

赵 君, 张大伟, 徐剑文, 等. 陆地棉 VR018 抗黄萎病 QTL 定位[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(6): 1232-1238.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2018.06.005

陆地棉 VR018 抗黄萎病 QTL 定位

赵 君¹, 张大伟², 徐剑文¹, 徐海江², 刘剑光¹, 朱家辉², 吴巧娟¹, 孔 杰², 肖松华¹, 阿里普·艾尔西²

(1. 江苏省农业科学院经济作物研究所/农业部长江下游棉花和油菜重点实验室, 江苏 南京 210014; 2. 新疆农业科学院经济作物研究所, 新疆 乌鲁木齐 830091)

摘要: 黄萎病是棉花生产中的主要病害。由于陆地棉中严重缺乏高抗黄萎病的品种, 棉花抗黄萎病育种研究进展缓慢。本研究从泗棉 3 号与中植棉 2 号杂交后代中选育获得 1 个黄萎病抗性显著提高的新品系 SuVR018, 利用 3 100 对 SSR 引物对泗棉 3 号和 SuVR018 进行多态性分析, 获得具有多态性的标记 32 个; 以 SuVR018 为母本, 泗棉 3 号为父本, 杂交构建包含 312 个单株的 F₂ 群体, 构建包含 17 个位点和 6 个连锁群的连锁图谱。F_{2:3} 家系接种落叶型黄萎病菌 V991, 调查抗病性, 通过复合区间作图法共检测到 4 个与棉花抗黄萎病相关的 QTL, 分别位于染色体 A5、染色体 D5、染色体 D5 和染色体 D6 染色体上, 表型贡献率分别为 6.41%、3.78%、4.61% 和 5.78%。单标记分析检测到与黄萎病抗性显著关联的位点 5 个, 分别为 NAU3212、MGHES40、DPL209、CIR181 和 NAU5204, 解释表型变异分别为 6.38%、1.50%、2.80%、2.10% 和 2.20%。本研究为深入解析中植棉 2 号的抗黄萎病遗传机制奠定了理论基础。

关键词: 棉花; 黄萎病; 分子标记; QTL

中图分类号: S562 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2018)06-1232-07

Quantitative trait locus mapping for Verticillium wilt resistance in upland cotton VR018

ZHAO Jun¹, ZHANG Da-wei², XU Jian-wen¹, XU Hai-jiang², LIU Jian-guang¹, ZHU Jia-hui², WU Qiao-juan¹, KONG Jie², XIAO Song-hua¹, AUPU Aierxi²

(1. Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Cotton and Rapeseed, Ministry of Agriculture, Nanjing 210014, China; 2. Institute of Industrial Crops Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, China)

Abstract: Verticillium wilt (VW) is one of the most crushing diseases in cotton production. Due to the lack of varieties with high resistance to *Verticillium dahliae* (*V. dahliae*) in upland cotton, the progress of disease resistance breeding was slow. We acquired a resistance line, SuVR018 with the higher resistance to *V. dahliae*, which was selected from F₂ segregated population crossing by Simian 3 and Zhongzhimian 2. In this study, 3 100 pairs of SSR primers were used to detect polymorphism of SuVR018 and Simian 3, and 32 SSR

收稿日期: 2018-07-08

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31401727); 国家重点研发计划项目 (2016YFD0100203); 转基因生物新品种培育科技重大专项 (2016ZX08005001); 江苏省重点研发计划项目 (BE2015353); 江苏省自然科学基金项目 (BK20170597)

作者简介: 赵 君 (1982-), 男, 山西朔州人, 博士, 副研究员, 研究方向为棉花种质创新与分子育种。(Tel) 025-84390363; (E-mail) sxzhaojun88@aliyun.com

通讯作者: 肖松华, (Tel) 025-84390363; (E-mail) njxsh@sina.com

markers with polymorphism were identified. Using SuVR018 as female parent and Simian 3 as male parent, the F₂ population with 312 individual plants was constructed by hybridization, and the linkage map with 17 polymorphic loci six linkage groups was constructed. In order to investigate the resistance to *V. dahliae* strain V991, F_{2:3} families were inoculated. Four QTLs related to *V. dahliae* were detected on Chr.A5, Chr.D5, Chr.D5 and Chr.D6,

and the phenotypic contribution rates were 6.41%, 3.78%, 4.61% and 5.78%, respectively. With association analysis, five loci associated with VW resistance were detected, which were *NAU3212*, *MGHES40*, *DPL209*, *CIR181* and *NAU5204*, and explained 6.38%, 1.50%, 2.80%, 2.10% and 2.20% of the phenotypic variation, respectively. These results lay a theoretical foundation for further analysis of the resistant mechanism to VW in Zhongzhimian 2.

