

引进海岛棉种质的 SSR 遗传多样性分析

潘兆娥¹, 何守朴¹, 贾银华¹, Larisa P. Podolnaya², 孙君灵¹, 王立如¹, 杜雄明¹

(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, 河南安阳 455000; ²

瓦维洛夫全俄植物栽培科学研究所, 俄罗斯圣彼得堡 190000)

摘要: 利用 95 对 SSR 分子标记对 56 份海岛棉种质进行遗传多样性分析, 其中 33 份来自于俄罗斯, 5 份来自埃及, 2 份来自美国, 1 份来自阿尔巴尼亚, 8 份来自我国新疆, 7 份来自我国云南、江苏等地。结果表明, 95 对 SSR 引物在 56 个海岛棉品种中共测出了 384 个等位基因, 其中多态性等位基因 296 个, 占 77.1%。每对引物等位基因变幅是 2~9 个, 平均为 4.1 个。基因多样性指数(H) 在 0.035~2.931 之间, 平均为 0.879。Shannon 信息指数(I) 在 0.090~4.417 之间, 平均为 1.363。各指数的趋势一致。95 对 SSR 引物的多态性信息含量 PIC 变幅为 0.035~0.926, 平均为 0.698。56 份海岛棉品种两两间的相似系数在 0.585~0.952 之间, 主要集中在 0.6~0.8 之间, 占整个数据的 97%, 平均遗传相似系数为 0.7。从整体上来看, 56 份海岛棉的遗传相似系数较高, 从聚类图上可以看出, 以遗传距离为 0.69 为标准, 56 份海岛棉品种可分为 4 类。第 1 类主要是前苏联海岛棉为主的 27 份品种, 其中来自埃及的吉扎 77 和来自美国的派字棉以及中 239 都归到了这一类。第 2 类较复杂, 但主要是来自新疆的 6 份海岛棉和来自埃及的吉扎系列的 4 份为主。第 3 类包括 8 个品种, 主要是来自于前苏联的 6 个品种、来自于新疆的巴 3116 和河北的冀 B91-45。第 4 类只有来自于前苏联的 L-8007, 独自成一类。研究结果表明 SSR 作为一种共显性标记, 尤为适用于海岛棉及其亲本的系谱分析及鉴定。因而, SSR 标记技术可以为海岛棉育种实践工作中的亲本选配, 提供可靠的分子水平上的依据。

关键词: 海岛棉; 遗传多样性; SSR; 聚类分析

Genetic Diversity Analysis of the Sea Island Cotton Introduced Using SSR Markers

PAN Zhao-e¹, HE Shou-pu¹, JIA Yin-hua¹, Larisa P. Podolnaya², SUN Jun-ling¹, WANG Li-ru¹, DU Xiong-ming¹

(¹ Institute of Cotton Research, CAAS/State Key Laboratory of Cotton Biology, Anyang 455000; ² All-Russia N. I. Vavilov Plant

Industry Institute, St. Petersburg Russia 190000)

Abstract: The genetic relationship and genetic diversity of 56 Sea-island cotton (*Gossypium barbadense* L.) were analyzed by 95 pairs of SSR markers. Among the 56 sea-island cotton varieties, 33 came from former USSR, 2 from USA, 1 from Albania, 8 from Xinjiang, and 7 from Yunnan, Jiangsu, and other places of China. The 95 pairs of polymorphic SSR primers produced 384 alleles in total, and 296 were polymorphic, which accounted for 77.1%. 2 to 9 alleles could be obtained from each pair of primers with an average of 4.1. The gene diversity (H) was 0.035 to 2.931 with an average of 0.879. Shannon's information index (I) was 0.09 to 4.417 with an average of 1.363. The results showed the same trend. The value of allelic polymorphism information content (PIC) ranged from 0.035 to 0.926, with an average of 0.698. The result of UPGMA cluster showed that four groups could be clearly clustered when genetic similarity coefficient was 0.69. The first group contained 27 varieties, mainly from former USSR. But Giza 77, Paizi cotton, and Zhong 239 were assigned to this group. The second group was a little complicated and mostly included 6 varieties from Xinjiang and 4 varieties from Egypt. The third group contained 8 varieties, 6 were

