

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2008.00578

陆地棉优质纤维 QTL 的分子标记筛选及优质来源分析

胡文静 张晓阳 张天真 郭旺珍*

(南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏南京 210095)

摘要: 利用陆地棉优质品系 7235、渝棉 1 号做亲本, 以 7235 × 渝棉 1 号的 F_2 与 $F_{2:3}$ 分离群体为材料, 开展不同来源棉花高强纤维 QTL 微卫星标记筛选, 为进一步进行优质纤维 QTL 聚合育种提供基础。通过 5 514 对 SSR 引物对亲本进行多态性筛选, 获得 117 个多态性标记, 用其中 80 个标记构建了总长为 1 147.8 cM 的遗传图谱; 应用复合区间作图法分析了该组合的 F_2 单株和 $F_{2:3}$ 家系纤维品质性状, 共检测到 36 个纤维品质数量性状基因座(QTL), 其中与纤维长度、比强度、细度、伸长率及整齐度相关的 QTL 各 6、8、7、8 和 7 个, 分别解释各性状表型变异的 3.4%~14.4%、5.0%~42.4%、6.5%~11.7%、5.1%~19.4%和 6.9%~14.0%。通过分析来源于 7235 和渝棉 1 号高强 QTL 的染色体分布, 表明两亲本在 D7、D8、D9 染色体上都存在控制纤维比强度的 QTL, 其中存在于 D7 和 D8 染色体上来自双亲的 QTL 紧密连锁, 成簇分布在染色体上的一定区间内。而在 D7 和 D9 染色体上也发现双亲完全相同的优质 QTL, 其优质供体可能来自陆地棉优质品系 PD4381。进一步分析了获得的 QTL 在聚合育种中的应用潜力。

关键词: 陆地棉; 纤维品质; QTL; 来源

Molecular Tagging and Source Analysis of QTL for Elite Fiber Quality in Upland Cotton

HU Wen-Jing, ZHANG Xiao-Yang, ZHANG Tian-Zhen, and GUO Wang-Zhen*

(National Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu, China)

Abstract: With the development and application of molecular biology technology in recent years, several genetic maps developed from different combinations have been constructed and lots of QTL controlling fiber quality or yield components detected, which makes the breeding procedure more effective, immediate and time-saving. In this paper, both F_2 and $F_{2:3}$ populations were constructed using two elite upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) strains (variety), 7235 and Yumian 1 as parents. Linkage analysis with SSR molecular markers revealed that 80 loci were mapped into 19 linkage groups that covered 1 147.8 cM genetic distance. A total of 36 QTLs were detected by composite interval mapping method, including 6 for fiber length, 8 for fiber strength, 7 for micronaire value, 8 for fiber elongation and 7 for fiber uniformity; and explained 3.4%–14.4%, 5.0%–42.4%, 6.5%–11.7%, 5.1%–19.4%, and 6.9%–14.0% of the corresponding phenotypic variations, respectively. Analysis of QTL distribution indicated that D7, D8, and D9 chromosomes were enriched with QTLs controlling fiber strength in both parents, among them those existed in D7 and D8 chromosomes were closely linked and two QTLs controlling fiber strength located respectively in D7 and D9 chromosomes were in the complete same position, which could be related with that both 7235 and Yumian 1 bear the pedigree of elite fiber accession PD4381. The utilization potential of the QTL of super quality in the pyramiding breeding was also discussed.

Keywords: *Gossypium hirsutum*; Fiber quality; QTL; Source

中国是世界主要产棉国之一, 随着我国加入世界贸易组织, 纺织品配额的取消, 纺织品出口形势

基金项目: 国家自然科学基金项目(30471104); 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2006AA10Z111); 教育部新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-04-0500); 教育部长江学者和创新团队发展计划项目(IRT0432); 科技部“十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAD13B04-1-08); 南京农业大学 SRT 项目(0501A08)

作者简介: 胡文静(1984–), 女, 安徽芜湖人, 硕士研究生, 研究方向: 棉花分子遗传。

*通讯作者(Corresponding author): 郭旺珍。E-mail: moelab@njau.edu.cn

Received(收稿日期): 2007-08-22; Accepted(接受日期): 2007-12-02.

越来越好,进而对棉花的需求越来越大,对纤维品质的要求也越来越高。传统的育种改良方法在棉花优质育种中发挥了重要作用。以棉属近缘野生种、海岛棉的优质基因为供体,通过杂交渐渗和回交转育的育种手段获得了一批优质棉基因资源材料^[1-10]。随着分子标记技术的不断发展、完善,国内外都开展了棉花遗传图谱的构建与纤维品质 QTL 的筛选与定位的研究工作^[11-20]。Yu 等^[12]利用海陆杂种的 F_2 群体进行纤维强度、长度和细度的 QTL 分析,在不同连锁群上标记出 3 个强度及 5 个细度基因;Kohel 等^[14]利用 TM-1 和 3-79 组合,定位了 13 个 QTL,其中有 4 个与强度相关,3 个与长度相关,6 个与细度相关;沈新莲等^[18]利用 7235、PD6992 和 HS427 三个陆地棉高强纤维种质系构建了 3 个种内连锁图,共筛选到 38 个与纤维品质有关的 QTL。王娟等^[20]利用渝棉 1 号和 TM-1 的 F_2 、 $F_{2.3}$ 分离群体,标定了一批来源于渝棉 1 号的优质 QTL。不同来源的优质 QTL 筛选为研究优质棉基因的来源以及聚合多个非等位的优质棉基因用于品质改良提供了理论依据。

本研究旨在通过对不同来源的优质 QTL 进行染色体定位分析及育种可利用性评价,从而聚合不同来源的、控制高强纤维的 QTL,培育纤维品质特别优异的单株材料,为育种应用创造优质基础资源。

1 材料与方法

1.1 群体构建

7235 系棉属野生种异常棉(*G. anomalum*)渐渗的陆地棉高强纤维种质系^[4],渝棉 1 号为高产高品质陆地棉品种^[8]。2004 年夏以 7235 为母本,渝棉 1 号为父本在南京农业大学江浦试验站配制杂交组合,年底 F_1 种子送海南自交得到 F_2 种子。2005 年春将 (7235 × 渝棉 1 号) F_2 种于南京农业大学江浦试验站,共 260 个单株。经自交,获得 $F_{2.3}$ 种子。2006 年将 260 个 $F_{2.3}$ 家系种植于南京农业大学江浦试验站,采用完全随机设计,共 260 行,行长 5.0 m,行距 80 cm,每行 12 株,以使用 $F_{2.3}$ 株行中单株纤维品质的平均值来估算 F_2 的单株水平。