Key words: cotton; Verticillium wilt; molecular marker; quantitative trait locus

棉花是中国主要的经济作物,棉花生产在中国国民经济中占有举足轻重的地位。棉花的病害比较多,特别是黄萎病,给棉花生产造成巨大损失。棉花黄萎病是 Carpenter 于 1914 年在美国弗吉尼亚州发现并报道的,是世界范围内一种破坏性极大的土传性维管束真菌病害,主要由大丽轮枝菌引起^[1]。中国棉花黄萎病是由于 1935 年引进美国斯字棉 4B 棉种传入中国的,之后随着棉种的繁殖和调运,棉花黄萎病在中国各主要产棉区逐渐传播开来。特别是近几年,新疆棉区的黄萎病发生逐年加重,严重影响中国棉花产业的发展。

棉花对黄萎病的抗病机制是一个非常复杂的过程,涉及多种物质和信号途径。研究结果表明,萜烯类化合物、苯丙素类化合物、活性氧、水杨酸、茉莉酸、乙烯、油菜素内酯、精胺和 Camalexin 等信号途径参与了棉花对黄萎病的抗性过程^[2-7]。为探究植物对黄萎病的抗病机制,大量抗黄萎病相关的基因被克隆^[8]。研究结果显示,一些外源基因也能提高棉花对黄萎病的抗性^[9-13]。同时,许多学者也开展了抗黄萎病基因分子标记定位研究,取得了很大的进展。到目前为止,在棉花的 26 条染色体或连锁群上共检测到至少 193 个抗病相关 QTL。部分研究者使用 Meta-analysis 方法,将已经发表的抗黄萎病相关 QTL 进行分析,至少筛选获得 28 个 QTL 簇,检测到 13 个抗黄萎病 QTL 热点区域,分布在 9 条染色体上(分别为染色体 4、染色体 5、染色体 7、染色体 8、染色体 16、染色体 19、染色体 21、染色体 23 和染色体 26^[14])。

许多学者对不同棉种进行黄萎病抗性鉴定,认为多数海岛棉品种对黄萎病的抗性较强。近 20 年来,许多育种学家尝试通过回交将海岛棉抗黄萎病性状转育到陆地棉中,但是由于连锁累赘的影响,进展缓慢^[14]。陆地棉是世界棉花的主要栽培种,但其遗传基础狭窄,缺乏对多种病虫害的抗性,仅有少数品种对黄萎病的抗性能达到耐病标准。到目前为止,国内外公开发放的抗源品种有常抗棉、文 5、豫棉 19、豫棉 21、94-56D、Acala 90、Deltacot 344、Sio-

kra15、中 G4 和中植棉 2 号等,对黄萎病具有较高的抗性^[15-16]。利用分子生物学方法解析这些陆地棉的抗黄萎病机制,通过回交方法将抗病性状进行转育,能够显著加快育种进程。

在前期的研究工作中,从泗棉 3 号与中植棉 2 号杂交后代群体中,通过人工病圃定向筛选获得 1 个抗黄萎病新品系苏 VR018。本研究利用苏 VR018 与泗棉 3 号构建 F₂ 群体,定位与抗病相关的 QTL,获得与抗病连锁的分子标记,为中植棉 2 号抗黄萎病基因的精细定位和抗黄萎病性状的育种利用奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

2012 年,本研究室利用感病亲本泗棉 3 号与抗病亲本中植棉 2 号杂交产生 F₁,同年南繁自交获得 F₂。2013 年在南京黄萎病人工病圃进行抗病鉴定,筛选抗病单株,同年南繁自交,于 2014 年和 2015 年连续 2 年进行自交和抗病鉴定,获得抗病株系苏 VR018。2015 年在黄萎病人工病圃,利用苏 VR018 与感病亲本泗棉 3 号杂交,获得 F₁,2015 年冬季南繁获得 F₂。2016 年将包含 312 个单株的 F₂ 群体种植在江苏省农业科学院棉花育种基地,同年, F₂ 单株自交获得 F_{2:3} 家系种子。2016 年冬天,于江苏省农业科学院温室用黄萎病菌株 V991 接种苏 VR018、泗棉 3 号、中植棉 2 号和 F_{2:3} 家系。本研究所用的泗棉 3 号来源于本研究室保存的自交纯合种子,中植棉 2 号由中国农业科学院棉花研究所提供。

