

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2021.04063

陆地棉种质资源抗旱性状的关联分析

韩 贝^{1,**} 王旭文^{2,**} 李保奇¹ 余 渝² 田 琴^{2,*} 杨细燕^{1,*}

¹ 华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 湖北武汉 430070; ² 新疆农垦科学院棉花研究所 / 农业农村部西北内陆棉区棉花生物学与遗传育种重点实验室, 新疆石河子 832000

摘 要: 干旱是导致全世界棉花严重减产、纤维品质下降的重要因素, 因此获得高产、优质、耐旱的棉花新品种一直是棉花的育种目标。本研究选取 217 份陆地棉栽培种组成的自然群体为研究对象, 采用全生育期处理组灌水量为对照组 50% 的干旱胁迫处理, 并在处理后期对 217 份材料的株高、衣分、单铃重等 18 个性状进行 2 年 2 点的表型鉴定。干旱胁迫后, 群体间响应差异明显, 多个表型性状在对照和处理间表现显著差异。通过 BLUP 分析表型数据并计算各性状的抗旱系数; 全基因组范围选取的 214 对多态性 SSR 分子标记扫描群体, 共检测到 393 个多态性位点, 基因多样性系数平均值为 0.402, 范围为 0.072~0.631, PIC 值平均为 0.329, 范围为 0.070~0.560; 群体结构分析表明, 该群体可分为 2 个亚群。用上述 SSR 标记分别对 18 个性状的抗旱系数进行关联分析, 共关联到 76 个极显著位点 ($P < 0.01$), 表型变异解释率为 2.930%~7.218%, 其中共有 14 个标记位点能同时被 2 种或以上性状检测到。研究结果可为后期棉花杂交育种亲本选择及抗旱分子标记辅助育种提供理论基础及参考依据。

关键词: 陆地棉; 抗旱性; 抗旱系数; SSR 标记; 关联分析

Association analysis of drought tolerance traits of upland cotton accessions (*Gossypium hirsutum* L.)

HAN Bei^{1,**}, WANG Xu-Wen^{2,**}, LI Bao-Qi¹, YU Yu², TIAN Qin^{2,*}, and YANG Xi-Yan^{1,*}

¹ National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China; ² Cotton Institute, Xinjiang Academy of Agricultural and Reclamation Science Xinjiang Academy of Agricultural and Reclamation Science / Northwest Inland Region Key Laboratory of Cotton Biology and Genetic Breeding (Xinjiang), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shihezi 832000, Xinjiang, China

Abstract: Drought stress is an important factor that leads to severe reduction in cotton fiber yield and quality worldwide, and new cotton varieties with high-yield, high-quality and drought-tolerant characteristics have been the goal for cotton breeding. In this study, 217 upland cotton accessions were selected for drought stress experiments and association study. The drought stress treatment panels were supplied with 50% the water volume of the controls, until the seedlings emerged. A total of 18 traits including agronomic traits, fiber yield indices and fiber quality indices, were investigated at two locations and for two years. After drought stress, there were significant differences in response between populations, and significant differences in phenotypic traits between control and treatments. The phenotypic data were analyzed by BLUP, and the drought resistance coefficient of each trait was calculated. A total of 393 loci were detected by 214 SSR marker in the tested cotton accessions. The average gene diversity coefficient was 0.402, with the range of 0.072–0.631; and the average PIC value was 0.329, ranging from 0.070 to 0.560. Genetic structure analysis showed that the group could be divided into two subgroups and it had no obvious correspondence with geographical origin. There were detected extremely 76 significant loci ($P < 0.01$), with explanation rate ranging from 2.931% to 7.218%, by association study using drought resistance coefficient (DRC) of 18 traits. Fourteen SSR marker could be detected by two or more traits at the same time. These results could provide a theoretical basis and reference for the parents selection and drought-resistant molecular marker-assisted breeding in cotton.

本研究由国家自然科学基金项目(31560410)和新疆生产建设兵团重点领域创新团队项目(2017CB011)资助。

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (31560410) and the Innovation Team in Key Fields of Xinjiang Production and Construction Corps (2017CB011).

* 通信作者(Corresponding authors): 田琴, E-mail: tq2005@126.com; 杨细燕, E-mail: yxy@mail.hzau.edu.cn

** 同等贡献(Contributed equally to this work)

第一作者联系方式: 韩贝, E-mail: bhan_z@163.com; 王旭文, E-mail: wxw629@163.com

Received (收稿日期): 2020-03-12; Accepted (接受日期): 2020-10-14; Published online (网络出版日期): 2020-11-20.

URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1809.S.20201120.0941.002.html>

Keywords: upland cotton accessions; drought resistance; drought resistance coefficient; SSR marker; association analysis

棉花在整个生育期会遭遇各种生物及非生物逆境胁迫, 包括黄萎病和枯萎病等疾病、蚜虫和棉铃虫等虫害以及干旱、盐碱、高温等非生物胁迫。当前解决作物生长过程中的干旱问题已成为世界上许多国家和地区的一个重大难题^[1-2]。干旱限制了棉花根部从土壤中吸收水分, 从而导致棉花的渗透势升高、花芽脱落、纤维伸长率降低、纤维壁厚度改变、棉铃尺寸减小、纤维质量变差和棉花总产量降低^[3]。新疆是我国最大的产棉区、长绒棉生产基地和优质商品棉生产基地, 属干旱半干旱地区, 年降雨量少且水资源时空分布不平衡, 干旱问题十分严重, 因此研究现有棉花种质资源耐旱性的遗传多样性以及挖掘耐旱优异等位基因具有十分重要的现实意义。

抗旱性是由微效多基因控制的数量遗传性状。目前, 世界各国在干旱胁迫条件下的抗性生理及生物技术方面已开展了大量研究。Xiao 等^[4]通过对 184 份水稻材料的卷曲叶、干叶等抗旱性状进行全基因组扫描和关联分析, 鉴定了 16 个与抗旱性相关的 QTL 位点。棉花应对干旱胁迫的研究最早集中在根系结构及形态生理上。早在 1989 年, 美国科学家 William 等^[5]通过研究, 证明提高根系吸收水分能力减轻干旱抑制作用。棉花适应干旱的遗传变异性大, 很多性状都被作为选择抗旱性棉花品种的重要指标, 其中包括形态指标(主根长度、根重量、侧根数量、根系生长速率和根冠比等)和生理指标(蒸腾速率、气孔导度、光合作用速率、叶片含水量和冠层温度等)^[6-7]。之后随着生物技术迅速发展, SSR 分子标记和 SNP 分子标记被广泛应用于棉花抗旱性研究和关联分析。桑晓慧等^[8]利用 74 个 SSR 标记在萌发期以 15% 的 PEG-6000 对 191 份陆地棉材料进行胁迫处理及关联分析, 最终鉴定了 15 个与萌发期抗旱性显著相关的分子标记。Asena 等^[9]利用 177 个 SSR 分子标记对 99 份陆地棉品种进行水分充足和水分胁迫 2 种不同的浇水方式处理, 并对籽棉产量、皮棉产量、水分利用率、干旱敏感指数、干旱胁迫指数等 11 个指标进行关联分析, 分别鉴定到了与性状相关联的 15 个和 23 个 SSR 标记。Ulloa 等^[10]利用 63K 棉花芯片对 2 个 RIL 群体进行基因分型, 在正常灌溉与水分亏缺 2 种条件下共鉴定到 150 多个与产量和纤维品质相关的 QTL。Hou 等^[11]通过对 319 份陆地棉材料在温室进行 PEG 胁迫处理, 利用 GWAS 鉴定出 20 个与耐旱性状相关

的 SNP, 并通过 RNA-seq 与 qRT-PCR 等技术验证最终得到 4 个候选基因。

本研究以我国不同生态棉区及部分国外陆地棉品种资源为研究对象, 分别于 2016—2017 年在新疆石河子和库尔勒两地进行干旱处理试验, 采用全生育期处理组灌水量为对照组 50% 的干旱胁迫处理, 并在后期对 217 份材料的株高、衣分、单铃重等 18 个性状进行测定。通过 SSR 全基因组扫描的方法进行关联分析, 从而挖掘出与耐旱性相关的特异性位点, 以期为棉花抗旱遗传改良提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料及干旱处理设置

