



专题与述评

## 棉花遗传连锁图谱及其应用研究进展

张 轲, 张正圣\*

(农业部作物品质改良与生物技术重点实验室,  
西南大学农学与生物科技学院, 重庆 400715)

**摘要:**基于 DNA 标记的遗传连锁图谱, 是研究植物基因组结构、功能以及进化的重要工具。随着分子标记技术的发明和应用, RFLP, RAPD, AFLP, SSR 等多种 DNA 标记技术被用于棉花遗传连锁图谱的构建以及棉花重要农艺性状基因的定位。本文通过对现有异源四倍体棉种的遗传图谱的分析, 发现异源四倍体棉花种间遗传图谱已相对饱和, 但所构建陆地棉种内遗传连锁图的基因组覆盖率低; 同时 QTL 定位研究较多, MAS、图位克隆和物理图谱构建工作已经展开。今后棉花遗传图谱的研究任务, 一方面是增加现有种间图谱的标记密度, 另一方面是构建覆盖陆地棉全基因组的遗传图谱。

**关键词:**棉花; 分子标记; 遗传连锁图谱; 应用

中图分类号: S562.032 文献标识码: A

文章编号: 1002-7807(2008)06-0460-10

## Advances in Cotton Genetic Linkage Map and Its Application

ZHANG Ke, ZHANG Zheng-sheng \*

(Key Laboratory of Biotechnology & Crop Quality Improvement of Ministry of Agriculture, College of Agronomy and Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400715, China)

**Abstract:** Genetic linkage map based upon DNA marker provides an essential tool to study genome structure, function, and evolution. With the invention and application of DNA markers, many kinds of markers, such as RFLP, RAPD, AFLP, SSR and SRAP, have been employed in mapping many importantly agronomical genes and/or QTLs. Through analyzing the present allotetraploid cotton genetic linkage map, we found that the representative interspecific linkage map was relatively saturated, and the intraspecific upland linkage map only covered a small part of cotton genome. Meanwhile, many studies about agronomical QTL mapping completed, and the studies about MAS, map-based cloning and physical map have started. Therefore, the further work is to increase the marker density of interspecific linkage map, and construct the intraspecific upland genome-wide linkage map.

**Key words:** cotton; molecular markers; genetic linkage maps; application

遗传连锁图谱的构建是遗传学研究的一个重要领域, 它为人们进一步认识基因组组成、重要经济性状基因定位和克隆奠定了基础。1913 年 Sturtevant 构建了第一张遗传连锁图谱<sup>[1]</sup>。经典的遗传图谱根据形态、生理和生化标记构建。由于这些标记的数量有限, 所以构建的图谱分辨率低、饱和度不高, 应用有限。20 世纪 80 年代以后, DNA 分子标记技术的快速发展, 大大加速了连锁图谱的构建工作, 使得构建密度高、覆盖面广

的连锁图谱成为可能。迄今为止, 主要农作物如玉米、水稻、番茄、大豆等都已构建了比较完善的遗传连锁图。与其它作物相比, 棉花遗传连锁图的构建相对落后。其主要原因有两方面: 一是早期棉花分子生物学研究中存在一系列的技术难关, 尤其是棉花高质量 DNA 的快速提取<sup>[2]</sup>; 二是棉花的 DNA 标记多态性低。自 Reinisch 等<sup>[3]</sup>利用异源四倍体海岛棉与陆地棉种间杂交 F<sub>2</sub> 群体构建了第一张 RFLP 遗传连锁图以来, 利用

收稿日期: 2007-06-29 作者简介: 张轲(1982-), 男, 硕士; \* 通讯作者, zhangzs@swu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金项目(30571187); 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2006AA10Z1D3)

RFLP、AFLP、RAPD、SSR 和 SRAP 标记, Zhang 等、Song 等、Rong 等、Han 等、Guo 等、Altaf 等、Jiang 等、Khan 等、Brubaker 等、Kohel 等、Lacape 等、Mei 等、Park 等、He 等、Waghmare 等、Nguyen 等利用海岛棉与陆地种间杂交群体, 构建了棉花种间高密度遗传连锁图<sup>[4-21]</sup>。在陆地棉种内图谱方面, 利用 RFLP、RAPD、AFLP、SSR 和 SRAP 标记, Shappley 等、Ulloa 等、Zhang 等、Shen 等、Wang 等、左开井等、Wan 等利用陆地棉品种间杂交群体构建了陆地棉种内遗传连锁图谱<sup>[22-38]</sup>。目前, 用于构建棉花遗传图谱的群体主要有 BC<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>、DH、RIL 等, 早期的棉花遗传图谱大多利用海陆杂种的 F<sub>2</sub> 或 F<sub>2:3</sub> 群体构建的, 作图群体植株个数少, 图谱准确性差。随着高密度棉花遗传图谱研究工作的展开, RIL 等作图群体被广泛用于棉花遗传图谱的构建, 使得棉花遗传图谱的准确性大大提高。近期棉花遗传图谱研究进展尤为迅速, 本文对棉花遗传图谱在海陆种间和陆地棉种内两方面的研究进展及其应用进行了综述。

## 1 棉花遗传连锁图谱构建

### 1.1 海陆种间遗传连锁图谱

1994 年 Reinisch 等<sup>[3]</sup>发表了第一个详尽的异源四倍体棉花 RFLP 图谱, 其主要研究成果是: (1) 利用陆地棉的单体、端体和置换系等非整倍体材料, A 染色体组的亚洲棉 A247 和草棉 A197 以及 D 染色体组的三裂棉和雷蒙德棉, 分别比较图谱上的 RFLP 位点, 使得大部分连锁群确定了所属的染色体亚组, 并精确确定了 14 对染色体与对应的连锁群。(2) 根据部分探针 RFLP 位点的遗传特性, 结合该图谱, 初步确定了 11 对部分同源染色体。(3) 根据部分探针 RFLP 位点的遗传特性, 结合该图谱, 初步确定了 11 对部分同源染色体。(4) 该图谱确定的棉花基因组遗传距离与基因组物理距离的关系大致是 1 cM, 相当于 400 kb 的基因组 DNA。

Zhang 等<sup>[4]</sup>利用 DH 群体构建了第一张以 PCR 为基础的分子标记图谱。由于单倍体的获得和加倍存在较大困难, 该图谱的作图群体只有 58 株, 相对较小。Song 等<sup>[5]</sup>扩充 Zhang 等<sup>[4]</sup>的群体到 73 个系, 并建立了含有 140 个单株的回交群体, 以这两个群体分别进行图谱构建, 并把 DH 群体图谱和回交群体图谱进行了比较。

