

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.00855

陆地棉亚红株突变性状的连锁遗传规律分析

陈旭升, 狄佳春, 马晓杰, 刘新民

江苏省农业科学院经济作物研究所, 南京 210014

摘要: 以具有绿叶、花瓣红心的陆地棉、海岛棉与具有亚红株、无红心的陆地棉种质为试验材料, 通过经典遗传学的二点测验分析了亚红株突变的连锁遗传规律; 结果显示, 测交群体(E083 × B026) × 苏 9701、(B026 × E083) × 苏 9701 的平均交换值为 1.35%; 测交群体(E083 × 海 7124) × 苏 9701、(海 7124 × E083) × 苏 9701 的平均交换值为 2.94%。同时, 用亚红株、无红心、棕絮与绿叶、红心、白絮种质杂交, 进行三点测验, 结果表明: 基因 R_s 在 Lc_1 、 R_2 之间; 基因 R_s 和 Lc_1 的遗传距离为 42.21 cM, R_s 和 R_2 的遗传距离为 1.68 cM。当两对基因同时发生双交换时, 相互干扰小, 符合系数达 0.79。根据已知的基因遗传距离, 整合后绘制了遗传连锁图: R_s 基因位于基因 R_2 、 Lc_1 以及分子标记 NAU2863、NAU3735 和 NAU1048、BNL2634 之间; 其中 R_s 基因两侧分子标记 NAU3735 和 NAU1048 与它的遗传距离分别为 0.1 cM 和 0.2 cM。

关键词: 陆地棉; 亚红株突变; 遗传距离; 连锁图

Analysis on linkage inheritance of sub-red plant mutant from upland cotton

CHEN Xu-Sheng, DI Jia-Chun, MA Xiao-Jie, LIU Xin-Min

Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China

Abstract: Analysis of linkage inheritance of sub-red plant, a natural mutant from upland cotton, was conducted by two-point test using parents *Gossypium barbadense* Hai7124 and *G. hirsutum* B026 both with petal spots and green leaves, and *G. hirsutum* E083 with normal white flowers and, sub-red plants. The average percentage of recombination was 1.35% when calculating test-cross combining populations derived from E083/B026//Su9701 and B026/E083//Su9701. The average percentage of recombination was 2.94% when calculating test-cross combining populations derived from E083/Hai7124//Su9701 and Hai7124/E083//Su9701. Meanwhile, the genetic stocks having genotype R_s , Lc_1 , r_2 , and rs , lc_1 , and R_2 were used in the three-point test, which demonstrated that the mutant gene R_s was located between genes Lc and R_2 . The genetic distance between R_s and Lc_1 was 42.21 cM, and 1.68 cM between R_s and R_2 . Coefficient of interference among R_2 , Lc_1 , and R_s was 0.79, indicating that the single cross between R_s and R_2 has less impact on the other single cross between R_s and Lc_1 . Based on known genetic distance around gene R_s , the genetic linkage map was drawn. R_s is located between genes Lc_1 and R_2 , molecular marker NAU2863, NAU3735 and NAU3735, NAU1048. The genetic distances between R_s and two markers NAU3735, NAU1048 are 0.1 and 0.2 cM, respectively.

Keywords: upland cotton; sub-red plant; genetic distance; linkage map

收稿日期: 2008-12-24; 修回日期: 2009-02-10

基金项目: 江苏省农业科学院科研基金项目(编号: 6110812)资助

作者简介: 陈旭升(1965-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 棉花遗传育种。E-mail: njcxsl@126.com

亚红株是国内新近发现的陆地棉自然突变体^[1], 在提高光合效能上, 是潜在的优质种质资源^[2]。遗传分析表明亚红株性状是受 1 对不完全显性基因控制的质量性状; 等位性分析表明, 亚红株显性基因与已知的红株显性基因 R_I 不存在复等位关系, 它们是两对位于不同染色体上的独立的非等位显性基因, 显示亚红株突变是有别于经典红株的新突变, 基因符号定为 R_S ^[3]。

宋振云等^[4]选用 419 对 SSR 引物, 利用 BSA (Bulked segregation analysis) 法筛选由亚红株突变系与常规陆地棉品系杂交构建的 BC_1 群体, 初步将突变基因 R_S 定位在棉花第 7 染色体上; 并参阅前人已定位的分子遗传图谱, 推测 R_S 基因与 R_2 基因可能存在紧密连锁。

经典遗传学已将 R_2 、 Lc_I 两基因定位在第 7 染色体上。本研究利用特定的形态标记材料为亲本, 通过经典遗传学的杂交、测交等方法, 以进一步确定 R_S 、 R_2 、 Lc_I 3 个显性突变基因在第 7 染色体上的连锁遗传距离。

