

文章编号: 1004-0374(2011)05-0511-08

棉花数量性状基因定位研究进展

王启会[#], 李怀芹[#], 朱新宇, 汪保华^{*}

(南通大学生命科学学院, 南通 226019)

摘要: 棉花的许多重要性状, 包括产量、纤维品质、株型、抗病抗逆性、生理生化等都是数量性状, 受遗传和环境因子的共同作用。近年来, 随着分子生物学技术的进步, 棉花基因组研究得到迅速发展, 为棉花数量性状基因 (quantitative trait locus, QTL) 定位奠定了坚实的基础。概述了近十几年来棉花 QTL 定位研究及分子标记辅助选择的进展, 结合研究实践指出了棉花 QTL 定位及标记辅助选择存在的问题, 并对其发展方向做出了初步探讨。

关键词: 棉花; QTL 定位; 标记辅助选择; 基因定位

中图分类号: S562; Q943 **文献标志码:** A

Progress of quantitative trait locus mapping in cotton

WANG Qi-Hui[#], LI Huai-Qin[#], ZHU Xin-Yu, WANG Bao-Hua^{*}

(School of Life Science, Nantong University, Nantong 226019, China)

Abstract: Most of important economic traits of cotton, including yield and yield components, fiber quality, plant architecture, disease and stress resistance, physiological characters et al. are quantitatively inherited, which are determined by both genetic and environmental factors. Nowadays, with the development of molecular biotechnology, distinctive progress has been made in cotton genome research, which provides a solid basis for cotton quantitative trait locus (QTL) mapping. In this paper, progress of cotton QTL mapping and marker-assisted selection (MAS) in the last more than ten years is reviewed. The existing problems are analyzed and the future direction of QTL mapping is proposed.

Key words: cotton; QTL mapping; marker-assisted selection; gene location

棉花的许多重要性状, 如产量、纤维品质、株型等都是多基因控制的数量性状, 这些微效多基因在染色体上的位置称为数量性状基因座 (quantitative trait locus, QTL)。数量性状表现为连续变异, 其遗传研究, 如数量性状的基因数目、染色体位置及效应, 很难从性状本身的表型分布来确定。传统的数量遗传学只能借助数理统计方法, 将复杂的多基因系统作为一个整体, 用平均值和方差来表示数量性状的遗传特征, 但无法区别单个 QTL 的效应、位置及相互作用, 从而限制了数量性状的遗传操作和应用。

随着分子生物学技术的深入发展, 利用 DNA 分子标记构建遗传图谱并开展 QTL 定位有了飞跃

的发展。QTL 定位即通过分析整个染色体组的 DNA 标记和数量性状表型值的关系, 从而将 QTL 逐一定位到染色体的相应位置, 并估计其遗传效应。随着分子标记的不断开发, 棉花的遗传图谱日益饱和, 棉花的 QTL 定位也在不断深入发展, 已在棉花中鉴定出来的 QTLs 涉及产量和产量构成因子、

收稿日期: 2011-02-09; 修回日期: 2011-03-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(31000729); 南通市科技创新计划项目(生物技术及新医药专项 AS2010018); 江苏省普通高校自然科学基金项目(10KJB201004, 09KJB180006)

*通信作者: E-mail: bhwang@ntu.edu.cn

[#]共同第一作者

纤维品质、株型、抗病抗逆、开花时间等许多重要性状，这也促使棉花的标记辅助育种相应地取得了深入进展。

1 棉花遗传图谱的构建

棉花基因组研究中的早期 DNA 标记以限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)为主。棉花的第一张分子连锁图是从基于 RFLP 的海岛棉(*Gossypium barbadense*)与陆地棉(*G. hirsutum*)种间杂交 F₂ 群体中构建而来的^[1]。2004 年 Rong 等^[2]构建了以 RFLP 标记为主的二倍体和四倍体棉花图谱，其中四倍体图谱包含平均间隔为 1.74 cM 的 2 584 个位点，加上二倍体图谱，总位点数达到 3 347 个，是迄今为止公开发表的位点数最多的棉花遗传图谱。2005 年 Waghmare 等^[3]构建了第一张基于 RFLP 的陆地棉与毛棉(*G. tomentosum*)种间的遗传图谱。

RFLP 需消耗大量劳动力，需要较多的 DNA，而且杂交和放射自显影的方法繁琐，因而当前基于 PCR 技术的 DNA 标记得到了广泛应用。基于 PCR 的随机扩增多态性 DNA(random amplified polymorphic DNA, RAPD)、扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)、抗性基因类似物(resistance gene analogs, RGA)、序列相关扩增多态性(sequence-related amplified polymorphism, SRAP)、微卫星或简单重复序列(simple sequence repeats, SSRs)等标记的发展给棉花带来了新的分子标记，之后较为饱和的棉花遗传图谱，尤其是海岛棉与陆地棉(海陆)种间遗传图谱随之涌现而来^[4-11]，特别是 2007 年 Guo 等^[11]构建了一个较为饱和的海陆种间遗传图谱，所得的基于 SSR、SRAP 和形态标记的遗传图谱由 1 790 个位点组成，总长度 3 425.8 cM，位点间平均距离为 1.91 cM。

陆地棉遗传基础狭窄，因而与日渐饱和的海陆种间图谱相比，陆地棉种内图谱饱和度相对较低。一些研究者通过综合利用多种标记^[12-13]，或整合不同图谱^[14]，或采用多元杂交^[15]等方法构建了较为饱和的陆地棉种内遗传图谱。特别是 2009 年 Zhang 等^[13]运用包括 SSR、SRAP、形态标记和内含子-外显子拼接位点标记(intron targeted intron-exon junction, IT-ISJ)在内的多种标记构建出了一个基于陆地棉种内杂交(T586 × Yumian 1)的较为饱和的连锁图。该图谱 604 个位点分布于 60 个连锁群，总长度为 3 140.9 cM，大约覆盖棉花基因组的 70.6%。

