

棉花育种行业创新与进展

袁有禄¹, 魏晓文¹, 毛树春¹, 潘境涛¹, 方红曼², 吕慧颖², 邓向东², 葛毅强³, 魏 珣³, 杨维才²

(¹ 中国农业科学院棉花研究所/棉花生物学国家重点实验室/农业部棉花生物学与遗传育种重点实验室, 河南安阳 455000;

² 中国科学院遗传与发育生物学研究所/种子创新研究院, 北京 100101; ³ 中国农村技术开发中心, 北京 100045)

摘要: 对 2017 年国内外棉花遗传育种领域取得的重要研究进展进行了概括性评述。棉花基因芯片技术得到了广泛应用, 一批重要产量、品质性状基因获得定位和克隆。棉花全基因组关联分析 (GWAS) 取得重大突破, 陆地棉高密度遗传图谱构建取得重大进展, 棉花芽黄、纤维品质性状基因的精细定位及克隆取得较大进展, 在棉花转基因新方法、转基因抗虫、抗除草剂新材料等方面进展显著。文中并结合我国棉花发展现状、未来趋势与所面临的机遇, 提出了我国棉花发展应采取的一些对策。

关键词: 棉花; 遗传育种; 研究进展; 2017 年

Genetic and Breeding Progress of Cotton

YUAN You-lu¹, WEI Xiao-wen¹, MAO Shu-chun¹, PAN Jing-tao¹,

FANG Hong-man², LV Hui-ying², DENG Xiang-dong², GE Yi-qiang³, WEI Xun³, YANG Wei-cai²

(¹ State Key Laboratory of Cotton Biology/Key Laboratory of Biological and Genetic Breeding of Cotton, The Ministry of Agriculture/Institute of Cotton Research, Chinese Academy of Agricultural Science, Henan Anyang 455000;

² Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences/Innovative Academy of Seed Design, Beijing 100101; ³ China Rural Technology Development Center, Beijing 100045)

Abstract: In this review, we comment on the progress in cotton genetic and breeding in 2017. The cotton chip-SNPs were commercially applied in genotyping, lots of QTL/genes related to fiber yield and quality traits were identified and cloned. Significant progress was made in cotton GWAS research, construction of upland cotton high density genetic mapping, and significant advance in fine mapping and cloning the genes related to cotton virescent and fiber quality, and the great achievements were made in cotton transgenic new technology and materials for resistance to bud worm and herbicide. Meanwhile, combined with cotton production situation, future needs and new opportunity in china, we propose the some solutions, which need to be considered in the long term research.

Key words: cotton; genetic and breeding; research advances; 2017

1 我国棉花生产现状

1.1 棉花产业维系国家经济安全

我国常年植棉 540 万 hm^2 , 占全世界的 17%; 棉花总产 750 万 t, 占世界的 21%。我国主要植棉区

农业人口达 5 亿, 劳动力 2 亿。直接从事棉纺及相关行业人员达 1900 多万人, 间接就业人员达到 1 亿人左右。

2016 年我国纺织品服装出口虽然连续两年下滑至 2672.5 亿美元, 但出口额仍占全国出口总值的

收稿日期: 2018-03-06 修回日期: 2018-04-09 网络出版日期: 2018-04-17

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180417.1053.020.html>.

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31371668); 国家重点研发计划 (2016YFD0100203-20, 2016YFD0100505-10, 2016YFD0100306-1-3, 2017YFD0102003-5); 中国农业科学院科技创新工程 (CAAS-ASTIP-2016-ICR); 中国农村技术开发中心“农作物育种行业动态专题研究”项目

第一作者研究方向为棉花分子育种研究。E-mail: yuanyoulu@caas.cn

12.7%;贸易顺差 2438.9 亿美元,占全国贸易顺差 5099.6 亿美元的 47.8%。

棉花产业安全不仅关系到农民增收、农村经济发展,而且还关系到棉纺业以及国家对外商业贸易。同时对社会稳定等均具有十分重要的战略意义。

1.2 我国棉花生产消费缺口大且长期存在

据国家统计局数据,2016 年我国棉花种植面积 338 万 hm^2 ,比上年减少 42 万 hm^2 ;棉花产量 534 万 t,比上年减产 4.6%。2016 年我国纱产量达 4039.5 万 t,同比增长 3.5%。

据海关统计,2016 年我国累计进口棉花 89.7 万 t,同比减少 39.1%;全年平均进口价格 1746 美元/t,与 2015 年基本持平;但全年累计进口棉纱仍然达到 196.8 万 t,比上年减少 16.1%。

根据美国农业部数据,2016–2017 年度我国棉花生产量 495.3 万 t,消费 816.5 万 t,缺口达 321.2 万 t。棉花库存从高峰时的 1457 万 t 下降到 1054 万 t,并预计下年度下降到 860 万 t 左右。

1.3 我国棉花生产水平不低但竞争力低下

根据美国农业部数据,2016–2017 年度我国棉花单产达 1708 kg/hm^2 ,高于世界平均(784 kg/hm^2)以及美国(972 kg/hm^2)、印度(542 kg/hm^2)等主产地棉花生产水平,仅与澳大利亚等高产国家存在一定差距。

据国家统计局数据,从 2002–2014 年,我国棉花生产总成本从 677.6 元/667 m^2 增长到 2157.9 元/667 m^2 ,提高 2.2 倍,年均增长 10.6%。其中生产成本和土地成本年均增长率均超过 10%;而人工成本更是从 249.1 元/667 m^2 增长到 1347.6 元/667 m^2 ,提高 4.4 倍,年均增长 15.1%。

2 我国棉花未来发展趋势

2.1 调整棉花区域结构,保持棉区“三足鼎立”的优化布局

在确保我国粮食安全的大背景下,三大棉花生产区域中的长江流域和黄河流域两大棉区由于植棉比较效益逐年下降,棉花生产规模呈现逐年减少的趋势,近年来的下降趋势更为显著,黄河流域和长江流域两棉区面积下降 20% 以上。棉花生产重心由长江流域棉区、黄河流域棉区和西北内陆棉区齐头并进,转变为以新疆为主的西北内陆棉区一枝独秀,黄河流域棉区和长江流域棉区转为辅助性产区。近三年来,我国棉花播种面积西北内陆占 45%,黄河流域占 25%,长江流域占 19%。未来西北内陆棉田

