

陆地棉品种抗黄萎病性状的分子标记及其辅助选择效果

王芙蓉¹, 刘任重¹, 王留明¹, 张传云¹, 刘国栋¹, 刘勤红¹, 马小波^{1,2}, 张军^{1*}

(1. 国家棉花改良中心山东分中心, 山东省农业科学院棉花研究中心, 济南 250100;

2. 山东师范大学生命科学院, 济南 250014)

摘要:利用综合性状优良、适应性广、抗黄萎病的鲁棉研22号与渐渗了海岛棉优异纤维基因的鲁原343组配杂交组合, 对F₂、F_{2:3}家系在不同发病时期进行黄萎病鉴定, 并以SSR标记对抗黄萎病性状进行定位分析。在棉花发病相对较轻的7月份检测到1个位点(qVWR-16-1a)与抗黄萎病有关; 在发病较重的8月份, 检测到3个QTLs位点与抗黄萎病有关, 其中1个QTL(qVWR-16-1b)与7月份检测到的位点qVWR-16-1a为同一位点, 能解释的表型变异为10.27%, 与NAU751连锁较紧密, 另外2个与BNL1395和BNL3590连锁较紧密的位点qVWR-16-2b、qVWR-2-1b, 能解释的表型变异分别为10.8%和13.78%。利用检测到的与3个QTL位点连锁较紧密的SSR标记对杂交后代辅助鉴定, 发现标记NAU751和BNL1395的抗性基因型均能显著增加后代的黄萎病抗性, 两个标记的抗性基因型聚合后, 后代抗性水平提高极显著。分子标记辅助抗病选择应用于优异纤维渐渗系杂交后代的鉴定中, 可以培育出既优质又抗病的棉花新品种。

关键词: 陆地棉; 抗黄萎病; SSR; QTLs; 分子标记辅助选择

中图分类号: S562.035.3 **文章标识码:** A

文章编号: 1002-7807(2007)06-0424-07

Molecular Markers of *Verticillium* Wilt Resistance in Upland Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Cultivar and Their Effects on Assisted Phenotypic Selection

WANG Fu-rong¹, LIU Ren-zhong¹, WANG Liu-ming¹, ZHANG Chuan-yun¹, LIU Guo-dong¹, LIU Qin-hong¹, Ma Xiao-bo^{1,2}, ZHANG Jun¹

(1. Shandong Branch of National Cotton Genetic Improvement Center, Cotton Research Center of Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China; 2. College of Life Sciences, Shandong Normal University, Jinan 250014, China)

Abstract: Genetic population of F₂ and its corresponding F_{2:3} lines derived from a hybridization combination of a *Verticillium* wilt disease resistant cultivar of pest-resistant transgenic upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.), crossed to a *Verticillium* wilt disease sensible upland cotton line (Luyuan 343) with high fiber quality genomic components introgressed from *G. barbadense* L., were used to evaluate the resistance of *Verticillium* wilt disease and then dissected the resistance genes by SSR markers with the phenotype data of different developmental stages in cotton growth season. qVWR-16-1a, which was detected with the data of the vigorously developmental stage, is located between the two markers, BNL2986 and NAU751, in the fragment of chromosome 16 with 5.73 cM to NAU751, It accounted for 16.53% of the phenotypic variation and the resistance proved to be from the genotype of resistance parent. Meanwhile, with the data of the late stage of the cotton growth season, three QTLs were detected to be related to *Verticillium* wilt resistance. qVWR-16-1b is

收稿日期: 2006-11-21 作者简介: 王芙蓉(1968-), 女, 副研, 硕士; * 通讯作者, scrczj@saas.ac.cn

基金项目: 国家转基因专项基金项目(JY03-B-05-02)、山东省优秀中青年科学家奖励基金项目(03BS133)

located in the same interval to *qVWR-16-1a* with 1.73 cM to marker locus NAU751, It accounted for 10.27% of the phenotypic variation. Another locus named *qVWR-16-2b* is located in another interval between BNL1604 and BNL1395 in the same chromosomal fragment, with 1.39 cM to BNL1395. It accounted for 10.8% of the phenotype variation. Another QTL named *qVWR-2-1b* located in the interval between BNL3950 and BNL3971 with only 0.01 cM to BNL 3950 in the fragment of chromosome 2, and accounted for 13.78% of the phenotypic variation. Evaluation on the disease resistance of some offspring (F_5) in the breeding population showed that pyramiding the resistant genotypes of marker NAU751 and BNL1395 can significantly improve the *Verticillium* wilt disease resistance. It was concluded, in this paper, molecular markers can be used to improve *Verticillium* wilt disease resistance in the process of breeding using the high fiber quality introgression line by assistant selection or pyramiding the resistant genotypes.