2 棉花重要性状的 QTL 定位及标记辅助选择

随着在过去十几年中日益增加的 DNA 标记在棉花遗传图谱构建中的应用，棉花 QTL 定位研究得到迅猛发展。已在棉花中鉴定出来的 QTLs 涉及产量和产量构成因子、纤维品质、株型、抗病抗逆、开花时间等许多重要性状。在 QTL 定位的基础上，标记辅助选择(marker-assisted selection, MAS)随之开展，这是 DNA 标记最重要的运用之一，可以为育种实践提供许多便利。

2.1 纤维品质的 QTL 定位及标记辅助选择

2003 年 Zhang 等^[16]使用一个棉属野生种异常棉(*G. anomalum*)基因渐渗的优质纤维种质系 7235 来鉴定与纤维强度的 QTLs 相关的分子标记。一个主效 QTL——*QTLFS1*，在中国的南京和海南以及美国的 Texas A&M College Station 均被检测出来，可解释超过 30% 的表型变异。2003 年 Guo 等^[17]进一步的研究表明，一个 SCAR 标记 SCAR4311920 能被用于在育种群体中对来自 7235 渐渗系的高强 QTL 进行大规模筛选。2005 年 Shen 等^[18]研究表明，与这个 QTL 紧密连锁的标记可应用于提高商业栽培品种的纤维强度。2006 年 Wang 等^[19]利用湘杂棉 2 号衍生的重组自交系鉴定出一个稳定的纤维长度 QTL：*qFL-D2-1*。该 QTL 能在四种环境中同时检测到，表现出不依赖于环境的高度稳定性，对 MAS 具有特别的价值。2008 年陈利等^[20]以渝棉 1 号 × 中棉所 35 的 F₂、F_{2.3} 群体，检测到 5 个纤维品质性状 QTLs，这 5 个 QTLs 的有利等位基因均来自于渝棉 1 号，渝棉 1 号的纤维比强度 QTL 有利等位基因可用于陆地棉纤维品质改良。2009 年 Zhang 等^[13]利用基于陆地棉种内杂交(T586 × Yumian 1)的重组自交系为材料在 5 种环境下开展纤维品质 QTL 定位，13 个 QTLs 解释 7.4%~43.1% 的表型方差，其中 5 个在 5 种环境下都能检测到，且解释 20% 以上的表型方差。纤维品质改良是棉花育种的重点内容，且纤维品质性状相对较稳定，相对于产量性状而言，更易开展标记辅助选择，因而纤维品质性状的 QTL 定位研究较多^[21-27]，标记辅助选择也取得了一些成果。

2.2 棉花抗病 QTL 定位

抗病育种是棉花育种实践的重要议题。根瘤线虫(root-knot nematode, RKN) *Meloidogyne incognita* 能导致棉花的严重减产。2006 年 Wang 等^[28]在 A03(11 号染色体)上鉴定出一个 SSR 标记 CIR316，

与抗病品种“*Acala NemX*”中鉴定的一个主效抗病基因 *rkn1* 紧密连锁。在他们的另外一个实验中鉴定出一个与 *rkn1* 连锁的 AFLP 标记, 并将其转化成命名为 GHACC1 的 CAPS 标记^[29]。在此研究的基础上, 2010 年 Ulloa 等^[30] 进一步采用 12 个亲本对不同遗传背景下的根瘤线虫抗性进行了鉴定, 发现分别位于 11、21 号染色体的 SSR 标记 CIR316 和 MUCS088 与抗性相关, SSR 标记 CIR316、BNL1231、MUCS088 以及 CAPS 标记 GHACC1 对线虫抗性的选择效果较好。2006 年 Shen 等^[31] 以源自 Auburn 623 种质的 M120 陆地棉抗性种系, 在 7 号和 11 号染色体上鉴定出与线虫抗性相关的 RFLP 标记, 这是与 *Acala NemX* 不同来源的抗性基因, 随后使用 SSR 标记在 11 号染色体上检测到一个主效 QTL (*QMi-C11*) 位于两个相距 12.9 cM 的 SSR 标记 CIR069 和 CIR316 之间, 而在 7 号染色体检测到一个微效 QTL。2010 年 Shen 等^[32] 进一步将 *QMi-C11* 精细定位于相距 3.6 cM 的两个标记: SSR 标记 CIR069 和 AFLP 标记 E14M27~375 之间。2006 年 Ynturi 等^[33] 鉴定出两个分别定位于 14 号染色体短臂的 BNL3661 和定位于 11 号染色体长臂的 BNL1231 与源自 Auburn 634 种质的 RKN 抗性相关, 共解释根瘤指数 31% 的表型方差。2010 年 Gutiérrez 等^[34] 以源自 Auburn 623 种质的 M240 陆地棉抗性种系为材料发现 2 个根瘤线虫抗性基因, 其中一个位于 11 号染色体的标记 CIR316-201 附近, 可抑制根瘤的产生; 另一个位于 14 号染色体短臂上, 与标记 BNL3545-118 和 BNL3661-185 连锁, 可抑制虫卵的产生。

