

## 棉花陆海回交自交系群体叶绿素含量性状 QTL 定位

耿延会<sup>1#</sup>, 边盈盈<sup>1#</sup>, 裴文锋<sup>1</sup>, 刘国元<sup>1</sup>, 吴嫚<sup>1</sup>, 臧新山<sup>1</sup>, 李丹<sup>1</sup>, 李兴丽<sup>1</sup>, Zhang Jinfa<sup>2</sup>, 于霁雯<sup>1\*</sup>

(1. 棉花生物学国家重点实验室 / 中国农业科学院棉花研究所 / 农业部棉花生物学与遗传育种重点实验室, 河南 安阳 455000; 2. 新墨西哥州立大学, 新墨西哥州 拉斯克鲁塞斯 88003, 美国)

**摘要:**【目的】对棉花叶片叶绿素含量数量性状位点(Quantitative trait loci, QTL)进行定位。【方法】以中 36 为轮回亲本与海 7124 配制的 195 个 BC<sub>1</sub>F<sub>7</sub> 家系为研究材料。根据本课题已构建的高密度遗传图谱, 利用 QTL IciMapping 4.1 中的 BIP(QTL mapping in bi-parental populations)和 MET(QTL mapping for multi-environmental trials)模型采用完备区间作图法(Inclusive composite interval mapping, ICIM)分别对初花期和结铃期基于 Soil and Plant Analyzer Development(SPAD)读值的叶绿素含量进行 QTL 分析。【结果】检测到 9 个与叶绿素含量相关的 QTLs 分布在 6 条染色体上。其中, 与初花期叶绿素含量显著相关的 *q-SPAD-A11-1* 与结铃期检测到的 *q-SPAD-A11-2* 具有较大重叠, 表型贡献率分别为 5.08% 和 5.75%; *q-SPAD-D08-2* 位于 D08 染色体的 48.71~53.65 Mb 与前人定位结果相近。【结论】本研究首次鉴定的与叶绿素含量性状稳定相关 *q-SPAD-A11* 为叶绿素含量性状进一步的精细定位奠定了基础。

**关键词:** 数量性状; 叶绿素含量; 棉花; QTL 定位

QTL Mapping of Chlorophyll Content in *Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense* Backcross Inbred LinesGeng Yanhui<sup>1#</sup>, Bian Yingying<sup>1#</sup>, Pei Wenfeng<sup>1</sup>, Liu Guoyuan<sup>1</sup>, Wu Man<sup>1</sup>, Zang Xinshan<sup>1</sup>, Li Dan<sup>1</sup>, Li Xingli<sup>1</sup>, Zhang Jinfa<sup>2</sup>, Yu Jiwen<sup>1\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Cotton Biology, Cotton Institute of the Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Cotton Genetic Improvement, Ministry of Agriculture, Anyang, Henan 455000, China. 2. New Mexico State University, Las Cruces, New Mexico 88003, USA)

**Abstract:** [Objective] The purpose of this study was to map quantitative trait loci (QTL) related to chlorophyll content based on Soil and Plant Analyzer Development (SPAD) readings in cotton. [Method] The 195 BILs (Backcross Inbred Lines) were produced by a cross between *Gossypium barbadense* Hai 7124 and *G. hirsutum* CRI 36, using CRI 36 as the recurrent parent for backcrossing with F<sub>1</sub> to produce BC<sub>1</sub>F<sub>7</sub>, followed by seven generations of selfing. The genetic linkage map was constructed in a previous study. QTLs of chlorophyll SPAD value in the first flowering and boll development stages were identified with inclusive composite interval mapping (ICIM) method of the BIP and MET models in IciMapping 4.1 software, respectively. [Result] In total, nine chlorophyll SPAD reading QTLs were identified on 6 chromosomes. The *q-SPAD-A11-1* detected at the first flowering stage overlapped with *q-SPAD-A11-2* detected at the boll development stage, contributing 5.08% and 5.75% of the phenotypic variation, respectively. The *q-SPAD-D08-2* physical position ranged from 48.71 to 53.65 Mb on chromosome D08, which overlapped with a chlorophyll content QTL detected in a previous study. [Conclusion] The novel stable QTLs, *q-SPAD-A11-1* and *q-SPAD-A11-2* detected in this study provide an important piece of information for fine mapping chlorophyll content in cotton.

**Keywords:** quantitative trait; chlorophyll content; cotton; QTL mapping

收稿日期: 2020-04-13 第一作者简介: 耿延会(1989—), 女, 硕士, 13733183665@163.com; # 同等贡献。\* 通信作者: yujw666@hotmail.com

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0100402; 2018YFD0100300)

植物几乎所有的能源来自阳光,光合作用是植物叶片获取光能最重要的途径,叶片中的叶绿体是光合作用最主要的细胞器,叶绿素是植物吸收、传递、转化光能的重要色素<sup>[1]</sup>。在一定程度上,增加叶绿素含量可以增强叶绿体对光能的吸收与转化,增强光合速率,从而提高产量<sup>[2]</sup>。植株生长后期叶绿素含量较高的品种,叶片功能期较长,不易早衰<sup>[3]</sup>。棉花叶片叶绿素含量可能与抗逆性和纤维品质有关<sup>[4-6]</sup>,并受棉花半配子基因调控<sup>[7]</sup>。另外,研究表明叶绿素含量受光照强度、温度、水分、生育期、植株部位、水肥条件、盐胁迫等因素的影响<sup>[8-12]</sup>,因此叶绿素含量可以作为植株生理状况的 1 项重要指标。