收稿日期: 2013-06-24 修回日期: 2013-08-21 网络出版日期: 2014-01-24

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/10.13430/j.cnki.jpgr.2014.02.026.html>

基金项目: 国际科技合作与交流专项(科技部)子项目(2010DFB33340-2)

第一作者主要从事棉花种质资源和分子生物学研究。E-mail: panze@cicaas.com.cn

通信作者: 杜雄明, 研究方向为棉花种质资源。E-mail: duxm@cicaas.com.cn

from former USSR, Ba3116 from Xinjiang, and JI B91-45 from Hebei. The last group contained only one variety L-8007 from former USSR. Our results showed that SSR as a kind of codominant markers, could be used for the pedigree analysis and identification of sea-island especially. Therefore, SSR markers could provide a reliable basis in the molecular level for sea-island cotton breeding practice of matching parents.

Key words: sea-island cotton; genetic diversity; SSR; cluster analysis

海岛棉是世界上最重要的栽培棉种之一,其纤维细长、富有丝光、强力较高,因此又称长绒棉。海岛棉是纺制高档和特种棉纺织品的重要原料,主要分布在埃及、苏丹、俄罗斯、乌兹别克斯坦、美国、中国等国家。随着纺织工业的迅速发展和人们生活水平的不断提高,对棉花纤维品质提出了更高的要求。海岛棉因其纤维品质好、抗枯萎,常被用作亲本与陆地棉杂交以培育优良品种。海岛棉遗传多样性研究对于海岛棉新品种选育以及海岛棉优质纤维性状和高抗黄萎病性的遗传育种具有重要的意义。

分子生物学的迅速发展及 DNA 分子标记技术的出现,为在 DNA 水平上评估不同品种的亲缘关系以及遗传多样性的研究提供了技术上的支持。SSR(simple sequence repeat)标记因其具有数量丰富、高度多态、共显性等优点,是一种极具实用价值的分子标记,目前已成为研究种质资源遗传多样性、基因组作图、群体遗传学、指纹图谱、系谱分析等首选标记^[1-8]。

相对陆地棉而言,对海岛棉的研究较少,且多数研究集中在将海岛棉作为亲本与陆地棉构建种间群体用于遗传图谱的制作和数量性状方面,对海岛棉的直接研究较早的有陈光等^[9]利用 SSR 标记对江苏及部分其他地区来源的海岛棉进行了遗传多样性

分析。随后李金荣等^[10]利用 SSR 标记对 14 个新疆自育海岛棉品种进行了聚类分析。吴大鹏等^[11]对来自于前苏联、中国、美国和埃及 4 个国家海岛棉品种资源的亲缘关系和遗传多态性进行了研究。我国海岛棉种质资源遗传背景较为狭窄,以 20 世纪 80 年代以前引进的海岛棉为主,近些年,在国际合作项目的支持下,本课题组陆续从俄罗斯和乌兹别克斯坦引进了 200 多份海岛棉种质资源,这些海岛棉种质的纤维长度,抗病性表现出较丰富的遗传多样性,不仅是我国海岛棉遗传育种的亲本材料,也是研究海岛棉纤维品质和抗病性遗传规律的基础材料。为此,本研究对引进的部分海岛棉,利用 SSR 分子标记,对其遗传多样性进行初步分析,为育种和遗传研究提供有价值的信息。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验共选用 56 份海岛棉,其中 33 份来自俄罗斯,8 份来自我国新疆,5 份来自埃及,2 份来自美国,1 份来自阿尔巴尼亚,其他 7 份分别来自我国云南、江苏、河北等地(表 1)。