要控制在 50% 以下,面积不超过 2500 万亩;黄河流域棉区保持 2000 万亩生产规模,长江流域主要是中游棉区保持 1000 万亩生产规模。这些棉区存在不同程度的盐碱、干旱、高温、水淹等问题,亟需培育耐逆棉花新品种。

2.2 优质多抗高产高效是我国棉花研究重心

农产品供给侧结构性改革对棉花产量、品质提出了新要求。棉花生产由片面追求高产转向兼顾产量、效益和品质,重点是品质提升。(1)用中高端品质引领现代棉纺织业发展。这是植棉业转型升级的主攻目标,只有全面提升品质才能赢得市场,只有全面提升品质才能与高成本相对应,唯全面提升品质才能保住生产规模。因此,要培育“双 30”(纤维长度在 30 mm,纤维强度在 30 cN/tex 以上,长度整齐度指数超过 85%)的优质棉花新品种。(2)用“四化”引领现代植棉业的发展,全面降低生产成本,即轻简化、绿色化、机械化和组织化生产。其中,全程机械化要求培育与之配套的农机与农艺结合的早熟性好、综合性状优良的机采棉花新品种。

3 我国棉花发展的对策

综合我国棉花发展现状、未来趋势与所面临的机遇,我国棉花发展应采取如下对策。

3.1 加大种质资源的系统评价、基因资源挖掘、创新与利用

种质资源是新品种培育的基础,是实现农业生产可持续和跨越发展的战略性资源。我国不是棉花原产地,种质资源遗传基础狭窄,虽然收集、保存棉花种质 8868 份,拥有的棉花资源绝对数量不少,但研究的深度不够,应用的数量不多,在育种中进行利用价值评估的基因数目更少,基因发掘研究与实际利用相脱节,因此,通过多种手段拓宽棉花遗传基础成为棉花种质创新的当务之急。随着野生棉、中棉以及未来的陆地棉和海岛棉基因组测序的完成,基因组水平和基因组变异对野生资源的深入鉴定和新基因挖掘及评价有待开展。

3.2 加快分子设计育种创新体系建设,创制突破性的棉花新品种

目前我国棉花主要是采用复式杂交结合分子标记辅助选择的育种模式,但品种遗传基础比较狭窄,杂交育种周期较长,新技术、新方法对育成品种的贡献率仍然较低。另外,目前育成的品种还很难满足其简化栽培的需求,培育适合轻型化栽培的品种,如

适宜简化整枝的品种、简化治虫的品种。因此,在全基因组水平挖掘育种亲本优异等位变异及基因,探究基因/QTL 与环境互作和基因间互作,构建基因组设计育种技术体系;实现分子育种与常规育种技术的紧密结合,对目标性状进行设计与操作,实现优良基因的最佳配置,提高多目标性状同步改良的效率,真正实现从“经验育种”到“精确育种”的转变;以品种为突破口,从而实现省工、节本、增效,进一步提升我国棉花国际竞争力,为我国棉花安全提供品种保证。

4 国外研究进展

4.1 重视外源种质基因利用,染色体置换系成为将外源基因渐渗入陆地棉的有效方式

由于全基因组水平上的难融合,通过传统的渐渗将外源种质基因导入陆地棉实现基因重组难度大,而利用外源染色体置换系,可实现特定染色体或染色体片段的基因重组。美国农业部作物科学研究所的科学家首次将两个外源种(四倍体野生棉种毛棉和海岛棉)渐渗到一个陆地棉(TM-1)遗传背景中,培育了一套染色体置换系,通过置换系的不完全双列杂交研究染色体的效应,并进一步通过 TM-1 与置换系及常规品种的杂种 F_2 及 F_3 评价了 chro. 1、4、和 18 的遗传效应。这些研究明确了来自四倍体野生棉种毛棉和海岛棉染色体置换系拥有大量的改良陆地棉纤维性状的有益位点^[1-2]。

4.2 CRISPR/Cas9 技术已成功用于棉花

美国东卡罗林那大学张宝红教授团队构建了棉花高效目标基因突变的 CRISPR/Cas9 系统。其针对 *GhMYB25* 基因在 A 与 D 基因亚组相似的区域设计了 2 个单链向导 RNA (sgRNAs), *GhMYB25*-like-sgRNA1 和 *GhMYB25*-like-sgRNA2, 开展 Cas9 介导的异源四倍体棉花的基因编辑^[3]。美国德州农工大学植物基因组及生物技术所 Rathore 教授团队利用含有绿色荧光蛋白基因(GFP)的转基因棉花,通过基因编辑技术敲除该基因,并获得成功^[4]。

4.3 转基因棉籽油分含量及抗虫、耐热新材料取得重大进展

(1)澳大利亚 CSIRO 的柳青教授团队通过种子特异 RNAi 下调 b-ketoacyl-ACP 合酶 II (KAS II) 基因 *ghKAS2* 的表达,最终棉籽油中的棕榈酸 Palmitic acid (C16:0) 含量由 35% 提高到 65%^[5]。

(2)美国德州科技大学张红教授团队通过在棉花中过量表达水稻 SUMO E3 连接酶基因 *OsSIZ1*,

提高了耐旱及耐热性,在减少灌水条件下,提高了棉花产量^[6]。

(3)巴西联邦科学院遗传资源及生物技术所的 Grossi-de-Sa 教授团队培育了转 *Cry10Aa* 基因的转基因抗虫棉^[7]。

4.4 meta 分析鉴定了大量棉花生物及非生物逆境抗性 QTL

QTL 数目及位置的确定依赖于基因型及环境表现型鉴定,不同遗传背景及环境稳定的 QTL 的鉴定是标记辅助育种的前提。美国新墨西哥州立大学张金发教授团队通过 meta 分析,结合前人的研究,鉴定了 661 个棉花生物及非生物逆境抗性 QTL, 98 个(温室鉴定)、150 个(大田鉴定)与抗旱性有关;80 个(温室鉴定)与耐盐性有关;201 个与黄萎病抗性有关,47 个与枯萎病抗性有关,85 个与根结线虫及肾形线虫抗性有关,23 个 QTL clusters 在 15 条染色体上(c3、c4、c5、c6、c7、c11、c14、c15、c16、c19、c20、c23、c24、c25 和 c26), c4 有黄萎病的 hotspot, c19 有枯萎病抗性^[8]。

