

# 棉花 $\gamma$ 射线诱变后代的 SSR 标记遗传多样性

孙君灵<sup>1</sup>, 杜雄明<sup>1</sup>, 孙其信<sup>2</sup>, 周忠丽<sup>1</sup>, 潘兆娥<sup>1</sup>, 庞保印<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>中国农业科学院棉花研究所, 安阳 455004; <sup>2</sup>中国农业大学植物遗传育种系, 北京 100094)

**摘要:** 【目的】了解  $\gamma$  射线诱变对棉花后代 SSR 标记遗传多样性的影响。【方法】利用 39 个多态性 SSR 标记分析了 3 个棉花品种辐射诱变后代 M<sub>5</sub> 材料 (共 74 份) 的遗传多样性。【结果】3 个品种诱变后代的成对相似系数变幅分别为 0.6129~0.9848、0.6212~1.000、0.4857~0.9905, 其中 Arcot-1 和 Su9108 两个品种诱变后代的成对相似系数大于或等于 8.000 的比例达到 60.0% 以上, J11 诱变后代的成对相似系数主要集中在低相似性区域, 其对成对相似系数小于 7.000 的比例达 62.5%。3 个品种诱变后代材料与其未辐射处理对照的遗传相似系数变幅分别为 0.6515~0.9697、0.6970~1.0000、0.5524~0.8095。【结论】辐射可创造丰富的遗传变异, 拓宽原品种的遗传基础。辐射对不同棉花品种的诱变效果存在差异。

**关键词:** 棉花; SSR 标记; 辐射; 遗传多样性

## Genetic Diversity of the Progeny of Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Irradiated by $\gamma$ Ray with SSR Markers

SUN Jun-ling, DU Xiong-ming, SUN Qi-xin, ZHOU Zhong-li, PAN Zhao-e, PANG Bao-yin

(<sup>1</sup>Cotton Institute of the Chinese Academy of Agricultural Sciences, Anyang 455004;

<sup>2</sup>Department of Plant Breeding, China Agricultural University, Beijing 100094)

**Abstract:** 【Objective】 The objective of this study is to understand the effect of  $\gamma$ -ray irradiation on cotton. 【Method】 The genetic diversity of 74 mutagenic progenies M<sub>5</sub> in 3 cotton varieties, Arcot-1, Su9108 and J11, irradiated by  $\gamma$ -ray were analyzed with 39 polymorphism SSR primer pairs. 【Result】 The variance range of mutagenic progeny's (M<sub>5</sub>) pair similarity coefficient of 3 cotton varieties were 0.6129 - 0.9848, 0.6212 - 1.000, 0.4857 - 0.9905 respectively. The pair similarity coefficient that was higher or equal to 8.000 was more than 60.0% for the mutagenic progenies M<sub>5</sub> of two varieties (Arcot-1 and Su9108). The pair similarity coefficient less than 7.000 was 62.5% for the mutagenic progenies M<sub>5</sub> of J11. The variance ranges of genetic similarity coefficient of mutagenic progeny M<sub>5</sub> SSR markers of 3 cotton varieties and their original CK were 0.6515 - 0.9697, 0.6970 - 1.000, 0.5524 - 0.8095 respectively. 【Conclusion】 The analysis of molecular markers indicated that abundant genetic variations can result and genetic bases in original varieties can be broadened from the  $\gamma$ -ray radiation. The study also clarified that the radiation of different cotton varieties resulted in the different variation.

**Key words:** Cotton; Radiation; SSR marker; Genetic diversity

## 0 引言

【本研究的重要意义】中国培育和种植的大多数棉花品种是通过从美国引进的岱字棉、福字棉、斯字棉等少数基础种质衍变而来, 遗传背景狭窄, 多样性差。利用分子标记技术可直接从基因组 DNA 水平上

揭示个体的差异及物种间的相互关系, 对研究棉花种质资源的遗传多样性和种质资源的创新与鉴定有着十分重要的意义。【前人研究进展】国内外对棉花品种的遗传多样性和遗传基础研究作了大量工作, 徐秋华等<sup>[1]</sup>利用 RAPD 标记对长江、黄河流域棉区 91 个品种进行了遗传多样性研究; 刘文欣等<sup>[2]</sup>采用 RAPD 标记

收稿日期: 2005-08-09; 接受日期: 2006-06-28

基金项目: 国家“863”计划项目 (2004AA227140), “十五”国家科技攻关项目 (2004BA525B05) 资助

作者简介: 孙君灵 (1969-), 男, 湖南华容人, 副研究员, 研究方向为棉花种质资源创新与利用。E-mail: sunjl@cricaas.com.cn。通讯作者杜雄明, Tel: 0372-2525352; Fax: 0273-2633452; E-mail: duxm@cricaas.com.cn

技术对建国以来我国有代表性的 166 个棉花主栽品种（或品系）进行了遗传多样性分析；Multani<sup>[3]</sup>利用 RAPD 标记研究了澳大利亚 12 个陆地棉品种、1 个陆地棉品系和海岛棉品种 Pimal S-7 的指纹图谱；Iqbal<sup>[4]</sup>利用 RAPD 研究了 20 个巴基斯坦陆地棉品种和 1 个亚洲棉品种的遗传差异。上述研究结果一致表明陆地棉品种的遗传基础窄狭，遗传多样性低。【本研究的切入点】不少学者采取多种创新途径丰富棉花遗传多样性，其中通过辐射诱变来创造棉花新种质已取得了一些进展<sup>[5]</sup>。目前，利用分子标记技术来分析小麦<sup>[6]</sup>、水稻<sup>[7]</sup>和桑树<sup>[8]</sup>等作物的诱变后代材料遗传变异作了大量工作，但棉花辐射诱变后代材料的研究主要集中在形态和农艺性状上<sup>[9-11]</sup>，尚未对其基因组分子水平进行深入而系统的研究，这影响了辐射育种对拓宽品种遗传基础的需求。【拟解决的关键问题】本研究应用 SSR 标记对 3 个陆地棉品种  $\gamma$  射线辐射诱变第 5 代（M<sub>5</sub>）材料的遗传多样性进行分析，为拓宽棉花种质遗传基础、棉花种质资源的创新和利用提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

2000 年利用 250Gy 的 Co<sup>60</sup> $\gamma$  射线对 Arcot-1（国外引进的抗黄萎病品种）、Su9108（国内大铃优质品种）和 J11（国内感黄萎病品种）3 个品种的风干种子进行辐射处理，2000 年获得 M<sub>1</sub>，单株收获，2001 年种植 M<sub>2</sub>，从 M<sub>2</sub> 株行中继续选择变异单株，2002 年种植 M<sub>2</sub> 的株系和变异单株成 M<sub>3</sub> 株系，2003 年种植 M<sub>3</sub> 株系成 M<sub>4</sub>。2004 年种植 32 个（M<sub>5</sub>A1~M<sub>5</sub>A32）Arcot-1、25 个（M<sub>5</sub>S1~M<sub>5</sub>S25）Su9108、17 个（M<sub>5</sub>J1~M<sub>5</sub>J17）J11 等 3 个品种诱变后代材料 M<sub>5</sub>。

