



基于表型和 SSR 标记筛选海岛棉优异种质资源

马麒, 宁新柱, 李吉莲, 陈红, 余渝, 林海*

(新疆农垦科学院棉花研究所 / 农业农村部西北内陆区棉花生物学与遗传育种重点实验室
/ 新疆兵团棉花改良与高产栽培重点实验室, 新疆 石河子 832000)

摘要:【目的】筛选海岛棉某一性状特别突出的优异种质资源, 加快其新品种的选育进程。【方法】本研究以 178 份海岛棉核心种质资源为试验材料, 通过调查和测定铃重、单株铃数、衣分、纤维长度、纤维比强度和马克隆值 6 个性状的表型数据, 开展变异度和遗传多样性分析。每个性状表型值按 10% 最优取样策略, 初步筛选海岛棉优异种质资源; 同时利用 120 对 simple sequence repeat (SSR) 引物对 178 份海岛棉核心种质进行多态性分析, 并开展群体结构分析及基因型聚类分析, 依据聚类结果对初选海岛棉优异种质进一步筛选, 鉴定出最终的海岛棉优异种质资源。【结果】海岛棉核心种质资源中上述 6 个性状的变异度和遗传多样性较丰富。120 对 SSR 引物在 178 份海岛棉种质中共检测出 262 个等位变异位点, 平均值为 2.18; 多态信息含量 (Polymorphism information content, PIC) 为 0.067 8~0.630 0, 平均为 0.296 0, 属于中度多态。聚类分析将 178 份海岛棉核心种质划分为 2 大类群。基于表型值和 SSR 标记的聚类分析结果, 最终筛选出 23 份单一性状特别突出的海岛棉优异种质资源。【结论】基于表型和 SSR 标记能较好地分析与评价海岛棉种质资源、发掘海岛棉优异种质资源, 为海岛棉遗传育种提供材料基础, 同时也为作物优异种质资源的筛选与鉴定提供重要参考和依据。

关键词: 海岛棉; 表型; SSR 标记; 优异种质

Mining Elite Sea-Island Cotton Germplasm Based on Phenotyping and SSR Markers

Ma Qi, Ning Xinzhu, Li Jilian, Chen Hong, Yu Yu, Lin Hai*

(Cotton Research Institute, Xinjiang Academy of Agricultural and Reclamation Science/Northwest Inland Region Key Laboratory of Cotton Biology and Genetic Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/ Key Laboratory of Cotton Genetic Improvement and High Yield Cultivation in Xinjiang Production and Construction Corps, Shihezi, Xinjiang 832000, China)

Abstract: [Objective] An elite germplasm resource of sea-island cotton with outstanding traits was mined in order to accelerate the breeding process of new varieties. [Method] The core collections of sea-island cotton germplasm consisted of 178 accessions were used as experimental materials in this study. Analyses of variability and diversity were performed through detecting phenotypic data of six main breeding-targeted traits, including boll weight, boll number per plant, lint percentage, fiber length, fiber strength, and micronaire. The elite germplasm of sea-island cotton was selected according to 10% optimal sampling strategy based on the phenotypic value of each trait. The 120 pairs of polymorphic simple sequence repeat (SSR) primers were used to analyze the polymorphism of 178 accessions of the core collections. Then, we conducted the population structure and clustering analysis based on the genotyping results. According to the results of cluster analysis, the primary elite germplasm was further selected, and the final elite germplasm of sea-island cotton was identified. [Result] The results showed that there was a high variability and abundant genetic diversity in the 6 studied traits. In 178 accessions of sea-island cotton, 262 alleles were detected by 120 pairs of SSR primers, with an average of 2.18 loci. The average polymorphism information content (PIC) was 0.067 8-0.630 0, with an average of 0.296 0, showing moderate polymorphism. The cluster analysis showed that the core collection of sea-island cotton was divided into six groups. twenty-three elite germplasm resources of sea-island cotton were identified based on phenotypic value and cluster analysis of SSR markers. [Conclusion] The germplasm of sea-island cotton can

收稿日期: 2019-09-09 第一作者简介: 马麒 (1990—), 男, xjnkymaqi1123@163.com。* 通信作者: xjlinh@126.com

基金项目: 国家重点研发计划——西北内陆优质棉采棉新品种培育 (2017YFD0101601; 2017YFD0101603); 新疆生产建设兵团育种专项——新品种选育与种质资源创新 (2016AC027)

be analyzed and evaluated based on the phenotyping and SSR markers, and then the elite germplasm of sea-island cotton can be identified. These results provided the material basis for the genetic breeding of sea-island cotton, as well as the important reference and basis for the mining and identification of crop elite germplasm.

Keywords: sea-island cotton; phenotype; SSR markers; elite germplasm

海岛棉 (*Gossypium barbadense* L.) 纤维具有长、强、细等特点,是高档和特种棉纺织品的重要原料,因其优异的纤维品质和黄萎病抗性,目前已成为最具利用价值的棉花栽培种之一^[1-2]。近年来,我国在海岛棉种质资源创新和新品种选育方面取得重要成果^[3-6],其产量得到较大幅度提高,纤维品质也得到明显的改善。但我国海岛棉产量及纤维品质育种水平仍没有明显突破,其中优异种质资源的匮乏是主要原因之一。因此筛选和挖掘海岛棉优异种质资源对于海岛棉新品种选育及资源创新具有重要意义。

种质资源是作物遗传育种工作的基础,植物新品种选育及生产的发展,很大程度上取决于掌握优异种质资源的数量和研究深度。育种实践证明,一些具有关键性状的优异种质往往对育种成效起决定性作用^[7]。因此急需发掘符合育种目标和研究需要的优异种质,以满足当前和今后科研及生产发展的要求。目前,已开展了包括大豆^[8]、玉米^[9]、小麦^[10]等多种作物优异种质资源的分析与研究。海岛棉是棉花常见的四倍体栽培种之一,约占我国植棉总面积的 5%。近年来,海岛棉种质资源数量较多、类型也较丰富,但海岛棉骨干亲本的广泛使用及定向育种策略,导致其遗传基础狭窄、遗传背景单一,海岛棉品种遗传多样性呈现明显的下降趋势^[11-14]。此外,部分具有重大科研价值的优异种质正在流失却未引起重视,而单一性状特别突出的优异海岛棉种质资源更是极其匮乏。海岛棉优异种质的筛选不仅可为棉花科研和育种提供独特、优异、丰富的基础材料,而且在一定程度上可加速一些优异性状相关 Quantitative trait locus (QTL) 定位,为实现分子标记辅助育种、利用海岛棉进行陆地棉改良育种提供重要参考和依据。

