

宿俊吉, 马 麒, 陈 红, 等. 导入海岛棉染色体片段对新疆陆地棉纤维品质性状的影响[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(1): 34-39.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2016.01.005

## 导入海岛棉染色体片段对新疆陆地棉纤维品质性状的影响

宿俊吉<sup>1,2</sup>, 马 麒<sup>1</sup>, 陈 红<sup>1</sup>, 李黎贝<sup>2</sup>, 邓福军<sup>1</sup>, 王彩香<sup>2</sup>, 林 海<sup>1</sup>

(1. 新疆农垦科学院棉花研究所/农业部西北内陆区棉花生物学与遗传育种重点实验室, 新疆 石河子 832000; 2. 中国农业科学院棉花研究所/棉花生物学国家重点实验室, 河南 安阳 455000)

**摘要:** 为了研究导入海岛棉染色体片段对新疆陆地棉纤维品质的影响, 利用陆地棉和海岛棉染色体片段置换系杂交回交构建了 2 个 BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 群体。利用 SSR 标记筛选鉴定 BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 群体中含有海岛棉染色体片段的阳性单株, 分别对 2 个 BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 群体中阳性单株与非阳性单株的纤维品质性状进行比较分析。结果显示, 在新陆早 33 号×CSSL-122 的 BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 群体中, 阳性植株纤维长度显著高于非阳性植株; 在金垦 69-2×CSSL-122 的 BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 群体中, 阳性植株纤维长度极显著高于非阳性植株, 阳性植株的纤维强度、伸长率显著高于非阳性植株。说明导入外源海岛棉染色体片段, 显著或极显著地提高了新疆陆地棉纤维长度、强度等性状。

**关键词:** 海岛棉; 陆地棉; 染色体片段置换系; 纤维品质; SSR 标记

**中图分类号:** S562.035.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2016)01-0034-06

## Changes of fiber quality traits of Xinjiang upland cotton introgressed with chromosome segment of *Gossypium barbadense* L.

SU Jun-ji<sup>1,2</sup>, MA Qi<sup>1</sup>, CHEN Hong<sup>1</sup>, LI Li-bei<sup>2</sup>, DENG Fu-jun<sup>1</sup>, WANG Cai-xiang<sup>2</sup>, LIN Hai<sup>1</sup>

(1. Cotton Research Institute, Xinjiang Academy of Agricultural and Reclamation Science/ Northwest Inland Region Key Laboratory of Cotton Biology and Genetic Breeding, Ministry of Agriculture, Shihezi 832000, China; 2. Cotton Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences/ State Key Laboratory of Cotton Biology, Anyang 455000, China)

**Abstract:** Molecular markers of SSR were employed to accurately identify individual plants carrying the chromosome segments from *Gossypium barbadense* in two BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> populations (Xinluzao 33×CSSL-122) and (Jinken 69-2×CSSL-122). And the fiber quality traits between positive plants and non-positive plants in two BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> populations were compared. The fibers of positive plants were significantly longer than those of non-positive plants. And fiber strengths and elongation rates of

positive plants were higher than those of non-positive plants as well. It was suggested that introgressing alien chromosome segments from *G. barbadense* into Xinjiang upland cotton had significantly improved its fiber quality.

**Key words:** *Gossypium barbadense* L.; *Gossypium hirsutum* L.; chromosome segment substitution line; fiber quality; SSR marker

收稿日期: 2015-03-21

基金项目: 新疆兵团青年创新基金项目(2014CB014); 新疆兵团科技支疆项目(2011AB001); 棉花生物学国家重点实验室开放课题基金项目(CB2013A13)

作者简介: 宿俊吉(1980-), 男, 甘肃会宁人, 博士, 副研究员, 主要从事棉花分子遗传育种研究。(Tel) 15299913812; (E-mail) xjnkysujj1980@163.com

