

## 泗棉3号理想株型的遗传及分子标记研究

张培通, 朱协飞, 郭旺珍, 俞敬忠, 张天真\*

(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)

**摘要:**构建了泗棉3号×CARMEN组合的RIL群体,研究棉花高产株型性状的遗传规律和分子机理。对该群体的株型性状进行遗传模型分析,结果表明,这些性状的最适模型都是主基因十多基因遗传模型,说明存在控制这些性状的主基因,同时,株型性状是以多基因遗传为主。用2523对SSR引物,进行双亲的多态性检测,有62对SSR引物具有多态性,产生65个稳定的多态性位点。利用复合区间作图法进行QTL检测,共检测到5个稳定可靠的株型性状的QTLs,为3个株高/果枝长度比的QTLs,以及株高、果枝长度的QTLs各1个,这些QTLs都是在2个环境中或以2个环境平均数检测到的。单标记分析,还检测到9个稳定可靠的株型性状的QTLs。检测到的QTLs和筛选到的分子标记,可以用于对株型性状的MAS。

**关键词:**遗传;分子标记;棉花;理想株型

**文献标识码:**A **中国分类号:**S562.035.3

**文章编号:**1002-7807(2006)01-0013-06

## Inheritance and QTLs Tagging for Ideal Plant Architecture of Simian 3 Using Molecular Markers

ZHANG Pei-tong, ZHU Xie-fei, GUO Wang-zhen, YU Jing-zhong, ZHANG Tian-zhen\*

(National Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** A RIL population of Simian 3×CARMEN had been developed to study the genetics and tag the QTLs controlling the ideal plant architecture traits of high yield. Jointly segregating analysis of P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> generations and RIL population was used to analyze the genetics of plant architecture traits in (Simian 3×CARMEN) by using the method of major gene plus polygene mixed inheritance model. The optimum models of all traits are major gene plus polygene mixed inheritance model. This indicated that the inheritance of the traits was controlled by major genes. QTL tagging of plant architecture traits in (Simian 3×CARMEN) RIL population was conducted with 65 SSR markers having polymorphism between parents with screened from a total of 2523 SSR primers pairs. The results showed that 5 QTLs controlling traits about plant architecture had been tagged in two environments or by using the mean of lines in two environments based on composite interval mapping and marker multiple regression methods. Simultaneously, 9 QTLs controlling plant architecture traits had been detected using the single-marker analysis in two environments or the mean of lines in two environments and at least in one environment. The molecular markers tightly linked with the QTLs can be used for the MAS of ideal plant architecture in high-yield breeding program.

**Key words:** genetics; molecular mechanism; ideal plant architecture; upland cotton

收稿日期:2005-09-05

作者简介:张培通(1965-),男,博士,ptzhang1965@yahoo.com.cn; \*通讯作者, cotton@njau.edu.cn

基金项目:863高科技计划(2002AA207006),国家自然科学基金(30025029),高校杰出青年教师科研奖励计划

泗棉3号品种的选育是以塑造理想株型为突破口,提高群体光能利用率,增加光合产物的积累与分配,从而提高产量。该品种株型疏朗,层次清晰,因而不仅棉田株间而且棉株内部都有良好的通透性,有利于增加棉田内部以及棉株内部气体交流,加速光合作用的进行与光合产物的积累<sup>[1]</sup>。泗棉3号在生产实践的理想株型表现为:叶片大小适中、上举,叶柄长,果枝上举,纵横比值大,主茎高度适中,节间分布均匀,主茎和叶面积增长快<sup>[2]</sup>。研究泗棉3号的株型性状的遗传规律及QTLs定位,对指导棉花高产品种选育和棉花高光效特性改良的MAS(Marker-assisted Selection),具有十分重要的意义。本研究选用泗棉3号为亲本,另一亲本是与其在株型特性上有较大差异的西班牙陆地棉栽培品种CARMEN,配置该组合的重组自交系群体(RIL),在多环境下进行株型性状的遗传研究及QTLs定位,为棉花高产优质新品种的MAS奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