随着分子生物学技术的快速发展,分子标记已广泛应用于作物优异种质资源的筛选与发掘。简单重复序列 (Simple sequence repeat, SSR) 也叫微卫星,广泛分布于真核生物基因组的编码区和非编码区。SSR 标记具有多态信息含量高、共显

性遗传、重复性好、特异性强、技术简单、成本低等特点,已成为从基因型方面评价种质资源的重要工具^[15]。一般来说,表型是生物遗传物质在环境作用下的外在表现形式,主要包括肉眼可见的外部特性,也包含色素、生理、品质等需要借助测试才可识别的特性^[16];基因型是生物个体全部基因组的总和,是性状表现的内在因素。基于表型和 SSR 分子标记技术来研究现有海岛棉核心种质资源的遗传变异情况,可深入了解其遗传背景信息,充分挖掘关键性状表现突出的优异种质。

本研究以前期构建的 178 份海岛棉核心种质为试验材料,利用 SSR 标记技术阐明海岛棉种质资源的基因型变异及亲缘关系;同时结合性状表型值,开展基于表型和基因型的海岛棉种质资源评价与筛选,挖掘海岛棉核心种质的产量、品质构成性状中单一性状表现突出的优异种质,以期海岛棉遗传育种及理论研究提供重要基础,同时也为其它作物优异种质资源的筛选与鉴定提供参考和依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究以前期构建的 178 份海岛棉核心种质为试验材料。178 份材料中包含新疆本地选育品种 / 系 130 份 (前期已发表^[9]), 国外引进材料 26 份, 内地引进材料 22 份 (附表 1, 见本刊网站)。

1.2 田间试验设计与表型性状调查

1.2.1 田间试验设计。田间试验于 2015—2016 年在新疆生产建设兵团农二师 29 团新疆农垦科学院棉花研究所试验站开展,种植模式是 (66+10)cm 株行距配置,一膜四行,每个材料种植 2 行,行长 4 m,株距为 9.5 cm。田间采用随机区组设计,重复 3 次,小区管理与当地大田相同。

1.2.2 表型性状调查。本研究中调查和测定的表型性状主要是铃重、单株铃数、衣分、纤维长度、纤维强度和马克隆值 6 个性状。田间调查时,每个小区随机选取连续相邻的 10 株作为调查对象,调查总铃数,并计算单株铃数;收获期每个小

区随机收取棉株中部 50 个考种铃,称取籽棉总重量,并计算铃重;轧花后,称取 50 铃的皮棉总重量,并计算衣分;取 10 g 皮棉送原农业部棉花品质监督检验测试中心(HVICC 校准),测定纤维上半部平均长度、断裂比强度、马克隆值等品质指标。

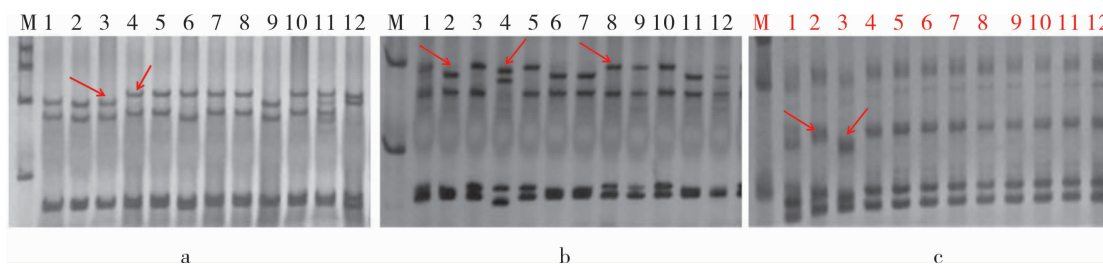
1.3 棉花基因组 DNA 提取及 SSR 引物合成

苗期选取各个材料植株幼嫩叶片,按 Pater-son 等^[17]的方法提取基因组总 DNA。SSR 引物的选择参考了 Guo 等^[18]、Lin 等^[19]构建的棉花 SSR 分子标记遗传图谱,引物序列信息参考棉花微卫

星标记数据库(<https://www.cottongen.org/data/markers>),引物的合成由北京康为世纪生物科技有限公司完成。

1.4 多态性 SSR 引物的筛选及 PCR 反应

选取覆盖棉花 26 对染色体的 1 000 对 SSR 引物,在 12 份海岛棉种质间进行引物多态性筛选,得到 156 对多态性引物。选取其中条带差异明显、背景清晰、信号较强、扩增效果较好、都覆盖所有染色体的 120 对多态性 SSR 引物(图 1),对 178 份海岛棉核心种质进行 Polymerase chain re-action(PCR)扩增反应。PCR 的扩增、电泳及染色



a、b 和 c 分别表示引物 NAU5120、NAU2820 和 NAU3310 在 12 份海岛棉材料中的扩增情况。M: 分子量标记;1~12: 随机抽取的 12 份海岛棉材料;红色箭头表示多态性条带。

a, b, and c indicated the amplification of NAU5120, NAU2820 and NAU3310, respectively, in 12 accessions of sea-island cotton. M: DNA marker; 1-12: Randomly selected 12 accessions of sea-island cotton. The amplified polymorphic bands are indicated by the red arrows.