Rong 等<sup>[6]</sup>以 Reinisch 等<sup>[3]</sup>所用杂交群体为材料, 在原探针的基础上增加了基因组探针、cDNA 探针、SSR 标记、以及拟南芥的 cDNA 探针、功能推定的 EST 序列, 对 Reinisch 等的图谱进行

了大量的补充和修订, 修订后图谱约每 774 kb 上有 1 个分子标记。Han 等<sup>[7]</sup>利用 119 对 EST-SSR 引物对海陆种间 BC<sub>1</sub> 群体进行了多态性检测, 共检测到了 130 个位点, 并将其中的 123 个位点添加到了 Song 等<sup>[5]</sup>的图谱中。He 等<sup>[18]</sup>利用海陆种间 F<sub>2</sub> 群体构建的遗传图谱包括 1029 位点, 标记间的平均距离为 5.32 cM, 覆盖 26 个连锁群的 5472.3 cM。在这些图谱中, Rong 等构建的图谱标记最多, 标记间的距离最小, 是基因组覆盖率相对饱和的棉花海陆杂种图谱。但该图谱主要存在以下问题: 一是选用的作图亲本是陆地棉的野生种系和海岛棉, 因而无法代表异源四倍体栽培种; 二是还存在一些空隙(gap), 共有 41 个区间(interval)相邻两标记间的距离大于 10.0 cM, 如第 14 染色体上存在一个相邻两标记间的距离为 19.2 cM; 三是 2584 个位点中绝大部分为 RFLP 位点, 难以在棉花遗传改良中应用。而其它海陆杂种遗传图谱标记偏少, 但基因组覆盖率偏高, 其可能原因: 一是作图群体个体数目较少, 标记位置存在偏差; 二是可能与使用的作图软件有关。如使用 JoinMap 所建图谱的基因组覆盖率相对较小, 而使用 MapMaker 所建图谱的基因组覆盖率相对较大。

Guo 等<sup>[9]</sup>利用 Han 等<sup>[7]</sup>建立的 BC<sub>1</sub> 群体添加 883 个位点到 Han 等<sup>[7]</sup>构建的图谱中, 构建的图谱包括 1790 个位点, 覆盖 26 个连锁群的 3425.8 cM。该图谱 71.96% 位点为基因组功能位点, 这些功能位点中的 87.11% 为 eSSR 位点, 并对 eSSR 位点进行了功能分析。因为这些 eSSR 标记在图谱中的分布可反映基因的分布, 所以该图谱定位的功能位点不仅可以用于棉花比较作图、棉花基因组进化及功能研究, 也可以用于棉花分子标记辅助育种及基于遗传图谱的图位克隆研究。但该图谱同样存在一些问题, 如存在一些空隙(gap), 共有 33 个区间(interval)相邻两标记间的距离大于 10.0 cM, 如 D1 染色体上存在一个相邻两标记间的距离为 28.0 cM。还有些染色体上标记较少, 这可能是由于该染色体本身存在基因较少, 也可能是因为标记的随机分布性。该图谱以 eSSR 标记为主, 比 Rong 等构建的 RFLP 标记遗传连锁图谱在棉花遗传改良的应用上更具有实际价值。

迄今, 国内外已发表的棉花种间分子遗传图谱的分子标记有 RFLP, AFLP, SSR, EST-SSR, REMAP 和 SRAP 等标记(表 1)。

表1 已发表的主要棉花种间遗传连锁图谱

Table 1 Published genetic linkage maps of cotton using interspecific population

标记类型	位点数	总图距	群体类型	群体来源
RFLP	705	4675	F <sub>2</sub>	<i>G. hirsutum</i> race "palmeri" × <i>G. barbadense</i> acc. "K101" <sup>[3]</sup>
RFLP	271	3767	F <sub>2</sub>	<i>G. hirsutum</i> cv. "CAMD-E" × <i>G. barbadense</i> cv. "Sea Island Seaberry" <sup>[11]</sup>
RFLP, RAPD	355	4766	F <sub>2</sub>	<i>G. hirsutum</i> cv. TM-1 × <i>G. barbadense</i> cv. 3-79 <sup>[14]</sup>
(SSR, RAPD)	489	3314.5	DH	<i>G. Hirsutum</i> cv. TM-1 × <i>G. barbadense</i> cv. Hai 7124 <sup>[4]</sup>
AFLP, RFLP, SSR, morphological marker	888	5500.0	BC <sub>1</sub>	( <i>G. hirsutum</i> cv. Guazuncho 2 × <i>G. barbadense</i> cv. VH8-1602) × <i>G. hirsutum</i> cv. Guazuncho 2 <sup>[15]</sup>
AFLP, RFLP, SSR, morphological marker	1160	5519.0	BC <sub>1</sub>	( <i>G. hirsutum</i> cv. Guazuncho 2 × <i>G. barbadense</i> cv. VH8-1602) × <i>G. hirsutum</i> cv. Guazuncho 2 <sup>[21]</sup>
AFLP, RFLP, SSR	392	3287	F <sub>2</sub>	<i>G. hirsutum</i> cv. Acala 44 × <i>G. barbadense</i> cv. Pima S-7 <sup>[16]</sup>
RFLP, SSR, isozyme	2584	4447.9	F <sub>2</sub>	<i>G. hirsutum</i> race "palmeri" × <i>G. barbadense</i> acc. "K101" <sup>[6]</sup>
SSR, morphological marker	624	5644.3	BC <sub>1</sub>	( <i>G. hirsutum</i> cv. TM-1 × <i>G. barbadense</i> cv. Hai 7124) × <i>G. hirsutum</i> cv. TM-1 <sup>[7]</sup>
SSR	444	3262.9	DH	<i>G. hirsutum</i> cv. TM-1 × <i>G. barbadense</i> cv. Hai 7124 <sup>[5]</sup>
SSR	443	4331.2	BC <sub>1</sub>	<i>G. hirsutum</i> cv. TM-1 × <i>G. barbadense</i> cv. Hai 7124 <sup>[5]</sup>
SSR, CSR	193	1277	RIL	<i>G. hirsutum</i> cv. TM-1 × <i>G. barbadense</i> cv. Pima 3-79 <sup>[17]</sup>
SSR, SRAP, RAPD	566	5148.8	F <sub>2</sub>	<i>G. hirsutum</i> cv. Handan 208 × <i>G. barbadense</i> cv. Pima 90 <sup>[18]</sup>
RFLP	589	4259.4	F <sub>2</sub>	<i>G. hirsutum</i> cv. TMS-22 × <i>G. tomentosum</i> acc. WT936 <sup>[20]</sup>
SSR, morphological marker	907	5060	BC <sub>1</sub>	( <i>G. hirsutum</i> cv. TM-1 × <i>G. barbadense</i> cv. Hai 7124) × <i>G. hirsutum</i> cv. TM-1 <sup>[8]</sup>
SSR, SRAP, RAPD, REMAP	1029	5472.3	F <sub>2</sub>	<i>G. hirsutum</i> cv. Handan 208 × <i>G. barbadense</i> cv. Pima 90 <sup>[19]</sup>
SSR, SRAP	1790	3425.8	BC <sub>1</sub>	<i>G. hirsutum</i> cv. TM-1 × <i>G. barbadense</i> cv. Hai 7124 <sup>[9]</sup>

注:RIL = recombinant inbred line;DH = doubled haploid.

