

比克氏棉及其杂种后代的 RAPD 分析

渠云芳¹, 黄晋玲^{1*}, 仪治本², 李炳林¹

(1. 山西农业大学农学院, 太谷 030801; 2. 中北大学, 太原 030051)

摘要:将(亚洲棉×比克氏棉) F_1 加倍,再与陆地棉、海岛棉、(陆地棉×夏威夷棉)、(陆地棉×黄褐棉)杂交,获得三种杂种与四种杂种。本研究用 RAPD 技术对种间杂种及其亲本进行了分析,结果表明:(1)15 个引物对参试材料总共扩增出 127 条 DNA 带,其中有 102 条多态性带,占 80.3%;(2)在杂种中均检测到了亲本带与杂种的特异带;(3)利用 SAS 软件中的类平均法对试验材料进行聚类分析,结果表明,所有的参试材料聚为三大类。研究结果充分验证了杂种的真实性。

关键词:比克氏棉;杂种后代;RAPD

中图分类号:S562.035.1 **文献标识码:**A

文章编号:1002-7807(2009)06-0468-06

RAPD Analysis of *Gossypium bickii* and Its Hybrid Descendents

QU Yun-fang¹, HUANG Jin-ling^{1*}, YI Zhi-ben², LI Bing-lin¹

(1. Dept of Agron, Shanxi Agricultural University, Taiyu, Shanxi 030801, China; 2. North University of China, Taiyuan, Shanxi 030051, China)

Abstract: The interspecific hybrids were derived from [(*Gossypium arboreum* × *Gossypium bickii*) × *Gossypium hirsutum*], (*G. arboreum* × *G. bickii*) × *Gossypium barbadense*], [(*G. arboreum* × *G. bickii*) × (*G. hirsutum* × *Gossypium mustelinum*)], (*G. arboreum* × *G. bickii*) × (*G. hirsutum* × *Gossypium tomentosum*)] after doubling F_1 of (*G. arboreum* × *G. bickii*). These hybrids and their parents were analyzed by RAPD. The results showed that: (1) There were 127 amplified DNA bands from 15 primers, 102 bands (80.3%) were polymorphic; (2) Parents bands and specific bands of hybrids were detected in hybrids; (3) The cluster analysis of materials was studied by group-average method from SAS software. Cluster analysis revealed that these materials were divided into 3 groups. All the results verified the authenticity of hybrids.

Key words: *Gossypium bickii*; hybrid descendents; RAPD

棉花是世界上最主要的天然纤维作物。棉属 51 个种只有 4 个种可以用于生产纺织纤维,其中四倍体陆地棉占世界棉花产量的 90% 左右^[1-2]。虽然世界上 90% 以上的栽培棉花是陆地棉,但其它棉种却具有陆地棉所缺乏的某些优良性状,如草棉的极早熟性和高抗旱性;亚洲棉的高抗铃病、抗虫和高纤维强度等性状^[3];海岛棉的纤维品质优良和结铃率高等性状;异常棉具有细、强纤维强力,抗角斑病、抗多种病虫害等性状;雷蒙德氏棉具有强纤维潜力、抗旱、抗角斑病、抗棉铃虫和蚜

虫等性状^[4]。通过远缘杂交,可以把不同物种所特有的有益性状进行遗传重组,从而创造出品种间杂交无法得到的种质材料^[5]。王志宁^[6]等用两个二倍体栽培棉种进行远缘杂交,并将杂种 F_1 进行染色体加倍后与(陆地棉×海岛棉) F_1 进行杂交,获得了亚洲棉、草棉、陆地棉和海岛棉四元杂种。吴玉香^[7]等用 SSR 方法对由 4 个栽培棉种合成的种间四元杂种及其亲本进行了分析,验证了杂种的真实性。原产澳洲的棉属野生种比克氏棉具有一种特殊的子叶腺体延缓形成特性,即棉