图 1 代表性多态性引物在 12 份海岛棉材料中的扩增情况

Fig. 1 Amplification of the representative polymorphic primers in 12 accessions of sea-island cotton

参考 Zhang 等^[20-21]的方法。

1.5 SSR 分子标记的多态性、群体结构及聚类分析

对于 SSR 标记数据,根据 PCR 扩增产物的电泳结果采用 0、1 系统记录谱带位置,观察某一扩增条带的有无,有带记为 1,无带记为 0,构建 0、1 矩阵。利用 POPGENE 3.2 软件计算等位基因变异数和多态性信息量 (Polymorphism information content, PIC)。利用 Structure 2.3.4 软件^[22]估计该自然群体的遗传结构,计算每个材料对应的 Q 值(即每个材料归属于某个亚群的概率),假定位点是独立的,设定群体数目 K 为 1~10, MCMC 开始时的不作数迭代 (Length of burn-in period)为 10 000,然后根据最大似然值原则选取合适的 K 值。初选海岛棉优异种质的基因型聚类分析采用 NTSYS-pc 2.10 软件,根据 SimQual 程序求 Jaccard 相似系数,采用类平均法(Unweight-

ed pair group method arithmetic averages, UPGMA),对遗传相似系数矩阵进行聚类并绘制树状聚类图。

2 结果与分析

2.1 海岛棉核心种质表型性状的遗传多样性分析

从表 1 可知,178 份海岛棉核心种质的平均铃重(3.04 ± 0.23) g、衣分(31.42 ± 2.25)%、单株结铃数 10.53 ± 2.10 、纤维上半部平均长度(35.99 ± 1.88) mm、断裂比强度(42.14 ± 4.18) cN·tex⁻¹、马克隆值 3.80 ± 0.32 。铃重变幅为 2.29~3.58 g、衣分 22.17%~36.82%、单株结铃数 5.4~17.4、纤维上半部平均长度 26.78~38.62 mm、断裂比强度 31.95~53.50 cN·tex⁻¹、马克隆值 2.67~4.51。变异度分析发现,海岛棉核心种质表型性状具有较广泛的变异范围,6 个性状

表 1 海岛棉表型性状的变化及分布特征

Table1 The variation and distribution of phenotypic traits of sea-island cotton germplasm

表型性状 Phenotypic traits	均值±标准差 Mean±SD	变幅 Range	变异系数 Coefficient of variation/ %	多样性 指数 <i>H'</i>
铃重 Boll weight /g	3.04±0.23	2.29~3.58	7.57	0.934 0
衣分 Lint percentage /%	31.42±2.25	22.17~36.82	7.16	0.701 2
单株铃数 Bolls per plant	10.53±2.10	5.4~17.4	19.94	1.215 4
纤维上半部平均长度 Upper half mean length /mm	35.99±1.88	26.78~38.62	5.22	1.052 3
断裂比强度 Fiber strength /(cN·tex ⁻¹)	42.14±4.18	31.95~53.50	9.92	1.412 0
马克隆值 Micronaire	3.80±0.32	2.67~4.51	8.42	1.203 8

注:SD,标准差。Note:SD, standard deviation.

的变异系数为 5.22%~19.94%,其中单株结铃数的变异系数最大,为 19.94%,这说明单株结铃数性状的变异度最丰富,有利于筛选强结铃性的海岛棉优异种质。多样性分析发现,单株铃数、纤维上半部平均长度、断裂比强度和马克隆值的遗传多样性指数较高,均大于 1.000 0,且断裂比强度的多样性指数达到 1.412 0,说明这些核心种质中断裂比强度的遗传多样性最丰富的。

2.2 基于 SSR 标记的遗传多样性分析

2.2.1 多态性 SSR 引物的筛选。利用 1 000 对 SSR 引物在 12 份海岛棉材料间进行多态性引物的初选,得到 156 对差异性引物,剔除扩增条带模糊、离散度低的引物,选取其中扩增效果较好

的 120 对多态性明显的 SSR 引物(图 1),用于海岛棉核心种质的基因型分析。

2.2.2 海岛棉核心种质全基因组 SSR 扩增结果分析。选取 120 对多态性明显的 SSR 引物,对 178 份海岛棉核心种质进行 SSR 标记的扩增分析(图 2)。结果发现,120 对 SSR 引物共检测到 262 个位点,每对引物检测到等位变异的数目为 1~6、平均为 2.18;多态性信息含量在 0.067 8~0.630 0,平均为 0.296 0,位于 0.25~0.50 之间,说明 178 份海岛棉的不同位点多态性属中度多态(表 2)。

2.2.3 群体结构及聚类分析。由 Structure 2.3.4 软件分析显示,似然值 ln(P(D))随 K 值的增加

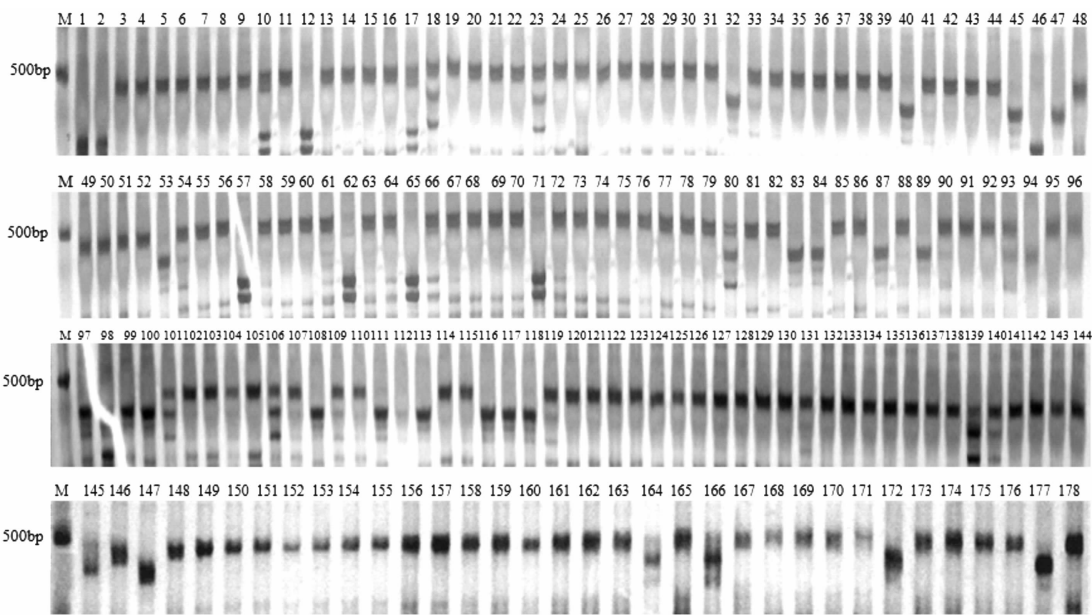


图 2 引物 NAU3310 在海岛棉核心种质的扩增电泳图

Fig. 2 The amplified electropherogram of primers NAU3310 in core collection of sea-island cotton



