



鲁棉研 15 号纤维品质性状 QTL 定位研究

王琳¹, 刘方¹, 黎绍惠¹, 王春英¹, 张香娣¹, 王玉红¹, 华金平^{2*}, 王坤波^{1*}

(1. 中国农业科学院棉花研究所 / 棉花生物学国家重点实验室, 河南 安阳 455000;

2. 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100193)

摘要: 以陆地棉 (*Gossypium hirsutum* L.) 杂交种鲁棉研 15 号的 F₂ 群体为作图群体, 利用 SSR 标记和 JoinMap3.0 软件构建遗传连锁图谱; 利用复合区间作图法分别对随机组成的 3 个鲁棉研 15 号的 F₂₃ 家系亚群体进行纤维品质性状 QTL 定位。构建的遗传连锁图谱包含 116 个多态位点, 25 个连锁群, 全长 892.25 cM, 覆盖棉花总基因组的 20.05%, 平均每个连锁群 4.64 个标记, 标记间平均距离 7.76 cM; 根据已有图谱的定位结果, 19 个连锁群与染色体建立了联系。在 3 个 F₂₃ 家系亚群体中共检测到 46 个 QTL, 其中 16 个为纤维长度 (FL) QTL, 7 个为纤维强度 (FS), 12 个为麦克隆值 (FM), 6 个为伸长率 (FE), 5 个为整齐度指数 (FU)。发现在 A_n05、A_n08、A_n09、D_n02 染色体上 QTL 有成簇分布的现象, 并在 3 个亚群体中检测到一些受环境影响较小、稳定遗传的 QTL。这些 QTL 可以在今后应用于分子标记辅助选择。

关键词: 棉花; 纤维品质; QTL 定位; 鲁棉研 15 号

中图分类号: S562.035:Q812 **文献标志码:** A

文章编号: 1002-7807(2012)02-0097-09

QTL Mapping for Fiber Quality Properties in Lumianyan 15

WANG Lin¹, LIU Fang¹, LI Shao-hui¹, WANG Chun-ying¹, ZHANG Xiang-di¹, WANG Yu-hong¹, HUA Jin-ping^{2*}, WANG Kun-bo^{1*}

(1. Cotton Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences/ State Key Laboratory of Cotton Biology, Anyang, Henan 455000, China; 2. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: In this study, the F₂ mapping population was assembled using the parents of hybrid Lumianyan 15 (613 and R55) to construct a genetic linkage map with SSR markers using JoinMap 3.0 software. The QTLs for fiber quality properties in three F₂₃ subpopulations were mapped by the composite interval mapping method. A genetic linkage map included 116 SSR loci and 25 linkage groups, covering 892.25 cM and accounting for 20.05% of the cotton genome. The average number of markers per linkage group was 4.64 and the average distance of markers was 7.76 cM. A total of 19 groups were anchored to the chromosomes based on the results of previous studies. Based on data analyses, 46 QTLs were identified in three F₂₃ subpopulations, including 16 QTLs for fiber length, 7 for fiber strength, 12 for fiber micronaire, 6 for fiber elongation, and 5 for fiber uniformity. Some QTLs were clustered on chromosomes A_n05, A_n08, A_n09, and D_n02. The results revealed that some QTLs could be stably inherited and durable in different environments among the three subpopulations. These QTLs can be used for molecular breeding of fiber quality traits in cotton.

Key words: upland cotton; fiber quality; QTL mapping; Lumianyan15

棉花是世界上最重要的天然纤维和第六大油料作物, 是全球纺织工业的基础, 在世界经济中发挥着重要的作用^[1]。中国不仅是世界上的产棉大国, 同时也是棉花的消费大国, 棉花产业在

国民经济中具有重要的地位和作用。随着社会的发展和纺织技术的进步, 对棉花纤维品质的要求也越来越高, 在提高产量的同时, 改良纤维品质成为棉花育种的新目标。棉花的纤维品质性状属

收稿日期: 2011-05-17

作者简介: 王琳 (1985-), 男, 硕士研究生, wangmumu1986@126.com; * 通讯作者: 华金平, jinping_hua@cau.edu.cn; 王坤波, wkbcri@163.com

基金项目: 国家 863 计划 (2009AA101104), 国家自然科学基金 (31071466), 中央级公益性院所基本科研业务费 (SJA0901)

于数量性状,最终的表现型是基因型和环境共同作用的结果,受环境条件的影响很大。

另外,纤维品质和产量性状之间存在着复杂的相关关系,而且大部分是负相关,这给棉花产量和品质的同步改良带来了很大的难度^[2]。近年来,随着生物技术的发展,通过转基因或分子标记辅助选择技术,可以在分子水平上对目标性状进行改良,大大提高育种效率。目前,国内外许多学者对棉花纤维品质性状进行了 QTL(Quantitative trait locus)定位研究^[3-16]。Zhang 等^[9]利用异常棉高强纤维渐渗系 7235 鉴定了一个控制纤维强度的主效 QTL,可解释 30%以上的表型变异,并且在多种环境中能够稳定表达;王娟等^[10]利用渝棉 1 号和 TM-1 杂交产生的 F₂、F_{2.3} 分离群体,检测到一批来源于渝棉 1 号的优良纤维品质的 QTLs。秦永生等^[14]利用两个具有共同亲本的陆地棉强优势杂交种湘杂棉 2 号和中棉所 28 各自的 F₂ 为作图群体,分别对两个群体进行多环境平均值的联合分析和三环境的分离分析,中棉所 28 群体分别检测到 22 个和 39 个 QTLs,湘杂棉 2 号群体分别检测到 18 个和 51 个 QTLs,并在 2 个群体中发现一些在不同环境条件下能稳定遗传的 QTLs。上述结果为研究棉花纤维品质 QTL 在基因组上的分布特点,以及通过分子标记辅助选择进行种质材料的创新奠定了基础。本研究选用生产上曾经大面积推广的转基因抗虫棉杂交种鲁棉研 15 号的两个亲本 613 和 R55,分别构建了 F₂、F_{2.3} 分离群体,利用 SSR 标记和 Join-Map3.0^[17]软件构建了遗传连锁图谱,利用 Win-QTLCart 2.5^[18]的复合区间作图法分别对鲁棉研 15 号的 3 个 F_{2.3} 家系亚群体进行纤维品质性状的 QTL 定位研究,以期发掘出在不同环境条件下能够稳定遗传的 QTL,为分子标记辅助改良棉花纤维品质奠定基础。