叶绿体发育受到抑制,叶绿素含量降低,叶片会表现出黄化、白化等现象<sup>[13]</sup>,芽黄突变体  $v_1$  苗期叶片呈黄色,叶绿素含量比野生型低 3~5 倍<sup>[14]</sup>,后期发育过程中叶绿素含量逐渐增加使芽黄突变体  $v_1$  叶色与野生型棉株没有明显差异<sup>[15]</sup>。为探究棉花叶绿素形成的遗传机制,前人利用不同棉花群体对叶绿素含量进行 QTL 定位。秦鸿德等<sup>[3]</sup>报道了棉花叶绿素含量和光合速率相关 QTL,定位到 3 个与叶绿素含量相关的 QTLs; Song 等<sup>[14]</sup>检测到 24 个与叶绿素相关的 QTLs;张建等<sup>[16]</sup>定位到 6 个与叶绿素含量相关的 QTLs;郑巨云等<sup>[17]</sup>定位到 1 个关于叶绿素含量的 QTL;戎福喜等<sup>[18]</sup>定位到 1 个关于叶绿素含量相关的 QTL;Abdelraheem 等<sup>[9]</sup>共定位到 18 个与叶绿素含量相关的 QTLs。统计发现,前人鉴定到 32 个与叶绿素含量相关的 QTLs<sup>[9]</sup>。然而,以上研究大多基于  $F_2$  等初级分离群体,且使用的 SSR 标记数量有限,构建的遗传图谱密度较低,不能覆盖棉花全基因组。此外,前人研究中对叶绿素含量测定主要集中在棉花的营养生长期,如苗期;而对棉花从营养生长过渡到生殖生长的开花期、以及生殖生长的结铃期叶绿素含量的研究较少。目前对植物叶绿素含量测定方法可归纳为化学法和物理法。其中化学法主要是利用乙醇或丙酮有机溶剂萃取叶绿素,并通过分光光度计进行叶绿素含量测定;但该法操作繁琐,不利于进行大规模的样本测定,且提取过程中很难避免叶绿素的分解损失。物理法可通过叶绿素测定仪例如日本

研发的 SPAD-502 来检测叶绿素含量的相对值;该方法适合在室外对植物叶绿素含量指标进行随身携带快速测定。此外,大量研究表明该仪器测定的 SPAD (Soil and plant analyzer development,土壤与作物分析仪开发)读值与叶绿素含量之间具有良好的相关性,目前已广泛应用于水稻、小麦、棉花、苕蓝、西瓜等植物的叶绿素含量的快速测定和 QTL 定位<sup>[17,19-22]</sup>。

本研究利用叶色浅绿的陆地棉中 36 和叶色深绿的海岛棉海 7124 构建高世代棉花陆海回交自交系群体 (Interspecific backcross inbred line, BIL),分别对  $BC_1F_7$  群体的 195 个家系初花期和结铃期的叶绿素含量指标 SPAD 值进行统计分析;利用本课题已构建的该群体高密度遗传图谱数据分别对初花期和结铃期的叶绿素含量性状进行 QTL 定位,以期鉴定出与叶绿素含量相关的 QTL,为叶绿素含量相关 QTL 的精细定位奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本研究以广适应性叶色较浅的陆地棉材料中 36 为轮回亲本与抗黄萎病、黄花、黄色花药、花基红心、叶色较深的海岛棉海 7124 材料杂交得到  $BC_1F_1$ ,并连续自交 7 代后,最终得到包含 195 个家系的  $BC_1F_7$  回交自交系群体。该群体及其亲本分别于 2017 年种植于中国农业科学院棉花研究所南试验场试验田 ( $N36.06^\circ, E114.49^\circ$ ),采用完全随机区组试验设计,2 个重复(分别位于地势较低、水肥较好的偏东位置和地势较高、水肥相对较差的偏西位置)。两亲本及其 195 个家系种植行长 4 m,行间距约 80 cm,株距约 25 cm,采取常规田间管理。

### 1.2 叶绿素含量指标 SPAD 值测定

在初花期(时期 1)和结铃期(时期 2)分别对亲本及  $BC_1F_7$  群体的 195 个家系进行叶绿素含量指标 SPAD (Soil and plant analyzer development,土壤与作物分析仪开发)值测定。在晴天上午 7:00—9:00 利用叶绿素测定仪(SPAD-502 Plus, Konica minolta, Japan)对每行中间部分随机挑选的 3 株生长健康的棉花主茎倒 4 叶进行

SPAD 值测定。由于 SPAD 值与叶绿素含量(质量分数)显著相关符合公式: $y=1.01513x-1$ , $x$  和  $y$  分别代表 SPAD 值和叶绿素质量分数<sup>[23]</sup>,因此本试验以 SPAD 值作为叶绿素含量指标进行试验分析。

1.3 数据分析和 QTL 定位

1.3.1 表型数据分析。利用 SAS 9.3 软件对初花期和结铃期的叶片 SPAD 值表型数据进行最大值、最小值、平均值、峰度、偏度、正态分布检验等描述性统计分析;用 proc anova 进行方差分析;用 SAS 9.3 软件的简单线性相关模型对 2 个时期的叶绿素含量性状进行相关性分析。用 Origin 2018 软件进行绘图。