通讯作者: 林 海, (E-mail) xjlinh@126.com; 王彩香, (E-mail) wangcx8050@163.com

陆地棉 (*Gossypium hirsutum* L.) 和海岛棉 (*Gossypium barbadense* L.) 是棉花的 2 个四倍体栽培种<sup>[1]</sup>。陆地棉产量高、适应性广,但黄萎病抗性和纤维品质均较差;海岛棉纤维品质优良、高抗黄萎病,但产量较低<sup>[2]</sup>。将海岛棉优良纤维品质基因导入陆地棉基因组中,对于陆地棉纤维品质的改良具有重要意义。通过杂交育种尽管可实现海岛棉基因向陆地棉基因组的导入,但是其杂交后代中往往会出现种间杂交不育、性状偏分离严重,以及遗传连锁累赘等问题<sup>[3]</sup>。为了克服上述存在的问题,构建培育海岛棉染色体片段置换系 (Chromosome segment substitution line, CSSL) 是一种有效的方法。

陆地棉背景的海岛棉染色体片段置换系,是在受体陆地棉中导入了供体亲本海岛棉的一个或几个纯合的染色体片段,而基因组的其余部分与轮回亲本完全相同的近等基因系<sup>[4]</sup>。因此在棉花遗传育种中利用海岛棉染色体片段置换系不仅可以消除遗传背景的干扰,解决遗传连锁累赘的问题,而且可克服海岛棉与陆地棉杂交育种的不利因素,有效实现外源海岛棉优异基因向陆地棉基因组的渐渗。Kohel 等<sup>[5]</sup>最早将海岛棉 3-79 的 6 号和 17 号染色体导入到陆地棉 TM-1 背景中,培育出陆地棉-海岛棉的染色体代换系。之后, Wang 等<sup>[4]</sup>培育出了一套在 TM-1 背景中导入海岛棉海 7124 染色体片段的置换系。随后众多学者构建了不同受体和供体的海岛棉染色体片段置换系<sup>[6-10]</sup>。近年来,利用海岛棉染色体片段置换系改良陆地棉目标性状的研究也取得了一定进展。张天真<sup>[11]</sup>以置换系 IL080-D6-1 和新疆陆地棉品种新陆早 38 号为亲本,进行杂交、回交 2 代且自交 3 代,并利用分子标记辅助选择获得了纤维长度、强度和细度优良的棉花新品系南农

海导 2 号;Cao 等<sup>[12]</sup>利用 TM-1 背景的海岛棉染色体片段置换系将控制纤维长度、强度、细度的 QTL 导入新陆早 26 号、41 号、42 号中,实现了目标性状的显著改良。

新疆作为中国最大的原棉生产基地,近年来机械化采摘技术得到了快速发展,然而机采棉在机械除杂过程中纤维长度和强度降低,短纤维率升高,造成加工后原棉等级降低。因此新疆棉区对棉纤维品质的要求愈来愈高,加强新疆陆地棉纤维品质改良的研究显得越来越重要。为此,本研究以优良纤维品质的置换系 CSSL-122 为轮回亲本,新疆主栽陆地棉品种新陆早 33 号和优良品系金垦 69-2 为非轮回亲本,分别构建 2 个 BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 群体,利用 SSR 标记鉴定含有海岛棉片段特异性标记的阳性植株,研究 BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> 群体单株中导入海岛棉染色体片段对其纤维品质性状的改良效果,以期为利用海岛棉染色体片段置换系,改良新疆主栽陆地棉品种的纤维品质性状提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

试验材料为海岛棉染色体片段置换系 CSSL-122,以及陆地棉品种新陆早 33 号和金垦 69-2。CSSL-122 是通过杂交、连续回交,结合 SSR 标记辅助选择,将海岛棉海 7124 中 2D 染色体上的一小片段导入到陆地棉遗传标准系 TM-1 中培育而成<sup>[4]</sup>,该置换系产量较低但纤维较长,该材料由南京农业大学张天真教授惠赠。新陆早 33 号和金垦 69-2 均由新疆农垦科学院棉花研究所选育,其中新陆早 33 号为多年来北疆地区推广面积最大的主栽品种之一,其特征是产量高而纤维品质中等<sup>[13]</sup>;金垦 69-2 是高产、抗病、纤维品质较低的优良品系(表 1)。