1 材料与与方法

1.1 试验材料

选用转基因抗虫棉杂交种鲁棉研 15 号^[9]及其两个亲本材料、F₂、F_{2.3} 为研究对象。鲁棉研 15 号的母本 613 是选自石远 321 的非抗虫常规品系,石远 321 是从 {86-1×[(吉扎 45×瑟伯氏棉)

F₂×ASJ-2]F₃}×中 381 为亲本组合的棉属种间杂交后代选育的,是丰产潜力大、适应性强的陆地棉品种。而其父本则选于转基因抗虫棉 GK-12, GK-12 是由泗棉 3 号导入 Bt 基因获得的。利用鲁棉研 15 号的两个亲本 613 和 R55,2007 年夏天在河南安阳中国农业科学院棉花研究所试验农场,通过株对株杂交产生 F₁。2007 年冬天在海南三亚种植亲本和 F₁,进行真假杂种鉴定,并选择杂合植株自交产生 F₂,得到约 800 粒种子。2008 年冬天在海南种植所有的 F₂ 单株,自交产生 F_{2.3} 家系种子。从大约 800 份 F_{2.3} 家系种子中随机挑选 558 份,并随机分为 A、B、C 三个亚群体,每个亚群体包含 186 份材料。

1.2 纤维品质相关性状测定

2009 年分别在长江流域(湖北鄂州)和黄河流域(河南安阳和河北曲周)设试验点,每个试验点种植两个亚群体(安阳:A+B;曲周:A+C;鄂州:B+C),设置两次重复,每次重复中种植父本、母本、F₁ 和 F₂ 各一次。小区为双行区,每隔 20 个小区种植 1 个小区的鲁棉研 15 的父本作为对照。安阳和曲周试点行长 4 m,株距 25 cm,行距 80 cm,观察道 1 m;鄂州试点行长 3 m,株距 40 cm,行距 90 cm,观察道 1 m。田间管理按常规生产方式进行。

每个材料分别随机挑选 10 株进行调查并挂牌标记,吐絮后选择中部较好的铃,每株收获 1~2 个,共 20 铃用于纤维品质的测定。纤维品质检测由农业部棉花品质检验检测中心利用 HVI900 测定,检测指标包括:纤维长度(Fiber length,FL)、纤维强度(Fiber strength,FS)、麦克隆值(Fiber micronaire,FM)、纤维伸长率(Fiber elongation,FE)、整齐度指数(Fiber uniformity,FU)。

1.3 SSR 分子标记检测与 PCR 扩增

基因组 DNA 的提取采用改良的 CTAB 法^[20],筛选了 12117 对 SSR 引物。引物信息来源于 <http://www.cottonmarker.org> 网站,由上海英俊生物技术有限公司合成。标记的命名包含表示其来源的字母,随后是引物的编号,按分子量大小依次用 a、b、c 表示同一引物产生的不同扩增位点。SSR 的实验分析流程参考张军等^[21]的方法。Taq 酶、dNTPs 和 PCR 反应的其它试剂购自北京天根生

化科技有限公司。

1.4 连锁分析与 QTL 位点系统命名

应用 SPSS 16.0 软件对纤维品质性状检测结果进行统计分析,用卡方检验分析标记在群体上是否符合孟德尔分离规律。使用 JoinMap3.0 构建遗传连锁图谱,最大遗传距离为 50 cM,LOD 值 ≥ 7.0 。对照前人^[14,16,22-25]构建的遗传连锁图谱将连锁群定位到相应的染色体,利用绘图软件 Map Chart 2.2 绘制遗传连锁图,将无法定位的连锁群定义为 LGXX,其中 LG 代表“连锁群”,XX 表示序号。应用 Win QTL Cart 2.5 的复合区间作图法进行单位点 QTL 定位^[20],对于不同环境条件下位于同一连锁群(染色体)上的控制相同性状的 QTL 的确定,采用置信区间为峰值两侧各下降 1 LOD 值所对应的区间,在此区间之内发生重叠的 QTL 即为相同的 QTL^[13]。选用 1000 次排序测验(Permutation test),LR 值取值 11.5,相当于 LOD 值 2.5。

染色体命名采用染色体亚组+种名+染色体序号的方法,例如 A₀3 表示陆地棉 A 亚组 3 号染色体。QTL 的命名方法采用水稻上常用的方法,按照 QTL+性状+染色体(连锁群)+QTL 个数,其中 QTL 以小写“q”开始,性状以英文缩写表示,如果同一染色体(连锁群)上存在多个不同位点的 QTL 则在染色体后面加上数字“1”,“2”,“3”等表示。

2 结果与分析

2.1 SSR 多态性分析和遗传连锁图谱构建

利用亲本进行 SSR 引物筛选共得到 151 对多态性引物,产生 154 个多态性位点。利用其中的 116 个位点构建了 25 个连锁群,共覆盖 892.25 cM,约占棉花总基因组的 20.05%。最大的连锁群有 16 个标记,最小的只有 2 个标记,每个连锁群平均包含 4.64 个标记,标记间平均距离为 7.76 cM。25 个连锁群中的 19 个与染色体建立了联系,其余 6 个连锁群未定位到染色体上。