SSR 引物序列部分由 USDA, ARS, College Station, Texas, Johu Yu 提供、部分为 Cotton DB 数据库（<http://algodon.tamu.edu/htdocs-cotton/cottondb.html>）的 BNL（Brookhaven National Laboratory）。并由上海 Sangon 公司合成，另部分引物引自南京农业大学。PCR 反应中的 dNTP, Taq 酶等均购自北京鼎国生物公司。

### 1.2 方 法

1.2.1 田间试验 2004 年 4 月 24 日，在中国农业科学院棉花研究所试验田中，分别对 34 个 Arcot-1M<sub>5</sub>、25 个 Su9108 M<sub>5</sub>、17 个 J11 M<sub>5</sub> 株系进行随行区组排列种植，3 次重复，设辐射处理原亲本对照，行长 5 m，行距 0.8 m，株距 0.25 m。9 月 20 日，每行随机对 10

株进行株高、果枝数和铃数测定，10 月 6 日，每行收棉株中部正常吐絮铃 30 个，室内考种，测铃重、衣分，纤维棉样送农业部棉花品质监测中心检测纤维品质。

1.2.2 棉花叶片 DNA 提取 从叶片中提取各样品的 DNA，采用 CTAB 法参考 Paterson 等<sup>[12]</sup>和 Zhang 等<sup>[13]</sup>，并稍有改动。

1.2.3 SSR 的 PCR 扩增 实验 PCR 扩增体系总反应体积 10  $\mu$ l，包括 1.0  $\mu$ l 10 $\times$ buffer（含 Mg<sup>2+</sup> 20 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup>），0.2  $\mu$ l 10 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup> dNTPs，1.3  $\mu$ l 5 $\mu$ mol $\cdot$ L<sup>-1</sup> 3'和 5'引物，0.3  $\mu$ l 2U Tag 酶和 1  $\mu$ l 50 ng $\cdot$  $\mu$ l<sup>-1</sup> 模板 DNA，6.2  $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O。

在 PTC-100<sup>TM</sup> 扩增仪（由 MJ Research Inc. 公司生产）上进行。PCR 扩态增程序为：95 $^{\circ}$ C 变性 3 min，53 $^{\circ}$ C 温度退火 50 s，72 $^{\circ}$ C 延伸 50 s，经过 30 个循环后，72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min，最后 4 $^{\circ}$ C 保存。

1.2.4 PCR 扩增产物的检测 扩增产物在 PCR 扩增产物中加入 2  $\mu$ l 加样缓冲液，在 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶中电泳，凝胶大小为 180 cm $\times$ 120 cm $\times$ 2 mm，电泳缓冲液为 1 $\times$ TBE，每个点样孔加 2.5  $\mu$ l 样品，180V 恒电压下电泳约 70 min。

电泳结束后，进行银染检测，先将胶放入固定液中，轻摇 7~8 min；倒掉固定液，加入渗透液，轻摇 12 min 左右；倒掉渗透液，用蒸馏水水洗 30 s；倒掉蒸馏水后，加入显影液，轻摇至 DNA 条带显出为止；倒掉显色液，用蒸馏水水洗 1 次；倒掉蒸馏水，加入终止液终止反应；统计带型并照相。

### 1.3 数据处 理和分 析

统计稳定且易于辨认的差异性条带数，有此带时赋值为“1”，无此带时赋值为“0”。

（1）Simpson 多样性指数也称位点多态信息量（PIC）， $PIC = 1 - \sum P_i^2$ ， $P_i$ ：第  $i$  个等位变异出现的频率。

（2）Shannon-weaver 多样性指数也称基因型多样性（H'）， $H' = -\sum P_i \ln P_i$ ， $P_i$ ：第  $i$  个等位变异出现的频率。

（3）根据 Nei 和 Li 的公式计算遗传相似系数，Nei and Li coefficient =  $2N_{xy} / (N_x + N_y)$ 。N<sub>xy</sub> 是指材料 x 和 y 之间共同的多态性位点，N<sub>x</sub> 是指 x 材料所具有的多态性位点数，N<sub>y</sub> 是指 y 材料所具有的多态性位点数。

（4）聚类分析：采用未加权类平均法（UPGMA, unweighted pair group method arithmetic averages）对遗传相似系数矩阵进行聚类。

(3) ~ (4) 部分数据统计均由 NTSYSp2.1 (Version2.11a) 软件完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 诱变后代材料 SSR 标记多态性分析

本研究利用 296 对 SSR 引物在供试 74 份辐射诱变后代  $M_5$  材料中共筛选到 39 个多态性位点, 其中 Arcot-1 诱变后代材料中检测到 20 个多态性位点, Su9108 诱变后代材料中检测到 19 个多态性位点, J11 诱变后代材料中检测到 26 个多态性位点, 各多态性位点占总个多态性位点的百分数分别为 51.3%、48.7% 和 66.7%。其中 Arcot-1 与 Su9108 诱变后代材料检测到的相同多态性位点为 8 个, Arcot-1 与 J11 诱变后代材料检测到的相同多态性位点为 13 个, Su9108 与 J11 诱变后代材料检测到的相同多态性位点为 11 个, 3 个品种诱变后代材料检测到的相同多态性位点为 6 个 (表 1)。20 个 SSR 引物在 Arcot-1 诱变后代 32 个材料群体检测出 66 个等位变异, 不同位点等位变异数 2~7 个, 平均为 3.30 个, 其中有 1 个多态性位点可将 32 个材料分为 7 类, 1 个多态性位点将其分为 6 类, 4 个多态性位点将其分为 4 类, 9 个多态性位点将其分为 3 类, 剩余 5 个多态性位点将其分为 2 类, 平均每个多态位点的基因型数为 2.90 个。位点多态信息量 (PIC) 和基因型多样性 ( $H'$ ) 变化范围分别为 0.305~0.853 和 0.483~1.932, 平均值分别为 0.585 和 0.997。

19 个 SSR 引物在 Su9108 诱变后代 25 个材料群体、26 个 SSR 引物在 17 个 J11 诱变后代材料群体分别检测出 66 和 105 个等位变异, 不同位点等位变异数分别从 2~4 个和 2~5 个, 平均分别为 3.47 和 4.04 个。其中 Su9108 有 2 个多态性位点可将 25 个材料分为 4 类、5 个多态性位点将其分为 3 类, 平均每个多态位点的基因型数为 2.47 个, J11 有 2 个多态性位点将 17 个材料分为 5 类、1 个多态性位点将其分为 4 类和 11 个多态性位点将其分为 3 类, 平均每个多态位点的基因型数为 2.73 个。它们的位点多态信息量 (PIC) 变化范围分别为 0.077~0.760 和 0.360~0.834, 平均值分别为 0.542 和 0.648; 基因型多样性 ( $H'$ ) 变化范围分别为 0.168~1.471 和 0.546~1.864, 平均值分别为 0.924 和 1.187。