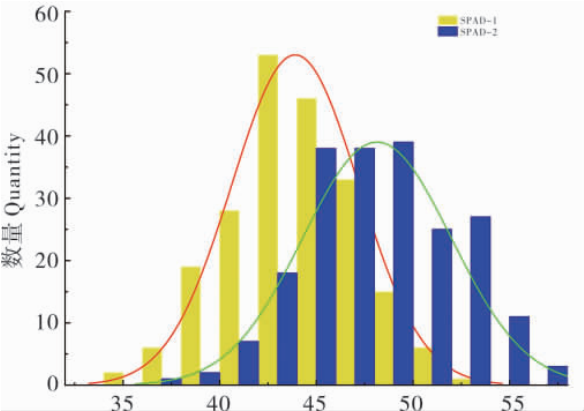
1.3.2 QTL 定位。本研究采用以下 2 种分析模型对叶绿素 SPAD 值性状进行 QTL 定位:1) 利用 IciMapping 4.1 软件的 BIP 模型的完备区间作图法(Inclusive composite interval mapping, ICIM)分别对初花期、结铃期的叶绿素含量性状进行 QTL 定位,本方法以 LOD=2.0 为阈值;2)为研究棉花营养生长过渡到生殖生长的初花期与棉花生殖生长的结铃期叶片叶绿素含量性状 QTL 的加性与环境互作效应,本研究对利用 IciMapping 4.1 软件的 MET 模型进行分析,该方法以 LOD=3.0 为阈值。QTL 的命名规则:q+性状的英文缩写-染色体号-数字。

2 结果与分析

2.1 BILs 群体及其亲本叶绿素含量指标 SPAD 值的描述性统计分析

对 BILs 群体及其亲本的主茎倒 4 叶的叶绿

素含量指标 SPAD 值进行了基本统计,发现在初花期亲本中 36 和海 7124 的叶片 SPAD 值分别为 47.15 和 46.90,BILs 群体的 SPAD 值为 35.43~53.52(图 1),变异系数为 6.75%(表 1);结铃期亲本中 36 和海 7124 的 SPAD 值分别为 52.95 和 51.60,群体的 SPAD 值为 42.28~62.20(图 1),变异系数为 7.18%(表 1)。该群体在 2 个时期的叶绿素含量相关的 SPAD 值均表现出超亲分离现象;2 个时期的叶片 SPAD 值的变异系数均高于 6%,说明叶绿素含量相关的 SPAD 值在该群体中的变异较为丰富。此外,通过对 2 个时期 SPAD 值的峰度进行分析,发现初花期和结



SPAD-1 代表初花期的 SPAD 值;SPAD-2 代表结铃期的 SPAD 值。

SPAD-1 and SPAD-2 represent the SPAD value of the first flowering stage and the boll development stage, respectively.

图 1 BIL 群体 SPAD 值频率分布图

Fig. 1 Frequency distribution of SPAD value for BIL population

表 1 亲本和 BIL 群体的 SPAD 值表型测定

Table 1 Phenotypic determination of SPAD value in parents and BIL population

	亲本 Parents		回交群体 BC <sub>1</sub> F <sub>7</sub> population						遗传力
	海 7124	中 36	平均值±标准差	最大值	最小值	偏度	峰度	变异系数	
	Hai 7124	CRI 36	Mean ± S. D.	Maximum	Minimum	Skewness	Kurtosis	CV / %	H <sup>2</sup> / %
SPAD-1	46.9	47.15	46.09 ± 3.11	53.52	35.43	-0.06	0.09	6.75	66.84
SPAD-2	51.6	52.95	52.20 ± 3.75	62.20	42.28	-0.16	0.07	7.18	69.66

注:SPAD-1 代表初花期的 SPAD 值;SPAD-2 代表结铃期的 SPAD 值;S. D. 代表标准差;CV 代表变异系数;H<sup>2</sup> 代表遗传力。

Note: SPAD-1 and SPAD-2 1 indicate SPAD reading of different materials at the first flowering stage and the boll development stage, respectively. S. D. stands for standard deviation, CV stands for coefficient of variation. H<sup>2</sup> stands for heritability.

铃期的峰度分别为 0.09 和 0.07, 说明该群体 SPAD 值在 2 个时期均符合正态分布(表 1)。以上 SPAD 值的统计分析为进一步对 2 个时期叶绿素含量相关性状的 QTL 定位奠定基础。

分别对初花期、结铃期 2 个时期以及不同时期 2 个重复间的 SPAD 值进行方差分析, 发现不同时期和不同重复的叶绿素含量指标 SPAD 值都存在极显著差异(表 2 和图 2)。不同时期的叶

片 SPAD 值差异极显著表明每个家系在初花期(从营养生长过渡到生殖生长)与结铃期(棉花生殖生长)的叶绿素含量变化一致性较弱; 2 个重复间存在极显著差异表明该性状受土壤水肥等因素影响较大。进一步分析发现初花期和结铃期的遗传力分别为 66.84% 和 69.66%(表 1), 说明叶绿素含量性状相关 SPAD 值在 2 个时期主要受基因型控制, 但也易受环境因素的影响。