表 1 亲本材料的主要纤维品质性状

Table 1 Main fiber quality traits of parental materials

亲本	纤维长度 (mm)	纤维强度 (cN/tex)	马克隆值	伸长率 (%)	整齐度指数 (%)
CSSL-122	32.68	32.52	4.20	6.50	84.30
新陆早 33 号	30.23	30.61	4.40	6.70	85.30
金垦 69-2	29.43	31.06	4.50	6.30	86.20

## 1.2 试验方法

1.2.1  $BC_2F_1$  群体的构建 以新陆早 33 号和金垦 69-2 为母本, CSSL-122 为父本分别进行杂交产生  $F_1$ , 再以陆地棉为轮回亲本连续回交 2 代得到  $BC_2F_1$ , 分别构建(新陆早 33 号×CSSL-122)和(金垦 69-2×CSSL-122)2 个  $BC_2F_1$  群体。

1.2.2 SSR 分析 在苗期取相同大小嫩叶, 按 Paterson 等<sup>[14]</sup>的方法提取基因组总 DNA。按照马麒等<sup>[15]</sup>报道的引物序列, 由上海生物工程有限公司合成引物。SSR-PCR 在 PCR Veriti96-well (美国, ABI 公司)上进行, PCR 扩增、电泳及染色参考张军等<sup>[16-17]</sup>的方法。

1.2.3 多态性引物的筛选及阳性植株的鉴定 选取 19 对被定位在海岛棉染色体上且与棉花纤维品质性状有关的 SSR 引物<sup>[15]</sup>, 在亲本 CSSL-122、新陆早 33 号和金垦 69-2 间进行多态性的检测, 从中筛选出在海岛棉染色体片段置换系和陆地棉亲本间具有多态性的 SSR 引物。利用其多态性引物, 分别对 2 个  $BC_2F_1$  后代群体的单株 DNA 进行 PCR 扩增, 经聚丙烯酰胺凝胶电泳及银染显色后, 统计海岛棉染

色体片段特异标记带型, 确定渐渗有置换系 CSSL-122 海岛棉染色体片段的阳性植株。

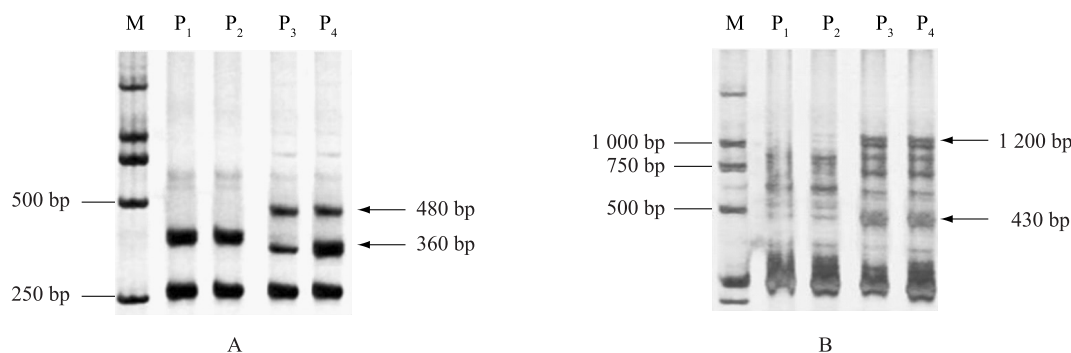
1.2.4 纤维品质性状的检测 收获期按单株收获考种铃, 轧花后取样品约 10 g 送交农业部棉花品质监督检验测试中心, 检测纤维长度、纤维强度、马克隆值、伸长率及整齐度指数等主要纤维品质性状。

1.2.5 数据分析 利用 Excel 软件对试验数据进行列表分析, 用 SPSS17.0 软件进行均值显著性  $t$  检验分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 海岛棉染色体特异性分子标记的筛选