上述图谱是利用异源四倍体棉种间杂交群体构建,因而属于异源四倍体棉种的物种图谱。由于所用作图亲本的亲缘关系比较远,因而比较容易获得覆盖整个四倍体棉种基因组的分子标记位点,其作为物种图谱在研究基因组结构方面具有重要的意义。一方面可在进行QTL精细定位后,通过图位克隆,获得某一个特定的海岛棉优良性状基因,另一方面通过分子标记辅助选择,将海岛棉的优良基因转移到陆地棉。然而,图位克隆涉及遗传图谱、物理图谱的构建;基因组文库或cDNA文库的建立与筛选;近等基因系等群体的选育以及DNA测序、基因表达分析和互补测验等,耗时长,花费大。同时,由于海岛棉与陆地棉在产量、抗病性、熟性上的差异大,通过分子标记辅助选择,存在与目标性状紧密的不利基因,因此,只能通过回交转移进行少数性状的改良。虽然海陆杂种的遗传图谱已相对饱和,但对于栽培棉种陆地棉和海岛棉而言,由于二者在产量、纤维品质以及对病虫害的抗性等方面具有明显的不同,

使得利用异源四倍体棉种的物种图谱鉴定与定位的棉花重要农艺性状的基因难于直接应用<sup>[22,25-26]</sup>。如果要对目前世界上主要的栽培种陆地棉的重要农艺性状进行精确定位,则需要构建覆盖全基因组的陆地棉种内图谱。

## 1.2 陆地棉种内遗传连锁图谱

针对海陆杂种的遗传图谱难以应用于陆地棉的遗传改良,Shappley等<sup>[22-23]</sup>利用陆地棉品种间杂交F<sub>2</sub>群体,构建了陆地棉的RFLP图谱。Shappley等构建的图谱包括120个RFLP位点,31个连锁群,覆盖865 cM。Ulloa和Meredith<sup>[25-26]</sup>利用陆地棉品种间杂交F<sub>2</sub>群体构建了包括81个RFLP标记,17个连锁群,覆盖700.7 cM的遗传连锁图。左开井等<sup>[32]</sup>利用陆地棉品种泗棉3号与转Bt基因的鄂荆1号杂交F<sub>2</sub>群体的152个单株,构建的图谱包括67个位点,8个连锁群,覆盖1337.4 cM,基因组覆盖率为26.75%。Ulloa等<sup>[27]</sup>利用4个陆地棉品种间杂交F<sub>2</sub>群体构建了分子遗传连锁整合图,图谱包括

284 个 RFLP 标记, 47 个连锁群, 覆盖 1502.6 cM。Zhang 等<sup>[28]</sup> 利用陆地棉品种渝棉 1 号与 T586 杂交的 117 个 F<sub>2</sub> 单株群体, 构建的图谱包括 70 个标记, 总长为 525 cM。Shen 等<sup>[29]</sup> 利用陆地棉品种 7235 和 TM-1 杂交的 RIL 群体, 构建了含 110 个 SSR 位点, 覆盖 810.7 cM 的图谱。Shen 等<sup>[30]</sup> 利用该 RIL 群体构建的图谱含 156 个 SSR 位点, 覆盖 1024.4 cM, 基因组覆盖率约为 22.8%。Wang 等<sup>[31]</sup> 利用陆地棉品种湘杂 2 号与中棉所 12 杂交的 180 RILs, 构建的图谱含 132 个 SSR 位点, 覆盖 865.20 cM, 基因组覆盖率约为 18.57%。

以上陆地棉种内遗传图谱标记数和基因组覆盖率远落后于种间图谱, 其主要原因是陆地棉品种间的遗传差异少, 分子标记的多态性低, 不能覆盖全基因组。因此, 开发大量新型分子标记, 构建覆盖陆地棉全基因组的遗传连锁图谱, 对陆地棉纤维品质、产量、抗病等性状的基因/QTL 进行定位就显得更加重要。但是到目前为止, 利用单个陆地棉品种间杂交群体所构建遗传连锁图谱基因组覆盖率仅为 23%, Ulloa 等<sup>[17]</sup> 利用 4 个陆地棉品种间杂交群体构建的整合遗传连锁图谱基因组覆盖率也仅约为 31%。所以构建高密度的陆地棉种内连锁图谱成为现在棉花遗传改良的首要任务。

## 2 遗传图谱的应用

### 2.1 棉花 QTL 定位

数量性状 QTL 定位就是检测分子标记与 QTL 之间的连锁关系, 并且估计出 QTL 效应值, QTL 定位依赖高密度的分子连锁图谱。随着分子标记技术的发展, 遗传图谱的饱和程度越来越高, 越来越多的 QTL 被定位, 这些 QTL 包括纤维品质、产量及产量构成、抗虫、抗病、花期等<sup>[34-66]</sup>。表 2 列出了已经定位的 QTL。

大量被定位的 QTL 有利于人们对性状分子遗传机理深入了解, 同时也是实施分子标记辅助选择的起点。目前, 棉花 QTL 定位主要存在以下问题: (1) 不同研究使用的亲本材料不同, 给遗传图谱的整合和 QTL 的比较定位带来难度; (2) QTL 位置和效应不精确; (3) 许多研究(尤其是国外)使用的是 RFLP 标记, RFLP 自身的缺点限制了相应标记位点的应用。(4) 陆地棉种内 QTL 定位进展落后于种间。

### 2.2 主效 QTL 的分子标记辅助选择 (marker assisted selection, MAS)

近年来, QTL 的应用已经渗透到作物育种的诸多领域。尽管目前棉花 QTL 的定位工作尚不能满足育种要求, 也没有哪个数量性状的全部 QTL 被精确定位出来, 对 QTL 间的互作, 上位性效应及环境影响等尚缺乏充分的了解。但基于主效应 QTL 的 MAS 还是取得了一些令人鼓舞的进展。特别是在棉花的纤维品质、抗虫性、抗病性、细胞质雄性不育的主效 QTL 选择上进展较快。