表 2 120 对 SSR 引物的多态性分析
Table 2 The polymorphism analysis of 120 pairs of SSR primers

编号 Code	标记名称 Marker name	染色体位 置 Map location	等位变异 数 Allele number	多态信息 含量 PIC	编号 Code	标记名称 Marker name	染色体位 置 Map location	等位变异 数 Allele number	多态信息 含量 PIC
1	NAU3110	chr.19	4	0.199 8	34	NAU3481	chr.21	1	0.261 3
2	NAU2820	chr.16	3	0.302 5	35	JESPR232	chr.08	2	0.235 6
3	NAU3324	chr.24	1	0.373 0	36	NAU2503	chr.06	2	0.067 8
4	NAU5120	chr.16	3	0.355 5	37	NAU2200	chr.23	2	0.340 8
5	NAU3341	chr.11	1	0.374 5	38	BNL2449	chr.13	6	0.372 0
6	NAU797	chr.19	2	0.209 0	39	BNL3823	chr.23	4	0.373 4
7	NAU1028	chr.17	1	0.338 3	40	NAU1362	chr.07	5	0.373 1
8	NAU1093	chr.06	2	0.356 1	41	NAU2679	chr.06	2	0.085 2
9	NAU1102	chr.19	3	0.238 1	42	NAU905	chr.15	2	0.082 2
10	HAU2146	chr.09	2	0.313 1	43	NAU3384	chr.01	1	0.177 3
11	NAU2908	chr.17	2	0.327 7	44	NAU5107	chr.15	1	0.280 5
12	NAU5465	chr.14	3	0.155 1	45	BNL3580	chr.01	3	0.351 0
13	BNL226	chr.03	2	0.165 3	46	BNL3888	chr.01	3	0.333 5
14	BNL1495	chr.13	1	0.373 9	47	BNL3590	chr.02	2	0.352 5
15	CGR5202	chr.24	1	0.371 8	48	NAU5233	chr.03	3	0.187 0
16	NAU803	chr.14	1	0.150 2	49	NAU5444	chr.03	1	0.316 3
17	BNL1604	chr.16	3	0.314 8	50	BNL3259	chr.03	2	0.334 1
18	NAU2083	chr.01	2	0.270 6	51	NAU3405	chr.19	3	0.216 1
19	NAU3791	chr.04	2	0.369 6	52	NAU2562	chr.05	4	0.291 1
20	NAU2991	chr.20	1	0.224 2	53	NAU5088	chr.05	2	0.305 7
21	NAU1322	chr.24	2	0.439 9	54	NAU5400	chr.05	3	0.133 1
22	NAU2687	chr.25	2	0.231 4	55	BNL3995	chr.05	2	0.143 3
23	NAU3424	chr.24	2	0.333 5	56	NAU3243	chr.06	2	0.351 9
24	NAU1605	chr.05	1	1.333 5	57	NAU2156	chr.06	2	0.349 8
25	HAU2768	chr.06	1	2.333 5	58	BNL1064	chr.06	3	0.128 2
26	NAU5163	chr.01	1	0.375 0	59	NAU1048	chr.07	1	0.292 8
27	BNL3034	chr.14	2	0.373 9	60	NAU3101	chr.09	1	0.248 6
28	NAU3189	chr.26	1	0.288 6	61	BNL3626	chr.09	1	0.301 0
29	BNL169	chr.20	1	0.266 0	62	NAU2166	chr.10	1	0.310 1
30	NAU3013	chr.10	1	0.359 3	63	NAU3284	chr.21	1	0.102 0
31	NAU3346	chr.15	2	0.117 8	64	NAU3117	chr.11	2	0.429 5
32	BNL252	chr.24	2	0.349 0	65	NAU3377	chr.11	1	0.354 4
33	NAU5465	chr.14	2	0.256 4	66	BNL3592	chr.11	2	0.257 7

表 2 (续)
Table 2 (Continuation)