在定位到海岛棉染色体上且与纤维长度、强度相关的 19 对引物<sup>[15]</sup>中, 筛选出的 2 对与纤维长度相关的 SSR 引物 NAU2987 和 BNL3145, 在海岛棉染色体片段置换系 CSSL-122 与新陆早 33 号和金垦 69-2 间多态性明显。引物 NAU2987 和 BNL3145 分别在 CSSL-122 中扩增出海岛棉染色体特异性分子标记 NAU2987<sub>360</sub>、NAU2987<sub>480</sub> 和 BNL3145<sub>430</sub>、BNL3145<sub>1200</sub>(图 1)。



M: Marker; P<sub>1</sub>: 新陆早 33 号; P<sub>2</sub>: 金垦 69-2; P<sub>3</sub>: 海岛棉染色体片段置换系 CSSL-122; P<sub>4</sub>: 海 7124。箭头所指为从 CLLS-122 中扩增出的特异性片段。

图 1 引物 NAU2987(A) 和 BNL3145(B) 在亲本间的扩增

Fig.1 The amplification of parental materials with primers NAU2987(A) and BNL3145(B)

### 2.2 $BC_2F_1$ 群体阳性植株的鉴定

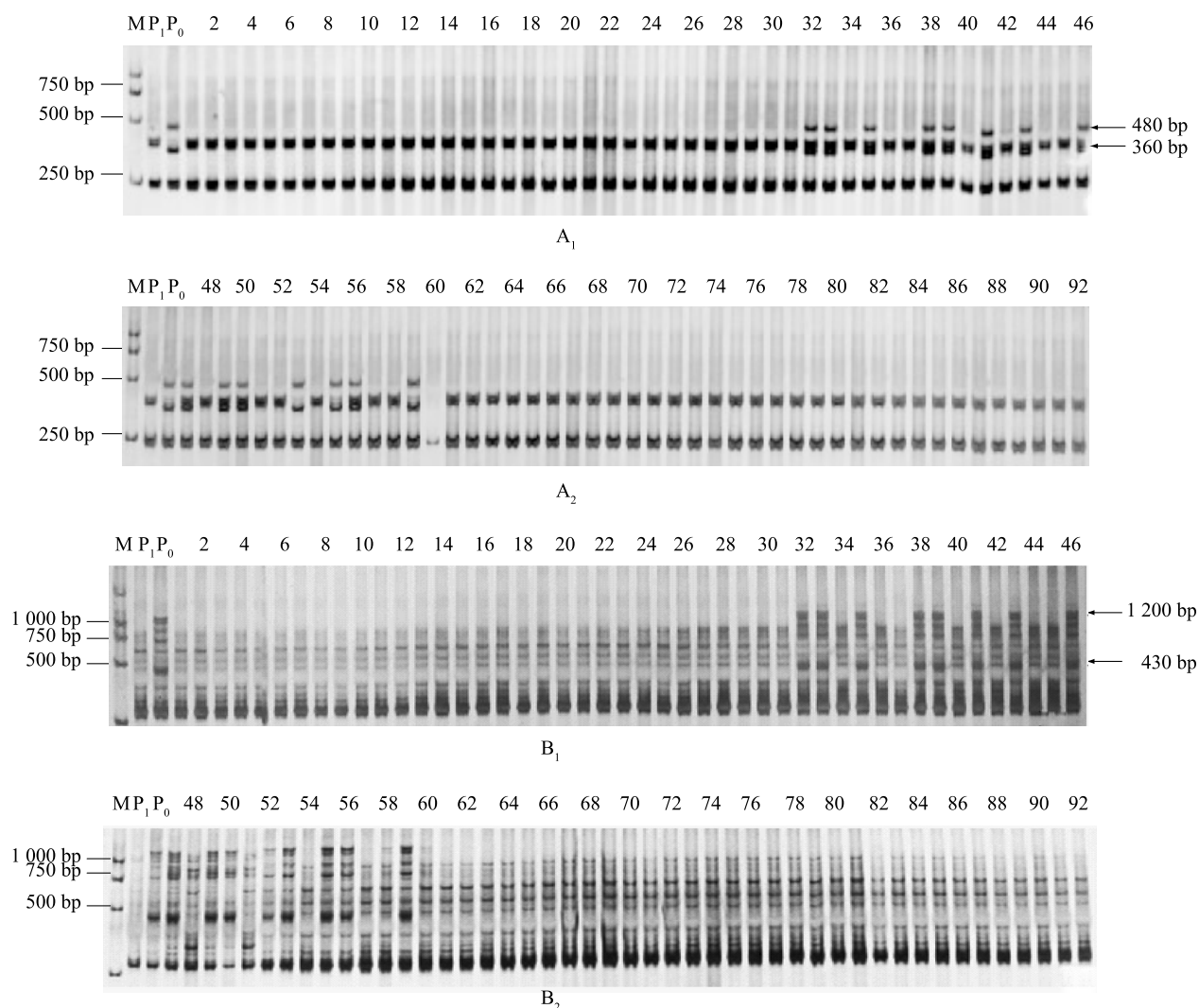
利用上述筛选获得的多态性引物 NAU2987 和 BNL3145 对 2 个  $BC_2F_1$  群体单株进行外源海岛棉染色体片段阳性植株的鉴定。结果显示, 2 对引物在 2 个  $BC_2F_1$  群体中, 均检测到含有海岛棉片段特异性标记的植株。在新陆早 33 号×CSSL-122 的  $BC_2F_1$  群

