

渐渗系 IL6 的遗传评价和渗入片段的鉴定

王 为

(江苏沿海地区农业科学研究所, 盐城 224002)

摘要:用海岛棉 3-79 的 6 号染色体渐渗系(简称 IL6)和背景亲本 TM-1 构建了 F_2 、 $F_{2,3}$ 群体, 在 2 年的田间重复实验中调查了 18 个重要农艺性状, 作遗传评价。并获得 F_2 群体的分子数据, 进行 QTL 定位和单标记分析。结果表明: 亲本 IL6 中的渐渗片段, 组成有 3-79 的 6 号染色体, 3-79 的非 6 号染色体和大部分的 TM-1 片段。IL6 的产量、品质性状都优于受体亲本 TM-1, 遗传分析也发现产量、品质性状增效基因位点来自 IL6, 说明所渗入片段起着关键作用。亲本农艺性状表现和遗传分析结果表明, IL6 渗入片段含有总铃数、单株铃数、衣分、果枝数、比强度、麦克隆值等性状的主基因。而 QTL 定位和单标记分析结果显示, IL6 渗入片段含有单株铃数、衣分、果枝数、株高、子指、整齐度等性状的 QTLs。

关键词: 渐渗系 IL6; 农艺性状; 遗传分析; QTL 鉴定

中图分类号: S562.035 **文献标识码:** A

文章编号: 1002-7807(2009)05-0394-05

Genetic Evaluation of Introgression Line 6 and Identification of the Introgressed Segments

WANG Wei

(Agricultural Science Institute of Coastal Region of Jiangsu, Yancheng, Jiangsu 224002, China)

Abstract: A material when a foreign chromosome is replaced into the background parent chromosome is called substitution line. Whereas, a material chromosome segments are replaced, is called introgression line. F_2 and $F_{2,3}$ populations of (TM-1 \times IL6) were constructed with the background parent TM-1 and introgression line 6 (IL6) of chromosome 6 of island cotton 3-79. We investigated 18 important agronomic traits in two years' field experiment and made a genetic evaluation. Besides, molecular data of F_2 population were obtained and QTL mapping and single marker analysis were carried out. Segments introgressed into IL6 included chromosome 6, non-chromosome 6 of 3-79 and most TM-1. Yield and quality traits of IL6 parent were more excellent than TM-1. Likewise, a genetic analysis was made and alleles increasing genetic effects from IL6 were found. It means that segments introgressed into IL6 play a crucial part. Agronomic traits and genetic analysis indicated that there were major genes controlling total bolls at full-growing stage, boll numbers per plant, lint percent, fruit branches per plant, fiber strength and the micronaire in the segments. QTL mapping and single marker analysis showed that there were QTLs controlling boll numbers per plant, lint percent, fruit branches per plant, plant height, seed index and uniformity ratio in the segments.

Key words: IL6; agronomic traits; genetic analysis; QTL mapping

当一对外源染色体导入背景亲本对应染色体时, 该材料称为置换系, 而导入的是染色体部分片段时, 称之为渐渗系或导入系。在回交过程中, 利用分子标记选择且针对全基因组时称为染色体片

段置换系(CSSLs)或重叠片段代换系(SSSLs)或近等基因系(NILs)^[1]。置换系、渐渗系在提高遗传多样性水平、种质资源创新、QTL 鉴定等方面具有独特优点: 减少了其它染色体(片段)的“遗传

