

棉花叶绿素含量和光合速率的 QTL 定位

秦鸿德, 张天真*

(作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京农业大学棉花研究所, 江苏 南京 210095)

摘要:为了探讨棉花光合作用及相关生理性状的遗传规律, 利用四交分离作图群体泗棉 3 号/苏 12//中 4133/8891 的 273 个 $F_{2:3}$ 家系为材料, 用 MAPQTL5.0 软件及区间作图方法(IM), 对棉花叶绿素含量及光合速率进行了 QTL 分析。检测到 3 个与叶绿素含量相关的 QTL, 分别位于染色体 D6、D8 和 A10, 解释性状表型变异的 4.3%, 4.5% 和 5.2%。检测到 3 个与光合速率相关的 QTL, 位于 D5、D6 和 A11 染色体, 解释性状表型变异的 3.8%, 7.4% 和 8.4%。两个性状所有 QTL 的遗传效应均以加性效应为主。本研究定位的棉花叶绿素含量和光合速率 QTL 均是首次报道, 可尝试应用于高光效育种的分子标记辅助选择。

关键词:棉花; 叶绿素含量; 光合速率; QTL 作图

中图分类号:S562 **文献标识码:**A

文章编号:1002-7807(2008)05-0394-05

QTL Mapping of Leaf Chlorophyll Content and Photosynthetic Rates in Cotton

QIN Hong-de, ZHANG Tian-zhen*

(State Key Laboratory of Crop Genetics & Germplasm Enhancement, Cotton Research Institute, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: In order to explore the genetic basis for photosynthesis and its related physiological trait of cotton, a mapping population of 273 $F_{2:3}$ inbred lines derived from a four-way cross of Simian 3/Sumian 12//Zhong 4133/8891 was employed to map quantitative trait loci (QTL) of leaf chlorophyll content and photosynthetic rates in cotton by interval mapping method with MAPQTL5.0. The results showed that a total of three QTLs were detected for leaf chlorophyll content on chromosome D6, D8 and A10, respectively, which explained 4.3%, 4.5% and 5.2% of the phenotypic variance, and a total of three QTLs were detected for photosynthetic rates on chromosome D5, D6 and A11, respectively, which explained 3.8%, 7.4% and 8.4% of the phenotypic variance. Additive effects were mainly genetics effects for all QTLs of two traits. These QTLs concerned with leaf chlorophyll content and photosynthetic rates in cotton were first reported, and these results should be very useful for marker-assisted selection in cotton high photosynthetic rates breeding program.

Key words: cotton; leaf chlorophyll content; photosynthetic rates; QTL mapping

近年来随着棉花上新标记的开发及棉花分子标记遗传图谱的日渐饱和, 棉花数量性状基因位点(Quantitative Trait Loci, QTL)的研究也有了较快的进展。但与棉花光能利用相关的生理性状

的 QTL 研究却少有报道。不少研究^[1-2]认为提高光合效率是栽培和育种学家取得作物高产的主要途径。Bhatt 等^[3-4]报道, 杂种 F_1 的光合速率表现出显著的光合优势。陈德华^[5]研究了开花后

干物质日增长量与棉株叶片的净同化率的关系后,认为提高棉花后期光合效率是进一步提高产量的必要条件。模拟研究也表明,在水肥条件适宜时,光合速率高的品种的产量远比光合速率低的品种高^[6]。

叶绿素是叶绿体的重要组成部分,是作物叶片光合作用的主要物质基础,也是叶片功能持续期长短的重要标志^[7-9]。叶绿素含量反映单位叶面积的光合单位数与体内含氮水平,可衡量植株光合作用能力强弱和衰老程度^[10]。后期叶绿素含量较高的品种,其叶片功能期较长,不易早衰,能更多地利用光能合成干物质,形成更多的经济产量。