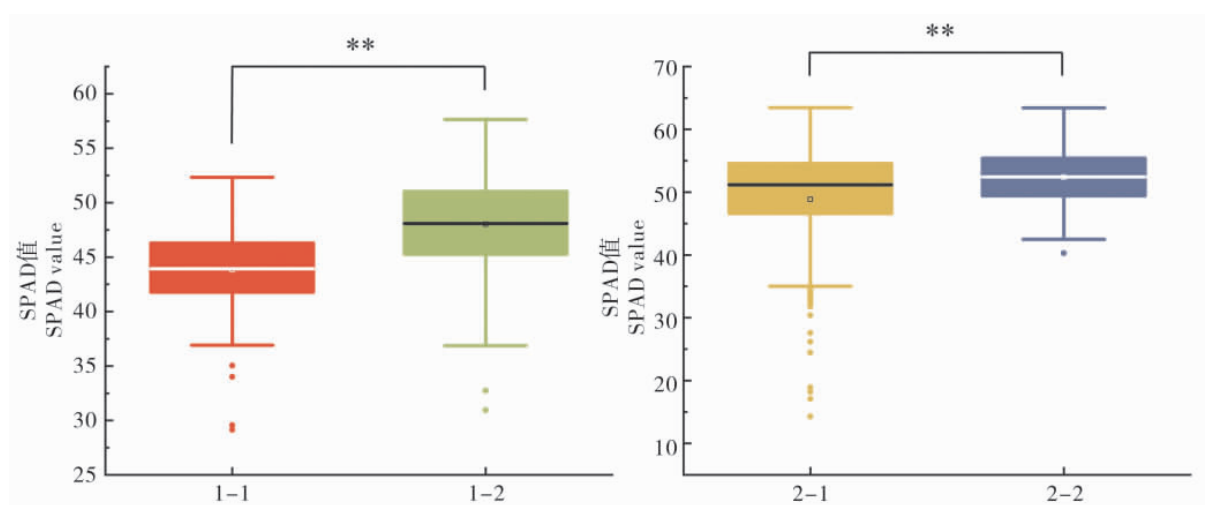
表 2 BIL 群体中 SPAD 值的方差分析

Table 2 Analysis of variance for SPAD value in BIL population

变异来源 Sources	自由度 Degree of freedom	SPAD 值 SPAD readings		F 临界值 F critical value	
		均方 Mean square	F	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
重复 Repeat	1	949.27	60.81**	3.85	6.66
株系 Lines	194	38.21	2.45**	1.19	1.28
时期 Stage	1	7279.86	466.36**	3.85	6.66
株系 × 重复 Lines × Repeat	194	9.23	0.59	1.19	1.28
时期 × 重复 Stage × Repeat	1	778.83	49.89**	3.85	6.66
时期 × 株系 Stage × Lines	194	9.28	0.59	1.19	1.28
时期 × 株系 × 重复	194	5.73	0.37	1.19	1.28
Stage × Lines × Repeat					
误差 Error	776	15.61			

注: \* 和 \*\* 分别表示在 0.05 和 0.01 水平上的显著性。

Note: \* and \*\* represent the significant level at the 0.05 and 0.01 probability level, respectively.



1-1 和 1-2 分别代表初花期的 2 个重复; 2-1 和 2-2 分别代表结铃期的 2 个重复; \*\* 表示两重复间 0.01 水平显著差异。

1-1 and 1-2 indicate the repetition 1 and 2 at the first flowering stage; 2-1 and 2-2 indicate the repetition 1 and 2 at the boll development stage. \*\* indicates the significant difference at the 0.01 probability level.

图 2 BIL 群体两重复间 SPAD 值差异分析

Fig. 2 Differential analysis of SPAD value of BIL population between two replicates at two stages



2.2 初花期和结铃期叶绿素含量指标 SPAD 值之间的相关性分析

为研究棉花初花期和结铃期的叶绿素含量的关系,对初花期和结铃期的叶绿素含量 SPAD 值进行相关性分析发现,初花期叶绿素含量与结铃期叶绿素含量 SPAD 值呈正相关关系,相关系数为 0.057,但未达到显著水平。这表明该陆海回交自交系群体初花期叶绿素含量与生殖生长阶段结铃期的叶绿素含量的一致性相对较弱,以及对不同时期叶绿素含量进行调查和 QTL 定位的必要性。

2.3 BIL 群体叶绿素含量性状 (SPAD 值) 的 QTL 定位

2.3.1 叶绿素含量指标 SPAD 值的 QTL 分析。由于初花期和盛花期的叶绿素含量指标 SPAD 值以及重复间存在显著差异(图 2),因此本研究把 2 个时期和 2 个重复的数据作为 4 个独立环境的性状分别进行定位分析。根据构建的高密度遗传图谱<sup>[24]</sup>,利用 IciMapping 4.1 软件的 BIP 单环境算法,共检测到位于 A04、A10、A11、D08 和 D10 染色体的 7 个与叶绿素含量相关的 QTLs (表 3),其中在初花期检测到 4 个 QTLs,在结铃期检测到 3 个 QTLs,LOD 值为 2.15~2.77,解释表型变异率为 4.86%~5.98%,加性效应

为 -1.16%~1.15%,其中正效应来自海 7124 能够增加叶绿素含量,负效应来自中 36 能够减少叶绿素含量。通过比较不同时期叶绿素含量相关 QTL 发现,初花期叶绿素含量显著相关的 *q-SPAD-A11-1* (位于 A11 染色体的 86.97 Mb~87.97 Mb) 与结铃期叶绿素含量显著相关的 *q-SPAD-A11-2* (位于 A11 染色体的 83.50 Mb~90.29 Mb) 具有较大重叠。该结果表明 A11 染色体具有 1 个稳定的调控叶绿素含量性状的 QTL,反应了本研究分析结果的可靠性。

2.3.2 两个时期叶绿素含量指标 SPAD 值的联合 QTL 分析。对初花期和结铃期的叶绿素含量指标 SPAD 值分析发现,2 个时期叶绿素性状的遗传力分别为 66.84%和 69.66%(表 1),即该性状受环境因素的影响率超过 30%。为揭示棉花叶绿素含量主效 QTL 与环境的互作效应,本研究将初花期和结铃期的叶绿素含量指标 SPAD 值用 IciMapping 4.1 软件的 MET 模型进行基因型与环境互作分析。共检测到 5 个 QTLs (*q-mSPAD-A11-1*、*q-mSPAD-D08-1*、*q-mSPAD-D10-1*、*q-mSPAD-D10-2* 和 *q-mSPAD-D10-3*) 分布在 A11、D08 和 D10 染色体(表 4),对表型的解释率为 2.34%~2.69%;其中 *q-mSPAD-D08-1* 的加性效应值为正效应,其余 4 个 QTLs 加性效