4.5 全基因组关联分析 (GWAS) 已成为目标性状的标记开发有效手段

巴基斯坦国家生物技术及遗传工程研究所对 185 个陆地棉材料进行多点性状评价,利用 382 个 SSRs 对其中 10 个陆地棉材料进行基因分型,进一步利用 95 个具有多态性的 SSRs 对 185 个材料进行基因分型,明确了 MGHS-51 与所有的研究性状关联^[9]。

美国农业部作物资源研究团队等利用 63 K 棉花芯片,对棉花种质资源进行基因分型,找到了与棉籽蛋白含量关联的 SNP^[10]。

5 国内研究进展及趋势

5.1 棉花全基因组关联分析 (GWAS) 取得重大突破

(1)南京农业大学、浙江大学张天真教授团队联合中国农业科学院棉花研究所杜雄明团队对 318 份棉花品种(系)的全基因组重测序,揭示了从“美棉”品种改良为全球最大纤维作物品种改良的遗传基础和演化规律,鉴定出 25 个品种改良相关位点和 119 个产量、纤维品质、黄萎病抗性等关联位点。尤其是鉴定出能同时提高 2~3 个产量性状或纤维品质性状的关联基因,为棉花“精准育种”提供了优异的基因资源和理论指导,具有重要的应用价值^[11]。

(2) 陆地棉全基因组重测序解析驯化过程中的遗传机制。华中农业大学张献龙教授领导的棉花团队,对 352 份棉花种质资源进行全基因组重测序,并通过 GWAS、群体进化以及 Hi-C 分析,研究棉花驯化的遗传机制,发现了陆地棉驯化过程中的不对称亚基因组选择和顺式调控分歧;找到了 93 个受驯化选择的区段,并通过 GWAS 分析找到了 19 个候选位点与纤维品质相关的性状。本研究证实了棉花驯化过程中的亚基因组存在不对称的选择,并且定向选择长纤维性状^[12]。

(3) 南京农业大学张天真教授团队等选用了 147 个四倍体棉种包括 33 个陆地棉半野生棉、53 个陆地棉栽培品种、58 个海岛棉品种,还有毛棉、黄褐棉和达尔文氏棉等 3 个野生四倍体棉种进行基因组重测序。群体结构、主成分分析及进化分析均揭示在四倍体棉花形成以后海岛棉和陆地棉是独立驯化的。海岛棉和陆地棉之间存在大量染色体片段的渐渗,而且渐渗主要从陆地棉半野生种到海岛棉中,推测这种染色体片段的渐渗可能与海岛棉优异的纤维品质相关。还发现了基因组中 109 个选择性区域,其中 12 个选择信号较高的 A 和 D 亚组共同选择的区域,可能是由于对驯化基因的共同选择引起的。这些自然选择区域的候选基因可以作为棉花育种研究的重要的基因资源^[13]。

(4) 中国农业科学院食品科学与技术研究所戴小枫团队通过对 299 个棉花材料的 SLAF-seq,鉴定出 17 个 SNP 与黄萎病抗性有关;A10 上的 1 个 SNP 多环境稳定,该区域的 1 个基因 *CG02* 与抗性有关,为抗病分子育种奠定了重要基础^[14]。

(5) 中国农业科学院棉花研究所李付广团队通过对 215 份亚洲棉的重测序分析,鉴定出 309 个与黄萎病抗性有关的位点,发现了一个重要的单倍型位点,有 5 个基因,其中 *GaGSTF9* 值得深入研究^[15]。

(6) 中国农业科学院棉花研究所杜雄明团队等通过对 302 个优良陆地棉品系的 12 个环境的产量及品质性状的评价,以及 198 个 SSR 标记的基因型分析,关联分析获得 57 个显著的标记性状关联,纤维长度 7 个,纤维细度 10 个,纤维强度 9 个,纤维伸长率 8 个,纤维整齐度指数 5 个,纤维整齐度比率 5 个,铃重 6 个,衣分 7 个。24 个关联的 QTL 与前人报导一致^[16]。

5.2 棉花基因芯片技术得到广泛应用

(1) 高通量的基因分型平台在植物基因组研究中起着重要作用。南京农业大学郭旺珍团队构建了

高密度的 80 K SNP 棉花芯片,含有 77774 个 SNP 位点,352 个棉花材料分析,76.51% 的位点具有多态性;通过对 288 个陆地棉材料的芯片 GWAS 分析,54588 个 SNPs 与 10 个耐盐性状有关,8 个 SNPs 与 3 个耐盐性状显著关联^[17]。

(2) 河北农业大学马峙英团队通过对 719 个陆地棉材料的美国 63 K 芯片分析,发现 46 个显著的 SNPs 与 5 个纤维品质性状关联,涉及到 612 个候选基因,有 2 个与纤维长度及强度有关的单倍型,有 163 个及 120 个纤维发育基因分别与纤维长度、强度有关^[18]。

(3) 华中农业大学张献龙团队通过对 503 个陆地棉材料的芯片分析(63 K),鉴定了与 16 个农艺性状有关的 324 个 SNPs 及 160 个 QTL,38 个相关区域控制了 2 个及以上的性状^[19]。

5.3 陆地棉高密度遗传图谱构建取得重大进展

(1) 高密度遗传图谱的构建及多环境稳定的 QTL 的挖掘为分子标记辅助育种奠定了重要基础。西南大学张正圣团队利用 180 个优质陆地棉 RIL,构建了含 2051 个 SSR 标记位点,遗传图距为 3508.29 cM,标记间距离为 1.71 cM 的高密度遗传图谱;利用 6 个环境的产量及品质数据,鉴定了 113 个 QTLs,其中 50 个 QTLs 多环境稳定,其中 18 个 QTLs 两者方法检测到纤维品质 11 个,产量 7 个,可以考虑标记辅助育种^[20]。