Key words: upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.); *Verticillium* wilt disease resistance; SSR; QTLs; molecular marker assistant selection

随着棉花纺织工业的不断发展和棉花生产的需要,优质、抗病作为棉花育种的主要目标,在育种中变得越来越重要。纤维品质性状可以通过测定单株纤维品质进行选择,因此选择纤维品质优异的单株一般较容易。而黄萎病(*Verticillium* wilt)是由病原真菌大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae* Kleb.)引发的病害,棉花抗病性状需要在诱导胁迫下才能表现出来,因此要鉴定品种的抗病性需要在病圃中进行,而对规模相对较大的育种群体而言,进行病圃鉴定选择存在很大的困难。正是由于黄萎病鉴定中存在的这种局限性,使棉花育种过程中经常培育出高产、优质但在黄萎病发病较重的年份严重感病的品种。这是目前困扰棉花育种工作者的一大难题,也是棉花抗黄萎病育种研究始终徘徊不前的重要原因之一。

近年来,对农作物重要性状的分子标记与定位发展很快。分子标记辅助选择也越来越多地应用到作物育种中。棉花分子标记与基因组研究虽然起步较晚,但近年来发展较快。已经利用RFLP、SSR、SRAP等标记构建了多张棉花分子标记遗传连锁图^[1-5],并对纤维品质^[5-8]、产量及产量组成因素^[8-9]、早熟性^[10]等进行了连锁定位,并尝试利用分子标记辅助进行某些重要性状基因或QTL的聚合育种^[11]。棉花抗黄萎病的分子标记研究较少,现有研究几乎都是以海岛棉作为抗源亲本,对海岛棉抗黄萎病基因的鉴定与定位^[12-14],由于海陆杂交后代疯狂分离,性状难以稳定,所以在育种实践中实用性不大。关于陆地棉抗黄萎病的分子标记研究目前还较少,最近的工作是王红梅等^[15]利用陆地棉遗传标准系TM-1与常抗棉杂交构建的遗传分析群体,单菌系病圃接种检测

到与抗黄萎病性相关的3个QTLs,该工作也是以研究为目的。到目前为止,尚未见分子标记辅助抗黄萎病育种的报道。

本研究以感黄萎病的渐渗了海岛棉优异纤维种质的鲁原343^[16]为母本,综合性状优良、适应性广、抗黄萎病的转基因抗虫棉鲁棉研22号为父本,组配杂交组合,利用 F_2 代衍生的 $F_{2,3}$ 家系进行陆地棉抗黄萎病基因的分子标记连锁分析。并利用这些标记对 F_5 代的标记基因型和黄萎病病指进行分析,鉴定这些标记在抗黄萎病育种中的辅助选择效果,为抗黄萎病育种的分子标记辅助选择奠定基础。

1 材料和方法

1.1 植物材料和群体构建

父本为高产、优质、高抗黄萎病的陆地棉品种鲁棉研22号,2002年经中国农科院植保所鉴定黄萎病指18.72,为抗级;母本系海陆杂交后代辐射处理后选育出的具有海岛棉优异纤维种质,但高感黄萎病的鲁原343,正常年份其黄萎病发病率为100%,混生黄萎病病圃鉴定的病情指数均在50以上;2002年配制杂交组合,当年在海南岛种植 F_1 代,2003年在山东棉花研究中心临清试验站病圃中分单粒营养体育苗移栽种植 F_2 代,10月份单株收花,次年在病圃中按单株播种形成株行即 $F_{2,3}$ 家系。 F_2 群体(265个单株)及由其衍生的 $F_{2,3}$ 家系群体作为分子标记分析和抗病性鉴定的基础群体。