表 3 叶绿素含量指标 SPAD 值单时期的 QTL 定位  
Table 3 Mapping quantitative trait loci of SPAD value of chlorophyll content index in a single state

QTL	时期 Stage	物理区间 Physical interval / Mb	LOD	表型变异解释率 PVE / %	加性效应 Additive effect
<i>q-SPAD-A04-1</i>	1-2	22.35-24.23	2.33	4.86	1.06
<i>q-SPAD-A10-1</i>	2-2	67.03-80.96	2.28	5.28	1.15
<i>q-SPAD-A11-1</i>	1-2	86.97-87.97	2.44	5.08	-1.10
<i>q-SPAD-A11-2</i>	2-1	83.50-90.29	2.15	5.75	-1.14
<i>q-SPAD-D08-1</i>	1-1	58.27-63.25	2.21	4.93	0.88
<i>q-SPAD-D08-2</i>	1-2	48.71-53.65	2.77	5.98	1.06
<i>q-SPAD-D10-1</i>	2-1	36.48-36.65	2.18	5.18	-1.16

注:1-1,表示初花期的第 1 重复;1-2,表示初花期的第 2 重复;2-1 表示结铃期的第 1 重复;2-2 表示结铃期的第 2 重复;PVE:表型变异解释率。

Note: 1-1: the first repetition of the first flowering stage; 1-2: the second repetition of the first flowering stage; 2-1 : The first repetition of the boll development stage; 2-2: The second repetition of the boll development stage; PVE: Phenotypic variance explained.

表 4 用 MET 模型对 2 个时期 SPAD 值进行 QTL 定位  
Table 4 QTL mapping i of SPAD value in two stages with MET model

QTL	物理区间 Physical interval /Mb	LOD			表型变异解释率 PVE /%			加性效应 Additive effect
		LOD	LOD (A)	LOD (A by E)	PVE	PVE (A)	PVE (A by E)	
<i>q-mSPAD-A11-1</i>	83.50-90.29	3.03	3.02	0.01	2.40	2.37	0.03	-0.62
<i>q-mSPAD-D08-1</i>	48.71-53.65	3.03	3.00	0.04	2.34	2.33	0.01	0.62
<i>q-mSPAD-D10-1</i>	36.48-36.65	3.38	3.38	0.001	2.69	2.62	0.07	-0.67
<i>q-mSPAD-D10-2</i>	43.19-43.55	3.12	3.12	0.002	2.47	2.42	0.05	-0.65
<i>q-mSPAD-D10-3</i>	54.18-54.31	3.30	3.29	0.001	2.65	2.59	0.07	-0.70

注:QTL 中 mSPAD 表示用 MET 模型对 2 个时期叶绿素含量指标 SPAD 值的定位结果;A 表示加性效应,A by E 表示基因与环境互作;PVE 表示表型变异解释率。

Note: The mSPAD in the QTL indicates that the mapping results of the SPAD value of chlorophyll content index in two stages via the MET model; A stands for additive effect; A by E stands for gene and environment interaction; PVE means phenotypic variance explained.

应值为负效应,说明轮回亲本中 36 对该群体的叶绿素含量影响较大。5 个 QTLs 的加性效应与环境互作的 LOD 值均小于 0.04,该结果表明本研究得到与叶绿素相关的主效 QTL 受环境影响较小。对 BIP 模型获得的 7 个叶绿素含量性状相关 QTLs(表 3)和 MET 模型的 5 个叶绿素含量性状相关 QTLs 进行分析(表 4),发现 BIP 模型中 *q-SPAD-A11-2*、*q-SPAD-D08-2* 和 *q-SPAD-D10-1* 分别与 MET 模型中的 *q-mSPAD-A11-1*、*q-mSPAD-D08-1* 和 *q-mSPAD-D10-1* 一致。通过对 2 种模型的 QTLs 进行整合,本研究共得到 9 个与叶绿素含量性状相关的 QTLs。