表 1 56 份海岛棉材料及相关信息

Table 1 56 lines of *G. barbadense* and their source information

编号 No.	种质名称 Variety name	来源地 Origin	保存单位 Preserver	编号 No.	种质名称 Variety name	原产地 Origin	保存单位 Preserver
1	苏联 B8915	前苏联	中棉所	12	苏联棉 B24 系(91-460)	前苏联	中棉所
2	吉扎 36	埃及	中棉所	13	苏联棉 B69 系(91-470)	前苏联	中棉所
3	Giza45	埃及	新疆吐鲁番	14	苏联棉 B74 系(91-444)	前苏联	中棉所
4	Giza 75	埃及	中棉所	15	苏联棉 B26 系(91-471)	前苏联	中棉所
5	吉扎 77 号	埃及	中棉所	16	巴州 4932	中国新疆库尔勒	新疆巴州农科所
6	广海 63-5	中国广东广州	山西省	17	云南 8040-2	中国云南	新疆巴州农科所
7	长 605	中国上海	新疆吐鲁番	18	司 6249-1	前苏联	新疆巴州农科所
8	洛塞雅(长)	阿尔巴尼亚	新疆吐鲁番	19	苏衣山木	中国新疆吐鲁番	新疆巴州农科所
9	L-3398	中国江苏南京	江苏经作所	20	派字棉	美国	新疆巴州农科所
10	V6-2	中国新疆库尔勒	中棉所	21	海岛棉	中国新疆库尔勒	新疆巴州农科所
11	吉扎 80 号	埃及	中棉所	22	冀 B91-45(91-458)	中国河北	中棉所

表 1(续)

编号	种质名称	来源地	保存单位	编号	种质名称	原产地	保存单位
No.	Variety name	Origin	Preserver	No.	Variety name	Origin	Preserver
23	墨 1431	中国新疆墨玉	新疆巴州农科所	40	Termez-16(俄)	前苏联	中棉所
24	3761	中国新疆农一师	新疆巴州农科所	41	Ashgabad-58	前苏联	中棉所
25	巴 3116	中国新疆库尔勒	新疆巴州农科所	42	5536B	前苏联	中棉所
26	苏联 7871-II	前苏联	新疆巴州农科所	43	5571B	前苏联	中棉所
27	苏联 9943-II	前苏联	新疆巴州农科所	44	9871 I	前苏联	中棉所
28	苏联 K12	中国新疆	新疆巴州农科所	45	41276	前苏联	中棉所
29	跃 51-19	中国云南	新疆吐鲁番	46	Ashgabad-53(俄)	前苏联	中棉所
30	比马 S-4	美国	新疆吐鲁番	47	VIR-53TV	前苏联	中棉所
31	中 239	中国中棉所	中棉所	48	VIR-13TV	前苏联	中棉所
32	苏联棉 B155 系	前苏联	河北棉花所	49	9899-1	前苏联	中棉所
33	VIR-29TV(俄)	前苏联	中棉所	50	Sharaf	前苏联	中棉所
34	L-8007(俄)	前苏联	中棉所	51	9280-1	前苏联	中棉所
35	6815-V(俄)	前苏联	中棉所	52	Termez 31	前苏联	中棉所
36	VIR-4TV(俄)	前苏联	中棉所	53	8596 I	前苏联	中棉所
37	VIR-17TV(俄)	前苏联	中棉所	54	41279	前苏联	中棉所
38	VIR-16TV(俄)	前苏联	中棉所	55	9899-1	前苏联	中棉所
39	L-7007(俄)	前苏联	中棉所	56	L-8005	前苏联	中棉所

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 的提取 采集苗期鲜嫩叶片,按照改良的 CTAB 法^[12]提取 56 个样本的 DNA。

1.2.2 SSR 引物的筛选 首先用本实验室 730 对陆地棉之间多态性的 SSR 引物在 12 个海岛棉品种间进行初步筛选,得到 103 对差异性引物,选取其中扩增效果好、条带差异明显、信号强、背景清晰的 95 对引物在 56 个海岛棉品种间进行 SSR-PCR 反应。