分别于 2005、2006 年秋吐絮后取样, $F_{2.3}$ 家系在各株行每个单株中部采摘一个棉铃将其混合作为该家系的样品。将亲本、 F_2 单株及 $F_{2.3}$ 家系棉样送到农业部棉花品质检测中心检测纤维品质。检测指标

包括纤维长度、比强度、马克隆值、伸长率和整齐度,采用 HVICC 校准水平。

1.2 叶片 DNA 提取及 SSR 分析

采用 CTAB 法^[21]提取 F_2 单株叶片 DNA; 5514 对 SSR 引物分别来自基因组 SSR 和 EST-SSR 序列,其引物信息可从 <http://www.genome.clemson.edu/projects/cotton> 网站获得。*Taq* 酶、dNTPs 和 PCR 反应的其他试剂购自北京天为时代公司。SSR 标记的 PCR 扩增与 PAGE 电泳、银染分析均参照张军等^[22]报道的方法。

1.3 数据分析

利用 Mapmaker/exp3.0b^[23]分析标记之间的连锁关系,构建分子遗传图谱(LOD 值最小为 3.0,最大遗传距离为 50 cM);利用 Windows QTL Cartographer 2.0^[24]对纤维品质性状进行复合区间作图^[25],检测纤维品质性状的 QTL (LOD 阈值设为 2.0,即当标记区间 LOD 2.0 时,认为该区间对应最高点存在一个 QTL),同时计算每个 QTL 对相应性状的贡献率(R^2)、加性效应(A)和显性效应(D)。其中, QTL 遗传作用方式按 Stuber 等^[26]的标准,即用 D/A 绝对值来判断每个 QTL 的作用效应,小于 0.20 时该 QTL 作用为加性效应,0.21~0.80 为部分显性效应,0.81~1.20 为显性效应,大于 1.20 为超显性效应。

将连锁群上的 SSR 标记与本研究所构建的海陆种间遗传连锁图谱^[27]比较,确定连锁群所属的染色体。参照水稻^[28]中 QTL + 性状 + 染色体 + QTL 个数的方法命名 QTL,其中 QTL 以小写“*q*”表示,性状以英文缩写表示。

2 结果分析

2.1 亲本及群体纤维品质

2005—2006 年纤维品质性状检测结果表明,亲本 7235 表现长、强、细的优质纤维性状,纤维综合指标优异;渝棉 1 号纤维比强度高,纤维长度略低于 7235,其他性状相当。 F_2 及 $F_{2.3}$ 家系纤维品质的 5 个性状均呈连续性分布,表明这些性状属多基因控制的数量性状。通过计算分离群体纤维品质数据的偏度和峰度来估计是否符合正态性分布,结果表明,除在 F_2 群体中纤维整齐度偏度的绝对值超过 1.0,偏离正态分布外,其余性状无论在 F_2 和 $F_{2.3}$ 分离群体中均呈正态分布(表 1)。

表 1 亲本、F₂ 和 F_{2:3} 纤维品质性状的基本统计特征
Table 1 Basic statistic characteristics of fiber qualities for parents, F₂, and F_{2:3}

性状 Trait	7235		Yumian 1		F ₂ (2005)				F _{2:3} (2006)			
	2005	2006	2005	2006	均值 Mean	变异值 Variance	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis	均值 Mean	变异值 Variance	偏度 Skewness	峰度 Kurtosis
纤维长度 Fiber length (mm)	29.18	31.40	28.19	30.07	29.52	1.49	-0.15	-0.24	28.66	1.23	0.40	0.54
纤维比强度 Fiber strength (cN tex ⁻¹)	34.53	39.51	34.61	39.10	32.90	10.87	0.13	0.38	34.91	6.91	-0.11	0.08
马克隆值 Micronaire	4.41	4.22	4.43	4.90	3.84	0.20	-0.51	0.54	4.77	0.15	0.20	0.72
伸长率 Elongation (%)	5.92	4.11	4.60	4.41	6.04	0.56	-0.59	-0.59	4.64	0.16	0.79	1.69
整齐度 Uniformity (%)	82.00	86.52	83.13	85.60	83.24	2.27	-1.23	2.88	84.90	0.92	-0.03	0.12

2.2 SSR 标记多态性及连锁图谱构建

应用 5 514 对 SSR 引物对试验组合的亲本进行分子标记的多态性筛选, 得到多态性引物 117 对, 多态率为 2.12%。其中共显性标记 103 个, 占多态标记的 88.0%。

进一步利用 Mapmaker/Exp3.0b 软件构建遗传

连锁图谱(图 1)。117 个标记位点中, 80 个位点分布在 19 个连锁群上, 总长 1 147.8 cM, 覆盖棉花基因组 22.7%。标记间平均距离 14.4 cM。最长连锁群为 216.8 cM, 包含 9 个标记; 最短连锁群为 4.5 cM, 包含 5 个标记。标记之间遗传距离最小为 0.5 cM, 最大为 40.3 cM。其余 37 个标记未进入任何连锁群。