### 3 讨论

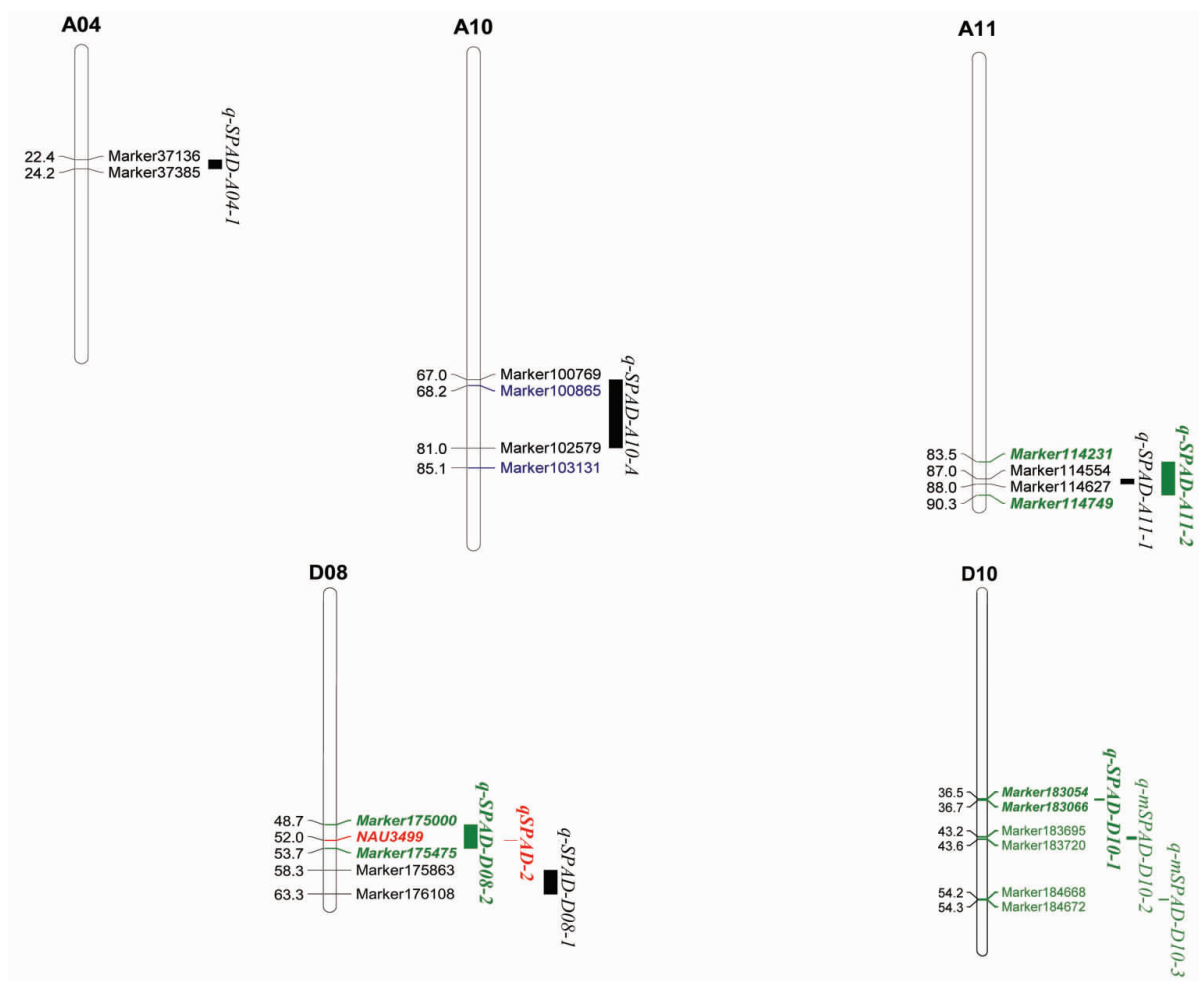
叶绿素是植物体重要的光合色素,在植物光能利用中起核心作用。前人研究表明,植物叶绿素的生物合成过程包含约 15 个步骤,任何 1 个步骤的改变都会对叶绿素含量造成影响<sup>[25]</sup>。叶绿素复杂的代谢过程需要大量的基因参与其中,叶绿素含量性状是复杂的数量性状。通过对初花期和结铃期叶绿素含量指标 SPAD 值的表型数据分析,发现该性状在 2 个时期的遗传力分别为 66.84%和 69.66%,与棉花的纤维长度性状遗传力 89.57%、比强度遗传力 82.43%相比较小<sup>[26-27]</sup>。说明与纤维品质等其它数量性状相比,叶绿素含量更易受环境因素的影响。因此需要收集更多环

境的叶绿素含量表型值才能确保对该性状定位的准确性<sup>[28]</sup>。

本研究利用陆海回交自交系群体构建的高密度遗传图谱对棉花发育过程中的初花期和结铃期叶绿素含量性状分别进行 QTL 定位。对比前人的研究结果,本研究检测到的 *q-SPAD-D10-1*、*q-mSPAD-D10-1* 和 *q-mSPAD-D10-2* 与胡凤萍<sup>[29]</sup>的芽黄  $v_1$ 、及 Song 等<sup>[14]</sup>、郑巨云等<sup>[17]</sup>和 Abdelraheem 等<sup>[4]</sup>的叶绿素含量定位结果一致,均定位在 D10 染色体(图 3);*q-SPAD-A04-1* 与 Abdelraheem 等<sup>[4]</sup>的叶绿素含量相关 QTL 均定位到 A04 染色体;*q-SPAD-A10-1* 和 *q-SPAD-D08-1* 与秦鸿德等<sup>[3]</sup>叶绿素含量相关 QTL 的染色体定位一致(图 3);本研究中 *q-SPAD-D08-2* (48.71 Mb~53.65 Mb)与秦鸿德等<sup>[3]</sup>对叶绿素含量性状定位所得的 *qSPAD-2* (位于标记 NAU3499 和 NAU1505 之间)重叠(图 3)。以上结果表明了本研究定位结果的可靠性。此外,本研究在 A11 染色体鉴定到与叶绿素含量性状稳定相关的新位点(*q-SPAD-A11-1* 和 *q-SPAD-A11-2*)。该结果为进一步对叶绿素含量性状的遗传解析奠定新的基础。

### 4 结论

本试验利用高世代陆海回交自交系群体的高密度遗传图谱,对初花期和结铃期的叶绿素含



黑色代表叶绿素含量指标 SPAD 值单时期的 QTL 定位结果; 绿色代表用 MET 模型对 2 个时期叶绿素含量指标 SPAD 值进行 QTL 定位结果; 绿色加深表叶绿素含量单时期与两个时期定位结果一样; 红色加深表单时期与两个时期叶绿素含量指标 SPAD 值定位结果与已发表文章叶绿素含量定位结果一致。

The black represents the QTL localization results of SPAD value of chlorophyll content index in one stage; Green represents the result of QTL mapping for SPAD value of chlorophyll content index in two periods using MET model. Green deepening represents the same mapping results of SPAD value of chlorophyll content in the single and two periods; The results of SPAD value of chlorophyll content mapping in red deep for single and two periods are consistent with the results of chlorophyll content mapping in published articles.