选取来自我国不同生态棉区及部分国外陆地棉品种组成的自然群体为试验材料, 共计 217 份, 由新疆农垦科学院棉花研究所收集保存(附表 1)。试验于 2016—2017 年分别在新疆农垦科学院棉花研究所北疆石河子试验基地和新疆农垦科学院棉花研究所南疆库尔勒试验基地开展。设置 2 个水分处理: (1) 对照组(正常灌水), 库尔勒全生育期共灌水 12 次, 总量合计 $6768 \text{ m}^3 \text{ hm}^{-2}$; 石河子全生育期共灌水 10 次, 总量为 $4950 \text{ m}^3 \text{ hm}^{-2}$; (2) 干旱处理组, 两地各生育期灌水量为正常灌水量的 50%, 即每次灌水减半(附表 2)^[10-11], 平膜覆盖地表及滴灌供水。南疆库尔勒试验基地于 3 月 15 日进行了额外的灌溉($4500 \text{ m}^3 \text{ hm}^{-2}$)以减少土壤中盐分与碱的含量; 北疆石河子试验基地于 4 月 20 日进行了额外的灌溉($240 \text{ m}^3 \text{ hm}^{-2}$)用于播种出苗。试验采用完全随机区组排列, 每组处理设置重复 2 次, 小区行长 2.20 m, 平均行距 0.45 m, 每个品种种植 2 行, 小区面积 1.98 m^2 。机械覆盖地膜, 棉种人工点播, 株距 10 cm, 实际收获株数 16.5 万株 hm^{-2} 。试验田土壤肥力均一, 其他管理措施同常规大田。在棉花生育期内同步统计 2 个试验点每月降雨量和均温(附图 1)。

1.2 表型性状调查

自播种后, 以杜雄明等^[12]制定的棉花种植资源性状描述规范调查棉花全生育期的 18 个表型性状。生育期(growth period, GP)从该小区 50% 的植株子叶平展到 50% 的植株开始吐絮计算; 每年 9 月下旬对每小区选择长势一致 10 株棉花调查株高(plant height, PH)、果枝始节高(first fruit spur height, FFSH)、第一果枝节位(first fruit spur branch number,

FFSBN)、果枝数(fruit spur branch number, FSBN)、空果枝数(empty fruit spur branch number, EFSBN)、单株有效铃数(effective boll number, EBN)、外围铃数(peripheral boll number, PBN)等 7 项指标。吐絮后每个小区分别收获上、中、下部共 30 铃进行室内考种,分别测定单铃重(boll weight, BW)、籽指(seed index, SI)、衣指(lint index, LI)及衣分(lint percentage, LP)等 4 项指标,并估算理论籽棉产量(theoretical seed cotton yield, TSCY)=实际收获株数×单株有效铃数×单铃重。每个重复选取 14 g 左右皮棉测定纤维品质性状,包括上半部纤维长度(fiber upper half mean length, FUHML)、纤维比强度(fiber strength, FS)、纤维整齐度(fiber uniformity, FU)、马克隆值(micronaire value, MV)及纤维伸长率(fiber elongation, FE)。在新疆农垦科学院棉花研究所测定纤维品质,仪器型号为 HFT9000,检测温度为(20±2)°C,相对湿度为(65±2)%。

1.3 SSR 标记及基因型鉴定

参照 Paterson 等^[13]发表的 CTAB 法提取 DNA, SSR 试验操作程序和 PCR 参照张军等^[14]方法,采用毛细管电泳分析仪 Fragment Analyzer-XL960 SSR/Tilling 分析 PCR 产物,PCR 扩增产物经 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳,银染显色后照相。

本试验所使用 SSR 标记来源四倍体棉花遗传图谱^[15],平均每 8~10 cM 选取 1 个标记,并结合钱能等^[16]、Song 等^[17]、薛艳等^[18]、Sun 等^[19]、艾先涛等^[20]的研究结果,从中选取 557 对标记对自然群体进行筛选,得到的 298 对具有多态性的标记。选用 12 份地理来源差异大的材料(1: 标杂 A 父本; 2: 新陆早 47 号; 3: 15-23; 4: 169-57; 5: 新陆早 48 号; 6: 111-117; 7: 石 K14; 8: 闫棉 216; 9: 河南抗黄; 10: JF-2; 11: 中植棉 2 号; 12: 克克 1543)对 298 对 SSR 标记进行筛选,将条带差异大,清晰易读的标记留下备用,共得到 214 对多态性标记。SSR 序列来自 CMD (Cottonmaker Database)数据库(<http://www.cottonmarker.org/>),由生工生物工程股份有限公司(上海)合成。对电泳结果使用 ProSize2.0 软件查看,采用 0、1 统计法,依据读胶视图中 Ladder 判断样品不同位点片段大小,同一位点,有条带记为“1”,无条带记为“0”,用“a”、“b”、“c”、“d”(对应片段大小由大到小)区别一个标记在材料中的多个多态性位点。

1.4 数据分析

采用 R 语言中 Lme4 包^[21]的最佳线性无偏预测

(Best Linear Unbiased Prediction; BLUP)分析 2 年 2 点的表型数据,通过 $H^2 = \sigma_g^2 / [\sigma_g^2 + \sigma_{II}^2/n_1 + \sigma_{Iy}^2/n_y + \sigma_r^2/(n_1 \cdot n_y)]$ 计算广义遗传力^[22],其中 σ_g^2 为基因型方差, σ_{II}^2 为地点方差, σ_{Iy}^2 为年份方差, σ_r^2 为随机误差, n_1 为地点重复次数, n_y 为年份重复次数。材料间组内表型的离散程度用变异系数(coefficient of variation, CV)表示,通过公式 $CV = \text{标准偏差} / \text{均值}$ 进行计算;材料的抗旱能力用各指标的抗旱系数(drought resistance coefficient, DRC)表示,并以 BLUP 分析后的表型数据为基础,通过公式 $DRC = \text{处理组 BLUP 值} / \text{对照组 BLUP 值} \times 100\%$ 计算^[23-24]。18 个正常灌水与干旱条件下的表型值通过软件 IBM SPSS Statistics 22.0 (<http://www.ibm.com/analytics/us/en/technology/spss/spss.html>) 进行单因素方差分析(ANOVA);同时利用该软件对 18 个性状的 DRC 值进行了相关性分析及正态性检验。

使用 POWERMARKER 3.25 软件^[25]计算多态性标记的基因多样性指数与多态性信息含量(PIC)。群体结构通过 Structure 2.3 软件^[26]计算,群组数 K 值设为 1~9 独立运算 5 次,将 MCMC 开始时的不作数迭代设为 50,000 次,再将不作数迭代后的 MCMC 设为 500,000 次,其余参数默认,利用 Structure harvester 分析计算后的数据^[27],作图并得到最佳 K 值^[28]。借助软件 spagedi 1.4^[29]分析亲缘关系,得到亲缘关系矩阵。利用 Tassel 5.0 软件^[30],以群体结构(Q)和亲缘关系(K)为协变量的混合线性模型 MLM 进行性状与标记之间的关联分析^[31],得到在 $P < 0.01$ ^[8]时的各标记位点及对表型变异的贡献率(R^2)。借助软件 Electronic PCR (e-PCR)与第 3 代棉花基因组序列进行序列比对,得到各标记在基因组上的具体位置^[32-33]。从 CottonQTLdb (<http://www2.cottonqtl.org:8081/traits/>) 下载查找已发表 QTL^[34-36]。

2 结果与分析

2.1 表型性状数据分析

在正常灌水和干旱处理下分别考察群体材料包括生育期、株高、果枝始节高、第一果枝始节位、果枝数、空果枝数、单株有效铃数、外围铃数、单铃重、衣分、籽指、衣分、理论籽棉产量、上半部纤维长度、纤维整齐度、马克隆值、纤维比强度、纤维伸长率等 18 个性状,通过 BLUP 分析分别获得它们在不同环境下的预测表型值,并计算得到每个

性状在不同处理下的变异系数和广义遗传力。表 1 展示了 18 个性状在 2 种条件下的均值(mean)、最大值(max.)、最小值(min.)、标准偏差(SD)、变异系数(CV)以及广义遗传力(H^2)。对正常灌水和干旱处理数据分析表明,一些农艺性状受干旱处理影响较大。比如正常条件下,生育期的变化范围为 129.515~141.447 d, 均值 135.433 d; 而在干旱条件下,生育期的变化范围为 128.001~138.175 d, 均值 132.843 d。正常情况下,株高为 53.809~74.726 cm (均值 65.876 cm); 而干旱处理下,株高为 42.913~72.811 cm (均值 60.371 cm)。在正常条件下,果枝始节高的范围为 13.573~27.115 cm (均值 20.999 cm); 在干旱处理下,果枝始节高的范围为 13.238~26.303 cm (均值 20.032 cm)。生育期、株高、果枝始节高的均值分别降低 1.909%、8.357% 和 4.604%。