本试验所用棉花落叶型黄萎病菌株 V991 由江苏省农业科学院植物保护研究所提供,由本实验室引进后自行分离提纯。

1.2 接种和性状调查

25℃下,将黄萎病菌涂布于固体土豆培养基(马铃薯 200 g、琼脂 17 g、蔗糖 20 g、蒸馏水 1 000 ml)表面,14 d 后转移到液体土豆培养基(马铃薯 200 g、蔗糖 20 g、蒸馏水 1 000 ml)中,室温下振荡培养 5 d,测定孢子浓度,将液体稀释至每 1 ml 5×10⁷

个孢子。将处理好的棉花种子播于温室中的营养钵中,1 钵 2 粒,待棉株长到两叶一心时,进行营养钵撕底,以达到伤根的目的。用黄萎病菌的分生孢子悬浮液进行接种,每营养钵 10 ml。接种 7 d 后将营养钵中死苗全部拔除,定期观察棉苗发病情况,主要通过考察群体及亲本的叶片发病情况,具体鉴定方法参考 Ning 等^[17]的方法。其中 5 级分类的标准如表 1 所示。根据调查结果计算病情指数,每个株系调查最少 15 株,试验设置 3 个重复。

病情指数 = $\sum (\text{各级病株数} \times \text{相应病级}) / (\text{调查总株数} \times 4) \times 100\%$

表 1 棉花黄萎病叶片病级划分标准

Table 1 The classification standard of Verticillium wilt cotton leaf

病级	叶片病害症状分级标准
0	健株,无病害症状
1	≤株 25% 叶片发病
2	26%~50% 叶片发病或脱落
3	51%~75% 叶片发病或叶片脱落仅剩心叶
4	≥76% 叶片发病或全病死或脱落成光杆

1.3 DNA 分子标记

按照 Paterson 等^[18]的 CTAB 法提取苏 VR018、泗棉 3 号和 312 个 F₂ 单株的 DNA。根据已经公布的棉花遗传图谱,选择分布在棉花 26 条染色体上的 3 100 对 SSR (Simple sequence repeat) 引物检测 2 个亲本基因组之间的多态性,利用亲本间存在多态的引物对 F₂ 单株进行扩增检测。所有 SSR 引物信息均可从 <http://www.cottonmarker.org> 下载得到。PCR 扩增、产物电泳和银染参照张军等^[19]的方法。

1.4 数据分析和连锁图构建

用 JoinMap3.0 软件分析标记间的连锁关系,构建分子遗传图谱^[20],连锁的最低 LOD 值为 2.5,最大遗传距离为 50 cM。采用 Windows QTLs Cartographer 2.0 结合复合区间作图法 (Composite interval mapping, CIM) 检测抗病性状的 QTL^[21-22]。通过 1 000 次随机抽样确定 LOD 阈值。

2 结果与分析

2.1 苏 VR018 主要农艺性状、纤维品质及抗病性表现

为更加详细地了解苏 VR018 的特征,我们比较了

苏 VR018、泗棉 3 号和中植棉 2 号的主要农艺性状、纤维品质及抗病性表现。结果(表 2)表明,中植棉 2 号与泗棉 3 号之间在果枝数、衣分、纤维整齐度、纤维生产率、纤维比强度以及抗病性方面存在显著或极显著差异。在中植棉 2 号与泗棉 3 号杂交后代中选育的苏 VR018 与泗棉 3 号相比,其纤维整齐度、纤维比强度以及对黄萎病的抗性方面得到显著改良,但是衣分没有显著提高(表 2)。在苏 VR018 的选育过程中,主要目的是将中植棉 2 号对黄萎病的抗性向陆地棉泗棉 3 号转育,因此苏 VR018 的抗病性得到极显著提高。该结果表明,通过系统选育成功地将中植棉 2 号的部分抗病相关位点转育到新品系苏 VR018 中。苏 VR018 与亲本泗棉 3 号在抗病性状方面有较大的遗传差异,适合进行抗病性状的分子标记。