收稿日期: 2008-12-11 作者简介:渠云芳(1973-),女,硕士,讲师,quyunfang@163.com; * 通讯作者

基金项目:山西省科技攻关项目(20080311001-1),山西农业大学科技创新基金(2004082)

子仁中无色素腺体,但种子萌发出苗后,茎叶、花蕾各器官上才出现色素腺体。此外,比克氏棉还具有多毛、抗虫和结铃性强等特性。为了将比克氏棉的优良性状导入栽培种,培育种子无腺体/植株有腺体的优良种质,山西农业大学棉花育种组将亚洲棉(*G. arboreum*)与比克氏棉(*G. bickii*)杂交,并经过染色体加倍,首次获得了可育的亚比棉异源四倍体。该杂种稳定地保留了种子无腺体、植株有腺体的优良特性,为最终培育集纤维、油、蛋白质三位一体而又抗虫的栽培棉奠定了基础。然后再用该双二倍体分别与栽培种陆地棉(*G. hirsutum*)、海岛棉(*G. barbadense*)、陆地棉×

夏威夷棉(*G. mustelinum*)的 F_1 和陆地棉×黄褐棉(*G. tomentosum*)的 F_1 杂交,获得三种杂种和四种杂种。本文对该三种杂种和四种杂种及其亲本进行了 RAPD 分析,旨在为加速对比克氏棉优良基因的利用即远缘杂种的鉴定提供一些选育鉴定依据,进而选育出种子无腺体/植株有腺体新品种。

1 材料和方法

1.1 材料

所用材料为山西农业大学棉花育种组提供,详见表 1。

表 1 试验材料
Table 1 Test material

编号	材料名称	基因组符号	主要特征
1	亚洲棉	A_2	花为黄色,基部有红斑,茸毛短而少
2	比克氏棉	G_1	浅粉红色花,基部有红斑,茸毛多而长
3	亚洲棉×比克氏棉异源二倍体	A_2G_1	粉红色花,基部有红斑,茸毛多
4	亚洲棉×比克氏棉双二倍体	$A_2A_2G_1G_1$	粉红色花,基部有红斑,茸毛多而长
5	陆地棉	$[AADD]_1$	花为乳白色,基部无红斑
6	海岛棉	$[AADD]_2$	花为黄色,基部有红斑,无茸毛
7	陆地棉的单显 I	$GL_2GL_2g_3g_3$	待查
8	陆地棉的单显 II	$g_2g_2G_3G_3$	待查
9	亚比棉异源二倍体×陆地棉	$A_2A_2G_1G_1 \times [AADD]_1$	深粉红色花,基部有红斑,茸毛较多而长
10	亚比棉异源二倍体×海岛棉	$A_2A_2G_1G_1 \times [AADD]_2$	深粉红色花,基部有红斑,无茸毛
11	亚比棉异源二倍体×单显 I	$A_2A_2G_1G_1 \times GL_2GL_2g_3g_3$	粉红色花,基部有红斑
12	亚比棉异源二倍体×单显 II	$A_2A_2G_1G_1 \times g_2g_2G_3G_3$	粉红色花,基部有红斑
13	陆地棉×黄褐棉	$[AADD]_1 \times [AADD]_4$	花为乳白色
14	陆地棉×夏威夷棉	$[AADD]_1 \times [AADD]_3$	花为乳白色
15	亚比棉异源二倍体×[(陆地棉×黄褐棉)]	$A_2A_2G_1G_1 \times ([AADD]_1 \times [AADD]_4)$	粉红色花,基部有红斑,高度不育
16	亚比棉异源二倍体×[(陆地棉×夏威夷棉)]	$A_2A_2G_1G_1 \times ([AADD]_1 \times [AADD]_3)$	粉红色花,基部有红斑,高度不育
17	亚比棉异源二倍体×海岛棉 BC_2F_1	$A_2A_2G_1G_1 \times [AADD]_2$ BC_2F_1	粉红色花,花瓣基部有红斑
18	亚比棉异源二倍体×陆地棉 BC_2F_1	$A_2A_2G_1G_1 \times [AADD]_1$ BC_2F_1	粉红色花,花瓣基部有红斑
19	陆地棉×亚比棉异源二倍体 BC_3F_1	$[AADD]_1 \times A_2A_2G_1G_1$ BC_3F_1	多毛
20	陆地棉×亚比棉异源二倍体 BC_3F	$[AADD]_1 \times A_2A_2G_1G_1$ BC_3F_1	多毛,粉红色