1.2 抗黄萎病鉴定

分别对 F_2 和 $F_{2,3}$ 家系群体进行抗黄萎病鉴定。抗病鉴定在人工接种的黄萎病混生病圃中进

行。感病对照为冀棉 11 号。 F_2 代于 10 月底单株剖秆检查维管束褐斑，根据褐斑大小划分为 0, 1, 2, 3, 4 级，考察 F_2 代单株不同病级个体在群体中的分布情况。调查 $F_{2,3}$ 家系群体获得的病情指数用于遗传分析。 $F_{2,3}$ 家系种植于病圃后，分别于当年 7 月 23 号和 8 月 23 号进行黄萎病发病调查。棉花黄萎病分级标准、病情指数与品种的抗病类型划分参照文献[17]。

1.3 基因组 DNA 的分离纯化

参照 Paterson 等^[18] 报道的 CTAB 法和我们根据实际进行的改进^[19], 采棉花生长旺盛期 F₂ 单株的幼叶分离纯化基因组 DNA 用于分子标记分析。

1.4 SSR 标记分析

由于陆地棉品种间的遗传多态性较差,考虑到鲁原 343 是一个渐渗了海岛棉片段的陆地棉品种,我们从 Cotton DB (<http://www.mainlab.clemson.edu/>) 数据库中重点选择了利用陆地棉遗传标准系 TM-1 与海岛棉品种 Pima3-79 的基因组文库筛选出的有差异的 SSR 的 BNL 引物,另外选用了南京农业大学利用棉花 EST 序列开发的 SSR 引物(NAU)序列^[20]。引物由 Invitrogen(上海)和宝生物工程(大连)公司合成。SSR 的 PCR 扩增与 PAGE/银染分析参见张军等^[21]报道的方法。

1.5 抗黄萎病性状的分子标记连锁分析

应用 Mapmaker/Exp (Version 3.0), 设置 LOD ≥ 3.0 , 采用 Kosambi 函数将重组率转化成遗传图距 (centimorgan, cM)。应用 WinQTL-Cart2.5 中的复合区间作图法^[22]进行抗黄萎病基因的定位分析。未进入连锁群的标记利用 DPS 数据处理系统, 进行单标记分析。

1.6 育种后代材料抗黃萎病性状的分子鉴定

对鲁棉研 22 和鲁原 343 杂交 F₅ 代的综合性状好、纤维品质优异的优行进行黄萎病调查,采集 F₅ 代株行幼叶混合,提取 DNA, 利用筛选到的与抗黄萎病连锁较紧密的分子标记进行标记基因型分析,利用 DPS 数据处理系统进行不同标记基因型的黄萎病抗性比较。

2 结果与分析

2.1 抗病性调查与分析

对 265 株 F_2 代单株进行剖秆调查, 黄萎病病级为 1 级的单株最多, 各级发病株数呈连续分布(图 1)。 $F_{2:3}$ 家系在棉花发病较轻(即 7 月份)和

发病较重时期(即8月份)进行黄萎病调查,其中7月份调查的平均黄萎病病指为28.28,8月份调查的平均黄萎病病指为51.64。各级黄萎病病指数均呈连续分布(图2,3),从黄萎病发病在群体中的分布情况看,该群体中黄萎病抗性是由多基因控制的数量性状。

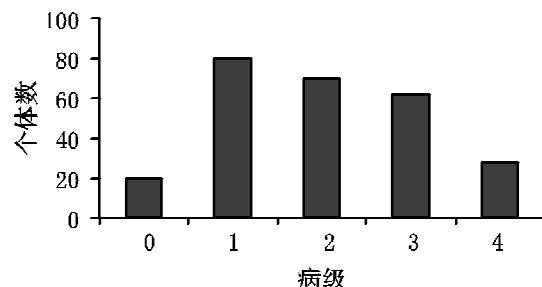


图 1 剖秆鉴定 F_2 代黄萎病发病情况

Fig. 1 Evaluation of resistance to *Verticillium* wilt disease in F₂ population by cotton stem dissection

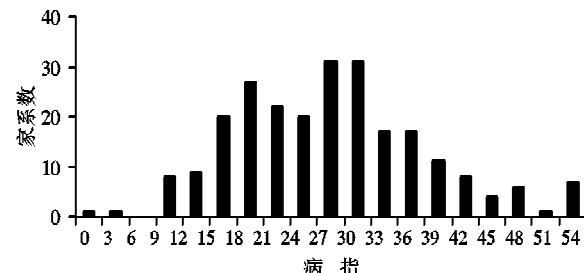


图 2 $F_{2,3}$ 家系黄萎病病指调查结果(7月23日)