**2.2.1 纤维品质的 MAS。** Zhang 等<sup>[44]</sup> 以具高纤维品质的 *G. anomalum* 基因渗入系 7235 为材料, 定位了 1 个与纤维强度有关的主效 QTL, 此 QTL 与 8 个标记相关联, 解释超过 30% 的表型变异, 该 QTL 被定位在 D03 染色体上<sup>[56]</sup>。郭瑛等<sup>[66]</sup> 得到一个长度为 1274 bp 的纤维蛋白 cDNA。Guo 等<sup>[67]</sup> 将一个 RAPD 标记转换为 SCAR 标记, 发现标记 SCAR4311920 可以用于育成群体中大规模筛查纤维强度的主效 QTL。不同品种对高强纤维贡献大的主基因是不同的, 通过分子标记辅助聚合育种, 将这些高强纤维位点聚合于一体, 可培育不同高强纤维的商业栽培超强纤维品系<sup>[56]</sup>。

Wang 等<sup>[31]</sup> 在四个环境中发现湘杂 2 号中一个稳定的棉花纤维长度的 QTL-*qFLD2-1*。该 QTL 的高度稳定性, 在分子标记辅助选择中具有应用潜力。Chee 等<sup>[48]</sup> 利用构建的 RFLP 图谱分析了决定棉花纤维长度的 15 个参数的遗传突变分子基础。该研究发现每一性状由许多 QTLs 控制, 这说明为了获得最大遗传增益, 育种的重点应放在每一单一性状上。Lacape 等<sup>[53]</sup> 对利用 “Gazuncho2” (*G. hirsutum*) 与 “VH8” (*G. barbadense*) 的 BC<sub>1</sub>、BC<sub>2</sub>、BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub> 回交世代, 分析了棉花纤维品质相关的 11 个参数。在一个或多个回交群体中分别发现了 15 个纤维长度的 QTLs, 12 个纤维强度的 QTLs, 21 个纤维细度的 QTLs, 16 个纤维颜色的 QTLs。结果表明, 大多 QTLs 的有利等位基因来自亲本海岛棉, 易发生不同性状的 QTLs 共域化。以这些富含 QTLs 的染色体区域为出发点, Lacape 等在 15 个染色体上发现了 19 个区域可作为分子标记辅助基因渗入的目标区域。这些与 DNA 标记连锁的海岛棉 QTLs, 对于棉花的遗传改良是一重要财富。

表 2 已定位的棉花数量性状基因/QTLs

Table 2 QTLs/genes identified for various traits in cottons

性状/基因	亲本材料	性状/基因	亲本材料
Agronomic and fiber traits	MARCABUCAG8US-1-88 and HS46 <sup>[24]</sup>	Leaf and stem pubescence	Guazuncho 2 and VH8-4602 <sup>[20]</sup>
Agronomic and fiber quality traits	MD5678ne and Prema <sup>[44]</sup>	Li1, Li2, N1, Fbl, n2, sma-4 (ha) and sma-4 (fz)	Pima S-7, Li1, Li2, N1, Fbl, n2, SMA4, A1-97 <sup>[47]</sup>
Density of leaf and stem trichomes	Pima S-7 and Empire B2b6 <sup>[36]</sup>	Lint percentage and fiber quality traits	Yumian 1 and T586 <sup>[17]</sup>
Fiber quality traits	Tamcot 2111 and Pima S6 <sup>[25, 27, 46]</sup>	Lint percentage and morphological marker genes	TM-1 and T586 <sup>[58]</sup>
Fiber quality	TM-1 and 3-79 <sup>[14, 50, 59]</sup>	Physiological variables and crop productivity	Siv'on and F-177 <sup>[40]</sup>
Fiber quality	Guazuncho 2 and VH8 <sup>[51]</sup>	Plant architecture traits	CCRI 12 and 8891 <sup>[61]</sup>
Fiber quality, Yield and yield-component traits	CCRI 12 and 8891 <sup>[62-63]</sup>	Productivity and quality	Siv'on and F-177 <sup>[39]</sup>
Fiber quality and yield component	Handan 208 and Pima 90 <sup>[28, 52-53]</sup>	Resistance to bacterial blight	CS50 and Pima S-7 <sup>[35]</sup>
Fiber quality and yield traits	MARCABUCAG8US-1-88, HS46, MD5678ne <sup>[45]</sup>	Resistance to bacterial blight	B2/B3/B2b6, S295 and Pima S-7 <sup>[34]</sup>
Fiber and yield component traits	7235 and TM-1 <sup>[41, 55, 56]</sup>	Resistance to <i>Verticillium</i> wilt	Pima S-7 and Acala 44 <sup>[16]</sup>
Fiber quality and yield	CAMD-E and Sea Island Seaberry <sup>[37]</sup>	<i>Rf1</i> fertility-restoring gene	XiangyuanA, ZMS12A, Sumian 16A and 0-613-2R <sup>[42]</sup>
Fiber-related traits	Acala-44 and Pima S-7 <sup>[43]</sup>	Root-knot nematode resistance gene	M-120 RNR and Pima S-6 <sup>[18]</sup>
Fiber traits	7235, TM-1, HS427-10, PD6992 and SM3 <sup>[54]</sup>	Root-knot nematode resistance gene ( <i>rkn1</i> )	Acala SJ-2 and Acala NemX <sup>[29]</sup>
Leaf morphology	TMS-22 and WT936 <sup>[48]</sup>	Root-knot nematode resistance gene ( <i>rkn1</i> )	Acala SJ-2, Acala Nem X and Pima S-7 <sup>[57]</sup>
Leaf morphological traits and chlorophyll content	TM-1 and Hai 7124 <sup>[49]</sup>	Root-knot nematode resistance gene	Resistant near isoline and susceptible near isoline <sup>[50]</sup>
Leaf morphology and other traits	Seaberry and Deltapine 61 with morphological mutants <sup>[38]</sup>	Yield, yield component and fiber quality	Near-isogenic BC <sub>5</sub> S <sub>1</sub> chromosome substitution lines, TM-1 <sup>[60]</sup>
		Maturity	CCRI 36×TM-1 <sup>[65]</sup>

注：\* 表示为海陆种间杂交群体。

2.2.2 细胞质雄性不育的 MAS。棉花中有重要利用价值的雄性不育胞质有 CMS-D2 和 CMS-D8 两种,受一对显性基因控制。其中来自于 D2 的恢复基因 *Rf1* 可恢复两种不育胞质的育性,而来自于 D8 的恢复基因 *Rf2* 仅能恢复 CMS-D8 的育性。Zhang 等<sup>[68]</sup>认为两恢复基因为非等位,但在紧密连锁,相距 0.93 cM。Guo 等<sup>[69]</sup>报道了与棉花细胞质雄性不育恢复基因连锁的 RAPD-PCR 标记。他们采用一个有育性分离的回交群

