-wide mapping with biallelic markers in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Genetics* 23:203-207
- Cipriani G, Lot G, Huang WG, Marrazzo MT, Peterlunger E, Testolin R (1999) AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach [*Prunus persica* (L) Batsch]: isolation, characterisation and cross-species amplification in *Prunus*. *Theoretical and Applied Genetics* 99:65-72
- Collard B, Jahufer M, Brouwer J, Pang E (2005) An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica* 142:169-196
- Connors CH (1920) Peach breeding - a summary of results. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 17:108-115

- Cook NC, Samman S (1996) Flavonoids - Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Journal of Nutritional Biochemistry* 7:66-76
- Costa F, Van de Weg W, Stella S, Dondini L, Pratesi D, Musacchi S, Sansavini S (2008) Map position and functional allelic diversity of Md-Exp7 , a new putative expansin gene associated with fruit softening in apple (*Malus × domestica* Borkh.) and pear (*Pyrus communis*). *Tree Genetics & Genomes* 4:575-586
- Croxford AE, Rogers T, Caligari PDS, Wilkinson MJ (2008) High-resolution melt analysis to identify and map sequence-tagged site anchor points onto linkage maps: a white lupin (*Lupinus albus*) map as an exemplar. *New Phytologist* 180:594-607
- Dabov S (1983) Inheritance of peach resistance to powdery mildew III: Leaf resistance in F1 of "J. H. Hale" × "nectarine Ferganensis-2". *Genetics and Plant Breeding* 16:146–150
- Dai Q, Borenstein AR, Wu Y, Jackson JC, Larson EB (2006) Fruit and Vegetable Juices and Alzheimer's Disease: The *Kame* Project. *The American journal of medicine* 119:751-759
- Dakora FD (1995) Plant Flavonoids - Biological Molecules for Useful Exploitation. *Australian Journal of Plant Physiology* 22:87-99
- Devos KM, Gale MD (2000) Genome Relationships: The Grass Model in Current Research. *Plant Cell* 12:637-646
- Dirlewanger E, Cardinet G, Boudehri K, Renaud C, Monllor S, Illa E, Howad W, Arús P, Croset C, Poëssel JL, Maucourt M, Deborde C, Moing A (2009) Detection of QTLs controlling major fruit quality components in peach within the European project ISAFRUIT. *Acta Horticulturae* 814:533-538
- Dirlewanger E, Claverie J, Wünsch A, Iezzoni AE (2007) Cherry. In: Kole C (ed) *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants, Fruits and Nuts*. Springer, Berlin, pp 103-118
- Dirlewanger E, Cosson P, Boudehri K, Renaud C, Capdeville G, Tauzin Y, Laigret F, Moing A (2006) Development of a second-generation genetic linkage map for peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and characterization of morphological traits affecting flower and fruit. *Tree Genetics & Genomes* 3:1-13
- Dirlewanger E, Cosson P, Tavaud M, Aranzana J, Poizat C, Zanetto A, Arús P, Laigret F (2002) Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 105:127-138



- Dirlewanger E, Graziano E, Joobeur T, Garriga-Caldere F, Cosson P, Howad W, Arús P (2004) Comparative mapping and marker-assisted selection in *Rosaceae* fruit crops. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101:9891-9896
- Dirlewanger E, Moing A, Rothan C, Svanella L, Pronier V, Guye A, Plomion C, Monet R (1999) Mapping QTLs controlling fruit quality in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch). *Theoretical and Applied Genetics* 98:18-31
- Dirlewanger E, Pascal T, Zuger C, Kervella J (1996) Analysis of molecular markers associated with powdery mildew resistance genes in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) x *Prunus davidiana* hybrids. *Theoretical and Applied Genetics* 93:909-919
- Doganlar S, Frary A, Daunay M-C, Lester RN, Tanksley SD (2002) A Comparative Genetic Linkage Map of Eggplant (*Solanum melongena*) and Its Implications for Genome Evolution in the Solanaceae. *Genetics* 161:1697-1711
- Dominguez I, Graziano E, Gebhardt C, Barakat A, Berry S, Arús P, Delseny M, Barnes S (2003) Plant genome archaeology: evidence for conserved ancestral chromosome segments in dicotyledonous plant species. *Plant Biotechnology Journal* 1:91-99
- Dondini L, Lain O, Geuna F, Banfi R, Gaiotti F, Tartarini S, Bassi D, Testolin R (2007) Development of a new SSR-based linkage map in apricot and analysis of synteny with existing *Prunus* maps. *Tree Genetics & Genomes* 3:239-249
- Downey SL, Iezzoni AF (2000) Polymorphic DNA Markers in Black Cherry (*Prunus serotina*) Are Identified Using Sequences from Sweet Cherry, Peach, and Sour Cherry. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 125:76-80
- Echeverria G, Graell J, López ML, Lara I (2008) La calidad organoléptica de la fruta. *Horticultura Internacional* 61:26-36
- Etienne C, Rothan C, Moing A, Plomion C, Bodenes C, Svanella-Dumas L, Cosson P, Pronier V, Monet R, Dirlewanger E (2002) Candidate genes and QTLs for sugar and organic acid content in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Theoretical and Applied Genetics* 105:145-159
- Evans RC, Campbell CS (2002) The origin of the apple subfamily (*Maloideae*; *Rosaceae*) is clarified by DNA sequence data from duplicated GBSSI genes. *American Journal of Botany* 89:1478-1484
- Faust M, Timon B (1995) Origin and dissemination of peach. *Horticultural Reviews*:331-379
- Fei ZD, Ono T, Smith LM (1998) MALDI-TOF mass spectrometric typing of single nucleotide polymorphisms with mass-tagged ddNTPs. *Nucleic Acids Research* 26:2827-2828

- Fernández-Rivas M, Bolhaar S, González-Mancebo E, Asero R, van Leeuwen A, Bohle B, Ma Y, Ebner C, Rigby N, Sancho AI, Miles S, Zuidmeer L, Knulst A, Breiteneder H, Mills C, Hoffmann-Sommergruber K, van Ree R (2006) Apple allergy across Europe: How allergen sensitization profiles determine the clinical expression of allergies to plant foods. *The Journal of allergy and clinical immunology* 118:481-488
- Fernández-Rivas M, van Ree R, Cuevas M (1997) Allergy to Rosaceae fruits without related pollinosis. *The Journal of allergy and clinical immunology* 100:728-733
- Fernandez-Silva I, Eduardo I, Blanca J, Esteras C, Picó B, Nuez F, Arús P, Garcia-Mas J, Monforte A (2008) Bin mapping of genomic and EST-derived SSRs in melon (*Cucumis melo* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 118:139-150
- Fideghelli C, Della Strada G, Grassi F, Morico G (1998) The peach industry in the world: Present situation and trend. Fourth International Peach Symposium, Vols 1-2:29-40
- Field B, Osbourn AE (2008) Metabolic Diversification - Independent Assembly of Operon-Like Gene Clusters in Different Plants. *Science* 320:543-547
- Foolad MR, Arulsekar S, Becerra V, Bliss FA (1995) A genetic map of *Prunus* based on an interspecific cross between peach and almond. *Theoretical and Applied Genetics* 91:262-269
- García-Alonso M, de Pascual-Teresa S, Santos-Buelga C, Rivas-Gonzalo JC (2004) Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry* 84:13-18
- Garcia-Mas J, Graziano E, Aranzana MJ, Monforte A, Oliver M, Ballester J, Viruel MA, Arús P (2001) Marcadores de ADN: Concepto, tipos, protocolos. In: Nuez F, Carrillo JM (eds) *Los marcadores genéticos en la mejora vegetal*, pp 93-151
- Georgi LL, Wang Y, Reighard GL, Mao L, Wing RA, Abbott AG (2003) Comparison of peach and *Arabidopsis* genomic sequences: fragmentary conservation of gene neighborhoods. *Genome* 46:268-276
- Gur-Arie R, Cohen CJ, Eitan Y, Shelef L, Hallerman EM, Kashi Y (2000) Simple Sequence Repeats in *Escherichia coli*: Abundance, Distribution, Composition, and Polymorphism. *Genome Research* 10:62-71
- Haff LA, Smirnov IP (1997) Single-nucleotide polymorphism identification assays using a thermostable DNA polymerase and delayed extraction MALDI-TOF mass spectrometry. *Genome Research* 7:378-388
- Haldane JBS (1919) The combination of linkage values, and the calculation of distance between linked factors. *Journal of Genetics* 8:299-309

- Hartl DL, Jones EW (2009) Genetics: Analysis of Genes and Genomes, Seventh Edition. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, MA
- Herrmann MG, Durtschi JD, Bromley LK, Wittwer CT, Voelkerding KV (2007a) Instrument Comparison for Heterozygote Scanning of Single and Double Heterozygotes: A Correction and Extension of Herrmann *et al.*, Clin Chem 2006;52:494-503. Clinical Chemistry 53:150-152
- Herrmann MG, Durtschi JD, Wittwer CT, Voelkerding KV (2007b) Expanded Instrument Comparison of Amplicon DNA Melting Analysis for Mutation Scanning and Genotyping. Clinical Chemistry 53:1544-1548
- Hesse CO (1975) Peaches. Advances in fruit breeding Temperate fruits. Purdue University Press, West Lafayette, Indiana, pp 285-335
- Hoffmann-Sommergruber K (2005) The SAFE project: 'plant food allergies: field to table strategies for reducing their incidence in Europe' an EC-funded study. Allergy 60:436-442
- Howad W, Yamamoto T, Dirlewanger E, Testolin R, Cosson P, Cipriani G, Monforte AJ, Georgi L, Abbott AG, Arús P (2005) Mapping with a few plants: using selective mapping for microsatellite saturation of the *Prunus* reference map. Genetics 171:1305-1309
- Hunter RL, Markert CL (1957) Histochemical Demonstration of Enzymes Separated by Zone Electrophoresis in Starch Gels. Science 124:1294-1295
- Hurtado M, Romero C, Vilanova S, Abbott A, Llácer G, Badenes ML (2002) Genetic linkage maps of two apricot cultivars (*Prunus armeniaca* L.), and mapping of PPV (sharka) resistance. Theoretical and Applied Genetics 105:182-191
- Iglesias I, Carbó J (2009) Préssec pla i nectarina plana. Les varietats de més interès. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Barcelona
- Illa E, Lambert P, Quilot B, Audergon JM, Dirlewanger E, Howad W, Dondini L, Tartarini S, Lain O, Testolin R, Bassi D, Arús P (2009) Linkage map saturation, construction, and comparison in four populations of *Prunus*. Journal of Horticultural Science & Biotechnology ISAFRUIT Special Issue:168-175
- Isidore E, van Os H, Andrzejewski S, Bakker J, Barrena I, Bryan GJ, Caromel B, van Eck H, Ghareeb B, de Jong W, van Koert P, Lefebvre V, Milbourne D, Ritter E, van der Voort JR, Rousselle-Bourgeois F, van Vliet J, Waugh R (2003) Toward a Marker-Dense Meiotic Map of the Potato Genome: Lessons From Linkage Group I. Genetics 165:2107-2116

- Jansen RC (1993) Interval Mapping of Multiple Quantitative Trait Loci. *Genetics* 135:205-211
- Jansen RC, Stam P (1994) High Resolution of Quantitative Traits Into Multiple Loci via Interval Mapping. *Genetics* 136:1447-1455
- Jáuregui B, de Vicente MC, Messeguer R, Felipe A, Bonnet A, Salesses G, Arús P (2001) A reciprocal translocation between 'Garfi' almond and 'Nemared' peach. *Theoretical and Applied Genetics* 102:1169-1176
- Jelenkovic G, Harrington E (1972) Morphology of the pachytene chromosomes in *Prunus persica*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 14:317-324
- Jiang C, Zeng ZB (1995) Multiple Trait Analysis of Genetic Mapping for Quantitative Trait Loci. *Genetics* 140:1111-1127
- Jin L, Macaubas C, Hallmayer J, Kimura A, Mignot E (1996) Mutation rate varies among alleles at a microsatellite locus: Phylogenetic evidence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93:15285-15288
- Jones CJ, Edwards KJ, Castaglione S, Winfield MO, Sala F, van de Wiel C, Bredemeijer G, Vosman B, Matthes M, Daly A, Brettschneider R, Bettini P, Buiatti M, Maestri E, Malcevski A, Marmioli N, Aert R, Volckaert G, Rueda J, Linacero R, Vazquez A, Karp A (1997) Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. *Molecular Breeding* 3:381-390
- Joobeur T, Periam N, de Vicente MC, King GJ, Arús P (2000) Development of a second generation linkage map for almond using RAPD and SSR markers. *Genome* 43:649-655
- Joobeur T, Viruel MA, de Vicente MC, Jáuregui B, Ballester J, Dettori MT, Verde I, Truco MJ, Messeguer R, Batlle I, Quarta R, Dirlwanger E, Arús P (1998) Construction of a saturated linkage map for *Prunus* using an almond × peach F<sub>2</sub> progeny. *Theoretical and Applied Genetics* 97:1034-1041
- Jung S, Main D, Staton M, Cho I, Zhebentyayeva T, Arús P, Abbott A (2006) Synteny conservation between the *Prunus* genome and both the present and ancestral Arabidopsis genomes. *BMC Genomics* 7:81
- Jung S, Staton M, Lee T, Blenda A, Svancara R, Abbott A, Main D (2007) GDR (Genome Database for Rosaceae): integrated web-database for *Rosaceae* genomics and genetics data. *Nucleic Acids Research*
- Kader AA, Kasmire RE, Mitchell FG, Reid MZ, Sommer NF, Thompson JF (1985) Postharvest technology of horticultural crops. Special Publication 3311.

Cooperative Extension. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources

- Kaló P, Seres A, Taylor S, Jakab J, Kevei Z, Kereszt A, Endre G, Ellis T, Kiss G (2004) Comparative mapping between *Medicago sativa* and *Pisum sativum*. *Molecular Genetics and Genomics* 272:235-246
- Karamloo F, Scheurer S, Wangorsch A, May S, Haustein D, Vieths S (2001) Pyr c 1, the major allergen from pear (*Pyrus communis*), is a new member of the Bet v 1 allergen family. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 756:281-293
- Kaur C, Kapoor HC (2001) Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. *International Journal of Food Science & Technology* 36:703-725
- Kays SJ, Yan W (2000) Thermally induced flavor compounds. *HortScience* 35:1002-1012
- Kearsey MJ, Pooni HS (1996) The genetical analysis of quantitative traits. Stanley Thornes Ltd
- Kennerson M, Nicholson G, Kowalski B, Krajewski K, El-Khechen D, Feely S, Chu S, Shy M, Garbern J (2009) X-linked distal hereditary motor neuropathy maps to the DSMAX locus on chromosome Xq13.1-q21. *Neurology* 72:246-252
- Kim S, Edwards JR, Deng LY, Chung W, Ju JY (2002) Solid phase capturable dideoxynucleotides for multiplex genotyping using mass spectrometry. *Nucleic Acids Research* 30
- Konieczny A, Ausubel FM (1993) A Procedure for Mapping Arabidopsis Mutations Using Codominant Ecotype-Specific Pcr-Based Markers. *Plant Journal* 4:403-410
- Kosambi DD (1944) The estimation of map distance from recombination values. *Annals of Eugenics* 12:172-175
- Kwok PY, Duan S (2003) SNP Discovery by Direct DNA Sequencing Single Nucleotide Polymorphisms. Humana Press, Totowa, NJ, pp 71-84
- Lalli D, Abbott A, Zhebentyayeva T, Badenes M, Damsteegt V, Polák J, Krška B, Salava J (2008) A genetic linkage map for an apricot (*Prunus armeniaca* L.) BC<sub>1</sub> population mapping plum pox virus resistance. *Tree Genetics & Genomes* 4:481-493
- Lalli DA, Decroocq V, Blenda AV, Schurdi-Levraud V, Garay L, Le Gall O, Damsteegt V, Reighard GL, Abbott AG (2005) Identification and mapping of resistance gene analogs (RGAs) in *Prunus*: a resistance map for *Prunus*. *Theoretical and Applied Genetics* 111:1504-1513