Fig. 2 Evaluation on disease index of lines of $F_{2,3}$ on July 23

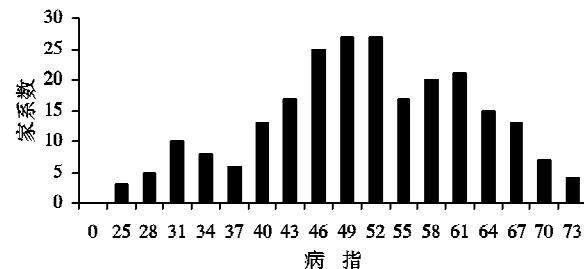


图 3 $F_{2,3}$ 家系黄萎病病指调查结果(8月23日)

Fig. 3 Evaluation on disease index of lines of $F_{2,3}$ on Aug. 23

2.2 亲本间分子标记多态性分析

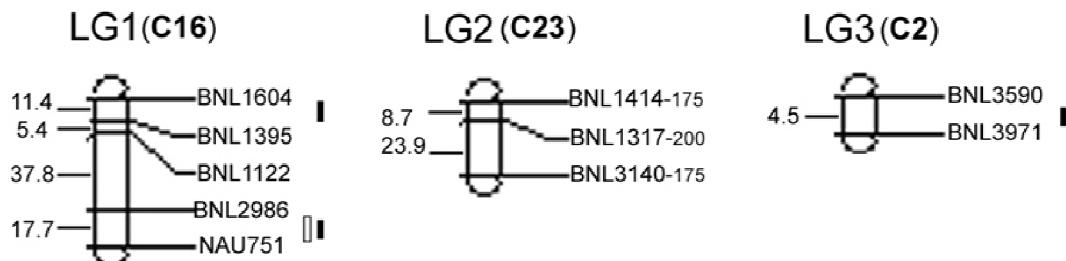
由于鲁棉研 22 号和鲁原 343 的杂交属于陆地杂交,亲本间多态性较差。本试验共用 317 对 SSR 引物,其中 217 对 BNL 引物中有 23 对(占 10.6%),另外 NAU 引物中能扩增到多态性的引物仅有 1 对,比例非常小。这从另一方面也说明,Cotton DB 数据库中的 SSR 引物序列数据庞大,在选择引物时应根据亲本材料的遗传背景和试验目的,有选择性地选用 SSR 引物。

2.3 连锁群构建和染色体定位

利用具有多态的 SSR 标记位点分析 F_2 群

体,获得的数据进行 χ^2 检验,有2个标记出现偏分离,不符合3:1的分离规律。用Mapmaker 3.0进行连锁分析,构建连锁图,有10个标记进入3个连锁群,14个标记未连锁,标记间最大距离37.8cM,最小距离4.5cM。根据棉花微卫星标记

(SSR)的数据库CMD(Cotton Microsatellite Database: <http://www.mainlab.clemson.edu/cmd/>AboutSSR.shtml)和已经发表的棉花分子标记连锁图^[2],确定这3个连锁群分别为四倍体棉花第16、第23和第2染色体上的片断(图4)。



□表示在棉花黄萎病发病相对较轻的7月份检测到的QTL;■表示在棉花黄萎病发病相对较重的8月份检测到的QTLs;LG1-LG3为连锁群序号;C16、C23和C2为该连锁群所在的染色体;距离单位为厘米(cM)

图4 利用(鲁棉研22×鲁原343) $F_{2,3}$ 在不同发病时期检测到的抗黄萎病QTLs

Fig. 4 *Verticillium* wilt resistance QTLs detected in different cotton developmental stages

2.4 抗黄萎性状的分子标记分析

利用WinQTLCart2.5软件对 $F_{2,3}$ 家系两次调查的黄萎病病指和 F_2 单株的分子标记结果进行抗黄萎病性状的分子标记分析。利用复合区间作图法^[22]分析7月份的调查结果,检测到一个QTL位点(*qVWR-16-1a*),位于第16染色体的连锁群LG1上,介于BNL2986与NAU751之间,与NAU751的距离为5.73cM,能解释的表型变异为16.53%(表1)。

分析8月份的调查结果,利用复合区间作图法检测到3个QTLs(表1),其中*qVWR-16-1b*位于第16染色体的连锁群LG1上,介于BNL2986与NAU751之间,与NAU751的距离为1.73cM,能解释的表型变异为10.27%,与在7月份棉花发病较轻时期检测到的位点*qVWR-16-1a*应为