体构建成不育和可育 DNA 池,用 425 个随机引物筛选获得 1 个引物 OPV-15 的扩增产物,在 92 个 F<sub>2</sub> 分离群体单株中检测发现该标记与恢复基因呈现连锁,具有明显的协同分离,交换值为 (13.0±2.6)%。Zhang 等<sup>[70]</sup>发现了与恢复基因连锁的 RAPD 标记,并将 3 个 RAPD 标记转换成基因组特异 STS 标记,这些 STS 标记均在分离群体的可育株及恢复品系中只扩增出一条与恢复基因连锁的特征带,表明这些分子标记可以有效地用

于棉花杂种优势利用中恢复系的分子标记辅助选择。Liu 等<sup>[42]</sup>利用 3 个不育系与恢复系杂交的 F<sub>2</sub> 育性分离群体,筛选了 1025 个 RAPD 引物和 282 对 SSR 引物,获得了两个 RAPD 标记,与 *Rf1* 距离在 0.1~1.2 cM,两个共显性的 SSR 标记与 *Rf1* 的距离在 0~1.2 cM,并利用非整倍体将 *Rf1* 定位于第 4 染色体长臂上。柳李旺等<sup>[71]</sup>利用这些分子标记与抗虫 Bt 基因的 PCR 标记相结合,在短期内成功地聚合了恢复和抗虫基因,从 100 个 BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 的单株中,筛选出 10 株 *Rf* 和 *Bt* 基因均为纯合的单株,大大提高了多目标性状聚合的效率。Yin 等<sup>[45]</sup>构建了高分辨率的 *Rf1* 遗传图谱,0.9 cM 包含 13 个标记。并进一步绘制了 *Rf1* 位点的物理图谱,将 *Rf1* 位点的可能位置限定在 2 个 BAC 克隆最小区间跨度约 100 kb,将两个 BAC 克隆命名为 081-05K 和 052-01N。目前定位 *Rf1* 的研究工作还在进行中。

**2.2.3 棉花抗虫、抗病性的 MAS。**He<sup>[72]</sup>等在陆地棉 cv. Auburn 基因组中定位了抗性基因家族 NBS-LRR 编码基因或 RGAs(抗病基因类似序列)。通过对 RGAs 遗传图谱的分析,发现该基因家族存在于少数棉花 AD 染色体组的染色体上。这些来自单一子家族的 RGAs 在遗传连锁图谱上有成簇聚集的趋势, RGAs 在 A 染色体亚组的数目多于 D 染色体亚组。在定位的 16 个 RGAs 中,2 个 RGAs 与 Wright 等<sup>[34]</sup>先前定位的棉花角斑病 QTLs 位置相同。如今棉花抗细菌、抗病毒、抗真菌、抗线虫的基因克隆数据 80% 来自抗性基因家族 NBS-LRR。基因家族 NBS-LRR 的 RGAs 为棉花抗性基因的分析、克隆和利用提供了有效的工具。

Wang 等<sup>[58]</sup>在培育结线虫(RKN)抗性陆地棉"Aacla Nem X"过程中发现:在连锁群上发现了一个与 RKN 抗性主基因(*rkn1*)紧密连锁的 SSR 标记 CIR316。另一研究采用混合分群分析法与 AFLP 分析相结合<sup>[59]</sup>,分析与 *rkn1* 连锁的其它的标记,并将一个与 *rkn1* 连锁的 AFLP 标记 GHACCI 转换成 CAPS 标记。这 2 个标记在 MAS 有潜在的价值。Shen 等<sup>[57]</sup>在陆地棉 Auburn 634 的染色体 7 和染色体 11 发现了 2 个明显与 RKN 抗性有关的 RFLP 标记,与在 Aacla Nem X 中发现的是不同的抗性种质资源,进一步研究在第 7 和 11 染色体发现了 RKN 抗性的次主位基因和主位基因。Ynturi 等<sup>[60]</sup>发现了 2 个

SSR 标记能够解释 RKN 抗性表型变异的 31%。标记 BNL3661 定位在 14 染色体的短臂, BNL1231 被定位在 11 染色体的长臂。RNK 抗性与 2 条染色体相关联,这表明 RNK 抗性至少与 2 个基因有关。

另一种影响棉花产量的是细菌性角斑病。Wright 等<sup>[34]</sup>和 Rungi 等<sup>[35]</sup>使用 RFLP 标记研究棉花染色体上细菌性角斑病的抗性基因。数据显示,抗性位点与 14 染色体的一已知标记相分离,这一已知标记与广谱 B12 抗性基因相连锁。同时, AFLP 与 SSR 标记被用于寻找与细菌性角斑病 *Xcm* 抗性位点连锁的新标记,这项研究会使通过分子标记辅助选择将此性状引入海岛棉变得更简单。

### 2.3 图位克隆

图位克隆最早成功地应用于番茄中,已成功对番茄中与含糖量、果重和果型有关的 *Brix 9-5*、*fw2.2* 和 *Ovate* 的 QTLs 进行了图位克隆。水稻中通过图位克隆技术,克隆出了与抽穗期有关的 *Hd1*、*Hd6*、*Hd3*、和 *Ehd1*。玉米中也通过图位克隆得到了 2 个基因,分别是控制株型的 *tb1* 和控制生育期的 *Dwarf8*。而棉花图位克隆国内外还无一成功的先例。

### 2.4 棉花基因组物理图谱构建

在人类、动物、植物、微生物基因组研究中,基于 BAC/BIBAC 的全基因组整合物理图谱/遗传图谱是不可或缺的。基因定位、图位克隆、基因/QTL 的精细定位、全基因组或区域基因的比较分析、基因组测序、DNA 序列功能分析以及各功能基因之间协作等现代基因组研究都以基因组物理/遗传图谱为基础。目前,棉花上已经构建了几种基因型的陆地棉 BAC<sup>[73]</sup>和 BIBAC 文库,克隆长 93~175 kb。此外其它棉种(*G. barbadense*、*G. arboreum*、*G. raimindii* 和 *G. longicalyx* 等)也构建了相应的 BAC 文库。YAC 文库亦已相应建立。许多作物如:番茄、水稻、玉米、大豆都构建了全基因组 BAC 物理图谱。

棉花全基因组物理图谱的研究还处于初始阶段,世界上只有少数实验室在从事该方面的研究。如美国 Texas A & M 大学 Zhang 的实验室与 Kohel 及 Stelly 的实验室共同合作,采用最新的作图技术正在进行陆地棉 TM-1 的全基因组 BAC 物理图谱的研究工作。目前从 TM-1 BAC/BIBAC 文库筛中选出了的 120000 个 BAC/BI-