2.2 纤维品质性状的表现

纤维品质性状表现见表 1。对于不同的亚群体,在不同环境条件下纤维品质性状的平均值稍有差别,但变异幅度不大。其中亚群体 B 和 C 在

不同环境下克隆值和伸长率平均值的差异较大,可能是由于鲁棉研 15 号是黄河流域的品种,在长江流域受环境条件的影响发生较大变异。3 个亚群体纤维品质各性状偏度均小于 1,符合典型的数量性状正态分布特征。3 个亚群体在 6 个环境条件下纤维长度和纤维强度均低于高值亲本 613,也证明了 613 的纤维品质确实优良。

2.3 纤维品质性状 QTL 定位及分析

利用 Win QTL Cart 2.5 的复合区间作图法,通过对 3 个亚群体进行纤维品质性状的 QTL 作图,共检测到 46 个纤维品质性状相关的 QTL,其中纤维长度 16 个,纤维强度 7 个,克隆值 12 个,伸长率 6 个,整齐度指数 5 个,见图 1 和表 2 所示。

2.3.1 纤维长度。共检测到 16 个纤维长度的 QTL,解释 1.41%~24.28%的表型变异(贡献率)。其中 qFL-4-1 能够在 C 亚群体的两个环境中同时检测到,位于相同的标记区间内,解释表型变异分别为 7.48%、10.53%。qFL-4-3 能够在 3 个亚群体的 4 个环境中同时检测到,均位于 DPL0133-NAU1369 区间内,并且在连锁群上的位置相同,平均解释 13.93%的表型变异。qFL-4-4 能够在 3 个亚群体的 4 个环境中同时检测到,均位于 NAU4064-COT065 区间内,平均解释 14.94%的表型变异。这 3 个 QTL 是能够稳定遗传的,其余的 QTL 只能在同一个亚群体的一个环境中检测到。控制纤维长度的 QTL 中,除了位于 LG3 和 LG11 连锁群上的 QTL 的增效基因来自 R55 外,其他连锁群上的 QTL 的增效基因均来自 613,这也说明父本材料 613 的纤维长度性状比较优良,与表型性状的结果一致。

2.3.2 纤维强度。共检测到 7 个纤维强度的 QTL,这些 QTL 只能在同一个亚群体的一个环境中检测到,解释表型变异的 1.50%~10.89%。除了 qFS-4-2 的增效基因来自 R55 外,其他 QTL 的增效基因均来自 613。

2.3.3 克隆值。共检测到 12 个克隆值的 QTL,解释表型变异的 2.96%~14.22%。其中 qFM-11-1 能够在两个亚群体的 2 个环境中同时检测到,都位于 BNL1421-CIR096 的区间内,解释的表型变异分别为 14.22%、4.43%。其余的

表 1 鲁棉研 15 号的 3 个亚群体和亲本的纤维品质性状统计分析

Table 1 Statistical analysis of fiber traits of the three subpopulations of Lumianyan15 and their parents

亚群体 Subpopula- tion	性状 Trait	环境 Env	F ₂₃ 群体 F ₂₃ populations					亲本 Parents	
			变异范围 Range	均值 Mean	标准差 Stdev	变异 CV/%	偏度 Skew	613	R55
A	纤维长度	1	26.13~31.36	28.72	0.83	2.89	-0.27	29.31	27.97
	Fiber length /mm	2	25.59~31.30	29.27	0.91	3.12	-0.42	30.29	28.60
	纤维强度	1	26.95~33.45	30.42	1.15	3.78	-0.19	31.40	29.00
	Fiber strength / (cN·tex ⁻¹)	2	28.05~35.10	31.88	1.27	4.00	-0.24	33.50	31.10
	麦克隆值	1	3.63~5.18	4.44	0.30	6.82	-0.15	4.12	4.66
	Fiber micronaire	2	3.32~5.20	4.31	0.30	7.03	-0.06	4.15	4.43
	纤维伸长率	1	6.35~6.95	6.64	0.10	1.54	-0.17	6.60	6.65
	Fiber elongation /%	2	6.40~6.95	6.70	0.10	1.44	-0.24	6.70	6.85
	整齐度指数	1	80.65~86.90	85.14	1.02	1.19	-0.77	83.70	86.65
Fiber uniformity /%	2	81.70~87.25	85.05	1.10	1.29	-0.49	86.80	85.30	
B	纤维长度	1	26.85~31.54	28.81	0.84	2.90	0.42	29.31	27.97
	Fiber length /mm	3	25.36~29.70	27.49	0.84	3.04	-0.01	28.15	26.21
	纤维强度	1	27.95~34.40	30.81	1.09	3.54	0.13	31.40	29.00
	Fiber strength / (cN·tex ⁻¹)	3	26.07~35.97	30.75	1.62	5.27	0.21	33.08	26.85
	麦克隆值	1	3.75~5.64	4.46	0.30	6.67	0.37	4.12	4.66
	Fiber micronaire	3	4.93~6.13	5.53	0.22	3.94	-0.19	5.42	5.45
	纤维伸长率	1	6.45~6.95	6.68	0.10	1.49	0.15	6.60	6.65
	Fiber elongation /%	3	3.80~6.70	5.12	0.52	10.12	0.20	4.40	5.20
	整齐度指数	1	82.50~87.20	85.17	0.93	1.10	-0.29	83.70	86.65
Fiber uniformity /%	3	82.55~87.25	85.08	0.86	1.02	0.01	84.60	84.75	
C	纤维长度	2	26.66~32.13	29.42	0.92	3.12	-0.09	30.29	28.60
	Fiber length /mm	3	25.42~30.10	27.70	0.86	3.11	0.06	28.15	26.21
	纤维强度	2	28.05~35.15	31.74	1.20	3.78	-0.01	33.50	31.10
	Fiber strength / (cN·tex ⁻¹)	3	26.12~35.62	30.67	1.59	5.17	0.29	33.08	26.85
	麦克隆值	2	3.24~5.28	4.25	0.30	7.05	0.04	4.15	4.43
	Fiber micronaire	3	4.77~5.95	5.49	0.21	3.86	-0.33	5.42	5.45
	纤维伸长率	2	6.50~6.90	6.70	0.09	1.32	-0.20	6.70	6.85
	Fiber elongation /%	3	4.05~6.70	5.15	0.48	9.28	0.39	4.40	5.20
	整齐度指数	2	81.75~87.50	85.13	0.97	1.14	-0.38	86.80	85.30
Fiber uniformity /%	3	83.3~87.15	85.25	0.76	0.90	0.17	84.60	84.75	

注:环境 1,2,3 分别表示河南安阳、河北曲周、湖北鄂州,其中安阳和曲周属于黄河流域,鄂州属于长江流域。

Note: Env 1, 2, 3 denote Anyang in Henan province, Quzhou in Hebei province, Ezhou in Hubei province, respectively. Anyang and Quzhou belong to Yellow River Valley, Ezhou is located in Yangtze River Valley.