表 2 苏 VR018、泗棉 3 号和中植棉 2 号主要农艺性状、纤维品质及抗病性平均表现值

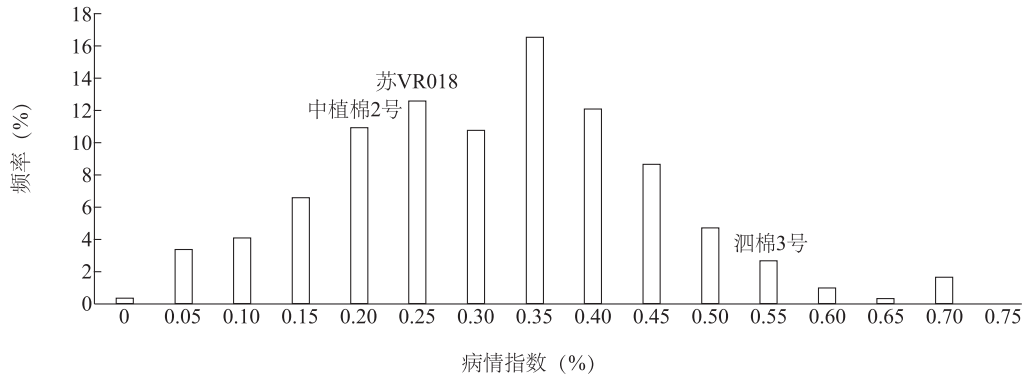
Table 2 Average performance values of agronomic characters, fiber quality and resistance to Verticillium wilt of Su-VR018, Simian 3 and Zhongzhimian 2

性状	泗棉 3 号	苏 VR018	中植棉 2 号
株高 (cm)	98.3	97.1	103.0
果枝数	16.5	16.4	14.8 *
铃数	18.7	17.8	16.1
单铃质量 (g)	5.1	5.2	5.9
衣分 (%)	43.2	39.2 *	39.4 *
纤维长度 (mm)	30.4	30.1	29.3
整齐度 (%)	75.8	84.2 *	84.7 *
马克隆值	4.9	4.9	4.7
生长率 (%)	7.6	6.9	6.6 *
比强度 (cN/tex)	23.5	29.1 **	29.2 **
病情指数 (%)	56.7	28.3 **	20.8 **

* 表示与泗棉 3 号相比差异显著 ($P < 0.05$); ** 表示与泗棉 3 号相比差异极显著 ($P < 0.01$)。

2.2 F_{2:3} 群体病情指数

对亲本及其 F_{2:3} 群体进行抗病鉴定,结果表明 2 个亲本的抗病性存在显著差异。对 F_{2:3} 群体抗病鉴定结果统计分析,显示 F_{2:3} 株系中病情指数的最大值为 71.1%,最小值为 3.7%,中亲值为 41.2%,病情指数平均值为 36.1%,偏度系数为 0.12,峰度系数为 0.60,广义遗传力分别为 0.7。另外, F_{2:3} 群体病情指数表现为单峰连续分布,没有明显的比例关系,表现出数量性状的遗传特点(图 1)。因此我们认为苏 VR018 对棉花黄萎病的抗性属于多基因控制,适于进行 QTL 定位。

图1 $F_{2:3}$ 群体病情指数频率分布图Fig.1 Frequency distributions of disease index in $F_{2:3}$ population

2.3 苏 VR018 遗传背景分析及连锁图构建

利用 3 100 对 SSR 引物,对泗棉 3 号和苏 VR018 进行多态性分析,筛选到多态性标记 32 个,分布在 18 条染色体上,多态率为 10.3%。用在双亲之间存在多态性的 SSR 引物对 312 个 F_2 单株进行分析,共得到 32 个位点,经卡方检测有 3 个位点偏分离,在构建连锁图时剔除这些偏分离的位点。

用 Joinmap 3.0 软件构建连锁群 ($LOD \geq 3.0$)。最终得到 1 个包含 17 个位点和 6 个连锁群的连锁

图谱(图 2)。构建的连锁群长度 18.30~44.70 cM,图谱总长 198.00 cM,标记间平均遗传距离为 10.42 cM,每个连锁群标记数为 2~4 个。根据棉花微卫星数据库提供的信息对连锁群中 SSR 标记进行染色体定位,6 个连锁群被分别定位在 染色体 5(染色体 A5)、染色体 12(染色体 A12)、染色体 17(染色体 D3)、染色体 19(染色体 D5)、染色体 22(染色体 D4)和染色体 25(染色体 D6)上。