噪声”而增强了某一染色体(片段)效应的检测^[2];创建过程中多轮的回交使连锁基因重组率提高,降低了连锁累赘的影响^[3];渐渗系中不存在两个外源片段之间的上位性,因此检测小效应 QTL 的统计功效较高;利用 IL 群体还可以将 QTL 与单个孟德尔因子相对应,从而为 QTL 图位克隆打下基础。番茄果实质量 QTLfw 2.2 是借助单片段渐渗系成功克隆作物数量性状位点的范例^[3]。在棉花置换系、渐渗系方面近年来国内外主要就表型数据作了遗传效应的分析和方差组分的剖析及其遗传评价。庞朝友等^[4]对所收集的 155 份棉属种间杂交基因渐渗系进行了农艺性状的鉴定和分子鉴定,发现野生种在陆地棉优质纤维、抗病、抗逆和抗虫种质改良上发挥了不同的作用,发现海岛棉、亚洲棉、瑟伯氏棉等 8 个外源遗传成分分别向陆地棉种质有不同程度的渗入,筛选了 18 份优质纤维特异种质和 4 份耐枯黄萎病特异种质。利用朱军等的加性显性及遗传-环境互作模型,Saha 等^[2]利用 14 个置换系在 5 个环境中对 7 个产量和品质性状(铃重、衣分、麦克隆值、产量、纤维长度、纤维强度、伸长率)遗传方差组分进行剖析并分析了它们的遗传效应。Jenkins 等^[5]利用 13 个置换系群体对纤维品质性状在四环境中进行遗传效应检测,发现加性效应比显性效应和环境互作效应大得多,25 号染色体置换系对纤维强度有最大的加性效应,18 号染色体置换系则有负加性效应,但是和栽培种 FM966 有正显性效应,所有置换系均比 TM-1 对纤维品质的加性效应大,22 号染色体短臂置换系对纤维长度有最大的负加性效应。本研究将细胞遗传学材料、经典的表型统计分析、分子标记、QTL 定位有机结合起来,试图从表型、分子两个层面进行验证,并用 $F_{2,3}$ 群体的某一家系田间数据代表 F_2 群体对应的一株。利用 IL6 和背景亲本 TM-1 构建了 F_2 、 $F_{2,3}$ 群体,调查了相关农艺性状,并进行了遗传评价和 QTL 鉴定,目的是研究 6 号染色体所渗入外源片段的来源和效应,探索和尝试海陆种间渐渗系的培育和利用。

1 材料和方法

1.1 植株材料

美国农业部(USDA)棉花遗传研究室用陆地棉单体 6 作为受体亲本,用海岛棉遗传标准系 3-79 作为置换系的供体亲本,且以陆地棉的单体作为母本,3-79 作父本进行杂交。在杂交后代的每

个世代都只选留单体棉株作为父本,仍与陆地棉相应的单体原种作为轮回亲本继续回交,以转移计划的 3-79 的单一染色体。回交 5 至 6 代后将最后一次回交选留的单体棉株自交(BC_5S_1),分离出来的二体株即为渐渗系。用这一方法已先后育成 5 个渐渗系和 2 个置换系^[6]。本研究用材料 IL6 回交了 9 代,所得置换系有 25 对染色体属于 TM-1,另一对染色体的部分片段来自 3-79 (IL6 所渗入片段并非来自所对应的一条染色体,可能来自好几条染色体)。陆地棉遗传标准系 TM-1、IL6 均引自美国农业部南方平原农业研究中心 Kohel 博士。

1.2 试验方法

2002—2005 年在南京农业大学江浦试验站进行。2002 年配置(TM-1×IL6)组合,2004 年种植 F_2 群体 284 株,2005 年种植相应的 $F_{2,3}$ 株系 160 行, P_1 、 P_2 、 F_1 采用完全随机区组设计,3 次重复; F_2 、 $F_{2,3}$ 按完全随机排列,不另设重复。行长 5.0 m,行距 0.8 m,每行 15 株。实验地为粘壤土,田间常规管理。

按 Paterson^[7]的方法提取 F_2 单株叶片基因组 DNA,PCR 反应在 PTC-100(MJ research)热循环仪中进行,SSR 反应及银染方法同张军^[8]。作图软件为 Mapmaker(Version 3.0b),定位所用软件为 Win Cartographer(Version 2.0),对未连锁上的标记用 Excel 2003 做了单标记分析。