(2) 中国农业科学院棉花研究所喻树迅团队通过 GBS 构建陆地棉 F_2 群体高密度遗传图谱,该图谱含有 3978 个 SNP 标记,遗传图谱为 2480 cM,挖掘 47 个与 6 个早熟性状有关的 QTLs,其中 D03 上 QTL 富集,其中 *Gh_D03G0885* 和 *Gh_D03G0922* 两个基因,在早熟棉亲本中表达量高^[21]。

(3) 中国农业科学院棉花研究所袁有禄团队利用 63 K 棉花芯片,构建了含 2393 个 SNP 位点的陆地棉重组自交系群的高密度遗传图谱,一共检测到 63 个纤维强度的 QTLs,16 个多环境稳定^[22];同样利用该群体及 63 K 芯片及少量 SSR 标记构建的图谱,定位了 119 个与病指有关的 QTLs,7 个多环境稳定;59 个与发病株率有关的 QTLs^[23]。

(4) 为了更好地了解棉花苗期的耐盐机制,中国农业科学院棉花研究所杜雄明团队利用耐盐品种 CCRI35 与盐敏感材料构建 277 个 F_2 分离群体,通过 GBS 构建了含 5178 个 SNP 标记的高密度遗传图谱,覆盖 4768.098 cM,标记间距离 0.92 cM; $F_{2:3}$ 群体经 0 mol/L、110 mol/L、150 mol/L 3 种盐

处理,一共找到与 10 个耐盐性状有关的 66 个 QTLs,14 个 QTLs 稳定检测。8 个 QTL clusters,12 个关键基因与盐有关^[24]。

5.4 一批重要产量、品质性状基因获得定位

(1)南通大学汪保华团队与美国佐治亚大学合作利用陆地棉与黄褐棉的回交高代材料(BC_3F_2 , $BC_3F_{2,3}$),利用 SSR 标记找到 42 个 QTL,15 个与纤维强度相关,27 个与马克隆值相关,18 个多环境稳定;研究表明利用黄褐棉渐渗可以改良陆地棉的纤维品质^[25]。

(2)陆地棉产量高,适应性好;海岛棉纤维品质突出。南京农业大学张天真团队首次培育了海岛棉背景的陆地棉染色体片段渐渗系($GhILs_Gb$)。通过全基因组 SSR 标记筛选,找到了 39 个与衣分、铃重、子指、纤维长度、强度、马克隆值有关的 QTLs,4 个 QTL 簇。大多数产量相关性状的 QTL 在海岛棉背景下提高了皮棉产量,而纤维品质性状的 QTL 在海岛棉背景下却降低了纤维长度及强度^[26]。

(3)中国农业科学院棉花研究所袁有禄团队利用陆地棉背景的海岛棉染色体片段代换系与轮回亲本杂交构建 F_2 及 $F_{2,3}$ 群体,检测到 18 个与纤维品质性状相关的 QTLs,6 个与纤维产量性状相关的 QTLs,有 5 个渐渗片段对纤维产量及品质效应明显^[27]。

(4)氨基酸是人类及动物重要的营养资源,浙江大学祝水金团队对棉子 9 个非必需氨基酸含量进行了定位,利用 188 个陆地棉 RILs,永久 F_2 (IF_2) 及正反回交群体 BC_1F_1 和 BC_2F_1 (BC),QTL Network-CL-2.0 种子软件分析,从胚胎及母体植株基因型角度定位 56 个棉子 9 个非必需氨基酸含量的 QTL,10 个 QTLs 能在 IF_2 及 BC 群体中检测到。遗传效应分析表明胚胎基因型比及母体植株基因型更重要^[28]。

5.5 棉花芽黄、纤维品质性状基因的精细定位取得较大进展

(1)图位克隆在挖掘数量性状位点及重要农艺性状基因方面具有重要作用。传统的图位克隆有效,但费时费力。南京农业大学张天真团队通过改良的 BSA 法结合 VIGS 策略,快速及可靠的基因图谱,定位及功能验证。该方法用于陆地棉多隐性标记系 T582 芽黄基因 *vl*,通过精细定位,编码 Mg 螯合酶亚单位 *GhCHLI* 基因与之有关,*GhCHLI* AAA + 保守区域的定点突变导致了一个氨基酸的突变,通过 VIGS 技术在 TM-1 中抑制该基因的表达,叶片表现黄色^[29]。

(2)中国农业科学院棉花研究所喻树迅团队对芽黄基因 *vl* 进行精细定位,标记区间缩小到 84.1 kb 区间内,含有 10 个候选基因,其中 *GhChli* 基因编码 Mg 螯合酶亚单位(*CHLI*),*GhChli* 基因沉默,表现芽黄^[30]。

(3)江苏农业科学院沈新莲团队对 chr1 上纤维长度的 1 个 QTL (*qFL-chr1*),利用陆海渐渗近等基因系 (*NIILs*) R01-40-08 构建 1672 个 BC_4F_2 大群体,22 个 PCR 标记用于基因分型,标记区间缩小到 1.0 cM,进一步利用亚群体,标记区间缩小到 0.9 cM,在 2.38 Mb 区间内,海岛棉含有 19 个基因;其中 2 个候选基因 (*GOBAR07705* 基因,编码 1-氨基环丙烷-1-羧酸合酶;*GOBAR25992* 基因,编码氨基酸透性酶)的表达与纤维长度呈正相关^[31]。

(4)西南大学张正圣团队对棉花纤维强度的一个主效 QTL (*qFS07.1*) 进行了精细定位,利用了 1518 对 SSR 标记,筛选 2484 个 F_2 单株的大群体,标记区间缩小到 62.6 kb,含有 4 个基因;RT-qPCR 等分析表明,富含亮氨酸重复蛋白激酶 (*LRR RLK*) 基因可能与强度有关^[32]。