1.2 方法

1.2.1 总 DNA 的提取。 DNA 提取参照 CTAB 法^[6],并略有改动。提取缓冲液中含 $0.35 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 葡萄糖, $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl, $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Na_2EDTA , 2% PVP, 1% (V/V) β -Me。裂解缓冲液中含 $1.4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl, $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl, $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Na_2EDTA , 2% CTAB, 2% PVP, 1% (V/V) β -Me。最后将提取的 DNA 溶于适量的 TE(pH8.0)缓冲液中,于 -70°C 冰箱中保存。

1.2.2 引物及其来源。 使用的 15 个随机引物长度为 10 个核苷酸序列,分别是 S33、S37、S39、S40、S1709、S1285、S1485、S1287、S1288、S1290、

S1292、S1295、S1296、S1297、S1299,购于上海生物技术公司。

1.2.3 RAPD 反应。 PCR 反应在 PTC-100 热循环仪上进行。PCR 反应体积为 $25 \mu\text{L}$,其中含 $1 \times$ buffer, $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 , 4 种 dNTP 各含 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 引物, 50 ng DNA, 1.0 U Tag 酶,双蒸水补足 $25 \mu\text{L}$,上覆 $30 \mu\text{L}$ 矿物油。

PCR 反应程序为: 94°C 预变性 2 min; 94°C 变性 30 s, 36°C 退火 30 s, 72°C 延伸 70 s, 共 10 个循环; 89°C 变性 20 s, 36°C 退火 20 s, 72°C 延伸 60 s, 共 35 个循环; 72°C 延伸 7 min, 4°C 保温 10 min。扩增产物经 1% 琼脂糖电泳,胶中加入 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$

EB。电泳结束后,紫外检测,凝胶成像分析系统扫描照相。

每次实验均重复两次,只有两次重复均相同的扩增带才被用作特征带分析。

1.2.4 数据统计分析。RAPD 扩增产物以 0, 1 统计建立数据矩阵,在相同迁移位置上有带的记为 1,无带的记为 0,采用 SAS 软件中系统聚类的类平均法进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 亚比棉与三种杂种 F₁ 的多态性分析

用 15 个引物对 20 个材料进行 PCR 扩增,均有扩增产物。总共扩增出 127 条 DNA 带,其中具有多态性带 102 条,占 80.3%。引物不同扩增的片段数也不同,平均每个引物可扩增出 8.5 条 DNA 带。15 个引物中仅 1287 对父本比克氏棉无扩增带,其余引物均扩增出 2 个以上的多态性 DNA 带。15 个引物扩增 20 个材料的 DNA 片段数见表 2。从表 2 可以看出,不同引物扩增出的 DNA 带差异极大,最多的可扩出 18 条带(S37),最少的仅有 4 条(S40),而且多态性也不同,多态性带所占比例变化幅度也大。这是因为三种杂种分别属于 3 个不同的染色体组的野生种与栽培种,而且回交后代中野生种与栽培种的遗传物质所占的比例也不同,所以参试材料表现出丰富的多样性。