纤维品质也受到水分亏缺的不利影响。比如上半部纤维长度均值由 28.808 mm 降至 28.285 mm; 纤维比强度均值也由 28.422 cN tex⁻¹ 降至 28.076 cN tex⁻¹; 马克隆值从 4.144 上升为 4.437。理论籽棉产量在正常条件下为 6848.882~8357.364 kg hm⁻², 干旱条件下 6234.227~8282.359 kg hm⁻², 平均值由 7473.908 kg hm⁻² 降至 7111.924 kg hm⁻², 降低幅度为 4.843%。

为了确定干旱处理是否对棉花的生长发育造成影响,本研究利用软件 IBM SPSS Statistics 22.0 对 2 年 2 点 BLUP 分析后的表型数据进行分析,结果表明,干旱处理显著影响了大部分表型性状,包括生育期及株型性状(生育期、株高、果枝始节高、第一果枝节位)、产量性状(空果枝数、单株有效铃数、外围铃数、衣指、衣分、理论籽棉产量)以及纤维品质性状(上半部纤维长度、纤维比强度、马克隆值、纤维伸长率)。但果枝数、单铃重、籽指以及纤维整齐度未达到显著性(表 1)。

正常灌水条件下,18 个性状的变异系数为 0.743%~16.832%; 干旱胁迫下,变异系数在 0.700%~11.359%。果枝始节高($CV_c=10.924\%$; $CV_d=10.963\%$)、空果枝数($CV_c=14.434\%$; $CV_d=8.691\%$)以及外围铃数($CV_c=16.832\%$; $CV_d=11.359\%$)的变异系数在 2 种条件下均为最高; 而纤维整齐度($CV_c=0.743\%$; $CV_d=0.700\%$)、纤维伸长率($CV_c=1.038\%$; $CV_d=1.090\%$)及生育期($CV_c=1.832\%$; $CV_d=1.680\%$)的变异系数均小于 2%。

正常灌水条件下,18 个性状的广义遗传率在 0.214~0.772, 干旱胁迫条件下的广义遗传力变化介于 0.106~0.753, 其中 2 种条件下均在 0.600 以上的有 7 种性状,包括衣分($H^2_c=0.621$; $H^2_d=0.644$)、籽指($H^2_c=0.711$; $H^2_d=0.714$)、衣指($H^2_c=0.772$; $H^2_d=0.753$)、上半部纤维长度($H^2_c=0.725$; $H^2_d=0.702$)、马克隆值($H^2_c=0.634$; $H^2_d=0.602$)、纤维比强度($H^2_c=0.653$; $H^2_d=0.683$)和果枝始节高($H^2_c=0.676$; $H^2_d=0.670$), 说明这些性状较稳定。

2.2 干旱系数相关性分析及正态性检验

借助软件 IBM SPSS Statistics 22.0 分析了 18 个性状的干旱系数之间的相关性系数。各性状干旱系数之间的相关性反映了性状之间的相互联系,可能会受到相似的遗传因子的调控。18 个性状的相关性分析共产生 153 对相关系数,范围为 -0.433 至 0.904。其中有 56 对性状之间存在显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)的相关(表 2)。生育期、株高以及果枝始节高之间都存在着极显著的正相关。产量相关性性状之间单株有效铃数与外围铃数、籽指与衣指、理论籽棉产量与衣指、理论籽棉产量与单铃重、理论籽棉产量与单株有效铃数、理论籽棉产量与外围铃数、理论籽棉产量与果枝数、果枝数与单株有效铃数均存在极显著的正相关。5 个纤维品质性状之间,上半部纤维长度与纤维整齐度、上半部纤维长度与纤维比强度、上半部纤维长度与纤维伸长率、纤维比强度与纤维整齐度和纤维比强度与纤维比强度均表现出极显著的正相关,纤维比强度与马克隆值表现出极显著的负相关。

为了检测 18 个性状是否符合正态分布,本研究利用 IBM SPSS Statistics 22.0 对表型数据进行正态性检验(附表 3),得到各性状的偏度系数、峰度系数及标准误,结合 U 检测及柯尔莫哥洛夫-斯米诺夫(Kolmogorov-Smirnov, K-S)检验法表明,仅有果枝数不符合正态分布,其他性状均符合正态分布,可以进行关联分析。

2.3 基因型数据及群体结构分析

在全基因组范围内共选取 557 个 SSR 标记对自然群体进行检测,得到的 298 对具有多态性的标记。选取地理来源相距较远的 12 个材料,从 298 对 SSR 标记中筛选出 214 对重复性好、条带清晰稳定的多态性标记用于此群体的遗传多样性分析,占总体的 38.420%, 平均每条染色体有 8.231 个标记。部分标记的筛选及群体扩增条带如下(图 1)。

表 1 2 种处理下 18 个性状 BLUP 分析后的表型变异描述统计表
Table 1 Descriptive statistics about phenotypic variations for 18 traits under two treatments by BLUP analysis

| 性状 Trait | 对照 CK | | | | | | | | | | 干旱 Drought | | | | | | | | | |
|------------------------------------|------------|-------------|-------------|------------|----------------|--------------------------|----------------|------------|-------------|-------------|---------------|----------------|--------------------------|----------------|------------|-------------|-------------|------------|----------------|--------------------------|
| | ANOVA | | | | | ANOVA | | | | | ANOVA | | | | | ANOVA | | | | |
| | 均值 Mean | 最大值 Max. | 最小值 Min. | 标准偏差 SD | 变异系数 CV (%) | 遗传力 (H ²) | P 值 P-value | 均值 Mean | 最大值 Max. | 最小值 Min. | 标准偏差 SD | 变异系数 CV (%) | 遗传力 (H ²) | P 值 P-value | 均值 Mean | 最大值 Max. | 最小值 Min. | 标准偏差 SD | 变异系数 CV (%) | 遗传力 (H ²) |
| 生长期 GP (d) | 135.433 | 141.447 | 129.515 | 2.481 | 1.832 | 0.566 | 1.921E-26** | 132.847 | 138.175 | 128.001 | 2.232 | 1.680 | 0.548 | | | | | | | |
| 株高 PH (cm) | 65.876 | 74.726 | 53.809 | 3.526 | 5.353 | 0.536 | 2.021E-37** | 60.371 | 72.811 | 42.913 | 4.525 | 7.496 | 0.572 | | | | | | | |
| 果枝始节高 FFSH (cm) | 20.999 | 27.115 | 13.573 | 2.294 | 10.924 | 0.676 | 9.859E-06** | 20.032 | 26.303 | 13.238 | 2.196 | 10.963 | 0.670 | | | | | | | |
| 第一果枝节位 FFSBN | 5.986 | 6.935 | 5.159 | 0.267 | 4.453 | 0.319 | 2.067E-03** | 6.045 | 6.250 | 5.736 | 0.088 | 1.459 | 0.112 | | | | | | | |
| 果枝数 FSBN | 7.674 | 8.246 | 6.969 | 0.231 | 3.004 | 0.214 | 0.529 | 7.687 | 7.984 | 7.189 | 0.116 | 1.508 | 0.106 | | | | | | | |
| 空果枝数 EFSBN | 2.504 | 3.676 | 1.714 | 0.361 | 14.434 | 0.361 | 1.580E-13** | 2.728 | 3.782 | 2.258 | 0.237 | 8.691 | 0.241 | | | | | | | |
| 单株有效铃数 EBN | 6.377 | 7.515 | 5.378 | 0.400 | 6.278 | 0.470 | 8.657E-16** | 6.059 | 6.957 | 5.008 | 0.395 | 6.519 | 0.481 | | | | | | | |
| 外圍铃数 PBN | 1.166 | 2.144 | 0.773 | 0.196 | 16.832 | 0.286 | 5.132E-24** | 1.001 | 1.378 | 0.771 | 0.114 | 11.359 | 0.185 | | | | | | | |
| 单铃重 BW (g) | 7.163 | 8.743 | 5.409 | 0.403 | 5.632 | 0.590 | 0.890 | 7.169 | 8.191 | 6.004 | 0.367 | 5.115 | 0.555 | | | | | | | |
| 衣分 LP (%) | 39.038 | 42.635 | 32.480 | 1.716 | 4.396 | 0.621 | 4.718E-05** | 39.941 | 59.450 | 32.488 | 2.734 | 6.846 | 0.644 | | | | | | | |
| 籽指 SI (g) | 11.126 | 14.043 | 9.638 | 0.775 | 6.964 | 0.711 | 0.098 | 11.000 | 14.328 | 9.352 | 0.811 | 7.375 | 0.714 | | | | | | | |
| 衣指 LI (g) | 7.102 | 8.313 | 5.318 | 0.553 | 7.792 | 0.772 | 1.880E-03** | 7.269 | 8.658 | 5.630 | 0.558 | 7.683 | 0.753 | | | | | | | |
| 理论籽棉产量 TSCY (kg hm ⁻²) | 7473.908 | 8357.364 | 6848.882 | 292.433 | 3.913 | 0.307 | 1.100E-25** | 7111.924 | 8282.359 | 6234.227 | 378.011 | 5.315 | 0.390 | | | | | | | |
| 上半部纤维长度 FUHML (mm) | 28.808 | 31.503 | 25.713 | 0.970 | 3.366 | 0.725 | 5.650E-08** | 28.285 | 30.877 | 25.880 | 0.998 | 3.528 | 0.702 | | | | | | | |
| 纤维整齐度 FU (%) | 84.617 | 85.760 | 81.823 | 0.629 | 0.743 | 0.542 | 0.619 | 84.646 | 86.167 | 82.570 | 0.593 | 0.700 | 0.514 | | | | | | | |
| 马克隆值 MV | 4.144 | 4.879 | 3.468 | 0.224 | 5.404 | 0.634 | 4.489E-36** | 4.437 | 5.056 | 3.817 | 0.218 | 4.913 | 0.602 | | | | | | | |
| 纤维比强度 FS (cN tex ⁻¹) | 28.422 | 32.700 | 25.488 | 1.284 | 4.516 | 0.653 | 7.062E-03** | 28.076 | 32.203 | 25.412 | 1.371 | 4.885 | 0.683 | | | | | | | |
| 纤维伸长率 FE (%) | 6.721 | 6.957 | 6.570 | 0.070 | 1.038 | 0.476 | 5.178E-22** | 6.651 | 6.835 | 6.466 | 0.073 | 1.090 | 0.529 | | | | | | | |