1.2.3 PCR 扩增与电泳检测 PCR 反应总体积为 10 μL,10 × PCR buffer(含 20 mmol/L Mg²⁺)1.0 μL,dNTP(10 mmol/L each)0.2 μL,2.5 U/μL *Taq* DNA 酶 0.2 μL,前引物(5 μmol/L)1 μL,后引物(5 μmol/L)1 μL,模板 DNA(50 ng/μL)1 μL,超纯水 5.6 μL。PCR 反应在 Biometra PCR 仪上进行,反应程序为:95℃ 预变性 3 min;然后 94℃ 变性 45 s,55 ~ 60℃ 退火 50 s,72℃ 延伸 50s,进行 30 个循环;72℃ 延伸 5 min;4℃ 保存待测。

PCR 产物经 DYY-III-5 型稳压电泳仪上,用 8% 聚丙烯酰胺凝胶检测,恒定电压 180 V,电泳 60 min,银染观察并照相。

1.2.4 数据统计与分析 SSR 扩增带型以 0、1 统计,在相同迁移率位置上,有带记为“1”,无带记为“0”。每个引物按扩增片段由小到大统计。用 POP-GENE3.2 软件计算等位基因变异数,Shannon 信息

指数(Shannon’s information index,*I*),基因型多样性指数(gene diversity, *H*),多态信息量(polymorphic information content, *PIC*),用 Jaccard 系数计算成对品种间遗传相似性,在遗传相似系数基础上利用非加权平均 UPGMA 法对所有供试材料建立树状图,相似系数和聚类分析用 MVSP3.13n 软件完成。

2 结果与分析

2.1 SSR 引物的多态性分析

95 对引物在 56 个海岛棉品种中共测出 384 个等位基因,其中多态性等位基因 296 个,占 77.1%。每对引物等位基因变幅为 2 ~ 9 个,平均 4.1 个。其中引物 GH454 等位基因数最多为 9 个。GH60、GH75 等 12 对引物的等位基因数均为 2 个,多态性较差。基因型多样性指数(*H*) 在 0.035 ~ 2.931 之间,平均为 0.879。Shannon 信息指数(*I*) 在 0.090 ~ 4.417 之间,平均为 1.363,各指数的趋势一致。95 对 SSR 引物的多态性信息含量 *PIC* 变幅为 0.035 ~ 0.926,平均为 0.698,以引物 GH454 的 *PIC* 值最高(0.926),GH132 和 NAU1362 的 *PIC* 值最低(0.035)(表 2)。从表中可以看出位点多态性信息含量与等位位点数目不完全一致,与前人的研究结果一致^[9]。结果显示 95 对引物多态性较高,能较好地反映 56 个海岛棉种质的遗传多样性。