图 3 叶绿素含量指标 SPAD 值的 QTL 定位

Fig. 3 The QTL mapping of SPAD value of chlorophyll content index

量进行 QTL 定位, 最终获得 9 个叶绿素含量相关的 QTLs, 其中初花期叶绿素含量相关的 *q*-SPAD-A11-1 (86.97 Mb-87.97 Mb) 与结铃期叶绿素含量相关的 *q*-SPAD-A11-2 (83.50 Mb-90.29 Mb) 具有较大的重叠区间, 为进一步的精细定位奠定基础。

#### 参考文献:

- [1] 屠曾平, 林秀珍, 蔡惟涓, 等. 水稻高光效育种的再探索[J]. 植物学报, 1995, 37(8): 641-651.

Tu Zengping, Lin Xiuzhen, Cai Weijuan, et al. Reprobing into rice breeding for high photosynthetic efficiency[J]. Acta Botanica Sinica, 1995, 37(8): 641-651.

- [2] Mae T. Physiological nitrogen efficiency in rice: Nitrogen utilization, photosynthesis and yield potential[J]. Plant Soil, 1997, 196(2): 201-210. <https://doi.org/10.1023/A:1004293706242>
- [3] 秦鸿德, 张天真. 棉花叶绿素含量和光合速率的 QTL 定位[J]. 棉花学报, 2008, 20(5): 394-398. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1002-7807.2008.05.014>
- Qin Hongde, Zhang Tianzhen. QTL mapping of leaf chlorophyll content and photosynthetic rates in cotton[J]. Cotton Science, 2008, 20(5): 394-398.

- [4] Abdelraheem A, Fang D D, Zhang J. Quantitative trait locus mapping of drought and salt tolerance in an introgressed recombinant inbred line population of upland cotton under the greenhouse and field conditions[J]. *Euphytica*, 2018, 214(1): 1-20. <https://doi.org/10.1007/s10681-017-2095-x>
- [5] Abdelraheem A, Liu F, Song M, et al. A meta-analysis of quantitative trait loci for abiotic and biotic stress resistance in tetraploid cotton[J]. *Molecular Genetics Genomics*, 2017, 292(6): 1-15. <https://doi.org/10.1007/s00438-017-1342-0>
- [6] 彭小峰, 张选, 刘素华, 等. 棉花叶片叶绿素含量与纤维品质关系分析[J]. *棉花科学*, 2017, 39(1): 19-21. <https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-3143.2017.01.004>
- Peng Xiaofeng, Zhang xuan, Liu Suhua, et al. Analysis of the relationship between chlorophyll content of cotton leaves and fiber quality[J]. *Cotton Sciences*, 2017, 39(1): 19-21.
- [7] Zhang J F, Stewart J M. Semigamy gene is associated with chlorophyll reduction in cotton[J]. *Crop Science*, 2004, 44(6): 2054-2062. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.2054>
- [8] Turhan E, Eris A. Changes of micronutrients, dry weight, and chlorophyll contents in strawberry plants under salt stress conditions[J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2005, 36(7-8): 1021-1028. <https://doi.org/10.1081/CSS-200050418>
- [9] Wullschlegel S D, Oosterhuis D M. photosynthetic and respiratory activity of fruiting forms within the cotton canopy[J]. *Plant Physiology*, 1990, 94(2): 463. <https://doi.org/10.1104/pp.94.2.463>
- [10] 张月娟, 李万九, 张秀如. 鄂棉 14、鄂棉 16 及鄂荆 1 号光合性能的研究[J]. *湖北农业科学*, 1994(3): 20-23. <https://doi.org/10.14088/j.cnki.issn0439-8114.1994.03.007>
- Zhang Yuejuan, Li Wanjiu, Zhang Xiuru. Studies on photosynthetic characteristics of Emian14, Emian16 and Ejing 1[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 1994(3): 20-23.
- [11] 李贤勇, 王楚桃, 李顺武, 等. 一个水稻高叶绿素含量基因的发现[J]. *西南农业学报*, 2002, 15(4): 122-123. <https://doi.org/doi:10.3969/j.issn.1001-4829.2002.04.031>
- Li Xianyong, Wang Chutao, Li Shunwu, et al. The discovery of a high chlorophyll content gene in rice[J]. *The Southwest Agricultural Journal*, 2002, 15(4): 122-123.
- [12] 刘贞琦, 刘振业, 马达鹏, 等. 水稻叶绿素含量及其与光合速率关系的研究[J]. *作物学报*, 1984, 10(1): 57-62
- Liu Zhenqi, Liu Zhenye, Ma Dapeng, et al. Study on the relationship between chlorophyll content and photosynthetic rate in rice[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 1984, 10(1): 57-62.
- [13] 刘薇. 紫云英红叶形成与叶色变化机理研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2009.
- Liu Wei. Mechanism of red leaf formation and leaf color change in *Astragalus sinensis* L.[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2009.
- [14] Song X L, Zhang T Z. Molecular mapping of quantitative trait loci controlling chlorophyll content at different developmental stages in tetraploid cotton[J]. *Plant Breeding*, 2010, 129(5): 533-540. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2009.01707.x>
- [15] Killough D T, Horlacher W R. The inheritance of virescent yellow and red Plant colors in cotton[J]. *Genetics*, 1933, 18(4): 329.
- [16] 张建, 刘大军, 林刚, 等. 陆地棉叶绿素质量分数 QTL 定位[J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2011, 33(4): 1-4. <https://doi.org/10.13718/j.cnki.xdzk.2011.04.027>
- Zhang Jian, Liu Dajun, Lin Gang, et al. QTL Mapping of chlorophyll fraction in upland cotton[J]. *Journal of Southwestern University (Natural Science Edition)*, 2011, 33(4): 1-4.
- [17] 郑巨云, 龚照龙, 王俊铎, 等. 新疆陆地棉遗传连锁图谱构建及叶绿素含量和光合速率的 QTL 定位[J]. *新疆农业科学*, 2014, 51(9): 1577-1582. <http://dx.doi.org/10.6048/j.issn.1001-4330.2014.09.002>
- Zheng Juyun, Gong Zhaolong, Wang Junduo, et al. Construction of linkage genetic map and QTL mapping for the chlorophyll content and photosynthetic rate in upland cotton[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2014, 51(9): 1577-1582.
- [18] 戎福喜, 汤丽魁, 唐媛媛, 等. 海陆渐渗系棉花吐絮期叶绿素含量、荧光参数及相关性状的 QTL 定位分析[J]. *棉花学报*, 2015, 27(5): 417-426. <http://dx.doi.org/10.11963/j.issn.1002-7807.201505005>
- Rong Fuxi, Tang Likui, Tang Yuanyuan, et al. QTL mapping for chlorophyll content, fast chlorophyll fluorescence parameters and related traits in cotton introgression lines during the boll opening stage[J]. *Cotton Science*, 2015, 27(5): 417-426.
- [19] 陈红刚, 赵惠, 张晓玲, 等. 崧蓝叶片叶绿素含量与 SPAD 值的相关性研究[J]. *中国中医药科技*, 2017, 24(1): 44-45, 55.
- Chen Honggang, Zhao Hui, Zhang Xiaoling, et al. Study on correlation between chlorophyll content and SPAD value in leaves of Woad[J]. *Chinese Journal of Traditional Medical Science and Technology*, 2017, 24(1): 44-45, 55.
- [20] 张佳群, 王西娜, 胡美娟. 施氮量对压砂西瓜氮素累积及 SPAD 的影响[J]. *北方园艺*, 2020(12): 39-46. <https://doi.org/10.11937/bfy.20194163>
- Zhang Jiaqun, Wang Xina, Hu Meijuan. Effects of Nitrogen Application Rate on the Nitrogen Absorption of Watermelon in Gravel-mulched Field[J]. *Northern Horticulture*, 2020(12): 39-46.
- [21] Takai T, Kondo M, Yano M, et al. A quantitative trait locus for chlorophyll content and its association with leaf photosynthesis in rice[J]. *Rice*, 2010, 3(2-3): 172-180. <https://doi.org/10.1007/s12284-010-9047-6>
- [22] Quarrie S A, Quarrie S P, Radosevic R, et al. Dissecting a wheat QTL for yield present in a range of environments: from the QTL to candidate genes[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57(11): 2627-2637. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl026>
- [23] 艾天成, 李方敏, 周治安, 等. 作物叶片叶绿素含量与 SPAD