*和**分别表示在 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 水平显著。

GP: growth period; PH: plant height; FFSH: first fruit spur height; FFSBN: first fruit spur branch number; EFSBN: empty fruit spur branch number; EBN: effective boll number; PBN: peripheral boll number; BW: boll weight; SI: seed index; LI: lint index; LP: lint percentage; TSCY: theoretical seed cotton yield; FUHML: fiber upper half mean length; FS: fiber strength; FU: fiber uniformity; MV: micronaire value; FE: fiber elongation. * and ** indicate significant differences at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively.

表 2 18 个性状干旱系数(DRC)之间的相关性分析
Table 2 Phenotypic correlation coefficients among the DRCs of 18 traits

| 性状 Traits | 生育期 GP | 株高 PH | 果枝始 节高 FFSH | 第一果枝 节位 FFSBN | 果枝数 FSBN | 空果 枝数 EFSBN | 单株有效 铃数 EBN | 外围 铃数 PBN | 单铃重 BW | 衣分 LP | 籽指 SI | 衣指 LI | 理论籽棉 产量 TSCY | 上半部纤 维长度 FUHML | 纤维整 齐度 FU | 马克 隆值 MV | 纤维比强 度 FS |
|--------------|-----------|----------|-------------------|---------------------|-------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------|----------|----------|----------|--------------------|----------------------|-----------------|----------------|-----------------|
| PH | 0.271** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| FFSH | 0.250** | 0.319** | | | | | | | | | | | | | | | |
| FFSBN | 0.087 | 0.036 | 0.212** | | | | | | | | | | | | | | |
| FSBN | -0.110 | 0.282** | -0.153 | -0.269** | | | | | | | | | | | | | |
| EFSBN | 0.035 | -0.002 | 0.009 | 0.028 | -0.278** | | | | | | | | | | | | |
| EBN | 0.004 | 0.292** | -0.185** | -0.065 | 0.490** | -0.433** | | | | | | | | | | | |
| PBN | 0.174* | 0.238** | -0.007 | 0.192** | 0.147* | -0.274** | 0.335** | | | | | | | | | | |
| BW | -0.095 | -0.055 | 0.027 | -0.068 | -0.007 | -0.031 | -0.007 | -0.093 | | | | | | | | | |
| LP | -0.047 | 0.098 | -0.002 | -0.033 | 0.049 | 0.143* | 0.054 | 0.037 | 0.039 | | | | | | | | |
| SI | -0.023 | -0.062 | -0.040 | -0.126 | 0.033 | -0.102 | 0.006 | -0.182** | 0.296** | -0.223** | | | | | | | |
| LI | -0.146* | -0.088 | -0.076 | -0.209** | 0.002 | -0.050 | 0.033 | -0.102 | 0.490** | 0.068 | 0.477** | | | | | | |
| TSCY | -0.053 | 0.274** | -0.188** | -0.096 | 0.431** | -0.323** | 0.904** | 0.274** | 0.324** | 0.100 | 0.086 | 0.215** | | | | | |
| FUHML | 0.164* | 0.146* | -0.004 | -0.072 | 0.080 | -0.088 | 0.237** | 0.188** | 0.026 | -0.054 | 0.171* | 0.097 | 0.228** | | | | |
| FU | 0.112 | 0.202** | 0.168* | 0.028 | 0.009 | 0.014 | -0.001 | 0.025 | 0.035 | -0.029 | 0.096 | 0.068 | 0.002 | 0.270** | | | |
| MV | -0.264** | -0.223** | -0.131 | -0.097 | 0.037 | -0.031 | -0.027 | -0.257** | 0.426** | 0.025 | 0.200** | 0.497** | 0.104 | -0.130 | 0.042 | | |
| FS | 0.015 | 0.038 | -0.045 | -0.055 | 0.000 | -0.036 | 0.076 | 0.243** | -0.031 | -0.111 | -0.007 | -0.097 | 0.066 | 0.571** | 0.247** | -0.264** | |
| FE | 0.068 | -0.026 | -0.184** | -0.039 | 0.088 | -0.016 | 0.061 | 0.294** | -0.017 | -0.066 | -0.081 | -0.040 | 0.107 | 0.433** | -0.030 | -0.132 | 0.624** |

*和**分别表示在 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 显著水平上相关。缩写同表 1。

* and ** indicate significant differences at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively. Abbreviations are the same as those given in Table 1.

用筛选出的多态性好的 214 对标记对 217 份供试材料进行扩增, 共检测出 393 个等位变异, 平均每条标记约有 1.836 个等位基因, 变异范围为 1~4 个; 通过软件 POWERMARKER V3.25 计算得到 214 对 SSR 标记的基因多样性指数与 PIC 值(附表 4), 其中 214 对 SSR 标记的基因多样性指数平均值为 0.402, 范围为 0.072~0.631, PIC 值平均为 0.329, 范围为 0.070~0.560 (图 2)。

借助生物信息软件 Structure V2.3 软件分析 217 个材料的群体结构, 模拟亚群数量设为 K , 亚群数量取 1~9, 得到 5 次重复的结果后, 利用 Structure

harvester 进行分析, 统计在不同 K 值时的 $\ln P(D)$, 绘制 $\ln P(D)$ 的趋势图。由于无法判断 K 的取值, 因此采用 Evanno 等的方法, 通过 ΔK 来确定 K 值。在 $K=2$ 时 ΔK 达到最大, 由此将棉花材料划分为 2 个亚群(图 3-A, B)。绘制材料的群体结构图(图 3-C), 其中 Pop1 (Population 1) 有 108 材料, Pop2 (Population 2) 有 109 材料, 并且与地理来源无明显对应关系, 各材料亚群分布与地理来源见附表 1。