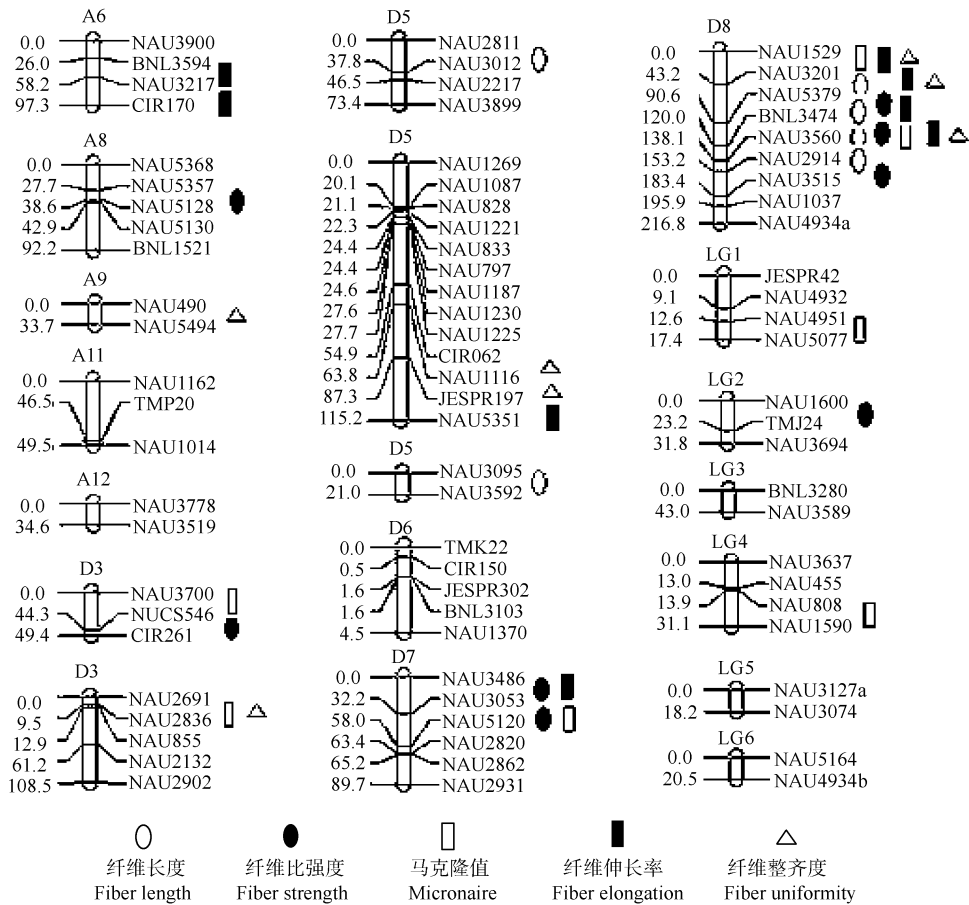


图 1 群体(7235 × 渝棉 1 号)F₂、F_{2:3} 的连锁图及纤维品质性状 QTL 的染色体定位
Fig. 1 Genetic linkage map and QTL location for (7235 × Yumian 1) F₂ and F_{2:3}

通过染色体定位, 13 个连锁群与 10 条染色体建立了联系, 分别是 A6、A8、A9、A11、A12、D3、D5、D6、D7、D8; 其余 6 个连锁群未与任何染色体或亚组建立联系, 暂定为 LG1-LG6。

2.3 标记的偏分离

对 F₂ 群体单株分子标记分离比例的卡方测验显示, 117 个标记中有 51 个偏离孟德尔分离比例, 所占

有多态标记的 43.6%。其中 10 个(19.6%)位点偏向 7235 基因型, 38 个(74.5%)位点偏向渝棉 1 号基因型, 3 个(5.9%)位点偏向杂合基因型; 整合进连锁图谱的 31 个偏分离位点主要集中在 D3(8 个)、D5(6 个)、D6(5 个)和 D8(4 个)染色体上, 而且 22 个偏向于渝棉 1 号; 与 QTL 连锁的 19 个偏分离标记中, 11 个偏向于渝棉 1 号, 而且相应的 QTL 效应均来自渝棉 1 号(表 2)。

表 2 与渝棉 1 号 QTL 连锁的偏分离标记
Table 2 Distorted molecular markers linked with QTL from Yumian 1

QTL	染色体或连锁群 Chr. or LG	偏分离标记 Distorted marker	区间 Interval	标记偏分离方向 Distorted direction	贡献亲本 Donor
<i>qFS-D3-1</i>	D3	CIR261	MUCS546–CIR261	渝棉 1 号 Yumian 1	渝棉 1 号 Yumian 1
<i>qFM-D3-1</i>	D3	NAU2691, NAU2836	NAU2691–NAU2836	渝棉 1 号 Yumian 1	渝棉 1 号 Yumian 1
<i>qFU-D3-1</i>	D3	NAU2691, NAU2836	NAU2691–NAU2836	渝棉 1 号 Yumian 1	渝棉 1 号 Yumian 1
<i>qFU-D5-2</i>	D5	JESPR197	JESPR197–NAU1116	渝棉 1 号 Yumian 1	渝棉 1 号 Yumian 1
<i>qFE-D5-1</i>	D5	JESPR197, NAU5351	JESPR197–NAU5351	渝棉 1 号 Yumian 1	渝棉 1 号 Yumian 1
<i>qFL-D5-1</i>	D5	NAU2811, NAU3012	NAU2811–NAU3012	渝棉 1 号 Yumian 1	渝棉 1 号 Yumian 1
<i>qFS-D8-3</i>	D8	NAU5379, BNL3474	NAU5379–BNL3474	渝棉 1 号 Yumian 1	渝棉 1 号 Yumian 1
<i>qFE-D8-2</i>	D8	NAU5379, BNL3474	NAU5379–BNL3474	渝棉 1 号 Yumian 1	渝棉 1 号 Yumian 1
<i>qFM-D8-2</i>	D8	NAU1529	NAU1529–NAU3201	渝棉 1 号 Yumian 1	渝棉 1 号 Yumian 1
<i>qFE-D8-1</i>	D8	NAU1529	NAU1529–NAU3201	渝棉 1 号 Yumian 1	渝棉 1 号 Yumian 1
<i>qFU-D8-1</i>	D8	NAU1529	NAU1529–NAU3201	渝棉 1 号 Yumian 1	渝棉 1 号 Yumian 1
<i>qFM-LG1-1</i>	LG1	NAU4951	NAU4951–NAU5077	渝棉 1 号 Yumian 1	渝棉 1 号 Yumian 1

2.4 QTL 作图

用复合区间作图法从 F₂ 和 F_{2:3} 分离世代中共检测到 36 个与纤维品质有关的 QTL, 其中纤维长度 6 个, 纤维比强度 8 个, 马克隆值 7 个, 纤维伸长率 8 个, 整齐度 7 个(表 3)。