表 2 95 对 SSR 引物的扩增结果

Table 2 Amplification result of 95 pairs of SSR primers

SSR 标记	等位基因变异数	多态等位基因变异数	基因多样性指数	Shannon 信息指数	多态性信息含量
Markers	No. of alleles	No. of polymorphic alleles	<i>H</i>	<i>I</i>	<i>PIC</i>
BNL1034	3	2	0.907	1.291	0.728
BNL1045	4	3	0.677	1.157	0.742
BNL1421	7	7	2.931	4.244	0.919
BNL1434	3	2	0.512	0.846	0.629
BNL1440	6	4	1.174	1.877	0.823
BNL2096	4	3	0.712	1.111	0.764
BNL2440	4	4	1.066	1.668	0.827
BNL2449	5	4	1.441	2.183	0.840
BNL3065	6	6	1.079	1.862	0.865
BNL3259	7	7	2.050	3.211	0.902
BNL3368	3	2	0.730	1.097	0.686
BNL3398	5	3	0.574	1.022	0.730
BNL341	6	6	2.690	3.844	0.908
BNL3474	5	5	2.271	3.231	0.891
BNL3511	5	4	1.478	2.224	0.843
BNL3599	4	1	0.245	0.410	0.245
BNL3757	5	5	1.575	2.396	0.868
BNL3792	4	4	1.657	2.412	0.855
BNL3816	4	4	1.043	1.655	0.821
BNL530	4	4	1.686	2.441	0.857
BNL836	4	2	0.713	1.084	0.678
CIR166	3	1	0.069	0.154	0.069
CIR332	3	2	0.918	1.304	0.730
DPL167	5	4	0.888	1.463	0.809
DPL196	3	2	0.716	1.083	0.682
DPL354	3	2	0.637	0.991	0.663
DPL417	5	2	0.631	0.991	0.658
DPL489	2	2	0.966	1.352	0.742
DPL511	7	6	0.211	0.538	0.839
DPL679	4	3	0.910	1.378	0.779
GH111	5	4	0.140	0.358	0.759
GH132	3	1	0.035	0.090	0.035
GH220	4	2	0.709	1.060	0.691
GH302	4	4	1.401	2.140	0.838
GH454	9	9	2.851	4.417	0.926
GH501	3	2	0.891	1.275	0.724
GH60	2	2	0.597	0.950	0.649
GH70	3	2	0.492	0.814	0.627
GH72	4	4	1.019	1.513	0.830
GH75	2	1	0.163	0.301	0.163
JESPR114	5	4	1.221	1.903	0.829
JESPR152	2	2	0.939	1.324	0.736
JESPR158	3	2	0.477	0.797	0.622
JESPR208	7	7	2.142	3.300	0.903
JESPR300	5	4	0.708	1.283	0.794
JESPR45	4	1	0.392	0.581	0.392
MGHES31	3	2	0.538	0.863	0.642
MUSS422	2	2	0.137	0.299	0.535

2.2 56 份海岛棉材料的遗传相似性分析

56 份海岛棉品种两两间的相似系数,分布在 0.585~0.952 之间,主要集中在 0.6~0.8 之间,占整个数据的 97%,平均遗传相似系数为 0.7。从整体上来看,56 份海岛棉的相似系数较高,其中 VIR-53TV 和 VIR-13TV 之间相似系数最大,为 0.952,表明这两个品种间的亲缘关系最近,极有可能亲本来源是一个品种。而相似系数最小的是苏联棉 B155 系和吉扎 80 号,相似系数是 0.585,说明这两个材料之间的亲缘关系最远。从图 1 可以看出,在遗传相似系数 0.69 为阈值,56 份海岛棉品种可分为 4

类。第 1 类主要是以 2010 年从俄罗斯引进的前苏联海岛棉为主的 27 份品种,来自埃及的吉扎 77 和来自美国的派字棉以及来自中国的中 239 都归到了这一类。第 2 类较为复杂,共有 20 份品种,主要包括 6 份来自我国新疆的海岛棉和 4 份来自埃及的吉扎系列的海岛棉,曾经在我国南方种植的广海 63-5、长 605、江苏的 L-3398、云南 8040-2、跃 51-19,美国的比马 S-4、阿尔巴尼亚的洛塞雅和 3 个来自于俄罗斯的品种也聚到了这一类。第 3 类包括 8 个品种,主要是来自于前苏联的 6 个品种、新疆的巴 3116 和河北的冀 B91-45。第 4 类仅包含来自于前苏联的 L-8007。