2.4 关联分析

材料的抗旱能力用各指标的抗旱系数(DRC)表示, 借助软件 Tassel 5.0 并采用混合线性模型 MLM

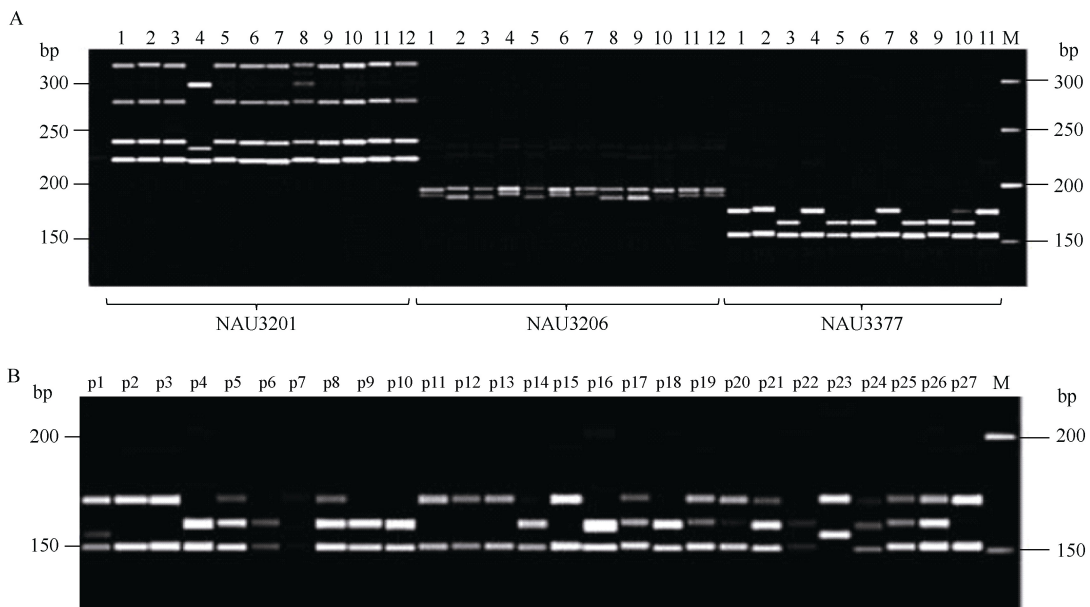


图 1 标记筛选与扩增展示

Fig. 1 Marker screening and amplification display

A: 部分标记的筛选; B: 标记 NAU3377 在部分材料中的扩增结果。1~12: 12 份地理来源差异大的材料; p1~p27: 217 份自然群体中部分材料; M: marker。

A: screening of partial markers; B: amplification products of marker NAU3377 in some accessions. 1–12: 12 accessions with extremely different geographical origins; p1–p27: some varieties from 217 natural populations; M: marker.

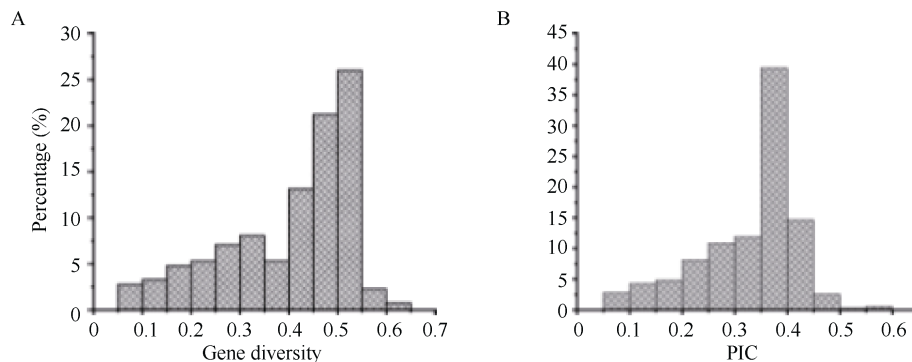


图 2 214 个标记位点的基因多样性(A)与多态性信息含量(B)频率分布图

Fig. 2 Gene diversity (A) and PIC frequency (B) profiles of 214 marker sites

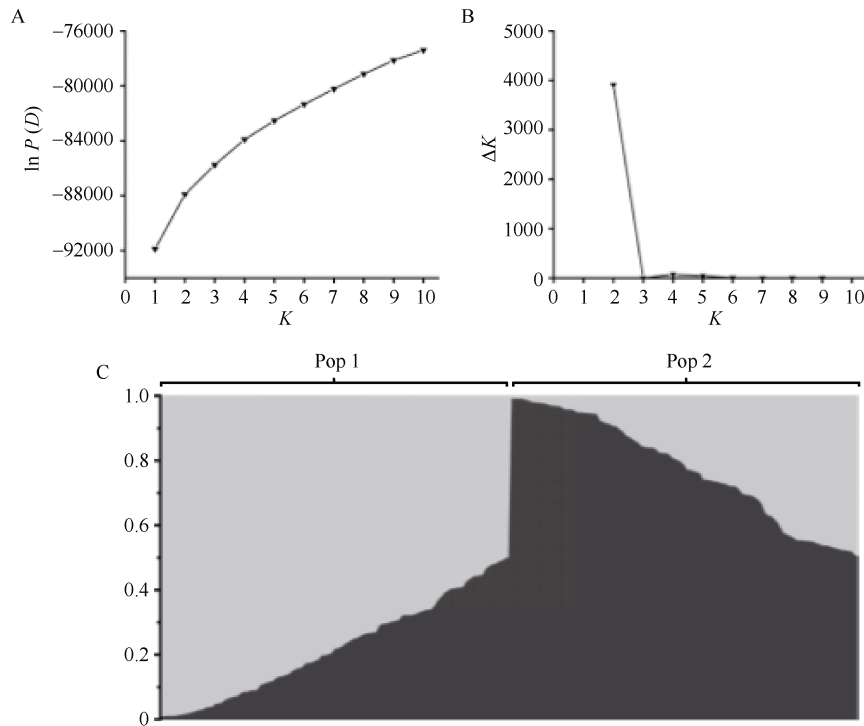


图 3 217 份材料基于群体结构分析的 K 值与 $\ln P(D)$ 值和 ΔK 值变化图及群体结构图

Fig. 3 $\ln P(D)$ and ΔK based on population structure analysis and population structure for 217 upland cotton accessions

A: K 值与 $\ln P(D)$ 值的变化图; B: K 值与 ΔK 值的变化图; C: 217 份材料的群体结构图。

A: magnitude of $\ln P(D)$ as a function of K ; B: magnitude of ΔK as a function of K ; C: population structure of 217 upland cotton accessions.

($Q+K$)对各性状的抗旱系数进行关联分析。在 $P < 0.01$ 的显著性阈值共关联到 76 个位点(表 3)。我们首先对广义遗传率较高的纤维比强度、上半部纤维长度、衣分、马克隆值、果枝始节高、籽指、衣指的考察发现,与纤维比强度关联到的位点有 7 个(NAU2152b、NAU2152a、JESPR181、NAU859a、NAU3589b、NAU3529a、NAU1362c),表型变异解释率范围为 3.020%~5.425%;上半部纤维长度关联到 5 个位点,分别是 NAU1042b、NAU797a、HAU1355c、NAU5260b、NAU3277a,表型变异解释率为 3.332%~4.233%;有 14 个位点(NAU3100b、NAU2016b、NAU2016a、CIR280、NAU1375b、NAU1156a、NAU3016a、NAU1156b、JESPR065b、HAU1434b、HAU2147b、NAU3100a、NAU1028a、BNL3976b)同时与衣分相关联,表型变异解释率为 3.049%~4.739%;马克隆值作为衡量纤维品质的一个重要指标,也关联到 3 个显著性位点(NAU5499a、NAU6104、JESPR065b),变异解释率为 3.592%~3.838%;果枝始节高关联到 5 个显著性位点(NAU3948b、NAU3948a、HAU1355a、NAU3308b、NAU3522a),其表型变异解释率为 3.208%~7.218%。对于遗传力较高的籽指与衣指,未检测到显著性的

位点。对于第一果枝节位、果枝数、单株有效铃数、空果枝数等 11 个低广义遗传率的性状一共关联到 42 个显著性位点。

有多种性状同时与同一标记相关联,由表 4 可知,共发现 13 个标记在 2 种及 2 种以上性状同时检测到,例如标记 JESPR181 能被纤维比强度、纤维伸长率和外围铃数 3 个性状同时检测到,标记 JESPR065b 同时与性状生育期、马克隆值、衣分相关联。

3 讨论

3.1 表型数据分析

在关联分析中,表型确定最关键,良好地表型数据有利于关联分析的准确性,特别是对于抗旱性这一数量性状,表型数据更是起决定性作用^[7]。目前在植物抗旱领域研究中,尤其是大田抗旱性的研究,如何减少环境因素的影响,获取准确有效的表型数据一直是个难题。本研究中我们在棉花生育期同步获取新疆石河子和库尔勒两地气象数据(附图 1),两地的月均温在不同年份差异不大,在棉花全生育期降雨量上存在一定差异(石河子 2016: 174.000 mm; 石河子 2017: 127.300 mm; 库尔勒 2016: 136.600 mm; 库尔勒 2017: 70.800 mm),但新疆地区属于干旱少