5.6 随着棉花基因组测序的完成,在全基因组水平上(转录组)批量挖掘基因成为可能

5.6.1 纤维品质相关基因挖掘 中国农业科学院棉花研究所于霁雯团队利用两个纤维长度不同的陆海渐渗系,通过转录组测序及遗传、物理连锁图谱分析,获得 1551 个差异表达基因 (*DEGs*),其中 8 个基因与 4 个纤维长度的 QTL 共定位,3 个基因有关的 4 个 SNP 标记与纤维长度显著关联^[33]。中国农业科学院棉花研究所袁有禄团队利用两个纤维品质突出的陆海渐渗系及其陆地棉轮回亲本,通过 10 DPA 及 28 DPA 的棉纤维转录组测序,获得 1801 个差异表达基因 (*DEGs*),氧化还原过程中,2 个过氧化物酶及 4 个类黄酮代谢通路相关基因可能与纤维发育及品质形成有关^[34]。中国农业科学院棉花研究所袁有禄团队与山西农业大学合作利用 3 个纤维强度不同的陆海渐渗系及其陆地棉轮回亲本 (*CCRI45*),通过 4 个不同纤维发育时期的棉纤维转录组测序,获得 2200 个在高强度棉纤维中差异表达的基因 (*DEGs*),进一步研究表明 3 个基因 *MNSI* *XLOC_029945* (*FLA8*) 和 *XLOC_075372* (*snakin-1*) 可能与纤维强度的形成有关^[35]。

河南农业科学院经济作物研究所房卫平团队鉴定了雷蒙德棉、亚洲棉、陆地棉共 23 个全长纤维素

合成酶 D (CSLD) 蛋白基因^[36]。

5.6.2 逆境相关基因的挖掘 中国农业科学院棉花研究所李付广团队在全基因组水平上挖掘亚洲棉、雷蒙德棉、陆地棉与逆境相关的 21、20 和 38 个 *WOX* 基因^[37]。克隆了来自亚洲棉与水杨酸相关的核糖体蛋白基因 *GaRPL18*, 该基因在拟南芥中超量表达, 黄萎病抗性显著提高^[38]。挖掘了陆地棉棉花 ABA 信号通路及渗透压有关的蔗糖非发酵-1 相关蛋白激酶 2 (SnRK2) 基因家族, 鉴定了 20 个相关的序列, 全部编码了亲水蛋白^[39]。明确了在甘露醇及盐胁迫下的拟南芥中, 超量表达 *GaMYB85* 基因 (一个 *R2R3 MYB* 基因), 种子发芽率更高, 耐旱性也增强了^[40]。与西北农林大学合作过量表达 *GhNAC79* 基因提高了棉花的抗旱性^[41]。中国农业科学院生物技术研究所张锐团队研究证明来自玉米的 bZIP 的转录因子 ABP9 转入棉花可提高耐盐及抗旱性^[42]。

南京农业大学郭旺珍团队在全基因组水平上分别挖掘了雷蒙德棉、亚洲棉、陆地棉、海岛棉 29、30、60 和 56 个 赖氨酸序蛋白 (*LysM*) 基因, 进一步克隆了其中的 *Lyp1*、*Lyk7* 和 *LysMe3* 等 3 个基因, 在甲壳素信号、黄萎病菌侵染及其他逆境相关信号化合物刺激下, 这些基因表达量显著提高^[43]。

山东农业大学沈法富团队在全基因组水平上挖掘了 18 个陆地棉过氧化物 (SOD) 酶基因, 这些基因与抗逆有关^[44]。

5.6.3 抗枯萎病基因挖掘 枯萎病严重影响棉花的产量, 促分裂原活化的蛋白激酶 (MAPK) 级联在植物抗病性方面起了关键作用。山东农业大学郭兴启团队报导沉默 *GhMKK6* 基因降低了棉花对枯萎病的抗性; 陆地棉 miR5272a 通过介导 *GhMKK6* 基因的转录实现棉花对枯萎病的免疫反应^[45]。

中国农业科学院植物保护研究所张文蔚团队通过转录组及反向遗传学大规模鉴定了陆地棉抗黄萎病基因, 获得了 4794 个差异表达基因 (*DEGs*), 通过 VIGS 技术, 明确类受体蛋白激酶 (RLKs)、WRKY 转录因子及细胞色素 P450 (*CYPs*)—基因在防御反应中的重要作用; *GhSKIP35*、*SKP1* 蛋白伴侣、泛素介导信号转入拟南芥中过量表达, 提高了黄萎病抗性^[46]。

5.6.4 种子品质相关基因挖掘 中国农业科学院棉花研究所于霁雯团队在全基因组水平上挖掘棉花溶血磷脂酸酰基转移酶 (*LPAAT*) 基因家族, 在陆地棉、海岛棉、雷蒙德棉、亚洲棉中分别鉴定 13、10、8 和 9 个基因, *At-Gh13LPAAT5* 基因与种子油分及蛋

白质含量显著相关^[47]。

硬脂酰-酰基载体蛋白脱饱和酶 (*SAD*, *stearoyl-acyl carrier protein desaturase*) 基因, 该基因的重要功能是将植物中的饱和脂肪酸转化为不饱和脂肪酸, 南京农业大学郭旺珍团队鉴定了与棉子油有关的, 分别从雷蒙德棉、亚洲棉、陆地棉、海岛棉获得 9、9、18 和 19 个 *SAD* 基因, *GhSAD2* 和 *GhSAD4* 在花后 20~35 d 的子房中特异表达, 在高油与低油材料中具有不同的表达模式, 该两个基因与棉子油生物合成有关, 关联分析进一步确认了 *GhSAD4* 的重要性^[48]。

5.6.5 棉花绿色纤维相关基因挖掘 中国农业科学院棉花研究所朱荷琴团队与石河子大学合作对天然绿色棉色素经分离鉴定为 22-O-咖啡酰基-22-羟基二十二酸单甘油酯及 22-O-咖啡酰基-22-羟基二十二酸单甘油酸, 22-O 咖啡酰基-22-羟基二十二酸单甘油酯是使绿色棉纤维产生绿色的主要色素成分。陆地棉中含有 4 个 CoA 连接酶基因 (*Gh4CL1-Gh4CL4*), 为苯丙醇生物合成途径的关键酶, 编码香豆酸。研究表明, *Gh4CL2* 与咖啡酸残基代谢有关, 在绿色纤维着色生物合成中起重要作用^[49]。

