



# 棉花纤维强度分子标记辅助育种效果初报

## Preliminary Study of Cotton Fiber Strength Breeding Effect by Molecular Marker Assisted Selection

石玉真<sup>1</sup>, 王淑芳<sup>1</sup>, 刘爱英<sup>1</sup>, 王 武<sup>1</sup>, 李俊文<sup>1</sup>, 张天真<sup>2</sup>, 袁有禄<sup>1\*</sup>

(1. 中国农业科学院棉花研究所 农业部棉花遗传改良重点开放实验室, 河南 安阳, 455000;

2. 南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京 210095)

运用与一个已定位的高强纤维 QTL 紧密连锁的 3 个 SSR 标记对 7235 的 BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> 代分离群体及其家系进行分子检测, 目的是验证此标记在不同的棉花遗传背景及群体中辅助选择的可行性和有效性, 并为快速有效地改良棉花纤维品质提供理论依据。

### 1 材料和方法

以 sGK321 × [(太 121 × 7235) × sGK321] BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> 和 sGK9708 × [(太 121 × 7235) × sGK9708] BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> 代的群体单株及其部分株系为研究材料 (sGK321 和 sGK9708 是转基因抗虫棉, 太 121 是高产品种, 7235 是高强优质种质系), 2003 年 BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> 种植于安阳中国农业科学院棉花所试验地, 获得分离群体单株 504 个。定苗后逐株挂牌、单株分别取样, 用 CTAB 微量提取法分别提取单株 DNA, 分子检测; 田间调查农艺性状, 吐絮后期按单株收获并考种, 纤维品质分析由农业部棉花纤维品质检测中心完成。2004 年选取部分单株继续种植, 按株行收获, 考种并测定纤维品质。

SSR 分子标记分析的 PCR 反应体系 10 μl, 67 mmol · L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH 8.8), 16 mmol · L<sup>-1</sup> (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.2 mmol · L<sup>-1</sup> dNTPs, 2.5 mmol · L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>, 0.6 μmol · L<sup>-1</sup> 0.25 μl Taq DNA 聚合酶 (鼎国公司产品), 模板 DNA 20 ng; PCR 反应程序为: 95℃ 变性 2 min, 94℃ 变性 40 s, 57℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 60 s, 共 30 个循环; 72℃ 延伸 7 min。扩增产物的 PAGE/银染检测: 扩增产物经非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 凝胶浓度 8%, 凝胶

大小为 (180 × 120 × 2) mm<sup>3</sup>, 电泳缓冲液为 1 × TBE, 恒压电泳。电泳结束后, 进行银染, 观察记录照相。

### 2 结果与分析

用 S1521、S2961、S1395 标记分别对两个组合的 BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> 代分离群体 504 个单株进行检测筛选, 结果经 S1521 筛选后, 有标记的个体单株有 187 个, 无标记的个体单株有 317 个; 经 S2961 筛选后, 有标记的个体单株有 187 个, 无标记的个体单株有 317 个; 经 S1395 筛选后, 有标记的个体单株有 64 个, 无标记的个体单株有 440 个。

通过对两个组合的 BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> 代分离群体 307 个单株的纤维强度进行统计分析, 其大小频率分布大体成正态分布, 纤维强度进行“单变量数值数据”分析, 纤维强度平均值为 28.57 cN · tex<sup>-1</sup>, 标准差 2.76。

对实验结果进行 t 分布的方差检验 (表 1)。经 SSR1521 筛选后, 98 个有标记个体的平均纤维强度为 29.74 cN · tex<sup>-1</sup>, 209 个无标记个体的平均纤维强度为 28.03 cN · tex<sup>-1</sup>, 两者相差 1.71 cN · tex<sup>-1</sup>, 达极显著水平; 经 SSR1395 筛选后, 40 个有标记个体的平均纤维强度为 29.38 cN · tex<sup>-1</sup>, 267 个无标记个体的平均纤维强度为 28.45 cN · tex<sup>-1</sup>, 两者相差 0.93 cN · tex<sup>-1</sup>, 达显著水平; SSR2961 筛选结果同 SSR1521 的筛选结果。这证明了利用与主效 QTL 紧密连锁的分子标记进行棉花辅助选择育种的效果是显著的, 同时也证明了标记 S1521 与 S2961 是紧密连锁的。

表 1 各标记基因型单株的纤维强度分析结果  
Table 1 Fiber strength of marker genotype in BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> population

标记	基因型	单株/个	平均比强度 /(cN · tex <sup>-1</sup> )	差数	方差	T	P
SSR1521	+	98	29.74	1.71	8.11	5.06(>1.65)	5.25×10 <sup>-7</sup>
	-	209	28.03				
SSR2961	+	98	29.74	1.71	8.11	5.06(>1.65)	5.25×10 <sup>-7</sup>
	-	209	28.03				
SSR1395	+	40	29.38	0.93	6.38	2.13(>1.67)	0.01
	-	267	28.45				

2004 年,对种植的株系(F<sub>2,3</sub>)进行田间调查、纤维检测,通过对纤维品质分析,S1521 有、无标记的纤维强度的平均值分别为 30.98 cN · tex<sup>-1</sup>和 27.76 cN · tex<sup>-1</sup>,差异达极显著水平。S2961 筛选的结果和 S1521 一致,差异也达极显著水平。这进一步验证了棉花分子标记辅助选择育种的效果是显著的和可行的,并获得优质抗虫的稳定株系 9 个,纤维强度都在 30 cN · tex<sup>-1</sup>以上,抗虫性好,纤维品质稳定。

### 3 结论与讨论

本试验结果表明,这 3 个标记相关的高强纤维主效 QTL 在不同的遗传背景,经过多代杂交、自交或回交后,能够稳定遗传而且 QTL 的效应稳定;利用高强纤维主效 QTL 的分子标记进行

辅助选择提高棉花纤维强度是有显著效果的;分子标记辅助选择运用在棉花育种中是可行的。本研究所用的标记是一个与已经定位的高强纤维的主效 QTL 紧密连锁的,它遗传效应稳定,在辅助选择育种方面效果显著。分子标记在棉花早期进行目标基因的辅助选择,可以缩小后代群体大小,大大减少了进一步鉴定的工作量,加快育种进程,可快速高效地培育优质高产高抗的棉花新材料、新品种。

尽管目前棉花分子标记辅助育种研究的实例还不多,但初步应用的成功为进一步的分子标记辅助育种的应用开辟了广阔的前景。随着分子生物技术的进一步发展以及棉花不同遗传图谱的日趋饱和,棉花分子标记辅助选择在育种中将会发挥愈来愈大的利用。 ●