### 2.2 诱变后代材料 SSR 标记的遗传相似性分析

根据 20 个、19 个、26 个 SSR 引物分别对 Arcot-1、Su9108 和 J11 诱变后代  $M_5$  所扩增出的多态性等位变异, 用 Nei 和 Li 公式分别计算它们 32 份、25 份和 17

份材料间的遗传相似系数 (表 2)。

结果表明, 32 份 Arcot-1 诱变后代材料间的遗传相似系数变幅为 0.6129 ( $M_5A2$  与  $M_5A30$ ) ~ 0.9848 ( $M_5A8$  与  $M_5A9$ ), 遗传相似系数平均值为 0.8241。诱变后代材料与未辐射处理对照 ( $M_5A32$ ) 的总遗传相似系数平均值为 0.8637, 与  $M_5A32$  相似性最低的材料为  $M_5A30$  (遗传相似系数为 0.6515), 其次为  $M_5A29$ 、 $M_5A27$ 、 $M_5A14$ 、 $M_5A20$  和  $M_5A1$ , 遗传相似系数均低于 0.8000, 说明这些材料从 SSR 标记的遗传相似系数分析, 通过辐射诱变的选择, 与未辐射处理对照的相似性较低, 变异较明显; 与  $M_5A32$  相似性最高的材料为  $M_5A8$  (遗传相似系数为 0.9697), 其次为  $M_5A9$ 、 $M_5A22$  和  $M_5A5$ , 说明与未辐射处理对照的相似性较高, 变异不明显。

Su9108 诱变后代材料间的遗传相似系数变幅为 0.6212 ( $M_5S6$  与  $M_5S13$ ) ~ 1.000 ( $M_5S1$  与  $M_5S2$ 、 $M_5S7$  与  $M_5S8$  与  $M_5S19$ 、 $M_5S9$  与  $M_5S11$  与  $M_5S15$  与  $M_5S21$  与  $M_5S22$  与  $M_5S24$ ), 遗传相似系数平均值为 0.9022。诱变后代材料与对照 ( $M_5S1$ ) 的总遗传相似系数平均值为 0.9206, 与  $M_5S1$  相似性最低的材料为  $M_5S13$  (遗传相似系数为 0.6970), 其次为  $M_5S6$  和  $M_5S5$ , 遗传相似系数均小于 0.8000, 说明这些材料通过辐射诱变选择具有较大变异; 与  $M_5S1$  相似性最高的材料为  $M_5S2$  (遗传相似系数为 1.0000), 其次为  $M_5S19$ 、 $M_5S8$  和  $M_5S7$ , 说明这些材料变异不大。

J11 诱变后代材料间的遗传相似系数变幅为 0.4857 ( $M_5J3$  与  $M_5J15$ ) ~ 0.9905 ( $M_5J2$  与  $M_5J16$ ), 遗传相似系数平均值为 0.7025。诱变后代材料与未辐射处理对照 ( $M_5J1$ ) 的总遗传相似系数平均值为 0.6818, 与  $M_5J1$  相似性最低的材料为  $M_5J3$  (遗传相似系数为 0.5524), 其次为  $M_5J17$ 、 $M_5J2$ 、 $M_5J10$ 、 $M_5J11$  和  $M_5J16$ , 遗传相似系数均小于 0.6100, 说明这些材料通过辐射诱变选择具有很大遗传变异; 与  $M_5J1$  相似性最高的材料为  $M_5J9$ , 但其遗传相似系数仅为 0.8095, 说明 J11 通过辐射诱变选择后, 诱变后代材料变异都较明显, 证明了该品种对辐射较敏感。

若将 3 个品种诱变后代材料间的成对遗传相似系数进行区域统计分析, 从表 3 可以发现, Arcot-1 和 Su9108 两个品种诱变后代的成对遗传相似系数主要集中在高相似性区域, 其成对遗传相似系数在大于或等于 8.000 的比例达到 60.0% 以上, Su9108 的成对遗传相似系数更是大于或等于 9.000 的比例就高达 65.0% 以上; 而 J11 诱变后代的成对遗传相似系数不超

表 1 诱变后代  $M_5$  群体的 SSR 标记遗传多样性Table 1 The genetic diversity of SSR markers in progeny  $M_5$  colonies

引物 Primer	等位变异数 No. of alleles			基因型数 No. of genotypes			位点多态信息量 (PIC) Polymorphic information content			遗传多样性指数(H') Genetic diversity indexes		
	Arcot-1	Su9108	J11	Arcot-1	Su9108	J11	Arcot-1	Su9108	J11	Arcot-1	Su9108	J11
BNL1672	6	4	5	5	2	4	0.768	0.537	0.783	1.525	0.856	1.569
BNL2960	2	2	2	3	3	3	0.448	0.204	0.465	0.640	0.358	0.658
BNL3474	4	5	4	3	4	2	0.697	0.759	0.679	1.242	1.457	1.173
BNL4030	2	2	3	3	2	3	0.500	0.365	0.523	0.693	0.551	0.809
JESPR-114	3	3	7	3	3	3	0.595	0.580	0.834	0.972	0.939	1.864
JESPR-274	3	5	6	3	2	5	0.542	0.755	0.810	0.846	1.429	1.705
BNL193	-	3	-	-	2	-	-	0.537	-	-	0.833	-
BNL827	-	-	3	-	-	2	-	-	0.625	-	-	1.039
BNL1034	3	-	-	2	-	-	0.554	-	-	0.876	-	-
BNL1053	2	-	8	2	-	2	0.370	-	0.826	0.557	-	1.831
BNL1231	2	-	2	2	-	2	0.305	-	0.484	0.483	-	0.677
BNL1317	-	-	5	-	-	3	-	-	0.791	-	-	1.589
BNL1395	-	-	3	-	-	2	-	-	0.625	-	-	1.039
BNL1414	-	3	5	-	2	2	-	0.519	0.731	-	0.776	1.409
BNL1421	-	-	2	-	-	2	-	-	0.360	-	-	0.546
BNL1440	-	3	-	-	2	-	-	0.553	-	-	0.877	-
BNL1604	-	-	5	-	-	2	-	-	0.759	-	-	1.502
BNL1694	-	-	5	-	-	3	-	-	0.783	-	-	1.568
BNL2449	3	-	4	3	-	3	0.611	-	0.643	1.003	-	1.145
BNL2634	-	-	5	-	-	2	-	-	0.777	-	-	1.560
BNL3031	7	2	-	5	2	-	0.853	0.077	-	1.932	0.168	-
BNL3140	3	-	-	3	-	-	0.629	-	-	1.035	-	-
BNL3171	-	-	2	-	-	3	-	-	0.475	-	-	0.668
BNL3255	3	-	3	2	-	2	0.594	-	0.604	0.974	-	0.996
BNL3383	-	5	-	-	4	-	-	0.705	-	-	1.307	-
BNL3442	4	-	4	3	-	3	0.620	-	0.616	1.096	-	1.089
BNL3646	2	-	2	3	-	2	0.381	-	0.498	0.569	-	0.691
BNL3649	-	3	7	-	2	5	-	0.537	0.834	-	0.833	1.854
BNL3806	-	5	-	-	2	-	-	0.755	-	-	1.428	-
BNL3948	3	-	-	2	-	-	0.628	-	-	1.036	-	-
BNL3994	3	-	-	3	-	-	0.638	-	-	1.058	-	-
JESPR-101	-	3	6	-	2	3	-	0.552	0.804	-	0.871	1.704
JESPR-152	-	2	2	-	3	3	-	0.337	0.500	-	0.520	0.693
JESPR-204	4	3	-	2	2	-	0.748	0.667	-	1.383	1.098	-
TMK19	-	4	-	-	3	-	-	0.570	-	-	0.956	-
TMP02	3	-	-	4	-	-	0.526	-	-	0.813	-	-
TMB04	4	-	3	2	-	2	0.686	-	0.527	1.201	-	0.803
TME12	-	3	2	-	3	3	-	0.538	0.496	-	0.835	0.689
TMH08	-	6	-	-	2	-	-	0.760	-	-	1.471	-
平均 Mean	3.30	3.47	4.04	2.90	2.47	2.73	0.585	0.542	0.648	0.997	0.924	1.187