QTL 只能在同一个亚群体的一个环境中检测到。其中有 3 个 QTL 的增效基因来自 613,其余的 9 个 QTL 的增效基因均来自 R55。

2.3.4 伸长率。共检测到 6 个伸长率的 QTL,解释表型变异的 1.74%~13.30%。其中 qFE-16-1 能够在两个亚群体的 2 个环境中同时检测到,位于相同的区间内,解释的表型变异分别为 13.30%、12.82%,是能够稳定遗传的 QTL。其余的 QTL 只能在同一个亚群体的一个环境中检测到。除了 qFE-16-1 的增效基因来自 613 外,其余 5 个 QTL 的增效基因均来自 R55。

2.3.5 整齐度指数。共检测到 5 个整齐度指数的 QTL,解释表型变异的 3.06%~7.57%。这些 QTL

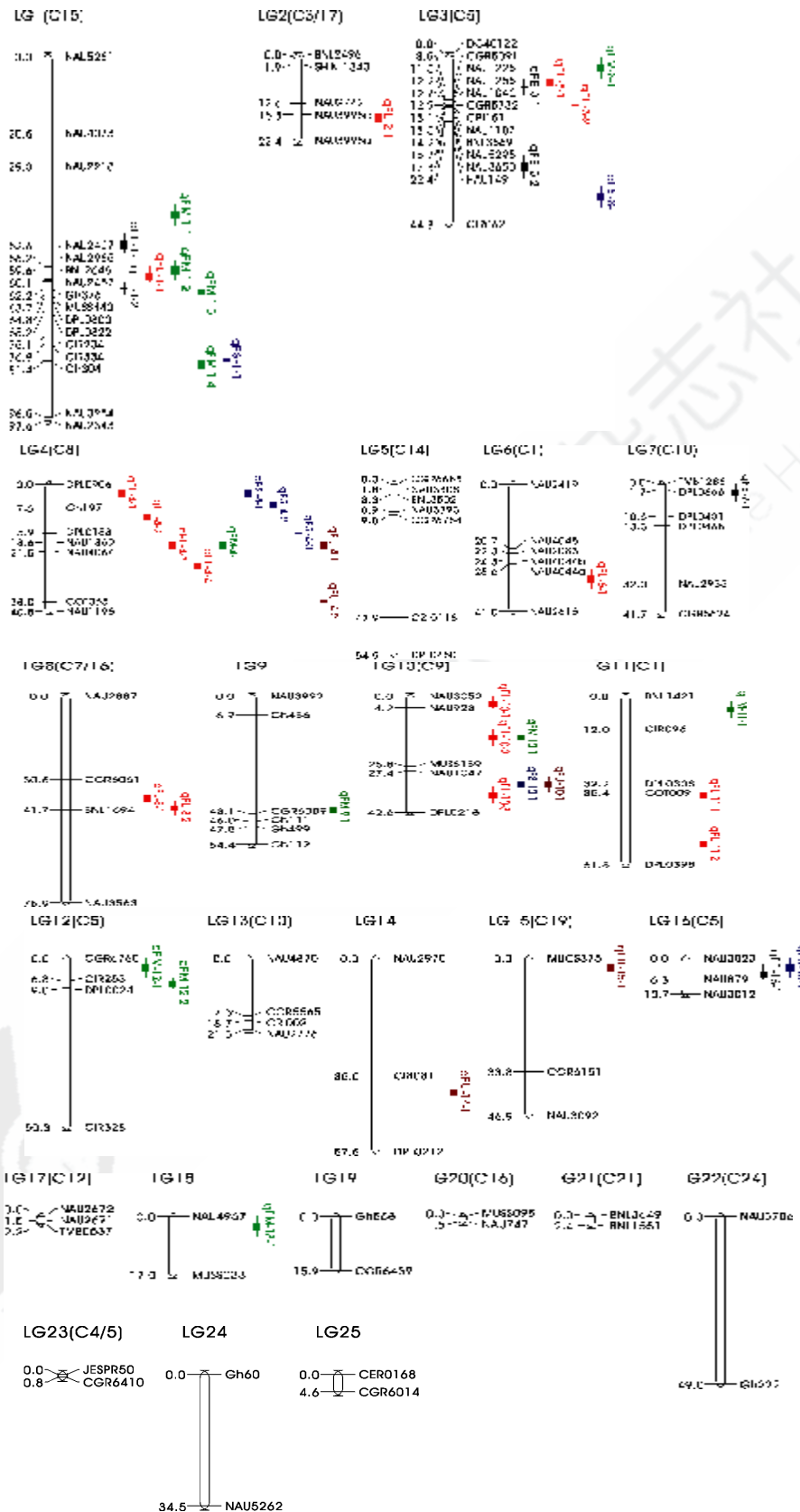
只能在同一个亚群体的一个环境中检测到,QTL 的增效基因 2 个来自 613,3 个来自 R55。

综合三个亚群体 5 个纤维品质性状 QTL 分析结果发现,有 5 个 QTL 能在两个或两个以上的环境中同时检测到,且贡献率较高,能够稳定遗传。其中与纤维长度相关的 3 个,与麦克隆值相关的 1 个,与伸长率相关的 1 个,增效基因均来自 613。这也说明了父本材料 613 的纤维品质性状优良,生产上有进一步利用的价值。

3 讨论

3.1 亲本选配与遗传图谱构建

由于陆地棉的遗传基础狭窄,DNA 标记多态



注:黑色、红色、绿色、蓝色、暗红色分别代表伸长率、纤维长度、麦克隆值、纤维强度、纤维整齐度指数。

Note: black, red, green, blue and maroon denote fiber elongation, fiber length, fiber micronaire, fiber strength, fiber uniformity, respectively.