BAC克隆,并初步绘制了BAC/BIBAC邻接图谱。该草图包含5088个重叠群,跨度约2300 Mb。陆地棉属四倍体棉种,其物理图谱的构建要相对复杂。Georgia大学Paterson的实验室,以二倍体棉花*G. raimondii*为研究材料,进行二倍体棉花的全基因组BAC物理图谱的研究。随着棉花物理图谱的深入研究,棉花以及近源物种的基因组研究必将得到迅速的发展。

### 3 问题与展望

近十多年来,分子标记的研究已经得到很大的发展,对棉花遗传图谱的研究工作已经深入展开,但现有棉花遗传连锁图还存在以下问题:一是缺乏饱和的有代表性的栽培棉种的分子标记物种图谱。Rong等构建的海陆杂种图谱,虽相对饱和,但全图标记大多为RFLP;Guo等构建海陆杂种间图谱没有覆盖四倍体棉种的全基因组。二是构建的陆地棉种内图谱所用的标记数较少,基因组覆盖率不高,且分布不均匀,存在标记间距离过大或有些染色体上没有标记的现象。

目前定位QTL育成品种或品系的报道还较少,究其原因主要有:(1)标记信息的丢失。标记并不是基因,由于重组使标记与基因分离,导致选择偏离方向;(2)QTL位置和效应估算不精确;(3)上位性的存在。由于QTL与环境、QTL与QTL间存在互作,导致不同环境、不同背景下选择效率发生偏差;(4)QTL筛选与育种过程相脱离。为了成功地筛选效应值大的QTL,研究者总是首先选择目标性状差异大的亲本建立作图群体,一旦筛选到QTL后,再与商业品种回交进行标记辅助选择。这一过程不但增加了品种培育的时间,而且在不同的遗传背景下,由于上位性的作用或者与QTL相连锁的标记在不同亲本间多态性的消失,导致选择效率降低或MAS无法进行。

针对上述现象,棉花基因组研究的任务:一方面是开发新型标记,尽可能筛选足够数量的分子标记多态性位点,增加现有海陆种间图谱的标记密度,覆盖异源四倍体棉种的整个基因组;二是利用DNA多态性较丰富的陆地棉品种,建立永久性作图群体,并构建覆盖全基因组的陆地棉遗传图谱;三是从全基因组水平上对QTL展开研究,包括QTL的数目、位置、效应以及QTL与QTL间、QTL与环境的互作、QTL的一因多效性等,充分发掘QTL的信息,选择最佳组合进行标记

辅助选择;四是QTL定位与品种选育过程相结合,如选择商业品种作为作图亲本之一,或利用回交高代QTL方法将QTL定位与育种同步进行;五是常规选择与标记辅助选择相结合,针对不同性状的特点,研究高效的选择方法。最后,还要加强各机构之间的协作。

总之,遗传连锁图谱是棉花遗传改良的重要工具,通过分子标记辅助育种与其它技术的结合,可以迅速、有效、显著地提高棉花的产量、纤维品质、抗虫、抗病性。随着分子生物学的发展和基于PCR技术的分子标记技术的完善,构建高密度、饱和的异源四倍体栽培棉种分子连锁图谱,对棉花基因组进行深入研究即将成为现实。

#### 参考文献:

- [1] STURTEVANT A H. A history of genetics [M]. New York: Harper and Row, 1965, 1-167.
- [2] PETERSON A H, Brubaker C L, Wendel J F. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium* ssp.) genomic DNA suitable for RFLP and PCR analysis [J]. Plant Mol Biol Rep, 1993, 11: 112-117.
- [3] REINISCH A J, Dong Jian-min, Wendel J F, et al. A detailed RFLP map of cotton *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense* chromosome organization and evolution in a disomic polyploid genome [J]. Genetics, 1994, 138: 829-847.
- [4] 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: 1166-1173.
- [5] SONG Xian-liang, Wang Kai, Guo Wang-zhen, et al. A comparison of genetic maps constructed from haploid and BC1 mapping populations from the same crossing between *Gossypium hirsutum* L. and *Gossypium barbadense* L. [J]. Genome, 2005, 48: 375-389.
- [6] RONG Jun-kang, Abbey C, Bowers J E, et al. A 3347-locus genetic recombination map of sequence-tagged sites reveals features of genome organization, transmission and evolution of cotton (*Gossypium*) [J]. Genetics, 2004, 166: 389-417.
- [7] HAN Zhi-guo, Guo Wang-zhen, Song Xian-liang, et al. Genetic mapping of EST-derived microsatellites from the diploid [J]. Mol Gen Genomics, 2004, 272: 308-325.