体中, 鉴定到 16 株阳性植株, 海岛棉染色体片段导入率是 13.30%; 在新陆早 33 号×CSSL-122 的  $BC_2F_1$  群体中, 鉴定到 7 株阳性植株, 海岛棉染色体片段导入率是 5.80%。

同时还发现, 引物 NAU2987 和 BNL3145 在相同  $BC_2F_1$  群体中鉴定出的阳性植株相同。在新陆早

33号×CSSL-122的 $BC_2F_1$ 群体中,2个引物鉴定出的阳性单株编号均为32、33、35、38、39、41、43、46、47、49、50、53、55、56、59(图2);同样在金垦69-2×

CSSL-122的 $BC_2F_1$ 群体中,NAU2987和BNL3145鉴定出的阳性单株也完全一致。



M: Marker;  $P_1$ : 新陆早33号;  $P_0$ : 海岛棉染色体片段置换系CSSL-12; 1~92:  $BC_2F_1$ 群体单株。箭头所指为海岛棉染色体片段特异标记。

图2 引物NAU2987( $A_1$ 和 $A_2$ )和BNL3145( $B_1$ 和 $B_2$ )在 $BC_2F_1$ 群体中的检测结果

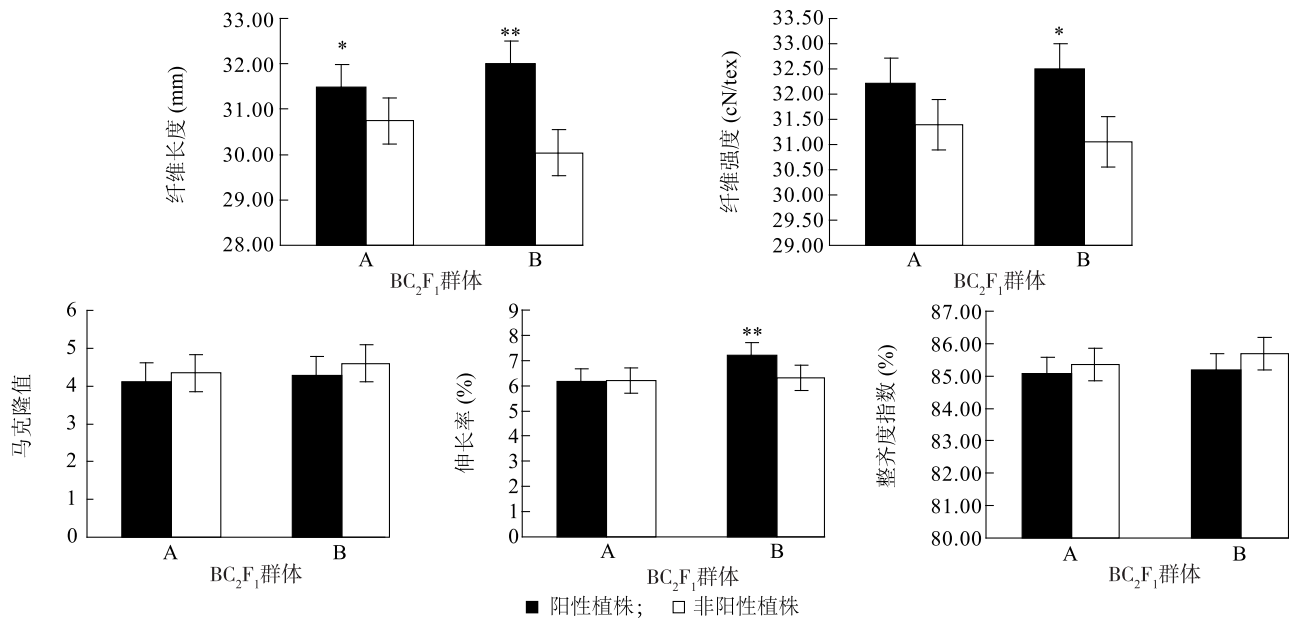
Fig.2 The amplification of  $BC_2F_1$  population with primers NAU2987 ( $A_1$  and  $A_2$ ) and BNL3145 ( $B_1$  and  $B_2$ )

### 2.3 导入海岛棉染色体片段对新疆陆地棉纤维品质的影响

对 $BC_2F_1$ 群体中阳性单株与非阳性单株进行纤维品质性状平均值 $t$ 检验比较分析。结果表明2个 $BC_2F_1$ 群体中,阳性植株的纤维品质性状优于非阳性植株。在新陆早33号×CSSL-122的 $BC_2F_1$ 群体中,阳性植株的纤维长度(31.49 mm)显著高于非阳