图 1 F₂ 群体 SSR 连锁图谱及 QTL 定位结果

Fig. 1 SSR linkage map and location of QTL from F₂ population

表2 复合区间作图法定位 F₂₃ 群体纤维品质性状的 QTL
Table 2 QTLs of fiber quality traits detected by CIM in F₂₃ populations

性状 Trait	QTL	亚群体 Subpopu- lation	环境 Env	标记区间 Flanking markers	位置 Position /cM	LR	加性 效应 A	显性 效应 D	D/A	贡献率 R ²	方向 Direc- tion
纤维长度 Fiber length	qFL-1-1	C	3	NAU2985-BNL2646	59.6	20.55	0.2504	0.1784	0.71	3.50	613
	qFL-2-1	A	1	BNL3569-NAU5295	15.3	13.25	0.1373	0.1904	1.39	1.41	613
	qFL-3-1	B	1	DC40122-CGR5091	8	13.673	-0.2793	0.3766	1.35	5.66	R55
	qFL-3-2	B	3	CRI151-NAU1187	13.1	13.93	-0.3024	0.3422	1.13	6.16	R55
	qFL-4-1	C	3	DPL0906-Gh197	0	12.63	0.3755	-0.3875	1.03	7.48	613
		C	2	DPL0906-Gh197	2	17.51	0.4512	-0.2784	0.62	10.53	613
	qFL-4-2	C	2	Gh197-DPL0133	9.6	13.16	0.3574	-0.1513	0.42	7.61	613
	qFL-4-3	A	1	DPL0133-NAU1369	17.9	37.55	0.6469	0.1556	0.24	24.28	613
		B	1	DPL0133-NAU1369	17.9	18.26	0.3386	0.2892	0.85	5.39	613
		B	3	DPL0133-NAU1369	17.9	37.36	0.3970	0.1979	0.50	10.73	613
		C	3	DPL0133-NAU1369	17.9	18.51	0.5215	-0.2749	0.53	15.31	613
	qFL-4-4	A	1	NAU4064-COT065	25.5	33.37	0.4997	0.0871	0.17	17.11	613
		A	2	NAU4064-COT065	25.5	20.85	0.4617	0.0168	0.04	12.26	613
		C	3	NAU4064-COT065	27.5	15.93	0.4342	-0.1748	0.40	10.63	613
		B	1	NAU4064-COT065	29.5	34.11	0.5345	-0.0674	0.13	19.75	613
	qFL-6-1	B	3	NAU4044a-NAU2616	29.6	17.44	0.2749	0.0949	0.35	5.15	613
	qFL-8-1	C	3	CGR6061-BNL1694	36.6	24.69	0.4798	0.1123	0.23	10.64	613
	qFL-8-2	C	2	CGR6061-BNL1694	41.7	14.86	0.2341	0.1920	0.82	2.98	613
	qFL-10-1	B	3	NAU3052-NAU923	0	13.4	0.1970	0.1751	0.89	2.73	613
	qFL-10-2	B	3	NAU923-MUSS139	16.2	12.02	0.2894	-0.0122	0.04	5.98	613
qFL-10-3	C	2	NAU1047-DPL0218	37.4	18.33	0.4139	-0.1869	0.45	9.75	613	
qFL-11-1	C	2	COT009-DPL0398	37.4	19.68	-0.4684	0.3711	0.79	12.17	R55	
qFL-11-2	C	3	COT009-DPL0398	55.4	13.84	-0.4147	0.4958	1.20	10.47	R55	
纤维强度 Fiber strength	qFS-1-1	B	3	Gh304-NAU3254	81.4	12.51	0.6493	-0.1340	0.21	7.56	613
	qFS-3-1	C	2	HAU149-CIR062	38.4	14.47	0.5013	0.0199	0.04	8.36	613
	qFS-4-1	C	3	DPL0906-Gh197	0	11.55	0.7309	-0.7239	0.99	8.38	613
	qFS-4-2	B	1	DPL0906-Gh197	6	20.1	-0.2493	0.7637	3.06	2.16	R55
	qFS-4-3	B	1	DPL0133-NAU1369	15.9	19.88	0.3465	0.2197	0.63	4.57	613
	qFS-10-1	C	2	NAU1047-DPL0218	33.4	11.68	0.2120	0.2538	1.20	1.50	613
	qFS-16-1	A	1	NAU3823-NAU879	0	16.98	0.5507	-0.0248	0.05	10.89	613
	qFM-1-1	B	3	NAU2218-NAU2427	41.4	12.39	-0.1123	0.0745	0.66	11.46	R55
	qFM-1-2	C	3	NAU2985-BNL2646	56.2	12.77	-0.0664	-0.0065	0.10	5.08	R55
	qFM-1-3	C	3	MUSS440-DPL0300	63.7	12.25	-0.0585	-0.0222	0.38	3.41	R55
麦克隆值 Fibermicronaire	qFM-1-4	A	1	Gh304-NAU3254	81.4	11.59	0.0765	0.0278	0.36	2.96	613
	qFM-3-1	B	1	DC40122-CGR5091	0	11.7	0.0930	0.0782	0.84	4.22	613
	qFM-4-1	B	3	DPL0133-NAU1369	17.9	27.94	-0.0771	-0.0739	0.96	6.02	R55
	qFM-9-1	C	2	Gh486-CGR6389	42.9	14.83	-0.1134	-0.0241	0.21	6.51	R55
	qFM-10-1	B	3	NAU923-MUSS139	14.2	18.43	-0.1074	0.0643	0.60	12.25	R55
	qFM-11-1	B	3	BNL1421-CIR096	6	23.92	0.1248	0.0454	0.36	14.22	613
		A	2	BNL1421-CIR096	6	16.32	0.0966	0.0784	0.81	4.43	613
	qFM-12-1	C	3	CGR6760-CIR253	0	12	-0.0885	0.0433	0.49	7.59	R55
	qFM-12-2	A	2	CIR253-DPL0024	8.8	14.05	-0.1173	0.0107	0.09	7.39	R55
	qFM-18-1	C	2	NAU4967-MUSS033	0	16.83	-0.1407	0.2414	1.72	10.45	R55
伸长率 Fiberelongation	qFE-1-1	B	3	NAU2218-NAU2427	51.4	24.15	-0.1300	-0.2445	1.88	1.80	R55
	qFE-1-2	B	3	NAU2457-Gh376	62.1	13.8	-0.1584	-0.1060	0.67	1.74	R55
	qFE-3-1	C	3	CGR5091-NAU1225	8.5	13.33	-0.1938	-0.0010	0.01	6.92	R55
	qFE-3-2	C	3	HAU149-CIR062	30.4	15.57	-0.2097	-0.0248	0.12	8.88	R55
	qFE-7-1	B	3	TMB1288-DPL0666	0	13.78	-0.2111	0.0547	0.26	7.80	R55
	qFE-16-1	A	1	NAU3823-NAU879	0	18.1	0.0544	-0.0110	0.20	13.30	613
		B	1	NAU3823-NAU879	0	21.2	0.0502	0.0151	0.30	12.82	613
	qFU-4-1	B	1	DPL0133-NAU1369	17.9	15.88	0.2601	0.2694	1.04	3.66	613
整齐度指数 Fiber uniformity	qFU-4-2	C	3	NAU4064-COT065	38	13.89	-0.2312	0.4115	1.78	3.06	R55
	qFU-10-1	B	3	NAU1047-DPL0218	33.4	17.53	0.3177	0.1265	0.40	6.82	613
	qFU-14-1	B	3	CRI081-DPL0212	41	17.77	-0.2894	-0.4111	1.42	5.50	R55
	qFU-15-1	A	1	MUCS375-CGR6151	0	16.09	-0.4227	-0.3588	0.85	7.57	R55