编号 Code	标记名称 Marker name	染色体位 置 Map location	等位变异 数 Allele number	多态信息 含量 PIC	编号 Code	标记名称 Marker name	染色体位 置 Map location	等位变异 数 Allele number	多态信息 含量 PIC
67	NAU3519	chr.12	4	0.502 7	94	BNL3646	chr.20	2	0.311 0
68	NAU3398	chr.18	2	0.607 0	95	NAU4865	chr.21	3	0.404 3
69	NAU5345	chr.13	2	0.374 0	96	NAU3240	chr.21	3	0.162 8
70	NAU3540	chr.13	2	0.165 3	97	BNL3649	chr.21	4	0.394 0
71	NAU3989	chr.13	1	0.268 5	98	NAU3293	chr.26	3	0.301 4
72	NAU3576	chr.15	3	0.339 0	99	BNL1079	chr.18	1	0.306 3
73	BNL3145	chr.14	3	0.321 5	100	BNL1705	chr.21	1	0.280 6
74	NAU3449	chr.17	4	0.340 5	101	BNL193	chr.18	4	0.112 8
75	NAU2955	chr.22	4	0.175 0	102	BNL2646	chr.15	3	0.385 8
76	BNL1047	chr.25	2	0.304 3	103	NAU3995	chr.03	1	0.417 0
77	NAU2932	chr.05	4	0.322 1	104	NAU4042	chr.19	2	0.418 4
78	NAU3095	chr.19	3	0.204 1	105	NAU3588	chr.25	2	0.418 1
79	NAU2942	chr.19	2	0.279 1	106	NAU5433	chr.06	2	0.130 2
80	NAU2801	chr.19	2	0.293 7	107	HAU0878	chr.05	1	0.127 2
81	NAU5121	chr.19	2	0.121 1	108	HAU0883	chr.14	2	0.324 0
82	NAU5255	chr.05	1	0.131 3	109	HAU0975	chr.06	1	0.333 1
83	NAU4884	chr.19	1	0.339 9	110	HAU1058	chr.15	2	0.125 0
84	NAU5447	chr.19	1	0.337 8	111	HAU1185	chr.19	2	0.452 5
85	NAU3306	chr.25	1	0.116 2	112	HAU1195	chr.16	3	0.377 4
86	JESPR224	chr.25	2	0.280 8	113	HAU2873	chr.10	3	0.280 7
87	NAU2974	chr.16	2	0.236 6	114	NAU3665	chr.10	2	0.525 7
88	NAU2626	chr.16	3	0.335 6	115	HAU1809	chr.11	4	0.630 0
89	NAU2627	chr.16	3	0.190 2	116	HAU1951	chr.14	2	0.397 0
90	BNL1395	chr.07	4	2.378 5	117	HAU2119	chr.06	2	0.188 3
91	BNL3084	chr.24	2	0.420 0	118	HAU2367	chr.25	2	0.291 5
92	BNL3860	chr.24	3	0.418 9	119	HAU2414	chr.13	3	0.362 0
93	NAU3137	chr.20	2	0.333 6	120	NAU3096	chr.19	2	0.344 5

注：PIC：多态信息含量，用来度量某个标记在群体中多态性可提供的信息量。

Note: PIC: Polymorphism information content, was used to measure the amount of information provided by a marker's polymorphism in the population.

而增加(图 3a)。根据 Evanno 等^[23]的方法,由 ΔK 来确定 K 值。由图 3b 可知,K=2 时, ΔK 最大并且出现显著的峰值,即该自然群体可划分为 2 个

亚群(图 3c),亚群 1 和 2 分别包含 95 份和 83 份材料,且 2 个亚群的材料均来自不同的地区和单位,说明各育种单位之间的种质资源发生了较为

广泛的交换与融合。

2.3 海岛棉优异种质资源的筛选与鉴定

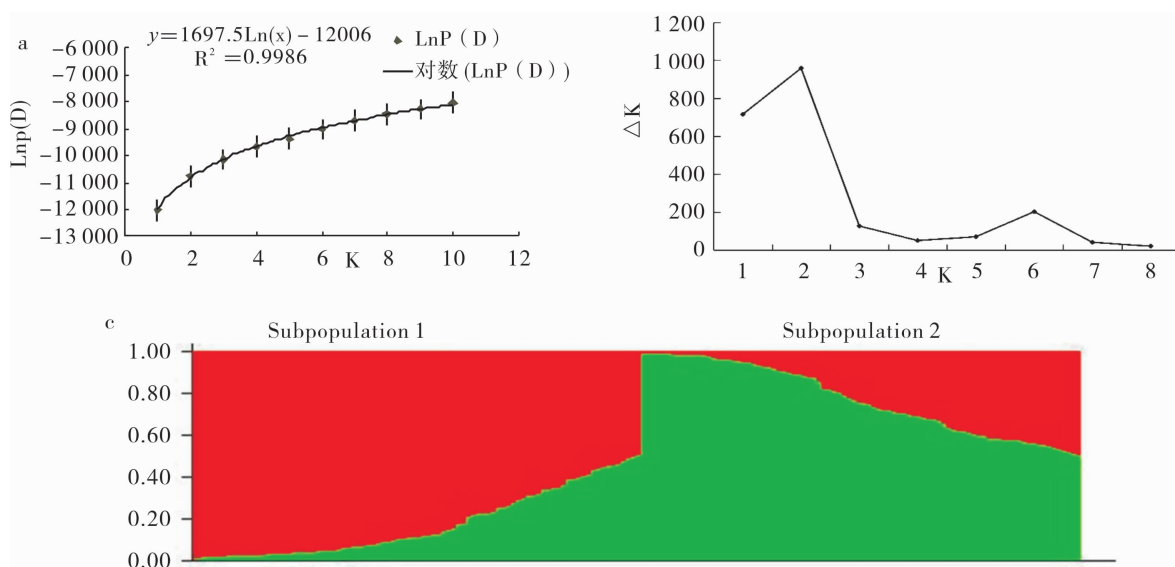
对 178 份海岛棉种质资源进行 2 年 1 点的大田种植鉴定,剔除田间表现较差(早衰、抗病性差、产量低)的种质 55 份,以 123 份海岛棉种质作为优异种质的筛选对象。铃重、衣分、单株铃数和纤维上半部平均长度、断裂比强度、马克隆值的表型值按照 10%最优取样策略,在 123 份海岛棉种质资源中筛选出铃重、衣分、结铃性、纤维长度、纤维强度最优种质和马克隆值最低的种质各 12 份,作为初选海岛棉优异种质(表 3)。同时参考群体结构分析(图 3)及初选海岛棉优异种质资源的基因型聚类分析(附图 1,见刊网站),依据“同一聚类群择优选取”原则,在取样措施上分层取样、综合考虑,对海岛棉种质资源进行了合理客观的评价与筛选,最终筛选每个单一性状特别突出的优异种质资源各 5 份(表 4)。

由表 4 可知,共筛选出具有不同突出性状的海岛棉优异种质资源共 23 份,其中新海 28 号具有铃重高、结铃性强和纤维强度高优点;G-92、新海 21 号、垦绿 04-20-2、Pima 3-79、新海 47 号同时具有 2 个突出性状。这 23 份海岛棉优异种质资源不仅可用作海岛棉常规遗传育种的亲本选择,而且可用于相关 QTL 定位。