过 17.0%，其主要集中在低相似性区域，小于 7.000 的比例达 62.5%。结果表明，通过辐射诱变，三个品种产生了不同的诱变效果。J11 诱变后代  $M_5$  群体遗传多样性最为丰富，其次为 Arcot-1 群体、Su9108 群体，

这从分子水平证明了对不同棉花品种进行辐射，其辐射诱变后代的基因型多样性是不同。因此，从创造棉花新种质来看，辐射对 J11 品种的诱变效果最好，其次为 Arcot-1 品种，Su9108 品种的诱变效果较差。

表 2 诱变后代材料与原亲本对照的遗传相似系数

Table 2 The genetic similarity coefficient of SSR markers among the mutagenic progeny M<sub>5</sub> and its original CK

Arcot-1 诱变后代群体		Su9108 诱变后代群体		J11 诱变后代群体	
Progeny of Arcot-1 colonies		Progeny of Su9108 colonies		Progeny of J11 colonies	
诱变材料	与原亲本对照的遗传相似系数	诱变材料	与原亲本对照的遗传相似系数	诱变材料	与原亲本对照的遗传相似系数
Mutagenic progeny	Mutagenic progeny and original CK	Mutagenic progeny	Mutagenic progeny and original CK	Mutagenic Progeny	Mutagenic progeny and original CK
M <sub>5</sub> A1	0.7903	M <sub>5</sub> S1 (CK)	1.0000	M <sub>5</sub> J1 (CK)	1.0000
M <sub>5</sub> A2	0.8548	M <sub>5</sub> S2	1.0000	M <sub>5</sub> J2	0.6000
M <sub>5</sub> A3	0.8475	M <sub>5</sub> S3	0.9697	M <sub>5</sub> J3	0.5524
M <sub>5</sub> A4	0.9242	M <sub>5</sub> S4	0.8485	M <sub>5</sub> J4	0.6952
M <sub>5</sub> A5	0.9394	M <sub>5</sub> S5	0.7727	M <sub>5</sub> J5	0.7429
M <sub>5</sub> A6	0.8788	M <sub>5</sub> S6	0.7121	M <sub>5</sub> J6	0.7143
M <sub>5</sub> A7	0.8772	M <sub>5</sub> S7	0.9848	M <sub>5</sub> J7	0.7524
M <sub>5</sub> A8	0.9697	M <sub>5</sub> S8	0.9848	M <sub>5</sub> J8	0.6286
M <sub>5</sub> A9	0.9545	M <sub>5</sub> S9	0.9545	M <sub>5</sub> J9	0.8095
M <sub>5</sub> A10	0.8030	M <sub>5</sub> S10	0.9394	M <sub>5</sub> J10	0.6095
M <sub>5</sub> A11	0.8333	M <sub>5</sub> S11	0.9545	M <sub>5</sub> J11	0.6095
M <sub>5</sub> A12	0.8182	M <sub>5</sub> S12	0.8939	M <sub>5</sub> J12	0.6762
M <sub>5</sub> A13	0.8333	M <sub>5</sub> S13	0.6970	M <sub>5</sub> J13	0.6667
M <sub>5</sub> A14	0.7727	M <sub>5</sub> S14	0.9242	M <sub>5</sub> J14	0.6667
M <sub>5</sub> A15	0.8788	M <sub>5</sub> S15	0.9545	M <sub>5</sub> J15	0.6857
M <sub>5</sub> A16	0.9153	M <sub>5</sub> S16	0.9394	M <sub>5</sub> J16	0.6095
M <sub>5</sub> A17	0.9242	M <sub>5</sub> S17	0.9242	M <sub>5</sub> J17	0.5714
M <sub>5</sub> A18	0.9091	M <sub>5</sub> S18	0.9242		
M <sub>5</sub> A19	0.8030	M <sub>5</sub> S19	0.9848		
M <sub>5</sub> A20	0.7857	M <sub>5</sub> S20	0.9242		
M <sub>5</sub> A21	0.8939	M <sub>5</sub> S21	0.9545		
M <sub>5</sub> A22	0.9394	M <sub>5</sub> S22	0.9545		
M <sub>5</sub> A23	0.9242	M <sub>5</sub> S23	0.9242		
M <sub>5</sub> A24	0.9091	M <sub>5</sub> S24	0.9545		
M <sub>5</sub> A25	0.8939	M <sub>5</sub> S25	0.9394		
M <sub>5</sub> A26	0.8485				
M <sub>5</sub> A27	0.7656				
M <sub>5</sub> A28	0.8333				
M <sub>5</sub> A29	0.7424				
M <sub>5</sub> A30	0.6515				
M <sub>5</sub> A31	0.9245				
M <sub>5</sub> A32 (CK)	1.0000				
平均值 Mean	0.8637	平均值 Mean	0.9206	平均值 Mean	0.6818

表 3 诱变后代材料与原亲本对照的遗传相似系数分布区域

Table 3 The distribution of genetic similarity coefficient among the mutagenic progeny M<sub>5</sub> and its original CK

分布区域	Arcot-1		Su9108		J11	
	百分率(%)	累计百分率(%)	百分率(%)	累计百分率(%)	百分率(%)	累计百分率(%)
Distribution of region	Percentage	Cumulative Percentage	Percentage	Cumulative Percentage	Percentage	Cumulative Percentage
<6.000	0.4	0.4	0.0	0.0	18.4	18.4
6.000~7.000	11.9	12.3	5.0	5.0	44.1	62.5
7.000~8.000	26.4	38.7	16.7	21.7	21.3	83.8
8.000~9.000	41.1	79.8	10.7	32.3	13.2	97.1
≥9.000	20.2	100.0	67.7	100.0	2.9	100.0