注:环境 1,2,3 分别表示河南安阳、河北曲周、湖北鄂州,其中安阳和曲周属于黄河流域,鄂州属于长江流域。

Note: Env 1, 2, 3 denote Anyang in Henan province, Quzhou in Hebei province, Ezhou in Hubei province, respectively. Anyang and Quzhou belong to Yellow River Valley, Ezhou is located in Yangtze River Valley.

性低,因此构建的种内遗传连锁图谱所含的标记数较少,覆盖率较低,这已经成为分子标记辅助选择应用的主要限制因素之一。王娟等^[10]利用 5544 对 SSR 引物筛选 TM-1 和渝棉 1 号之间的多态性,多态性引物比例为 3.2%。陈利等^[12]利用 3458 对 SSR 引物筛选中棉所 35 和渝棉 1 号间的差异,多态性引物占 5.0%,构建的遗传连锁图谱总长 1309.2 cM,覆盖棉花基因组的 29.5%。本研究利用 12117 对 SSR 引物筛选 613 和 R55 间的多态性,仅获得 151 对多态性引物,多态性引物比例为 1.25%;构建的遗传连锁图谱总长为 892.25 cM,约占棉花基因组的 20.05%。与现有陆地棉作图群体相比,利用 613 与 R55 构建的群体 DNA 多态性更低,原因可能是由于 613 和 R55 的亲缘关系更近、遗传差异更小造成的,因此构建的遗传连锁图谱仍需进一步增加密度。

3.2 QTL 效应检测

通过 QTL 作图和分子标记与性状的关联分析发现,在 LG1 上同时具有与纤维长度、纤维强度、伸长率、麦克隆值相关的 QTL 位点存在。一个标记区间内同时存在多个性状的 QTL,如 NAU3823-NAU879 区间内存在同时与纤维强度、伸长率有关的 QTL;而且同一标记区间内的有些性状的 QTL 表现为正效应,有些性状的 QTL 表现为负效应,这可能与性状之间的遗传连锁有关。同一标记区间内的双向效应给计算单个标记的选择效率增加了难度,使利用分子标记进行数量性状的辅助选择受到限制。因此,在进行分子标记辅助选择时,只考虑单个标记对某一个性状变异解释的方差百分比是不全面的,应该综合考虑标记周围 QTL 之间的相互影响。

QTL 检测是基于性状在双亲上遗传效应的差异,而在双亲间表现同等效应的基因位点是检测不到的。另外,基因的表达受环境条件的影响很大,在环境条件改变或不同生育时期,检测到的 QTL 可能有所不同,这是由于某些基因在不同时期表达或在同一时期表达量不同所致。另外,应用分子标记遗传连锁图谱分析 QTL 的灵敏度依赖许多条件,包括研究群体的大小、性状遗传力的大小、检测临界值的选择等诸多因素,只有效应较大的 QTL 才容易被检测到。因此,应

用分子标记遗传连锁图谱分析 QTL 时往往是低估了其本身效应值。

3.3 纤维品质性状基因的成簇分布和一因多效

棉花的数量性状不仅遗传力较低,而且极易受到环境条件的影响。分子标记辅助育种的前提是找到在不同环境下可以稳定遗传并且效应较大的 QTL。本研究利用陆地棉杂交种鲁棉研 15 号的 F₂ 和 F_{2,3} 分离群体,考察分析了与纤维品质相关的 5 个性状,发现了 5 个能在两个或两个以上环境条件下稳定表达并且能解释较大的表型变异的 QTL,这些 QTL 的增效基因均来自 613,因此认为在这些位点存在控制相关性状并且能够稳定遗传的 QTL。这些 QTL 是可以继续研究利用的主效 QTL,可以用与 QTL 紧密连锁的标记,进一步进行精细定位,通过图位克隆找到控制相关性状的基因,用于分子标记辅助育种实践中。