表 3 表型性状抗旱系数与标记关联分析结果

Table 3 Correlation analysis of drought resistance coefficient and markers for phenotypic traits

| 表型 Trait | 标记 Marker | <i>P</i> | <i>R</i> ² | 性状 Trait | 标记 Marker | <i>P</i> | <i>R</i> ² | |
|------------------|---------------|----------|-----------------------|-------------|--------------|----------|-----------------------|-------|
| 纤维比强度 FS | NAU2152b | 0 | 5.425 | 株高 | CIR280 | 0 | 6.320 | |
| | NAU2152a | 0.001 | 4.785 | PH | NAU3377c | 0.003 | 4.327 | |
| | JESPR181 | 0.004 | 3.683 | | CIR246b | 0.003 | 4.520 | |
| | NAU859a | 0.005 | 3.707 | | NAU4926c | 0.005 | 3.879 | |
| | NAU3589b | 0.007 | 3.167 | | NAU3881a | 0.006 | 3.616 | |
| | NAU3529a | 0.008 | 3.045 | | NAU859b | 0.007 | 3.741 | |
| | NAU1362c | 0.009 | 3.020 | | NAU3995a | 0.009 | 3.327 | |
| 上半部纤维长度 FUHML | NAU1042b | 0.004 | 4.233 | 第一果枝节位 | NAU911c | 0.001 | 4.894 | |
| | NAU797a | 0.007 | 3.628 | FFSBN | JESPR153c | 0.002 | 4.486 | |
| | HAU1355c | 0.005 | 3.704 | | NAU1274b | 0.004 | 3.951 | |
| | NAU5260b | 0.006 | 3.716 | | NAU6109b | 0.006 | 3.608 | |
| | NAU3277a | 0.008 | 3.332 | | BNL1122a | 0.006 | 3.526 | |
| 衣分 LP | NAU2274a | 0.008 | 3.331 | | NAU2274a | 0.008 | 3.331 | |
| | NAU3100b | 0.002 | 4.379 | | NAU1375b | 0.010 | 3.201 | |
| | NAU2016b | 0.002 | 4.232 | 果枝数 | NAU3522b | 0.002 | 4.754 | |
| | NAU2016a | 0.003 | 4.137 | | NAU3522a | 0.003 | 4.152 | |
| | CIR280 | 0.003 | 3.983 | | NAU3031b | 0.004 | 4.017 | |
| | NAU1375b | 0.005 | 3.672 | | BNL1122a | 0.007 | 3.461 | |
| | NAU1156a | 0.006 | 3.523 | 空果枝 | NAU5189a | 0.001 | 4.684 | |
| | NAU3016a | 0.008 | 3.292 | EFSBN | NAU1167a | 0.003 | 3.931 | |
| | NAU1156b | 0.008 | 3.262 | | NAU4926b | 0.006 | 3.564 | |
| | JESPR065b | 0.008 | 3.239 | 理论籽棉产量 | NAU4073a | 0.004 | 3.913 | |
| | HAU1434b | 0.008 | 3.229 | TSCY | NAU2016a | 0.009 | 3.269 | |
| | HAU2147b | 0.008 | 3.171 | 单株有效铃数 | NAU4926b | 0.006 | 3.653 | |
| NAU3100a | 0.009 | 3.140 | EBN | NAU2078b | 0.008 | 3.325 | | |
| BNL3976b | 0.010 | 3.071 | 单铃重 | NAU6104 | 0 | 5.791 | | |
| NAU1028a | 0.010 | 3.049 | BW | NAU1156b | 0.003 | 4.174 | | |
| 马克隆值 MV | NAU5499a | 0.004 | 3.838 | NAU1156a | 0.005 | 3.827 | | |
| | NAU6104 | 0.005 | 3.595 | NAU478b | 0.007 | 3.439 | | |
| | JESPR065b | 0.005 | 3.592 | NAU478a | 0.009 | 3.200 | | |
| | 果枝始节高 FFSH | NAU3948b | 0 | 7.218 | 纤维伸长率 | BNL3875b | 0.003 | 3.880 |
| | | NAU3948a | 0.001 | 4.854 | FE | CIR183b | 0.003 | 3.755 |
| HAU1355a | | 0.002 | 4.758 | | NAU5428b | 0.004 | 4.076 | |
| NAU3308b | | 0.008 | 3.337 | | JESPR181 | 0.004 | 3.613 | |
| NAU3522a | | 0.009 | 3.208 | | NAU2317a | 0.006 | 3.258 | |
| 外围铃数 PBN | NAU6104 | 0.003 | 4.151 | | NAU3377a | 0.007 | 3.170 | |
| | NAU1028a | 0.004 | 3.965 | | NAU5005b | 0.009 | 2.931 | |
| | NAU5428b | 0.005 | 3.950 | | NAU4926c | 0.010 | 2.970 | |
| 生育期 GP | JESPR065b | 0.004 | 4.058 | | | | | |

缩写同表 1。Abbreviations are the same as those given in Table 1.

表 4 多效应标记位点

Table 4 Markers associated with multiple-effect traits

| 标记 Marker | 染色体 Chromosome | 位置 Position (bp) | 性状 Trait |
|--------------|-------------------|---------------------|---------------------------|
| NAU6104 | A03 | 1,350,357 | 马克隆值 MV, 单铃重 BW, 外围铃数 PBN |
| NAU1156a | A05 | 21,325,479 | 单铃重 BW, 衣分 LP |
| JESPR065b | A05 | 98,149,579 | 生育期 GP, 马克隆值 MV, 衣分 LP |
| CIR280 | A06 | 6,580,622 | 株高 PH, 衣分 LP |
| HAU1355 | A06 | 8,067,852 | 果枝始节高 FFSH, 上半部纤维长度 FUHML |
| NAU859 | A09 | 53,596,735 | 纤维比强度 FS, 株高 PH |
| NAU3377c | D11 | 379,087 | 纤维伸长率 FE, 株高 PH |
| NAU5428b | A11 | 119,324,448 | 纤维伸长率 FE, 外围铃数 PBN |
| NAU3522a | A12 | 106,203,559 | 果枝数 FSBN, 果枝始节高 FFSH |
| JESPR181 | D05 | 10,325,076 | 纤维比强度 FS, 纤维伸长率 FE |
| BNL1122a | D07 | 30,098,941 | 第一果枝节位 FFSBN, 果枝数 FSBN |
| NAU1375b | D09 | 9,223,243 | 衣分 LP, 第一果枝节位 FFSBN |
| NAU4926c | D12 | 5,980,182 | 株高 PH, 纤维伸长率 FE |
| NAU4926b | D12 | 5,980,182 | 空果枝数 EFSBN, 单株有效铃数 EBN |

缩写同表 1。Abbreviations are the same as those given in Table 1.

雨地区,且日蒸发量较高^[37-38],降雨对试验的影响较小,且研究中我们对多种表型数据进行了精准测定,在后期分析前也对数据进行人工矫正,剔除了由于操作失误等原因造成的误差,而且在最终的表型数据处理上采用最佳线性无偏预测来综合多年多点的表型值进一步降低环境因素的影响,结果也表明,有些性状的广义遗传力较高,年度间重复性较好。我们对 18 种表型数据进行了人工采集及统计分析,但在植物生长发育过程中存在很多人工无法获取和采集的信息,研究开发更多表型的获取方式,比如搭建高通量表型组自动分析平台,通过使用数字成像和近红外光谱等技术自动无损的获得植物对干旱胁迫反应的准确表型数据,是解决表型鉴定困难的重要途径^[7]。

由于近年气候变暖,年降雨量少,水资源缺乏,新疆的干旱问题愈发严重。棉花的产量、纤维品质等性状是基因型和环境因素的共同作用^[39-41]。干旱胁迫会影响棉花的整个生长发育过程。在本研究中,株高受到干旱胁迫的显著影响,变异系数从正常情况下的 5.353% 扩大到 7.496%; 而重要机采指标果枝始节高则在正常与干旱情况下均表现较高的变异 ($CV_c=10.924\%$; $CV_d=10.963\%$), 表明该群体本身在这一性状具有较高的变异。尽管生育期与纤维伸长率的变异系数都小于 2%。但是这 2 项指标仍受到干旱胁迫的严重影响 ($P<0.01$)。而果枝数、铃重、籽指

和纤维整齐度 4 种性状受干旱胁迫的影响不显著 ($P>0.01$)。此外,本研究表明,纤维品质性状(上半部纤维长度、纤维整齐度、马克隆值、纤维比强度、纤维伸长率)在多年不同条件下表现出较高的遗传力,这与前人的研究结果相似^[10,42]。而且采用 HFT9000 棉花纤维测定仪测定纤维品质,避免了人工测定误差,更具有可靠性以及准确性。