性植株纤维长度(30.74 mm);在金垦69-2×CSSL-122的 $BC_2F_1$ 群体中,阳性植株纤维长度(32.00 mm)极显著高于非阳性植株的纤维长度(30.04 mm),阳性植株纤维强度(32.50 cN/tex)显著高于非阳性植株纤维强度(31.60 cN/tex),阳性植株伸长率(7.20%)显著高于非阳性植株伸长率(6.30%)(图3)。





A:新陆早 33 号×CSSL-122 的  $BC_2F_1$  群体;B:金垦 69-2×CSSL-122 的  $BC_2F_1$  群体。\*、\*\* 表示阳性植株与非阳性植株之间差异分别达到 0.05 和 0.01 显著水平。

图 3  $BC_2F_1$  群体中阳性植株与非阳性植株纤维品质指标的比较

Fig.3 Comparison of fiber quality traits between positive and non-positive plants in the  $BC_2F_1$  populations

### 3 讨论

在棉花常规育种中,如果通过导入种间遗传物质改良棉花纤维品质,会面临一系列不相容性问题<sup>[18]</sup>;试图通过回交将海岛棉纤维品质基因导入陆地棉基因组中,也存在着不稳定遗传的缺点<sup>[19-20]</sup>。而具有陆地棉背景的海岛棉染色体片段置换系基因组内只有来自供体亲本的一个或几个纯合的染色体片段,基因组的其余部分与轮回亲本相同<sup>[4]</sup>,因此用海岛棉染色体片段置换系与陆地棉杂交、回交可以克服海岛棉与陆地棉杂交育种中的限制性因素,有效实现置换系中海岛棉染色体片段向陆地棉基因组的导入。