5.6.6 棉花早熟性相关基因挖掘 *CONSTANS/FLORING LOCUS T (CO/FT)* 调控因子在光周期敏感植物的开花时间调控方面起重要作用, 野生棉开花严格受光周期控制, 但栽培种不敏感。石河子大学黄先忠团队挖掘了陆地棉开花相关的 *CONSTANS-like (COL)* 基因 42 个, 克隆了 14 个 *GhCOL* 基因, 转拟南芥研究表明 *GhCOL1-A* 和 *GhCOL1-D* 是重要的开花相关基因^[50]。

5.6.7 棉花雄性不育性状相关基因挖掘 中国农业科学院棉花研究所邢朝柱团队利用哈克尼西胞质 (*CMS-D2*) 雄性不育系, 保持系及恢复系开展全基因组转录分析, 鉴定了 1464 个差异表达基因 (*DEGs*)^[51]。

5.7 棉花转基因利用新技术、新方法、新材料

(1) 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所崔海信团队与生物技术研究所张锐团队合作, 通过利用磁性纳米粒子作为基因载体, 创立了一种高通量、操作便捷和用途广泛的植物遗传转化新方法, 推动纳米载体基因输送与遗传介导系统研究取得了重要进展, 开辟了纳米生物技术研究的新方向。该方法基于磁性纳米颗粒基因载体的花粉磁转化植物遗传修饰方法, 可以利用磁性纳米颗粒 Fe_3O_4 作为载体, 在外加磁场介导下将外

源基因输送至花粉内部,通过人工授粉利用自然生殖过程直接获得转化种子,然后再经过选育获得稳定遗传的转基因后代。该方法已证明适用于大多数作物^[52]。

(2)中国农业科学院植物保护研究所吴孔明团队提出了通过 *Bt* 与非 *Bt* 棉杂交利用杂种二代延缓红铃虫的抗性^[53]。

(3)华中农业大学张献龙团队提出了在棉花中表达脂肪酰辅酶 A 还原酶的同源双链 RNA 的抗中黑盲蝽的转基因棉花^[54]。

(4)中国农业科学院生物技术研究所周锐团队通过 GR79 EPSPS (抗草甘膦)和 N-acetyltransferase (GAT) genes (N-乙酰基转移酶(GAT))的共转化,培育了抗除草剂棉花,获得 GGC02 和 GGC05 两个系,其对草甘膦抗性提高了 5 倍,草甘膦的残留减少了 10 倍^[55]。

(5)中国科学院遗传与发育生物学研究所朱帧团队及南京农业大学张天真团队合作首次将 *Bt* 基因及 RNAi 结合,干涉保幼激素(JH),培育新型抗棉铃虫转基因棉花^[56]。

5.8 构建了棉花目标基因突变的 CRISPR/Cas9 系统 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats)/Cas9

(1)华中农业大学张献龙团队针对陆地棉是异源四倍体,基因组结构复杂,多数基因具有多个拷贝,分属 At 和 Dt 亚组。利用 CRISPR/Cas9 系统构建了 2 个目的基因(*DsRed2* 和 *GhCLA1*)棉花单链向导 RNA (sgRNAs),*DsRed2* 的编辑植株 T₀ 绿色荧光信号消失,变为野生型, T₁ 表现稳定; 75% 的 *GhCLA1* 编辑植株表现白化,存在明显的 DNA 片段删除。突变效率为 66.7% ~ 100%。研究证明了 CRISPR/Cas9 系统能高效应用于棉花基因组编辑^[57]。

(2)中国农业科学院棉花研究所叶武威团队构建了棉花目标基因突变的 CRISPR/Cas9 系统。其针对棉花 *GhCLA1* 及液泡 H⁺ - 焦磷酸酶 (*GhVP*) 基因设计了 2 个单链向导 RNA (sgRNAs) 开展 Cas9 介导的异源四倍体棉花的基因编辑,突变效率为 47.6% ~ 81.8%^[58]。

(3)河南大学宋纯鹏团队发展了一套通过瞬时表达系统在棉花中鉴定单链向导 RNA (sgRNAs) 功能的快速、高效的方法。并对 3 个基因 (*GhPDS*、*GhCLA1* 及 *GhEF1*) 进行了验证,其突变效率最高可达 64%,能同时获得 *GhPDS* 和 *GhEF1* 两个基因的

突变位点,获得了 *GhPDS* 位点的片段删除。获得了 CRISPR/Cas9 诱导的 *GhCLA1* 基因的棉花基因编辑突变体^[59]。

5.9 棉花功能基因组平台初步建立

棉花是世界上重要的纤维及油料作物,随着棉花基因组测序的完成及海量组学数据的出现,因此,建立一个整合多个组学的棉花功能基因组数据库供大家快速及方便获取十分重要。中国农业科学院生物技术研究所周锐团队建立了棉花 CottonFGD 数据库 (Cotton Functional Genomic Database, <https://cottonfgd.org>),包括基因组序列、基因结构和功能、遗传标记、转录组数据及四大棉种的群体重测序,为进一步基因挖掘及分子育种奠定了重要平台基础^[60]。