与纤维长度有关的 QTL 中, *qFL-D8-1* 仅在 F₂ 中检测到, *qFL-D8-2*、*qFL-D8-3*、*qFL-D8-4* 仅在 F_{2:3} 中检测到, 它们位于 D8 染色体的相邻区间, 分别解释 5.5%~11.1%的表型变异, 增效基因都来自 7235; 另外两个 QTL 位于 D5 染色体, 只能在 F₂ 或 F_{2:3} 中检测到, 增效基因分别来自渝棉 1 号和 7235, 各自解释表型变异的 14.4%和 3.4%。

与纤维比强度有关的 QTL 中, 位于 D8 染色体的 *qFS-D8-1* 同时在 F₂ 和 F_{2:3} 检测到, 分别解释 8.0%和 6.1%的表型变异, 增效基因来自 7235。 *qFS-D8-2* 仅能在 F₂ 中检测到, 对群体变异的贡献率为 42.4%, 但其作用方式主要由超显性引起(D/A = 11.44), 增效基因来自渝棉 1 号。其余 6 个 QTL 分别位于 A8、D3、D7 及 LG2 染色体或连锁群上, 仅能在 F₂ 或 F_{2:3}

中检测到, 解释 5.0%~14.0%的表型变异。

与马克隆值有关的 7 个 QTL 仅能在 F₂ 或者 F_{2:3} 检测到, 解释 6.5%~11.7%的表型变异, 增效基因分别来自两个亲本。

与纤维伸长率有关的 QTL 中, 位于 D8 染色体的 *qFE-D8-4* 能同时在 F₂ 和 F_{2:3} 检测到, 分别解释 8.9%和 12.2%的表型变异, 增效基因都来自渝棉 1 号。 *qFE-D8-1*、*qFE-D8-2* 与 *qFE-D8-3* 位于 D8 染色体的相邻标记区间, 增效基因都来自渝棉 1 号, 解释 6.9%~11.0%的表型变异。在 A6 染色体的相邻标记区间检测到了 F_{2:3} 中存在的 *qFE-A6-1*、*qFE-A6-2*, 表型变异贡献率 7.3%、8.7%, 增效基因来源分别为渝棉 1 号、7235。另外两个 QTL 分别位于 D5 和 D7 染色体。

控制纤维整齐度的 QTL 中, 3 个分布在 D8 染色体的相邻标记区间, 其余 4 个分别位于 A9、D3、D5 染色体, 解释 6.9%~14.0%的表型变异。其中 5 个 QTL 的增效基因来源于渝棉 1 号, 2 个来自 7235。

表 3 (7235 × 渝棉 1 号)F₂ 和 F_{2:3} 中纤维品质性状 QTL
Table 3 QTL for fiber traits in (7235 × Yumian 1) F₂ and F_{2:3} populations

QTL	世代 Generation	区间 Interval	染色体或连 锁群 Chr. or LG	位置 Position (cM)	LOD	加性效应 A	显性效应 D	D/A	R ² (%)	方向 Direction
<i>qFL-D5-1</i>	F ₂	NAU2811–NAU3012	D5	12.01	3.25	−0.59	−0.38	0.64	14.4	Yumian 1
<i>qFL-D5-2</i>	F _{2:3}	NAU3095–NAU3592	D5	2.01	2.05	0.25	0.08	0.32	3.4	7235
<i>qFL-D8-1</i>	F ₂	BNL3474–NAU3560	D8	4.00	3.12	0.40	0.50	1.25	12.1	7235
<i>qFL-D8-2</i>	F _{2:3}	NAU3201–NAU5379	D8	8.04	4.30	0.47	0.17	0.36	10.5	7235
<i>qFL-D8-3</i>	F _{2:3}	NAU5379–BNL3474	D8	10.10	2.73	0.04	0.61	15.25	8.2	7235
<i>qFL-D8-4</i>	F _{2:3}	NAU3560–NAU2914	D8	0.00	3.23	0.23	0.23	1.00	5.5	7235
<i>qFS-A8-1</i>	F ₂	NAU5357–NAU5128	A8	4.05	3.27	−1.49	−0.53	0.36	8.3	Yumian 1
<i>qFS-D3-1</i>	F _{2:3}	MUCS546–CIR261	D3	0.00	2.43	−0.18	1.15	−6.39	5.0	Yumian 1
<i>qFS-D7-1</i>	F ₂	NAU3486–NAU3053	D7	28.11	2.18	−1.11	−2.06	1.86	13.2	Yumian 1
<i>qFS-D7-2</i>	F ₂	NAU3053–NAU5120	D7	3.97	2.91	−1.14	−2.13	1.87	14.0	Yumian 1
<i>qFS-D8-1</i>	F ₂	BNL3474–NAU3560	D8	2.00	2.33	1.13	0.86	0.76	8.0	7235
	F _{2:3}	BNL3474–NAU3560	D8	8.00	2.87	0.34	1.08	3.18	6.1	7235
<i>qFS-D8-2</i>	F ₂	NAU2914–NAU3515	D8	23.90	3.00	−0.09	1.03	−11.44	42.4	Yumian 1
<i>qFS-D8-3</i>	F _{2:3}	NAU5379–BNL3474	D8	16.10	3.30	−0.43	1.61	−3.74	10.5	Yumian 1
<i>qFS-LG2-1</i>	F _{2:3}	NAU1600–TMJ24	LG2	10.00	2.66	0.75	−0.66	−0.88	6.2	7235
<i>qFM-D8-1</i>	F ₂	BNL3474–NAU3560	D8	2.00	4.03	1.13	0.86	0.76	8.0	7235
<i>qFM-D8-2</i>	F _{2:3}	NAU1529–NAU3201	D8	6.01	2.47	−0.67	1.20	−1.80	6.5	Yumian 1
<i>qFM-D3-1</i>	F ₂	NAU2691–NAU2836	D3	9.48	2.07	−0.09	−0.21	2.33	8.3	Yumian 1
<i>qFM-D3-2</i>	F _{2:3}	NAU3700–MUCS546	D3	36.01	2.04	0.08	0.23	2.87	11.7	7235
<i>qFM-D7-1</i>	F _{2:3}	NAU3053–NAU5120	D7	16.97	2.39	−0.16	−0.11	0.69	9.8	Yumian 1
<i>qFM-LG1-1</i>	F ₂	NAU4951–NAU5077	LG1	1.98	2.16	−0.14	−0.19	1.36	10.1	Yumian 1
<i>qFM-LG4-1</i>	F ₂	NAU808–NAU1590	LG4	0.04	4.55	0.10	0.20	2.00	6.5	7235
<i>qFE-A6-1</i>	F _{2:3}	BNL3594–NAU3217	A6	24.00	3.15	−0.08	−0.15	1.88	7.3	Yumian 1
<i>qFE-A6-2</i>	F _{2:3}	NAU3217–CIR170	A6	12.38	2.60	0.10	−0.15	−1.50	8.7	7235
<i>qFE-D8-1</i>	F ₂	NAU1529–NAU3201	D8	8.01	2.10	−0.25	0.72	−2.88	11.0	Yumian 1
<i>qFE-D8-2</i>	F _{2:3}	NAU3201–NAU5379	D8	16.04	2.95	−0.15	−0.04	0.27	7.5	Yumian 1
<i>qFE-D8-3</i>	F _{2:3}	NAU5379–BNL3474	D8	24.10	2.11	−0.08	−0.16	2.00	6.9	Yumian 1
<i>qFE-D8-4</i>	F ₂	BNL3474–NAU3560	D8	0.00	2.12	−0.33	−0.01	0.03	8.9	Yumian 1
	F _{2:3}	BNL3474–NAU3560	D8	12.00	2.48	−0.15	−0.17	1.13	12.2	Yumian 1
<i>qFE-D5-1</i>	F _{2:3}	JESPR197–NAU5351	D5	20.00	2.71	−0.09	−0.01	0.11	5.1	Yumian 1
<i>qFE-D7-1</i>	F ₂	NAU3486–NAU3053	D7	22.01	2.16	0.20	0.62	3.10	19.4	7235
<i>qFU-A9-1</i>	F ₂	NAU490–NAU5494	A9	0.01	2.30	0.29	−0.83	−2.86	8.9	7235
<i>qFU-D8-1</i>	F ₂	NAU1529–NAU3201	D8	0.01	3.24	−0.05	−0.90	18.00	6.9	Yumian 1
<i>qFU-D8-2</i>	F ₂	BNL3474–NAU3560	D8	0.00	2.22	0.61	0.60	0.98	11.1	7235
<i>qFU-D8-3</i>	F _{2:3}	NAU3201–NAU5379	D8	15.04	6.15	−0.18	0.04	−0.22	9.6	Yumian 1
<i>qFU-D3-1</i>	F ₂	NAU2691–NAU2836	D3	4.01	3.18	−0.06	−0.30	5.00	12.6	Yumian 1
<i>qFU-D5-1</i>	F ₂	CIR062–NAU1116	D5	5.97	2.84	−0.61	0.23	−0.38	7.6	Yumian 1
<i>qFU-D5-2</i>	F ₂	NAU1116–JESPR197	D5	12.04	3.04	−0.87	0.69	−0.79	14.0	Yumian 1