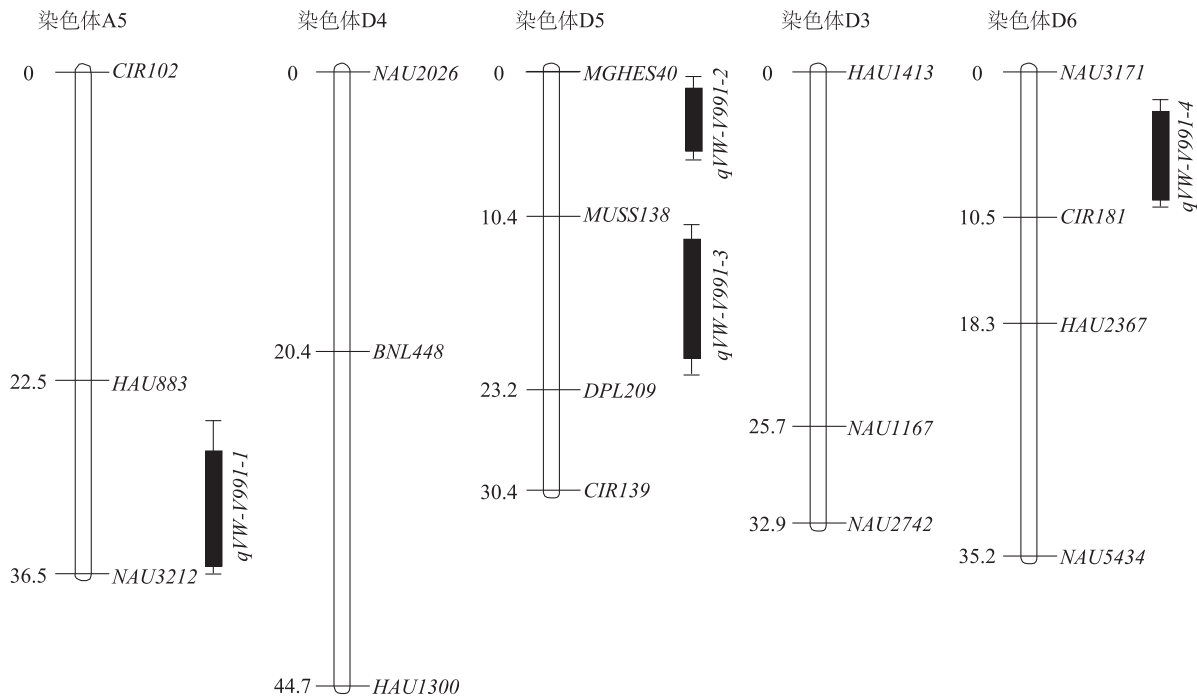


图2 棉花抗黄萎病 QTL 定位

Fig.2 QTL mapping of cotton resistance to Verticillium wilt (VW)

2.4 棉花抗黄萎病 QTL 检测

用 Windows QTL Cartographer 2.5 软件,通过复合区间作图法分析 $F_{2:3}$ 家系的抗黄萎病 QTL,通过 1 000 次随机抽样确定 LOD 阈值为 2.5。利用 $F_{2:3}$ 家系接种落叶型黄萎病菌 V991 后调查获得的病情指数,共检测到 4 个与棉花抗黄萎病相关的 QTL (表 3)。分别位于染色体 5(染色体 A5)、染色体 19(染色体 D5)、染色体 19(染色体 D5) 和染色体 25(染色体 D6) 染色体上,位于标记 HAU883-

NAU3212、MGHES40-MUSS138、MUSS138-DPL209 和 NAU3171-CIR181 之间,LOD 值分别为 4.12、2.67、4.20 和 3.81,分别命名为 $qVW-V991-1$ 、 $qVW-V991-2$ 、 $qVW-V991-3$ 和 $qVW-V991-4$ 。这 4 个 QTL 加性效应分别为 -0.041 4、0.034 1、0.031 2 和 -0.030 5。显性效应分别为 0.089 2、0.137 0、0.037 4 和 0.194 0。表型贡献率分别为 6.41%、3.78%、4.61% 和 5.76%,4 个 QTL 共解释 20.56% 的表型变异。