- Lambert P, Dicenta F, Rubio M, Audergon J (2007) QTL analysis of resistance to sharka disease in the apricot (*Prunus armeniaca* L.) 'Polonais' × 'Stark Early Orange' F<sub>1</sub> progeny. *Tree Genetics & Genomes* 3:299-309
- Lambert P, Hagen LS, Arús P, Audergon JM (2004) Genetic linkage maps of two apricot cultivars (*Prunus armeniaca* L.) compared with the almond Texas x peach Earlygold reference map for *Prunus*. *Theoretical and Applied Genetics* 108:1120-1130
- Lammerts WE (1945) The breeding of ornamental edible peaches for mild climates I. Inheritance of tree and flower characters. *American Journal of Botany* 32:53-61
- Landegren U, Nilsson M, Kwok PY (1998) Reading bits of genetic information: Methods for single-nucleotide polymorphism analysis. *Genome Research* 8:769-776
- Lander ES, Botstein D (1989) Mapping Mendelian Factors Underlying Quantitative Traits Using RFLP Linkage Maps. *Genetics* 121:185-199
- Lander ES, Green P, Abrahamson J, Barlow A, Daly MJ, Lincoln SE, Newburg L (1987) MAPMAKER: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics* 1:174-181
- Lavi U, Akkaya M, Bhagwat A, Lahav E, Cregan PB (1994) Methodology of generation and characteristics of simple sequence repeat DNA markers in avocado (*Persea americana* M.). *Euphytica* 80:171-177
- Lazzari B, Caprera A, Vecchiotti A, Merelli I, Barale F, Milanesi L, Stella A, Pozzi C (2008) Version VI of the ESTree db: an improved tool for peach transcriptome analysis. *BMC Bioinformatics* 9:S9
- Lehmensiek A, Sutherland M, McNamara R (2008) The use of high resolution melting (HRM) to map single nucleotide polymorphism markers linked to a covered smut resistance gene in barley. *Theoretical and Applied Genetics* 117:721-728
- Leister D, Ballvora A, Salamini F, Gebhardt C (1996) A PCR-based approach for isolating pathogen resistance genes from potato with potential for wide application in plants. *Nature Genetics* 14:421-429
- Lesley JW (1939) A genetic study of saucer fruit shape and other characters in the peach. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 38:222
- Lester DR, Sherman WB, Atwell BJ (1996) Endopolygalacturonase and the Melting Flesh (M) Locus in Peach. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 121:231-235
- Li WH, Sadler LA (1991) Low Nucleotide Diversity in Man. *Genetics* 129:513-523

- Li YC, Korol AB, Fahima T, Beiles A, Nevo E (2002) Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Molecular Ecology* 11:2453-2465
- Liew M, Pryor R, Palais R, Meadows C, Erali M, Lyon E, Wittwer C (2004) Genotyping of Single-Nucleotide Polymorphisms by High-Resolution Melting of Small Amplicons. *Clinical Chemistry* 50:1156-1164
- Liu BH (1998) *Statistical genomics: linkage, mapping, and QTL analysis*. CRC Press
- Lombardi-Boccia G, Lucarini M, Lanzi S, Aguzzi A, Cappelloni M (2003) Nutrients and Antioxidant Molecules in Yellow Plums (*Prunus domestica* L.) from Conventional and Organic Productions: A Comparative Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:90-94
- Lopes MS, Sefc KM, Laimer M, Da Camara Machado A (2002) Identification of microsatellite loci in apricot. *Molecular Ecology Notes* 2:24-26
- Lu ZX, Sosinski B, Reighard GL, Baird WV, Abbott AG (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
- Lukens L, Zou F, Lydiate D, Parkin I, Osborn T (2003) Comparison of a *Brassica oleracea* Genetic Map With the Genome of *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 164:359-372
- Maliepaard C, Alston FH, van Arkel G, Brown LM, Chevreau E, Dunemann F, Evans KM, Gardiner S, Guilford P, van Heusden AW, Janse J, Laurens F, Lynn JR, Manganaris AG, den Nijs APM, Periam N, Rikkerink E, Roche P, Ryder C, Sansavini S, Schmidt H, Tartarini S, Verhaegh JJ, Vrieling-van Ginkel M, King GJ (1998) Aligning male and female linkage maps of apple (*Malus pumila* Mill.) using multi-allelic markers. *Theoretical and Applied Genetics* 97:60-73
- McCough SR, Doerge RW (1995) QTL mapping in rice. *Trends in Genetics* 11:482-487
- Metzgar D, Bytof J, Wills C (2000) Selection Against Frameshift Mutations Limits Microsatellite Expansion in Coding DNA. *Genome Research* 10:72-80
- Michaels SD, Amasino RM (1998) A robust method for detecting single-nucleotide changes as polymorphic markers by PCR. *Plant Journal* 14:381-385
- Michelmore RW, Paran I, Kesseli RV (1991) Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 88:9828-9832

- Middleton E (1996) Biological Properties of Plant Flavonoids: An Overview. *Pharmaceutical Biology* 34:344 - 348
- Mnejja M, Garcia-Mas J, Audergon J-M, Arús P (2010) *Prunus* microsatellite marker transferability across rosaceous crops. *Tree Genetics & Genomes*
- Mnejja M, Garcia-Mas J, Howad W, Arús P (2005) Development and transportability across *Prunus* species of 42 polymorphic almond microsatellites. *Molecular Ecology Notes* 5:531-535
- Mnejja M, Garcia-Mas J, Howad W, Badenes ML, Arús P (2004) Simple-sequence repeat (SSR) markers of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) are highly polymorphic and transferable to peach and almond. *Molecular Ecology Notes* 4:163-166
- Mohan M, Nair S, Bhagwat A, Krishna TG, Yano M, Bhatia CR, Sasaki T (1997) Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Molecular Breeding* 3:87-103
- Monet R (1979) Genetic transmission of the 'non-acid' character. Incidence on selection for quality. EUCARPIA symposium tree fruit breeding. INRA Angers, pp 273-276
- Monet R, Bassi D (2008) Classical genetics and breeding. In: Layne DR, Bassi D (eds) *The peach: botany, production and uses*. CABI, Cambridge, USA, pp 61-84
- Monet R, Guye A, Roy M, Dachary N (1996) Peach mendelian genetics: a short review and new results. *Agronomie* 16:321-329
- Morgante M, Hanafey M, Powell W (2002) Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. *Nature Genetics* 30:194-200
- Morgante M, Olivieri AM (1993) PCR-Amplified Microsatellites as Markers in Plant Genetics. *Plant Journal* 3:175-182
- Ogundiwin E, Peace C, Gradziel T, Dandekar AM, Bliss F, Crisosto C (2007) Molecular genetic dissection of chilling injury in peach fruit. *Acta Horticulturae* 738:633-638
- Ogundiwin E, Peace C, Gradziel T, Parfitt D, Bliss F, Crisosto C (2009) A fruit quality gene map of *Prunus*. *BMC Genomics* 10:587
- Ogundiwin E, Peace C, Nicolet C, Rashbrook V, Gradziel T, Bliss F, Parfitt D, Crisosto C (2008) Leucoanthocyanidin dioxygenase gene (PpLDOX): a potential functional marker for cold storage browning in peach. *Tree Genetics & Genomes*
- Okie WR, Ramming DW, Scorza R (1985) Peach, nectarine, and other stone fruit breeding by the USDA in the last two decades. *HortScience* 20:633-641
- Olmstead J, Sebolt A, Cabrera A, Sooriyapathirana S, Hammar S, Iriarte G, Wang D, Chen C, van der Knaap E, Iezzoni A (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
- Panaud O, Chen XL, McCouch SR (1995) Frequency of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L). *Genome* 38:1170-1176
- Pangborn RM (1963) Relative Taste Intensities of Selected Sugars and Organic Acids. *Journal of Food Science* 28:726-&
- Parkin IAP, Gulden SM, Sharpe AG, Lukens L, Trick M, Osborn TC, Lydiate DJ (2005) Segmental structure of the *Brassica napus* genome based on comparative analysis with *Arabidopsis thaliana*. *Genetics:genetics*.105.042093
- Pascal T, Kervella J, Pfeiffer F, Sauge MH, Esmenjaud D (1998) Evaluation of the interspecific progeny *Prunus persica* cv. Summergrand x *Prunus davidiana* for disease resistance and some agronomic features. *Acta Horticulturae* 465:185-192
- Pastorello EA, D'Ambrosio FP, Pravettoni V, Farioli L, Giuffrida MG, Monza M, Ansaloni R, Fortunato D, Scibola E, Rivolta F, Incorvaia C, Bengtsson A, Conti A, Ortolani C (2000) Evidence for a lipid transfer protein as the major allergen of apricot. *The Journal of allergy and clinical immunology* 105:371-377
- Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Giuffrida MG, Ortolani C, Fortunato D, Trambaioli C, Scibola E, Calamari AM, Robino AM, Conti A (2001) Characterization of the major allergen of plum as a lipid transfer protein. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 756:95-103
- Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, Ortolani C, Ispano M, Monza M, Baroglio C, Scibola E, Ansaloni R, Incorvaia C, Conti A (1999) The major allergen of peach (*Prunus persica*) is a lipid transfer protein. *The Journal of allergy and clinical immunology* 103:520-526
- Paterson AH (1996a) Making genetic maps. In: Paterson AH (ed) *Genome Mapping in Plants*. R. G. Landes Company, San Diego, California; Academic Press, Austin, Texas, pp 23-39
- Paterson AH (1996b) Mapping genes responsible for differences in phenotype. In: Paterson AH (ed) *Genome Mapping in Plants*. R. G. Landes Company, San Diego, California; Academic Press; Austin, Texas., pp 41-54
- Paterson AH, Bowers JE, Chapman BA, Peterson DG, Rong J, Wicker TM (2004) Comparative genome analysis of monocots and dicots, toward characterization of angiosperm diversity. *Current Opinion in Biotechnology* 15:120-125

- Paterson AH, Lander ES, Hewitt JD, Peterson S, Lincoln SE, Tanksley SD (1988) Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. *Nature* 335:721-726
- Peace C, Norelli J (2008) Genomics Approaches to Crop Improvement in the *Rosaceae*. In: Layne DR, Bassi D (eds) *Genetics and Genomics of Rosaceae*. CABI, Cambridge, USA, pp 19-53
- Peace CP, Crisosto CH, Gradziel TM (2005) Endopolygalacturonase: a Candidate Gene for Freestone and Melting Fleshin Peach. *Molecular Breeding* 16:21-31
- Plioger S, Lefebvre V, Causse M (2001) The candidate gene approach in plant genetics: a review. *Molecular Breeding* 7:275 - 291
- Potter D, Eriksson T, Evans RC, Oh S, Smedmark JEE, Morgan DR, Kerr M, Robertson KR, Arsenault M, Dickinson TA, Campbell CS (2007) Phylogeny and classification of *Rosaceae*. *Plant Systematics and Evolution* 266:5-43
- Potter D, Gao F, Bortiri PE, Oh SH, Baggett S (2002) Phylogenetic relationships in *Rosaceae* inferred from chloroplast matK and trnL-trnF nucleotide sequence data. *Plant Systematics and Evolution* 231:77-89
- Quilot B, Wu BH, Kervella J, Genard M, Foulongne M, Moreau K (2004) QTL analysis of quality traits in an advanced backcross between *Prunus persica* cultivars and the wild relative species *P. davidiana*. *Theoretical and Applied Genetics* 109:884-897
- Rafalski JA (2002) Novel genetic mapping tools in plants: SNPs and LD-based approaches. *Plant Science* 162:329-333
- Rajapakse S, Belthoff LE, He G, Estager AE, Scorza R, Verde I, Ballard RE, Baird WV, Callahan A, Monet R, Abbott AG (1995) Genetic-Linkage Mapping in Peach Using Morphological, RFLP and RAPD Markers. *Theoretical and Applied Genetics* 90:503-510
- Rajapakse S, Byrne DH, Zhang L, Anderson N, Arumuganathan K, Ballard RE (2001) Two genetic linkage maps of tetraploid roses. *Theoretical and Applied Genetics* 103:575-583
- Remay A, Lalanne D, Thouroude T, Le Couviour F, Hibrand-Saint Oyant L, Foucher F (2009) A survey of flowering genes reveals the role of gibberellins in floral control in rose. *Theoretical and Applied Genetics* 119:767-781
- Rhee SY, Beavis W, Berardini TZ, Chen G, Dixon D, Doyle A, Garcia-Hernandez M, Huala E, Lander G, Montoya M, Miller N, Mueller LA, Mundodi S, Reiser L, Tacklind J, Weems DC, Wu Y, Xu I, Yoo D, Yoon J, Zhang P (2003) The Arabidopsis Information Resource (TAIR): a model organism database providing

- a centralized, curated gateway to Arabidopsis biology, research materials and community. *Nucleic Acids Research* 31:224-228
- Roder MS, Plaschke J, König SU, Börner A, Sorrells ME, Tanksley SD, Ganai MW (1995) Abundance, Variability and Chromosomal Location of Microsatellites in Wheat. *Molecular & General Genetics* 246:327-333
- Rodríguez AJ, Sherman WB, Scorza R, Wisniewski M, Okie WR (1994) 'Evergreen' peach, its inheritance and dormant behavior. *American Society for Horticultural Science* 119:789-792
- Ronaghi M, Karamohamed S, Pettersson B, Uhlén M, Nyström P (1996) Real-Time DNA Sequencing Using Detection of Pyrophosphate Release. *Analytical Biochemistry* 242:84-89
- Ross P, Hall L, Smirnov I, Haff L (1998) High level multiplex genotyping by MALDI-TOF mass spectrometry. *Nature Biotechnology* 16:1347-1351
- Rozen S, Skaletsky H (2000) Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. *Methods in Molecular Biology* 132:365-386
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) *Molecular Cloning - A Laboratory Manual*, 2nd Edition, 2nd Edition edn. Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York
- Sánchez-Pérez R, Howad W, Dicenta F, Arús P, Martínez-Gómez P (2007) Mapping major genes and quantitative trait loci controlling agronomic traits in almond. *Plant Breeding* 126:310-318
- SantaLucia J, Hicks D (2004) The thermodynamics of DNA structural motifs. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure* 33:415-440
- Sargent D, Marchese A, Simpson D, Howad W, Fernández-Fernández F, Monfort A, Arús P, Evans K, Tobutt K (2009) Development of "universal" gene-specific markers from *Malus* spp. cDNA sequences, their mapping and use in synteny studies within Rosaceae. *Tree Genetics & Genomes* 5:133-145
- Sargent DJ, Cipriani G, Vilanova S, Gil-Ariza D, Arús P, Simpson DW, Tobutt KR, Monfort A (2008) The development of a bin mapping population and the selective mapping of 103 markers in the diploid *Fragaria* reference map. *Genome* 51:120-127
- Sargent DJ, Clarke J, Simpson DW, Tobutt KR, Arús P, Monfort A, Vilanova S, Denoyes-Rothan B, Rousseau M, Folta KM, Bassil NV, Battey NH (2006) An enhanced microsatellite map of diploid *Fragaria*. *Theoretical and Applied Genetics* 112:1349-1359

- Sauer S, Gelfand DH, Boussicault F, Bauer K, Reichert F, Gut IG (2002) Facile method for automated genotyping of single nucleotide polymorphisms by mass spectrometry. *Nucleic Acids Research* 30
- Sax K (1923) The association of size differences with seed coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. *Genetics* 8:552-560
- Sax K (1933) The origin of the Pomoideae. *Proceedings of the American Society of Horticultural Science* 30:147-150
- Scheurer S, Lauer I, Foetisch K, Mozncin MSM, Retzek M, Hartz C, Enrique E, Lidholm J, Cistero-Bahima A, Vieths S (2004) Strong allergenicity of Pru av 3, the lipid transfer protein from cherry, is related to high stability against thermal processing and digestion. *The Journal of allergy and clinical immunology* 114:900-907
- Scheurer S, Metzner K, Hausteiner D, Vieths S (1997) Molecular cloning, expression and characterization of Pru a 1, the major cherry allergen. *Molecular Immunology* 34:619-629
- Schlotterer C, Tautz D (1992) Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acids Research* 20:211-215
- Schmidt R (2002) Plant genome evolution: lessons from comparative genomics at the DNA level. *Plant Molecular Biology* 48:21-37
- Scorza R, Mehlenbacher SA, Lightner GW (1985) Inbreeding and Coancestry of Freestone Peach Cultivars of the Eastern-United-States and Implications for Peach Germplasm Improvement. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 110:547-552
- Scorza R, Okie WR (1990) Peaches (*Prunus*). *Acta Horticulturae*:175-231
- Scorza R, Sherman WB (1996) Peaches. In: Janick J, Moore JN (eds) *Fruit Breeding, Vol I, Tree and Tropical Fruits*. Wiley & Sons, Inc, New York, pp 325–440
- Scott DH, Weinberger JH (1944) Inheritance of pollen sterility in some peach varieties. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 45:229-232
- Seymour GB, Manning K, Eriksson EM, Popovich AH, King GJ (2002) Genetic identification and genomic organization of factors affecting fruit texture. *Journal of Experimental Botany* 53:2065-2071
- Sharpe RH, Hesse CO, Lownsberry BF, Perry VG, Hansen CJ (1970) Breeding peaches for root knot nematode resistance. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 94:209-212