3 讨论

种质资源的遗传多样性及亲缘关系信息是育种工作的基础,对我国海岛棉品种的遗传多样性准确的评价可以为亲本的选配、后代遗传变异程度及杂种优势水平的预测提供预见性,这是育种目标能否成功实现的关键^[2]。本研究对已构建的 178 份海岛棉核心种质资源的纤维产量及品质构成性状进行准确鉴定并开展遗传多样性分析。研究发现 6 个性状的变异度和遗传多样性较丰富,研究结果与王莉萍^[24]、谢元元^[25]的研究结论基本相似。说明本研究中海岛棉核心种质资源较高的变异度高和丰富的遗传多样性,可以为海岛棉优异种质的发掘提供良好的基础。

表型性状有时并不能真实地反映种质间的内在差异性,需结合基因型的遗传变异来揭示种质间的遗传差异性。分子标记可以为海岛棉种质的基因型分析提供重要工具,前人已利用不同分子标记对海岛棉的遗传多样性进行研究。吴大鹏等^[14]认为我国海岛棉品种遗传多样性适中;陈光等^[12]、李武等^[2]和米日古丽·马木提等^[26]利用分子标记进行了新疆海岛棉遗传多样性分析,通过研究认为我国新疆海岛棉育成品种遗传背景相对



a: K 值与 $\ln P(D)$ 值的折线图; b: K 值与 ΔK 的折线图; c: 群体结构图。

a: Lines chart of with $\ln P(D)$; b: Lines chart of K with ΔK ; c: Population structure.

图 3 187 份海岛棉种质资源的群体结构分析

Fig. 3 Population structure analysis of 178 accessions of sea-island cotton germplasm

表 3 海岛棉优异种质的表型筛选结果

Table 3 The elite Sea-island cotton germplasm identified via phenotyping

类型 Type	品种 Variety	均值±标准差 Mean±SD	排名 Ranking	类型 Type	品种 Variety	均值±标准差 Mean±SD	排名 Ranking
大铃种质 Big boll germplasm	G-92	3.53±0.33	1	高纤维强度种 质	新海 28 号	53.50±1.98	1
	167	3.51±0.11	2		Xinhai 28		
	金垦 02-10-1	3.48±0.11	3	High fiber strength germplasm	金垦 08-3	52.50±1.39	2
	Jinken 02-10-1				Jinken 08-3		
	新海 21 号	3.44±0.21	4		DJ08-378	51.45±0.49	3
	Xinhai 21				G-92	51.25±2.33	4
	金垦 07-20-1	3.38±0.32	5		新海 42 号	50.45±1.48	5
	Jinken 07-20-1				Xinhai 42		
	金垦 07-17-1	3.37±0.12	6		新海 47 号	50.40±1.13	6
	Jinken 07-17-1				Xinhai 47		
	新海 28 号	3.36±0.27	7		7-4H	50.00±1.56	7
	Xinhai 28				Ta08-362	49.40±0.57	8
	03H-1	3.36±0.80	8		HS12-5	49.35±1.63	9
	uoc620	3.35±0.00	9		TH-314	48.95±0.76	10
	Pima 5	3.34±0.29	10		长丰 1 号	48.85±0.78	11
	新海 48 号	3.32±0.01	11		Changfeng 1		
	Xinhai 48				新海 26 号	48.60±2.12	12
	8-11H	3.32±0.55	12		Xinhai 26		
强结铃种质 Strong boll-bearing germplasm	垦绿 04-20-2	17.40±1.17	1	高衣分种质 High lint percentage germplasm	Luoxiya 1	36.82±0.06	1
	Kenlv 04-20-2				TH-314	35.33±1.31	2
	新海 28 号	17.20±1.34	2		长绒 4 号	34.56±1.41	3
	Xinhai 28				Changrong 4		
	Yuanmou 1	16.60±2.06	3		长绒 5 号	34.51±0.87	4
	新海 44 号	16.00±1.75	4		Changrong 5		
	Xinhai 44				Pima 5	34.33±1.48	5
	Pima 3-79	15.80±2.09	5		新海 3 号	34.17±1.82	6
	Luoxiya 1	15.60±1.81	6		Xinhai 3		
	新海 21 号	15.40±1.10	7		Pima 3-79	34.07±1.04	7
	Xinhai 21				k399	34.06±0.13	8
	垦棕 08-25-3	15.00±1.90	8		前进 616-3-2	33.89±1.58	9
	Kenzong 08-25-3				Qianjin 616-3-2		
	垦棕 07-89	14.20±1.41	9		长绒 3 号	33.67±1.54	10
	Kenzong 07-89				Changrong 3		
	k399	13.40±1.77	10		金垦 02-10-1	33.61±0.99	11
	垦棕 06-28	13.20±0.08	11		Jinken 02-10-1		
	Kenzong 06-28				新海 7 号	33.55±0.64	12
	新海 15 号	13.00±1.41	12		Xinhai 7		
	Xinhai 15						

表 3 (续)
Table 3 (Continuation)

类型 Type	品种 Variety	均值±标准差 Mean±SD	排名 Ranking	类型 Type	品种 Variety	均值±标准差 Mean±SD	排名 Ranking
长纤维种质 Long fiber germplasm	新海 47 号 Xinhai 47	38.62±0.05	1	低马克隆值 种质 Low micronaire germplasm	金垦 05-7 Jinken 05-7	2.88±0.64	1
	长丰 1 号 Changfeng 1	38.54±1.00	2		金垦 02-20 Jinken 02-20	2.94±0.19	2
	HS12-5	38.37±0.32	3		金垦 06-16 Jinken 06-16	3.02±0.05	3
	新海 28 号 Xinhai 28	38.33±0.13	4		新海 22 号 Xinhai 22	3.16±0.14	4
	Pima 90	38.33±1.63	5		垦绿 04-20-3 Kenlv 04-20-3	3.19±0.07	5
	新海 45 号 Xinhai 45	38.30±0.28	6		垦棕 05-13 Kenzong 05-13	3.21±0.54	6
	新海 48 号 Xinhai 48	38.22±0.41	7		金垦 06-12 Jinken 06-12	3.23±0.01	7
	金垦 07-15-3 Jinken 07-15-3	38.19±1.65	8		金垦 06-2-1 Jinken 06-2-1	3.26±0.33	8
	跃进 2 号 Yuejin 2	38.19±1.46	9		华东海岛棉 Huadonghaidaomian	3.26±0.01	9
	Pima φ	38.13±1.27	10		金垦 07-68-1 Jinken 07-68-1	3.29±0.08	10
	金垦 07-68-2 Jinken 07-68-2	38.13±0.28	11		新海 44 号 Xinhai 44	3.32±0.25	11
	08H-6	38.13±2.28	12		Pima 5	3.32±0.20	12