2.2 亚比棉与亲本间的多态性差异比较

15 个引物对亚洲棉与比克氏棉分别扩增出 61 条和 68 条 DNA 带,两个棉种均有本身的特异

带,依次分别是 14 条与 12 条。在 15 个引物中,S33、S37、S1290、S39 等引物能将 2 个棉种分开,占选用引物的 60%,充分体现了 2 个棉种间的遗传差异。由表 3 可以看出,在亚比棉异源二倍体与亚比棉双二倍体的扩增带中,检测到了亲本带、杂种的特异带,并且发现来自比克氏棉的带所占的比例高于亚洲棉。亚比棉双二倍体种还检测到双亲的共有带(图 1)。通过对亚比棉双二倍体扩增带的统计分析也可以看出,具有比克氏棉特异带的均值为 1.000,而具有亚洲棉特异带的均值为 0.23077,比克氏棉的遗传组成明显高于亚洲棉,但是两者之间差异并不显著。

表 2 不同随机引物扩增 20 个材料的多态性

Table 2 Amplified polymorphism of twenty materials from different random primers

引物	引物序列	扩增带数(多态性带数)
S33	CAGCACCCAC	15(13)
S37	GACCGCTTGT	18(17)
S39	CAAACGTCGG	12(12)
S40	GTTGCGATCC	4(2)
S1709	TCGCAGCGAG	5(3)
S1485	CCCGATCAGT	5(3)
S1285	GTGAGCGTGG	6(3)
S1287	CTACCAGGGA	5(4)
S1288	TGAGAAGCGG	10(7)
S1290	ACCCCTGGCA	8(4)
S1292	AGCCGTCGAA	8(7)
S1295	GGCAGCAGGT	4(3)
S1296	GACAAGGACC	6(4)
S1297	CTCGAACCCC	11(10)
S1299	CTCGATCACC	12(10)

表 3 亚比棉的扩增多态性

Table 3 The amplified polymorphism of (*G. arboreum* × *G. bickii*)

杂交组合	亚比棉异源二倍体				亚比棉双二倍体				
	亲本	亚洲棉	比克氏棉	特异带	总带数	亚洲棉	比克氏棉	特异带	总带数
扩增带数		3	5	9	50	5.0	13.0	8.0	64
比例/%		6	10	18		7.8	20.0	12.5	

2.3 亚洲棉、比克氏棉、亚比棉与杂种的多态性差异比较

2.3.1 亚洲棉、比克氏棉与三种杂种的多态性差异比较。亚洲棉、比克氏棉、亚比棉与杂种的多态性差异比较见图 2。由表 4 可以看出,在四个三种杂种扩增带中,四倍体栽培棉种所占的比例最大,其次为比克氏棉,亚洲棉所占的比例最小。通过对三种杂种的统计分析也可以看出,来自四倍体栽培棉特异带的均值为 7.5000,来自比克氏

棉特异带的均值为 5.2500,来自亚洲棉特异带的均值为 2.2500。来自四倍体栽培棉种特异带数与来自亚洲棉特异带数的差异达到了极显著水平,来自亚洲棉特异带数与来自比克氏棉特异带数之间的差异达到了显著水平。

2.3.2 亚比棉与三种杂种的多态性差异比较。由表 5 可以看出,在两个三种杂种中,来自四倍体栽培棉种的带比亚比棉的带多。通过对三种杂种的统计分析也可以看出,来自四倍体栽培棉特异

带的均值为 11.5000, 来自亚比棉特异带的均值为 10.5000, 四倍体栽培棉种的遗传组成高于亚比棉, 但二者之间的差异没有达到显著水平。

2.3.3 亚比棉与四种杂种的多态性差异比较。

由表 6 可以看出, 在两个四种杂种的扩增带中, 亚比棉特异带所占的比例均低于另一个亲本。杂种材料中还检测到亲本带、双亲的共有带、杂种的特异带, 充分表明杂种后代中存在着丰富的遗传变异。