棉花角斑病 (bacterial blight) 是由病原体 *Xanthomonas campestris* pv. *Malvacearum* (*Xcm*) 造成的重要的棉花细菌性病害。研究者使用 RFLP 标记来调查控制棉花角斑病基因在染色体上的位置, 定位结果表明抗性基因与位于 14 号染色体上一个标记共分离, 而该标记已知是与来自非洲棉花品种的 *B12* 广谱抗病基因连锁^[35-36]。2010 年 Xiao 等^[37] 检测到 4 个与棉花角斑病紧密连锁的、覆盖 14 号染色体上 3.4 cM 的 SNP 标记, 由这 4 个 SNP 标记构成一个单倍型, 对棉花角斑病抗性的标记辅助选择效果显著。

棉花蓝病害 (cotton blue disease, CBD) 罹病棉株表现为发育迟缓、矮小, 叶片向下卷曲, 叶脉黄化, 叶片深绿到蓝色, 产量和品质严重下降。该病在亚洲、非洲和美洲都有报道, 在巴西及其他南美

国家尤为严重。2010 年 Fang 等^[38] 利用分子标记将 CBD 基因定位于 10 号染色体, 并检测到 4 个与 CBD 紧密连锁的 SNP 标记, 这 4 个 SNP 标记覆盖 10 号染色体上 10 cM 的遗传距离, 它们组成的单倍型对棉花蓝病害的分子标记辅助选择效果显著。

2008 年陈勋基等^[39] 以高抗枯萎病的陆地棉品系 98134 和海岛棉感病品种新海 14 号为亲本, 构建 98134 × 新海 14 号的 F_2 及 $F_{2,3}$ 分离群体, 检测到 4 个与棉花枯萎病相关的 QTLs。2009 年 Wang 等^[40] 构建了陆地棉 Zhongmiansuo 35 (ZMS35) 和 Junmian 1 的 $F_{2,3}$ 家系, 抗枯萎病的主效基因与 D3 染色体 (17 号染色体) 上的 JESPR304-280 紧密连锁, 在该标记附近 0.06~0.2 cM 范围内检测到一主效 QTL, 可解释 52.5%~60.9% 的表型方差。

棉花黄萎病 (*Verticillium wilt*) 是土传真菌性病害, 根治较困难, 是棉花生产的主要障碍。许多棉花科研工作者开展了黄萎病抗性的 QTL 定位。2003 年高玉千等^[41] 利用高感黄萎病的陆地棉品种“邯鄯 208”与高抗黄萎病的海岛棉品种“Pima90”的 F_2 群体, 检测到 3 个与黄萎病抗性相关的 QTLs, 可解释 15.39%、54.11% 和 57.18% 的表型变异, 并认为该群体的黄萎病抗性由两个主效 QTLs 共同控制。2005 年王红梅等^[42] 利用“TM-1”和“常抗棉”杂交的 F_2 和 $F_{2,3}$ 为作图群体, 检测出 3 个与抗黄萎病有关的 QTLs, 分别位于第 3、5、6 连锁群上。2006 年甄瑞等^[43] 利用高感黄萎病的陆地棉品种中棉所 8 号和高抗黄萎病的海岛棉品种 Pima90-53 构建的 F_2 分离群体检测到 1 个棉花黄萎病抗性位点, 其中标记 BNL3255 与此抗性位点紧密连锁。2007 年王芙蓉等^[44] 利用抗黄萎病品种鲁棉研 22 与渐渗了海岛棉优异纤维基因的鲁原 343 组配杂交组合, 检测到 3 个 QTLs 位点与抗黄萎病有关。2008 年 Yang 等^[45] 利用感病的海岛棉 Hai 7124 与抗病的陆地棉 1 构建了 F_2 和 BC_1 群体, 对苗期和成株期黄萎病抗性开展 QTL 定位, 结果表明在不同的群体里有 2 个稳定的 QTLs、4 个 QTLs 在苗期和成株期同时检测到。2008 年 Wang 等^[46] 对易感和高抗黄萎病的新陆早 1 号和海 7124 的 $F_{2,3}$ 代进行 SSR 分析, 检测出与抗黄萎病有关的 9 个 QTLs, 其中 6 个被定位到 D 亚基因组上。2010 年吴翠翠等^[47] 利用高抗黄萎病的海岛棉品种海 7124 和高感黄萎病的陆地棉品种邯鄯 14 组配的 F_2 群体共检测到 12 个抗黄萎病相关 QTLs, 各 QTL 解释 1.09%~22.73% 的表型变异。

目前,棉花抗黄萎病 QTL 定位工作尚不能满足育种要求,不同 QTL 间的互作、上位性效应及环境影响等尚未充分了解,但以研究为目的基于主效 QTL 的 MAS 还是取得了显著的成果。