已有研究表明,作物光合功能相关性状大多属于数量性状^[11-12]。分子标记技术与数量遗传学的结合,为剖析这些相关性状遗传规律提供了有效的手段^[13]。本研究以泗棉 3 号、苏棉 12、中 4133、8891 的四交群体的 F_{2:3} 家系(由四交 F₁ 自交一次得到)为材料,考查家系叶绿素含量和光合速率性状。采用区间作图方法,剖析控制棉花叶绿素含量和光合速率的数量性状基因位点(QTL)及其效应,为棉花育种中分子标记辅助选择提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 亲本材料和性状测量

皖杂 40、南抗 3 号、湘杂棉 2 号和中杂 028 是曾在我国长江流域棉区和黄河流域棉区大面积种植的几个优良杂交组合。它们的亲本分别是来自于长江流域棉区和黄河流域棉区的栽培品种。本文分别选用这四个优良杂交组合中的一个亲本泗棉 3 号、苏 12、中 4133、8891 建成一个四交作图群体。杂交方式为泗棉 3 号/苏 12//中 4133/8891。2004 年得到 280 个四交 F₁ 单株。收单株自交种,于 2005、2006 年在南京农业大学江浦实验站种植 273 个 F_{2:3} 家系。棉花打顶后一周用 Li-6400 便携式光合测定仪,于晴天上午 8:00-12:00 测定亲本和各家系主茎倒 5 叶的光合速率(Pn)。使用内置人工光源以消除自然光光强变化带来的实验误差。内置人工光源光照强度设置为 1200 μmol·m⁻²·s⁻¹ 固定值。启用仪器调节

叶室温度的空调器,将叶室温度设为 30℃ 固定值。启用空气干燥器。测量时,用设定的光照强度和叶室温度将叶片的光合速率诱导至一稳定值。每家系 3 株,取平均值。同时用日产叶绿素计(SPAD-502, Monito, Japan)^[14]测定亲本和各家系倒 5 叶的叶绿素含量(SPAD)。测定时取棉花倒 5 叶,重复测定 3 次,每个家系测定 5 株,取平均值。

1.2 连锁图谱和 QTL 检测

四交群体泗棉 3 号/苏 12//中 4133/8891 的分子标记连锁图谱由 286 个 SSR 标记构成,共覆盖棉花基因组 2113.3 cM,覆盖率达 42.3%,整个图谱标记间的距离平均为 7.4 cM,符合 QTL 分析要求。用 MAPQTL5.0^[15]进行 QTL 分析,采用区间作图法。光合速率用 2005 年一年数据检测 QTL,叶绿素含量用 2005、2006 两年数据的平均值检测 QTL。以连锁群 5% 显著水平的 LOD 值作为检测 QTL 的阈值(每性状经 1000 次排列测验确定 LOD 阈值)。当各 LOD 值大于阈值时,就认为该区域存在一个 QTL,其位置在 LOD 值的峰值对应点。以峰值向下 1 个 LOD 值单位的区间作为该 QTL 的置信区间。QTL 的加性效应、显性效应的估计采用 Xu^[16]提出的方法,即:

$$a_1 = (G_1G_3 + G_1G_4 - G_2G_3 - G_2G_4)/4$$

$$a_2 = (G_1G_3 + G_2G_3 - G_1G_4 - G_2G_4)/4$$

$$d = (G_1G_3 + G_2G_4 - G_1G_4 - G_2G_3)/4$$

a₁ 为第一个单交组合的加性效应, a₂ 为第二个单交组合的加性效应, d 为总的显性效应, G₁G₃、G₁G₄、G₂G₃、G₂G₄ 为四种 QTL 基因型的平均值。

2 结果

2.1 性状在亲本间的差异和在四交分离群体中的变异

从表 1 可以看出,叶绿素含量和光合速率在四个亲本间存在差异,四交分离群体内部变异较为明显,并表现超亲分离现象。群体中各性状均表现连续变异。性状表型值的统计分析表明,4 个性状在四交群体中均表现近似正态分布,适合 QTL 分析。