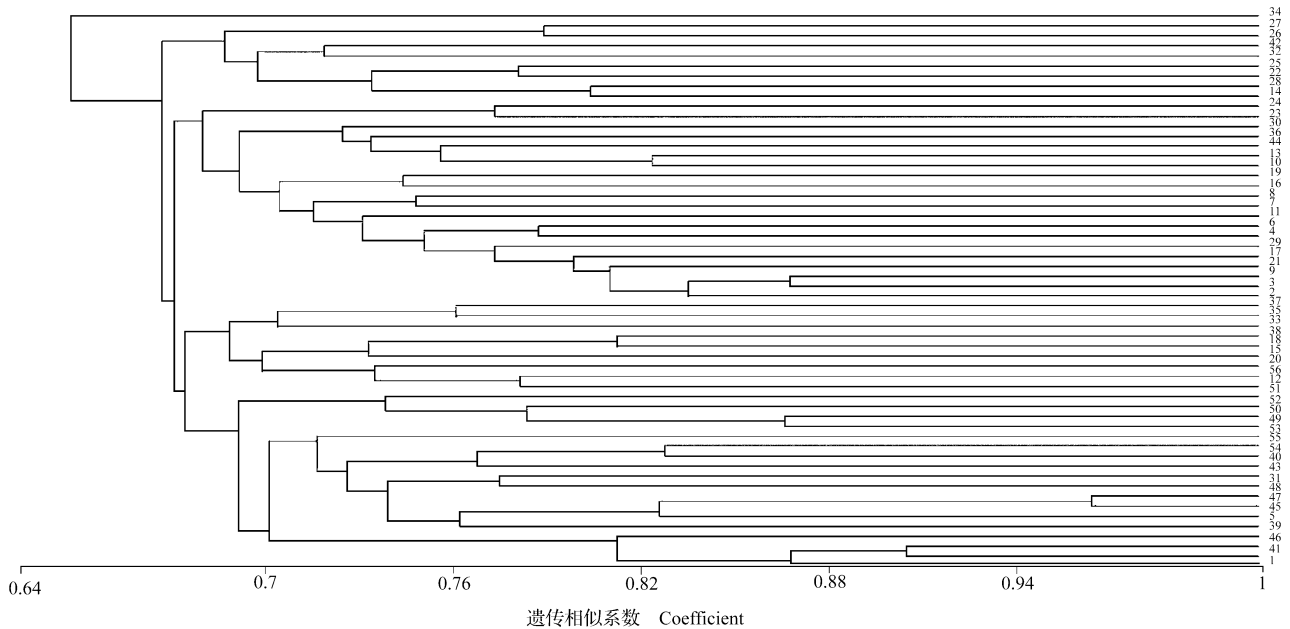


图 1 56 个海岛棉品种基于 SSR 的 UPGMA 聚类图
Fig.1 The UPGMA cluster dendrogram of 56 *G. barbadense* L. cultivars based on SSR

3 讨论

前苏联曾是世界棉花生产大国,截至 20 世纪 80 年代初一直居世界之首,其长绒棉产量 1972 年曾占全世界的 25.8%,海岛棉品种资源比较丰富,对我国新海棉系列的品种育成有很大的贡献^[13]。本研究以主要来自于前苏联、埃及和国内曾经种植的几个地方品种的海岛棉材料为研究对象,通过 SSR 分子标记研究这些品种的遗传多样性,结果发现 56 个品种间相似系数比较集中,97% 在 0.6~0.8 之间,平均为 0.7,相对偏大,说明这些品种的遗传基础比较狭窄。56 份材料中有 33 份来自于前苏联,其中 24 份在聚类中都聚到了一起,说明这些材料很可能遗传背景相似,所以导致了本研究中的海岛棉之间的遗传相似系数偏大。从聚类结果来看,

第 2 类的 20 份品种虽然来源复杂,但追究其系谱,来自我国新疆的海岛棉和我国南方的广海 63-5、跃 51-19、云南 8040-2 及长 605 等都含有吉扎系列的埃及型海岛棉血缘,所以与吉扎 36、吉扎 45 等 4 份来自埃及的海岛棉聚在了一类。说明 SSR 的聚类结果和系谱还是比较吻合的,也和前人研究的结果一致^[9,14]。来自俄罗斯的 L-8007 独自成一类,其系谱不太清楚,但从农艺性状来看,这个品种比较特别,株高比一般的海岛棉矮的多,仅 35~45cm,丰产性好,纤维品质相比其他类型的海岛棉较差,是一个很特殊的种质。综上所述,从俄罗斯引进的 33 份材料,归属于 3 大类型,与我国以前引进和种植的埃及型海岛棉不是一个类型,应该归于中亚型海岛棉,丰富了我国海岛棉的遗传背景。SSR 标记属共显性标记,目前已被广泛地应用于棉花、玉米、水稻等多种