1999年夏季配制组合(泗棉3号×CARMEN),冬天在海南种植 $F_1$ ,单株自交产生 $F_2$ 种子,2000年在南京农业大学江浦试验站种植 $F_2$ ,按单株自交对应形成 $F_{2,3}$ 家系种子;2001年种植 $F_{2,3}$ 家系,并按单株自交,收获期每株只收获1个自交铃,混合产生 $F_4$ 代种子;于2001年冬季在海南加代,自交,每株收获1个自交铃,混合后为 $F_5$ 种子;于2002年种植 $F_5$ 株行,按单株自交,收获时每行随机抽取1个单株,收获该单株所有自交铃,产生 $F_6$ 种子; $F_6$ 种子冬季于海南加代,自交产生 $F_7$ 种子,按行收获 $F_7$ 种子,建成该组合的 $F_7$ 代RIL群体。

### 1.2 试验方法

2003年( $F_7$ )和2004年( $F_8$ )连续在江苏省灌云县大豆原种场进行田间试验。分别种植283个RIL家系和2个亲本共288行,田间试验采用随机区组设计,3次重复,单行区,行长4.0m,行距0.8m,每行12株。2年试验中,2003年气候反常,中期连阴雨,棉花发育推迟,为晚发年份环境;2004年气候正常,降水量较低,中后期气温适宜,日照充足,十分有利于成铃和中下部棉铃的充实。2003年记为环境I,2004年度记为环境II。

### 1.3 农艺性状调查

于棉花吐絮期(9月中旬)在田间调查棉花株型性状。调查性状包括:株高、果枝长度、果枝夹角和株型松散度等,每行调查5个典型单株,平均数作为该行观察值。株型性状的调查在环境I和环境II中实施。

### 1.4 分析方法

亲本及RIL株行的幼嫩叶片保存于 $-70^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,DNA提取采用CTAB法<sup>[3]</sup>。选用了2523对SSR引物,对2个亲本进行多态性检测,亲本间有差异的引物再分别对该组合的283个株行所对应的总DNA进行扩增检测。SSR的PCR扩增与PAGE/银染分析方法采用本所现有成熟技术<sup>[4]</sup>,分子标记基因型:I型为 $P_1$ 型,II型为 $P_2$ 型。利用Mapmaker/Exp(Version 3.0b)<sup>[5]</sup>确定分子标记连锁关系,利用Cartographer Version 1.13复合区间作图法定位与连锁群标记连锁的分子标记。QTLs的命名方法,参照水稻<sup>[6]</sup>QTL命名法,以小写的“q”起,后接性状的英文字母缩写(2个大写字母,如FL表示果枝长度等),再接染色体号(2~3个字母和符号),如果同一染色体上有两个以上的QTLs,则加数字“1”、“2”、“3”等加以区别。

遗传模型分析采用 $P_1$ 、 $P_2$ 和RIL群体联合世代主基因+多基因混合遗传模型分析方法<sup>[7]</sup>,分别对2个环境中的株型性状进行分析,通过比较无主基因(C类模型)、一对主基因(A类模型)、一对主基因+多基因(D类模型)、2对主基因(B类模型)、2对主基因+多基因(E类模型)、3对主基因模型(F类模型)和3对主基因+多基因模型(G类模型)共52个遗传模型的AIC值(Akaike's Information Criterion),并进行遗传模型的适合性测验,包括均匀性检验( $U1^2$ 、 $U2^2$ 和 $U3^2$ )、Smirnov检验( $nW^2$ )和Kolmogorov检验(Dn),最优模型的确定是综合考虑极大对数似然数、AIC值最小和适合性检验的结果。

## 2 结果与分析

### 2.1 亲本性状的表現及RIL群体性状的分布

两亲本的株型性状存在显著或极显著的差异(表1),与CARMEN相比,泗棉3号植株较高,果枝长度较长,株高/果枝长度比较低,这在2个环境中表现相同的趋势,即泗棉3号的植株比较高、松散,但纵横比例较低。2个亲本的果枝夹

角差异不显著,且在 2 个环境中的表现趋势不一致。不同环境对棉花株型的影响较大,环境 I 中的株高和果枝长度都比环境 II 中的低,这表明,在环境 I 中,棉花的营养生长受到抑制,尤其是纵向生长受到抑制,所以,在环境 I 中的株高/果枝长度比也比环境 II 中的低。