位置(cM): 连锁群上的第一标记到 QTL 所在位置的图距; R²: QTL 解释性状的表型变异; 方向: 性状的贡献亲本。

Position: the distance from the first maker in linkage group to the estimated location of the QTL in centiMorgans; R²: phenotypic variation explained by a single QTL; Direction: the donor parent of QTL.

2.5 7235 和渝棉 1 号优质亲本高强 QTL 的来源分析

利用(7235×TM-1)^[18]和(渝棉 1 号×TM-1)^[20]F₂ 与 F_{2:3} 分离群体, 我们已初步获得一批与纤维品质相

关的 QTL(表 4)。结合本研究配制的 2 个优质亲本的分离群体获得的优质 QTL 分析, 发现 D7、D8 和 D9 染色体是这 2 个亲本的优质 QTL 富集区, 且在不同的组合中均表现稳定(表 4)。

表 4 来源于(7235 × TM-1)、(渝棉 1 号 × TM-1)和(7235 × 渝棉 1 号)组合的纤维品质 QTL 在染色体上的位置
Table 4 Location of QTL for fiber traits in (7235 × TM-1), (Yumian 1 × TM-1), and (7235 × Yumian 1) combinations

组合 Combination	纤维品质 QTL 在染色体上的位置 Location of QTL for fiber traits on the chromosome			
	纤维长度 Fiber length	纤维比强度 Fiber strength	马克隆值 Micronaire	伸长率 Elongation
7235 × TM-1	A7、D6、D11	D7(7/BNL1122-BNL1017)	D1	A5
	D8(7/BNL3474-JESPR127)	D8(7/BNL3474-NAU1322)	D6	
		D9(7/BNL1317-NAU923)	D9	
渝棉 1 号 × TM-1 Yumian 1 × TM-1	D9	D7(Y/BNL1122-BNL1017)	D12	D2
		D9(Y/BNL1317-NAU923)	D13	
7235 × 渝棉 1 号 7235 × Yumian 1	D5	A8(Y), D3(Y), LG2(7)	D3	A6
	D8(7/BNL3474-NAU3560)	D7(Y/NAU3053-NAU5120)	D7	D5
		D7(Y/NAU3486-NAU3053)	D8	D7
		D8(7/BNL3474-NAU3560)		D8
		D8(Y/NAU5379-BNL3474)		
		D8(Y/NAU2914-BNL3515)		

括号内“7、Y”分别表示 7235、渝棉 1 号; “/”后内容表示对应 QTL 所在的标记区间。

“7、Y” in the bracket indicate 7235 and Yumian 1, respectively. Information after the “/” shows the marker intervals of the corresponding QTL.