2.3 棉花产量、产量构成因子及其他性状的 QTL 定位

棉花产量及产量构成因子性状遗传方式较为复杂,易受环境条件的影响。2006 年杨超等^[48]用一个高抗黄萎病的陆地棉品系 5026 和一个高感黄萎病的陆地棉品种李 8 为材料,构建一个 RIL 群体,检测到了 11 个产量构成因素的 QTLs,解释的变异方差范围是 4.1%~10.6%。2006 年张培通等^[49]利用我国的泗棉 3 号和西班牙陆地棉栽培品种 Carmen 构建作图群体,在 3 个环境中进行产量及其构成因素的 QTL 标记和定位,研究了泗棉 3 号高产特性的分子机理,共检测到 6 个产量构成因素的 QTLs。2007 年 Wang 等^[50]以湘杂棉 2 号重组自交系为材料,调查了 3 种环境下的产量及产量构成因子性状,并构建了遗传连锁图,对各环境资料的分离分析共定位出 34 个 QTLs,而利用三环境平均值的联合分析定位出 15 个 QTLs,其中一个衣分 QTL(*qLP-A10-1*) 在联合分析及分离分析下的 2 种环境都能检测到,可能对标记辅助选择有实际应用价值。2009 年秦永生等^[51]以中棉所 12×4133 和中棉所 12×8891 配制而成的两个陆地棉强优势杂交种中棉所 28 和湘杂棉 2 号的 F₂ 为作图群体,对两群体 8 个产量相关性状在 F₂ 和 F_{2,3} 中进行 QTL 定位,发现 12 对共有 QTLs。2009 年李骏智等^[52]利用陆地棉推广品种中棉所 36 和海 1 配制杂交组合,并用中棉所 36 为轮回亲本构建回交群体,共定位 16 个产量性状 QTL,解释表型变异 5.77%~19.86%。2010 年梁燕等^[53]利用中棉所 36×海岛棉海 1,选择培育了一套由 303 个单株组成的代换系,共定位了 20 个与产量性状有关的 QTLs,鉴定的 QTL 大多是微效基因,解释表型变异 3.01%~9.69%。2011 年 Liu 等^[54]利用 Xiangzhamian2 衍生的重组自交系群体及由这套重组自交系互交配制的永久性 F₂ 群体,开展产量及产量构成因子性状的 QTL 定位,在定位的 111 个 QTLs 中,23 个在两种群体都可以检测到,而其中又有 16 个存在与环境的显著互作效应;结果还表明,显性效应对 Xiangzhamian2 的杂种优势起重要作用,而非加性遗传是该群体中衣分遗传的主要模式。

其他性状的 QTL 定位包括叶片和茎的绒毛^[55]、株型^[56]、种子物理性状^[57]、叶绿素含量及光合速

率^[58-59]、早熟性^[60],以及现蕾天数、开花天数、吐絮天数等生育期性状^[61]。这些 QTL 定位为揭示相应性状的遗传基础,开展标记辅助选择育种提供了理论依据。

通过总结棉花中的 QTL 定位结果不难发现一些有趣的现象^[62]。第一,在四倍体棉花中,尽管 D 亚组来自于自身不产纤维的原始二倍体物种,但在 D 亚组中能检测出许多影响纤维品质的 QTLs。1998 年 Jiang 等^[63]指出,四倍体棉花在其驯化和育种实践中,纤维品质改良效果优于能产生可纺织纤维的 A 组棉花的同步改良,这可以部分归因于 D 亚组的 QTLs 的作用。第二,大量的研究显示出在棉花基因组中 QTLs 成簇分布^[25-26,49,51,64]。其中 2000 年 Ulloa 和 Meredith^[64]检测到 92 个控制棉花农艺性状和纤维品质性状的 QTLs,其中有 49% 左右集中分布在两条染色体上。2005 年 Ulloa 等^[14]认为棉花基因组中可能存在高度重组和基因富集的区域。QTLs 成簇分布可能发挥它们的多功能来补偿其数量上的缺陷,增强它们在棉花生长和发育中的作用。

3 棉花分子育种发展存在的问题

近十多年来,分子标记辅助育种已经得到了很大的发展,在许多作物中已定位了很多重要性状的基因,但育成品种的报道还相对较少,绝大多数的研究仍停留在标记鉴定、遗传作图及 QTL 定位等基础环节上。究其原因,棉花分子育种仍存在以下主要问题。

3.1 QTL 定位与育种实践脱节

标记鉴定与辅助育种这两个重要环节未能融为一体,绝大多数的研究者只把工作目标定位在鉴定重要的标记上,把标记辅助育种作为下一步的工作目标,因而在选材上往往只考虑鉴定标记的可行性,而没有从直接培育新的优良品系或品种的目标去选择起始亲本,以致于在获得标记的时候,只能提供育种的中间种质材料。解决这一问题的对策是,在 QTL 定位研究工作中,选用目前推广的优良品系或品种为起始亲本,则较易将所获得的种质材料进一步培育出新的优良品系或品种。

3.2 重要性状 QTLs 需进一步验证

前人已对棉花的许多重要性状进行了大量的 QTL 定位,检测到许多 QTL,但这与 QTL 的具体应用还有较大的距离。

首先,开展 QTL 定位所依赖的遗传图谱饱和

度有待提高。如果图谱中标记位点数目少, 则无法为 QTL 定位提供丰富的遗传背景, 从而大大降低了 QTL 定位的准确度。从已构建的棉花遗传图谱来看, 四倍体棉花种间遗传图谱比较饱和, 但生产上大面积推广的陆地棉种内遗传图谱饱和度很低。这主要是因为陆地棉遗传基础狭窄, 品种(系)间多态性较低, 因此, 需要开发更多的分子标记, 整合基于不同群体构建的遗传图谱, 或采取多元杂交配制群体等方法提高遗传图谱饱和度, 从而提高 QTL 定位的准确度。

其次, 棉花的许多重要性状的遗传方式复杂, 并易随环境变化而改变; 有些具有相反表型效应的 QTL 在早期世代紧密连锁, 直到高世代经过更多的重组之后才会分离。因此, 已定位的重要性状的 QTL 需要进一步验证, 即需要在不同环境下、不同群体中进行检测。如能将不同实验定位到的 QTL 结果放到一个共同的遗传图谱中加以比较, 则可以提供单个实验无法提供的更为全面的 QTL 信息, 这就需要不同实验室之间资源的共享。如确实为稳定表达的主效 QTL, 则可以考虑在标记辅助选择中应用, 或开展精细定位, 甚至克隆 QTL。