- Shulaev V, Korban SS, Sosinski B, Abbott AG, Aldwinckle HS, Folta KM, Iezzoni A, Main D, Arús P, Dandekar AM, Lewers K, Brown SK, Davis TM, Gardiner SE, Potter D, Veilleux RE (2008) Multiple Models for *Rosaceae* Genomics. *Plant Physiology* 147:985-1003
- Skroch P, Nienhuis J (1995) Impact of scoring error and reproducibility RAPD data on RAPD based estimates of genetic distance. *Theoretical and Applied Genetics* 91:1086-1091
- Smulders MJM, Bredemeijer G, Rus-Kortekaas W, Arens P, Vosman B (1997) Use of short microsatellites from database sequences to generate polymorphisms among *Lycopersicon esculentum* cultivars and accessions of other *Lycopersicon* species. *Theoretical and Applied Genetics* 94:264-272
- Snowdon AL (1990) *Color Atlas of Post-harvest Diseases and Disorders of Fruits and Vegetables: General Introduction and Fruits*. Mosby, St Louis / US
- Sokolov BP (1990) Primer Extension Technique for the Detection of Single Nucleotide in Genomic DNA. *Nucleic Acids Research* 18:3671-3671
- Sooriyapathirana S, Khan A, Sebolt A, Wang D, Bushakra J, Lin-Wang K, Allan A, Gardiner S, Chagné D, Iezzoni A (2010) QTL analysis and candidate gene mapping for skin and flesh color in sweet cherry fruit (*Prunus avium* L.). *Tree Genetics & Genomes*
- Sosinski B, Gannavarapu M, Hager LD, Beck LE, King GJ, Ryder CD, Rajapakse S, Baird WV, Ballard RE, Abbott AG (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 RE, Abbott AG, Lu ZX, Baird WV, Reighard G, Tabb A, Scorza R (1998) Use of AFLP and RFLP markers to create a combined linkage map in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] for use in marker assisted selection. *Fourth International Peach Symposium, Vols 1-2:61-68*
- Staub JE, Serquen FC, Gupta M (1996) Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *Hortscience* 31:729-741
- Stavric B (1994) Quercetin in Our Diet - from Potent Mutagen to Probable Anticarcinogen. *Clinical Biochemistry* 27:245-248
- Steele KA, Edwards G, Zhu J, Witcombe JR (2004) Marker-evaluated selection in rice: shifts in allele frequency among bulks selected in contrasting agricultural

- environments identify genomic regions of importance to rice adaptation and breeding *Theoretical and Applied Genetics* 109
- Steinmetz KA, Potter JD (1996) Vegetables, Fruit, and Cancer Prevention: A Review. *Journal of the American Dietetic Association* 96:1027-1039
- Stephens AJ, Inman-Bamber J, Giffard PM, Huygens F (2008) High-Resolution Melting Analysis of the spa Repeat Region of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Chemistry* 54:432-436
- Sterky F, Bhalerao RR, Unneberg P, Segerman B, Nilsson P, Brunner AM, Charbonnel-Campaa L, Lindvall JJ, Tandre K, Strauss SH, Sundberg B, Gustafsson P, Uhlén M, Bhalerao RP, Nilsson O, Sandberg G, Karlsson J, Lundeberg J, Jansson S (2004) A *Populus* EST resource for plant functional genomics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:13951-13956
- Stevens R, Buret M, Duffe P, Garchery C, Baldet P, Rothan C, Causse M (2007) Candidate Genes and Quantitative Trait Loci Affecting Fruit Ascorbic Acid Content in Three Tomato Populations. *Plant Physiology* 143:1943-1953
- Stockinger EJ, Mulinix CA, Long CM, Brettin TS, Iezzoni AF (1996) A Linkage Map of Sweet Cherry Based on RAPD Analysis of a Microspore-Derived Callus Culture Population. *Journal of Heredity* 87:214-218
- Tanksley SD (1993) Mapping polygenes. *Annual Review of Genetics* 27:205-233
- Tanksley SD, Ganai MW, Martin GB (1995) Chromosome landing: a paradigm for map-based gene cloning in plants with large genomes. *Trends in Genetics* 11:63-68
- Tanksley SD, McCouch SR (1997) Seed Banks and Molecular Maps: Unlocking Genetic Potential from the Wild. *Science* 277:1063-1066
- Tanksley SD, Young ND, Paterson AH, Bonierbale MW (1989) RFLP Mapping in Plant Breeding: New Tools for an Old Science. *Nature Biotechnology* 7:257-264
- Tawde P, Venkatesh YP, Wang F, Teuber SS, Sathe SK, Roux KH (2006) Cloning and characterization of profilin (Pru du 4), a cross-reactive almond (*Prunus dulcis*) allergen. *The Journal of allergy and clinical immunology* 118:915-922
- Testolin R, Marrazzo T, Cipriani G, Quarta R, Verde I, Dettori MT, 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* 43:512-520
- Testolin R, Messina R, Lain O, Marrazzo MT, Huang W-G, Cipriani G (2004) Microsatellites isolated in almond from an AC-repeat enriched library. *Molecular Ecology Notes* 4:459-461

- Tomás-Barberán FA, Espín JC (2001) Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81:853-876
- Tóth G, Gáspári Z, Jurka J (2000) Microsatellites in Different Eukaryotic Genomes: Survey and Analysis. *Genome Research* 10:967-981
- Tuskan GA, DiFazio S, Jansson S, Bohlmann J, Grigoriev I, Hellsten U, Putnam N, Ralph S, Rombauts S, Salamov A, Schein J, Sterck L, Aerts A, Bhalerao RR, Bhalerao RP, Blaudez D, Boerjan W, Brun A, Brunner A, Busov V, Campbell M, Carlson J, Chalot M, Chapman J, Chen G-L, Cooper D, Coutinho PM, Couturier J, Covert S, Cronk Q, Cunningham R, Davis J, Degroev S, Dejardin A, dePamphilis C, Detter J, Dirks B, Dubchak I, Duplessis S, Ehlting J, Ellis B, Gendler K, Goodstein D, Gribskov M, Grimwood J, Groover A, Gunter L, Hamberger B, Heinze B, Helariutta Y, Henrissat B, Holligan D, Holt R, Huang W, Islam-Faridi N, Jones S, Jones-Rhoades M, Jorgensen R, Joshi C, Kangasjarvi J, Karlsson J, Kelleher C, Kirkpatrick R, Kirst M, Kohler A, Kalluri U, Larimer F, Leebens-Mack J, Leple J-C, Locascio P, Lou Y, Lucas S, Martin F, Montanini B, Napoli C, Nelson DR, Nelson C, Nieminen K, Nilsson O, Pereda V, Peter G, Philippe R, Pilate G, Poliakov A, Razumovskaya J, Richardson P, Rinaldi C, Ritland K, Rouze P, Ryaboy D, Schmutz J, Schrader J, Segerman B, Shin H, Siddiqui A, Sterky F, Terry A, Tsai C-J, Uberbacher E, Unneberg P, Vahala J, Wall K, Wessler S, Yang G, Yin T, Douglas C, Marra M, Sandberg G, Van de Peer Y, Rokhsar D (2006) The Genome of Black Cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray). *Science* 313:1596-1604
- Ushijima K, Sassa H, Dandekar AM, Gradziel TM, Tao R, Hirano H (2003) Structural and Transcriptional Analysis of the Self-Incompatibility Locus of Almond: Identification of a Pollen-Expressed F-Box Gene with Haplotype-Specific Polymorphism. *Plant Cell* 15:771-781
- van Duyn MAS, Pivonka E (2000) Overview of the Health Benefits of Fruit and Vegetable Consumption for the Dietetics Professional: Selected Literature. *Journal of the American Dietetic Association* 100:1511-1521
- van Dyk MM, Baisson J, Hove P, Marondedze C, Klein A, Soeker K, G. RJ (2007) Bin Mapping of EST-SSRs in Apple (*Malus x domestica* Borkh.). EUCARPIA - XII Fruit Section Symposium, Zaragoza
- Varshney R, Beier U, Khlestkina E, Kota R, Korzun V, Graner A, Börner A (2007) Single nucleotide polymorphisms in rye (*Secale cereale* L.): discovery, frequency, and

- applications for genome mapping and diversity studies. *Theoretical and Applied Genetics* 114:1105-1116
- Velasco R, Zharkikh A, Affourtit J, Dhingra A, Cestaro A, Kalyanaraman A, Fontana P, Bhatnagar SK, Troggio M, Pruss D et al. (2010) The genome of the domesticated apple (*Malus x domestica*). *Nature Genetics*:in press
- Verde I, Lauria M, Dettori MT, Vendramin E, Balconi C, Micali S, Wang Y, Marrazzo MT, Cipriani G, Hartings H, Testolin R, Abbott AG, Motto M, Quarta R (2005) Microsatellite and AFLP markers in the *Prunus persica* [L. (Batsch)] x *P. ferganensis* BC<sub>1</sub> linkage map: saturation and coverage improvement. *Theoretical and Applied Genetics* 111:1013-1021
- Verde I, Quarta R, Cedrola C, Dettori MT (2002) QTL analysis of agronomic traits in a BC<sub>1</sub> peach population. *Acta Horticulturae* 592
- Vilanova S, Romero C, Abbott AG, Llacer G, Badenes ML (2003) An apricot (*Prunus armeniaca* L.) F<sub>2</sub> progeny linkage map based on SSR and AFLP markers, mapping plum pox virus resistance and self-incompatibility traits. *Theoretical and Applied Genetics* 107:239-247
- Vilanova S, Sargent D, Arús P, Monfort A (2008) Synteny conservation between two distantly-related Rosaceae genomes: *Prunus* (the stone fruits) and *Fragaria* (the strawberry). *BMC Plant Biology* 8:67
- Viruel MA, Madur D, Dirlewanger E, Pascal T, Kervella J (1998) Mapping quantitative trait loci controlling peach leaf curl resistance. *Acta Horticulturae* 465:79-88
- Viruel MA, Messeguer R, Vicente MC, Garcia-Mas J, Puigdomènech P, Vargas F, Arús P (1995) A linkage map with RFLP and isozyme markers for almond. *Theoretical and Applied Genetics* 91:964-971
- Vision TJ, Brown DG, Shmoys DB, Durrett RT, Tanksley SD (2000) Selective mapping: a strategy for optimizing the construction of high-density linkage maps. *Genetics* 155:407-420
- Voorrips RE (2002) MapChart: Software for the Graphical Presentation of Linkage Maps and QTLs. *Journal of Heredity* 93:77-78
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Lee Tvd, Hornes M, Friters A, Pot J, Paleman J, Kuiper M, Zabeau M (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23:4407-4414
- Wang D, Karle R, Iezzoni AF (2000) QTL analysis of flower and fruit traits in sour cherry. *Theoretical and Applied Genetics* 100:535-544



- Wang Z, Weber JL, Zhong G, Tanksley SD (1994) Survey of plant short tandem DNA repeats. *Theoretical and Applied Genetics* 88:1-6
- Wang ZH, Zhuang EJ (2001) *China Fruit Monograph - Peach Flora*. China Forestry Press, Beijing
- Wargovich MJ (2000) Anticancer properties of fruits and vegetables. *Hortscience* 35:573-575
- Weinberger JH, Marth PC, Scott DH (1943) Inheritance study of root knot nematode resistance in certain peach varieties. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 42:321-325
- Werner DJ, Crellier MA (1997) Genetic studies in peach: inheritance of sweet kernel and male sterility. *American Society for Horticultural Science* 122:215-217
- White HE, Hall VJ, Cross NCP (2007) Methylation-Sensitive High-Resolution Melting-Curve Analysis of the SNRPN Gene as a Diagnostic Screen for Prader-Willi and Angelman Syndromes. *Clinical Chemistry* 53:1960-1962
- Wittwer CT, Herrmann MG, Moss AA, Rasmussen RP (1997) Continuous fluorescence monitoring of rapid cycle DNA amplification. *Biotechniques* 22:130-131, 134-138
- Wu F, Eannetta N, Xu Y, Durrett R, Mazourek M, Jahn M, Tanksley S (2009a) A COSII genetic map of the pepper genome provides a detailed picture of synteny with tomato and new insights into recent chromosome evolution in the genus *Capsicum*. *Theoretical and Applied Genetics* 118:1279-1293
- Wu F, Tanksley S (2010) Chromosomal evolution in the plant family *Solanaceae*. *BMC Genomics* 11:182
- Wu S-B, Tavassolian I, Rabiei G, Hunt P, Wirthensohn M, Gibson J, Ford C, Sedgley M (2009b) Mapping SNP-anchored genes using high-resolution melting analysis in almond. *Molecular Genetics and Genomics* 282:273-281
- Wu S-B, Wirthensohn M, Hunt P, Gibson J, Sedgley M (2008) High resolution melting analysis of almond SNPs derived from ESTs. *Theor Appl Genet* 118:1-14
- Wyman AR, White R (1980) A Highly Polymorphic Locus in Human DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences* 77:6754-6758
- Yamamoto T, Mochida K, Imai T, Shi YZ, Ogiwara I, Hayashi T (2002) Microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] derived from an enriched genomic and cDNA libraries. *Molecular Ecology Notes* 2:298-301

- Yamamoto T, Shimada T, Imai T, Yaegaki H, Haji T, Matsuta N, Yamaguchi M, Hayashi T (2001) Characterization of Morphological Traits Based on a Genetic Linkage Map in Peach. *Breeding Science* 51:271-278
- Yamamoto T, Yamaguchi M, Hayashi T (2005) An integrated genetic linkage map of peach by SSR, STS, AFLP and RAPD. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 74:204-213
- Yao LH, Jiang YM, Shi J, TomásS-Barberán FA, Datta N, Singanusong R, Chen SS (2004) Flavonoids in Food and Their Health Benefits. *Plant Foods for Human Nutrition (Formerly Qualitas Plantarum)* 59:113-122
- Yoon J, Liu D, Song W, Liu W, Zhang A, Li S (2006) Genetic Diversity and Ecogeographical Phylogenetic Relationships among Peach and Nectarine Cultivars Based on Simple Sequence Repeat (SSR) Markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 131:513-521
- Young ND (1994) Constructing a plant genetic linkage map with DNA markers. In: Ronald IKV, Phillips L (eds) *DNA-based markers in plants*. Kluwer, Dordrecht/Boston/London., pp 39-57
- Young WP, Schupp JM, Keim P (1999) DNA methylation and AFLP marker distribution in the soybean genome. *Theoretical and Applied Genetics* 99:785-792
- Zane L, Bargelloni L, Patarnello T (2002) Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology* 11:1-16
- Zeng Z (1993) Theoretical Basis for Separation of Multiple Linked Gene Effects in Mapping Quantitative Trait Loci. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90:10972-10976
- Zeng ZB (1994) Precision Mapping of Quantitative Trait Loci. *Genetics* 136:1457-1468
- Zhou L, Wang L, Palais R, Pryor R, Wittwer CT (2005) High-Resolution DNA Melting Analysis for Simultaneous Mutation Scanning and Genotyping in Solution. *Clinical Chemistry* 51:1770-1777
- Zou W, Zeng Z-B (2008) Statistical Methods for Mapping Multiple QTL. *International Journal of Plant Genomics* 2008:286561



# **INFORME DELS DIRECTORS**



## FACTOR D'IMPACTE DE LES PUBLICACIONS

Títol de la tesi: Mapatge de gens candidats implicats en la qualitat del fruit al presseguer.

Autor: Eudald Illa i Berenguer

Directors: Dr. Pere Arús Gorina i Dr. Werner Howad

La memòria de tesi doctoral presentada per Eudald Illa i Berenguer titulada 'Mapatge de gens candidats implicats en la qualitat del fruit al presseguer' ha estat dirigida conjuntament pel Dr. Pere Arús Gorina i el Dr. Werner Howad, ambdós del Departament de Genètica Vegetal del IRTA, Centre de Recerca en Agrigenòmica CSIC-IRTA-UAB. La tesi consta de 5 articles, 2 d'ells publicats, 1 enviat per la seva publicació, 1 com a manuscrit acabat que es presentarà tan aviat com sigui acceptat l'article sobre la descripció de la seqüència completa del genoma de la pomera (que està en fase d'acceptació) i un per enviar properament.

Tots els articles publicats han passat per la revisió d'investigadors anònims designats pels editors. A continuació es detalla l'índex d'impacte de les revistes i la seva posició en l'àrea de coneixement segons les dades del ISI Web of Knowledge de l'any 2009.

### Publicació 1

'Linkage map saturation, construction, and comparison in four populations of *Prunus*'.  
Journal of Horticultural Science & Biotechnology 2009: ISAFRUIT Special Issue 168–175.

Índex d'impacte: 0,839

Posició en àrea de coneixement: 12/30 (Horticultura)

### Publicació 2

'Saturating the *Prunus* (stone fruits) genome with candidate genes for fruit quality'.

Enviat a Molecular Breeding

Índex d'impacte: 2,272

Posició en àrea de coneixement: 3/30 (Horticultura)

### Publicació 3

'Genomic characterization of putative allergen genes in peach/almond and their synteny with apple'.

BMC Genomics 2008, 9: 543

Índex d'impacte: 3,759

Posició en àrea de coneixement: 43/144 (Genètica)

### Publicació 4

'QTL and candidate gene analysis of agronomical and biochemical characters related with fruit quality in two populations of peach' (presentat aquí parcialment amb els resultats d'una de les dues poblacions).

Per enviar a Tree Genetics and Genomes

Índex d'impacte: 2,018

Posició en àrea de coneixement: 4/46 (Silvicultura)

### Publicació 5

'Comparative analysis of rosaceous genomes and the reconstruction of a putative ancestral genome for the family'.

Per enviar a Genome Biology.