在 D7 染色体上, 利用(7235×渝棉 1 号)分离群体在 NAU3486~NAU5120 区间检测到 2 个连锁的高强 QTL, 其优质贡献亲本来自渝棉 1 号, 但在(渝棉 1 号×TM-1)分离群体中未检测到, 进一步分析这 2 个高强 QTL 的作用方式主要以超显性为主; 我们在另一优质材料 HS427 中检测到存在于 D7

染色体上的另一个高强 QTL 位于 BNL1122~BNL1017 区间^[18], 但利用该 QTL 两侧分子标记跟踪检测发现其分子带型在 7235 和渝棉 1 号中与 HS427 中完全一样(图 2), 推测 HS427、7235 和渝棉 1 号这 3 个优质材料在 D7 染色体上都存在该高强 QTL。

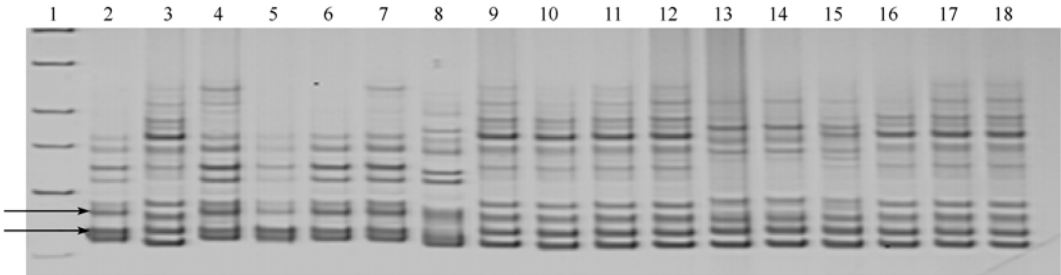


图 2 用 BNL1122 标记检测 7235 与渝棉 1 号在 D7 染色体上的相同 QTL 来源

Fig. 2 The detection of the same QTL located on D7 chromosome from 7235 and Yumian 1 using SSR marker of BNL1122

箭头所示为多态性条带。1: 分子量标记; 2: HS427; 3: TM-1; 4: Acala 3080; 5: PD4381; 6: 7235; 7: 渝棉 1 号; 8: 海 7124; 9: PD6992; 10: 苏棉 12; 11: 苏棉 16; 12: 中棉所 35; 13: 泗棉 3 号; 14: 中棉所 41; 15: SGK321; 16: 743208; 17: 743209; 18: 低酚棉品系。

Arrows show polymorphic bands. 1: size marker; 2: HS427; 3: TM-1; 4: Acala 3080; 5: PD4381; 6: 7235; 7: Yumian 1; 8: Hai 7124; 9: PD6992; 10: Sumian 12; 11: Sumian 16; 12: Zhongmiansuo 35; 13: Simian 3; 14: Zhongmiansuo 41; 15: SGK321; 16: 743208; 17: 743209; 18: low phenol cotton strains.

在 D8 染色体上, 发现 3 个连锁的高强 QTL 区, 其中 1 个的贡献亲本来自 7235, 2 个来自渝棉 1 号。来自 7235 的高强 QTL 在(7235×TM-1)分离群体中也检测到, 再次证明该 QTL 是一个不受环境、群体影响的稳定 QTL^[15]。另外 2 个来自渝棉 1 号的高强 QTL 在(7235×渝棉 1 号)分离群体中检测到, 而在(渝棉 1 号×TM-1)分离群体中未检测到, 它们的作用方

式是以超显性为主。

尽管在(7235×TM-1)、(渝棉 1 号×TM-1)组合中均检测到 D9 染色体 BNL1317~NAU923 标记区间的纤维比强度 QTL, 贡献亲本分别为 7235、渝棉 1 号, 但是在(7235×渝棉 1 号)分离群体未检测到; 利用这些 QTL 两侧的分子标记跟踪检测发现相应的分子带型在 7235 和渝棉 1 号中完全一样, 推测在这两个优

质亲本的 D9 染色体上也存在同样的高强 QTL。

由于 7235 和渝棉 1 号的选育过程中均有优质材料 PD4381 的遗传背景,进一步对来源于 D7 和 D9 的 2 个高强 QTL 进行优质基因可能供体的分子标记跟踪分析。其中,来源于 D7 染色体的相同 QTL 利用 BNL1122 和 BNL1017 标记检测,来源于 D9 染色体上的相同 QTL 利用 BNL1317 和 NAU923 标记检测,结果表明,来源于 7235 和渝棉 1 号 D7 和 D9 染色体上相同的 QTL 也出现在其相同的供体亲本 PD4381 中。因此,推测位于 D7 和 D9 染色体上且在 7235 和渝棉 1 号中表现相同的 QTL 可能与它们都携带有 PD4381 遗传背景有关,其优质供体可能均是 PD4381(图 2)。

3 讨论

3.1 关于亲本的选择与亲本间标记的低多态性

亲本的选择直接影响构建连锁图谱的难易程度及所构建图谱的适用范围。一般情况下,应选择亲缘关系较远、多态性高的品种或材料作为构建分离群体的亲本。棉花上,陆地棉种内品种(材料)间的多态性低于种间品种(材料)。本研究所选用的两个亲本间纤维品质方面的差别不大,标记的多态性较一般陆地棉种内还低(仅 2.12%),从而导致构建的遗传图谱密度较低。然而这两个亲本都具有优异的纤维品质,通过对它们的分离后代的纤维品质 QTL 分析,能够揭示出分别来源于两个亲本的、控制优质纤维的 QTL;在明确了它们的作用方式及作用效果后,可以有目的地聚合分别来源于两个亲本的有利 QTL,从而在纤维品质育种中加以利用。

3.2 标记的偏分离

DNA 标记偏分离现象在棉花基因组中普遍存在^[16,18,29-30]。引起偏分离的原因很多,而许多成簇分布的偏分离是由配子体选择或合子选择引起的^[31]。现有的研究发现在不同亲本组合中偏分离标记在染色体上的聚集区段不一致;Song 等^[27]、Han 等^[32]在利用海陆杂交 BC₁ 群体构建四倍体棉花遗传图谱时发现在染色体 A2、A3、A7 和连锁群 LGA01 上存在偏分离标记聚集区段。本研究中,与 QTL 紧密连锁的 19 个偏分离标记中的 11 个偏向于渝棉 1 号,而且相应 QTL 的效应来自渝棉 1 号,主要集中在 D3、D5、D8 染色体上(表 2),推测这些偏分离位点上优势存在的等位基因来源于渝棉 1 号,相应的染色体区段可能属于偏分离热点区域(SDRs)。采用相对高