### 2.3 诱变后代材料 SSR 标记的聚类分析

根据 SSR 引物扩增的多态性等位基因变异计算的 Arcot-1、Su9108 和 J11 诱变后代 M<sub>5</sub> 材料间的遗传相似系数, 用类平均法 (UPGMA) 分别进行聚类, 结果如图 1~3 所示。

由图 1 可以看出, 若以 Arcot-1 诱变后代材料的遗传相似系数为 0.8000 作尺度对聚类图的结果进行分类, 可以分为 6 大类, 第 1 类有 2 个材料 (M<sub>5</sub>A30、M<sub>5</sub>A29), 该类属于纤维品质较差, 高衣分材料, 其衣分超过 41.0%; 第 2 类包括 3 个材料 (M<sub>5</sub>A20、M<sub>5</sub>A14 和 M<sub>5</sub>A11), 属于小铃 (4.2 g)、纤维品质较差、株型较矮的材料; 第 3 类包括 2 个材料 (M<sub>5</sub>A31 和 M<sub>5</sub>A27), 属于大铃 (6.5 g)、纤维品质较好的材料; 第 4 类为最大类, 包括 22 个材料, 其中含有一个未辐射处理对照 (M<sub>5</sub>A32), 属于衣分较低, 综合性状较好的材料; 第 5 类包括 2 个材料 (M<sub>5</sub>A2 和 M<sub>5</sub>A3), 属于大铃、纤维品质一般的材料; 第 6 类有 1 个材料 (M<sub>5</sub>A1), 属于大铃、纤维品质较好的材料 (表 4)。

图 2 表明, 若以 Su9108 诱变后代材料的遗传相似系数为 0.8000 作尺度对聚类图的结果进行分类, 可以分为 3 类, 第 1 类有 1 个材料 (M<sub>5</sub>S13), 属于综合性状一般的材料; 第 2 类有 2 个材料 (M<sub>5</sub>S6、M<sub>5</sub>S5),

属于低衣分 (33.5%)、纤维粗又短的材料, 其纤维长度为 26.7 mm、麦克隆值达到 6.3; 第 3 类为最大类, 包括 22 个材料, 其中有一个未辐射处理对照 (M<sub>5</sub>S1), 属于大铃 (6.4 g)、纤维品质优异的材料, 其平均纤维绒长 30.1 mm、比强度 33.6cN/tex、麦克隆值为 4.5。

由图 3 可以看出, 若以 J11 诱变后代材料的遗传相似系数为 0.8000 作尺度对聚类图的结果进行分类, 可以分为 9 类, 第 1 类包括 2 个材料 (M<sub>5</sub>J8 和 M<sub>5</sub>J17), 属于大铃 (6.6 g)、纤维品质性状较好的材料, 其平均纤维绒长 32.2 mm、比强度 31.0cN/tex; 第 2 类有 1 个材料 (M<sub>5</sub>J3), 属于衣分较高, 综合性状一般的材料; 第 3 类也是 1 个材料 (M<sub>5</sub>J14), 属于小铃 (4.3 g) 材料; 第 4 类为最大类, 包括 7 个材料 (M<sub>5</sub>J2、M<sub>5</sub>J10、M<sub>5</sub>J11、M<sub>5</sub>J12、M<sub>5</sub>J13、M<sub>5</sub>J15 和 M<sub>5</sub>J16), 属于衣分较低、纤维品质较好的材料; 第 5 类有 1 个材料 (M<sub>5</sub>J5), 属于结铃性较强的材料; 第 6 类也是 1 个材料 (M<sub>5</sub>J6); 第 7 类包括 2 个材料 (M<sub>5</sub>J4 和 M<sub>5</sub>J9), 属于衣分较高, 纤维品质较差的材料; 第 8 类有 1 个材料 (M<sub>5</sub>J7), 属于纤维品质差的材料, 其比强度 25.3cN/tex; 第 9 类是 1 个未辐射处理对照 (M<sub>5</sub>J1), 属于综合性状一般的材料。

表 4 诱变后代 M<sub>5</sub> 聚类的各类表型性状平均值

Table 4 The average of phenotypic characters of types of progeny M<sub>5</sub> colonies

品种	类别	衣分	铃重	株高	铃数	果枝数	2.5%跨长	整齐度	比强度	伸长率	麦克隆值
Variety	Type	Lint percent (%)	Boll weight (g)	Height (cm)	Boll number (No.)	Fruit branch Number (No.)	Span length (mm)	Uniform percent (%)	Fiber strength (cN/tex)	Elongation Percent (%)	Micronaire value
Arcot-1	I	42.0	5.1	66.9	13.3	9.3	29.9	85.5	26.9	7.6	4.3
	II	41.3	4.2	61.3	12.9	9.2	29.1	84.1	26.4	6.9	4.0
	III	41.0	6.5	69.5	10.3	9.2	30.4	85.8	30.9	6.2	4.4
	IV	38.5	5.2	77.2	14.8	10.1	31.1	85.4	29.3	6.7	4.4
	V	40.6	6.0	78.9	13.5	9.5	31.6	85.2	28.3	6.9	4.4
	VI	39.4	6.1	76.7	10.8	7.4	32.0	86.1	30.1	7.1	4.1
Su9108	I	38.6	5.0	65.9	12.6	8.6	29.3	86.3	31.4	6.1	5.0
	II	33.5	4.9	67.1	13.3	8.6	26.7	86.1	32.3	5.3	6.3
	III	41.0	6.4	59.6	9.2	7.5	30.1	85.8	33.6	6.1	4.5
J11	I	41.5	6.6	73.6	11.3	9.0	32.2	86.6	31.0	7.1	4.7
	II	42.0	5.7	71.5	13.2	9.8	29.8	84.9	28.1	6.0	5.7
	III	41.8	4.3	73.2	12.5	10.4	31.6	85.8	28.5	7.3	4.4
	IV	38.1	5.9	66.3	9.0	9.1	31.8	85.2	30.7	7.2	4.3
	V	39.4	5.1	70.5	14.4	9.4	31.3	86.7	28.5	7.5	5.0
	VI	39.1	4.8	65.0	11.4	8.9	31.2	86.5	28.8	7.4	4.7
	VII	42.3	5.2	67.4	13.2	9.2	29.6	84.8	26.3	6.6	5.1
	VIII	41.9	5.6	64.4	12.2	8.8	28.8	85.8	25.3	6.9	5.0
	IX	39.1	5.3	64.1	13.8	9.1	30.7	86.5	29.7	6.7	5.5