Índex d'impacte: 6,626

Posició en àrea de coneixement: 17/144 (Genètica)

Signat:

Dr. Pere Arús

Dr. Werner Howad

Cabrils, 15 de Juliol de 2010

## **CONTRIBUCIÓ DEL CANDIDAT EN PUBLICACIONS AMB MÉS SIGNANTS**

Títol de la tesi: Mapatge de gens candidats implicats en la qualitat del fruit al presseguer.

Autor: Eudald Illa i Berenguer

Directors: Dr. Pere Arús Gorina i Dr. Werner Howad

### Publicació 1

Illa E., Lambert P., Quilot B., Audergon J. M., Dirlewanger E., Howad W., Dondini L., Tartarini S., Lains O., Testolin R., Bassi D. and Arús P. (2009) Linkage map saturation, construction, and comparison in four populations of *Prunus*. Journal of Horticultural Science & Biotechnology ISAFRUIT Special Issue 168–175.

El candidat va intervenir en la saturació i construcció del mapa de la població BC2, en la comparativa de mapes i en l'escriptura de l'article.

### Publicació 2

Illa E., Eduardo I., Audergon J. M., Barale F., Dirlewanger E., Gao Z., Moing A., Lambert P., Le Dantec L., Li X., Poëssel J. L., Pozzi C., Rossini L., Vecchietti A., Arús P. and Howad W. Saturating the *Prunus* (stone fruits) genome with candidate genes for fruit quality (Submitted to Molecular Breeding).

El candidat va col·laborar en la detecció de polimorfisme i posterior mapatge selectiu dels gens candidats en el mapa de la població F<sub>2</sub> del creuament entre ametller (cv. Texas) x presseguer (cv. Earlygold) (T×E) i també en l'elaboració del manuscrit.

### Publicació 3

Chen, L., Zhang, S., Illa E., Song L., Wu S., Howad W., Arús P., Weg E., Chen K., Gao Z. (2008). Genomic characterization of putative allergen genes in peach/almond and their synteny with apple. BMC Genomics 9: 543

El candidat va contribuir en la ubicació dels gens *Pru p/du 3* (LTPs) en el mapa de referència del gènere *Prunus* mitjançant mapatge selectiu o *bin mapping* i en la



comparació de les posicions d'aquests gens amb els gens homòlegs del mapa de pomera.

#### Publicació 4

El candidat va realitzar l'anàlisi de QTLs amb les dades fenotípiques obtingudes en la població BC2 durant l'any 2005 i 2006, la identificació de co-localitzacions, la detecció de polimorfisme i mapatge dels gens candidats seleccionats mitjançant *High Resolution melting* (HRM) i va col·laborar en la redacció de l'article.

#### Publicació 5

Illa E., Sargent D. J., Lopez-Girona E., Bushakra J., Cestaro A., Crowhurst R., Pindo M., Cabrera A., Van der Knapp E., Iezzoni A., Gardiner S., Velasco R., Arús P., Chagné D. and Troggio M. Comparative analysis of rosaceous genomes and the reconstruction of a putative ancestral genome for the family (To be submitted to *Genome Biology*).

El candidat va dur a terme els experiments de mapatge de nous gens comuns procedents de la pomera al mapa de presseguer, l'anàlisi de sintènia entre els gens i marcadors de seqüència coneguda al presseguer en la seqüència completa del genoma de la pomera i en la interpretació dels resultats obtinguts. A la vegada, va col·laborar en la redacció de l'article.

Signat:

Dr. Pere Arús

Dr. Werner Howad

Cabrils, 15 de Juliol de 2010

**ANNEXES**



**Annex 1:** Diferents característiques dels 273 gens candidats implicats en qualitat de fruit al presseguer: seqüències dels encebadors, posició de cadascun d'ells en mapa de bins de T×E i posició en la seqüència genoma de presseguer (versió 1.0).

Gen Candidat	Abreviatura	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Posició en el mapa de bins <sup>1</sup>	Posició en el genoma de presseguer <sup>2</sup>
<b>Aroma</b>					
Acetolactate synthetase	<i>Ahas1</i>	TGGAGCAGATTGTGAGGTTG	ACGCCAATTGAATATCAGC	5:08	scaffold_5:118014..118849
Acetolactate synthetase	<i>Ahas2</i>	AGTTTAGCTGTTGGCCATGC	CTGCAGTGCAACCATCTTGT	NA	scaffold_7:22495061..22497063
Acetyl-CoA C-acyltransferase	<i>Acaa1</i>	GCAACAGCATCAGGCAAAATCC	TTCTGCAGTTGTAGACCCATC	8:60	scaffold_8:18578765..18578646
Acetyl-CoA C-acyltransferase B, precursor	<i>Acaa2</i>	CAATGTTTCATCTGGGCTTCAGG	TATGAGAGTCGACAGCAGCTTG	1:14	scaffold_1:355570..356566
Acetyl-CoA acetyltransferase	<i>Acaa3</i>	TTTGTGCTGCGAGCATAGTC	CAATGGCTCCAGTAACAGCA	NA	scaffold_3:15396107..15398009
Acetyl-CoA: benzyl alcohol acetyltransferase	<i>Beat</i>	AAAAGCAATCCGTTCCAAAA	ATGGAATTGAAGCTTGGGTG	7:31	scaffold_7:5522047..5522366
Acetyl-CoA carboxylase	<i>Acc</i>	TGGCGAACAGCTTTACATA	ATGGCTCGACCTTGCTTAGA	NA	scaffold_1:41170334..41171054
Acetyltransferase-like protein	<i>Beat2</i>	aGTGGAACCTGAAAGCTTGG	ACACTCGGATTCAGAGAAGC	NA	scaffold_4:7921985..7922656
Acyl carrier protein	<i>Acp1</i>	GCAACGTTTCAGTACGCCTTT	CTGCACTGTTGCAATGCTCT	6:84	scaffold_6:27256945..27258575
Acyl carrier protein	<i>Acp2</i>	CGTTCCCATCTCTCAGTTC	TCCTCCTCAAGTCCCATCAC	1:26	scaffold_1:10795699..10798405
Alcohol acyl transferase	<i>Aat1</i>	CACCTTTCCACTTGCTCCTC	AAACGCATTGCCGTAGAATC	5:05	scaffold_5:1986009..1986641
Alcohol acyl transferase	<i>Aat2</i>	CGAGCCGGAACCTTATAACACCG	GAGTCTACCAGCCAAAGGGTAG	NA	scaffold_5:1981840..1985816
Alcohol dehydrogenase	<i>Adh1</i>	GAAATCATACCGAGCCTTGC	CAGATGCCTCTGTGGTGAAA	7:56	scaffold_7:18969874..18970841
Alcohol dehydrogenase	<i>Adh2</i>	GCAGCCCCTCTTAAAAAGT	TTCTCAAATCGGTTGGAAT	8:11	scaffold_8:1702294..1703764
Alcohol dehydrogenase	<i>Adh3</i>	GTTTGGAACACGGCAAAGT	GGCTCTTGAACCACCAAAG	8:60	scaffold_8:18865912..18867596
Aldehyde dehydrogenase (NAD <sup>+</sup> )	<i>Aldh</i>	GAGGCTTGGCACAAAGGGTTTC	ACCCGCAATGCACGTGCAATG	1:34	scaffold_1:25613604..25614729
Anthranilate synthase beta chain	<i>Asa</i>	AATATACGGGCGAGCTCTTCCC	CTACCCAGCAGTCCAATGAAC	NA	scaffold_10:139038..139626
Aspartate aminotransferase	<i>Ast</i>	GGCTGACCGTATCATCAGCATG	AGATCGCTCACTTCGTACTCGC	1:73	scaffold_1:37062821..370642
Aspartate aminotransferase-like	<i>Ast-like</i>	GGGGCATATCGAACAGAAGA	TAAGAGCTGCAGCAAGACGA	1:50	scaffold_1:33856242..33857281
Aspartate kinase	<i>Ak</i>	TGTTAAGGCACGCCAATATG	TTGTGCTGTTAAATCACTACCA	1:34	scaffold_1:22021186..22021722
Beta-cyanoalanine synthase	<i>Cas</i>	CCAACCTATTGGTAGAACTCCC	GAGCATTTGGTGTGGATTCCAG	2:25	scaffold_2:18360974..18362751
Beta-ketoacyl-acyl-carrier-protein synthase	<i>FabH</i>	GGGGAGGTGGATTCAAAAAT	GCCTTGAGGGAAACCTAAG	5:21	scaffold_5:8915807..8918654

Gen Candidat	Abreviatura	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Posició en el mapa de bins <sup>1</sup>	Posició en el genoma de presseguer <sup>2</sup>
Beta-ketoacyl-acyl-carrier-protein synthase II	<i>KasII</i>	GTAAGCGCCCATGAAGTCTC	CTGCGGCAGTTCAATGACTA	M	scaffold_7:18830438..18831366
Betaine aldehyde dehydrogenase	<i>Badh</i>	GCATGGGACGTGGATGATGTTG	CACACAGCAGCTAGCTCCAAC	NA	scaffold_5:15121723..15123166
Branched chain dehydrogenase complex - decarboxylase	<i>Bcdh</i>	GAGGGAGATGGCACCTACAG	GTGGAGGCCTCTGTCAGAAA	M	scaffold_6:1037501..1038451
Branched chain dehydrogenase complex - aminotransferase	<i>Bcat</i>	AATGGGAAGTGGTGCTGTTC	CTGGAATCCTTCGCTACGAG	NA	scaffold_6:20347687..20350858
Caffeoyl CoA 3-O-methyltransferase	<i>Comt</i>	TCACTGGTTACTCCCTCCTTGC	GATCAAACCCCAACCTTACC	8:30	scaffold_8:14441713..14442710
Carboxylesterase	<i>Cxe</i>	CTCGGCCAGGCTCTACATAC	ATTGAGTGCAGCCCAAGAGT	M	scaffold_1:36393055..36393406
Cinnamic acid 4-hydroxylase	<i>C4h</i>	AGTGATCCCAAGGATTGGCAGG	GTCCCACACATGAACCTCAACG	6:25	scaffold_6:2186974..2187602
Cinnamoyl CoA reductase	<i>Ccr1</i>	GCCCTTCTCCTGTAAGCTCT	AGGCTCAGCCAAGACTTATG	3:22	scaffold_3:6619649..6621583
Cinnamoyl-CoA reductase	<i>Ccr2</i>	TTTTTCCCTCAGCAACCCGGG	GAGGGCTGCACTGAAACATACG	M	scaffold_6:1617789..1619906
Cinnamoyl-CoA reductase	<i>Ccr3</i>	CTTCAACCAGACCTCCAACA	AGTCTCTGTCCATTGCTAAG	NA	scaffold_5:3729280..3732454
Cinnamyl-alcohol dehydrogenase, putative	<i>Cad</i>	TGTGCGTAACAGGAGCATCTGG	TCTGTCTGTGGGTCAGTGGATG	2:08	scaffold_2:323214..325565
2,3-dihydro-2,3-dihydroxybenzoate dehydrogenase	<i>Dhbd</i>	CTGTTCCAGCAAACCATGAA	TTTAAACTGCTCGCCAAAGC	NA	-
Dihydrolipoyltransferase subunit of the branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase	<i>Lta1</i>	CTCGTACGGGAAACCAAAAA	TCACACTCAGCAATGCCTTC	1:15	scaffold_1:10038256..10039515
Diphenol oxidase (Laccase)	<i>Lac</i>	CGGCAAACAGAGATGAAGAGCG	GCCACAACATCACAGTGGTAGG	M	scaffold_8:5071346..5071745
Enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase (NADH)	<i>FabI</i>	CAGACCCTGCATGTCCTCTT	AATCAATTGGCAACCCTGAG	6:02	scaffold_6:4108401..4110208
Enoyl-CoA hydratase/isomerase family	<i>Echi</i>	AATCCGCACTAACCCAAGTCCG	TCTCGATCAGAGCCCAAGAACC	2:34	scaffold_2:21996899..21997486
Epoxide hydrolase	<i>Eh1</i>	TTGCGCATCTACATCAGATGCC	TCAGCTCCATCACTGCTTATCG	NA	scaffold_3:12168336..12169011
Epoxide hydrolase	<i>Eh2</i>	ACATATCGCAATCCTGGTCCAC	ACTGGAACCTTCACTTGAGCCC	1:15	scaffold_1:9383763..9385590
Farnesyltransferase subunit A	<i>Fta</i>	GAGATGGACTCGGACGAAGAAC	AGCAACCCACCGTCTATGATGC	1:28	scaffold_1:16721090..16723889
Farnesyltransferase subunit B	<i>Ftb</i>	TTCAACAAGGGAAGGAGTGCGG	TCCACCATTCTCCTCCTGTGAG	NA	scaffold_6:27874720..27875722

Gen Candidat	Abreviatura	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Posició en el mapa de bins <sup>1</sup>	Posició en el genoma de presseguer <sup>2</sup>
Farnesylated protein like ATP6	<i>Fp</i>	GCCATGGGTGCTCTAGATCATC	TGCCCAGAACTCCACCTTCTTG	NA	scaffold_8:16456352..16457383
Fatty acid desaturase	<i>Fad</i>	CTGGTTGAGAGGAGCTTTGG	GGAAGCTCGGATCCATTACA	NA	scaffold_7:10934865..10935381
Formate dehydrogenase, mitochondrial precursor	<i>Fdh</i>	TGCCAAACCATGCTATGACCCC	AAGGGAAACTGTCCATCCAGGC	3:49	scaffold_3:20429613..20431454
Homogentisate geranylgeranyl transferase	<i>Hggt</i>	ATGGATTCTGCGCTTCTTGT	AACTACGGCCTCCAGCACT	NA	scaffold_1:5668494..5669933
Homoserine dehydrogenase	<i>Hsdh</i>	GCCCCAAGACAGAAACACAT	TCGACATGGTCAATGAGGAA	5:05	scaffold_5:809276..810446
Homoserine kinase	<i>Hsk</i>	GGCGAGATCTCCATCTCTGA	CACAAACCCTCCCATAATCG	8:41	scaffold_8:17363088..17363707
Hydroperoxide lyase	<i>Hpl</i>	TTGTGGGTATCAACCACAGGT	CATCCATCACATCCCCATTT	3:37	scaffold_3:16406218..16406637
Ketol-acid reductoisomerase	<i>Kari</i>	AAGGATGGTCTGCCTGCATTCC	AGATTGACGCAACTCTGGTCGC	3:37	scaffold_4:16075229..16076444
Lipoamide dehydrogenase	<i>Dhldh</i>	TCAGCAGCTGGGTATGACAG	CCTCACTCCCAAGTGACAGTA	1:14	scaffold_1:9159989..9161087
Lipoxygenase	<i>Lox1</i>	ACACCACACCCTAGACGTT	TGATAGTCTAGTATGAACAGCTTG	4:18	scaffold_4:2283489..2284621
Lipoxygenase	<i>Lox2</i>	TACAAATGCCGGTGGAAATTA	TGTTGTCCATTCTGGGGTGC	4:18	scaffold_6:26690463..26689657
Lipoxygenase	<i>Lox3</i>	TGTAATGCAGTCGCTCGAC	TGCTGTCCACTCTGGCGCAT	4:18	scaffold_6:26710414..26711334
Lipoxygenase	<i>Lox4</i>	GCATTCTGGAGACGACGGTT	TTAGATTGAGACACTGTTGGGA	4:18	scaffold_6:26731248..26730493
Lipoxygenase	<i>Lox5</i>	CCCTTATGCAACAGATGGACTC	TGACCCAAATGATGGTGGTGAG	4:18	scaffold_4:2284645..2285495
Malonyl-CoA decarboxylase	<i>Mcd</i>	TCCTAGTCCCGAATGTGAGG	CAGTGCTCTTTCCTTCTTGG	4:18	scaffold_123:129..1393
Membrane bound O-acyl transferase family protein	<i>Mboat</i>	ACTCGGCTATGCTTCCATGGTC	TCTTCTGAGACTCACGCAGTCC	5:21	scaffold_5:10186805..10188564
Methylmalonate semi-aldehydedehydrogenase	<i>Mmsdh</i>	GCTGGACAGGTTGGAATCAACG	GCCGGGTAAATTCTTCCACTGC	8:19	scaffold_8:7460584..7461018
Multifunctional protein	<i>Mfp</i>	AGTTGCCCTTCTCACTGCAT	AACCGAAATTGCTGATGACC	7:71	scaffold_7:20774698..20775380
N-myristoyl transferase	<i>Nmt</i>	CAGCTGGAGTAGTTCTTCCAAC	CTAAGCAACCGAGTTACAGCAG	7:56	scaffold_7:19410421..19411088
Obtusifoliol 14-demethylase	<i>Cyp51</i>	GTACCGCACCATCATCTTTCCC	TTAGCGTACAAACCCGTGAGGG	1:34	scaffold_1:21767937..21768614
Oleoyl-[acyl-carrier-protein] hydrolase	<i>FatB</i>	GGTTGGGCGATCATCTATTG	CCTCAGCCAACAGTGTTCATCA	8:60	scaffold_8:17608574..17610182
O-methyltransferase	<i>Omt1</i>	AGTCTTCTTCTTGCCTGTA	AAAGCCACTGATACCTCCAA	6:80	scaffold_6:25654672..25655737
O-methyltransferase	<i>Omt2</i>	AAACCACACTCTACACTCCC	GGCCTCTACCATTTCTTATT	4:18	scaffold_6:25651399..25652258