- [8] HAN Zhi-guo, Wang Chang-biao, Song Xian-liang, et al. Characteristics, development and mapping of *Gossypium hirsutum* derived EST-SSRs in allotetraploid cotton [J]. *Theor Appl Genet*, 2006, 112: 430-439.
- [9] GUO Wang-zhen, Cai Cai-ping, Wang Chang-biao, et al. A microsatellite-based, gene-rich linkage map reveals genome structure, function, and evolution in *Gossypium* [J]. *Genetics*, 2007, 176: 527-541.
- [10] ALTAF M K, Steward J M, Wajahatullah M K et al. Molecular and morphological genetics of a trispecies F<sub>2</sub> population of cotton [C]// Proceedings of 1997 Beltwide cotton conferences. Memphis: National Cotton Council of America, 1997, 448-452.
- [11] JIANG Chun-xiao, Wright R J, El-Zik K M, et al. Polyploid formation created unique avenues for response to selection in *Gossypium* (cotton) [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1998, 95: 4419-4424.
- [12] KHAN M A, Myers G O, Stewart J M, et al. Addition of new markers to the trispecific cotton map [C]//Proceedings of 1999 Beltwide cotton conferences. Memphis: National Cotton Council of America, 1999, 439.
- [13] BRUBAKER C L, Paterson A H, Wendel J F. Comparative genetics mapping of allotetraploid cotton and its diploid progenitors [J]. *Genome*, 1999, 42: 184-203.
- [14] KOHEL R J, Yu J, Park Y H, et al. Molecular mapping and characterization of traits controlling fiber quality in cotton [J]. *Euphytica*, 2001, 121: 163-172.
- [15] LACAPE J M, Nguyen T B, Thibivilliers S, et al. A combined RFLP-SSR-AFLP map of tetraploid cotton based on a *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense* backcross population [J]. *Genome*, 2003, 46: 612-626.
- [16] MEI M, Syed N H, Gao W, et al. Genetic mapping and QTL analysis of fiber-related traits [J]. *Theor Appl Genet*, 2004, 108: 280-291.
- [17] PARK Y H, Alabady M S, Ulloa M, et al. Genetic mapping of new cotton fiber loci using EST-derived microsatellites in an interspecific recombinant inbred line cotton population [J]. *Mol Gen Genomics*, 2005.
- [18] HE Dao-hua, Lin Zhong-xu, Zhang Xian-long, et al. Mapping QTLs of traits contributing to yield and analysis of genetic effects in tetraploid cotton [J]. *Euphytica*, 2005, 144: 141-149.
- [19] HE DAO-HUA, Lin Zhong-xu, Zhang Xian-long, et al. QTL mapping for economic traits based on a dense genetic map of cotton with PCR-based markers using the interspecific cross of *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense* [J]. *Euphytica*, 2007, 153: 181-197.
- [20] WAGHMARE V N, Rong J K, Paterson A H, 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.
- [21] NGUYEN T B, Giband M, Brottier P, et al. Wide coverage of the tetraploid cotton genome using newly developed microsatellite markers [J]. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 167-175.
- [22] SHAPPLEY Z W, Jenkins J N, Meredith W R, et al. An RFLP linkage map of Upland cotton, *Gossypium hirsutum* [J]. *Theor Appl Genet*, 1998, 97: 756-761.
- [23] SHAPPLEY Z W, Jenkins J N, Watson C E, et al. Establishment of molecular markers and linkage groups in two F<sub>2</sub> population of upland cotton [J]. *Theor Appl Genet*, 1996, 92: 915-919.
- [24] SHAPPLEY Z W, Jenkins J N, Zhu J, et al. Quantitative trait loci associated with agronomic and fiber traits of upland cotton [J]. *The Journal of Cotton Science*, 1998, 2: 153-163.
- [25] ULLOA M, Meredith W R. Genetic linkage map and QTL analysis of agronomic and fiber quality traits in an intraspecific population [J]. *The Journal of Cotton Science*, 2000, 4: 161-170.
- [26] ULLOA M, Meredith W R, Shappley Z W, et al. RFLP genetic linkage maps from four F<sub>2,3</sub> populations and a joinmap of *Gossypium hirsutum* [J]. *Theor Appl Genet*, 2002, 104: 200-208.
- [27] ULLOA M, Shaha S, Jenkins J N, et al. Chromosomal assignment of RFLP linkage groups harboring important QTLs on an intraspecific cotton (*Gossypium hirsutum* L.) joinmap [J]. *Journal of Heredity*, 2005, 96(2): 132-144.
- [28] ZHANG Zheng-sheng, Xiao Yue-hua, Luo Ming, et al. Construction of a genetic linkage map and QTL analysis of fiber-related [J]. *Euphytica*, 2005, 144: 91-97.
- [29] SHEN Xin-lian, Zhang Tian-zhen, Guo Wang-zhen, et al. Mapping fiber and yield QTLs with main, epistatic and QTL-environment interaction effects in recombinant inbred lines of upland cotton [J]. *Crop*



- Sci, 2006, 46(1): 61-66.
- [30] SHEN Xin-lian, Guo Wang-zhen, Lu Qiong-xian, et al. Genetic mapping of quantitative trait loci for fiber quality and yield trait by RIL approach in upland cotton [J]. *Euphytica*, 2007, 155: 371-380.
- [31] WANG Bao-hua, Guo Wang-zhen, Zhu Xie-fei, et al. QTL mapping of fiber quality in an elite hybrid derived-RIL population of upland cotton [J]. *Euphytica*, 2006, 152: 367-378.
- [32] 左开井, 孙济中, 张献龙, 等. 利用 RFLP、SSR 和 RAPD 标记构建陆地棉分子标记连锁图 [J]. 华中农业大学学报, 2000, 19(3): 190-193.
- [33] WAN Qun, Zhang Zheng-sheng, Hu Mei-chun, et al. T1 locus in cotton is the candidate gene affecting lint percentage, fiber quality and spiny bollworm (*Earias* spp.) resistance [J]. *Euphytica*, 2007, 158: 241-247.
- [34] WRIGHT R J, Thaxton P M, El-Zik K M, et al. D-subgenome bias of *Xcm* resistance genes in tetraploid *Gossypium* (cotton) suggests that polyploid formation has created novel avenues for evolution [J]. *Genetics*, 1998, 149(4): 1987-1996.
- [35] RUNGIS D, Llewellyn D, Dennis E S, et al. Investigation of the chromosomal location of the bacterial blight resistance gene present in an Australian cotton (*Gossypium hirsutum* L.) cultivar [J]. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2002, 53(5): 551-560.
- [36] WRIGHT R J, Thaxton P M, El-Zik K M, et al. Molecular mapping of genes affecting pubescence of cotton [J]. *Journal of Heredity*, 1999, 90(1): 215-219.
- [37] JIANG Chun-xiao, Wright R J, El-Zik K M, et al. Polyploid formation created unique avenues for response to selection in *Gossypium* (cotton) [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95(8): 4419-4424.
- [38] JIANG Chun-xiao, Wright R J, Woo S S, et al. QTL analysis of leaf morphology in tetraploid *Gossypium* (cotton) [J]. *Theor Appl Genet*, 2000, 100(3/4): 409-418.
- [39] SARANGA Y, Menz M, JIANG Chun-xiao, et al. Genomic dissection of genotype  $\times$  environment interactions conferring adaptation of cotton to arid conditions [J]. *Genome Research*, 2001, 11(12): 1988-1995.
- [40] SARANGA Y, JIANG Chun-xiao, Wright R J, et al. Genetic dissection of cotton physiological responses to arid conditions and their inter-relationships with productivity [J]. *Plant Cell Environment*, 2004, 27(3): 263-277.
- [41] REN Li-hua, Guo Wang-zhen, Zhang Tian-zhen. Identification of quantitative trait loci (QTLs) affecting yield and fiber properties in chromosome 16 in cotton using substitution line [J]. *Acta Botanica Sinica*, 2002, 44(7): 815-820.
- [42] LIU Li-wang, Guo Wang-zhen, Zhu Xie-fei, et al. Inheritance and fine mapping of fertility restoration for cytoplasmic male sterility in *Gossypium hirsutum* L. [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 106(3): 461-469.
- [43] PATERSON A H, Saranga Y, Menz M, et al. QTL analysis of genotype  $\times$  environment interactions affecting cotton fiber quality [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 106(3): 384-396.
- [44] ZHANG Tian-zhen, Yuan You-lu, Yu John, et al. Molecular tagging of a major QTL for fiber strength in Upland cotton and its marker-assisted selection [J]. *Theor Applied Genet*, 2003, 106(2): 262-268.
- [45] YIN Jian-mei, Guo Wang-zhen, Yang Lu-ming, et al. Physical mapping of the Rf1 fertility-restoring gene to a 100 kb region in cotton [J]. *Theor Appl Genet*, 2006, 112(7): 1318-1325.
- [46] BOLEK Y, El-Zik K M, Pepper A E, et al. Mapping of *Verticillium* wilt resistance genes in cotton [J]. *Plant Science*, 2005, 168: 1581-1590.
- [47] CHEE P, Draye X, JIANG Chun-xiao, et al. Molecular dissection of interspecific variation between *Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense* (cotton) by a backcross-self approach: I. Fiber elongation [J]. *Theor Appl Genet*, 2005, 111: 757-763.
- [48] CHEE P, Draye X, JIANG Chun-xiao, et al. Molecular dissection of interspecific variation between *Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense* (cotton) by a backcross-self approach: III. Fiber length [J]. *Theor Appl Genet*, 2005, 111: 772-781.
- [49] DRAYE X, Chee P, JIANG Chun-xiao, et al. Molecular dissection of interspecific variation between *Gossypium hirsutum* and *G. barbadense* (cotton) by a backcross-self approach: II. Fiber fineness [J]. *Theor Appl Genet*, 2005, 111(4): 764-771.
- [50] RONG J, Pierce G J, Waghmare V N, et al. Genetic mapping and comparative analysis of seven mutants related to seed fiber development in cotton [J]. *Theor Appl Genet*, 2005, 111(6): 1137-1146.