参考文献

- [1] Jenkins J N, McCarty J C, Campbell B T, et al. Genetic effects of chromosomes 1, 4, and 18 from three tetraploid gossypium species introgresses with five elite cultivars [J]. *Crop Sci*, 2017, 57 (3): 1338-1346
- [2] Saha S, Wu J X, Jenkins J N, et al. Tri-Species shuffling of chromosomes to study the effects on fiber traits using chromosome substitution lines [J]. *Crop Sci*, 2017, 57: 1211-1226
- [3] Li W, Xia X C, Han L H, et al. Genome-wide identification and characterization of JAZ gene family in upland cotton (*Gossypium hirsutum*) [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7 (1): 2788
- [4] Janga M R, Campbell L M, Rathore K S, et al. CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. *Plant Mol Biol*, 2017, 94 (4-5): 349-360
- [5] Liu Q, Wu M, Zhang B L, et al. Genetic enhancement of palmitic acid accumulation in cotton seed oil through RNAi down-regulation of *ghKAS2* encoding b-ketoacyl-ACP synthase II (KASII) [J]. *Plant Biotechnol J*, 2017, 15: 132-143
- [6] Mishra N, Sun L, Zhu X L, et al. Overexpression of the rice SUMO E3 ligase gene *OsSIZ1* in cotton enhances drought and heat tolerance, and substantially improves fiber yields in the field under reduced irrigation and rainfed conditions [J]. *Plant Cell Physiol*, 2017, 58 (4): 735-746
- [7] Ribeiro T P, Arraes F B M, Lourenco-Tessutti I T, et al. Transgenic cotton expressing *Cry10Aa* toxin confers high resistance to the cotton boll weevil [J]. *Plant Biotechnol J*, 2017, 15 (8): 997-1009
- [8] Abdelraheem A, Liu F, Song M Z, et al. A meta-analysis of quantitative trait loci for abiotic and biotic stress resistance in tetraploid cotton [J]. *Mol Genet Genomics*, 2017, 292 (6): 1221-1235
- [9] Iqbal M A, Mehboob-ur-Rahman. Identification of marker-trait associations for lint traits in cotton [J]. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 86-106
- [10] Hinz L L, Hulse-Kemp A M, Wilson I W, et al. Diversity analysis of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) germplasm using the Cotton-SNP63K Array [J]. *BMC Plant Biol*, 2017, 17: 37
- [11] Fang L, Wang Q, Hu Y, et al. Genomic analyses in cotton identify signatures of selection and loci associated with fiber quality and yield traits [J]. *Nature Genetics*, 2017, 49 (7): 1089-1098
- [12] Wang M J, Tu L L, Lin M, et al. Asymmetric subgenome selection and cis-regulatory divergence during cotton domestication [J]. *Nature Genetics*, 2017, 49 (4): 579-587
- [13] Fang L, Gong H, Hu Y, et al. Genomic insights into divergence and dual domestication of cultivated allotetraploid cottons [J].

- Genome Biology, 2017, 18:33
- [14] Li T G, Ma X F, Li N Y, et al. Genome-wide association study discovered candidate genes of Verticillium wilt resistance in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. Plant Biotechnol J, 2017, 15 (12): 1520-1532
 - [15] Gong Q, Yang Z E, Chen E, et al. A Phi-Class Glutathione S-Transferase Gene for Verticillium Wilt Resistance in *Gossypium arboreum* identified in a Genome-Wide Association Study [J]. Plant Cell Physiol, 2017, 59(2): 275-289
 - [16] Ademe M S, He S P, Pan Z E, et al. Association mapping analysis of fiber yield and quality traits in Upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. Mol Genet Genomics, 2017, 292(6): 1267-1280
 - [17] Cai C P, Zhu G Z, Zhang T Z, et al. High-density 80 K SNP array is a powerful tool for genotyping *G. hirsutum* accessions and genome analysis [J]. BMC Genomics, 2017, 18:654
 - [18] Sun Z W, Wang X F, Liu Z W, et al. Genome-wide association study discovered genetic variation and candidate genes of fibre quality traits in *Gossypium hirsutum* L. [J]. Plant Biotechnol J, 2017, 15(8): 982-996
 - [19] Huang C, Nie X H, Shen C, et al. Population structure and genetic basis of the agronomic traits of upland cotton in China revealed by a genomewide association study using high-density SNPs [J]. Plant Biotechnol J, 2017, 15(11): 1374-1386
 - [20] Liu X Y, Teng Z H, Wang J X, et al. Enriching an intraspecific genetic map and identifying QTL for fiber quality and yield component traits across multiple environments in Upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. Mol Genet Genomics, 2017, 292(6): 1281-1306
 - [21] Li L B, Zhao S Q, Su J J, et al. High-density genetic linkage map construction by F2 populations and QTL analysis of early-maturity traits in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. PLoS ONE, 2017, 12(8): e0182918
 - [22] Zhang Z, Ge Q, Liu A Y, et al. Construction of a High-Density Genetic Map and Its Application to QTL Identification for Fiber Strength in Upland Cotton [J]. Crop Sci, 2017, 57(2): 774-788
 - [23] 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
 - [24] Diouf L, Pan Z E, He S P, et al. High-Density Linkage Map Construction and Mapping of Salt-Tolerant QTLs at Seedling Stage in Upland Cotton Using Genotyping by Sequencing (GBS) [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(12): 1-23
 - [25] Wang C L, Ulloa M, Duong T T, et al. QTL Analysis of Transgressive Nematode Resistance in Tetraploid Cotton Reveals Complex Interactions in Chromosome 11 Regions [J]. Front Plant Sci, 2017, 8(8): 1979
 - [26] Si Z F, Chen H, Zhu X F, et al. Genetic dissection of lint yield and fiber quality traits of *G. hirsutum* in *G. barbadense* background [J]. Mol Breeding, 2017, 37(1): 9
 - [27] Song W W, Wang M, Su W, et al. Genetic and phenotypic effects of chromosome segments introgressed from *Gossypium barbadense* into *Gossypium hirsutum* [J]. PLoS ONE, 2017, 12(9): e0184882
 - [28] Liu H Y, Quampah A, Chen J H, et al. QTL mapping with different genetic systems for nine nonessential amino acids of cotton-seeds [J]. Mol Genet Genomics, 2017, 292(3): 671-684
 - [29] Zhu J K, Chen J D, Gao F K, et al. Rapid mapping and cloning of the virescent-1 gene in cotton by bulked segregant analysis-next generation sequencing and virus-induced gene silencing strategies [J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(15): 4125-4135
 - [30] Mao G Z, Ma Q, Wei H L, et al. Fine mapping and candidate gene analysis of the virescent gene *vl* in Upland cotton (*Gossypium hirsutum*) [J]. Mol Genet Genomics, 2017, 293(1): 249-264
 - [31] Xu P, Gao J, Cao Z B, et al. Fine mapping and candidate gene analysis of *qFL-chr1*, a fiber length QTL in cotton [J]. Theor Appl Genet, 2017, 130(6): 1309-1319
 - [32] Fang X M, Liu X Y, Wang X Q, et al. Fine-mapping qFS07. 1 controlling fiber strength in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2017, 130(4): 795-806
 - [33] Li X H, Wu M, Liu G Y, et al. Identification of candidate genes for fiber length quantitative trait loci through RNASeq and linkage and physical mapping in cotton [J]. BMC Genomics, 2017, 18(1): 427
 - [34] Li P T, Wang M, Lu Q W, et al. Comparative transcriptome analysis of cotton fiber development of Upland cotton (*Gossypium hirsutum*) and Chromosome Segment Substitution Lines from *G. hirsutum* × *G. barbadense* [J]. BMC Genomics, 2017, 18(1): 705
 - [35] Lu Q W, Shi Y Z, Xiao X H, et al. Transcriptome Analysis Suggests That Chromosome Introgression Fragments from Sea Island Cotton (*Gossypium barbadense*) Increase Fiber Strength in Upland Cotton (*Gossypium hirsutum*) [J]. G3, 2017, 7(10): 3469-3479
 - [36] Li Y P, Yang T G, Dai D D, et al. Evolution, gene expression profiling and 3D modeling of CSLD proteins in cotton [J]. BMC Plant Bio, 2017, 17(1): 119
 - [37] Yang Z E, Gong Q, Qin W Q, et al. Genome-wide analysis of *WOX* genes in upland cotton and their expression pattern under different stresses [J]. BMC Plant Biol, 2017, 17:113
 - [38] Gong Q, Yang Z E, Wang X Q, et al. Salicylic acid-related cotton (*Gossypium arboreum*) ribosomal protein GaRPL18 contributes to resistance to *Verticillium dahliae* [J]. BMC Plant Biol, 2017, 17(1): 59
 - [39] Liu Z, Ge X Y, Yang Z R, et al. Genome-wide identification and characterization of *SnRK2* gene family in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. BMC Genetics, 2017, 18(1): 54
 - [40] Butt H I, Yang Z E, Gong Q, et al. GaMYB85, an R2R3 MYB gene, in transgenic Arabidopsis plays an important role in drought tolerance [J]. BMC Plant Biol, 2017, 17(1): 142
 - [41] Guo Y N, Pang C Y, Jia X Y, et al. An NAM Domain Gene, *Gh-NAC79*, Improves Resistance to Drought Stress in Upland Cotton [J]. Front Plant Sci, 2017, 8:1657
 - [42] Wang C L, Lu G Q, Hao Y Q, et al. ABP9, a maize bZIP transcription factor, enhances tolerance to salt and drought in transgenic cotton [J]. Planta, 2017, 246(3): 453-469
 - [43] Xu J, Wang G L, Wang J, et al. The lysin motif-containing proteins, Lyp1, Lyk7 and LysMe3, play important roles in chitin perception and defense against *Verticillium dahliae* in cotton [J]. BMC Plant Biol, 2017, 17(1): 148
 - [44] Wang W, Zhang X P, Deng F N, et al. Genome-wide characterization and expression analyses of superoxide dismutase (*SOD*) genes in *Gossypium hirsutum* [J]. BMC Genomics, 2017, 18(1): 376
 - [45] Wang C, He X W, Wang X X, et al. ghr-miR5272a-mediated regulation of GhMKK6 gene transcription contributes to the immune response in cotton [J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(21-22): 5895-5906
 - [46] Zhang W W, Zhang H C, Liu K, et al. Large-scale identification of *Gossypium hirsutum* genes associated with *Verticillium dahliae* by comparative transcriptomic and reverse genetics analysis [J]. PLoS ONE, 2017, 12(8): e0181609
 - [47] Wang N H, Ma J J, Pei W F, et al. A genome-wide analysis of the lysophosphatidate acyltransferase (LPAAT) gene family in cotton: organization, expression, sequence variation, and association with seed oil content and fiber quality [J]. BMC Genomics, 2017, 18(1): 218
 - [48] Shang X G, Chen C Z, Ding J, et al. Identification of candidate genes from the *SAD* gene family in cotton for determination of cottonseed oil composition [J]. Mol Genet Genomics, 2017, 292(1): 173-186
 - [49] Feng H J, Yang Y L, Sun S C, et al. Molecular analysis of caffeoyl residues related to pigmentation in green cotton fibers [J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(16): 4559-4569