的 LOD 阈值或使用抽样群体作图、比较作图是处理偏分离标记的较好方法^[31]。

3.3 QTL 的成簇分布

已经在许多研究中发现控制棉花不同纤维性状的 QTL 在染色体(连锁群)上有成簇分布的现象。Shen 等^[18]在研究 7235、PD6992 和 HS427 三个陆地棉高强纤维种质系所鉴定的 QTL 发现,成簇分布主要出现在 A10、D8 和 D9;He 等^[33]在海陆杂交群体中发现,A3、A8 和 D9 是棉花重要经济性性状 QTL 的成簇分布区;Ulloa 等^[34]在陆陆品种间杂交群体中也发现标记 A42B1b 附近的 1 个 QTL 能解释 4.8% 的衣分、24.6% 的纤维比强度、11.5% 的 2.5% 跨长和 11.3% 的纤维周长变异,认为控制纤维品质有关的基因在棉花同一染色体上可能簇生。本研究中,D7 和 D8 染色体出现控制纤维品质性状的多个 QTL 聚集的情况,说明 D7 和 D8 染色体在纤维品质的形成及表现中有着重要作用。染色体上临近位置同时存在控制不同纤维品质的 QTL 的现象部分地解释了纤维性状间的表型相关,但是不能区分这种现象是基因连锁还是一因多效引起的。

3.4 优质 QTL 来源及在聚合育种中的应用

目前,本实验室已鉴定出来源于 4 个陆地棉高强纤维种质系 7235、PD6992、HS427 和渝棉 1 号的 QTL^[18,20]。利用上述低×高组合揭示出不同优质供体的 QTL 有集中分布的趋势,主要分布在 D7、D8 和 D9 染色体上。在本研究中,我们进一步配制了(7235×渝棉 1 号)的高×高组合,揭示出来源于 7235 和渝棉 1 号的优质 QTL 在 D7 和 D8 染色体上成簇分布,而在 D7 和 D9 染色体上有双亲完全相同的优质 QTL。说明现有陆地棉优质纤维种质系的种质来源可能相似。

通过对(7235×TM-1)、(渝棉 1 号×TM-1)和(7235×渝棉 1 号)组合中检测到的纤维品质 QTL 综合分析,发现在(7235×渝棉 1 号)的高×高组合中,检测到了许多表现为显性或超显性遗传的 QTL。如在(渝棉 1 号×TM-1)组合中仅在 D9 染色体上检测到一个来源于渝棉 1 号的纤维比强度 QTL,但在(7235×渝棉 1 号)的组合中,共检测到 6 个来源于渝棉 1 号的比强度 QTL(表 4),这些 QTL 主要表现为超显性遗传的方式(表 3)。说明基因互作在纤维品质性状遗传中的重要性,预示着在高×高的优质育种进程中有望通过基因互作获得纤维品质优于双亲的优异材料。在(7235×渝棉 1 号)的 F₂ 和 F_{2:3} 分离群体中,结

合纤维品质检测结果和分子标记筛选结果, 我们已从 $F_{2:3}$ 家系中获得一批纤维长度大于 31.0 mm, 纤维比强度大于 42.0 cN tex^{-1} , 马克隆值小于 4.0 的优质纯合品系, 这些优质基因资源材料将用作优质纤维品质育种的材料。

4 结论

利用(7235×渝棉 1 号) F_2 和 $F_{2:3}$ 分离群体及 80 个 SSR 标记位点构建了总长为 1 147.8 cM 的遗传图谱。在 F_2 和 $F_{2:3}$ 世代中共检测到 36 个与纤维品质相关的 QTL, 其中与纤维长度、比强度、细度、伸长率及整齐度有关的 QTL 各 6、8、7、8 和 7 个。两亲本在 D7、D8 和 D9 染色体上都存在控制纤维强度的 QTL; 在 D7 和 D8 染色体上来源于双亲的优质 QTL 成簇分布于染色体的一定区间内, 而位于 D7 和 D9 染色体上存在双亲完全相同的优质 QTL。说明 7235 和渝棉 1 号的种质来源有一定相似性。