RIL 群体的株型性状在各环境中的变异系数

表 1 RIL 群体的主要性状表现及分布

Table 1 The phenotype value for plant architecture of parents and RIL population

性状	环境	亲本性状表现			RIL 群体的性状表现及分布						
		P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>1</sub> -P <sub>2</sub>	平均值	标准差	最大值	最小值	极差	偏斜度	变异系数%
株高/cm	环境 I	89.01	87.60	1.41	85.54	0.41	105.92	57.73	48.18	-0.10	4.8
	环境 II	111.84	104.63	7.21*	106.63	0.33	122.33	88.33	34.0	-0.02	3.1
	平均	100.43	96.12	4.31	96.09	0.32	110.32	77.93	32.383	-0.03	3.4
果枝长度/cm	环境 I	28.26	27.01	1.26*	27.56	0.22	57.01	16.18	40.833	2.20*	8.0
	环境 II	33.22	29.08	4.14**	31.59	0.22	41.00	20.71	20.289	0.02	3.9
	平均	30.74	28.04	2.10**	29.58	0.19	45.89	21.52	24.372	0.49	6.3
果枝夹角/度	环境 I	66.31	67.26	-0.96	66.81	0.22	78.80	39.11	39.689	-1.45*	3.3
	环境 II	62.82	57.99	4.83*	58.97	0.17	67.89	50.44	17.444	0.021	6.7
	平均	64.56	62.62	1.94	62.89	0.16	69.98	48.00	21.975	-0.49	2.5
株高/果枝长度比	环境 I	3.16	3.24	-0.09	3.14	0.02	4.13	1.62	2.515	-0.23	6.7
	环境 II	3.38	3.68	-0.31*	3.44	0.02	5.01	2.60	2.401	0.77	7.0
	平均	3.27	3.46	-0.20	3.29	0.02	4.17	2.44	1.738	0.36	5.8

## 2.2 株型性状的联合世代分析

利用 P<sub>1</sub>、P<sub>2</sub> 和 RIL 群体三代联合分析法,对本研究考查的 4 个株型性状进行遗传模型分析(表 2),结果表明,株型性状都符合主基因十多基因混合遗传模型,说明存在控制株型性状的主基因,但其主基因遗传率都较低,是属于以多基因遗传为主的性状,株高和株高/果枝长度比的主基因

都不大,除了果枝长度和果枝夹角在环境 I 中的偏斜度的绝对值大于 1,表现为偏正态分布,其余性状都符合正态分布;RIL 群体的各有关性状在同一环境中的最大值和最小值都超过亲本的表现,表现为超亲分离,并且各个环境中亲本间各性状的差异越大,其超亲分离越大。

遗传率相对较高,但在两个环境中表现的差异较大。株型性状的总遗传率都较高,果枝长度和果枝夹角的总遗传率最高,这 2 个性状和株高/果枝长度比的遗传规律,在 2 个环境中表现出基本相同的趋势;株高的总遗传率最低,且其遗传率在环境中的差异较大,因此,对于株高的遗传规律有待进一步研究加以确认。

表 2 三代联合估计的株型性状的遗传参数

Table 2 The estimated genetic parameters of traits about plant architecture using P<sub>1</sub>、P<sub>2</sub> generations and RIL population

参数	果枝长度		果枝夹角		株高/果枝长度比		株高	
	环境 I	环境 II	环境 I	环境 II	环境 I	环境 II	环境 I	环境 II
m	D	C	E-2	E-1-5	E-2	E-2-7	B-1-3	E-2-7
d	27.560112	31.589	59.396	58.484	2.79684	3.683	85.4720	97.880
d <sub>a</sub>	0.15704	/	/	/	/	/	2.8426	/
d <sub>b</sub>	/	/	-6.9482	/	0.345	/	/	/
i	/	/	-6.9478	/	-0.353	/	/	/
i*	/	/	/	-0.965	/	0.374	/	-8.836
[d]	0.47323	2.024	20.2763	2.115	0.500	-0.067	2.7020	6.293
h <sub>mg</sub> <sup>2</sup> (%)	0.538	/	19.578	8.684	11.800	49.781	37.522	4.958
h <sub>pg</sub> <sup>2</sup> (%)	93.188	91.095	72.799	84.182	76.029	40.252	/	83.661

注: m 为中亲值, d 为主基因加性效应, h 为主基因显性效应, d<sub>a</sub> 为主基因 a 的加性效应, d<sub>b</sub> 为主基因 b 的加性效应, h<sub>a</sub> 为主基因 a 的显性效应, h<sub>b</sub> 为主基因 b 显性效应, [d] 为多基因加性效应, [h] 为多基因显性效应, i 表示加性×加性互作效应, i\* 表示加性效应与加性×加性互作效应的混合效应。