3.2 关联分析

传统育种方法主要依赖于育种家对植株表型的选择,育种周期长,效率低;棉花抗旱性受微效多基因控制,极易受环境影响,因此借助分子标记从而找到与抗旱性状紧密连锁的位点,并应用到育种实践中,可加快育种进程。Zheng 等^[43]通过对 $F_{2:3}$ 群体苗期耐旱性状的定位,共鉴定到 16 个重要的 QTL,包括 5 个与株高相关、1 个与叶数相关、3 个与叶绿素相关、3 个丙二醛相关和 4 个脯氨酸相关。Li 等^[42]通过对 517 份陆地棉种质资源进行重测序,确定了与抗旱系数相关的 33 个 QTL 以及与综合抗旱指数关联的 6 个 QTL,并进一步结合 RNA-seq 的数据确定 6 个候选基因。本研究利用多年多环境的表型数据进行关联分析,在 $P<0.01$ 的显著性阈值下共检测到 76 个显著性位点,各位点对表型变异的解释率为 2.931%~7.218%。将 18 个性状关联到的 QTL 数量与变异系数、遗传力等的综合分析发现,株高、单株有效铃数、衣分,上半部纤维长度、马克隆值、

纤维比强度及纤维伸长率等 7 个指标遗传力较高, 受到干旱胁迫的显著影响 ($P < 0.01$), 并且关联到 QTL 的数量占总体的 70%, 因此我们认为, 在以后的抗旱性研究中应对这几个性状重点关注。

为了筛选出对分子标记辅助选择育种有用的 QTL 位点, 本研究将 GWAS 鉴定到的 QTL 与前人报道的 QTL 进行比较, 并通过软件 e-PCR 锚定到参考基因组发现, 纤维比强度、纤维伸长率、衣分和株高这 4 个性状所关联到的 QTL 在前人研究中有报道。在这 4 个性状中, 与纤维比强度相关的标记为 NAU2152b, 该标记位点和已报道的 QTL *q-FS-c11-2* 及 *q-FS-A11-1a* 十分接近, P 值为 4.510×10^{-4} , 表型变异解释率为 5.425%; 与纤维伸长率相关联的标记 CIR183b, P 值为 0.003, 表型变异解释率为 3.755%, 该标记位点与已报道 QTL *q-FEc22-2* 及 *qFE-c22-1* 距离相近; 与衣分相关的标记 JESPR065b 被发现与已报道 QTL *qLP-A5* 的位置相近, 该标记位点 P 值为 0.008, 表型变异解释率为 3.239%; 发现与株高相关的标记 CIR246 附近有 4 个已报道的 QTL, 分别是 *qPH-D2-2*、*qPH-14(F2.3)*、*PH8.w*、*PH2.y*, 该标记位点表型变异解释率为 4.520%^[34-36]。这 4 个 SSR 标记在棉花中控制重要的农艺性状, 还可能参与棉花干旱逆境的响应, 是作为分子标记辅助选择育种的潜在基因位点。本研究也为有效解决育种进展缓慢以及育种进程中优异基因丢失提供参考依据。

3.3 QTL 的一因多效性

本研究出现 QTL 的一因多效性也值得关注, 在之前的研究中就出现了在植物同一染色体区段的 QTL 可能控制不同条件下的同一表型的相关报道。Frova 等^[44]发现, 在水分胁迫条件下玉米 2 号染色体上 m28 标记同时在穗长、穗重、穗粒重、穗粒数等性状中被检测到, m66 也在穗重、穗粒重、穗粒数等性状下被检测到。吴迷等^[45]发现, InDel 标记 HAU_ID_D07-09 同时与 5 个性状(上半部纤维长度、纤维比强度、纤维伸长率、纤维整齐度、短纤维率)相关联, 以及标记 HAU_ID_D12-10 同时与 4 个性状(上半部纤维长度、纤维比强度、纤维整齐度、短纤维率)相关联。本研究中也检测到 13 个多效性标记, 推其原因, 多效性可能是因为这些性状相关性较高, 且由同一 QTL 所控制。

4 结论

217 份陆地棉资源群体被分为 2 个群体, 在

$P < 0.01$ 的显著性阈值下共关联到 76 个与干旱相关的位点, 表型变异解释率范围为 2.931%~7.218%, 其中广义遗传率较高的纤维比强度关联到 7 个与干旱相关的标记位点; 上半部纤维长度检测到 5 个与干旱相关的标记位点; 衣分也关联到 14 个与干旱相关的标记位点。这些位点可为棉花抗旱遗传改良提供理论基础, 并用于后期棉花抗旱性状的分子标记辅助选择育种。

附图和附表 请见网络版: 1) 本刊网站 <http://zwxb.chinacrops.org/>; 2) 中国知网 <http://www.cnki.net/>; 3) 万方数据 <http://c.wanfangdata.com.cn/Periodical-zuowxb.aspx>。

References

- [1] Passioura J B. Drought and drought tolerance. *Plant Growth Regul*, 1996, 20: 79–83.
- [2] Passioura J. The drought environment: physical, biological and agricultural perspectives. *J Exp Bot*, 2007, 58: 113–117.
- [3] Levi A, Paterson A H, Barak V, Yakir D, Wang B H, Chee P W, Saranga Y. Field evaluation of cotton near-isogenic lines introgressed with QTLs for productivity and drought related traits. *Mol Breed*, 2008, 23: 179–195.
- [4] Xiao Y L, Yu C Y, Lei J G, Cruz Q D D, Yabes J M, Tabanao D A. Association mapping for drought tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) at vegetative stage. *Agric Sci Technol*, 2012, 13: 1385–1394.
- [5] Savage M J, Ritchie J T, Bland W L, Dugas W A. Lower limit of soil water availability. *Agron J*, 1996, 88: 644–651.
- [6] Cook C G, Elzik K M. Fruiting and lint yield of cotton cultivars under irrigated and nonirrigated conditions. *Field Crops Res*, 1993, 33: 411–421.
- [7] Tuberosa R. Phenotyping for drought tolerance of crops in the genomics era. *Front Physiol*, 2012, 3: 347.
- [8] 桑晓慧, 赵云雷, 王红梅, 陈伟, 龚海燕, 赵佩, 崔艳利. 陆地棉抗旱性与 SSR 分子标记的关联分析. *棉花学报*, 2017, 29: 241–252.
Sang X H, Zhao Y L, Wang H M, Chen W, Gong H Y, Zhao P, Cui Y L. Association analysis of drought tolerance and SSR markers in upland cotton. *Cotton Sci*, 2017, 29: 241–252 (in Chinese with English abstract).
- [9] Baytar A A, Peynircioğlu C, Sezener V, Basal H, Frary A, Doğanlar S. Genome-wide association mapping of yield components and drought tolerance-related traits in cotton. *Mol Breed*, 2018, 38: 74.
- [10] Hou S, Zhu G Z, Li Y, Li W X, Fu J, Niu E, Li L C, Zhang D Y, Guo W Z. Genome-wide association studies reveal genetic variation and candidate genes of drought stress related traits in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Front Plant Sci*, 2018, 9: 1276.
- [11] Ulloa M, Santiago L M D, Hulse-Kemp A M, Stelly D M, Burke J J. Enhancing upland cotton for drought resilience, productivity, and fiber quality: comparative evaluation and genetic dissection. *Mol Genet Genomics*, 2020, 295: 155–176.
- [12] 杜雄明, 周忠丽. 棉花种质资源描述规范和数据标准. 北京:

- 中国农业出版社, 2005. pp 8–32.
- Du X M, Zhou Z L. Descriptors and Data Standard for Cotton (*Gossypium* spp.). Beijing: China Agriculture Press, 2005. pp 8–32 (in Chinese).
- [13] 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 Mol Biol Rep*, 1993, 11: 122–127.
- [14] 张军, 武耀廷, 郭旺珍, 张天真. 棉花微卫星标记的 PAGE/银染快速检测. *棉花学报*, 2000, 12: 267–269.
- Zhang J, Wu Y T, Guo W Z, Zhang T Z. Fast screening of microsatellite markers in cotton with PAGE/silver staining. *Cotton Sci*, 2000, 12: 267–269 (in Chinese with English abstract).
- [15] Zhao L, Lyu Y, Cai C P, Tong X C, Chen X D, Zhang W, Du H, Guo X H, Guo W Z. Toward allotetraploid cotton genome assembly: integration of a high-density molecular genetic linkage map with DNA sequence information. *BMC Genomics*, 2012, 13: 539.
- [16] 钱能. 陆地棉遗传多样性与育种目标性状基因(QTL)的关联分析. 南京农业大学博士学位论文, 江苏南京, 2009.
- Qian N. Genetic Diversity and Association of Gene (QTL) of Breeding Target Traits of Upland Cotton. PhD Dissertation of Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu, China, 2009 (in Chinese with English abstract).
- [17] Song X L, Zhang T Z. Quantitative trait loci controlling plant architectural traits in cotton. *Plant Sci*, 2009, 177: 317–323.
- [18] 薛艳, 张新宇, 沙红, 李雪源, 孙杰, 李保成. 新疆早熟棉品种 SSR 指纹图谱构建与品种鉴别. *棉花学报*, 2010, 22: 360–366.
- Xue Y, Zhang X Y, Sha H, Li X Y, Sun J, Li B C. Construction of fingerprinting map based on SSR and identification of cultivars for earliness cultivars in upland cotton in Xinjiang. *Cotton Sci*, 2010, 22: 360–366 (in Chinese with English abstract).
- [19] Sun F D, Zhang J H, Wang S F, Gong W K, Shi Y Z, Liu A Y, Li J W, Gong J W, Shang H H, Yuan Y L. QTL mapping for fiber quality traits across multiple generations and environments in upland cotton. *Mol Breed*, 2012, 30: 569–582.
- [20] 艾先涛, 梁亚军, 沙红, 王俊铎, 郑巨云, 吐尔逊江, 多力坤, 李雪源, 华金平. 新疆自育陆地棉品种 SSR 遗传多样性分析. *作物学报*, 2014, 40: 369–379.
- Ai X T, Liang Y J, Sha H, Wang J Z, Zheng J Y, Tu E X J, Duo L K, Li X Y, Hua J P. Genetic diversity analysis on local upland cotton cultivars in Xinjiang based on SSR markers. *Acta Agron Sin*, 2014, 40: 369–379 (in Chinese with English abstract).
- [21] Bates D, Machler M, Bolker B M, Walker S C. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J Stat Softw*, 2015, 67: 1–48.
- [22] Nyquist W E, Baker R J. Estimation of heritability and prediction of selection response in plant populations. *Crit Rev Plant Sci*, 1991, 10: 235–322.
- [23] 兰巨生. 农作物综合抗旱性评价方法的研究. *西北农业学报*, 1998, 7(3): 85–87.
- Lan J S. Comparison of evaluating methods for agronomic drought resistance in crops. *Acta Agric Boreali-Occident Sin*, 1998, 7(3): 85–87 (in Chinese with English abstract).
- [24] 冯方剑, 宋敏, 陈全家, 姚正培, 李杨阳, 刘艳, 王兴安, 曲延英. 棉花苗期抗旱相关指标的主成分分析及综合评价. *新疆农业大学学报*, 2011, 34: 211–217.
- Feng F J, Song M, Chen Q J, Yao P Z, Li Y Y, Liu Y, Wang X A, Qu Y Y. Analysis and comprehensive evaluation on principal component of relative indices of drought resistance at the seedling stage of cotton. *J Xinjiang Agric Univ*, 2011, 34: 211–217.
- [25] Liu K, Muse S. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 2005, 21: 2128–2129.
- [26] Hubisz M J, Daniel F, Matthew S, Pritchard J. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol Ecol Resour*, 2010, 9: 1322–1332.
- [27] Earl D A, Vonholdt B M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv Genet Resour*, 2012, 4: 359–361.
- [28] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol*, 2010, 14: 2611–2620.
- [29] Hardy O J, Vekemans X. SPAGeDI: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Mol Ecol Resour*, 2010, 2: 618–620.
- [30] Bradbury P J, Zhang Z W, Kroon D E, Casstevens T M, Ramdoss Y, Buckler E S. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 2007, 23: 2633–2635.
- [31] Abdurakhmonov I Y, Saha S, Jenkins J N, Buriev Z T, Shermatov S E, Scheffler B E, Pepper A E, Yu J Z, Kohel R J, Abdulkarimov A. Linkage disequilibrium based association mapping of fiber quality traits in *G. hirsutum* L. variety germplasm. *Genetica*, 2009, 136: 401–417.
- [32] Schuler G D. Sequence mapping by electronic PCR. *Genome Res*, 1997, 7: 541–550.
- [33] Wang M J, Tu L, Yuan D J, Zhu D, Shen C, Li J Y, Liu F Y, Pei L Y, Wang P C, Zhao G N, Ye Z X, Huang H, Yan F L, Ma Y Z, Zhang L, Liu M, You J Q, Yang Y C, Liu Z P, Huang F, Li B Q, Qiu P, Zhang Q H, Zhu L F, Jin S X, Yang X Y, Min L, Li G L, Chen L L, Zheng H K, Lindsey K, Lin Z H, Udall J A, Zhang X L. Reference genome sequences of two cultivated allotetraploid cottons, *Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense*. *Nat Genet*, 2019, 51: 224–229.
- [34] Said J I, Knapka J A, Song M Z, Zhang J F. Cotton QTLdb: a cotton QTL database for QTL analysis, visualization, and comparison between *Gossypium hirsutum* and *G. hirsutum* × *G. barbadense* populations. *Mol Genet Genomics*, 2015, 290: 1615–1625.
- [35] Said J I, Lin Z X, Zhang X L, Song M Z, Zhang J F. A comprehensive meta QTL analysis for fiber quality, yield, yield related and morphological traits, drought tolerance, and disease resistance in tetraploid cotton. *BMC Genomics*, 2013, 14: 776.
- [36] Said J I, Song M Z, Wang H T, Lin Z H, Zhang X L, Fang D D, Zhang J F. A comparative meta-analysis of QTL between intraspecific *Gossypium hirsutum* and interspecific *G. hirsutum* × *G. barbadense* populations. *Mol Genet Genomics*, 2015, 290: 1003–1025.
- [37] 唐凯, 王柏林, 姜海波, 何新林. 新疆石河子市近 51 年蒸发量变化特征分析. *水电能源科学*, 2016, 34(11): 17–21.
- Tang K, Wang B L, Jiang H B, He X L. Variation characteristics of evaporation in Shihezi of Xinjiang in recent 51 years. *Water Resour Power*, 2016, 34(11): 17–21 (in Chinese with English abstract).

- [38] 文强, 韩炜. 天山南北坡近 46 年蒸发量变化及相关因素对比分析——以呼图壁和库尔勒为例. 伊犁师范学院学报: 自然科学版, 2019, 13(4): 43–50.
Wen Q, Han W. Changes in evaporation over the last 46 years of the Tianshan Mountains and comparative analysis of related Factors—Take Hutubi and Korla for example. *J Yili Normal Univ* (Nat Sci Edn), 2019, 13(4): 43–50 (in Chinese with English abstract).
- [39] Paterson A H, Saranga Y, Menz M, Jiang C X, Wright R J. QTL analysis of genotype \times environment interactions affecting cotton fiber quality. *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 384–396.
- [40] Campbell B T, Jones M A. Assessment of genotype \times environment interactions for yield and fiber quality in cotton performance trials. *Euphytica*, 2005, 144: 69–78.
- [41] Farias F J C, Carvalho L P, Silva Filho J L, Teodoro P E. Biplot analysis of phenotypic stability in upland cotton genotypes in Mato Grosso. *Genet Mol Res*, 2016, 15: 1–8.
- [42] Li B Q, Tian Q, Wang X W, Han B, Liu L, Kong X H, Si A J, Wang J, Lin Z X, Zhang X L, Yu Y, Yang X Y. Phenotypic plasticity and genetic variation of cotton yield and its related traits under water-limited conditions. *Crop J*, 2020, 8: 966–976.
- [43] Zheng J Y, Oluoch G, Riaz Khan M K, Wang X X, Cai X Y, Zhou Z L, Wang C Y, Wang Y H, Li X Y, Liu X Y, Wang K B. Mapping QTLs for drought tolerance in an $F_{2:3}$ population from an inter-specific cross between *Gossypium tomentosum* and *Gossypium hirsutum*. *Genet Mol Res*, 2016. doi: 10.4238/gmr.15038477.
- [44] Frova C, Krajewski P, Fonzo N D, Villa M, Sari-Gorla M. Genetic analysis of drought tolerance in maize by molecular markers: I. Yield components. *Theor Appl Genet*, 1999, 99: 280–288.
- [45] 吴迷, 汪念, 沈超, 黄聪, 温天旺, 林忠旭. 基于重测序的陆地棉 InDel 标记开发与评价. 作物学报, 2019, 45: 196–203.
Wu M, Wang N, Shen C, Huang C, Wen T W, Lin Z X. Development and evaluation of InDel markers in cotton based on whole-genome re-sequencing data. *Acta Agron Sin*, 2019, 45: 196–203 (in Chinese with English abstract).