表 1 性状在亲本之间的差异及在四交分离群体 $F_{2:3}$ 家系内的变异Table 1 Phenotypic variation of two traits involved in 273 $F_{2:3}$ families and the four parent lines

	亲 本				四交分离群体 $F_{2:3}$ 家系			
	泗棉 3 号	苏棉 12	中 4133	8891	平均值	分布范围	峰度	偏度
叶绿素含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	41.12	48.13	45.03	49.24	44.15 ± 1.52	9.10~48.43	0.17	0.02
光合速率/ $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	27.66	29.65	28.24	29.72	28.04 ± 1.86	23.43~32.73	-0.46	-0.06

2.2 QTL 分析

利用 MAPQTL5.0 软件的区间作图法定位了叶绿素含量和光合速率两个性状共 6 个 QTL, 并将这些 QTL 分别定位到 5 条染色体上。QTL 的位置、邻近标记及效应见表 2, QTL 的染色体定位和置信区间见图 1。

2.2.1 叶绿素含量。在染色体 D6、D8 和 A10 上检测到 3 个与主茎倒 5 叶叶绿素含量相关的 QTL (qSPAD-1、qSPAD-2 和 qSPAD-3), 分别解释表型变异的 5.2%、4.3% 和 4.5%。qSPAD-1 的两个增效位点来自于泗棉 3 号和中 4133, 总的显性效应为负值; qSPAD-2 的两个增效位点来自于苏棉 12 和 8891, 总的显性效应为负值; qSPAD-3 的两个增

效位点来自于苏棉 12 和中 4133。3 个 QTL 的显性效应均小于加性效应, 表明叶绿素含量的遗传效应是以加性效应为主(表 2)。

2.2.2 光合速率。在染色体 D5、D6 和 A11 上检测到 3 个与主茎倒 5 叶光合速率相关的 QTL (qPn-1、qPn-2 和 qPn-3), 分别解释表型变异的 3.8%、8.4% 和 7.4%。qPn-1 的两个增效位点来自于苏棉 12 和 8891; qPn-2 的两个增效位点来自于泗棉 3 号和中 4133, 总的显性效应为负值; qPn-3 的两个增效位点来自于泗棉 3 号和中 8891。3 个 QTL 的显性效应均小于加性效应, 表明光合速率的遗传效应也以加性效应为主(表 2)。

表 2 棉花光合速率与叶绿素含量的 QTL 定位

Table 2 QTLs identified for photosynthetic rates and leaf chlorophyll content in cotton

QTL	连锁群	位置	邻近标记	95%置信区间	LOD 值	显著性阈值	基因型平均值				解释表型变异%	QTL 效应		
							G_1G_3	G_1G_4	G_2G_3	G_2G_4		a_1	a_2	d
qSPAD-1	D6(2)	4.0	TMK19	0-14.9	2.2	2.2	44.30	44.47	44.17	43.50	5.2	0.27	0.13	-0.21
qSPAD-2	D8	3.0	NAU3499	0-20.7	2.3	2.1	43.68	44.11	44.43	44.43	4.3	-0.26	-0.11	-0.11
qSPAD-3	A10	34.3	MUCS232	32.7-36.5	2.68	2.4	43.89	43.79	44.60	44.44	4.5	-0.34	0.06	-0.02
qPn-1	D5(1)	14.4	NAU3823	12.4-16.7	2.28	2.0	27.54	27.86	28.27	28.51	3.8	-0.34	-0.14	-0.02
qPn-2	D6(2)	60.6	NAU5210	48.2-65.6	2.78	2.6	28.41	28.43	28.03	26.93	8.4	0.47	0.27	-0.28
qPn-3	A11(1)	0.0	NAU3260	0.0-17.0	2.38	2.3	28.06	28.76	27.35	27.96	7.4	0.38	-0.33	-0.03