1.3 遗传与统计分析

用 SPSS 11.5 软件对 18 个农艺性状做了描述统计、显著性测验、相关分析。采用数量性状主基因-多基因遗传体系中的单世代分离分析方法,分别在 A(1 对主基因)、B(2 对主基因)、A-0(无主基因)等共 11 种遗传模型下对 $F_{2,3}$ 世代的 18 个重要农艺性状进行分析,估算极大似然值和 AIC 值(Akaike's Information Criterion)成分分布参数,通过 AIC 值最小原则和一组适合性检验,选择最适遗传模型。由成分分布参数估算对应的一阶、二阶遗传参数^[9]。

2 结果

2.1 农艺性状评价

表 1 列出了 IL6 和 TM-1 两亲本重要农艺性状的表现,结果发现 IL6 的产量性状和品质性状都优于 TM-1,和前人研究相呼应:25 号染色体(6 号染色体的同源转化群)置换系有增加纤维长度、强度,降低纤维细度的加性效应;6 号染色体置换

系皮棉产量和子棉产量超过背景亲本 TM-1^[2]。同时可以看出,IL6 和 TM-1 两亲本间在 18 个农艺性状中只有 6 个存在显著差异:总铃数(“三桃”的总数,反映理论产量)、单株铃数(反映实际产量)、果枝数、株高、麦克隆值、纺纱均匀性指数。这一结果原因归结为 IL6 只是供体亲本的部分片段渐渗到背景亲本 TM-1 中。

另外,做了 IL6 的 $F_{2,3}$ 群体农艺性状的描述统计,包括变幅、平均数和偏度系数。结果反映出数量性状尤其是产量相关性状在不同年份之间有一定变化,伏前桃、总铃数、单株铃数、单株子棉产量、单株皮棉产量等性状偏度系数大于 1,偏离经典正态分布,QTL 定位时需作对数转换^[10]。

表 1 亲本重要农艺性状的差异显著性测验

Table 1 Significant test of differences of important agronomic traits between parents

亲本	铃重/g	单株铃数/个	衣分/%	单株皮棉产量/g	子指/g	衣指/g
IL6	3.68	2.37	30	2.52	11.58	4.97
TM-1	5.13	1.41*	28	1.16	13.63	5.35
亲本	纤维长度/mm	比强度/(cN·tex ⁻¹)	麦克隆值	整齐度/%	伸长率/%	纺纱均匀性指数
IL6	29.00	31.17	4.67	83.43	5.6	134.70
TM-1	28.95	30.62	5.06**	84.00	5.42	131.97*
亲本	伏前株高/cm	伏前桃/个	果枝始节位	果枝数/个	株高/cm	总铃数/个
IL6	75.11	0.22	6.25	11.42	92.50	6.12
TM-1	75.31	0.20	5.20	8.73**	111.23**	2.03**

表 2 IL6 的 $F_{2,3}$ 群体产量、品质性状遗传分析

Table 2 Genetic analysis of yield and quality traits of $F_{2,3}$ population of IL6