### 2.3 分子标记的鉴定与 QTLs 定位

选用了本所 2523 对 SSR 引物,对 2 个亲本进行多态性检测,有 62 对 SSR 引物在亲本间具有多态性,用 62 对亲本间有差异的 SSR 引物再分别对该组合的 283 个 RIL 家系的总 DNA 进行扩增检测,结果产生了 65 个稳定的多态性位点, $\chi^2$  检验结果有 1 个标记严重偏分离,在分析时去除。连锁分析结果有 40 个标记分别被构建到 11 个连锁群上,11 个连锁群总长度 402.2 cM,另有 25 个标记没有被分配到连锁群上。利用本实验室以 TM-1 为背景的一套单体、端体所构建的一个分子标记定位系统,以及本实验室用同一组 SSR 引物构建的

棉花遗传图谱,对本文中的 SSR 标记进行染色体定位,其中 6 个连锁群分别被定位到第 1、第 3、第 12、第 14、第 16 和第 26 号染色体上,2 个连锁群分别被定位到 LGD03 和 LGD08 上,另外 3 个连锁群没有定位到染色体上。利用 Cartographer Version 1.13 复合区间作图法定位与连锁群标记连锁的 QTLs。QTLs 定位结果(表 3,图 1)。共检测到 8 个株型性状的 QTLs,其中 5 个 QTLs 在 2 个环境中或用 2 个环境平均数检测到,为:1 个株高的 QTL,1 个果枝长度的 QTL,3 个株高/果枝长度比的 QTLs。其余 3 个 QTLs 只在 1 个环境中检测到,为 2 个株高 QTLs 和 1 个果枝长度 QTLs。