3 讨论

Maliepaard^[17]于 1994 年提出了用异交物种的全同胞家系进行 QTL 作图的方法, 并在苹果上应用。Xu^[16]于 1996 年首次提出了用自交物种的四交群体进行 QTL 定位的方法, 并提出了分析四交群体中 QTL 加性效应和显性效应的模型。同时也分析了四交群体用于 QTL 定位的优点。他认为在 QTL 定位上, 用四交群体检测 QTL 的效率要明显高于单交群体, 而且还可以降低发生统计上 II 类错误的概率。我们用四交群体检测棉花产量和纤维品质 QTL 时也验证了这一观点。本文是用 Maliepaard^[17]提出的 QTL 作图的方法和 Xu 提出的四交群体中 QTL 加性效应和显性效应的模型在同一四交群体中检测棉花光合功能相关性状 QTL 的结果。

棉花的光合速率是复杂的生理性状, 受众多遗传与非遗传因素的影响。El-shakawy^[18]最早研究了棉花不同基因型的光合速率, 报道了不同染色体组棉种光合速率的差异, 其中 C, E, AD 组棉种光合速率较高, B, D, A 组棉种光合速率较低, 栽培种中, 陆地棉和海岛棉的光合速率高于亚洲棉和非洲棉。张小彩等^[19-21]报道了陆地棉不同品种间光合速率的差异, 认为陆地棉不同品种间光合速率具有较大的差异, 存在进一步改良的遗传基础。

除了基因型影响外, 光照强度、 CO_2 浓度、温度、水分、生育期^[22]、叶片部位^[23]均会影响到棉花的光合作用。但一般认为, 不同棉花品种, 在成铃期的光合速率的差异较大, 并且与产量的相关性最高, 此时“库”对“源”的限制也最低; 对于单株来说, 主茎倒 4、5 叶的光合能力最强, 可代表单株的光合水平。本研究中, 在棉花打顶后, 用 Li-

6400 便携式光合仪,人为控制光照强度、叶片温度及空气水分,测量主茎倒 5 叶的光合速率,尽可能地消除非遗传因素的影响。然而,除了以上因素外,棉花单叶光合速率还与棉株的营养状况、棉花体内影响光合作用的生理因素之间的相互作用等有关。复杂的遗传因素和环境因素以及两者的相互作用,会在不同程度上影响 QTL 的定位效果。和其它作物有关光合速率 QTL 研究一样^[24],本研究检测到的相关 QTL 的 LOD 值也只达到连锁群水平上的显著性而未达到基因组水平上的显著性就说明了这一点。

目前,有关棉花光合功能相关性状叶绿素含量 QTL 定位已有少量研究报道。宋宪亮^[25]用海陆杂交组合 BC 群体,在 Chr18(D13)和 Chr20(D10)分别检测到一个与叶绿素含量相关的可能的 QTL,解释表型变异的 6.6%和 6.2%;宋美珍^[26]用陆地棉品种间的杂交组合 F₂ 群体,检测

到一个总叶绿素含量的 QTL,位于 Chr18(D13)上,解释表型变异的 6.5%;Saranga^[27]在海陆杂交组合 F₂ 群体中检测到 3 个叶绿素 a 含量和 4 个叶绿素 b 含量的 QTL,但未进行染色体定位。我们的结果中,D10、D13 均未检测到与叶绿素含量相关的 QTL,而是在 D6、D8 和 A10 上各检测到一个 QTL。

光能利用率的提高是作物产量提高的必要条件,光合速率及其相关性状是棉花高光效育种的主要目标性状之一。在育种工作中,评价棉花光合能力远不如评价产量、品质性状方便。这也是棉花高光效育种进展缓慢的主要原因之一。如果能找到与光合能力紧密连锁的分子标记,将会极大地促进棉花高光效育种。本研究定位的棉花光合性状相关 QTL 均是首次报道,可尝试应用于棉花高光效育种的分子标记辅助选择。