4 棉花QTL定位及分子育种的方向

4.1 精细定位及QTL克隆

随着棉花各种重要性状 QTL 的不断发展, 克隆并利用这些 QTL 逐渐成为可能, 这就需要开展 QTL 精细定位。棉花基因组 1 cM 大概相当于 400 kb, 需要有大量的紧密连锁的标记, 以便于染色体步移。QTL 的初步定位在染色体上是一个比较宽的区间, 有必要对此进行精细定位, 尽可能地把关键区间缩小。利用一般群体进行 QTL 定位时, QTL 的可信区间通常在 10 cM 以上^[65], 很难确定检测到的一个主效 QTL 到底是一个还是包含有多个微效 QTL^[66], 因此, 还需构建特殊的实验群体来精细定位 QTL。研究 QTL 精细定位广为应用的群体是构建目标 QTL 的近等基因系 (QTL-NIL)。近等基因系的基本特征是染色体组的绝大部分区域完全相同, 只在少数几个, 甚至一个区段存在彼此差异。因此, 它能使基因组中只存在一个或几个 QTLs 分离。这样做可以消除其他背景干扰以及主效 QTL 对微效 QTL 效应的掩盖作用, 从遗传上和统计上为 QTL 定位创造条件。在某一特定的 QTL-NIL 中, 由于不存在其他 QTL 的分离, 因而目标 QTL 即可成为遗传变异的主要来源。通过构建多个在目标区域有

重叠渐渗的亚近等基因系 (subNIL), 可以通过替换作图 (substitution mapping) 进一步将 QTL 分解^[67]。该方法已成功用于从植物中克隆 QTL^[68]。

4.2 关联分析的应用

常用的 QTL 定位方法是基于双亲杂交构建的群体进行的, 因此, 仅能揭示某一性状遗传结构的一小部分, 因为只有双亲有差异的等位基因才会发生分离。为此, 要开展更为全面深入的遗传结构的研究, 需要考虑利用大量遗传变异的群体。关联分析 (association analysis), 又称关联作图 (association mapping) 或连锁不平衡作图 (linkage disequilibrium mapping, LD mapping), 提供了另一种 QTL 定位方法, 最先广泛应用于人类遗传学研究中^[69]。该方法以自然群体为对象, 以自然进化和人工进化过程中长期重组后积累的基因位点间连锁不平衡为基础, 在获得群体表型数据与基因型数据后, 采用统计方法检测遗传多态性与性状可遗传变异之间的关联^[70]。与传统的 QTL 作图相比, 关联分析具有明显的 3 个特点。(1) 省时省力。以种质资源作为研究材料, 不需要专门构建作图群体。(2) 可同时考察一个基因座的多个等位基因。关联分析可实现对其作图群体一个基因座上所有等位基因的考察, 而传统的基于双亲杂交构建群体进行的 QTL 作图, 每一基因座一般只能涉及两个等位基因^[71]。(3) 作图定位更精确。关联分析利用的是自然群体在长期进化中积累的重组信息, 具有较高的解析率, 可实现数量性状基因座的精细定位。关联分析需要覆盖棉花全基因组的大量的分子标记, 而当前棉花标记数据库 (cotton marker database, CMD)(<http://www.cottonmarker.org>) 就已搜集了大量的标记^[72], 包括 11 938 个 SSR、312 个已定位的包含 SSR 的棉花 RFLP 序列, 以及从棉花 EST 中发掘的大量 SNP, 这一数字还在不断增加。随着棉花标记资源的不断扩充, 开展关联分析逐渐成为可能。

4.3 野生棉资源的开发利用

棉属有 51 个种, 但世界各产棉国生产上种植的主要是陆地棉栽培种, 其遗传多样性经过长期的人工驯化和定向培育而越来越狭窄。然而, 陆地棉栽培种之外的其他栽培种、野生种系、野生种等远缘种属具有丰富的遗传多样性, 含有可被棉花育种应用的许多优良基因^[73-75], 因此, 可以发掘利用其优异基因, 改良栽培陆地棉品种。

然而, 由于棉属野生种与栽培种陆地棉品种间的遗传距离较远, 许多远缘杂交组合难以得到, 或

杂种难于成活形成后代,而且由于连锁累赘的存在,在引入有利性状的同时,也会同时引入野生种的不利基因。

1996年 Tanksley 和 Nelson^[76]提出的回交高世代 QTL (advanced backcross QTL, AB-QTL) 分析法,适用于从野生种导入优良基因到栽培品种,从而可以解决这一难题。在回交高世代 QTL 分析方法中, QTL 分析直到高世代,如 BC₂ 或 BC₃ 才开始,因高世代仅有少量供体亲本基因,可以更精确地衡量 QTL 效应,直到高世代再开始选择可以打破连锁累赘,减少供体亲本的不利基因出现的频率。此外,当上位性在杂种性状表现中发挥重要作用时,回交高世代的标记辅助选择会比 F₂ 有效,因为回交高世代群体的遗传背景已主要为轮回亲本基因组,有利的互作效应不易被打破^[77],而且在几乎相同的遗传背景下更容易检测到供体亲本有利的加性和显性效应基因位点。该方法可以同时发现并将有利 QTL 转移到优良栽培种,而在回交高世代构建导入系 (introgression line, IL) 则为高效利用野生种的优良基因提供了颇具前景的方法。

4.4 分子标记辅助育种的方向: 功能标记的开发和功能基因组辅助育种

近十余年来基因组研究迅速发展,尤其是以拟南芥和水稻基因组全序列测定的完成为标志,结构基因组研究已过渡到功能基因组阶段,而在这个过程中产生了大量的相关知识和相应技术。2003年 Andersen 和 Lübbersted^[78]将 DNA 标记做了进一步细分: (1) 随机 DNA 标记 (random DNA markers, RDM), 即来自基因组中随机选择的多态性位点,通常所用的 RFLP、SSR 及 AFLP 等都属于此类; (2) 目标基因标记 (gene-targeted markers, GTM), 即来自基因的多态性位点; (3) 功能标记 (functional markers, FM), 即来自引起表型变异的多态性位点。由于功能标记所在序列本身控制着目标性状,而不是紧密连锁的关系,标记和目标性状间不会发生分离,因而功能标记比 RFLP、SSR 及 AFLP 等随机标记优越。