Gen Candidat	Abreviatura	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Posició en el mapa de bins <sup>1</sup>	Posició en el genoma de presseguer <sup>2</sup>
O-methyltransferase	<i>Omt3</i>	TGTGTTTCCCCAGATTCTT	AGGAGTGGATTTCGTTGGTTG	NA	scaffold_4:15007667..15006905 scaffold_3:9590401..9591731
3-oxoacyl-(acyl-carrier-protein) reductase	<i>FabG</i>	GCCAACTACAGTGCTGCAAA	CCACCAGTCTGCGACTTAT	3:04	scaffold_5:13884594..13886129
Phloroglucinol O-methyltransferase	<i>Pomt</i>	TAGACATCATCTCCGCTGCAGG	TGATGCAGCAGAAGCAAAGGCC	1:73	scaffold_1:40116525..40117658
Phospholipid cytidyltransferase	<i>Pct</i>	ACCAAGGGCCATCGCAACAAAC	TCCACCAGAAATAGCTGGTGGAC	NA	scaffold_1:5014144..5015289
Phosphoribosyl anthranilate transferase 1	<i>Prt</i>	TCTTGCCAACATCTTTCTGCC	TTCAGGGAAGGCTATCAGAACC	5:41	scaffold_5:14657746..14658076
Polyprenyl synthase	<i>Pps</i>	CTCGAGTGTTCCGGTGGTTCT	CGAAACCAGAGAGCTGTCC	7:41	scaffold_7:16488022..16488294
Pyruvate decarboxylase	<i>Pdc1</i>	CTACACAGGACTTGTTGATGCC	AGTAGAACAGACACCGTTCACC	6:74	scaffold_6:24378424..24379713
Pyruvate decarboxylase	<i>Pdc2</i>	ATTTATCGCCTTCCACAACG	AGGGCCTGAAACACACAATC	M	scaffold_3:10636015..10636648
Pyruvate dehydrogenase	<i>Pdh</i>	TATTGTTGGGGCTCAGGTTT	TTTGCATGCCTGCTTTACTG	1:34	scaffold_1:26100330..26102301
Pyruvate dehydrogenase kinase	<i>Pdk</i>	CAATAACGTGGTCCCAATGA	GGGATTGTGCAACTCGACAT	1:14	scaffold_1:8041657..8042610
Quinone oxidoreductase	<i>Nqr</i>	ATGGCAGGTAGCAGAAACTG	GTAGTTCTAGCTCAGAAAGCTG	4:18	scaffold_4:1441791..1444720
Serine O-acetyltransferase	<i>Sat1</i>	GGCACCCAAAGATTGGTGATGG	TCTTTCCCTCCAAGCAGCCTAG	4:63	scaffold_4:17641312..17641917
Serine O-acetyltransferase	<i>Sat2</i>	TATCCTAGCCGTAATGCTATCC	CAAAGTACAAGCATCTCGTGCC	6:65	scaffold_6:22073001..22073954
Serine/threonine-protein kinase	<i>Stk</i>	GGGTGCAGCATGGACAAGAATC	GAACAGAAACGAGGTTGAGGC	1:28	scaffold_1:17363856..17367114
Sesquiterpene cyclase	<i>Stc</i>	AGCTGTTAAAGCTCAAGCCCGG	CTCTGGCACCCCATATTGCTTC	4:46	scaffold_4:12125012..12125834
Sesquiterpene synthase	<i>Sts</i>	AAACAAGATCCTGCTGCAAT	ACTCATCAATCCCTTAATGTC	4:18	scaffold_4:1419812..1420568
Squalene synthase	<i>Sqs</i>	TGGTTCTTCGAGCTCTAGACAC	TTTGCCATTCTGCACCCATTC	NA	scaffold_8:11250198..11254468
Terpene cyclase/mutase-related	<i>Tc</i>	AATACTGTTGACCGGCGCCT	ATAAAGCAGACCAACGGCA	1:73	scaffold_1:36322280..36323006
Terpene synthase/cyclase family	<i>Ts1</i>	GTGGTTGAATCTATAATCCG	CAAGTAGTCTTCAGCGTTTG	4:18	scaffold_4:1414396..1415254
Threonine ammonia-lyase	<i>Omr</i>	GTTCCAGAAAGACCTGGTG	GCATTGTCTCCCTTCTCTGC	M	scaffold_7:14902545..14903079
Threonine dehydrogenase	<i>Td</i>	GAGGCTGTACTCGCAACTAT	AAGTAGCGCAAGTGATCTTT	7:31	scaffold_7:14902832..14904751
Threonine synthase	<i>Ts</i>	ACCTCTCTTCCAATCTCC	GGTAAGACCCACTCCTTCTT	M	scaffold_3:2324066..2324741
Trans-cinnamate 4-monooxygenase	<i>C4h</i>	CACTTTCCACCATAACTC	GCGAGTTCGTTGAGTTTCC	M	scaffold_6:2189775..2190064
Triterpene UDP-glucosyl transferase	<i>Tugt</i>	CATCTCCAGCCTATCATGAGC	CTGCTCTAGTTGGAATGAGAC	M	scaffold_6:210330..210968

Gen Candidat	Abreviatura	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Posició en el mapa de bins <sup>1</sup>	Posició en el genoma de presseguer <sup>2</sup>
<b>Dolçor, acidesa i vitamina C</b>					
14-3-3 protein	<i>14-3-3a</i>	GCTTTGATGCTTCCTTGATT	CTTGGGCTTGCACTTAACTT	3:37	scaffold_3:18006890..18008887
14-3-3-like protein	<i>14-3-3b</i>	AGTGAGTTGTCCCTCAA	AGGCTGCTGATGAGAGAAAAG	1:78	scaffold_1:46593152..46595251
ABC transporter protein	<i>Abc1</i>	TGAATTCTGACTGTGCTGCT	GAAACCCAATGGCACATATT	7:71	scaffold_7:20863011..20863507
ABC transporter related	<i>Abc2</i>	AAGCTTAGCTGATATGGCAGCC	CAGCACACAAAATTGTCAGGG	M	scaffold_4:9172089..9173261
Aconitate hydratase, cytoplasmic	<i>Ach</i>	ATGGCAAATCCTTCGTATGT	AGCTCTGGGATTGAAACAAC	7:48	scaffold_7:17849960..17850769
Alpha-L-arabinofuranosidase	<i>Abf</i>	GAACCAGACAGCAAAGCTGCTG	GCAACCTTGTTCGCGTCAAAGC	M	scaffold_6:896455..897941
Ascorbate peroxidase, cytosolic	<i>cApx</i>	GATGCTACCAAGGGTAATGA	TGGAAGCATTAGAAGACCAT	6:25	scaffold_6:6274826..6276864
Ascorbate peroxidase, thylakoidal	<i>tApx</i>	ATATTGAGGAGTGGCCAAG	ATTGGAACAAGTCTGCGTAT	1:73	scaffold_1:40069133..40070203
Beta-amylase	<i>Bamy</i>	CTTCATTCACGCCTTCTCTGGG	TTGCGAACATCTGGGCAAGTGC	1:26	scaffold_1:10746349..10747081
Dicarboxylate/tricarboxylate carrier	<i>Dtc</i>	ATGCTCAAAACGTCAAACCC	GCTTGTGCCATGAAAACCTT	6:00	scaffold_6:897270..897923
Dehydroascorbate reductase	<i>Dhar</i>	TCTAACGTTGGAGGAGAAGA	TCAGGAGGAGTTTTGAGAGA	2:34	scaffold_2:21733801..21735864
Dehydroascorbate reductase	<i>Dhar2</i>	TCTGAATGAGAAATGGGTTG	AATGCTTGTCTGTTCCATC	NA	scaffold_3:12783841..12787216
Fructokinase	<i>Fk1</i>	CTATGGCTAACAAATGGCGTA	TTTGATGAGCTCCAAGTTGA	1:28	scaffold_1:17794445..17794855
Fructokinase	<i>Fk2</i>	GGTCAAAGCTTCAGACTCG	CGGTTGCAGATACTACACCA	M	scaffold_1:17795804..17797362
Fructose-bisphosphate aldolase	<i>Fba1</i>	GCTGCCTACTACCAACAGGG	TCATTGCGTTCAAGTTCAGG	8:19	scaffold_8:11068459..11069326
Fructose-bisphosphate aldolase	<i>Fba2</i>	CTCTTCGTGAGCTCCTCTTC	CTGGCACCAGCTTCATAGTA	7:31	scaffold_7:14561569..14563349
Fructose-bisphosphate aldolase	<i>Fba3</i>	CAATCGTCCTCAAGCTTCTT	CAACCTTAATGCCATGAACA	7:31	scaffold_7:14560795..14561445
Ghranule-bound starch synthase 1, chloroplast precursor	<i>Gbss</i>	GACTAGGCAAGCAAAGCAAAA	GGACCTTCAAACAATGGGA	8:30	scaffold_5:12749954..12751067
Glucose-1-phosphate adenyltransferase	<i>Agp1</i>	GATATCACTGTGGCTGCTCT	CATCACATTTTTGCTCACAA	3:37	scaffold_3:15124604..15126012
Glucose-1-phosphate adenyltransferase	<i>Agp2</i>	GGATCTGGGTTTGTATTGTT	ACAAGCAGAAATTGGATGAT	5:41	scaffold_5:15127115..15128665
Glucose-1-phosphate adenyltransferase, chloroplast precursor	<i>Agp3</i>	GTAAAACCTTCTCTGCCC	AAACTTGGCCCTCACAGAAC	1:50	scaffold_1:33124577..33125207



Gen Candidat	Abreviatura	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Posició en el mapa de bins <sup>1</sup>	Posició en el genoma de presseguer <sup>2</sup>
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, cytosolic	<i>G3pdh1</i>	GGTCGTTTGGTTGCTAGAGT	CTTCTCATTGACACCCACAA	1:34	scaffold_1:23844137..23845547
Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, cytosolic	<i>G3pdh2</i>	CATGTGCTCTATGAGGTCCA	ATCAGGTATGCTGCTGATGG	4:27	scaffold_4:7286558..7287844
Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, cytosolic	<i>G3pdh3</i>	GTGACAAGCCCGTCTCTATT	CTTCTCATTGACACCCACAA	5:41	scaffold_5:13924688..13926400
Hexokinase	<i>Hk1</i>	GGGAGTGACCTCAAGATGAT	GCCCAGAAGCAATGAAATC	1:50	scaffold_1:32591668..32592861
Hexokinase	<i>Hk2</i>	CGAATTCGCCAATTACAAG	TGTATGAGCACTACACCGAAT	7:56	scaffold_7:20083099..20083559
L-galactono 1,4 lactone dehydrogenase	<i>Gldh</i>	GTACCAGCACCTGCTCCAAT	GGACGCCTGTAGTGAAAAA	NA	scaffold_7:8236918..8238553
Malate dehydrogenase	<i>Mdh</i>	GCATGGAAGAAAAGATGTC	CGTTCAATCTCTCTGAAACC	1:14	scaffold_1:2804161..2804764
Mannose-1-phosphate guanylyltransferase	<i>Gdp</i>	CACTCATTCTTGTGGAGGT	GTGAGCATGTGATCTTGATG	2:38	scaffold_2:22456186..22456664
Monodehydroascorbate reductase	<i>Mdhar</i>	AAGCAGACCCTGACTACAAA	AATAAACCAACCAACAAC	5:21	scaffold_5:11233609..11235650
NADP-dependant malic enzyme, cytosolic	<i>Me1</i>	ATCATCCGGTGTGGAAGAA	TGATGTTGGAATGGTGGGA	7:56	scaffold_7:20169862..20170789
Neutral invertase	<i>Ni</i>	ACCCTGTTAGTCACTGATGG	GGAATCCAATCAACTAACCA	1:14	scaffold_1:8487017..8487502
Phosphoenolpyruvate carboxykinase (ATP)	<i>Pepck1</i>	GTCTAGCCCTCGATACAAA	TCAGCTAGGTGGTCTGTCA	1:78	scaffold_1:45600689..45601415
Phosphoenolpyruvate carboxykinase (ATP)	<i>Pepck2</i>	GAGCATCCACCTCCTTGAT	CGCGAAGTACAAGAAGACTG	6:45	scaffold_6:20071591..20072111
Potassium channel subunit	<i>Chk</i>	ATTGCATGGTGTGCTGCTAA	TCACGACTTCCTCGCTCTTT	NA	scaffold_1:4316083..4317471
Potassium transporter	<i>Trk</i>	GACTCTCATGAGGAACATTG	CGTTGCAAGATACGGTTACA	4:18	scaffold_4:5423569..5424045
Probable transport protein csbC	<i>CsbC</i>	TACACGAGCCTTTCTACGGG	TCTTTGTTATGGGGTTTGGG	8:41	scaffold_8:17365985..17366421
Pyruvate kinase, cytosolic isozyme	<i>Pk1</i>	GTGAATGGCGAACATAGACA	CTGCCCTTCCTTAAGTTGAA	4:63	scaffold_4:29851413..29851950
Pyruvate kinase, cytosolic isozyme	<i>Pk2</i>	CTCGTTTGTGCACTGGTAG	CCATTAAGGTGAAGGCATCT	7:31	scaffold_7:14816481..14818270
Pyruvate kinase	<i>Pk3</i>	TGAGACAATATCTGCGTGCT	TGTTAGGACAACCAGGGTCT	2:13	scaffold_2:11622605..11626723
Sorbitol dehydrogenase	<i>Sdh</i>	GGTGCGAAGAAGTTCATGT	GTCTTCTCAGGGAGGGGTTT	2:45	scaffold_2:24766635..24767338
Small basic intrinsic protein 1-1	<i>Sip1-1</i>	GCCAATCCAATAAACCAAGA	CACCACTGCAAGTTTCTACG	3:37	scaffold_3:16514701..16515339
Sorbitol transporter	<i>Sot</i>	AATTTGGCGAACAACTTGC	CTATGCGCTGCTCAGAAACA	8:23	scaffold_8:12530480..12530832

Gen Candidat	Abreviatura	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Posició en el mapa de bins <sup>1</sup>	Posició en el genoma de presseguer <sup>2</sup>
Starch phosphorylase	<i>Sp</i>	GTGACACCAAGAAGATGGAT	TTTCAACTTGTTGCTCCTTT	3:49	scaffold_3:19172165..19173713
Sucrose phosphatase	<i>Spp</i>	CCTGCCCGTCTAATGATAGT	TGTTGGTGACCTACCAGTTG	7:31	scaffold_7:12700590..12701833
Sucrose phosphate synthase	<i>Sps1</i>	TCTCTGTCCCAATTCTCATC	GAGATCGGTCTCATCGAA	M	scaffold_1:40220545..40221160
Sucrose synthase	<i>Sus1</i>	ACTCCGGTGAGAGTCAAGAG	ACCTGTGGACTTCCAACATT	7:56	scaffold_7:18756997..18757803
Sucrose synthase	<i>Sus2</i>	AGCATAGCACTCGACCAACC	CACGAGATGCATTGGAGAAA	8:60	scaffold_8:21436155..21436944
Sugar transport protein	<i>Stp</i>	TGGGGACATTATCGTCACCTAC	ATCTCCGTACAGAAGATGGGAG	5:04	scaffold_5:722072..722457
Tonoplast dicarboxylate transporter	<i>Tdt</i>	CTTCCAACAGGAACACCTTC	CAAATGGCTGCAATCATAGA	4:18	scaffold_4:467683..468147
Tonoplast intrinsic protein 1-1	<i>Tip1-1</i>	ATGGATGCTCCATCGAAAG	CGGCAATATCTCCCTCT	3:12	scaffold_7:15172816..15173534
Tonoplast intrinsic protein 2-1	<i>Tip2-1a</i>	CGAGCTGGGTTTCATTGAT	CCTTCATCTCAAGTTCGTC	7:48	scaffold_3:3686893..3688329
Tonoplast intrinsic protein 2-1	<i>Tip2-1b</i>	AGAATCTGCAGCTGTCATCA	TTCATAAAGAGCTCGTGCAG	2:45	scaffold_2:24346420..24347069
Triosephosphate isomerase, cytosolic	<i>Tpi</i>	CACTACTCTCATCGGGTTCA	TCAAGCAAACGTAAGTCCTG	2:38	scaffold_2:22196737..22198681
UDP-glucose 6-dehydrogenase	<i>Udpgdh</i>	TGGTGAAGATCTGTTGCATT	ACCCTCAGCAAGAACTCTG	5:42	scaffold_5:16314856..16315341
UTP-glucose-1-phosphate uridylyltransferase	<i>UGPase</i>	TCCTTGCCAGTCTGTCCTTT	CTTATGATGGCTTGGCACCT	3:06	scaffold_3:208806..2104
Vacuolar proton pump subunit C	<i>ATPase C</i>	ACGTCCGTTTCTTGCTCTAC	TACGGAGAGGTTTTTCAGCTC	3:49	scaffold_3:21718652..21719102
Vacuolar proton pump subunit D	<i>ATPase D</i>	GGAACACCAGATATTGCAAAC	TGGTGAGAGTCAGATGCTTG	3:49	scaffold_3:19860500..19860750
Vacuolar proton pump subunit D	<i>ATPase D</i>	TAGAGCATTGACACGACGAT	CGCTTGACGGTAGTTCTTA	3:37	scaffold_3:13503555..13504168
<b>Desenvolupament del fruit i maduració</b>					
Aldo/keto reductase	<i>Akr</i>	GAAAACAGCAGTTCTTGAGG	TTACCAGGTTTCGAGCTAAC	NA	scaffold_1:24918419..24919153
1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase	<i>Aco</i>	GGAAGGAAAGCAACAATGGA	AACCTTGGTGCCAAAAGTTG	3:37	scaffold_3:16206169..16206836
Actin-depolymerizing factor	<i>Adf</i>	GTTGTGGTGAATCTGTTGGTG	GAGTAAGGTGTCGTCTAAACCC	1:14	scaffold_6:22718094..22719001
Adenosine kinase	<i>Adk</i>	TTGTGTTGTAGGTGGTGA	TCTGGGGATACAGTAAGAAAA	6:65	scaffold_6:21764960..21765354
Acetyltransferase-like protein	<i>Atlp</i>	ACAAAGTAAGATGGCCCCAGAC	ACTCAATCTTCTGCTAGAGGG	M	scaffold_4:7884557..7883970
Auxin-responsive protein (IAA16)	<i>Iaa</i>	TATCTGCGCAAGGTGGATCTTG	GTCTTTCAACTCGTCTTGTGG	3:14	scaffold_3:4630649..4631934
Calcium-dependant protein kinase	<i>Cdpk</i>	CACAACTCAAATCTTCTGGGG	AACATTTGGTTGCAGCCTTT	M	scaffold_8:17384115..17385032
Cyclin delta-3	<i>CycD3</i>	GCTGCAGTCTCTAGCTGTA	GATTGCAGTGAGAGCAGTGA	M	scaffold_8:14683257..14683883