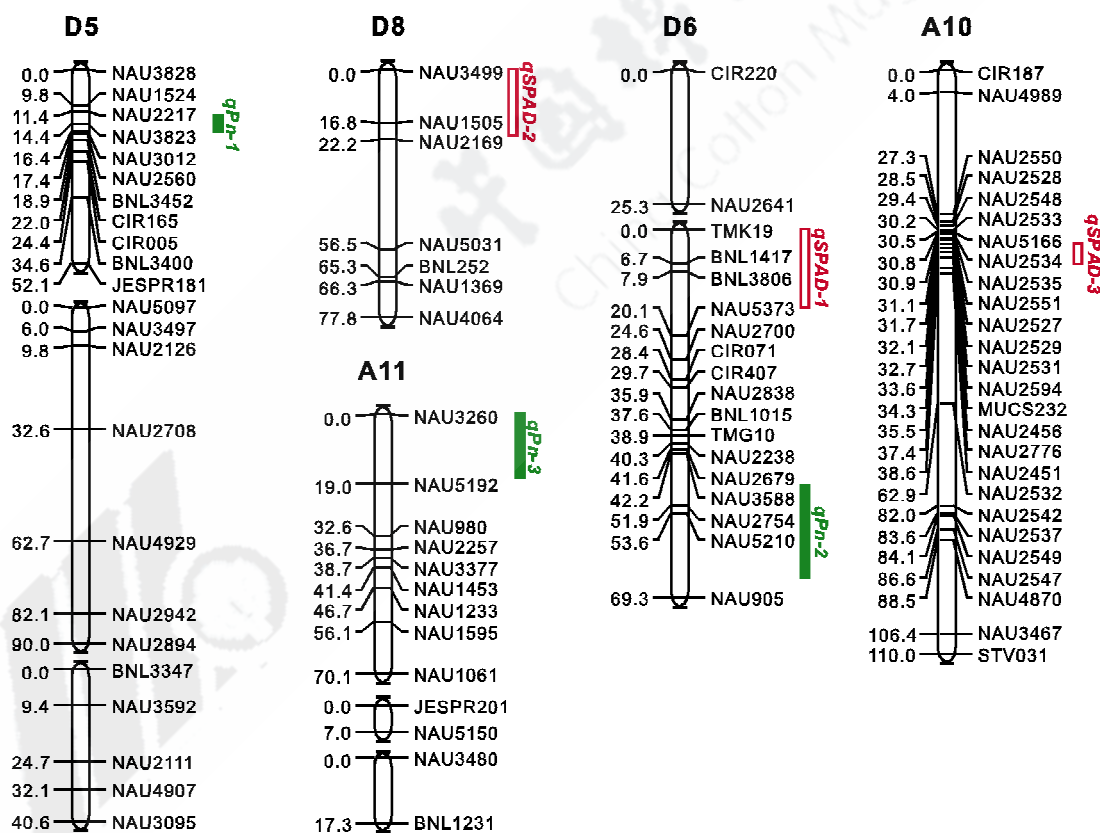


图 1 叶绿素含量和光合速率 QTL 在染色体上的位置

Fig. 1 Chromosomal location of QTLs for leaf chlorophyll content and photosynthetic rates in cotton

参考文献:

[1] 屠曾平,蔡惟涓,刘 斌,等. 杂种稻的光合适应性及光合生产力研究[J]. 中国水稻科学, 1993, 7 (3): 193-198.

[2] 赵会杰,邹 琦,于振文. 叶绿素荧光分析技术及其在植物光合机理研究中的应用[J]. 河南农业大学学报, 2000, 34(3): 248-251.

[3] BHATT J G, Rao M R K. Heterosis in growth and photosynthetic rates in hybrids of cotton[J]. Euphytica, 1980, 30:129-133.