表 3 利用复合区间作图法(CIM)检测到的与抗黄萎病相关的 QTL

Table 3 QTL analyses for VW resistance detected by composite interval mapping

QTL 名称	染色体	位置 (cM)	两侧标记	LOD 值	加性效应	显性效应	贡献值 (%)
$qVW-V991-1$	A5	36.50	HAU883-NAU3212	4.12	-0.041 4	0.089 2	6.41
$qVW-V991-2$	D5	0.01	MGHES40-MUSS138	2.67	0.034 1	0.137 0	3.78
$qVW-V991-3$	D5	18.90	MUSS138-DPL209	4.20	0.031 2	0.037 4	4.61
$qVW-V991-4$	D6	5.01	NAU3171-CIR181	3.81	-0.030 5	0.194 0	5.76

本研究还利用 TASSEL 2.1 软件^[23]的一般线性模型(General linear model, GLM)程序,将 32 个位点的等位变异分别与抗病性进行关联分析。结果显示,采用一般线性模型检测到与棉花抗黄萎病显著关联的位点 5 个,分别为位于染色体 5(染色体 A5)上的标记 NAU3212,染色体 19(染色体 D5)上的标记 MGHES40 和 DPL209,染色体 25(染色体 D6)上的标记 CIR181,另外 1 个关联位点为没有进入连锁群的标记 NAU5204。5 个位点表型变异解释率分别为 6.38%、1.50%、2.80%、2.10% 和 2.20%,5 个位点共解释 14.98% 的表型变异(表 4)。

表 4 与黄萎病抗性显著相关的标记位点及其对表型变异的解释率

Table 4 Marker loci associated with resistance to VW and the interpretation rate for phenotypic variation

标记	染色体	p -GLM	r^2 -GLM
NAU3212	A5	0.000 07	0.063 8
MGHES40	D5	0.039 15	0.015 0
NAU5204	A12	0.017 60	0.028 0
CIR181	D6	0.015 70	0.021 0
DPL209	D5	0.006 93	0.022 0

p -GLM 为一般线性模型(GLM) p 值, r^2 -GLM 为解释表型变异率。

3 讨论

棉花黄萎病是中国棉花生产的主要限制因素,

棉花育种专家在棉花抗黄萎病育种和抗黄萎病分子机制解析方面做了大量工作,取得了一定进展,但是由于缺乏对黄萎病高抗或免疫的陆地棉栽培品种,研究进展缓慢。在中国棉花抗黄萎病育种中中植棉 2 号常被作为抗源,同时,一些研究者也对中植棉 2 号的抗黄萎病机制进行了研究。祁伟彦等^[24]研究结果显示,中植棉 2 号黄萎病抗性与 SSR 标记 NAU1269、NAU828 和 NAU1225 连锁,利用标记 NAU1269、NAU828 和 NAU1225 的序列,在棉花全基因组中进行比对,结果显示,标记 NAU1269、NAU828 和 NAU1225 分别位于棉花基因组的 A5(13830896)、D5(13669157)和 D5(13669176)染色体上。本研究定位的 4 个 QTL 中的 3 个位于染色体 A5 和 D5 上,通过比对定位在 A5 和 D5 上的 3 个 QTL 连锁标记序列发现,标记 CIR139(D5:13516109)、MGHES40(D5:20109590)和 NAU3212(A5:11483877)在基因组中位置与标记 NAU1269、NAU828 和 NAU1225 位置相邻(括号中数字代表正向引物在染色体中的位置)。这初步表明本研究定位的 3 个位于染色体 A5 和 D5 上与抗黄萎病相关的 QTL 可能与祁伟彦等^[24]研究的是相同的位点。张华崇等^[25]以感病品种 861 为父本、中植棉 2 号为母本配制杂交组合,构建 6 个世代群体,并在田间病圃进行抗病性鉴定,利用主基因-多基因混合遗传模

型的多世代联合分析法对中植棉 2 号的抗病性进行分析。张华崇等^[25]研究结果表明,中植棉 2 号抗性遗传符合 2 对加性-显性-上位性主基因+加性-显性多基因遗传模型, F_2 的主基因遗传率达到 82.09%。本研究在中植棉 2 号和泗棉 3 号的杂交 F_2 群体中选育的抗病株系苏 VR018,其遗传背景与泗棉 3 号相近,是解析中植棉 2 号抗病性的理想材料。比较苏 VR018、中植棉 2 号和泗棉 3 号的农艺性状和抗病性,结果显示苏 VR018 病情指数与中植棉 2 号相比存在显著差异,但相比于泗棉 3 号,抗病性得到极显著提高。这也暗示中植棉 2 号抗病性的遗传率比较高,2 对抗病主基因可能转育到了抗病株系苏 VR018 中。通过与中植棉 2 号杂交,可以在低世代中选育出抗黄萎病新品系。