前人就海岛棉染色体片段置换系的育种价值已开展了一些重要研究,为今后在陆地棉遗传育种中更好地利用海岛棉染色体片段置换系奠定了基础。张金凤等<sup>[21]</sup>用一套以陆地棉中棉所 36 为遗传背景,海岛棉海 1 为供体的染色体片段置换系群体  $BC_5F_3$  和  $BC_5F_{3,4}$  为材料,通过对表型数据的比较分析,发现染色体片段置换系群体中存在大量纤维品质优异的单株,并且两个世代具有较好的一致性与稳定性,部分材料具有直接利用价值。Wang 等<sup>[22]</sup>利用陆地棉 TM-1 背景的海岛棉染色体片段置换

系,将海岛棉长纤维品质 QTL 导入陆地棉基因组,发现纤维品质 QTL 的遗传具有较高的稳定性。马麒等<sup>[15]</sup>将控制纤维长度的海岛棉染色体片段导入陆地棉新陆早 45 号后,有效地提高了其纤维的长度和强度。Cao 等<sup>[12]</sup>利用 TM-1 背景的海岛棉染色体片段置换系,通过杂交、回交并辅以分子标记辅助选择的方法,将置换系中控制纤维长度、强度、细度的 QTL 导入新疆陆地棉中,提高了陆地棉的纤维品质,证明利用海岛棉染色体片段置换系改良陆地棉纤维品质性状的效果明显。

本研究利用陆地棉 TM-1 背景的海岛棉染色体片段置换系,通过回交将携带有控制纤维长度的优良基因的海岛棉染色体片段,转育到新疆陆地棉品种新陆早 33 号和金垦 69-2 中,用特异性分子标记  $NAU2987_{360}$ 、 $NAU2987_{480}$  和  $BNL3145_{430}$ 、 $BNL3145_{1200}$  可有效地对带有海岛棉染色体片段的阳性植株进行选择,纤维品质检测结果显示阳性植株纤维长度显著或极显著大于非阳性植株,进一步说明用海岛棉染色体片段置换系改良陆地棉纤维品质的可行性和标记选择的准确性。本研究中 2 个  $BC_2F_1$  群体中阳性植株的纤维长度均得到显著提高,同时纤维强度也得到增强;从纤维细度和整齐度来看,用置换系改

良后陆地棉的纤维变粗,整体度指数下降,但是这2项指标的变化均未达到显著水平,说明纤维细度和整齐度下降不明显,纤维强度提高可能也与纤维变粗有关。说明利用海岛棉染色体片段置换系是改良陆地棉纤维品质性状的有效育种途径之一。

利用被定位在海岛棉染色体上与纤维长度性状紧密连锁,且在亲本间具有高度多态性的标记NAU2987和BNL3145,对2个BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>群体中的单株进行了外源海岛棉染色体片段的检测。发现2对标记能准确地鉴定出含有外源海岛棉染色体片段的阳性单株,并且引物NAU2987和BNL3145在同一BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>群体中鉴定出的阳性单株也完全一致,说明这2个标记可能是紧密连锁遗传的。在Guo等<sup>[23]</sup>构建的目前比较饱和的棉花遗传图谱中,标记NAU2987和BNL3145也被定位在同一连锁群上,分别位于海岛棉D<sub>2</sub>染色体(14号染色体)61.0 cM和68.5 cM处。Xu等<sup>[24]</sup>分析与纤维发育相关的EST序列,发现与3个纤维中后期伸长相关的EST岛屿被富集在14号染色体(D<sub>2</sub>)上。本研究结果同样说明导入海岛棉第14号染色体片段到陆地棉基因组中,有利于提高陆地棉的纤维长度,但该染色体片段携带哪些纤维伸长发育基因,仍需进一步研究。