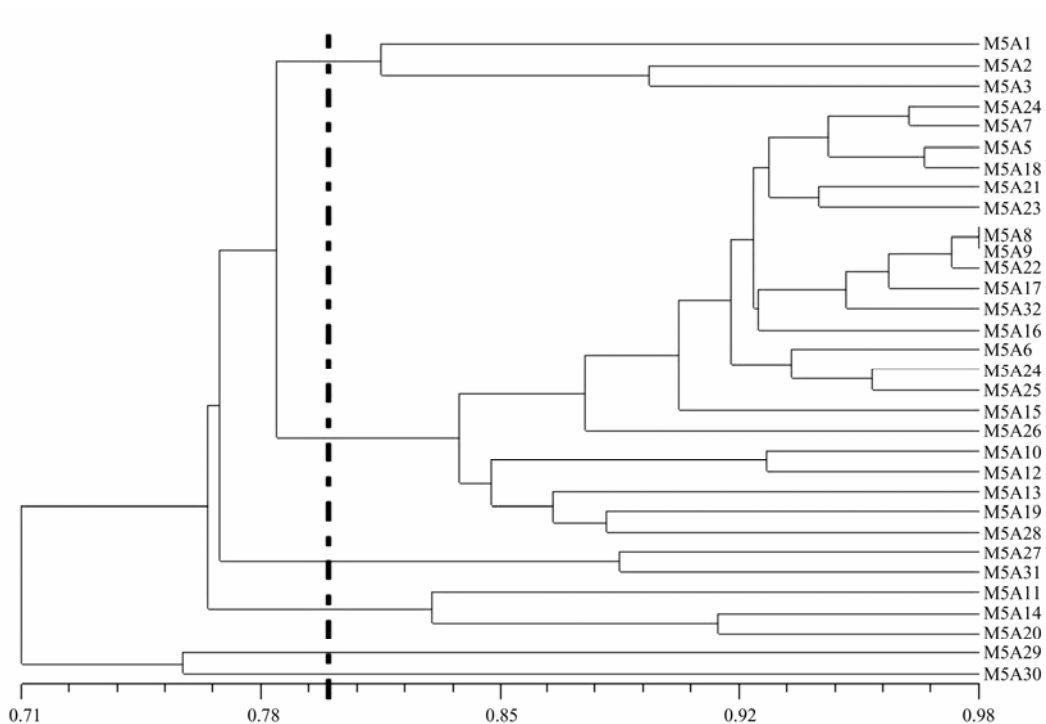


图 1 Arcot-1 诱变后代材料 SSR 标记的遗传相似系数聚类图

Fig. 1 The clustering dendrogram based on genetic similarity coefficient of SSR markers of progeny M<sub>5</sub> colonies of Arcot-1

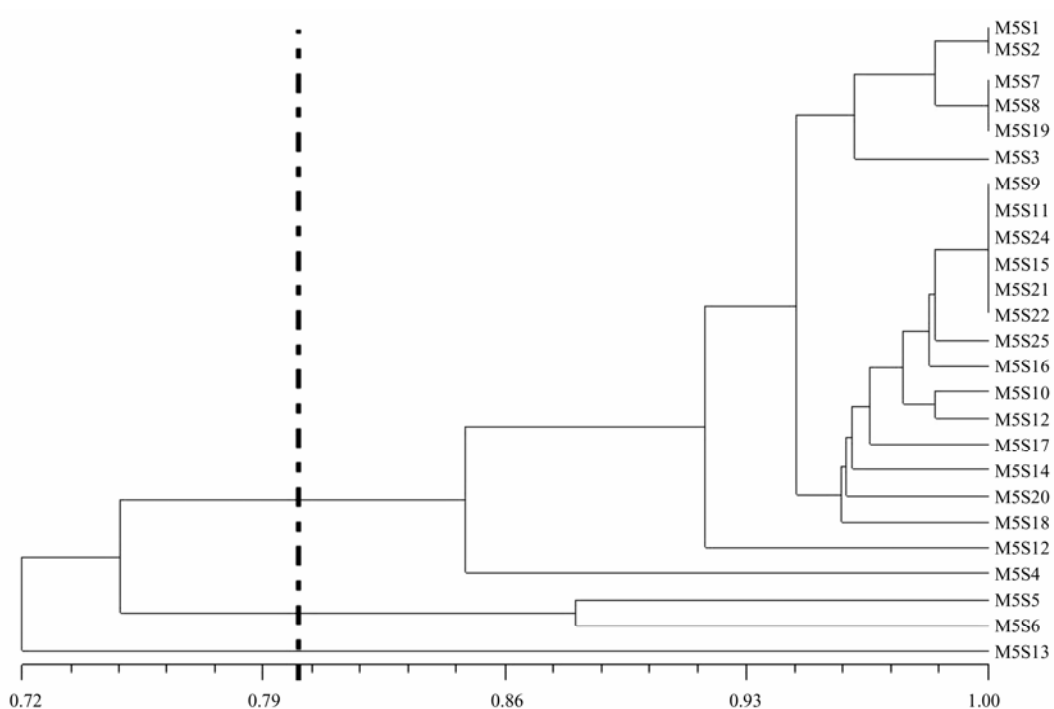


图 2 Su9108 诱变后代材料 SSR 标记的遗传相似系数聚类图

Fig. 2 The clustering dendrogram based on genetic similarity coefficient of SSR markers of progeny M<sub>5</sub> colonies of Su9108

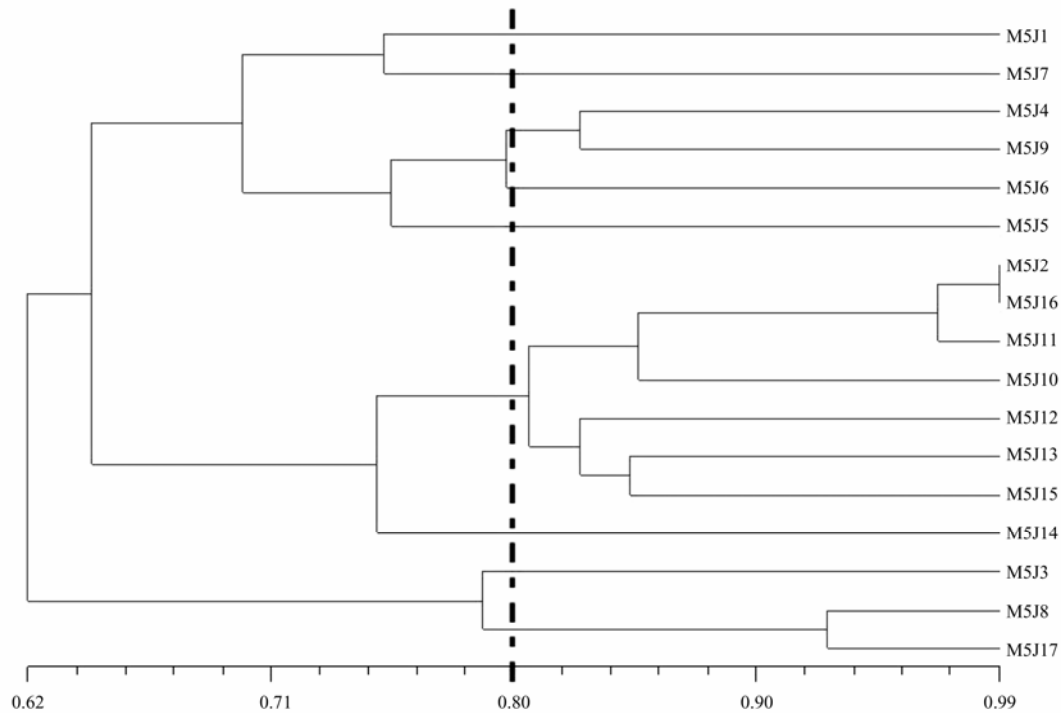


图3 J11 诱变后代材料 SSR 标记的遗传相似系数聚类图

Fig. 3 The clustering dendrogram based on genetic similarity coefficient of SSR markers of progeny  $M_5$  colonies of J11