表 4 三种杂种的扩增多态性

Table 4 The amplified polymorphism of tri-species

杂交组合	(亚洲棉×比克氏棉)×陆地棉					(亚洲棉×比克氏棉)×海岛棉				
	亚洲棉	比克氏棉	陆地棉	特异带	总带数	亚洲棉	比克氏棉	陆地棉	特异带	总带数
扩增带数	2	4	6	9	52	2	6	7	5	62
比例/%	3.8	7.7	11.3	17.3		3.2	9.8	11.3	8.1	
杂交组合	(亚洲棉×比克氏棉)×单显 I					(亚洲棉×比克氏棉)×单显 II				
	亚洲棉	比克氏棉	单显 I	特异带	总带数	亚洲棉	比克氏棉	单显 II	特异带	扩增总带数
扩增带数	4	7	9	11	59	1	4	8	10	63
比例/%	6.8	11.9	15.3	18.6		1.6	6.4	12.7	15.9	

表 5 亚比棉×陆地棉与亚比棉×海岛棉的扩增多态性

Table 5 The amplified polymorphism of

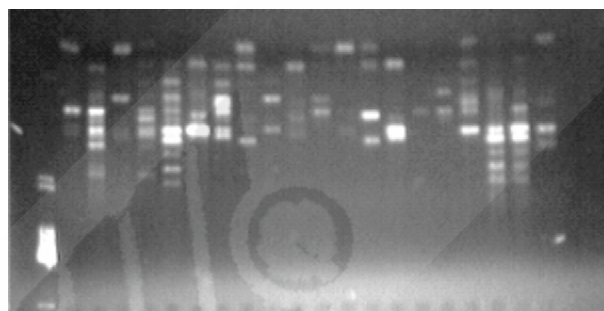
(*G. arboreum*×*G. bickii*)×*G. hirsutum* and (*G. arboreum*×*G. bickii*)×*G. barbadense*

杂交组合	亚比棉×陆地棉				亚比棉×海岛棉			
	亚比棉双二倍体	陆地棉	特异带	总带数	亚比棉双二倍体	海岛棉	特异带	总带数
扩增带数	10	11	6	55	11	12	6	59
比例/%	18.2	20.0	10.9		18.6	20.03	10.2	

表 6 亚比棉×(陆地棉×夏威夷棉)与亚比棉×(陆地棉×黄鹤棉)的扩增多态性

Table 6 The amplified polymorphism of [(*G. arboreum*×*G. bickii*)×(*G. hirsutum*×*G. tomentosum*)] and [(*G. arboreum*×*G. bickii*)×(*G. hirsutum*×*G. mustelinum*)]

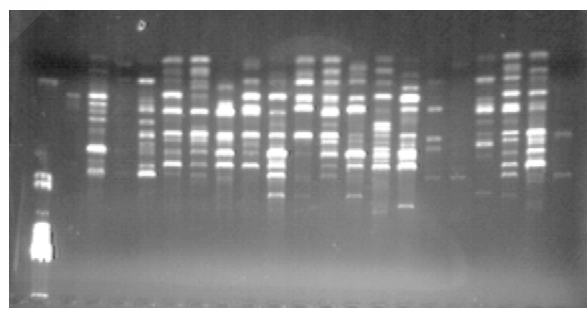
杂交组合	亚比棉×(陆地棉×夏威夷棉)				亚比棉×(陆地棉×黄鹤棉)			
	亚比棉	(陆地棉×夏威夷棉)	特异带	总带数	亚比棉	(陆地棉×黄鹤棉)	特异带	总带数
扩增带数	5	6	5	44	5	7	3	37
比例/%	11.4	13.6	11.4		13.5	18.9	8.1	



M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

图 1 引物 39 的扩增结果

Fig. 1 Amplified products of S39



M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

图 2 引物 37 的扩增结果

Fig. 2 Amplified products of S37

2.4 亚比棉及其杂种后代的聚类分析

依据 15 个引物扩增的结果, 对 20 个参试材料进行聚类分析, 聚类结果见图 3。所有的参试材料聚为三大类, 第一大类包括比克氏棉、亚洲棉×比克氏棉双二倍体、亚洲棉×比克氏棉异源二倍体、亚比棉×陆地棉、亚比棉×海岛棉、亚比棉×单显 I、陆地棉、海岛棉、单显 II、亚比棉×单显 II、陆地棉×黄褐棉、陆地棉×夏威