- [4] 陈祖海, 刘金兰, 聂以春. 陆地棉族系种质系与陆地棉品种间的杂种优势利用研究[J]. 棉花学报, 1994, 6(3):151-154.
- [5] 陈德华, 吴云康, 蒋德铨, 等. 棉花优化栽培的群体光分布动态及光合生产的研究[J]. 棉花学报, 1995, 7(2):113-117.
- [6] LANDIVAR J A, Baker D N, Jenkins J N. Application of GOSSYM to genetic feasibility studies. II. Analyses of increasing photosynthetic, specific leaf weight and longevity of leaves in cotton[J]. Crop Sci, 1983, 25:504-510.
- [7] 郝乃斌, 戈巧英, 张玉竹, 等. 高光效大豆光合特性的研究[J]. 大豆科学, 1998(3):283-286.
- [8] 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):57-60.
- [9] 牛立元, 茹振钢, 赵花周, 等. 小麦叶片叶绿素含量系统变化规律的研究[J]. 麦类作物, 1999(2):36-38.
- [10] 张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论[J]. 植物学通报, 1999, 16(4):444-448.
- [11] DELPHINE H, Francoise F, Ericka F B, et al. QTL analysis of photosynthetic and water status traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.) undergreenhouse conditions[J]. J Exp Bot, 2001, 52: 1857-1864.
- [12] FRACHEHOUT Y, Ribout J M, Vargas M, et al. Identification of quantitative trait loci for cold-tolerance of photosynthetic in maize (*Zea mays* L.) [J]. J Exp Bot, 2002, 53: 1967-1977.
- [13] PRIOUL J L, S teve Q, Mathide C, et al. Dissecting complex physiological functions through the use ofmolecular quantitative genetics [J]. J Exp Bot, 1997, 48: 1151-1163.
- [14] 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.
- [15] VAN Ooijen J W. MapQTL 5. 0; Software for the mapping quantitative trait loci in experimental populations[M]. Wageningen (the Netherlands): Plant Research International, 2004.
- [16] XU S. Mapping quantitative trait loci using four-way crosses[J]. Genet Res, 1996, 68: 175-181.
- [17] MALIEPAARD C, Vanooijen J W. QTL mapping in a full-sib family of an outcrossing species[N]. //Van Ooijen J W, Jansen J. Biometrics in Plant Breeding: Applications of Molecular Markers. Wageningen, The Netherlands; CPRO-DLO, 1994:140-146.
- [18] EL-SHAKAWY M, Hesketh J, Muramoto H. Leaf photosynthetic rates and other growth Characteristics Among 26 Species of *Gossypium*[J]. Crop Sci, 1965, 5:173-175.
- [19] 张小彩, 陈布圣. 棉花光合性能的变化规律[J]. 中国棉花, 1986, 13(3):21-23.
- [20] 潘学标, 刘明孝, 蒋国柱. 气象环境和遗传型对棉花光合作用及干物质生产影响的研究[J]. 棉花学报, 1989, 1(1): 45-54.
- [21] 王庆华, 朱绍琳, 李宗岳, 等. 中美陆地棉育种系统品种(系)性状比较[J]. 中国棉花, 1994, 21(8):28-29.
- [22] 张月娟. 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):14-17.
- [23] WELSCHELGER S D. Photosynthetic and respiratory activity of fruiting from within the cotton canopy [J]. Plant physiol, 1990, 95:403-409.
- [24] 胡茂龙, 张迎信, 孔令娜, 等. 水稻光合作用及相关生理性状的 QTL 分析(英) [J]. 作物学报, 2007, 33(2):183-188.
- [25] SONG X L, Guo W Z, Han Z G, et al. Quantitative trait loci mapping of leaf morphological traits and chlorophyll content in cultivated tetraploid cotton [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2005, 47(11):1382-1390.
- [26] 宋美珍. 短季棉早熟不早衰生化遗传机制及 QTL 定位[D]. 北京:中国农业科学院, 2006.
- [27] SARANGA Y, Menz M, Jiang C X, et al. genomic dissection of genotype \times environment interactions conferring adaptation of cotton to arid conditions [J]. Genome Res, 2001, 11: 1988-1995. ●