## 参考文献:

- [1] 黄滋康. 中国棉花遗传育种学[M]. 济南:山东科学技术出版社,2003.
- [2] 钱能. 陆地棉遗传多样性与育种目标性状基因(QTL)的关联分析[D]. 南京:南京农业大学,2009.
- [3] 杨泽茂,李骏智,李爱国,等. 利用高代回交和分子标记辅助选择构建棉花染色体片段置换系[J]. 分子植物育种, 2009, 7(2):233-241.
- [4] WANG P, DING Y Z, LU Q X, et al. Development of *G. barbadense* L. chromosome segment substitution lines with the background of upland cotton standard lines TM-1[J]. Chinese Science Bulletin, 2008, 53(9): 1065-1069.
- [5] KOHEL R J, ENDREZZI J E, WHITE T G. An evaluation of *Gossypium barbadense* chromosomes 6 and 17 in the *G. hirsutum* L[J]. Crop Sci, 1977, 17: 404-406.
- [6] 王志伟. 分子标记辅助选择构建棉花种间单片段置换系及其遗传评价[D]. 武汉:华中农业大学, 2009.
- [7] 冯常辉. 陆地棉邯鄲208背景的海岛棉Pima 90染色体片段导入系的构建及评价[D]. 武汉:华中农业大学, 2009.
- [8] 梁燕. 早熟陆地棉染色体片段置换系的构建及QTL定位初探[D]. 安阳:中国农业科学院棉花研究所, 2010.
- [9] 央付,苑冬冬,胡文静,等. 陆地棉背景下海岛棉第18染色体片段置换系的培育及相关农艺性状QTL定位[J]. 作物学报, 2013, 39(1):21-28.
- [10] 李夕梅. 棉花种间导入系的构建、新型标记的开发与高密度遗传图谱的构建[D]. 武汉:华中农业大学, 2013.
- [11] 张天真. 一种改良棉花纤维长度、纤维强度和马克隆值的分子育种方法:中国,CN102229982A[P]. 2011-11-02.
- [12] CAO Z B, WANG P, ZHU X, et al. SSR marker-assisted improvement of fiber qualities in *Gossypium hirsutum* using *G. barbadense* introgression lines[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2013, 127(3):587-594.
- [13] 马晓梅,李保成,李生秀,等. 早熟陆地棉新陆早32号与33号的选育[J]. 种子,2009,28(5):114-116.
- [14] 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(2): 122-127.
- [15] 马麒,宿俊吉,陈红,等. 利用海岛棉染色体片段置换系改良新陆早45号纤维品质性状的研究[J]. 棉花学报, 2013, 25(6):496-502.
- [16] 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.
- [17] ZHANG J, GUO W Z, ZHANG T Z. Molecular linkage map of allotetraploid cotton (*Gossypium hirsutum* L. × *Gossypium barbadense* L.) with a haploid population[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 105(8): 1166-1174.
- [18] CULP T W, HARREL D, KERR T. Some genetic implications in the transfer of high fiber strength genes to upland cotton[J]. Crop Sci, 1979, 19:481-484.
- [19] STEPHENS S G. The cytogenetics of speciation in *Gossypium*. I. Selective elimination of the donor parent genotype in interspecific backcrosses[J]. Genetics, 1949, 34:627-637.
- [20] MCKENZIE W H. Fertility relationships among interspecific hybrid progenies of *Gossypium*[J]. Crop Sci, 1970, 10:571-574.
- [21] 张金凤,石玉真,梁燕,等. 陆地棉染色体片段置换系(BC<sub>5</sub>F<sub>3</sub>和BC<sub>5</sub>F<sub>3:4</sub>)产量和纤维品质性状表现的评价[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(5):773-781.
- [22] WANG P, ZHU Y, SONG X, et al. Inheritance of long staple fiber quality traits of *Gossypium barbadense* in *G. hirsutum* background using CSILs[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2012, 124(8): 1415-1428.
- [23] GUO W Z, CAI C P, Wang C B, et al. A microsatellite-based, gene-rich linkage map reveals genome structure, function and evolution in cotton[J]. Genetics, 2007, 5(176): 527-541.
- [24] XU Z, KOHEL R J, SONG G L, et al. Gene-rich islands for fiber development in the cotton genome[J]. Genomics, 2008, 92: 173-183.

(责任编辑:张震林)