夷棉、亚比棉×陆地棉 BC₂F₁、陆地棉×亚比棉 BC₃F₁(多毛)、单显 I、亚比棉×(陆地棉×黄鹤棉)、亚比棉×(陆地棉×夏威夷棉)。第二类包括亚比棉×海岛棉 BC₂F₁。第三类包括亚洲棉、陆地棉×亚比棉 BC₃F₁(多毛粉红花)。在第一大类中, 由于亚比棉双二倍体是亚洲棉与比克氏棉杂交加倍所得, 并且比克氏棉的遗传成分所占比例大, 所以先聚为一类。三种杂种亚比棉×陆地

棉、亚比棉×海岛棉由于有一个共同的亲本亚比棉,所以聚为一类。陆地棉与海岛棉、陆地棉×黄褐棉与陆地棉×夏威夷棉、亚比棉×(陆地棉×黄褐棉)与亚比棉×(陆地棉×夏威夷棉)、亚比棉×陆地棉 BC₂F₁、陆地棉×亚比棉 BC₃F₁(多毛)各自之

间在遗传组成上相似,所以各自先聚为一类。材料7与8、11与12、19与20在遗传组成上相似,应聚为一类,而在聚类分析中,并没有直接聚为一类,可能是由于所用引物的检测量有限而造成的。这有待于利用更多的引物对其做进一步的研究。