- [51] SONG Xian-liang, Guo Wang-zhen, Han Zhi Guo, 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.
- [52] LACAPE J M, Nguyen T B. Mapping quantitative trait loci associated with leaf and stem pubescence in cotton [J]. *Journal of Heredity*, 2005, 96(4): 441-444.
- [53] LACAPE J M, Nguyen T B, Courtois B, et al. QTL analysis of cotton fiber quality using multiple *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense* back-cross generations [J]. *Crop Science*, 2005, 45(1): 123-140.
- [54] LIN Zhong-xu, He Dao-hua, Zhang Xian-long, et al. Linkage map construction and mapping QTL for cotton fibre quality using SRAP, SSR and RAPD [J]. *Plant Breeding*, 2005, 124(2): 180-187.
- [55] HE Dao-hua, Lin Zhong-xu, Zhang Xian-long, et al. QTL mapping for economic traits based on a dense genetic map of cotton with PCR-based markers using the interspecific cross of *Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense* [J]. *Euphytica*, 2007, 153(1-2): 181-197.
- [56] SHEN Xin-lian, Guo Wang-zhen, Zhu Xie-fei, et al. Molecular mapping of QTLs for fiber qualities in three diverse lines in Upland cotton using SSR markers [J]. *Molecular Breeding*, 2005, 15(2): 169-181.
- [57] SHEN Xin-lian, Becelaere G V, Kumar P, et al. QTL mapping for resistance to root-knot nematodes in the M-120 RNR upland cotton line (*Gossypium hirsutum* L.) of the Auburn 623 RNR source [J]. *Theor Appl Genet*, 2006, 113(8): 1539-1549.
- [58] WANG Cong-li, Ulloa M, Roberts P A. Identification and mapping of microsatellite markers linked to a root-knot nematode resistance gene (*rkn1*) in *Acala Nem X* cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, 2006, 112(4): 770-777.
- [59] WANG Cong-li, Roberts P A. Development of AFLP and derived CAPS markers for root-knot nematode resistance in cotton [J]. *Euphytica*, 2006, 152(2): 185-196.
- [60] YNTURI P, Jenkins J N, McCarty J C, et al. Association of root-knot nematode resistance genes with simple sequence repeat markers on two chromosomes in cotton [J]. *Crop Science*, 2006, 46(6): 2670-2674.
- [61] GUO Wang-zhen, Ma Guo-jia, Zhu Yi-chao, et al. Molecular tagging and mapping of quantitative trait loci for lint percentage and morphological marker genes in upland cotton [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2006, 48(3): 320-326.
- [62] FRELICHOWSKI JR J E, Palmer M B, Main D, et al. Cotton genome mapping with new microsatellites from *Acala 'Maxxa'* BAC-ends [J]. *Mol Genet Genomics*, 2006, 275(5): 479-491.
- [63] SAHA S, Jenkins J N, Wu Ji-xiang, et al. Effects of chromosome specific introgression in upland cotton on fiber and agronomic traits [J]. *Genetics*, 2006, 172(3): 1927-1938.
- [64] NI Xi-yuan, Wang Xue-de, Cheng Chao-hua, et al. Constructing of DNA molecular marker linkage map and mapping of qualitative and quantitative traits in upland cotton [J]. *Cotton Science*, 2007, 19(1): 71-73.
- [65] 范术丽, 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.
- [66] 郭 璞, 郭旺珍, 张天真. 一个新的棉纤维表达蛋白 cDNA 的克隆、表达及功能初步分析 [J]. *棉花学报*, 2006, 18(2): 67-73.
- [67] GUO Wang-zhen, Zhang Tian-zhen, Shen Xin-lian, et al. Development of SCAR marker linked to a major QTL for high fiber strength and its usage in molecular-marker assisted selection in upland cotton [J]. *Crop Science*, 2003, 43(6): 2252-2256.
- [68] ZHANG Jin-fa and Stewart J M. Inheritance and genetic relationships of the D8 and D2-2 restorer genes for cotton cytoplasmic male sterility [J]. *Crop Science*, 2001, 41(2): 289-294.
- [69] GUO Wang-zhen, Zhang Tian-zhen, Pan Jia-ju, et al. Identification of RAPD marker linked with fertility-restoring gene of cytoplasmic male sterile lines in upland cotton [J]. *Chinese Science Bulletin*, 1998, 43(1): 52-54.
- [70] ZHANG Jin-fa, Stewart J McD. Identification of molecular markers linked to the fertility restorer genes for CMS-D8 in cotton [J]. *Crop Science*, 2004, 44(4): 1209-1217.
- [71] 柳李旺, 朱协飞, 郭旺珍, 等. 分子标记辅助选择聚合棉花 *Rf\_1* 育性恢复基因和抗虫 *Bt* 基因 [J]. *分子植物育种*, 2003, 1(1): 48-52.
- [72] HE Li-mei, Du Chun-guang, Covalada L, et al. Cloning, characterization and evolution of the NBS-encoding resistance gene analogue family in polyploid cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 2004, 17: 1234-1241. ●