较为狭窄。本研究利用 SSR 分子标记对海岛棉核心种质资源进行了遗传多样性分析,研究发现其遗传基础同样比较狭窄。

目前,海岛棉骨干亲本的广泛使用及定向育种策略是造成其遗传基础狭窄、遗传背景单一的最主要的原因之一。长期的人工定向选择育种,虽然使一些综合性状比较优良的材料积累下来,但同时多数单一性状突出的育种材料正逐渐遭到淘汰和流失。因此,在表型鉴定基础上,急需通过现代生物技术手段筛选和发掘单一性状突出的优异种质资源。育种实践也证明,育种上的突破性成就多源于对某一关键性状特别突出的优异种质资源的发现和利用^[7]。本研究采用表型鉴定与基因型鉴定相结合的方法,筛选与发掘海岛棉优异种质资源,即先通过表型鉴定结果初选海岛棉优异种质;然后基于 SSR

分子标记进行基因型分析和亲缘关系聚类分析,综合表型变异和基因型变异情况,在取样策略上偏重评价、参考变异,在取样措施上分层取样、综合考虑,最终对海岛棉种质资源进行了合理客观的评价,并最终筛选到海岛棉优异种质资源。研究过程中既考虑了表型的变异度,同时也参考了基因型变异的结果,在优异种质资源的筛选与鉴定的过程中实现了性状分析和鉴定的准确性和可靠性。

4 结论

本研究通过对 178 份海岛棉核心种质资源进行表型和分子标记基因型的分析和评价,最终筛到单一性状突出的海岛棉优异种质资源共 23 份,其中新海 28 号、G-92、新海 21 号、垦绿 04-20-2、Pima 3-79 和新海 47 号同时具有 2 个或

表 4 海岛棉优异种质资源的筛选结果
Table 4 Screening results of elite sea-island germplasm

名称 Name	大铃种质 Big boll germpl	高衣分种质 High lint percentage germplasm	强结铃种质 Strong boll-bearing germplasm	长纤维种质 Long fiber germplasm	高纤维强度种质 High fiber strength germplasm	低马克隆值种质 Low micronaire germplasm
167	√					
G-92	√				√	
新海 28 号 Xinhai 28	√		√		√	
新海 21 号 Xinhai 21	√		√			
03H-1	√					
洛西雅 1 号 Luoxiya 1		√				
TH-314		√				
新海 3 号 Xinhai 3		√				
新海 7 号 Xinhai 7		√				
垦绿 04-20-2 Kenlv 04-20-2			√			√
Pima 3-79		√	√			
元谋 1 号 Yuanmou 1			√			
新海 47 号 Xinhai 47				√	√	
长丰 1 号 Changfeng 1					√	
跃进 2 号 Yuejin 2				√		
HS12-5				√		
新海 45 号 Xinhai 45				√		
Pima 90				√		
新海 46 号 Xinhai 46					√	
Pima 5						√
金垦 07-68-1 Jinken 07-68-1						√
金垦 05-7 Jinken 05-7						√
垦棕 05-13 Kenzong 05-13						√

者 2 个以上突出性状。该 23 份海岛棉优异种质资源不仅可以在海岛棉常规遗传育种中亲本选择时优先考虑, 而且可作为表型性状 QTL 定位的关键材料利用。本研究成果可以为海岛棉遗传育种及理论研究提供重要基础, 同时也为其它作物优异种质资源的筛选与鉴定提供参考和依据。

参考文献:

[1] Tu L L, Zhang X L, Liang S G, et al. Genes expression analysis of sea-island cotton (*Gossypium barbadense* L.) during fiber development[J]. Plant Cell Report, 2007, 26(8): 1309-1320.
[2] 李武, 倪薇, 林忠旭, 等. 海岛棉遗传多样性的 SRAP 标记分析[J]. 作物学报, 2008, 34(5): 893-898.
Li Wu, Ni Wei, Lin Zhongxu, et al. Genetic diversity analysis of

sea-island cotton cultivars using SRAP markers[J]. Acta Agonomica Sinica, 2008, 34(5): 893-898.
[3] 杜雄明, 刘方, 王坤波, 等. 棉花种质资源收集鉴定与创新利用[J]. 棉花学报, 2017, 29(S1): 51-61.
Du Xiongming, Liu Fang, Wang Kunbo, et al. Collection, evaluation and utilization of cotton germplasm[J]. Cotton Science, 2017, 29(S1): 51-61.
[4] 杜丽丽, 吴鹏昊, 曲延英, 等. 海岛棉不同群体枯萎病抗性分析及评价[J]. 分子植物育种, 2015, 13(7): 1517-1525.
Du Lili, Wu Penghao, Qu Yanying, et al. Analysis and evaluation of Fusarium Wilt resistance in different populations of sea-island cotton[J]. Molecular Breeding, 2015, 13(7): 1517-1525.
[5] 马麒, 宿俊吉, 宁新柱, 等. 新疆海岛棉育种目标性状多元分析与种质资源评价[J]. 西南农业学报, 2016, 29(7): 1530-1539.
Ma Qi, Su Junji, Ning Xinzhu, et al. Multivariate analysis on breeding targeted-traits of sea-island cotton (*G. barbadense*) bred