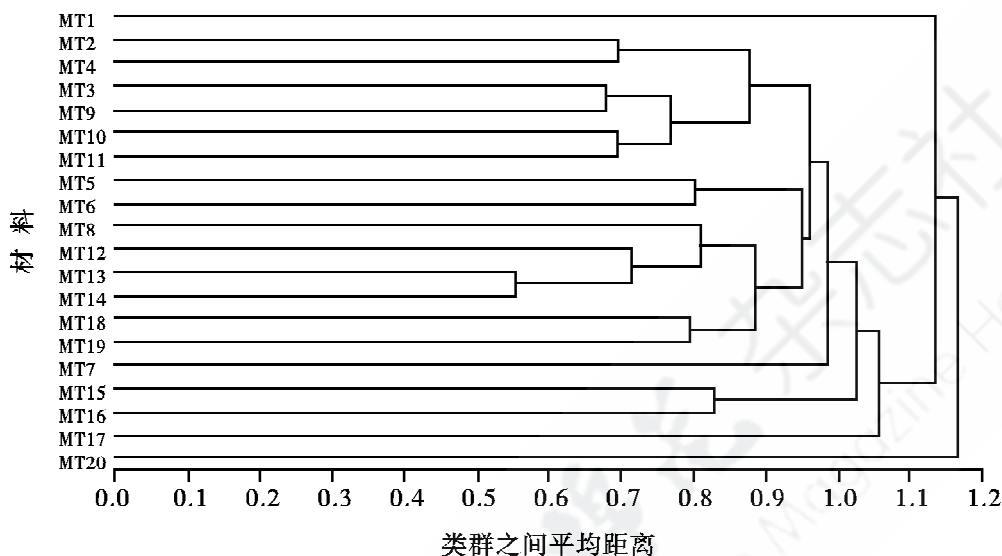


图3 亚比棉及其杂种聚类图

Fig. 3 Dendrogram of (*G. arboreum*×*G. bickii*) and its hybrids

3 讨论

3.1 三种杂种与四种杂种遗传的丰富性

三种杂种是由(亚洲棉×比克氏棉)F₁双二倍体与陆地棉、海岛棉杂交而得,其染色体组应含有[A]染色体组、[G]染色体组与[AD]染色体组,杂种染色体组为1/2(A₂A₂G₁G₁)1/2[AADD]₁、1/2(A₂A₂G₁G₁)1/2[AADD]₂。用染色体工程技术先将栽培二倍体A₂染色体组棉种与野生二倍体G₁染色体组棉种合成[A₂G₁]复合染色体组,通过加倍形成双二倍体(A₂A₂G₁G₁),作为种间远缘杂交育种的桥梁材料,再分别与[AADD]复合染色体组的栽培异源四倍体棉种([AADD]₁、[AADD]₂)杂交,组合成1/2(A₂A₂G₁G₁)1/2[AADD]₁、1/2(A₂A₂G₁G₁)1/2[AADD]₂三种杂种。该三种杂种具有栽培棉种与野生棉种的基因系统,其遗传物质基础丰富,在棉花遗传育种上具有重要的应用价值。四元杂种也是由亚洲棉(*G. arboreum*)与比克氏棉(*G. bickii*)杂交,得到双二倍体,然后用该双二倍体分别与(陆地棉×夏威夷棉)和(陆地棉×黄褐棉)杂交获得的,杂种染色体组中同样包含有[A]、[G]、[AD]染色体组,也充分体现出了杂种遗传物质的丰富性。

3.2 远缘杂交后代不同棉种血缘关系的检测

RAPD分子标记可以用来检测远缘杂交后代

中不同棉种血缘的遗传进化。亲缘关系远,少数引物就可揭示其遗传关系^[9]。从本研究可以看出,在亚比棉、三种杂种及其回交后代中均可检测到不同棉种的特异片段。在亚比棉双二倍体中,来自亚洲棉的特异带占7.8%,来自比克氏棉的特异带占20.03%。在三种杂种及其回交后代中,不同棉种遗传物质的变化取决于回交亲本及回交次数,而且与分离群体中的单株选择和定向培育有关。在本研究中,(A₂G₁)×(AD)₁杂种一代中来自陆地棉的带占11.3%,而回交一代中来自陆地棉的带占15.8%;(A₂G₁)×(AD)₂杂种一代中来自海岛棉的带占11.3%,而回交一代中来自海岛棉的带占15.6%。在有关研究中Bommineni^[10]等对硬粒小麦与薄冰草属 *Thinopyrum junceiforme* 种的属间杂种一代与硬粒小麦回交的BC₁和BC₂世代利用RAPD标记检测来自 *Th. junceiforme* 种的DNA分子特异片段,并转换成RFLP标记进一步得到证实。用RAPD标记对(亚洲棉×异常棉)×陆地棉的杂交后代的5个种质系的研究结果表明,棉花远缘杂种后代的5个种质系均可检测到不同棉种的特异片段^[11-12]。因此,RAPD标记检测远缘杂种后代中来自不同棉种的亲缘关系是可行的。

3.3 棉属种间杂种后代基础理论研究的意义

棉属共有51个种,其中仅有陆地棉、海岛棉、

亚洲棉和非洲棉 4 个栽培种, 并分属不同的染色体组^[13]。其余棉种均为野生种, 也分属 A、B、C、D 等不同的染色体组。因此, 棉属无论是栽培种不同染色体组之间杂交, 还是栽培种与野生种之间杂交难度均很大, 成功率很低, 获得的多数棉属种间杂种稳定后代, 从性状变异的遗传关系可以确认其种间杂交的结果。本研究所采用的杂种材料(亚洲棉×比克氏棉)×陆地棉、(亚洲棉×比克氏棉)×海岛棉是山西农业大学棉花育种组培育成的野生棉与栽培棉的杂交后代, 它们在形态性状、农艺性状等方面都充分显示出其野生棉亲本典型的特征特性, 但由于棉花染色体小, 数目多, 显微制片中要得到理想的中期分裂相的难度大。因此, 采用分子标记对其种间杂种稳定后代进行分子基础研究, 首先可以从基因组水平上鉴定外源基因导入的结果, 以及明确其杂种后代的遗传变异程度, 以更有效地指导育成新种质的利用。其次有助于探讨棉属种间杂交的机理及其种间杂交技术的创新与有效评价。另外, 由于棉属种间杂种后代的性状变异往往比较明显、清晰, 容易找到其变异性状的分子标记。利用这些特点, 可以通过分析棉属种间杂种后代的遗传变异, 进行棉花重要农艺性状的分子标记以及基因分离与克隆。