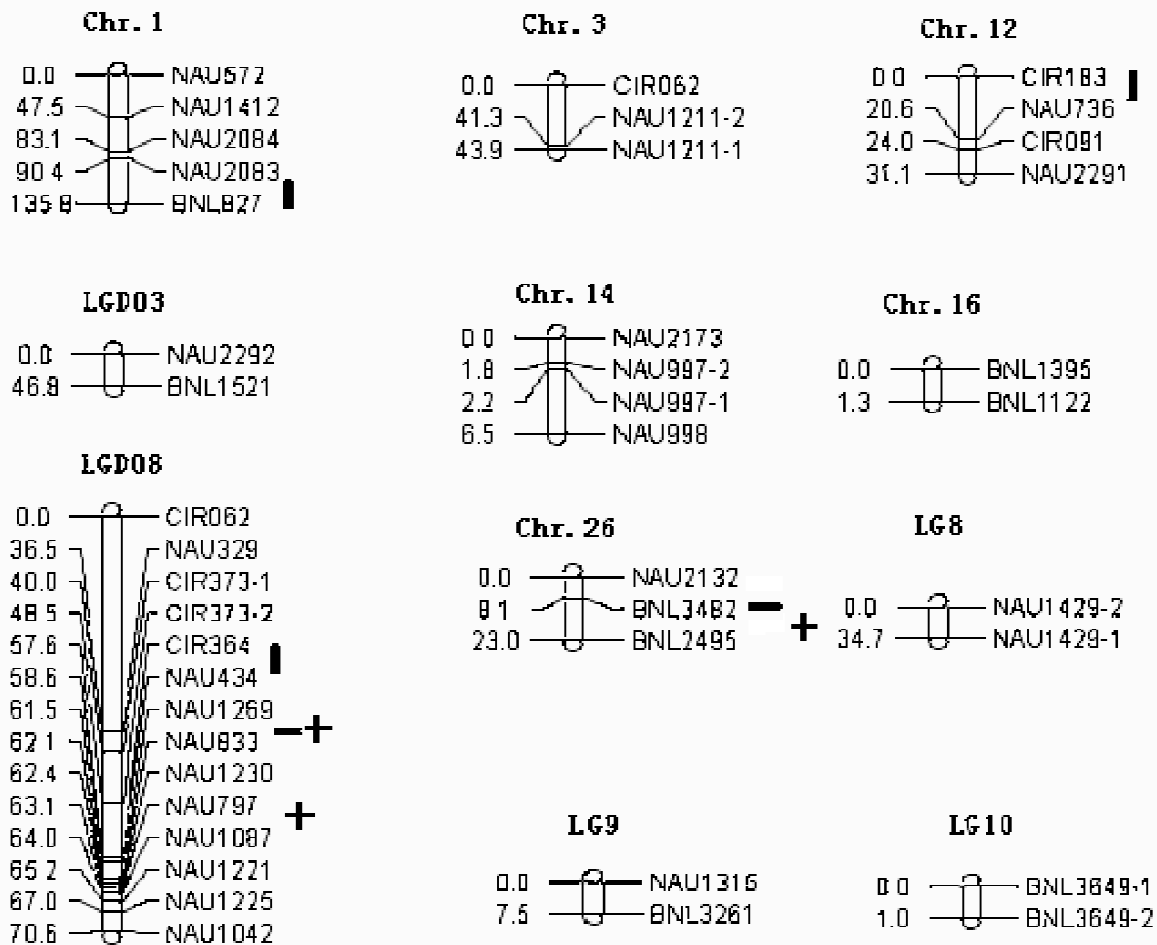


图 1 遗传图谱和 QTLs 定位结果

Fig. 1 The genetic map with QTLs

### 2.4 株型性状的单标记分析

用未连锁的 25 个分子标记对株型性状进行单标记分析结果(表 4)表明,在 2 个环境中或以 2 个环境平均数并至少在 1 个环境中检测到株型性状的 QTLs 共 9 个,其中 3 个分子标记 BNL119、NAU934 和 BNL3650 与株高存在连锁关系;分

子标记 BNL3492、JESP2-70 和 NAU934 与果枝长度存在连锁关系;分子标记 BNL3492、JESP2-70 和 NAU1498 与株高/果枝长度比存在连锁关系。还检测到 3 个分子标记分别与株高、果枝长度和果枝夹角存在连锁关系,但只在 1 个环境中检测到。

表 3 棉花株型性状的 QTLs 定位结果  
Table 3 The location and effect of QTLs about plant architecture traits

性状	QTLs 命名	染色体	区间	长度 /cM	位置	LOD 值	表型变异解释/%	a	检测环境
株高	qPH01	Chr. 01	NAU2083~BNL827	45.4	2.00	2.095	3.854	-1.423	环境 I
	qPHD08	LGD08	CIR364~NAU434	1.0	0.06	2.527	4.030	2.414	环境 II
	qPH12	Chr. 12	CIR183~NAU736	47.5	0.01	2.507	3.785	-1.097	环境 II
		Chr. 12	CIR183~NAU736	20.6	0.01	2.356	3.514	-1.030	平均
果枝长度	qFLD08	LGD08	NAU1269~NAU833	0.6	0.00	2.713	4.057	-1.404	环境 II
	qFL26	Chr. 26	NAU2132~BNL3482	8.1	6.01	7.208	11.391	-0.109	平均
		Chr. 26	NAU2132~BNL3482	8.1	4.01	5.264	8.882	1.113	环境 I
		Chr. 26	BNL3482~BNL2495	14.9	0.02	5.504	8.038	1.046	环境 II
株高/ 果枝长 度比	qHLD08-1	LGD08	NAU1269~NAU833	0.6	0.00	2.706	3.706	0.118	平均
		LGD08	NAU1269~NAU833	0.6	0.00	2.296	3.271	0.066	环境 I
	qHLD08-2	LGD08	NAU1269~NAU833	0.6	0.00	2.885	4.213	0.157	环境 II
		LGD08	NAU797~NAU1087	0.9	0.01	2.593	3.583	0.114	平均
	qHL26	LGD08	NAU797~NAU1087	0.9	0.01	2.741	3.901	0.071	环境 I
		Chr. 26	BNL3482~BNL2495	14.9	0.02	8.124	11.391	-0.109	平均
			BNL3482~BNL2495	14.9	0.02	5.679	8.006	-0.101	环境 I
		Chr. 26	BNL3482~BNL2495	14.9	0.02	4.285	6.201	-0.100	环境 II

表 4 株型性状的单标记分析  
Table 4 The single-marker analysis for plant architecture traits