遗传参数	性状	比强度 (cN·tex ⁻¹)	麦克隆值	总铃数/个	单株铃数/个	衣分/%	单株子棉产量/g	单株皮棉产量/g
	最适模型	B-6	B-6	B-1	B-1	A-4	B-1	B-1
成分分布参数	μ_1	31.908	5.005	12.362	7.688	0.307	30.489	10.876
	μ_2	31.082	4.873	6.730	3.894	0.304	16.801	5.169
	μ_3	30.256	4.741	2.503	1.244	0.303	5.524	1.534
	μ_4	28.604	4.478	4.356	3.291	-	11.587	3.607
	μ_5	27.777	4.346	3.088	1.671	-	6.726	2.270
	μ_6	25.299	3.951	2.503	1.239	-	5.481	1.533
	μ_7	-	-	2.503	1.238	-	5.478	1.533
	μ_8	-	-	2.503	1.238	-	5.476	1.533
	μ_9	-	-	2.503	1.238	-	5.475	1.533
一阶遗传参数	m	28.604	4.478	4.968	2.852	30.5	11.741	3.869
	d	1.652	0.263	-	-	0.002	-	-
	d_a	-	-	2.464	1.614	-	6.265	2.336
	d_b	-	-	2.464	1.610	-	6.241	2.335
	h_a	-	-	-1.538	-0.587	-	-3.207	-1.298
	h_b	-	-	-0.351	-0.286	-	-0.602	-0.517
	i	-	-	2.464	1.610	-	6.240	2.335
	j_{ab}	-	-	-0.351	-0.286	-	-0.602	-0.517
	j_{ba}	-	-	-1.538	-0.584	-	-3.189	-1.298
	l	-	-	0.039	-1.232	-	-4.822	0.872
	σ_p^2	0.798	0.117	5.099	2.080	0.000497	36.091	3.834
σ^2	0.653	0.037	1.175	0.295	0.000279	5.390	0.472	
二阶遗传参数	$h_b^2/\%$	18.21	68.59	76.95	85.82	43.86	85.06	87.69

2.2 相关分析

IL6 的 $F_{2,3}$ 群体农艺性状的相关分析表明:①对单株皮棉产量贡献率:单株铃数>衣分和铃重;②果枝始节、株高、纤维长度、比强度与产量成负相关,子指与产量成极显著负相关;③整齐度与纤维长度、比强度、麦克隆值成极显著正相关,而伸长率与它们成负相关;纺纱均匀性指数作为综合指标,比强度贡献率最大,其次是整齐度、纤维长度、伸长率;④铃重与纤维长度成极显著正相关,子指与纤维长度、比强度、整齐度成极显著正

相关,所以通过子指的选择有助于优良品质纤维的筛选。

2.3 遗传分析

(TM-1×IL6)的 $F_{2,3}$ 群体产量、品质性状遗传分析结果显示:共有 7 个性状存在主基因(表 2),并列出了成分分布参数、一阶、二阶遗传参数。对它们做了适合度测验,结果表明 7 个性状都通过了适合度测验。可以看出:①比强度和麦克隆值符合 B-6 模型,存在两对主基因。产量及其构成因子除衣分外符合 B-1 模型,存在两对主基因,

且符合加性—显性—上位性模型,而衣分则存在一对主基因;②7个性状的加性效应 $d(d_n, d_h)$ 均为正值,说明增效基因来自 IL6(高值亲本),这和表 1 亲本的显著性测验结果吻合,即产量和品质方面 IL6 要优于 TM-1;③单株子棉产量、单株皮棉产量、总铃数和单株铃数的广义遗传率 h^2_g 较大,达到 80%左右,表明遗传方差占表型方差组分较重。而纤维长度 h^2_g 较小,只有 18.21%,表明环境方差占表型方差较大,易受环境影响;④麦克隆值的广义遗传率比纤维比强度大,表明前者可以早代选择,而后者需高代选择。

2.4 渗入片段鉴定

在海 7124 和 TM-1 之间筛选到了 1500 对多态性引物,本研究选择其中的 1000 对来进行 TM-1、IL6 两亲本多态性筛选。共筛出 9 对多态性引物:NAU161、NAU910、NAU1125、NAU2911、NAU3096、NAU3954、NAU5111、NAU 5153、NAU 5933。把它们和最新图谱^[11]进行比较,将其中的 6 个标记定位到了图谱上(表 3)。

含 6 个多态性标记(NAU161、NAU1125、NAU3096、NAU3954、NAU5111、NAU 5153)的 IL6 的 F_2 群体形成含有 3 个位点、遗传距离为 49.4 cM 的连锁群(图 1)。和最新图谱进行比较,发现该连锁群位于 D8 染色体上。 F_2 群体共检测到果枝数、子指、单株铃数 3 个性状的

表 4 IL6 的 F_2 群体农艺性状的 QTLs 定位结果

Table 4 The location and effects of QTLs about agronomic traits in F_2 population of IL6 markers