Gen Candidat	Abreviatura	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Posició en el mapa de bins <sup>1</sup>	Posició en el genoma de presseguer <sup>2</sup>
Dehydration-responsive protein	<i>Dre</i>	TCTCTTGAGGGCTGGAAAT	TTAAACCCCGTTGCTGTTTC	5:08	scaffold_5:2314545..2315443
Dessiccation protectant protein Lea14 homolog	<i>Lea</i>	GCACGAGGCTAAGGAGAAGA	AGTTTTCTCGAGGGGAGAG	7:71	scaffold_7:22606723..22607215
Dioxygenase	<i>Dox</i>	TTGCGCGTGAACACTACTATCCT	TTGCCCTTAAGTTTCCCTT	6:65	scaffold_6:23171262..23171869
Early light induced protein	<i>Elip</i>	TTCCCCTGGCTATTGAGACTGC	AGTCGACAGCCAAATCAGCACC	M	scaffold_1:1492732..1493535
Ent-kaurene oxidase	<i>Ko</i>			1:50	scaffold_1:33755188..33755492
Ethylene forming enzyme like dioxygenase	<i>Efe</i>	TGGAACAATAATCACCCCTC	CCTTGTCTGGATTTGCTACT	NA	scaffold_4:18515042..18515938
Ethylene responsive element binding protein C2	<i>Erebp</i>	ACCACCCAGCTAATCATCCA	AGGAGAGAGAGCAGCGAACA	2:45	scaffold_2:23994789..23995136
Ethylene responsive protein (T2E.9.7)	<i>Etr</i>	CCGACACCATACGCAATTCT	AAGCCCTTTTTACAGCTCCC	1:50	scaffold_1:29357226..29358583
Ethylene signaling protein	<i>Ein</i>	CCTCAATACCATCCTTCTGA	AGCTGGTGTACTGCAGAAAT	6:65	scaffold_6:21789235..21791643
Eukaryotic translation initiation factor 5A isoform II	<i>eIF5A2</i>	ACCGATGAAAGTCTGCTTAGCC	ATATGCAGCAAGCTCCCTTTGC	7:71	scaffold_7:22191909..22193134
Fiber protein Fb19	<i>Fb19</i>	AGCCATGACTACCGACAACC	GACCACTTCTTCGCACCCT	NA	scaffold_8:21149801..21150495 scaffold_8:21274774..21273345
Glutathione S-transferase	<i>Gst1</i>	GTTCTCTCATTCAAGATGG	AGTTGTGTGCTTCAACCTCT	3:37	scaffold_3:14138406..14139367
Glutathione S-transferase	<i>Gst2</i>	AGTGTATGGTCCAGTCAAGG	CCATCTTCTACTGCTGGAAC	3:06	scaffold_3:96049..96852
Glutathione S-transferase	<i>Gst3</i>	CTTTGGGATGTGAAGAAGAG	CCGTATCATATGCTTGTGTA	8:60	scaffold_8:19082994..19083686
Metallothionein-like protein	<i>Mtlp</i>	GCTGTGGAGGCAAATGTGGTTG	CCGGGCCATGACCACTTTATTC	6:65	scaffold_6:22947410..22948304
NAD(P)H quinone oxidoreductase	<i>Nqo</i>	ATGGCAGGTAGCAGAAACTG	GTAGTTCTAGCTCAGAAGGCTG	M	scaffold_3:20441839..20442714
Nascent polypeptide associated complex	<i>Nac</i>	AATACCAGGTGTGACCCGTGTG	AAAGTTTCGCCGAGAAGGTGGC	7:25	scaffold_7:1833244..1833997
Nucleoside diphosphate kinase	<i>Npk</i>	TTATTGGTGCCACCAACCCAGC	GGCATATCCAATGCTCCAAGGC	2:20	scaffold_2:15576776..15577833
Phosphodiesterase	<i>Pde</i>	GAAACTAGTGCACACTGCTG	CTCCCATGATTTGAGAGTTC	4:18	scaffold_4:3440614..3441241
Phospholipase D alpha	<i>Pld</i>	CTCTGAAATTGCCATGGGAGCC	TCAGACTTGGCACCTAGGACAC	3:14	scaffold_3:5398084..5399248
Protein-L-isoaspartate O-methyltransferase	<i>Pimt</i>	CCTCATATGCATGCAACATGCC	AATTCTGGCCAACCTAGCCTTC	5:41	scaffold_5:14229094..14229860

Gen Candidat	Abreviatura	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Posició en el mapa de bins <sup>1</sup>	Posició en el genoma de presseguer <sup>2</sup>
Ras-related protein ARA-3	<i>Ara3</i>	CAAGAACGGTTTCGGACAAT	GCCCTCGAGTCAGTATCTGC	6:65	scaffold_6:22662010..22663410
Ripening regulated protein DDTFR10	<i>Ddtfr10</i>	TGACATCAACTCGGCTGTTGGC	CCTCAACAATGACACCAGAGCC	NA	scaffold_2:9851398..9853269
RNA recognition motif (RRM)-containing protein	<i>Rrmp</i>	AACCGTCGGTCAAGATCAAG	GGATGAATCAAGGACCCAAA	4:63	scaffold_4:17941057..17943799
S-adenosyl-L-methionine synthetase	<i>Sams</i>	GTCACCAGCACCAATCTCCT	ACACACCCAAAGCTCCAATC	1:14	scaffold_1:8142188..8143343
Selenocysteine methyltransferase	<i>Smt</i>	TGGAATCAATGTGGTCAGTGCC	CGGTGACATTCTCACTACTTCC	1:14	scaffold_1:1306506..1307663
Serine carboxypeptidase I precursor	<i>Scp1</i>	CTTGTGCAGCATAGGCAATA	ACCTTTCACTGGGATTGAAG	8:60	scaffold_8:17761746..17762930
Serine carboxypeptidase precursor	<i>Scp2</i>	TTCACCCTTTGGAGCAATAC	GCTCCTGGTATCGATGATG	8:30	scaffold_8:15559647..15561395
Serine carboxypeptidase I precursor	<i>Scp3</i>	GCATCCAGTAGAACTTGTTTTG	CGAGTACGAATCACCAGAAA	8:41	scaffold_8:15561507..15564341
Serine carboxypeptidase I precursor	<i>Scp4</i>	CATAGGTAGAGGCCATGGAT	TCAGCCACAGAACTACTGGA	8:60	scaffold_8:17764339..17765405
Serine protease	<i>Psp</i>	TTATGGNGCTGGGCATGTGGAC	CCAAAGCTGGTTGTACCGGATG	1:55	scaffold_1:35650295..35651005
Short-chain dehydrogenase/reductase - Tic32	<i>Sdr</i>	AATGCAGGGTTATGGCAACTC	AGCGCTTTGTGAGCTCATTAGC	5:21	scaffold_5:10931398..10933435
Squamosa promoter-binding protein-like 12	<i>Spl1</i>	TACGGCGGATGGAAGAAACA	GATACTTCCCTTCTAGAGCACAG	1:14	scaffold_1:8102137..8107136
Squamosa promoter-binding protein-like 1	<i>Spl2</i>	GGTCACATGGATCCCAACTT	GTGACAATAACTCAGACTTAAC	3:06	scaffold_1:8098525..8099362
Squamosa promoter-binding protein-like 1	<i>Spl3</i>	GTGCTAACCAGTTTGTAAACG	TAAACCATCAAGAGTAGCCA	1:14	scaffold_1:8106482..8107037
Squamosa promoter-binding protein-like 12	<i>Spl5</i>	CCTGCGTCAGATCTACTACA	GACTGTGACCCTCTCCACTA	1:14	scaffold_1:8095438..8096557
TCTP protein	<i>Tctp</i>	CACATGGGTGAAGAGGTACATC	TTGAAGCCAGCTGTGCCAATAC	1:26	scaffold_1:10203241..10203639
Ted2 protein	<i>Ted2</i>	TCCATTGTCAGCCATTGCAGTG	TGATTTGGCAGCAGCTATCC	3:04	scaffold_2:24096013..24097140
UDP-xylose phenolic glycosyltransferase	<i>Upgt</i>	TGGAGCTGGAGAGAAGTACTAG	TTCACTCTAACCCCAACCTTCC	M	scaffold_7:22469701..22470348
UTP-glucose glycosyltransferase	<i>Cgt</i>	GAGGATGAACGCCACGTTGTTG	TACTTGCCACTTGGGACAGTGC	M	scaffold_7:16512103..16512689
<b>Coloració del fruit</b>					
Anthocyanidin-3-glucoside rhamnosyltransferase	<i>Art</i>	AAAGTGGGCTTCATTTGGG	TCACCTTTGCGACCTCTTCT	4:18	scaffold_2:10655409..10656196
Beta Lycopene cyclase	<i>LcyB</i>	ACAATCCAGGTTACCAAGTG	CTATCGCATTGCAACAATA	7:25	scaffold_7:8202589..8203233
Beta-carotene hydroxylase 2	<i>β-Hyd</i>	ACTTGAAGAAGTGGGAGGCCTC	GGACGGAATACAATTCCTCCG	NA	scaffold_2:25312949..25314202

Gen Candidat	Abreviatura	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Posició en el mapa de bins <sup>1</sup>	Posició en el genoma de presseguer <sup>2</sup>
Chalcone synthase	<i>Chs</i>	GTGGAGGAAGTTCGCAAG	ATGTCCACACCACTGTTGG	NA	scaffold_1:313777..314833
4-coumarate-CoA ligase	<i>4Cl1</i>	TCGGATACTGTCCAACCTTT	TGCACAAGGATGGTTAAGAA	1:50	scaffold_1:32034338..32035326
4-coumarate-CoA ligase	<i>4Cl2</i>	CTGCAGCCTCAGTGATATTG	CTTTGATGATGAGGGTTTCC	M	scaffold_5:13843249..13844525
4-coumarate-CoA ligase	<i>4Cl3</i>	CTCTTCCACCTAATCAGTTGGG	AACTGGAACCTCACCAGCTTTC	M	scaffold_7:15334994..15336139
1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase	<i>Dxs</i>	CATCCTCTTTGGTTGAATCC	AATGTACCGTCAGGAAGAA	1:26	scaffold_1:10881152..10881910
Dihydroflavonol 4-reductase 1	<i>Dfr1</i>	AACAGCCCTATGAACATGC	CTTGTGATTGGCCATTCT	1:50	scaffold_1:33138560..33139554
Dihydroflavonol 4-reductase 2	<i>Dfr2</i>	AATTACAAGGCCTTCTTGGA	TTCTGTCATTACACCCTTG	2:26	scaffold_2:19053729..19054447
Diphosphomevalonate decarboxylase	<i>Mvd</i>	GCGAATGAAGATCAGCCAGC	CGCATTCTGTAGTGCTACTCG	NA	scaffold_4:20924803..20927649
9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase	<i>Nced</i>	AGTTTCGGGCTTTGCCAAAGTG	AGCTTCCCACAGGTAATTGTCC	4:28	scaffold_4:8571424..8572032
Epsilon lycopene cyclase	<i>LcyE</i>	GAAACTTGCTTGGCTTCTAA	CCAAATGCTAGGTTCTTTTG	7:56	scaffold_7:19401241..19402792
Flavonone 3'-hydroxylase	<i>F3h1</i>	ATGAAATCCCGATCATTTTCG	AATGCCTCTGTGTCCAGTCC	1:34	scaffold_7:17533160..17534711
Flavanone 3'-hydroxylase	<i>F3h2</i>	CATTTGACTGGACCTTGGCT	CGAGGAGCATATTTGATGGG	5:46	scaffold_5:16348410..16354463
Flavonoid 3'-monooxygenase	<i>F3'h</i>	AGAAGCTGAGCCAAGTTCAC	CACGACACCAACTTCTCAAG	5:46	scaffold_5:16355796..16356686
Geranylgeranyl diphosphate synthase	<i>Ggps</i>	CACCACCCTTCTACTCTC	GTTGAACATTGAGCAGGTTT	4:18	scaffold_7:16488813..16489430
Geranylgeranyl pyrophosphate synthase	<i>Ggpps</i>	TGGAAACAGAGCATCACCAG	GACGACCCTGATAGCCGATA	8:41	scaffold_8:16771706..16772280
1-hydroxy-2-methylbutenyl 4-diphosphate reductase	<i>Hdr</i>	AAGAACTACAATCGCAGAGG	TTTCATCAGGAACTGCTTT	8:23	scaffold_8:12976777..12976949
4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl diphosphate synthase	<i>Hds</i>	CACAAATTTATGCACTGGGG	TTGTTAATGGACCTGGGGAG	6:25	scaffold_6:7024395..7024975
Hydroxymethylglutaryl-CoA reductase	<i>Hmgr</i>	TTGCATCTCAGTCAGCTTGC	AACAGTGTCCCTTGGTGAGC	M	scaffold_3:13751366..13751944
Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase	<i>Hmgs</i>	CCTCCCGAGAAGTTTGTGTA	ATGGAAGCCGGAGATGTATG	M	scaffold_5:9957625..9958852
Isoflavone reductase related protein	<i>Ifr</i>	GCGATAAAGCAAGTCGATGTGG	GTAGCCAGCAAAGAAGTTGGAG	8:23	scaffold_8:11981449..11982642
Isopentenyl-diphosphate Delta-isomerase	<i>Idi</i>	GAATTGGGTATCCCTGCTGA	TTCTCAACATTGTCCACCA	6:84	scaffold_6:28602147..28603007
Leucoanthocyanidin dioxygenase	<i>Ldox</i>	ACATCAGTGTGAGCTTCGAC	CCTCAAACACCTGCTGATTA	5:21	scaffold_5:9818042..9818900
Leucoanthocyanidine reductase	<i>Lar1</i>	TGGCAGAATCTTCATTGTTG	TTAATTGTGCCAACAGCTTG	1:50	scaffold_1:28898878..28900796