关于棉花抗黄萎病基因 QTL 的定位已有报道,但是陆地棉的抗黄萎病 QTL 定位报道不多,这与陆地棉遗传基础狭窄,遗传图谱标记密度不足有关^[14,17,26-29]。本研究利用 3 100 对 SSR 分子标记进行连锁图构建,只获得 32 对具有多态性的标记,多态率只有 10.3%,这与陆地棉遗传基础狭窄,标记多态率低有关,但是更重要的原因是本研究使用的抗病亲本苏 VR018 是从感病亲本泗棉 3 号与中植棉 2 号杂交后代中选育的新品系,其遗传背景与泗棉 3 号非常相似,这进一步导致其与泗棉 3 号之间标记多态率降低。4 个 QTL 解释 20.56% 的表型变异,利用单标记分析检测到的 5 个关联位点,解释表型变异也只有 14.98%。我们推测可能的原因有 2 点,一是本研究构建的遗传图谱覆盖率低,没有完全覆盖苏 VR018 携带的黄萎病抗性位点,导致苏 VR018 中其他的抗病位点没有检测到;二是苏 VR018 中黄萎病抗性位点具有病菌专化特性,其他的抗黄萎病位点对黄萎病菌 V991 没有抗性。因此,通过继续增加标记密度和标记类型来解析苏 VR018 的抗病位点将是下一步工作的重点。

本研究在 D6 染色体上检测到的 QTL 可能是一个新的抗黄萎病位点。Zhang 等^[12]分析了目前已经公布的棉花抗黄萎病 QTL,结果显示在 A6 染色体上存在至少 8 个抗病相关的 QTL,而 D6 染色体上只存在 2 个抗黄萎病相关 QTL。这有 2 个方面原因,一是 D6 染色体上存在的抗黄萎病 QTL 确实少,另一个原因是由于使用不同的棉花品种和黄萎病菌株,D6 染色体上的 QTL 没有检测到。本研究定位

在 D6 染色体上的抗病位点连锁标记 *NAU3171* 与已经公布的 D6 染色体上的 QTL 连锁标记 *BNL3436* 在 D6 染色体上遗传距离较远,初步判断可能不是同一个抗病位点。该位点在今后研究中需重点关注。

参考文献:

- [1] FRADIN E F, THOMMA B P H J. Physiology and molecular aspects of *Verticillium* wilt diseases caused by *V-dahliae* and *V-albo-atrum* [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2006, 7(2): 71-86.
- [2] JOHANSSON A, STAAL J, DIXELIUS C. Early responses in the *Arabidopsis-Verticillium longisporum* pathosystem are dependent on NDR1, JA- and ET-associated signals via cytosolic *NPR1* and *RFO1* [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2006, 19(9): 958-969.
- [3] 杨 璨,孙 全,王微娜,等. 海岛棉单萜合酶基因克隆及其受黄萎病诱导的表达分析 [J]. *南方农业学报*, 2016, 47(5): 604-610.
- [4] GAO W, LONG L, ZHU L F, et al. Proteomic and Virus-induced gene silencing (VIGS) analyses reveal that Gossypol, Brassinosteroids, and Jasmonic acid contribute to the resistance of cotton to *Verticillium dahliae* [J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2013, 12(12): 3690-3703.
- [5] MO H J, SUN Y X, ZHU X L, et al. Cotton S-adenosylmethionine decarboxylase-mediated spermine biosynthesis is required for salicylic acid- and leucine-correlated signaling in the defense response to *Verticillium dahliae* [J]. *Planta*, 2016, 243(4): 1023-1039.
- [6] MO H J, WANG X F, ZHANG Y, et al. Cotton polyamine oxidase is required for spermine and camalexin signalling in the defence response to *Verticillium dahliae* [J]. *Plant Journal*, 2015, 83(6): 962-975.
- [7] 郝 蔚,王丽丽,景伟文,等. 接种落叶型黄萎病菌棉株的棉酚和单宁含量与抗病性的关系 [J]. *江苏农业科学*, 2016, 44(2): 147-151.
- [8] ZHAO J, LIU J G, XU J W, et al. Quantitative trait locus mapping and candidate gene analysis for *Verticillium* Wilt resistance using *Gossypium barbadense* Chromosomal segment introgressed line [J]. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 682.
- [9] MIAO W G, WANG X B, SONG C F, et al. Transcriptome analysis of *HpaI* (Xoo) transformed cotton revealed constitutive expression of genes in multiple signalling pathways related to disease resistance [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2010, 61(15): 4263-4275.
- [10] TIAN J A, ZHANG X Y, LIANG B G, et al. Expression of Baculovirus anti-apoptotic genes *p35* and *op-iap* in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) enhances tolerance to *Verticillium* Wilt [J]. *PLoS ONE*, 2010, 5(12): e14218.
- [11] GASPAR Y M, MCKENNA J A, MCGINNESS B S, et al. Field resistance to *Fusarium oxysporum* and *Verticillium dahliae* in transgenic cotton expressing the plant defensin *NaDI* [J]. *Journal of*