性状	位置/cM	LOD	解释表型变异/%	加性效应	显性效应	增效基因来源
果枝数/个	5.9	2.74	6.88	0.874	1.068	IL6
子指/g	31.4	4.84	49.8	1.193	1.726	IL6
单株铃数/个	49.4	2.39	53.4	0.147	-4.124	IL6

3 讨论

种间种质渐渗系使栽培种的遗传分析和改良变得容易,但由于重组、转移壁垒、不充足的遗传分辨力和难获得较好经济性状等因素的存在,使种间种质渐渗系的培育变得困难,但染色体置换系的培育会减轻这一障碍^[12],所以置换系和渐渗系材料是相互联系的。利用渐渗系群体进行复杂性状分子基础研究的优点也是明显的:无染色体互作、定位灵敏精确,便于研究基因效应和分布,但本文所用渐渗片段太小,亲本间多态率低,使得多态性筛选(本研究并没有筛到 6 号染色体上的多态标记)和 QTL 定位变得困难。

两亲本之间的引物多态性极低($<2\%$),表明 6 号染色体上大部分还是受体亲本 TM-1 的基因

QTLs。其中加性效应均为正值,表明增效基因来源于 IL6,而 IL6 和 TM-1 相比有较多的果枝数、单株铃数、较小的子指,所以这些 QTLs 有增加果枝数、单株铃数和降低子指的功效。表 4 给出了它们的效应值、LOD 值及其位置。

表 3 多态标记的染色体定位

Table 3 Chromosome mapping of polymorphic markers

原始标记	图谱标记	染色体来源	亚组	EST 功能
NAU161	BNL3474	24	D8	/
NAU3954	NAU3954	24	D8	/
NAU2911	NAU2911	10	A10	编码共同 伴侣蛋白
NAU5111	NAU5111	17	D3	核糖体 结构组分
NAU3096	NAU3096	5	A5	/
	NAU3096	19	D5	/
NAU5933	STV-033	12	A12	/
	STV-033	26	D12	/

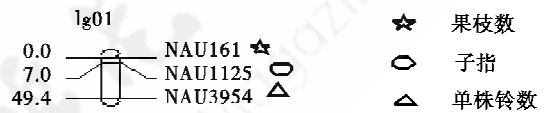


图 1 农艺性状 QTLs 在连锁群上的分布

Fig. 1 QTLs distribution of agronomic traits in the linkage group

对其中 3 个未连锁上的标记(NAU3096、NAU5111、NAU5153)做了单标记分析,鉴定农艺性状 QTLs 的存在和所解释的表型变异(R^2)。3 个标记主要和株高、果枝数、单株铃数、衣分、整齐度相关联,但所解释的表型变异不大($<10\%$)。

位点。TM-1 与 IL6 之间存在差异的农艺性状极少(6/18),这也从表型性状验证了其材料特点:导入的只是供体 3-79 的极少量染色体片段。IL6 中的渐渗片段,组成有 3-79 的 6 号染色体、3-79 的非 6 染色体和大部分的 TM-1 片段。亲本 IL6 的产量、品质性状都优于受体亲本 TM-1,遗传分析也发现产量、品质性状增效基因位点来自 IL6,说明所渗入片段起着关键作用。农艺性状表现和遗传分析结果表明了 IL6 渗入片段含有总铃数、单株铃数、衣分、果枝数、比强度、麦克隆值等性状的主基因。而 QTL 定位和单标记分析结果显示 IL6 渗入片段含有单株铃数、衣分、果枝数、株高、子指、整齐度等性状的 QTLs。其中单株铃数、衣分、果枝数的遗传分析和标记鉴定结果较为一致,说明 IL6 渗入片段含有控制这些产量相关性状的