Gen Candidat	Abreviatura	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Posició en el mapa de bins <sup>1</sup>	Posició en el genoma de presseguer <sup>2</sup>
Leucoanthocyanidine reductase	<i>Lar2</i>	CAGAGAACCGCATACCAGAA	TTTATGAGGGGAGAGAGGGG	NA	scaffold_1:28898322..28898956
Mevalonate kinase	<i>Mvk</i>	TTCCTCCATTGACCTCTACACC	ACATGAGGTTGGCACTGATGAG	6:84	scaffold_6:26867622..26869659
Norcochlorine 6-O-methyltransferase	<i>Ncmt</i>	GCCATCACTCCCTGGTTATCT	CACAAATCCACATCCTTTGCT	NA	scaffold_8:16789035..16789557 scaffold_8:16797505..16798027
Phosphomevalonate kinase	<i>Pmk</i>	GGTGGGTGCTGTGAAAAAGT	GGTTTGGTTTAGCAGCTTGG	M	scaffold_5:2977979..2979579
Phytoene synthase	<i>Phy</i>	CGCCCTTCTTGTGAAGTTGT	ATATAATGCTGCCTTGCGCT	3:06	scaffold_3:79549..80759
Phytoene desaturase	<i>Pds</i>	CCTCAATGGAAGGTGCTGTT	GCCAAATTTAATGGCTGGAA	NA	scaffold_1:13678623..13680436
Protein kinase	<i>Ptk1</i>	CTGGTGTCTTGCCTCATCT	TGCAGATGTTTGGTCTGTG	5:11	scaffold_3:16983728..16985281
Putative Rab geranylgeranyl transferase type II beta subunit	<i>Rggt</i>	ATGACTCAGGTGGGTTTGGTGG	TGTAGTTCACGGCCTTCTCCAC	NA	scaffold_3:16983728..16985281
UDP-glucose:flavonol 3-O-glucosyltransferase	<i>Ufgt1</i>	TCAGTTCATGTGGTGAAGAA	TTAAATGCCTTTGAATTGGT	3:37	scaffold_3:14619469..14620515
UDP-glucose:flavonol 3-O-glucosyltransferase	<i>Ufgt2</i>	TGTCATTGAGCTCGAAAAC	GCCAAAGAGGTCCACGATAA	7:41	scaffold_7:16510977..16511272
UDP-glucose:flavonol 3-O-glucosyltransferase	<i>Ufgt3</i>	CTCGCGCATGCTGCATCAAATG	TCAAGCCAGGATAGGCAACCAG	M	scaffold_2:26435430..26436041
UDP-glucose:flavonol 3-O-glucosyltransferase	<i>Ufgt4</i>	TCCGTAGGGACCACAAGAAC	GGAACCACATGCTCTTCGTT	NA	scaffold_3:14638115..14639015
UDPG-flavonoid-3-O-glucosyltransferase	<i>3Gt2</i>	TTGGAAAGCCATGCTCAAAC	CCCTCATGGATTGGAAGAAC	5:08	scaffold_5:2515082..2515444
UDPG-flavonoid-3-O-glucosyltransferase	<i>3Gt3</i>	TCCCCACAACCTAATCCA	GGTTGTGAGGAAAGGCAAAG	8:30	scaffold_8:14581409..14581730
Zeaxanthin epoxidase	<i>Zep</i>	ACGGAACTGGTTTGGAGATG	CATCTGATGGACGAAAACGA	7:31	scaffold_7:15563905..15564762
Zeta-carotene desaturase	<i>Zds</i>	GTCCAGTTGTAAGGCTCTG	GTCAATAAACCCAAGTGCAT	6:84	scaffold_6:27535634..27536887
<b>Textura</b>					
Alpha-expansin	<i>Exp1</i>	GCTACAACTTTTGCCACC	AGTTTTGCCCCAGTTTCTT	NA	scaffold_6:2108090..2109740
Alpha-expansin	<i>Exp2</i>	ATGGACGATTCTGCGAACTA	GGGAGGAATAAGATTACCA	M	scaffold_2:23574518..23575054
Alpha-expansin	<i>Exp3</i>	GACGTGAAAGGATCCAAGAC	CACTGTCCACACACTCACAA	6:25	scaffold_6:5143300..5143847
Alpha-expansin	<i>Exp5</i>	CCAATTCTGTCTCCAAC	CGACGTTGGTGATTAGAACC	6:65	scaffold_6:23063589..23064469
Alpha-expansin	<i>Exp6</i>	CTTATGGTGGAGGTGGATGG	TTTGGCCATTGAGGTAGGAG	1:50	scaffold_1:27210118..27210928
Annexin-like protein RJ4	<i>Anx</i>	TCCCTCGTATCGGTAAGTGC	ATGAGGGGTTGATCATTTCG	6:39	scaffold_6:17636418..17637122

Gen Candidat	Abreviatura	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Posició en el mapa de bins <sup>1</sup>	Posició en el genoma de presseguer <sup>2</sup>
Beta-galactosidase	<i>Bgal</i>	TTCCGTGAGGGAAGCTGTCATG	CGATCCCAACATTGATTCCGCC	3:12	scaffold_3:2679011..2680127
Endo-1,4-beta-D-glucanase	<i>Eg1</i>	GAAGTGCCCTCCATTTCCA	ATCTGCCAATTTTCACGACC	1:78	scaffold_1:42045140..42045913
Endo-beta-1,4-glucanase	<i>Eg4</i>	GAATGGCAATTGGGCTAGAA	ATGGTGGGCTATGGAAACAA	5:41	scaffold_5:11942212..11942806
Pectate lyase	<i>Pl1</i>	AAGCTTGAAGCCCTTGATA	TCCTTTGGAGAAGGGTTGG	5:41	scaffold_5:14194017..14194620
Pectin Methyl Esterase	<i>Pme1</i>	CTCCTCATACGCCTCAAAG	GCTTACCTTCACCCCATCAA	2:45	scaffold_2:24343160..24343497
Pectin Methyl Esterase	<i>Pme2</i>	TGTTGGCTGGAATAATTGGG	CGGGTAATGCCTCTTCTTTG	3:49	scaffold_3:19499908..19500772
Pectin Methyl Esterase	<i>Pme3</i>	AAGGGCTGGATAGAATGGGT	AGGGGGAATTGGAAAAGAAG	M	scaffold_3:1448832..1449273
Pectin Methyl Esterase	<i>Pme4</i>	ATTATCCCATTTCACCAA	ATGCAAGCACAATCCAAACA	2:45	scaffold_2:24339624..24339953
Pectin Methyl Esterase	<i>Pme5</i>	TACAGCTTCATGGCCTACC	AACTTTGTGGATGGCTGGAC	7:56	scaffold_7:18646110..18647197
Pectin Methyl Esterase	<i>Pme7</i>	GTGCCCTCTCTATTGCTTGG	GTTGGTGAGTGAAGGGTTGG	1:50	scaffold_1:30476006..30476482
Pectinesterase precursor	<i>Pe</i>	AGCCTAACCAAGGGCTCAAAGG	AGCTGTCATCAGTGCTTGAGG	2:45	scaffold_2:24346529..24347116
Plasma membrane intrinsic protein 1-1	<i>Pip1-1</i>	GTGGTACAAAGCTGCAAGTG	GCTACACCAAGGGATCAGG	1:78	scaffold_2:22777512..22778470
Plasma membrane intrinsic protein 1-2	<i>Pip1-2a</i>	AAGAGCAGCACCAATGAATG	CCAGAGACTCTCATGTCCCT	5:21	scaffold_5:10927626..10929027
Plasma membrane intrinsic protein 1-2	<i>Pip1-2b</i>	TGACGTCATGGTCGTTTTAC	CCTTGTCAGCGACAGCTT	4:22	scaffold_2:22778609..22779228
Plasma membrane intrinsic protein 2-5	<i>Pip2-5a</i>	ATAGTTCACCTGGCCACAAT	AAAGGCAAGTGTGGAGAA	2:34	scaffold_2:20946218..20946298
Plasma membrane intrinsic protein 2-5	<i>Pip2-5b</i>	TCACTGTGCTTACCGTGATT	GCCACCATGTACAATACAGC	2:34	scaffold_2:20943076..20943866
Plasma membrane intrinsic protein 2-7	<i>Pip2-7</i>	TAGCTGCTGCTCTGAGAATG	CACAGTTTTCTCAGCCACTG	8:41	scaffold_8:16515677..16516585
Xyloglucan endotransglycosylase	<i>Xet1</i>	GAAGGCAGATTGGAGCAAAG	GCATCCCATGTGCTTTTATGT	1:14	scaffold_1:4915405..4915707
Xyloglucan endotransglycosylase	<i>Xet2</i>	CTGCATTGCCTTCTCATTCC	TCTTATGGGCACATCATCCA	6:25	scaffold_6:7902086..7903207
Xyloglucan endotransglycosylase	<i>Xet3</i>	CAGCAGCAGATAACGCAAAG	CAACCTGAGACCAAACAGAACA	M	scaffold_3:16993320..16993725
<b>Factors de transcripció</b>					
AP2 domain containing protein	<i>AP2.1</i>	ACTTTGGCTGGGGAGAACAAGG	TCAGAAACCTCCCCAATCAGG	3:12	scaffold_3:1544865..1545384
AP2-containing DNA binding protein	<i>AP2.2</i>	GATCAGGCTCCCTCAGAACA	GTGAGCAGCCTTCAAATTCC	M	scaffold_5:11915561..11916109
AP2 domain transcription factor RAP2.3	<i>AP2.3</i>	CCACCACCAATCTCATACCC	TCTTGCTGGTCTTCTCTGCT	1:73	scaffold_1:41300606..41301429
bZIP transcription factor ATB2	<i>bZip</i>	TTGATGGCTCAGATGGCTGAGC	TAGAAACCTCTCTGGCTCTCCC	8:23	scaffold_8:11718406..11719200

<b>Gen Candidat</b>	<b>Abreviatura</b>	<b>Encebador directe (5'→3')</b>	<b>Encebador revers (5'→3')</b>	<b>Posició en el mapa de bins<sup>1</sup></b>	<b>Posició en el genoma de presseguer<sup>2</sup></b>
MADS Box transcription factor (Pistillata)	<i>Pi3Pp</i>	TCAGCAATGAAGTGGATAGGG	GCTTGTCCTGGTTTGTGATA	NA	scaffold_1:39773156..39774368
MADs box protein (Sepallata)	<i>Sep</i>	CCCTTTTGGTACCCTAAACA	TCTTCTCTTGGCAAAGTCA	5:46	scaffold_5:16626155..16630368
Myb-related protein 39	<i>Myb39</i>	GTCCAAAGATGTGGGAAGAG	GCTATAGCCGACCACCTAAG	1:50	scaffold_1:27289692..27290383
Tubby-like protein	<i>Tulp</i>	TCACCGTATATGACAGCCAGCC	TCAAACCAGCGTTCTGCACC	7:41	scaffold_7:16918329..16919056
WRKY transcription factor	<i>Wrky</i>	ATTCATGACCAAGAGTGAGG	GTGTGTTGGCCTTCATAAGT	M	scaffold_10:527929..526744

<sup>1</sup> La terminologia per a la posició al mapa és com a Howad et al. (2005). M: Monomòrfic; NA: La parella d'encebadors no amplifica o amplifica més d'una banda.

<sup>2</sup> Tal com a <http://www.rosaceae.org/>



**Annex 2:** Seqüències dels encebadors i localització dels 155 marcadors utilitzats per l'estudi de genòmica comparativa.

Marcador	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Amplificació / polimorfisme	Mètode de detecció <sup>1</sup>	Posició al mapa del presseguer <sup>2</sup>
MDP0000029168	TGAGTTTCGGTGAGAGCAAG	GTTTTCTCGGTCGTTTTTCG	Sí / Sí	HRM	6:84
MDP0000047001	GATGGCAAGGTGGAAGCATA	CGCTCCAAATATCTGAGGAA	No / -	-	-
MDP0000069231	TGGTGTCTTTGACAACCAGC	ATTAGGCGGCGGTAACCTT	Sí / Sí	HRM	5:08
MDP0000127923	CATCCAGAAATTGAGCAAGG	CCGGTTGCAGTTTTAGGAAG	Sí / Sí	Seqüenciació	5:21
MDP0000131015	CCCGAGTCCACGAATAAGG	GCTGTGGTTGTTGGAGAAGA	No / -	-	-
MDP0000131537	GTA CTGGAAGGACGACGGCT	CGGCCTTTGTTTCTACAAT	Sí / Sí	Polimorfisme en la longitud del fragment	3:37
MDP0000131695	TGGTGATTTTAATCCAACGC	CCACTTCTTTCATCTGCTCG	Sí / Sí	Seqüenciació	3:37 - 3:49
MDP0000135455	ATGCAAAGGACCACAGTACC	CCCGGTGGGTAGTTTCCATA	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000135672	GTTGTCTGAGGCGACAGCA	ACGGGATGAGGTGAAAACAT	Sí / Sí	HRM	2:13
MDP0000139971	AATGGGGCAAAGCATCTGTA	CGGAAACTGGTGAATGCTCT	No / -	-	-
MDP0000141008	AATGGGCACCGGTATGAAG	GGGAGATCCAGGATGGGTAT	Sí / Sí	HRM	6:84
MDP0000142642	AGAGCGGGTCCTTCTCGTA	CTCTGCTTTGCCTCAACCTC	Sí / Sí	HRM	6:45 - 6:49
MDP0000144421	ACGAGGGAATCTGAAGGTCA	TCCGACGTGGTTGGAAGATA	Sí / Sí	HRM	7:35
MDP0000144996	CTGGTGGGCTCTTGGTATTC	GCAAAGAGAGGCACATCGAG	No / -	-	-
MDP0000146698	AGCACCTGTTGGCTTACAA	TGCTTCCTTGATTTTATCCC	Sí / Sí	Seqüenciació	3:49
MDP0000148778	CGCTTGTTAGAGTTGCTGGA	TTTACAGGCACAACAATCGG	No / -	-	-
MDP0000148820	CTATCTGCTGGTGAATGGA	CTCTGGCTTGCCACTAATGA	Sí / Sí	Seqüenciació	6:25
MDP0000151762	AGCTATGGTGAACATGTGGG	TTCATTTGCAAGAAAGCCT	Sí / Sí	Seqüenciació	5:21
MDP0000153584	AAATTGGCCAAGAAAGATGA	CAGTCCCACCAAGGACTC	Sí / Sí	HRM	3:12
MDP0000154828	TATCTCATGACGGGTAGGGG	ACCCGATTTCTGTATGCTAA	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000155799	CCAAGGGTCCCTGATGCTAC	GTGCAGTTCTGCAGCAGGT	Sí / Sí	HRM	5:21

Marcador	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Amplificació / polimorfisme	Mètode de detecció <sup>1</sup>	Posició al mapa del presseguer <sup>2</sup>
MDP0000162236	CAAAGGGCAGGCGTTACAT	CGAACCACAGAGAGACGAAG	Sí / Sí	Seqüenciació	5:21
MDP0000170069	GAAACCCCTACAGTTGGGAA	GATGATTATGGCAAACCCGA	Sí / Sí	HRM	8:41
MDP0000170872	TGTGAGAGACATCCAAGGGA	ACTTCTGCATCGTCTGCAAG	Sí / No	HRM	-
MDP0000181224	ACTTCACGGCCTTCTGACAT	CGGCAACCTCCTGAAGAAAT	Sí / Sí	HRM	7:25 - 7:31
MDP0000182255	ATTACCGAGACCCCTTCCTG	TCTTTCTTCGATCAACCCCA	Sí / Sí	HRM	2:45
MDP0000182948	GTTAGAGGGAGCTCTGGCG	GCTCCAATGCATAAAATTGC	Sí / Sí	Seqüenciació	7:71
MDP0000183819	AACCGTACCCGGATCCAT	TCTCCGGCAAAGATCGAG	Sí / Sí	Seqüenciació	1:28
MDP0000187312	CCCCATCAACAGACTCCACT	GGCATTTCATGTTCTGGCTG	Sí / No	HRM	-
MDP0000188396	TTGATATTTGGTGCCACTGA	GGGGGTTCCCAAACCTTAAA	No / -	-	-
MDP0000190478	GCGAGAGGCTTTGTTGAATC	GCAGATGATGCTCTCAGTCG	No / -	-	-
MDP0000191034	CTCCAGGATCAAGCTTCCTT	CTTCCTGTTCTCCTTGACG	Sí / Sí	HRM	4:18
MDP0000191110	TTATGGGCGGAAGGTCAAG	CAGGTTCCCTCCTCAAGTGAA	Sí / Sí	HRM	1:34
MDP0000191398	AGGGATGGGACTTGAAGTTG	AGTCTCGCTGAGCTTGGACC	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000193639	GGCATTCTCCGACAGACATT	AGAGCCTGCAGTCGTTTCTG	Sí / Sí	HRM	8:41
MDP0000194146	GCTGGACAGTTTGTCTATGGG	TTCATCCTCAGTCACCCACA	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000194340	AGCACCAAGGTTCCAGAAGA	GAGAGGCGAGGTCATCAAAC	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000195064	CCTAAAGGTGGACGTGGATG	TGCTTGGCAACTTTGATCTG	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000195885	TCCCAGTTGTTGACTTGAGC	TGCGACCATTTCCTTAAACC	Sí / Sí	HRM	4:18
MDP0000199386	GATCGTCTCCTGTCCCTTGC	CCATGCTTTATGCAAGCTGT	Sí / Sí	HRM	1:14
MDP0000204066	ACGTACCACTCGCAGGTGA	GCATAAGAACGGCAGCCTC	Sí / Sí	HRM	1:14
MDP0000215372	GACCTATGCCCAAGTTGCAG	TTGGTGACTTCGCTTGATTT	Sí / Sí	Seqüenciació	6:25
MDP0000217690	AACCCCAACAAGAAGATCGG	CCCACATTTAATCCTGGGCT	Sí / Sí	Seqüenciació	7:31