同一位点。位于连锁群LG1上介于BNL1395和BNL2986之间的位点*qVWR-16-2b*,与BNL1395的距离为1.39cM,能解释的表型变异为10.8%。另外,*qVWR-2-1b*位于第2染色体的连锁群LG3上,与BNL3590连锁较紧密,能解释的表型变异为13.78%。虽然*qVWR-16-2b*和*qVWR-2-1b*两个位点的LOD值较小,但是利用单标记分析其紧密连锁的标记BNL1395和BNL3590与抗病性显著相关($P<0.05$)。未进入连锁群的标记利用DPS数据处理系统进行单标记分析,在棉花黄萎病发病较轻的7月份检测到BNL3279与抗病性相关($P<0.05$),发病较重的8月份检测到标记BNL827和BNL830与抗病性相关($P<0.05$)。

表1 利用(鲁棉研22×鲁原343) $F_{2,3}$ 家系检测到的与抗黄萎病性状有关的QTL位点

Table 1 QTLs for *Verticillium* wilt resistance in a $F_{2,3}$ population from Lumianyan 22×Luyuan 343

	QTLs	Chr.	Interval	Nearest marker	LOD	a	d	Var%
July	<i>qVWR-16-1a</i>	Chr. 16	BNL2986-NAU751	NAU751	3.5986	-5.3222	2.2194	16.53
August	<i>qVWR-16-1b</i>	Chr. 16	BNL2986-NAU751	NAU751	2.0693	-3.4550	0.0442	10.27
	<i>qVWR-16-2b</i>	Chr. 16	BNL1604-BNL1395	BNL1395	1.7324	3.3799	-0.6236	10.80
	<i>qVWR-2-1b</i>	Chr. 2	BNL3590-BNL3971	BNL3590	1.2593	-4.2853	2.7965	13.78

2.5 与抗黄萎性状连锁的分子标记在育种群体中的应用效果

利用鲁棉研22和鲁原343杂交的育种群体的 F_5 代株行取样提取DNA,并于8月下旬调查 F_5 代168个株行的黄萎病病指。利用与3个

QTL连锁较紧密的SSR标记分析 F_5 代的标记基因型与病指进行显著检验(表2)。BNL3590的父、母本纯合基因型后代黄萎病病指均值差为5.721,差异不显著。BNL1395和NAU751的抗性纯合基因型后代(AA)与等位的非抗性纯合基

因型后代(aa)病指均值差分别为11.344($P=0.0116$)和6.434($P=0.0184$),差异均达显著水平,两个标记的纯合基因型后代与其杂合基因型后代(Aa)的平均病指没有显著差异。

BNL1395和NAU751位于同一连锁群上,但抗性基因型来源却不同,只有在发生交换的情况下,两个标记的抗性基因型才能聚合到一起,但由于两标记间发生交换的频率较低,所以后代群体中聚合有BNL1395和NAU751抗性基因型($A_1A_1A_2A_2$)的后代较少。对聚合有 $A_1A_1A_2A_2$

型后代和聚合有 $a_1a_1a_2a_2$ 型后代的病指进行比较,两者间平均黄萎病病指差为18.383,差异极显著($P=0.0001$)。且聚合有 $A_1A_1A_2A_2$ 型的后代和仅含有一对抗性标记基因型(A_1A_1 或 A_2A_2)的后代相比,平均病指低甚至达显著水平。可见,BNL1395和NAU751既可以作为单标记辅助选择提高后代育种群体的抗病性,将两标记的抗性基因型聚合进行抗黄萎病性状的辅助选择,抗病性明显提高。

表2 利用连锁标记检测(鲁棉研22×鲁原343) F_5 代株行与病指表现

Table 2 The genotype of SSR marker linking with *Verticillium* wilt resistance and the disease indexes in F_5 population