QTLs,可以用于分子标记辅助选择,应用于育种改良。而其它性状的遗传分析和标记鉴定结果不太一致,原因可能是筛选到的多态标记太少,有待于开发利用新的标记。另一原因可能是控制这些性状的 QTLs 之间存在基因互作,影响了 QTL 的检测。还有可能是本研究遗传分析采用的是单世代,有待于构建多世代群体用于联合分析。

致谢: 本文得到南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室张天真教授、郭旺珍教授以及张兴伟的指导和帮助,在此深表谢意。

参考文献:

- [1] 何风华, 席章营, 曾瑞珍, 等. 利用高代回交和分子标记辅助选择建立水稻单片段代换系[J]. 遗传学报, 2005, 32(8): 825-831.
HE Feng-hua, Xi Zhang-ying, Zeng Rui-zhen, et al. Developing single segment substitution lines (SSSLs) in Rice (*Oryza sativa* L.) using advanced backcrosses and MAS[J]. Acta Genetica Sinica, 2005, 32(8): 825-831.
- [2] 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, 172:927-938.
- [3] 余文贵, 赵统敏, 沈新莲, 等. 野生番茄单片段渐渗系的创建及应用[J]. 园艺学报, 2006, 33(1): 197-202.
YU Wen-gui, Zhao Tong-min, Shen Xin-lian, et al. Development and application of single segment introgression lines from wild species in *Lycopersicon*[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2006, 33(1): 197-202.
- [4] 庞朝友, 杜雄明, 马峙英, 等. 棉花种间杂交渐渗系创新效果评价及特异种质筛选[J]. 科学通报, 2006(1):55-62.
PANG Chao-you, Du Xiong-min, Ma Zhi-ying, et al. Innovation effect evaluation and special germplasm selection of cotton interspecific introgression lines[J]. Chinese Science Bulletin, 2006(1):55-62.
- [5] JENKINS J N, Wu Ji-xiang, McCarty J C, et al. Genetic effects of thirteen *Gossypium barbadense* L. chromosome substitution lines in topcrosses with upland cultivars: I. yield and yield components[J]. Crop Sci, 2007, 46:1169-1178.
- [6] 贾赵东, 孙敬, 张天真. 利用 7 个置换系和渐渗系的双列杂交研究海陆杂种的数量性状遗传[J]. 南京农业大学学报, 2006, 29(2):6-10.
JIA Zhao-dong, Sun Jing, Zhang Tian-zhen. Diallel analysis of quantitative traits of hybrid between *Gossypium barbadense* L. and *G. hirsutum* L. using 7 substitution and introgression lines[J]. J Nanjing Agri Univ, 2006, 29(2):6-10.
- [7] PATERSON A H, Brubaker C L, Wendel J F, et al. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium spp.*) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis[J]. Plant Mol Bio Rep, 1993, 11(2):122-127.
- [8] 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.
ZHANG Jun, Wu Yao-ting, Guo Wang-zhen, et al. Fast screening of microsatellite markers in cotton with PAGE/silver staining[J]. Acta Gossypii Sinica, 2000, 12(5): 267-269.
- [9] 盖钧镒, 章元明, 王健康. 植物数量性状遗传体系[M]. 北京: 科学出版社, 2003:96-166.
GAI Jun-yi, Zhang Yuan-ming, Wang Jian-kang. Genetic system of quantitative traits in plants[J]. Beijing: Science Press, 2003:96-166.
- [10] 范术丽, 喻树迅, 宋美珍, 等. 短季棉早熟性分子图谱的构建和 QTL 定位[J]. 棉花学报, 2006, 18(3): 135-139.
FAN Shu-li, Yu Shu-xun, Song Mei-zhen, et al. Construction of molecular linkage map and QTL mapping for earliness in short-season cotton[J]. Cotton Science, 2006, 18(3):135-139.
- [11] 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.
- [12] SAHA S, Dwaine A R, David M S. Upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) × Hawaiian cotton (*G. tomentosum* Nutt. ex Seem.) F₁ hybrid hypoaneuploid chromosome substitution series[J]. The Journal of Cotton Science, 2006, 10:263-272. ●