- in Xinjiang and evaluation of germplasm resources[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2016, 29(7): 1530-1539.
- [6] 练文明, 邵红忠, 卢金宝, 等. 海岛棉品种新海 54 号的选育与栽培技术[J]. 中国棉花, 2017, 44(6): 35-36.
- Lian Wenming, Tai Hongzhong, Lu Jinbao, et al. Breeding and key points of cultivation technique for a sea-island cotton variety, Xinhai 54[J]. China Cotton, 2017, 44(6): 35-36.
- [7] 张天真. 作物育种学总论[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- Zhang Tianzhen. Crop Breeding[M]. Beijing: China Agricultural Publishers, 2003.
- [8] 林红, 姚振纯, 齐宁, 等. 大豆优异种质资源的利用与创新[J]. 植物遗传资源学报, 2001, 2(3): 32-35.
- Lin Hong, Yao Zhenchun, Qi Ning, et al. Enhancement and utilization of elite germplasm of soybean[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2001, 2(3): 32-35.
- [9] 蒋华仁, 戴大庆, 孙发东. 小麦优异种质资源的创新研究[J]. 四川农业大学学报, 1992, 10(2): 255-259.
- Jiang Huaren, Dai Daqing, Sun Fadong. Innovative research on special wheat germplasm resources[J]. Journal of Sichuan Agricultural University, 1992, 10(2): 255-259.
- [10] 彭忠华. 喀斯特高海拔山区玉米优异种质的形态、生理及多样性形成研究[J]. 玉米科学, 2010, 18(2): 45-49.
- Peng Zhonghua. Research on the morphology, physiological and diversity formation of specific maize germplasm in Karst high elevation area[J]. Journal of Maize Sciences, 2010, 18(2): 45-49.
- [11] 武路云, 刘方, 靳明凯, 等. 海岛棉部分引进和自选品种遗传多样性的 SRAP 分析[J]. 南方农业学报, 2012, 43(7): 901-906.
- Wu Luyun, Liu Fang, Jin Mingkai, et al. Genetic diversity analysis of introduced and self-bred sea-island cotton (*Gossypium Barbadense* L.) varieties based on SRAP markers[J]. Journal of Southern Agriculture, 2012, 43(7): 901-906.
- [12] 陈光, 杜雄明, 卢东柏, 等. 利用 SSR 分子标记进行海岛棉遗传多样性研究[J]. 植物遗传资源学报, 2005, 6(2): 135-139.
- Chen Guang, Du Xiongming, Lu Dongbai, et al. Genetic diversity of sea-island cotton using SSR markers[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2005, 6(2): 135-139.
- [13] 潘兆娥, 何守朴, 贾银华, 等. 引进海岛棉种质的 SSR 遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(2): 399-404.
- Pan Zhaoe, He Shoupu, Jia Yinhua, et al. Genetic diversity analysis of the sea-island cotton introduced using SSR markers[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2014, 15(2): 399-404.
- [14] 吴大鹏, 房嫌嫌, 马梦楠, 等. 四个国家海岛棉品种资源的亲缘关系和遗传多态性研究[J]. 棉花学报, 2010, 22(2): 104-109.
- Wu Dapeng, Fang Xianxian, Ma Mengnan, et al. Genetic relationship and diversity of germplasms in *Gossypium barbadense* L. from four different countries using SSR markers[J]. Cotton Science, 2010, 22(2): 104-109.
- [15] 董思言, 孙备, 李建东, 等. 微卫星分子标记在野生大豆遗传多样性研究中的应用[J]. 大豆科学, 2008, 27(1): 145-149.
- Dong Siyan, Sun Bei, Li Jiandong, et al. Application of microsatellite molecular marker in the genetic diversity of *Glycine soja*[J]. Soybean Science, 2008, 27(1): 145-149.
- [16] 潘存祥, 许勇, 纪海波, 等. 西瓜种质资源表型多样性及聚类分析[J]. 植物遗传资源学报, 2015, 16(1): 59-63.
- Pan Cunxiang, Xu Yong, Ji Haibo, et al. Phenotypic diversity and clustering analysis of watermelon germplasm[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2015, 16(1): 59-63.
- [17] Paterson A H, Brubaker C L, Wendel J F. A rapid method for extraction of cotton (sp.) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1993, 11(2): 122-127.
- [18] Guo W, Cai C, Wang C, et al. A microsatellite-based, gene-rich linkage map reveals genome structure, function and evolution in cotton[J]. Genetics, 2007, 5(176): 527-541.
- [19] Lin Z X, Zhang X L, Nie Y C, et al. Construction of a genetic linkage map for cotton based on SRAP[J]. Chinese Science Bulletin, 2003, 48(19): 2064-2068.
- [20] 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 Yaoting, Guo Wangzhen, et al. Fast screening of microsatellite markers in cotton with PAGE/silver staining[J]. Cotton Science, 2000, 12(5): 267-269.
- [21] Zhang J, Guo W Z, Zhang T Z. Molecular linkage map of allotetraploid cotton (*Gossypium hirsutum* L. × *Gossypium barbadense* L.) with a haploid population [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 105(8): 1166-1174.
- [22] Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data[J]. Genetics, 2000, 155: 945-959.
- [23] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure—a simulation study[J]. Molecular Ecology, 2005, 14: 2611-2620.
- [24] 王莉萍. 海岛棉表型性状遗传多样性分析及核心种质构建方法的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2016.
- Wang Liping. Genetic diversity analysis of phenotypic characters and construction of core germplasm in sea-island cotton[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2016.
- [25] 谢元元. 127 份海岛棉遗传多样性分析[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2013.
- Xie Yuanyuan. Analysis of genetic diversity of 127 sea-island cotton[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2013.
- [26] 米日古丽·马木提, 阿里甫·艾尔西, 宁新民, 等. 利用 SRAP 和 RGA 标记对新疆海岛棉品种的聚类分析[J]. 新疆农业科学, 2011, 48(11): 2017-2024.
- Miriguli Mamuti, Axiyu Aierxi, Ning Xinmin, et al. Cluster analysis on Xinjiang sea-island cotton by SRAP and RGA[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2011, 48(11): 2017-2024.