位点	基因型	株行数	平均病指	均值差	F	P	抗性基因型来源
BNL1395	A_1A_1	33	32.935				鲁原343
	a_1a_1	78	44.280	11.344	7.091	0.0116	
	A_1A_1	33	32.935				
	A_1a_1	17	38.317	5.382	2.882	0.1068	
	A_1a_1	17	38.317				
	a_1a_1	78	44.280	5.963	3.208	0.0877	
NAU751	A_2A_2	68	35.402				鲁棉研22号
	a_2a_2	40	41.836	6.434	5.985	0.0184	
	A_2A_2	68	35.402				
	A_2a_2	21	37.943	3.541	0.992	0.3316	
	A_2a_2	21	37.943				
	a_2a_2	40	41.836	2.893	0.457	0.5140	
BNL3590	A_3A_3	66	37.763				鲁棉研22号
	a_3a_3	36	43.484	5.721	1.753	0.1949	
BNL1395+NAU751	$A_1A_1A_2A_2$	12	28.985				
	$a_1a_1a_2a_2$	27	47.368	18.383	21.044	0.0001	
	$A_1A_1A_2A_2$	12	28.985				
	A_1A_1	33	32.935	3.951	2.443	0.129	
	$A_1A_1A_2A_2$	12	28.985				
	A_2A_2	68	35.402	6.417	7.745	0.0071	

3 结论与讨论

近年来,利用分子标记进行作物重要农艺性状的定位发展很快。有关棉花抗黄萎病基因的QTL定位研究也有少量报道,但主要是利用抗病的海岛棉或陆地棉标准系TM-1和陆地棉杂交作

为基础群体^[12-14],这些研究基本上属于理论研究,所检测到的和抗黄萎病有关的QTL位点对于常规育种而言意义不大。而本研究的目的是分子标记辅助育种,因而所选用的亲本是优良的育种材料,检测到的和抗黄萎病有关的QTLs可以直接应用到抗病单株的选择中。这些标记能否用于其

它育种群体中,尚需进一步研究。

棉花的生长发育与黄萎病的发生有密切的关系,我们在抗病育种的选择过程当中注意到,营养生长旺盛、偏晚熟的个体往往不容易感染黄萎病。但是,这类个体可能并不具有抗病性尤其是抗病性的遗传基础,其表现出的抗性或耐性实质上是一种“避病性”。这就是很多育种家利用这类“抗病种质”作为抗病亲本,无法选育出理想的抗病品种的原因;也是利用不同的标记群体鉴定出的抗病位点不同的原因。因此,在陆地棉抗黄萎病育种和抗病性的遗传与分子标记研究中,选用适合的抗病亲本材料和选择适合的鉴定时期与鉴定方法同样极为重要。本研究通过对不同发育时期棉花抗黄萎病基因的 QTL 检测,发现在不同发育时期检测到的与抗黄萎病性状有关的位点有一定差异。在发育旺盛期棉花黄萎病较轻仅检测到一个位点($qVWR-16-1a$),在病情较重的发育后期检测到 3 个位点,其中一个位点($qVWR-16-2b$)与在棉花生长旺盛时期检测到的位点($qVWR-16-1a$)为同一位点。而另外两个位点 $qVWR-16-1b$ 和 $qVWR-2-1b$ 在棉花发病较轻时期没有检测到。这可能是由于生长旺盛期,营养生长抑制了黄萎病的发生,从而掩盖了某些抗病位点的检测。可见在进行抗黄萎病性状的分子标记连锁分析时,选择黄萎病发病较重的时期进行黄萎病调查是比较合适的。

利用检测到的与 3 个 QTL 位点连锁较紧密的 SSR 标记分析 F_5 代的标记基因型和 F_5 代株行黄萎病病指,进行显著检验。BNL3590 在纯合的父、母本基因型后代中,平均病指没有显著差异,这可能是由于本试验中检测到的与 BNL3590 连锁的抗性位点 LOD 值较小,或者因其具有较大的显性效应(表 1)。利用 BNL1395 和 NAU751 检测 F_5 代株行的标记基因型,并与 F_5 代株行的平均病指进行分析,两个标记纯合的父母本基因型后代平均病指均呈现显著差异,利用 BNL1395 或 NAU751 作为标记辅助选择可以提高育种群体的抗病性,当然由于数量性状中每个位点的贡献率是有限的,单标记辅助选择虽然能提高抗病性但也是有限的,而 BNL1395 和 NAU751 标记聚合的纯合抗性基因型后代与纯合的非抗性基因型后代的平均病指差异极显著,具有 $A_1A_1A_2A_2$ 的后代与 BNL1395 单标记纯合基因型(A_1A_1)相比,虽然差异不显著,但病指差