Marcador	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Amplificació / polimorfisme	Mètode de detecció <sup>1</sup>	Posició al mapa del presseguer <sup>2</sup>
MDP0000217948	CTTGCTGCAATAACAGGTCA	ATTCTGAGTGGCAAAAAGCA	Sí / Sí	HRM	3:12
MDP0000220005	GTCCTTTGCTGGGGCATC	TGTCCGGTGTTCCTGTCTA	Sí / Sí	HRM	8:41
MDP0000221809	GGCTTGTTTACAGGGGTAC	CCCAGCTAGTCCATTAGCCA	Sí / Sí	HRM	3:49
MDP0000222098	ACCGACCCTTCATCAGGAAA	AACTGCAATTGACTTCGGCT	Sí / Sí	HRM	7:25
MDP0000225700	GATGTCTTGCCTGAATTTGC	ATTTCCAGCAAGGGTCCG	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000230768	TCAAGGCTGCTAGCTTACCC	CATGTTTTGTGACAGGACCC	Sí / Sí	HRM	2:50
MDP0000231818	CATTTACCACCATAAGGCA	CAACCCCAACCACCTTAATC	Sí / Sí	HRM	4:46
MDP0000233179	GGGCACTGCATGGAAGTAGA	AATTCAAACCCAAGCAACTG	Sí / Sí	HRM	4:18
MDP0000234499	GGAGCACACTGAATGAGCC	GGAGCTGGTGGTGTGTTACC	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000235846	CTCACCAAGTACGGGTCAGA	CGTTGCAACATACCCATCAG	No / -	-	-
MDP0000237026	CAGCATGAATCCAATGTTGA	TCTTGGTCTGGTCCCTTTG	Sí / Sí	HRM	6:39
MDP0000238726	ATAAAATGCATGCACGAGGA	CTTGCAAGCATAGGGAAGC	Sí / Sí	Seqüenciació	2:08
MDP0000238936	GACCACATTGCGGATGATT	CTCCGTAAGTATCGCTTGGC	Sí / Sí	Seqüenciació	6:80
MDP0000240778	GTAAGTGAAGAAGCACGTCG	CTTCACTCAAAGCCCATTG	Sí / Sí	Seqüenciació	1:50
MDP0000242477	CTGGCCAAGAAATACCATGC	ACAGCAACTCCCATGCAAAG	No / -	-	-
MDP0000244366	CACAGGAGGCTGGGATAAAA	ATCGACAATGCACAGACCG	Sí / Sí	Seqüenciació	1:73
MDP0000245813	TCACCGGAGTAAAGTCCCAA	TGTTCTCCAAGCAGTCATGG	Sí / Sí	HRM	3:14
MDP0000255361	TGTCTGCCACCTCAAGTGAT	TGGCACTCGGAATTTAAACA	No / -	-	-
MDP0000255806	CCAAGTGGTGTGGGAAATC	TCTGCCCTTGCTGTGTCAGTC	Sí / Sí	HRM	5:21
MDP0000257364	CAAGACAAAACCTGTCCGAT	CCGGTATCGGCCATACTCTA	Sí / No	HRM	-
MDP0000257814	GACTGGTGCCTACTGGGT	ATCATCTCCCTCAGCGGACT	Sí / Sí	HRM	1:78
MDP0000258088	AGGAGTTGGCACAGGAAATG	AACTATTGGCATCGACCCAT	No / -	-	-

Marcador	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Amplificació / polimorfisme	Mètode de detecció <sup>1</sup>	Posició al mapa del presseguer <sup>2</sup>
MDP0000258781	TGGAAGTGGTTTCCCCCT	CCAGGAAATATTGCTCCCAG	Sí / Sí	Seqüenciació	1:34
MDP0000266406	GTGAAATACGACGACCCGTT	CAGATCCATACCCGCCATCT	Sí / No	HRM	-
MDP0000271244	GGGTCGCTATTGAGGGAAA	GTCACTGGCTGCCTTCAAAT	Sí / Sí	HRM	1:50
MDP0000271291	GCAGCATGAAGAGAACAAGG	CTCCGCTTCATTGCAGCTT	Sí / Sí	Polimorfisme en la longitud del fragment	4:46
MDP0000274009	GGGTCATGAACGTGGTCTCT	TCATGCGAACCTCCCACT	Sí / Sí	Seqüenciació	4:63
MDP0000278207	CTGCAAGAGCATCCACAACA	TTTTTCTTGGTGACGTCGTT	No / -	-	-
MDP0000279221	ATGAGGAGTGCCAGAAGAA	ACTCGACCACGAGCCAAC	Sí / Sí	Seqüenciació	4:18
MDP0000283542	AACTAGGCGCGCAGGATT	TTTCTCCAATGCACTTTTCC	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000284209	AGGTCCAACCTCTGTCGTGCT	CTGCAATCTGATCATCGGC	Sí / No	HRM	-
MDP0000284515	GCTATGTCCTCCGCCACTT	GTCCCTCAGGGTTCAAGGTT	Sí / Sí	Seqüenciació	1:50
MDP0000286029	AAGTGGTCAGGCGTTTCTCT	CATACTCTGGCATTTTCCCA	Sí / Sí	Polimorfisme en la longitud del fragment	1:78
MDP0000287300	TCACTTCTGGTGGAGCAC	TCCACACCGATATCTGCTCA	Sí / Sí	Seqüenciació	5:04
MDP0000288136	TCATCTGCCTCCTCCACTCT	GCTCGAAGTAGCATCGCC	Sí / Sí	HRM	4:18
MDP0000290370	ACAACAATTTGTGCCAGTGC	CAAAGGGTGGCATTTTTC	Sí / Sí	Seqüenciació	3:49
MDP0000290422	GAATGACCGGAGATGGTGTT	TCAGGACAGCACTGACAATC	Sí / No	HRM	-
MDP0000290669	GTGCACCCTTGTTGCCTT	CCTTCGAAGACCTCGCTGTA	Sí / Sí	Polimorfisme en la longitud del fragment	6:56
MDP0000291218	TCACCAGGCTACCTCACTGG	CAACAGCATCCCAACAACAC	Sí / Sí	Seqüenciació	5:42
MDP0000291654	TCAAAGCGAAAGCCTAGTGG	TAATCGCTCTGCAAATGACC	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000293008	CGCCGAGAGGAAGTTCATT	GCTCCGTAAGGGACCTCAGT	Sí / Sí	HRM	1:73
MDP0000293033	AGCATGGTTGCTGATGTTCA	GAATGACTGACCGCCTGC	Sí / Sí	HRM	8:11
MDP0000293986	GCCCCCTTCTTCCTTACAAA	TTCCTAAACCCAAACGGGAT	Sí / Sí	HRM	1:14
MDP0000294178	GAATTTCTCCGATTCGACG	ACAGTAGGGAAACCCTCGAC	Sí / Sí	HRM	6:25

Marcador	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Amplificació / polimorfisme	Mètode de detecció <sup>1</sup>	Posició al mapa del presseguer <sup>2</sup>
MDP0000297803	GGCTTGTTTACTGCTCAGCC	ACTCGCTCTCATTGTTCTC	Sí / Sí	Seqüenciació	6:45
MDP0000298408	TTGTTTCTCGTTCCTGGCA	CTTCATTGGTTGCAAAGCTG	Sí / Sí	Seqüenciació	8:60
MDP0000299357	CATCACAGACAGCTTGGA	ACTGCATAACCCCTCAAGC	Sí / No	HRM	-
MDP0000301367	GGGACGTTTGCAAATCACTG	CGCCTCACAGCTACCTCTA	No / -	-	-
MDP0000301950	AATGTCTCCAGGAAATCCCA	CAAATCAATGACCCCCACC	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000303241	TGGCAGTTGGGCAGTTTT	GCAAGAGGCCTAAGCTAGTG	Sí / Sí	HRM	3:49
MDP0000307555	GATCTGGTGTCCCTGATGCT	GGCCTTGCCTGCTATATCTT	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000308104	CCAATTCTCACAAAACCGC	AGTGCACGCAATTCGAAAG	Sí / Sí	HRM	1:15
MDP0000311522	CCAACGTGACGAGCAAGAT	GATCAAATAGGGTTGCCTGG	Sí / Sí	HRM	7:48
MDP0000315021	TCGACCTCCAGATCAACTCA	TGAGAGCAACAAGGCCACT	Sí / Sí	HRM	1:14
MDP0000316092	GCGTTGAGGAAAGAGCCTAT	CAGGGACACCTTTGGTTGC	Sí / Sí	Seqüenciació	8:60
MDP0000317051	CCTTGCAGCTCTGATCTTCC	AGAAAGGCCGTGAAGAATCC	Sí / No	HRM	-
MDP0000318208	GGCCACTTTGATGGGTGAGT	ACAGACCACCATCCTTTC	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000319777	AATAGTCTTCTTTTGC	AGCCTGCCTAATATGCTTCA	Sí / Sí	Seqüenciació	1:15
MDP0000319817	TCCTCGATTTGAGGCTCACT	AACAGCTCCAAGTCACCAAT	Sí / Sí	Polimorfisme en la longitud del fragment	8:41
MDP0000319973	CATACCCTTTGGGGACATCA	CCTGTTCAACCACCTTGATT	No / -	-	-
MDP0000320356	GGTCGTGGTGGTTACTATGG	GGTCAATGAAAGGAGTCCCA	Sí / No	HRM	-
MDP0000321891	GCAACATTTGGCAGAGAATG	CTCTCCCTTTGGTCACTGCT	No / -	-	-
MDP0000321903	TGTGCACATGCTGCTGCT	TAACATATGGCAGCGACCAC	Sí / No	HRM	-
MDP0000323611	AACCCAACAAGAAGATCGG	CCCACATTTAATCCTGGGCT	Sí / Sí	HRM	7:31
MDP0000324398	CCTCCCACCAAGACACAAAT	TGGGACATCTCCAACAAGC	No / -	-	-
MDP0000370712	CACGCCAACTTCACCAACTA	GCTGCCCTTCACATTATCG	Sí / Sí	HRM	7:31

Marcador	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Amplificació / polimorfisme	Mètode de detecció <sup>1</sup>	Posició al mapa del presseguer <sup>2</sup>
MDP0000375455	CAACGCTTACGGCTTCTGAT	AAATTCCTCATCGTGCCCT	Sí / No	HRM	-
MDP0000387626	TGTCGCCAACTGATTCTTCA	GGAGGTTTCTTCCCTCCACA	Sí / Sí	HRM	1:87
MDP0000398831	TCCAGATGAGATTGCAAAGC	TCAAACCACCTGATTTCT	No / -	-	-
MDP0000410984	AAGGACTACCGCAACATGGA	ATGTAGCCATGTCAGCTCCC	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000411779	ACAAATTGTTCTCCTCCCA	GGATAATGCCCTCTGGCG	Sí / No	HRM	-
MDP0000411929	CTCCTATGGGCCGTGCTC	CTTGACTCGAAGCTGGGCA	Sí / Sí	HRM	2:08
MDP0000414898	GCAAGGGGACATGTTGCT	GGATCCTCCTCGACACCAG	Sí / Sí	HRM	1:73
MDP0000416706	GAAGCAGCTGAAAGAGCTGG	TCGGTGAAATCTGCATCAAT	Sí / Sí	HRM	1:14
MDP0000429824	GAGCTTCACTTAAAAGCCA	CATTCTCCAGCCGCCTTCT	No / -	-	-
MDP0000448752	AGACGGGGACTTTGCTGAAC	GGATCAACCCTCACCCATAA	Sí / Sí	HRM	2:08
MDP0000466557	CTCCCCACCGAGCTAAT	CCTGCTCCAAACGGAAGTAG	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000475073	CAACGGCAAAGTTGTCCC	CCGATTGTGGTCCAGAGAC	Sí / Sí	Seqüenciació	2:13
MDP0000500656	ACCTCTTCAAGGATCCAGCA	TCCTCTCCCTTCCCATATCT	Sí / No	HRM	-
MDP0000521934	CGGTTCTGAAGGGGACTTG	CCATTGCTGCTGTTGATGTA	Sí / Sí	HRM	1:50
MDP0000522218	CAACTATGCTTTTGGTGAG	AGTGATTCAACACAGGGTCG	Sí / Sí	HRM	7:71
MDP0000527695	AGGCAGGAGGAGAGTGCCTA	GTTTGGTGTGACTGTGTGGC	Sí / Sí	Seqüenciació	6:80
MDP0000530903	AGCAGAGGAGGCACAGGAAG	CAGCACTCATGGCTCTCTCA	Sí / Sí	HRM	5:08
MDP0000531313	CCATCGAGTGGCTCCTCC	TATGGTCGGAGGTGGTGGT	No / -	-	-
MDP0000536732	ATGAAATGATGGAGGATGGG	TGAGCTTCATAGCCTCTTGG	No / -	-	-
MDP0000545425	CAGCAGTATACGGCAGCATC	TCTAACAGGGCCTTTTGCAG	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000547069	GAATGCCAATGCAGGTAATG	TTGGCGTTTGGGTAAACAT	Sí / Sí	HRM	6:80
MDP0000568273	GCTAGCTGCATCTTTGGGG	GCAATAAGGTGTGTGCAAGC	Sí / Sí	HRM	6:74

Marcador	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Amplificació / polimorfisme	Mètode de detecció <sup>1</sup>	Posició al mapa del presseguer <sup>2</sup>
MDP0000580952	GCTAAGGCATCGAAACATTG	ATCCTTGCCAACCCGAAAT	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000586151	TGCTTCATCACCATGCTCTC	GCCTTTCTCTTTCAACCACG	Sí / Sí	HRM	8:60
MDP0000588193	CCCTCCTCATTTGGGCTT	AGCTGATGGCATAAAGGTGG	Sí / Sí	HRM	3:06
MDP0000659511	ACTGCTCAGGTTTTGTTGGG	AGACAATGGGCCTCCCTATC	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000661325	AATGGAGGTGCAGAACCTAA	CTCTTCGAAACCTCCTTCC	Sí / Sí	HRM	2:28
MDP0000661533	TACGACTGCGTTTCATCCC	CATCTCCACACTGCGAACAG	Sí / Sí	Seqüenciació	5:04
MDP0000661960	AGGAGTTCATACCCCAAGC	CGGGATTTATCGGTGCAGTA	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000680183	ACCCTTTGATGGACTGGGTT	ATCTCAAAGCAACCTCTGGC	Sí / No	HRM	-
MDP0000683905	CTCACTCACCGAAATCGTT	AGATCAGGCTTCTTCTCGG	No / -	-	-
MDP0000690031	TCCTCAAGTTTCAAATCGCA	ACTGATGCGCCAGTCTTTTG	No / -	-	-
MDP0000709066	GACGACTCAGAGCCGCCTA	CTTCATGAGTTGGCTCCTCG	No / -	-	-
MDP0000713493	GAACACCTTCTGCAGTACC	CTCCATTAAATCCTGACGGC	No / -	-	-
MDP0000722943	CAACAGCTCCATCATCCTCA	CAGGGGTTGAGCATTGGATA	Sí / Sí	HRM	2:28
MDP0000734607	GGAAGTTGGCTTCAACTGGA	CACAAGCCTTAAAGACCCTG	Sí / No	HRM	-
MDP0000778016	CAGGATTTCTGCAGACAGGT	GGCAATCTCAACAGGGAAAC	Sí / No	HRM	-
MDP0000788934	CACTTTGCCCTCAGCCAG	GGAGCGGCTTAAGGATGAT	Sí / Sí	HRM	5:21
MDP0000794663	GTTACATCTGTGTTCCGGGC	AGAGATGGAAGCTGCAAGGA	Sí / Sí	Seqüenciació	5:46
MDP0000821787	GTGATGGAGGGGCTACCG	AATCCTCAACAACGACGCC	Sí / No	Seqüenciació	-
MDP0000822588	TTTCTCCTCAGACCTGCTC	TTTGCATTGACTTTAGGCCA	Sí / Sí	HRM	6:65
MDP0000828015	TCTGCACCCAAACCAAACCTT	CCGACTCCAAGCTCACATAA	Sí / Sí	HRM	3:49
MDP0000849292	ACTTCTCCCGCTCTCTCTC	TCTGAGTAGCCATTCTTGGG	Sí / Sí	HRM	1:14
MDP0000877582	CTCACGCAAGACCTTCATGG	ACTCCATGGTGGTTCCTGG	Sí / Sí	HRM	1:78

Marcador	Encebador directe (5'→3')	Encebador revers (5'→3')	Amplificació / polimorfisme	Mètode de detecció <sup>1</sup>	Posició al mapa del presseguer <sup>2</sup>
MDP0000936748	GCAAAGTGGCCAATGTCAA	TGGTGTGTTGCTGCTCTTC	Sí / Sí	HRM	4:18
MDP0000950533	TTGGCTGCATGAAAGTGTTG	CCCCTACAGGTTGCAGTCAA	Sí / No	HRM	-

<sup>1</sup>HRM = *High Resolution Melting*.

<sup>2</sup>Terminologia de la posició al mapa de bins tal com a Howad et al. 2005.