### 3 讨论

#### 3.1 辐射对不同棉花品种的诱变效果

棉花经辐射处理后可诱发基因突变, 促进基因重组, 提高基因的重组率, 创造多种多样的变异后代, 拓宽棉花种质资源的丰富度。辐射材料的选择、辐射剂量的大小以及辐射外界条件的不同, 均能对棉花产生不同的诱变效果。研究辐射造成的  $M_1$  染色体畸变、对种子活力和幼苗影响、对幼苗生长点的损伤, 研究辐射后代  $M_2$ 、 $M_3$ 、 $M_4$  在产量、铃重、衣分、纤维品质、早熟性、株型等性状的变异, 以及对  $\gamma$  射线后代材料  $M_1$ 、 $M_2$  和  $M_3$  的农艺性状遗传分析均取得了一定结果<sup>[9-13]</sup>。本研究首次利用 SSR 标记分析了 3 个棉花品种辐射诱变后代材料的遗传多样性, 从分子水平揭示了辐射能创造丰富的遗传变异, 并反映了辐射对不同棉花品种的诱变效果存在明显差异。本研究利用 296 对 SSR 引物在供试 74 份辐射诱变后代  $M_5$  群体中共筛选到多态性位点为 39 个, Arcot-1、Su9108 和 J11 等 3 个品种分别检测到 20、19 和 26 个多态性位点。在 32 个 Arcot-1 诱变后代材料群体检测出 66 个等位基因变异, 位点多态信息量 (PIC) 和基因型多样性

( $H'$ ) 的平均值分别为 0.585 和 0.997; 而在 25 个 Su9108、17 个 J11 诱变后代材料群体分别检测出 66 和 105 个等位基因变异, 它们的位点多态信息量 (PIC) 的平均值分别为 0.542 和 0.648; 基因型多样性 ( $H'$ ) 的平均值分别为 0.924 和 1.187。可见, J11 诱变后代  $M_5$  群体遗传多样性最为丰富, 其次为 Arcot-1 群体、Su9108 群体。这从分子水平证明了对不同棉花品种进行辐射, 其辐射诱变后代的基因型多样性是不同, 产生了大量的遗传变异。这个结果与李汝忠<sup>[14]</sup>等人通过对诱变后代表型性状的研究认为不同品种对辐射反应差异明显较为一致, 因此, 从创造棉花新种质来看, 辐射对 J11 品种的诱变效果最好, 其次为 Arcot-1 品种, Su9108 品种的诱变效果较差。

#### 3.2 辐射诱变拓宽棉花种质资源的遗传基础

国内外许多研究结果表明陆地棉品种间的遗传多样性低, 遗传基础狭窄<sup>[1-4, 15, 16]</sup>。辐射诱变可以提高基因交换、基因重组和打破不利基因连锁, 使诱变材料产生大的 DNA 突变, 向太和等<sup>[17]</sup>用选育的突变体农林 8 号 m 与亲本进行 RAPD 标记和测序结果表明, 突变体比亲本缺失 29bpDNA 片段。本研究利用 39 个 SSR 标记分析了 3 个品种诱变后代材料  $M_5$  与未辐射



处理对照的遗传关系, 发现它们间具有丰富的遗传变异。如 32 个 Arcot-1、17 个 J11 诱变后代材料与未辐射处理对照遗传相似系数变幅分别为 0.6515~0.9697、0.5524~0.8095, 其平均遗传相似系数分别为 0.8637、0.6818。而用 RAPD 标记检测来自 23 个长江流域棉区和 68 个黄河流域棉区陆地棉品种之间的平均遗传相似系数分别为 0.631、0.632<sup>[1]</sup>; 用 RAPD、ISSR、SSR 等 3 种分子标记检测国内外 36 个陆地棉品种的平均遗传相似系数变幅为 0.6547~0.7524<sup>[18]</sup>。这就证明了通过辐射诱变, 3 个品种的诱变后代材料产生了较大变异, 拓宽了原有棉花品种的遗传基础。并且, 通过分子标记对辐射诱变后代材料的遗传基础分析, 为今后进行棉花突变体的测序和基因克隆打下了良好的基础, 也为棉花种质创新和辐射诱变育种提供了理论基础。