- 值相关性研究[J]. 湖北农学院学报, 2000, 20(1): 6-8.
- Ai Tiancheng, Li Fangmin, Zhou Zhian, et al. Relationship between chlorophyll meter readings (SPAD readings) and chlorophyll content of crop leaves[J]. Journal of Hubei Agricultural College, 2000, 20(1): 6-8.
- [24] 马建江. 棉花纤维长度、油份和株高性状 QTL 定位及候选基因鉴定[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- Ma Jianjiang. Identification of candidate genes and QTL mapping of traits related fiber length, oil content and plant height in tetraploid cotton[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2019.
- [25] 杨小苗, 吴新亮, 刘玉凤, 等. 一个番茄 EMS 叶色黄化突变体的叶绿素含量及光合作用[J]. 应用生态学报, 2018, 29(6): 1983-1989. <https://doi.org/10.13287/j.1001-9332.201806.021>.
- Yang Xiaomiao, Wu Xinliang, Liu Yufeng, et al. Analysis of chlorophyll and photosynthesis of a tomato chlorophyll-deficient mutant induced by EMS[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2018, 29(6): 1983-1989.
- [26] 李丹, 裴文锋, 宋吉坤, 等. 棉花重组自交系群体重要农艺性状的遗传分析[J]. 中国棉花, 2019, 46(5): 11-17, 38.
- Li Dan, Pei Wenfeng, Song Jikun, et al. Genetic analysis of important agronomic traits in a cotton recombinant inbred line population[J]. China Cotton, 2019, 46(5): 11-17, 38.
- [27] 吴嫚, 李龙云, 裴文锋, 等. 利用马克隆值差异显著的 BILs 鉴定棉纤维品质相关基因[J]. 棉花学报, 2020, 32(1): 52-62.
- Wu Man, Li Yulong, Pei Wenfeng, et al. Identification of differentially expressed genes in developing cotton fibers between two groups of backcross inbred lines differing in fiber micronaire[J]. Cotton Science, 2020, 32(1): 52-62.
- [28] 臧新山, 耿延会, 裴文锋, 等. 棉花形态性状质量遗传分析与基因定位研究进展[J]. 棉花学报, 2018, 30(6): 473-485. <https://doi.org/10.11963/1002-7807.zxsydw.20181107>
- Zang Xinshan, Geng Yanhui, Pei Wenfeng, et al. Research progress on the mendelian genetic analysis and molecular mapping of morphological qualitative traits in cotton[J]. Cotton Science, 2018, 30(6): 473-485.
- [29] 胡凤萍. 陆地棉 5 个突变基因的标记与定位[D]. 南京: 南京农业大学, 2006.
- Hu Fengping. Molecular mapping of five mutant genes in upland cotton[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2006.
-