随着功能标记概念的提出,2005年 Varshney 等^[79]又提出了基因组辅助育种 (genomics-assisted breeding) 的概念: 在育种中充分利用基因组学研究产生的知识和技术,从而加快育种过程,培育优良品种。基因组辅助育种是分子标记辅助育种发展的高级阶段: 现阶段分子标记辅助育种的主要分子标记是随机标记,而基因组辅助育种将会用更多的功

能标记; 现阶段分子标记辅助育种仅仅局限于少数基因的分子标记辅助选择,而基因组辅助育种涉及的候选基因及等位基因将大大增加。当然,基因组辅助育种的进行需满足其基本前提,包括高效的分子标记鉴定技术; 控制重要农艺性状的基因功能明确且有相应的分子标记可以利用; 育种亲本材料的重要农艺性状控制等位基因已知等。总之,随着功能标记的不断开发,功能基因组可与育种结合起来,以发现更多的育种有利等位基因,并将这些有利的等位基因聚合在一起,从而实现更高效的育种。

[参 考 文 献]

- [1] Reinisch AJ, Dong JM, Brubaker CL, et al. A detailed RFLP map of cotton, *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense*: chromosome organization and evolution in a disomic polyploid genome. *Genetics*, 1994, 138: 829-47
- [2] Rong JK, Abbey C, Bowers JE, et al. A 3347-locus genetic recombination map of sequence-tagged sites reveals types of genome organization, transmission and evolution of cotton (*Gossypium*). *Genetics*, 2004, 166: 389-417
- [3] Waghmare VN, Rong JK, Rogers CJ, et al. Genetic mapping of a cross between *Gossypium hirsutum* (cotton) and the Hawaiian endemic, *Gossypium tomentosum*. *Theor Appl Genet*, 2005, 111: 665-76
- [4] Lacape JM, Nguyen TB, Thibivilliers S, et al. A combined RFLP-SSR-AFLP map of tetraploid cotton based on a *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense* backcross population. *Genome*, 2003, 46: 612-26
- [5] Nguyen TB, Giband M, Brottier P, et al. Wide coverage of the tetraploid cotton genome using newly developed microsatellite markers. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 167-75
- [6] Lacape JM, Jacobs J, Arioli T, et al. A new interspecific, *Gossypium hirsutum* × *G. barbadense*, RIL population: towards a unified consensus linkage map of tetraploid cotton. *Theor Appl Genet*, 2009, 119: 281-92
- [7] Lin ZX, He DH, Zhang XL, et al. Linkage map construction and mapping QTL for cotton fibre quality using SRAP, SSR and RAPD. *Plant Breed*, 2005, 124: 180-7
- [8] He DH, Lin ZX, Zhang XL, et al. 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: 181-97
- [9] Yu JW, Yu SX, Lu CR, et al. High-density linkage map of cultivated allotetraploid cotton based on SSR, TRAP, SRAP and AFLP markers. *J Integr Plant Biol*, 2007, 49(5): 716-24
- [10] Han ZG, Wang CB, Song XL, et al. Characteristics, development and mapping of *Gossypium hirsutum* derived EST-SSRs in allotetraploid cotton. *Theor Appl Genet*, 2006, 112: 430-9
- [11] Guo WZ, Cai CP, Wang CB, et al. A microsatellite-based,