## 4 结论

4.1 辐射可创造丰富的遗传变异, 拓宽原品种的遗传基础。

4.2 辐射对不同棉花品种的诱变效果存在差异, 可通过 SSR 标记多样性检测了解辐射诱变创新种质的变异程度。

## References

- [1] 徐秋华, 张献龙, 聂以春. 长江、黄河流域两棉区陆地棉品种的遗传多样性比较研究. *遗传学报*, 2001, 28(7): 683-690.  
Xu Q H, Zhang X L, Nie Y C. Genetic diversity evaluation of cultivars (*G. hirsutum* L.) from the Changjiang River Valley and Tellow River Valley by RAPD markers. *Acta Genetica Sinica*, 2001, 28(7): 683-690. (in Chinese)
- [2] 刘文欣, 孔繁玲, 郭志丽, 张群远, 彭惠茹, 付小琼, 杨付新. 建国以来我国棉花品种遗传基础的分子标记分析. *遗传学报*, 2003, 30(6): 560-570.  
Liu W X, Kong F L, Guo Z L, Zhang Q Y, Peng H R, Fu X Q, Yang F X. An analysis about genetic basis of Cotton cultivars in China since 1949 with molecular markers. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30(6): 560-570. (in Chinese)
- [3] Multani D S, Lyon B R. Genetic fingerprinting of Australian cotton cultivars with RAPD markers. *Genome*, 1995, 38: 1005-1008.
- [4] Iqbal M J, Aziz N, Saeed N A, et al. Genetic diversity evaluation of some elite cotton varieties by RAPD analysis. *Theoretical and Applied Genetics*, 1997, 94: 139-144.
- [5] 苏学合, 高国强, 时香玉, 朱斗北. 陆地型长绒棉鲁原 343 系的选育. *核农学报*, 2000, 14(3): 180-183.  
Su X H, Gao G Q, Shi X Y, Zhu D B. Breeding of a terrestrial long staple cotton—LuYuan 343. *Acta Agriculturae Nucleatae Sinica*, 2000, 14(3): 180-183. (in Chinese)
- [6] 李中存. 辐射小麦幼胚诱变和筛选白粉病抗性突变体的研究. *华北农学报*, 2002, 17(2): 58-61.  
Li Z C. Induction and identification of resistant mutants to powdery mildew through irradiation of young embryo in wheat. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2002, 17(2): 58-61. (in Chinese)
- [7] 杨存义, 陈芳远, 王应祥, 范小威, 袁清华. 粳稻品种秋光空间诱变突变体的微卫星分析. *西北植物学报*, 2003, 23: 550-555.  
Yang C Y, Chen F Y, Wang Y X, Fan X W, Yuan Q H. Polymorphic analysis of microsatellite markers in mutants of japonica cultivar Akibikari induced by the space flight. *Acta Botanica Boreali-Occident. Sinica*, 2003, 23: 550-555. (in Chinese)
- [8] 徐家萍, 刘明辉, 汪泰初. 离子束诱变桑品种与亲本的同工酶和 RAPD 比较分析. *安徽农业大学学报*, 2002, 29(3): 286-288.  
Xu J P, Liu M H, Wang T C. Comparative research on isoenzyme and RAPD of a mutational mulberry variety induced by ion beam and its parent. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2002, 29(3): 286-288. (in Chinese)
- [9] 翟学军, 王国印, 李俊兰, 李之树, 耿军义. 棉花辐射效应研究 II. M2 主要经济性状的变异. *棉花学报*, 1995, 7(2): 82-85.  
Zai X J, Wang G Y, Li J L, Li Z S, Geng J Y. Studies on radiation effect for cotton II. Variation of main economic traits in M2 generation. *Acta Gossypii Sinica*, 1995, 7(2): 82-85. (in Chinese)
- [10] 李煦远, 潘兴宏, 李定国, 汤谷香. 陆地棉  $\gamma_2$  代主要经济性状变异研究. *湖北农学院学报*, 1997, 17(2): 81-87.  
Li X Y, Pan X H, Li D G, Tang G X. Study on variation of major economic traits in cotton  $\gamma_2$  generation. *Journal of Hubei Agricultural College*, 1997, 17(2): 81-87. (in Chinese)
- [11] 王国印, 翟学军, 耿军义, 李之树, 李延增, 李俊兰. 陆地棉辐射遗传变异选择效果研究. *华北农学报*, 2003, 18(院庆专辑): 73-75.  
Wang G Y, Zhai X J, Geng J Y, Li Z S, Liu C J, Li Y Z, Li J L. Studies on selection effects for genetic variation of radiated upland cotton. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2003, 18: 73-75. (in Chinese)
- [12] Paterson A H, Brubaker C L, Wendel J F. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium* spp.) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1993, 11(3): 122-127.
- [13] Zhang J F, James McD, Stewart. Economical and rapid method for extracting cotton genomic DNA. *Journal of Cotton Science*, 2000, 4: 193-201.

- [14] 李汝忠, 高国强, 王留明, 刘任重, 周 玉, 张 军. 不同陆地棉品种辐射效应研究初报. 棉花学报, 1997, 9(2): 108-109.  
Li Y Z, Gao G Q, Wang L M, S. Lahari, Liu R Z, Zhong Y, Zhang J. Studies on radiation effect of different cotton varieties (*G. hirsutum* L.). *Acta Gossypii Sinica*, 1997, 9(2): 108-109. (in Chinese)
- [15] 宋宪亮, 孙学振, 张天真, 王洪刚. 棉花遗传多态性研究进展. 西北植物学报, 2004, 24(12): 2393-2397.  
Song X L, Sun X Z, Zhang T Z, Wang H G. Advances on genetic diversity of cotton (*Gossypium*). *Acta Botanica Boreal-Occident Sinica*, 2004, 24(12): 2393-2397. (in Chinese)
- [16] 郭旺珍, 张天真, 潘家驹, 王心宇. 我国陆地棉品种的遗传多样性研究初报. 棉花学报, 1997, 9(5): 242-247.  
Guo W Z, Zhang T Z, Pan J J, Wang X Y. A preliminary study on genetic diversity of upland cotton cultivars in China. *Acta Gossypii Sinica*, 1997, 9(5): 242-247. (in Chinese)
- [17] 向太和, 杨剑波, 杨前进, 朱启升, 李 莉, 倪大虎, 汪秀峰, 黄大年.  $^{60}\text{Co}$  辐照对水稻基因组 DNA 诱变的分子生物学效应. 生物化学与生物物理进展, 2002, 29(5): 754-759.  
Xiang T H, Yang J B, Yang Q J, Zhu Q S, Li L, Ni D H, Wang X F, Huang D N. Molecular biological effect of  $^{60}\text{Co}$  gamma ray irradiation on rice genome DNA. *Prog. Biochem. Biophys.* 2002, 29(5): 754-759. (in Chinese)
- [18] 武耀廷, 张天真, 殷剑美. 利用分子标记和形态学性状检测的陆地棉栽培品种遗传多样性. 遗传学报, 2001, 28: 1040-1050.  
Wu Y T, Zhang T Z, Yin J M. Genetic diversity detected by DNA markers and phenotypes in upland cotton. *Acta Genetica Sinica*, 2001, 28(11): 1040-1050. (in Chinese)

(责任编辑 孙雷心)

## 欢迎订阅《植物营养与肥料学报》

《植物营养与肥料学报》为中国植物营养与肥料学会主办, 国内外公开发行的专业性学术刊物。属中国科技核心期刊; 中文核心期刊。为国家科技部“中国科技论文统计源期刊”以及《中国学术期刊综合评价数据库》、《中国科学引文数据库》和《美国化学文摘》来源期刊。近年来, 该刊的学术水平和编辑质量稳步上升, 影响因子、总被引频次, 居全国农业科技期刊前列。荣获了第四届全国优秀农业期刊学术类一等奖。《植物营养与肥料学报》主要报道本学科具有创见性的学术论文、新技术和新方法、研究报告、简报、文献评述和问题讨论等。其主要包括土壤、肥料和作物间的关系, 养分变化和平衡; 各种肥料在土壤中的变化规律和配施原理; 农作物遗传种质特性对养分反应; 作物根际营养; 施肥与环境; 施肥与农产品品质; 农业生物学和生物化学应用; 肥料的新剂型新品种的研制、应用及作用机理; 本学科领域中新手段、新方法的研究以及与本学科相关联的边缘学科等。

2007 年的《植物营养与肥料学报》为双月刊, 大 16 开本, 页码 160 页, 单月 25 出版, 定价 20 元, 全年 120 元。邮发代号: 82-169。可通过全国各地邮局办理 2007 年订阅手续。也可直接汇款到本刊编辑部办理订阅。

地 址: 100081 北京市中关村南大街 12 号

中国农科院资源区划所《植物营养与肥料学报》编辑部

电 话: 010-68918653; Email: zwyf@caas.ac.cn zwyf@chinajournal.net.cn