在 QTL 的检测过程中,在 LG16 上的 NAU3823-NAU879 标记区间内的相同位置(0.0)检测到的 QTL 能解释 10.89%纤维强度的表型变异、13.06%伸长率的表型变异;在 LG4 上的 DPL0133-NAU1369 标记区间内检测到的 QTL 能解释 13.92%纤维长度的表型变异、4.57%纤维强度的表型变异、6.02%麦克隆值的表型变异和 3.66%整齐度指数的表型变异。这说明两个问题,首先是控制纤维品质性状的基因在棉花连锁群(染色体)上可能成簇分布,其次可能一个 QTL 同时控制多个性状,只是对不同性状的贡献有一定的差别,即一因多效。Ulloa 等^[3]在陆地棉种间杂交群体中发现标记 A42B1b 附近的 1 个 QTL 能解释 4.8%的衣分表型变异、24.6%的纤维比强度表型变异、11.5%的 2.5%跨度表型变异和 11.3%的纤维周长表型变异,因此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。在进行分子标记辅助选择的育种实践中,要善于利用有益的连锁标记,使棉花产量和品质同步提高。

3.4 QTL 在分子标记辅助选择中的应用

传统的育种是通过表现型间接对基因型进行选择,这种方法对质量性状而言一般是有效的,但对数量性状来说则效率不高。分子标记为

实现对基因型的选择提供了可能,并且可以大大提高选择的效率和准确性。

Guo 等^[27]利用来自高强纤维种质系 7235 的 2 个高强纤维主效 QTL 的分子标记对两个不同的育种群体进行分子标记辅助选择效率研究,结果发现,利用该 QTL 进行分子标记辅助选择,纤维强度显著提高。董章辉等^[28]利用 TG41 和 sGK156 与纤维品质优异的 HS427-10、7235 以及 0-153 配置 3 套双交 F₁ 和 F₂ 群体,利用 3 个与纤维长度相关的 SSR 的 QTL 进行辅助选择,结果表明含有 QTL 数目越多的株系,其纤维长度增加的值就越大。在前人的大多数研究中,QTL 定位只是为了寻找目的基因,因此通常选择差异较大的遗传材料,而没有与育种材料相结合,使得 QTL 定位和育种脱节。本研究选用的试验材料,既是遗传群体,又可以作为育种材料,因此可以缩短基因定位研究和育种应用的距离。在进行的一年三环境的重复试验中,进行多环境下的 QTL 检测,检测到 5 个受环境影响较小、稳定遗传的 QTL,其中位于 LG4 上的 qFL-4-3 和 qFL-4-4 均能够在 3 个亚群体的四个环境下同时检测到,并且平均表型贡献率均超过 10%。因此,可以利用与 qFL-4-3 和 qFL-4-4 紧密连锁的分子标记进行辅助选择,加快棉花纤维品质育种的进程。

4 结论

利用鲁棉研 15 号的 F₂、F_{2.3} 群体和 116 个 SSR 标记,构建的遗传连锁图谱总长 892.25 cM,共覆盖棉花总基因组的 20.05%。利用复合区间作图法在 3 个 F_{2.3} 亚群体中共检测到 46 个纤维品质性状相关的 QTL,其中纤维长度 16 个,纤维强度 7 个,麦克隆值 12 个,伸长率 6 个,整齐度指数 5 个,并且发现在 A_n05、A_n08、A_n09 和 D_n02 染色体上 QTL 有成簇分布的现象。检测到 5 个受环境影响较小、稳定遗传的 QTL,这些 QTL 能进一步应用于分子标记辅助育种实践中。

参考文献:

- [1] ULLOA M, Hutmacher R B, Davis R M, et al. Breeding for Fusarium wilt race 4 resistances in cotton under field and greenhouse conditions[J]. J Cotton Sci, 2006, 10: 114-127.
- [2] 张培通,郭旺珍,朱协飞,等. 高产棉花品种泗棉 3 号产量及其构成因素的 QTL 标记和定位[J]. 作物学报,2006,32(8): 1197-1203.
ZHANG Pei-tong, Guo Wang-zhen, Zhu Xie-Fei, et al. Molecular tagging of QTLs for yield and its components of *G. hirsutum*. cv. Simian 3[J]. Acta Agronomica Sinica, 2006, 32(8): 1197-1203.
- [3] ULLOA M, Meredith Jr W R. Genetic linkage map and QTL analysis of agronomic and fiber quality traits in an intraspecific population [J]. J Cotton Sci, 2000, 4: 161-170.
- [4] KOHEL R J, Yu J, Park Y H, et al. Molecular mapping and characterization of traits controlling fiber quality in cotton[J]. Euphytica, 2001, 121: 163-172.
- [5] WU M Q, Zhang X L, Nie Y C, et al. Localization of QTLs for yield and fiber quality traits of tetraploid cotton cultivar[J]. Acta Genetica Sinica, 2003, 30(5): 443-452.
- [6] ZHANG T Z, Yuan Y L, Yu J, et al. Molecular tagging of a major QTL for fiber strength in upland cotton and its marker-assisted selection [J]. Theor Appl Genet, 2003, 106: 262-268.
- [7] MEI M, Syed N H, Gao W, et al. Genetic mapping and QTL analysis of fiber-related traits in cotton (*Gossypium*)[J]. Theor Appl Genet, 2004, 108: 280-291.
- [8] SHEN X L, Guo W Z, Zhu X F, et al. Molecular mapping of QTLs for fiber qualities in three diverse lines in upland cotton using SSR markers [J]. Molecular Breeding, 2005, 15:169-181.
- [9] ZHANG Z S, Xiao Y H, Lou M, et al. Construction of a genetic linkage map and QTL analysis of fiber-related traits in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.)(J). Euphytica, 2005, 144: 91-99.
- [10] 王娟,郭旺珍,张天真. 渝棉 1 号优质纤维 QTL 的标记与定位[J]. 作物学报,2007,33(12):1915-1921.
WANG Juan, Guo Wang-zhen, Zhang Tian-zhen. QTL mapping for fiber quality properties in cotton cultivar Yumian 1[J]. Acta Agronomica Sinica, 2007, 33(12): 1915-1921.
- [11] SHEN X L, Guo W Z, Lu Q X, et al. Genetic mapping of quantitative trait loci for fiber quality and yield trait by RIL approach in upland cotton[J]. Euphytica, 2007, 155: 371-380.
- [12] 陈利,张正圣,胡美纯,等. 陆地棉遗传图谱的构建及产量和纤维品质性状 QTL 定位[J]. 作物学报,2008,34(7): 1199-1205.
CHEN Li, Zhang Zheng-sheng, Hu Mei-chun, et al. Genetic linkage map construction and QTL mapping for yield and fiber quality in upland cotton(*Gossypium hirsutum* L.)(J). Acta Agronomica Sinica, 2008, 34(7): 1199-1205.
- [13] QIN H D, Guo W Z, Zhang Y M, et al. QTL mapping of yield and fiber traits based on a four-way cross population in *Gossypium hirsutum* L. [J]. Thero Appl Genet, 2008, 117: 883-894.
- [14] 秦永生,叶文雪,刘任重,等. 陆地棉纤维品质相关 QTL 定位研究[J]. 中国农业科学,2009,42(12):4145-4154.

- QIN Yong-sheng, Ye Wen-xue, Liu Ren-zhong, et al. QTL mapping for fiber quality properties in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.)[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(12): 4145-4154.
- [15] WU J X, Gutierrez O A, Jenkins J N, et al. Quantitative analysis and QTL mapping for agronomic and fiber traits in an RI population of upland cotton[J]. *Euphytica*, 2009, 165: 231-245.
- [16] ZHANG Z S, Hu M C, Zhang J, et al. Construction of a comprehensive PCR-based marker linkage map and QTL mapping for fiber quality traits in upland cotton(*Gossypium hirsutum* L.)[J]. *Mol Breeding*, 2009, 24: 49-61.
- [17] VAN OOIJEN J W, Voorrips R E. JoinMapVersion 3.0: Software for the calculation of genetic linkage maps[M]. Wageningen: Plant Research International, 2001.
- [18] WANG S C, Basten C J, Gaffney P, et al. Windows QTL Cartographer 2.5 User Manual [M]. Raleigh: Bioinformatics Research Center, North Carolina State University, 2007.
- [19] 李汝忠, 王宗文, 王景会, 等. 抗虫杂交棉鲁棉研 15 号简介 [J]. *中国棉花*, 2000, 27(2): 33.
LI Ru-zhong, Wang Zong-wen, Wang Jing-hui, et al. The introduction of a hybrid and pest-resistant cotton cultivar Lumianyan 15[J]. *China Cotton*, 2000, 27 (2): 33.
- [20] 宋国立, 崔荣霞, 王坤波, 等. 改良 CTAB 法快速提取棉花 DNA[J]. *棉花学报*, 1998, 10(5): 273-275.
SONG Guo-li, Cui Rong-xia, Wang Kun-bo, et al. A rapid improved CTAB method for extraction of cotton genomic DNA [J]. *Cotton Science*, 1998, 10(5): 273-275.
- [21] 张 军, 武耀廷, 郭旺珍, 等. 棉花微卫星标记的 PAGE/ 银染快速检测[J]. *棉花学报*, 2000, 12(5): 267-269.
ZHANG Jun, Wu Yao-ting, Guo Wang-zhen, et al. Fast screening of microsatellite markers in cotton with PAGE / silver staining[J]. *Cotton Science*, 2000, 12 (5): 267-269.
- [22] RONG J K, Abbey C, Bowers J E, et al. A 3347-locus genetic recombination map of sequence-tagged sites reveals features of genome organization, transmission and evolution of cotton (*Gossypium*) [J]. *Genetics*, 2004, 166: 389-417.
- [23] LACAPE J M, Nguyen T B, Courtois B, et al. QTL analysis of cotton quality using multiple *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense* backcross generations [J]. *Crop Science*, 2005, 45: 123-140.
- [24] HAN Z G, Wang C B, Song X L, et al. Characteristics, development and mapping of *Gossypium hirsutum* derived EST-SSRs in allotetraploid cotton [J]. *Theor Appl Genet*, 2006, 112(3): 430-439.
- [25] GUO W Z, Cai C P, Wang C B, et al. A microsatellite-based, gene-rich linkage map reveals genome structure, function and evolution in *Gossypium* [J]. *Genetics*, 2007, 176: 527-541.
- [26] ZENG Z B. Precision mapping of quantitative trait loci [J]. *Genetics*, 1994, 136: 1457-1468.
- [27] GUO W Z, Zhang T Z, Ding Y Z, et al. Molecular marker assisted selection and pyramiding of two QTLs for fiber strength in upland cotton [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2005, 32(12): 1275-1285.
- [28] 董章辉, 石玉真, 张建宏, 等. 棉花纤维长度主效 QTL 的分子标记辅助选择及聚合效果的研究 [J]. *棉花学报*, 2009, 21 (4): 279-283.
DONG Zhang-hui, Shi Yu-zhen, Zhang Jian-hong, et al. Molecular marker-assisted selection and pyramiding breeding of major QTLs for cotton fiber length [J]. *Cotton Science*, 2009, 21 (4): 279-283. ●