- Experimental Botany, 2014, 65(6): 1541-1550.
- [12] WANG Y Q, LIANG C Z, Wu S J, et al. Significant improvement of cotton *Verticillium* Wilt resistance by manipulating the expression of *Gastrodia* antifungal proteins [J]. Molecular Plant, 2014, 9(10): 1436-1439.
- [13] ZHANG Z Y, ZHAO J, DING L Y, et al. Constitutive expression of a novel antimicrobial protein, *Hcm1*, confers resistance to both *Verticillium* and *Fusarium* wilts in cotton [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 20773.
- [14] ZHANG J F, YU J W, PEI W F, et al. Genetic analysis of *Verticillium* wilt resistance in a backcross inbred line population and a meta-analysis of quantitative trait loci for disease resistance in cotton [J]. BMC Genomics, 2015, 16: 577.
- [15] 马存, 简桂良, 郑传临. 中国棉花抗枯、黄萎病育种 50 年 [J]. 中国农业科学, 2002, 35(5): 508-513.
- [16] 郭宝生, 王凯辉, 刘素恩, 等. 陆地棉抗黄萎病种质创新与抗病基因挖掘 [J]. 棉花学报, 2014, 26(3): 252-259.
- [17] NING Z Y, ZHAO R, CHEN H, et al. Molecular tagging of a major Quantitative trait locus for broad-spectrum resistance to *Verticillium* Wilt in upland cotton cultivar Prema [J]. Crop Science, 2013, 53: 2304-2312.
- [18] 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.
- [19] 张军, 武耀庭, 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.
- [20] VAN O J, VOORRIPS R E. JoinMap^R Version 3.0, software for the calculation of genetic linkage maps [M]. Wageningen: Plant Research International, 2001.
- [21] ZENG Z B. Precision mapping of quantitative trait loci [J]. Genetics, 1994, 136: 1457-1468.
- [22] BASTEN C J, WEIR B S, ZENG Z B. QTL cartographer, version 1.15 [M]. Raleigh North Carolina: Department of Statistics of North Carolina State University, 2001.
- [23] BRADBURY P, ZHANG Z, KROON D, et al. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples [J]. Bioinformatics, 2007, 23: 2633.
- [24] 祁伟彦, 张永军, 张天真, 等. 基于人工病圃筛选和分子标记辅助的棉花抗黄萎病育种方法研究与应用 [J]. 分子植物育种, 2012, 10(5): 607-612.
- [25] 张华崇, 张文蔚, 简桂良, 等. 中植棉 2 号抗黄萎病的主基因+多基因遗传特性分析 [J]. 棉花学报, 2016, 28(5): 513-518.
- [26] PALANGA K K, JAMSHED M, RASHID M H O, et al. Quantitative trait locus mapping for *Verticillium* Wilt resistance in an upland cotton recombinant inbred line using SNP-based high density genetic map [J]. Front Plant Sci, 2017, 8: 382.
- [27] YANG C, GUO W Z, LI G Y, et al. QTLs mapping for *Verticillium* Wilt resistance at seedling and maturity stages in *Gossypium barbadense* L. [J]. Plant Science, 2008, 174(3): 290-298.
- [28] 刘剑光, 吴巧娟, 赵君, 等. 陆地棉抗黄萎病 QTL 的定位 [J]. 江苏农业学报, 2014, 30(6): 1235-1239.
- [29] 冯常辉, 张胜昔, 史认辉, 等. 棉花抗黄萎病 QTL 定位研究进展 [J]. 棉花学报, 2010, 22(3): 273-278.

(责任编辑: 陈海霞)