参考文献:

- [1] WENDEL J F, Brubaker C L, Percival E. Genetic diversity in *Gossypium hirsutum* and the origin of upland cotton[J]. American Journal of Botany, 1992, 79: 1291-1310.
- [2] 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.
- [3] VALICEK P, 李贤柱, 吴敬. 野生棉与栽培棉[M]. 北京: 中国农业出版社, 1985.
- VALICEK P, Li Xian-zhu, Wu Jing. Wild cotton and cultivated cotton [M]. Beijing: Agricultural Press in China, 1985.
- [4] 黄骏麟. 中国棉作学[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1998: 21.
- HUANG Jun-lin. China cotton farming[M]. Beijing: Agricultural Science and Technology Press in China, 1998: 21.
- [5] 梁正兰. 棉花远缘杂交的遗传与育种[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 1-17.
- LIANG Zheng-lan. Genetic and breeding of cotton distant hybridization [M]. Beijing: Science Press, 1999: 1-17.
- [6] WANG Zhi-ning, Ji Dao-fan, Xu Fu-hua. Studies of dispecific, trispecific and quadrispecific hybrids of four cultivated cotton species. II. Meiotic chromosomal behavior and pollen germination rare of F₁ hybrids[J]. Journal of Zhejiang Agricultural University, 1990, 16(4): 369-374.
- [7] 吴玉香, 高燕会, 祝水金, 等. 4 个栽培棉种间四元杂种的 SSR 分子标记鉴定[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2007, 33(1): 56-60.
- WU Yu-xiang, Gao Yan-hui, Zhu Shui-jin, et al. Identification of SSR molecular marker on the interspecific hybrid F₁ among 4 cultivated species in *Gossypium* [J]. Journal of Zhejiang university: Agric & Life Sci, 2007, 33(1): 56-60.
- [8] CLARK M S. 植物分子生物学-实验手册[M]. Berlin: 施普林格出版社. 北京: 高等教育出版社, 1998: 7.
- CLARK M S. Plant molecular biology-laboratory exercises[M]. Berlin: Springer Press. Beijing: Higher Education Press, 1998: 7.
- [9] 朱四元, 陈金湘, 刘海荷, 等. 不同类型抗虫棉基于 RAPD 的遗传多样性分析[J]. 棉花学报, 2007, 19(2): 83-87.
- ZHU Si-yuan, Chen Jin-xiang, Liu Hai-he, et al. Genetic diversity analysis and identification of insect-resistant cottons based upon RAPD Markers[J]. Cotton Science, 2007, 19(2): 83-87.
- [10] BOMMINENI V R, Jauhar P P, Peterson T S, et al. Analysis of hybrids of durum wheat with *Thinopyrum junceiforme* using RAPD markers [J]. Theoretical Applied Genetics, 1997, 95: 757-763.
- [11] 聂以春, 左开井, 张献龙. RAPD 标记在棉属种间杂种后代检测中的应用[J]. 中国农业科学, 2000, 19(5): 385-394.
- NIE Yi-chun, Zuo Kai-jing, Zhang Xian-long. Application of RAPD in the detection among the hybrid progenies from *Gossypium* species [J]. Agricultural Science in China, 2000, 19(5): 385-394.
- [12] 张安世, 刘永英, 张为民, 等. 苔藓植物 RAPD 反应体系的建立及遗传多样性分析[J]. 河南师范大学学报: 自然科学版, 2009, 37(5): 122-125.
- ZHANG An-shi, Liu Yong-ying, Zhang Wei-min, et al. Establishment of RAPD reaction system and analysis of genetic diversity for bryophytes [J]. Journal of Henan Normal University: Natural Science, 2009, 37(5): 122-125.
- [13] FRYXELL P A. The natural history of the cotton tribe[M]. Texas: A & M University Press, College Station and London, 1979: 36-48. ●