- [50] Cai D R, Liu H, Sang N, et al. Identification and characterization of *CONSTANS*-like (*COL*) gene family in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. PLoS ONE, 2017, 12(6): e0179038
- [51] Wu J Y, Zhang M, Zhang B B, et al. Genome-wide comparative transcriptome analysis of CMS-D2 and its maintainer and restorer lines in upland cotton [J]. BMC Genomics, 2017, 18(1): 454
- [52] Zhao X, Meng Z G, Wang Y, et al. Pollen magnetofection for genetic modification with magnetic nanoparticles as gene carriers [J]. Nature Plants, 2017, 3(12): 956-964
- [53] Wan P, Xu D, Cong S B, et al. Hybridizing transgenic Bt cotton with non-Bt cotton counters resistance in pink bollworm [J]. PNAS, 2017, 114(21): 5413-5418
- [54] Luo J, Liang S J, Li J Y, et al. A transgenic strategy for controlling plant bugs (*Adelphocoris suturalis*) through expression of double-stranded RNA homologous to fatty acyl-coenzyme A reductase in cotton [J]. New Phytologist, 2017, 215(3): 1173-1185
- [55] Liang C Z, Sun B, Meng Z G, et al. Co-expression of *GR79* *EPSPS* and *GAT* yields herbicide-resistant cotton with low glyphosate residues [J]. Plant Biotechnol J, 2017, 15(12): 1622-1629
- [56] Ni M, Ma W, Wang X F, et al. Next-generation transgenic cotton: pyramiding RNAi and Bt counters insect resistance [J]. Plant Biotechnol J, 2017, 15(9): 1204-1213
- [57] Wang P C, Zhang J, Sun L, et al. High efficient multisites genome editing in allotetraploid cotton (*Gossypium hirsutum*) using CRISPR/Cas9 system [J]. Plant Biotechnol J, 2017, 16(1): 137-150
- [58] Chen X G, Lu X K, Shu N, et al. Targeted mutagenesis in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) using the CRISPR/Cas9 system [J]. Scientific Reports, 2017, 7: 44304
- [59] Gao W, Long L, Tian X Q, et al. Genome Editing in Cotton with the CRISPR/Cas9 System [J]. Front Plant Sci, 2017, 8: 1364
- [60] Zhu T, Liang C Z, Meng Z G, et al. CottonFGD: an integrated functional genomics database for cotton [J]. BMC Plant Biol, 2017, 17(1): 101