- generic linkage map reveals genome structure, function and evolution in *Gossypium*. *Genetics*, 2007, 176(1): 527-41
- [12] Lin ZX, Zhang YX, Zhang XL, et al. A high-density integrative linkage map for *Gossypium hirsutum*. *Euphytica*, 2009, 166: 35-45
- [13] Zhang ZS, Hu MC, 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.). *Mol Breed*, 2009, 24: 49-61
- [14] Ulloa M, Saha S, Jenkin N, et al. Chromosomal assignment of RFLP linkage groups harboring important QTL on an intraspecific cotton (*Gossypium hirsutum* L.) joinmap. *J Hered*, 2005, 96: 132-44
- [15] Qin HD, Guo WZ, Zhang YM, et al. QTL mapping of yield and fiber traits based on a four-way cross population in *Gossypium hirsutum* L. *Theor Appl Genet*, 2008, 117: 883-94
- [16] Zhang TZ, Yuan YL, Yu JZ, et al. Molecular tagging of a major QTL for fiber strength in upland cotton and its marker-assisted selection. *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 262-8
- [17] Guo WZ, Zhang TZ, Shen XL, et al. Development of SCAR marker linked to a major QTL for high fiber strength and its usage in molecular-marker assisted selection in upland cotton. *Crop Sci*, 2003, 43: 2252-6
- [18] Shen XL, Guo WZ, Zhu XF, et al. Molecular mapping of QTLs for fiber qualities in three diverse lines in upland cotton using SSR markers. *Mol Breed*, 2005, 15: 169-81
- [19] Wang BH, Guo WZ, Zhu XF, et al. QTL mapping of fiber quality in an elite hybrid derived-RIL population of upland cotton. *Euphytica*, 2006, 152: 367-78
- [20] 陈利, 张正圣, 胡美纯, 等. 陆地棉遗传图谱构建及产量和纤维品质性状QTL定位. *作物学报*, 2008, 34(7): 1199-205
- [21] Lacape JM, Nguyen TB, Courtois B, et al. QTL analysis of cotton fiber quality using multiple *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense* backcross generations. *Crop Sci*, 2005, 45: 123-40
- [22] Shen XL, Guo WZ, Lu QX, et al. Genetic mapping of quantitative trait loci for fiber quality and yield trait by RIL approach in upland cotton. *Euphytica*, 2007, 155: 371-80
- [23] Wang BH, Wu YT, Guo WZ, et al. QTL analysis and epistasis effects dissection of fiber qualities in an elite cotton hybrid grown in second-generation. *Crop Sci*, 2007, 47: 1384-92
- [24] 石玉真, 刘爱英, 李俊文, 等. 与棉花纤维强度连锁的主效QTL应用于棉花分子标记辅助育种. *分子植物育种*, 2007, 5(4): 521-7
- [25] 王娟, 郭旺珍, 张天真. 渝棉1号优质纤维QTL的标记与定位. *作物学报*, 2007, 33: 1915-21
- [26] 胡文静, 张晓阳, 张天真, 等. 陆地棉优质纤维QTL的分子标记筛选及优质来源分析. *作物学报*, 2008, 34(4): 578-86
- [27] Zhang ZS, Xiao YH, Luo M, et al. Construction of a genetic linkage map and QTL analysis of fiber-related traits in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Euphytica*, 2005, 144: 91-9
- [28] Wang C, Ulloa M, Roberts PA. Identification and mapping of microsatellite markers linked to a root-knot nematode resistance gene (*rkn1*) in Acala NemX cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Theor Appl Genet*, 2006, 112: 770-7
- [29] Wang C, Roberts PA. Development of AFLP and derived CAPS markers for root-knot nematode resistance in cotton. *Euphytica*, 2006, 152: 185-96
- [30] Ulloa M, Wang C, Roberts PA. Gene action analysis by inheritance and quantitative trait loci mapping of resistance to root-knot nematodes in cotton. *Plant Breed*, 2010, 129: 541-50
- [31] Shen XL, Becelaere GV, Kumar P, et al. QTL mapping for resistance to root-knot nematodes in the M-120 RNR upland cotton line (*Gossypium hirsutum* L.) of the Auburn 623 RNR source. *Theor Appl Genet*, 2006, 113: 1539-49
- [32] Shen XL, He YJ, Lubbers EL, et al. Fine mapping *QMi-C11* a major QTL controlling root-knot nematodes resistance in upland cotton. *Theor Appl Genet*, 2010, 121(8): 1623-31
- [33] Ynturi P, Jenkins JN, McCarty JC, et al. Association of root-knot nematode resistance genes with simple sequence repeat markers on two chromosomes in cotton. *Crop Sci*, 2006, 46: 2670-4
- [34] Gutiérrez OA, Jenkins JN, McCarty JC, et al. SSR markers closely associated with genes for resistance to root-knot nematode on chromosomes 11 and 14 of upland cotton. *Theor Appl Genet*, 2010, 121 (7): 1323-37
- [35] Wright RJ, Thaxton PM, El-Zik KM, et al. D-subgenome bias of *Xcm* resistance genes in tetraploid *Gossypium* (cotton) suggests that polyploid formation has created novel avenues for evolution. *Genetics*, 1998, 149: 1987-96
- [36] Rungis D, Llewellyn D, Dennis A ES, et al. Investigation of the chromosomal location of the bacterial blight resistance gene present in an Australian cotton (*Gossypium hirsutum* L.) cultivar. *Aust J Agric Res*, 2002, 53: 551-60
- [37] Xiao J, Fang DD, Muhammad B, et al. A SNP haplotype associated with a gene resistant to *Xanthomonas axonopodis* pv. *Malvacearum* in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Mol Breed*, 2010, 25: 593-602
- [38] Fang DD, Xiao J, Canci PC, et al. A new SNP haplotype associated with blue disease resistance gene in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Theor Appl Genet*, 2010, 120: 943-53
- [39] 陈勋基, 葛峰, 王冬梅, 等. 棉花枯萎病抗性的QTL定位. *分子植物育种*, 2008, 6(6): 1127-33
- [40] Wang PZ, Su L, Qin L, et al. Identification and molecular mapping of a *Fusarium* wilt resistant gene in upland cotton. *Theor Appl Genet*, 2009, 119(1): 93-103
- [41] 高玉千, 聂以春, 张献龙. 棉花抗黄萎病基因的QTL定位. *棉花学报*, 2003, 15(2): 73-8
- [42] 王红梅, 张献龙, 贺道华, 等. 陆地棉对黄萎病抗性的分子标记研究. *植物病理学报*, 2005, 35(4): 333-9
- [43] 甄瑞, 王省芬, 马峙英, 等. 海岛棉抗黄萎病基因SSR标记研究. *棉花学报*, 2006, 18 (5): 269-72
- [44] 王芙蓉, 刘任重, 王留明, 等. 陆地棉品种抗黄萎病性状