1 材料和方法

1.1 两点测验

2006 年用绿叶、花瓣红心的陆地棉品系 B026、海岛棉品系海 7124 分别与亚红株、无红心品系 E083 做正反交, 得组合 E083 × B026、B026 × E083、E083 × 海 7124、海 7124 × E083。2007 年以纯隐性亲本“苏 9701”做测交亲本, 配制测交组合如下: (E083 × B026) × 苏 9701; (B026 × E083) × 苏 9701; (E083 × 海 7124) × 苏 9701; (海 7124 × E083) × 苏 9701。

1.2 三点测验

2006 年以亚红株、无红心、棕絮品系 PD-17 与绿叶、红心、白絮品系 B026 杂交。2007 年用绿叶、无红心、白絮的纯隐性亲本“苏 9701”做隐性测交, 配制组合(PD-17 × B026) × 苏 9701, 2008 年用于大田试验。

1.3 大田性状调查记载

2008 年营养钵育苗移栽, 种植 5 个测交分离群体; 其中 4 个二点测交群体, 在开花期调查叶色——绿叶、亚红; 花瓣红心——有、无。1 个三点测交

群体(PD-17 × B026) × 苏 9701, 在开花期调查叶色——绿叶、亚红; 花瓣红心——有、无; 在吐絮期调查絮色——棕絮、白絮。

1.4 计算方法

交换值(%) = 重组配子数/总配子数 × 100%; 符合系数 = 实际双交换值/理论双交换值。

使用 Map Draw V2.1 软件绘制遗传连锁图。

2 结果与分析

2.1 连锁遗传的二点测验

绿叶、红心品系 B026、海 7124 与亚红株、无红心品系 E083 杂交以及用隐性亲本苏 9701 做测交, 各群体性状分离(表 1)。

由表 1 可以看出: 正反交 F_1 代均表现为亚红株、花瓣红心, 表明花瓣红心对无红心为显性、亚红株对绿株为显性。4 个测交群体, 通过 χ^2 测验显示: 4 种表现型——亚红株花瓣红心 亚红株花瓣无红心 绿株花瓣红心 绿株花瓣无红心的分离比例, 严重偏离了两对性状独立分离的 1 1 1 1 理论比例; 表明亚红株、花瓣红心两性状存在连锁遗传。计算测交群体(E083 × B026) × 苏 9701、(B026 × E083) × 苏 9701 的连锁交换值分别为 1.01%、2.01%, 两测交群体合并后的平均交换值为 1.35%; 计算测交群体(E083 × 海 7124) × 苏 9701、(海 7124 × E083) × 苏 9701 的连锁交换值分别为 2.39%、3.46%, 两测交群体合并后的平均交换值为 2.94%。

2.2 连锁遗传的三点测验

以亚红株、无红心、棕絮品系 PD-17 与绿叶、红心、白絮品系 B026 杂交, 用苏 9701 做隐性测交, 分离群体各种类型的表型(表 2)。

由表 2 可知, 个体数量最多的是亲型, 单交换类型的数量较少, 个体数量最少的是双交换类型。当发生双交换时, 三基因 R_S 、 R_2 、 Lc_I 在染色体上的排列方式不外乎以下 3 种: 第一种 R_2 在 R_S 、 Lc_I 之间, 第 2 种 R_S 在 R_2 、 Lc_I 之间, 第三种 Lc_I 在 R_S 、 R_2 之间; 而从本研究的两个杂交亲本的表现型判断, 只有第二种排列才会产生 $R_2R_SLc_I$ 和 r_2rsLc_I 的双交换配子。因此, 可以确定基因 R_S 在基因 Lc_I 、 R_2 之间。

表 1 亚红株与花瓣红心性状杂交后代的分离情况

世代	亲本及组合	<i>Rs_R2_</i>	<i>Rs_r2_</i>	<i>rs_R2_</i>	<i>rs_r2_</i>	理论比例 χ^2 值	交换值(%)
						TC 1 1 1 1	
P ₁	B026	/	/	87	/	全部花瓣红心	/
P ₂	海 7124	/	/	26	/	全部花瓣红心	/
P ₃	E083	/	65	/	/	全部亚红株	/
F ₁	E083 × B026	35	/	/	/	全部亚红、 花瓣红心	/
	B026 × E083	39	/	/	/	全部亚红、 花瓣红心	/
	E083 × 海 7124	40	/	/	/	全部亚红、 花瓣红心	/
	海 7124 × E083	21	/	/	/	全部亚红、 花瓣红心	/
TC	(E083 × B026) × 苏 9701	1	325	261	5	582.14	1.01
	(B026 × E083) × 苏 9701	2	154	139	4	277.01	2.01
	(E083 × 海 7124) × 苏 9701	1	120	125	5	227.90	2.39
	(海 7124 × E083) × 苏 9701	3	131	120	6	226.25	3.46