致谢: 感谢南京农业大学 SRT 项目(0501A08)小组成员宋丽珍、范明珠、李振羽在前期实验部分的工作。

References

- [1] Beasley J O. The origin of the American tetraploid *Gossypium* species. *Am Nat*, 1940, 74: 285–286
- [2] Culp T W, Harrell D C, Kerr T. Some genetic implications in the transfer of high fiber strength genes to Upland cotton. *Crop Sci*, 1979, 19: 481–483
- [3] Culp T W. Simultaneous improvement of lint yield and fiber quality in upland cotton. In: Proceedings from Cotton Fiber Cellulose: Structure, Function, and Utilization Conference. Memphis, TN: National Cotton Council of American, 1992. pp 247–288
- [4] Qian S-Y(钱思颖), Huang J-Q(黄骏麒), Peng Y-J(彭跃进), Zhou B-L(周宝良), Ying M-C(应苗成), Shen D-Z(沈端庄), Liu G-L(刘桂玲), Hu T-X(胡廷馨), Xu Y-J(徐英俊), Gu L-M(顾立美), Ni W-C(倪万潮), Chen S(陈松). Study on hybridization of *Gossypium hirsutum* L. × *G. anomalum* Wawr. & Peyr. and application in breeding. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 1992, 25(6): 44–51 (in Chinese with English abstract)
- [5] Hu S-A(胡绍安), Cui R-X(崔荣霞), Wang K-B(王坤波), Wang C-Y(王春英), Yao C-B(姚长兵), Li S-H(黎绍惠). Studies on interspecific hybridization between the cultivated and the wild species in *Gossypium* and selection of new genotypes. *Cotton Sci* (棉花学报), 1993, 5(2): 7–13 (in Chinese with English abstract)
- [6] Qian S-Y(钱思颖), Huang J-Q(黄骏麒), Zhou B-L(周宝良), Peng Y-J(彭跃进), Xu Y-J(徐英俊), Gu L-M(顾立美), Shen X-L(沈新莲). Study on hybridization of *Gossypium hirsutum* L. × *G. klotzschianum* Anderss and its uses. *Jiangsu J Agric Sci* (江苏农业学报), 1996, 12(4): 18–22 (in Chinese with English abstract)
- [7] Li S-C(李首成), Jiang X-Y(江先炎). Selecting high fiber strength and good quality cotton materials by utilizing interspecies hybrid from *Gossypium hirsutum* L. × *G. arboreum* L. *China Cotton* (中国棉花), 1997, 24(11): 9–11
- [8] Huo G-Z(霍国祯), Huang Z-K(黄滋康). Cotton Varieties and Their Genealogy in China (中国棉花品种及其系谱). Beijing: China Agriculture Press, 2007. p 154 (in Chinese)
- [9] Liang Z-L(梁正兰). The Genetics and Breeding of Interspecific Hybridization in Cotton (棉花远缘杂交的遗传与育种). Beijing: Science Press, 1999. pp 233–234 (in Chinese)
- [10] Zhou B-L(周宝良), Chen S(陈松), Shen X-L(沈新莲), Zhang X-G(张香桂), Zhang Z-L(张震陵). Study on effect of three wild species for improving fiber quality in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Cotton Sci* (棉花学报), 2003, 15(1): 22–25 (in Chinese with English abstract)
- [11] Reinisch A J, Dong J M, Brubaker C L, Stelly D M, Wendel J F, Paterson A H. A detailed RFLP map of cotton, *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense*: Chromosome organization and evolution in a disomic polyploid genome. *Genetics*, 1994, 138: 829–847
- [12] Yu J, Park Y H, Lazo R G, Kohel R J. Mapping cotton genome with molecular markers. In: Dugger P, Richter DA eds. Proceedings of the Beltwide Cotton Production Research Conferences. Memphis, TN: National Cotton Council of America, 1997. p 447
- [13] Jiang C X, Wright R J, El-Zik K M, Paterson A H. Polyploid formation created unique avenues for response to selection in *Gossypium* (cotton). *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 4419–4424
- [14] Kohel R J, Yu J, Park Y H. Molecular mapping and characterization of traits controlling fiber quality in cotton. *Euphytica*, 2001, 121: 163–172
- [15] Zhang T Z, Yuan Y L, Yu J, Guo W Z, Kohel R J. Molecular tagging of a major QTL for fiber strength in upland cotton and its marker-assisted selection. *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 262–268
- [16] Mei M, Syed N H, Gao W, Thaxton P M, Smith C W, Stelly D M, Chen Z J. Genetic mapping and QTL analysis of fiber-related traits in cotton (*Gossypium*). *Theor Appl Genet*, 2004, 108: 280–291
- [17] Lacape J M, Nguyen T B, Courtois B, Belot J L, Giband M, Gourlot J P, Gawryziak G, Roques S, Hau B. QTL analysis of cotton fiber quality using multiple *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense* backcross generations. *Crop Sci*, 2005, 45: 123–140
- [18] Shen X L, Guo W Z, Zhu X F, Yuan Y L, Yu J, Kohel R J, Zhang T Z. Molecular mapping of QTL for fiber qualities in three diverse lines in upland cotton using SSR markers. *Mol Breed*, 2005, 15: 169–181
- [19] Zhang Z S, Xiao Y H, Luo M, Li X B, Luo X Y, Hou L, Li D M, Pei Y. Construction of a genetic linkage map and QTL analysis of fiber-related traits in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Euphytica*, 2005, 144: 91–99
- [20] Wang J(王娟), Guo W-Z(郭旺珍), Zhang T-Z(张天真). QTL mapping for fiber quality properties in cotton cultivar Yu-

- mianl. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(12): 1915–1921 (in Chinese with English abstract)
- [21] Paterson A H, Brubaker C L, Wendel J F. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium* spp.) genomic DNA suitable for RFLP and PCR analysis. *Plant Mol Biol Rep*, 1993, 11: 122–127
- [22] Zhang J(张军), Wu Y-T(武耀庭), Guo W-Z(郭旺珍), Zhang T-Z(张天真). Fast screening of SSR markers in cotton with PAGE/silver staining. *Cotton Sci* (棉花学报), 2000, 12(5): 267–269 (in Chinese with English abstract)
- [23] Lander E S, Green P, Abrahamson J. MAPMAKER: An interactive computer package for constructing primary linkage maps of experimental and natural population. *Genomics*, 1987, 1: 174–181
- [24] Wang S C, Basten C J, Zeng Z B. Windows QTL Cartographer V2.0 Statistical Genetics, Bioinformatics Research Center, North Carolina State University. 2003. [2007-08-20] <http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/Cartographer.html>
- [25] Zeng Z B. Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics*, 1994, 136: 1457–1468
- [26] Stuber C W, Edwards M D, Wendel J F. Molecular marker facilitated investigations of quantitative trait loci in maize: II. Factors influencing yield and its component traits. *Crop Sci*, 1987, 27: 639–648
- [27] Song X L, Wang K, Guo W Z, Zhang J, Zhang T Z. A comparison of genetic maps constructed from haploid and BC₁ mapping populations from the same crossing between *Gossypium hirsutum* L × *G. barbadense* L. *Genome*, 2005, 48: 378–390
- [28] McCouch S R, Cho Y G, Yano M, Paul E, Blinstrub M, Morishima H, Kinoshita T. Report on QTL nomenclature. *Rice Genet Newsl*, 1997, 14: 11–13
- [29] Ulloa M, Meredith W R Jr, Shappley Z W, Kahler A L. RFLP genetic linkage maps from four F_{2:3} populations and a join map of *Gossypium hirsutum* L. *Theor Appl Genet*, 2002, 104: 200–208
- [30] Lacape J M, Nguyen T B, Thibivilliers S, Bojinnov T B, Courtois B, Cantrell R G, Burr B, Hau B. A combined RFLP-SSR-AFLP map of tetraploid cotton based on a *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense* backcross population. *Genome*, 2003, 46: 612–626
- [31] Song X-L(宋宪亮), Sun X-Z(孙学振), Zhang T-Z(张天真). Segregation distortion and its effect on genetic mapping in plants. *J Agric Biotechnol* (农业生物技术学报), 2006, 14(2): 286–292 (in Chinese with English abstract)
- [32] Han Z G, Guo W Z, Song X L, Zhang T Z. Genetic mapping of EST-derived microsatellites from the diploid *Gossypium arboreum* in allotetraploid cotton. *Mol Gen Genet*, 2004, 272: 308–327
- [33] He D H, Lin Z X, Zhang X L, Nie Y C, Guo X P, Zhang Y X, Li W. QTL mapping for economic traits based on a dense genetic map of cotton with PCR-based markers using the interspecific cross of *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense*. *Euphytica*, 2007, 153: 181–197
- [34] Ulloa M, Cantrell R G, Percy R G, Zeiger E, Lu Z. QTL analysis of stomatal conductance and relationship to lint yield in intraspecific cotton. *J Cotton Sci*, 2000, 4: 10–18