- 的分子标记及其辅助选择效果. 棉花学报, 2007, 19(6): 424-30
- [45] Yang C, Guo WZ, Li GY, et al. QTLs mapping for *Verticillium* wilt resistance at seedling and maturity stages in *Gossypium barbadense* L. Plant Sci, 2008, 174(3): 290-8
- [46] Wang HM, Lin ZX, ZhangXL, et al. Mapping and quantitative trait loci analysis of *Verticillium* wilt resistance genes in cotton. J Integr Plant Biol, 2008, 50(2): 174-182
- [47] 吴翠翠, 简桂良, 王安乐, 等. 棉花抗黄萎病QTL 初步定位. 分子植物育种, 2010, 8(4): 680-6
- [48] 杨昶, 郭旺, 张天真. 陆地棉抗黄萎病、纤维品质和产量等农艺性状的QTL定位. 分子植物育种, 2007, 5(6): 797-805
- [49] 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. 作物学报, 2006, 32(8): 1197-203
- [50] Wang BH, Guo WZ, Zhu XF, et al. QTL mapping of yield and yield components for elite hybrid derived-RILs in upland cotton. J Genet Genomics, 2007, 34(1): 35-45
- [51] 秦永生, 刘任重, 梅鸿猷, 等. 陆地棉产量相关性状的QTL 定位. 作物学报, 2009, 35(10): 1812-21
- [52] 李骏智, 杨泽茂, 李俊文, 等. 利用陆海杂种BC₁群体构建棉花遗传连锁图谱并初步定位产量性状相关的QTL. 中国农学通报, 2009, 25(09): 11-8
- [53] 梁燕, 贾玉娟, 李爱国, 等. 棉花BC₅F₂代换系的产量及品质相关性状表型分析及QTL定位. 分子植物育种, 2010, 8(02): 21-30
- [54] Liu RZ, Wang BH, Guo WZ, et al. QTL mapping for yield and its components using two immortalized populations of 'CRI12×J8891' in *Gossypium hirsutum* L. Mol Breed, 2011, DOI: 10.1007/s11032-011-9547-0
- [55] Lacape JM, Nguyen TB. Mapping quantitative trait loci associated with leaf and stem pubescence in cotton. J Hered, 2005, 96(4): 441-4
- [56] Wang BH, Wu YT, Huang NT, et al. QTL mapping for plant architecture traits in upland cotton using RILs and SSR markers. Acta Genet Sin, 2006, 33(2): 161-70
- [57] 刘大军, 张建, 张轲, 等. 陆地棉种子物理性状QTL定位. 作物学报, 2010, 36(1): 53-60
- [58] 张天真, 秦鸿德. 棉花叶绿素含量和光合速率的QTL 定位. 棉花学报, 2008, 20(5): 394-8
- [59] Song XL, Zhang TZ. Molecular mapping of quantitative trait loci controlling chlorophyll content at different developmental stages in tetraploid cotton. Plant Breed, 2010, 129(5): 533-54
- [60] 范术丽, 喻树迅, 宋美珍, 等. 短季棉早熟性的分子标记及QTL定位. 棉花学报, 2006, 18(3): 135-9
- [61] 李轲, 李志博, 魏亦农. 棉花早熟性状的相关性分析和QTL定位. 新疆农业科学, 2010, 47(1): 78-81
- [62] Zhang HB, Li YN, Wang BH, et al. Recent advances in cotton genomics. Int J Plant Genomics, 2008, 2008: 742304-24
- [63] Jiang CX, Wright RJ, El-zik KM, et al. Polyploid formation created unique avenues for response to selection in *Gossypium* (cotton). Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 4419-24
- [64] Ulloa M, Meredith Jr WR. Genetic linkage map and QTL analysis of agronomic and fiber quality traits in an intraspecific population. J Cotton Sci, 2000, 4: 161-70
- [65] Alpert KB, Tanksley SD. High-resolution mapping and isolation of a yeast artificial chromosome contig containing fw2.2: a major fruit weight quantitative trait locus in tomato. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93: 15503-7
- [66] Yano M, Sasaki T. Genetic and molecular dissection of quantitative traits in rice. Plant Mol Biol, 1997, 35: 145-53
- [67] Paterson AH, Deverna JW, Lanini B, et al. Fine mapping of quantitative trait loci using selected overlapping recombinant chromosomes in an interspecific cross of tomato. Genetics, 1990, 124: 735-42
- [68] Salvi S, Tuberosa R. To clone or not to clone plant QTLs: present and future challenges. Trends Plant Sci, 2005, 10: 298-304
- [69] Ruth EM. Gene mapping by linkage and association analysis. Mol Biotechnol, 1999, 3: 113-22
- [70] Mackay I, Powell W. Methods for linkage disequilibrium mapping in crops. Trends Plant Sci, 2006, 12: 57-63
- [71] Pushpendra KG, Sachin R, Pawan LK. Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: present status and future prospects. Plant Mol Biol, 2005, 57: 461-85
- [72] Blenda A, Scheffler J, Scheffler B, et al. CMD: a cotton microsatellite database resource for *Gossypium* genomics. BMC Genomics, 2006, 7: 132
- [73] 庞朝友, 杜雄明, 马峙英. 具有野生棉外源基因的陆地棉特异种质创造与利用进展. 棉花学报, 2005, 17(3): 171-7
- [74] 庞朝友, 杜雄明, 马峙英. 棉花种间杂交渐渗系创新效果评价及特异种质筛选. 科学通报, 2006, 51 (1): 55-62
- [75] 沈新莲, 朱静, 张香桂, 等. 棉属野生种克劳茨基棉 (*Gossypium klotzschianum*)基因组向陆地棉的渐渗. 棉花学报, 2008, 20(4): 256-63
- [76] Tanksley SD, Nelson JC. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. Theor Appl Genet, 1996, 92: 191-203
- [77] Allard RW. Genetic basis of the evolution of adaptedness in plants. Euphytica, 1996, 92: 1-11
- [78] Andersen JR, Lübbersted T. Functional markers in plants. Trends Plant Sci, 2003, 8(11): 554-60
- [79] Varshney RK, Graner A, Sorrells ME. Genomics-assisted breeding for crop improvement. Trends Plant Sci, 2005, 10(12): 621-30