为 3.951,与 NAU751 的纯合抗性基因型(A_2A_2)相比,差异极显著。可见将数量性状中的多个标记聚合起来,应用于育种中辅助选择,效果会更好。

参考文献:

- [1] REINISCH A J, Dong J M, Brubaker C L, et al. A detailed RFLP map of cotton, *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense*: chromosome organization and evolution in disomic polyploid genome [J]. Genetics, 1994, 138:829-847.
- [2] ZHANG Jun, Guo Wang-zhen, Zhang Tian-zhen. Molecular linkage map of allotetraploid cotton (*Gossypium hirsutum* L. × *Gossypium barbadense* L.) with a haploid population[J]. Theor Appl Genet, 2002, 105:1166-1174.
- [3] BLENDA A, Scheffler J, Scheffler B, et al. A Cotton Microsatellite Database resource for *Gossypium genomics*[J]. BMC Genomics, 2006, 7:132.
- [4] WAGHMARE V N, Rong J, Rogers C J, et al. Genetic mapping of a cross between *Gossypium hirsutum* (cotton) and the Hawaiian endemic, *Gossypium tomentosum*[J]. Theor Appl Genet, 2005, 111: 665-676.
- [5] 罗明,李名扬,侯磊,等.棉花纤维发生相关 AFLP 标记[J].遗传学报,2001,28(7):677-682.
- [6] 袁有禄,张天真,郭旺珍,等.棉花高品质纤维性状 QTLs 的分子标记筛选及其定位[J].遗传学报,2001,28(12):1151-1161.
- [7] ZHANG Tian-zhen, Yuan Yiu-lu, Yu J, et al. Molecular tagging of a major QTL for fiber strength in Upland cotton and its marker-assisted selection[J]. Theor Appl Genet, 2003, 106(2):262-268.
- [8] 吴茂清,张献龙,聂以春,等.四倍体栽培棉种产量和纤维品质性状的 QTL 定位[J].遗传学报,2003, 30: 443-452.
- [9] 武耀廷,张天真,殷剑美.利用分子标记和形态学性状检测的陆地棉栽培品种遗传多样性[J].遗传学报,2001, 28(11): 1040-1050.
- [10] 范秀丽,喻树迅,宋美珍,等.短季棉早熟性的分子标记及 QTL 定位[J].棉花学报,2006,18(3): 135-139.
- [11] 郭旺珍,张天真,丁业掌,等.分子标记辅助聚合两个棉纤维高强主效 QTLs 的选择效果[J].遗传学报,2005,32(12):1275-1285.
- [12] 高玉千,聂以春,张献龙.棉花抗黄萎病基因的 QTL 定位[J].棉花学报,2003,15(2):73-78.

- [13] 杜威世,杜雄明,马峙英. 棉花黄萎病抗性基因 SSR 标记研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2004, 32(3):20-24.
- [14] 齐俊生,马 存,张元恩,等. 海岛棉抗黄萎病基因的 AFLP 分子标记[J]. 植物病理学报, 2001, 31 (3): 63-68.
- [15] 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[J]. 植物病理学报, 2005, 35(4): 333-339.
- [16] 苏学合,高国强,时香玉,等. 陆地型长绒棉鲁原 343 系的选育[J]. 核农学报, 2000, 14(3):180-183.
- [17] 沈其益. 棉花病害——基础研究与防治[M]. 北京: 科学出版社, 1992:264-269.
- [18] PATERSON A H, Brubaker C L, Wendel J F. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium* spp.) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1993, 11(3):122-127.
- [19] 王芙蓉,张 军,刘任重,等. 海岛棉 DNA 导入陆地棉品种获得变异种质的初步遗传分析[J]. 中国农业科学, 2005, 38(8):1528-1533.
- [20] HAN Zhi-guo, Wang Chang-bao, Song Xian-liang, et al. Characteristics, development and mapping of *Gossypium hirsutum* derived EST-SSRs in allotetraploid cotton[J]. Theor Appl Genet, 2006, 112(3): 130-139.
- [21] 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.
- [22] ZENG Z B, Kao C H, Basten C J. Estimating the genetic architecture of quantitative traits[J]. Genet Res, 1999, 74:279-289.
- [23] FLOR H H. Current status of the gene-for-gene concept [J]. Annul Review of Phytopathology, 1971, 9:275-296. ●