注: *Rs_R2_* 代表“亚红株、花瓣红心”; *Rs_r2_* 代表“亚红株、花瓣无红心”; *rs_R2_* 代表“绿株、花瓣红心”; *rs_r2_* 代表“绿株、花瓣无红心”。 $\chi^2_{0.05(3)} = 7.81$, $\chi^2_{0.01(3)} = 11.34$ 。

表 2 三点测交群体的性状分离情况

测交后代的表现型	F ₁ 配子种类			株数	交换类型
白心、亚红、棕絮	<i>r₂</i>	<i>Rs</i>	<i>Lc₁</i>	232	亲型
红心、绿叶、白絮	<i>R₂</i>	<i>rs</i>	<i>lc₁</i>	276	
白心、亚红、白絮	<i>r₂</i>	<i>Rs</i>	<i>lc₁</i>	185	单交换
红心、绿叶、棕絮	<i>R₂</i>	<i>rs</i>	<i>Lc₁</i>	188	
红心、亚红、棕絮	<i>R₂</i>	<i>Rs</i>	<i>Lc₁</i>	2	单交换
白心、绿叶、白絮	<i>r₂</i>	<i>rs</i>	<i>lc₁</i>	8	
红心、亚红、白絮	<i>R₂</i>	<i>Rs</i>	<i>lc₁</i>	0	双交换
白心、绿叶、棕絮	<i>r₂</i>	<i>rs</i>	<i>Lc₁</i>	5	

基因间的交换值计算如下:

Rs 和 *R₂*、*Lc₁* 的双交换值 = $5/896 \times 100\% = 0.56\%$ 。

Rs 和 *Lc₁* 的单交换值 = $(185+188)/896 \times 100\% + 0.56\% = 42.21\%$, 即 *Rs* 和 *Lc₁* 的遗传距离为 42.21 cM。

Rs 和 *R₂* 的单交换值 = $(8+2)/896 \times 100\% + 0.56\% = 1.68\%$, 即 *Rs* 和 *R₂* 的遗传距离为 1.68 cM。

根据 3 个显性基因的交换值, 并整合本项目组有关*Rs*基因的分子标记定位结果^[4,5], 绘制遗传连锁图见图 1(保留 1 位小数点)。由图可知: *Rs* 基因位于基因*R₂*、*Lc₁* 以及分子标记NAU2863、NAU3735 和 NAU1048、BNL2634 之间; 其中*Rs*基因两侧的分

子标记NAU3735 和NAU1048 与它的遗传距离分别为 0.1 cM和 0.2 cM。这使得*Rs*基因的图位克隆成为可能。

2.3 3 个基因双交换的干扰分析

当 3 个基因排列在一条染色体上时, 如果相邻两基因发生一个单交换以后, 那么在它毗邻发生第二个单交换的机会就会减少, 这种现象称干扰。对于交换受干扰的程度, 用符合系数表示, 其值在 0~1 之间。

计算本试验中基因 *Rs* 和 *R₂*、*Lc₁* 的理论双交换值为 $0.4221 \times 0.0168 \times 100\% = 0.71\%$; 符合系数 = 实际双交换值/理论双交换值 = $0.56/0.71 = 0.79$ 。

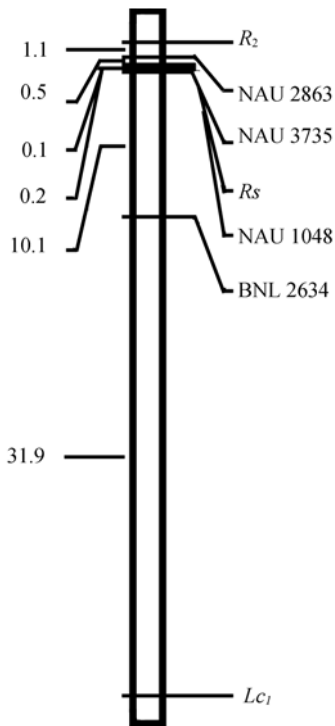


图 1 亚红株 R_s 、棕絮 Lc_1 、花瓣红心 R_2 三基因遗传连锁图

可见, 亚红株与红心、棕絮双交换的符合系数较大, 显示亚红株基因 R_s 与红心基因 R_2 的单交换对亚红株基因 R_s 与棕絮基因 Lc_1 的单交换干扰程度较轻。究其原因: R_s 与 R_2 的距离很近, 仅 1.68 cM; 而 R_s 与 Lc_1 的距离特远, 为 42.21 cM。因此, 两者同时发生交换时, 彼此之间干扰很小。