性状	标记	环境	性状	标记	环境
株高	BNL119	A, Env I, EnvII	果枝长度	BNL3492	A, Env I, EnvII
	NAU934	A, Env I, EnvII		JASP2-70	A, EnvII
	BNL3650	A, Env I, EnvII		NAU934	A, EnvII
株高/果枝长度比	BNL3492	A, Env I, EnvII	CIR246	A	A
	JESP2-70	A, Env I			
	NAU1498	A, EnvII			

注: A, Env I 和 EnvII 分别表示 QTLs 是用两环境平均数、环境 I 和环境 II 中检测到。

### 3 结论与讨论

泗棉 3 号选育的关键技术之一就是塑造了理想株型,株型疏朗,层次清晰,节间匀称,群体内和植株内通透性好,这为该品种的高光效奠定了基础。本研究结果表明,泗棉 3 号的株高相对较高,果枝长度较长,而株高/果枝长度比却相对较低,纵向提高有利于通风;横向伸长有利于果枝叶的均匀分布,防止叶片过分集中于主茎周围而导致局部郁蔽;株高/果枝长度比低可以提高行间和植株内部的通透性,有利于提高群体总的光合效率。对株型性状的遗传分析结果表明,株型性状都以多基因遗传为主,株高和株高/果枝长度比的主基因遗传率相对较高,而果枝长度的主基因遗传率相对较低。对株型性状进行 QTLs 检测,结果共

检测到 14 个稳定可靠的控制株型性状的 QTLs,其中 4 个株高的 QTLs 的增效基因,3 个来自于 CARMEN,1 个来自于泗棉 3 号;4 个果枝长度的 QTLs 的增效基因,2 个来自于 CARMEN,2 个来自于泗棉 3 号;6 个株高/果枝长度比的 QTLs 的增效基因,4 个来自于 CARMEN,2 个来自于泗棉 3 号。从控制株型性状的 QTLs 来看,泗棉 3 号株高和果枝长度的 QTLs 组成并未表现出其特征,但由于这 2 个性状多基因效应很大,因此,可以推断,泗棉 3 号的株型改良可能主要得益于多基因积累和聚合。

#### 参考文献:

[1] 陈立昶,俞敬忠,吉守银,等. 泗棉 3 号品种的选育技

- 术[J]. 棉花学报, 1998, 10(1): 20-25.
- [2] 纪从亮, 俞敬忠, 刘友良. 棉花高产品种的株型特征研究[J]. 棉花学报, 2000, 12(5): 234-237.
- [3] PATERSON A H, Brubaker C L, Wendel J F. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium spp.*) genomic DNA suitable for RFLP and PCR analysis[J]. Plant Mol Biol Rep, 1993, 11: 122-127.
- [4] 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.
- [5] LANDER E S, Green S P, Abrahamson J, et al. MAPMAKER; an interactive computer package for constructing primary linkage maps of experimental and natural population[J]. Genomics, 1987, 1: 174-181.
- [6] MCCOUCH S R, Cho Y G, Yano P E, et al. Report on QTL nomenclature[J]. Rice Genet Newslett, 14: 11-13.
- [7] 章元明, 盖钧镒. 利用 DH 或 RIL 群体检测 QTL 体系并估测其遗传效应[J]. 遗传学报, 2000, 27(7): 634-640.
- [8] REINHARDT D, Kuhlemeier C. Plant architecture [J]. EMBO Reports, 2002, 3(9): 846-851.
- [9] PENG J, Richards D E, Hartley N M, et al. Green Revolution genes encode mutant gibberellin response modulators[J]. Nature, 1999, 400: 256-261.
- [10] WU R L. Genetic mapping of QTL affecting tree growth and architecture in *Populus*; implication for ideal type breeding[J]. Theor Appl Genet, 1998, 96: 447-457.
- [11] KULWAL P L, Roy J K, Balyan H S, et al. QTL mapping for growth and leaf characters in bread wheat[J]. Plant Science, 2003, 164: 267-277.
- [12] ZHUANG J Y, Lin H X, Lu J, et al. Analysis of QTL  $\times$  environment interaction for yield components and plant height in rice[J]. Theor Appl Genet, 1997, 95: 799-808.
- [13] 叶子弘, 朱 军. 陆地棉开花成铃性状的遗传研究 II. 不同果枝节位的遗传规律[J]. 作物学报, 2001, 27(2): 243-252. ●