3 讨论

3.1 关于 R_s 与 Lc_1 的连锁遗传

由于基因 R_s 与 Lc_1 的遗传距离大, 所以采用经典的卡方测验, 容易得出 R_s 与 Lc_1 呈完全独立遗传, 不存连锁关系的结论^[3]。宋振云等^[4]首次通过分子标记将 R_s 基因定位在第 7 染色体上, 而已知 Lc_1 也在第 7 染色体上, 因此推定 R_s 与 Lc_1 即使遗传距离较远, 也应该存在连锁关系。参阅陈旭升等^[3]发表在棉花学报上的文章, 分析其原文“表 4”中的 TC 群体, 显示亲型的单株数要高于重组型单株数, 计算原 TC 群体的 R_s 与 Lc_1 的交换值为 $(26+32)/(37+26+32+42) \times 100\% = 42.3\%$, 与本试验调查测交分离大群体的 R_s 与 Lc_1 交换值为 42.2%, 两者结果非常吻合。

3.2 经典遗传学定位与分子遗传学定位的相互联系

关于 R_s 基因与 R_2 基因的连锁距离, 殷剑美等^[5]根据对 R_s 基因精细定位的结果, 并参照 Guo 等^[6]发表的遗传图谱, 推算出基因 R_s 与 R_2 的连锁距离约 3.5 cM。本研究根据(陆陆) $F_1 \times$ 陆的测交群体做二点测定, 估测 R_s 与 R_2 的平均遗传距离为 1.35 cM; 根据(陆陆) $F_1 \times$ 陆的测交群体做三点测定, 估测 R_s 和 R_2 的遗传距离为 1.68 cM, 均比分子定位推算的遗传距离要小。然而, 用(海陆) $F_1 \times$ 陆的测交群体估测基因 R_s 与 R_2 的平均遗传距离为 2.94 cM, 则与分子定位推算的连锁距离基本相当; 而 Guo 等^[6]发表的分子遗传图谱也是利用海陆杂交群体。通过上述比较可以得出以下认知: (1) 经典遗传学基因定位与分子遗传学基因定位均显示 R_s 与 R_2 的连锁距离较近, 表现紧密的连锁遗传关系; 两者结果彼此印证, 充分显示经典遗传学与分子遗传学在基因染色体定位上的密切联系。(2) 基因 R_s 与 R_2 用(海陆) $F_1 \times$ 陆的测交群体估测的遗传距离, 要大于(陆陆) $F_1 \times$ 陆的测交群体估测的遗传距离, 这暗示海岛棉与陆地棉在某些同源 DNA 区段的染色体长度可能存在差异; 在 R_s 与 R_2 两基因区段之间, 海岛棉是否存在比陆地棉更多潜在的基因, 值得做进一步研究探索。

参考文献(References):

- [1] 陈旭升. 陆地棉亚红株新突变体. 中国棉花, 2004, 31(12): 19.
- [2] 狄佳春, 殷剑美, 陈旭升, 肖松华, 许乃银, 刘剑光, 吴巧娟. 陆地棉亚红株突变体光合特性初步研究. 江苏农业科学, 2006, (2): 33-34.
- [3] 陈旭升, 殷剑美, 狄佳春, 肖松华, 许乃银, 刘剑光, 吴巧娟. 陆地棉亚红株突变的质量遗传规律研究. 棉花学报, 2006, 18(4): 195-199.
- [4] 宋振云, 杨志敏, 陈旭升. 陆地棉亚红株突变体基因的初步定位. 作物学报, 2007, 33(3): 511-513.
- [5] 殷剑美, 陈旭升, 肖松华, 许乃银, 狄佳春, 刘剑光, 吴巧娟. 陆地棉亚红株突变体的研究进展及育种利用前景. 江西农业学报, 2008, 20(10): 22-24.
- [6] Guo WZ, Cai CP, Wang CB, Han ZG, Song XL, Wang K, Niu XW, Wang C, Lu KY, Shi B, Zhang TZ. A microsatellite-based, gene-rich linkage map reveals genome structure, function and evolution in *Gossypium*. *Genetics*, 2007, 176: 527-541. [\[DOI\]](#)