作物的遗传多样性和遗传基础研究。陈光等^[9]利用 SSR 分子标记对 20 世纪 50 年代我国引入海岛棉以来培育的 45 个国内海岛棉品种(系)及 8 个国外海岛棉品种的遗传多样性进行了研究,结果 53 个品种被分为两大类,与系谱来源一致。李金荣等^[10]利用 SSR 标记对来自新疆的 14 个海岛棉品种聚类分析,14 个海岛棉品种聚成了 4 类,其结果与系谱比较吻合。吴大鹏等^[11]利用 SSR 对来自于 4 个国家的海岛棉品种资源的亲缘关系和遗传多态性研究,结果表明供试材料遗传背景与其产地背景有一定关联性。SSR 标记能较好地揭示供试品种之间的遗传差异和亲缘关系。本研究利用 95 对 SSR 引物在 56 个海岛棉品种中共测出了 384 个等位基因,其中多态性等位基因 296 个,占 77.1%。引物的多态性信息含量 *PIC* 变幅为 0.035 ~ 0.926,平均为 0.698,说明本研究中使用的这些引物在这些海岛棉品种中多态性还是比较高的,能有效地鉴定海岛棉的遗传差异。从聚类结果来看,来自于前苏联的大部分品种都聚在了一类,聚类结果和品种的来源比较一致。研究结果再次说明 SSR 作为一种共显性标记,尤为适用于海岛棉及其亲本的系谱分析及鉴定^[14]。因而,SSR 标记技术可以为海岛棉育种的亲本选配,提供可靠的分子水平上的依据。

参考文献

- [1] Chen G, Du X M. Genetic diversity of source germplasm of upland cotton in China as determined by SSR marker analysis. [J] *Acta Genetica Sinica*, 2006, 33(8): 1-10
- [2] 马轩, 杜雄明, 孙君灵. 18 个彩色棉品系的 SSR 指纹分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2003, 4(4): 305-310
- [3] 董薇. 棉花种质资源遗传多样性及其 SSR 丰度分析[D]. 北京: 中国农业科学院研究生院, 2007
- [4] 潘兆娥, 贾银华, 孙君灵, 等. 大铃棉中棉所 48 主要经济性状的 QTL 定位分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2011, 12(4): 601-604, 611
- [5] 李新海, 袁力行, 李晓辉, 等. 利用 SSR 标记划分 70 份我国玉米自交系的杂种优势群[J]. *中国农业科学*, 2003, 36(6): 622-627
- [6] 周忠丽, 杜雄明, 潘兆娥, 等. 亚洲棉种质资源的 SSR 遗传多样性分析[J]. *棉花学报*, 2013, 25(3): 217-226
- [7] 武耀廷, 张天真, 郭旺珍, 等. 陆地棉品种 SSR 标记的多态性及用于杂交种纯度检测的研究[J]. *棉花学报*, 2001, 13(3): 131-133
- [8] 吴晓雷, 贺超英, 陈受宜, 等. 用 SSR 分子标记研究大豆属种间亲缘进化关系[J]. *遗传学报*, 2001, 28(4): 359-366
- [9] 陈光, 杜雄明, 卢东柏, 等. 利用 SSR 分子标记进行海岛棉遗传多样性研究[J]. *植物遗传资源学报*, 2005, 6(2): 135-139
- [10] 李金荣, 王小国, 朱永军, 等. 利用 SSR 标记对 14 个海岛棉品种的聚类分析[J]. *新疆农业科学*, 2009, 46(2): 237-241
- [11] 吴大鹏, 房嫌嫌, 马梦楠, 等. 四个国家海岛棉品种资源的亲缘关系和遗传多态性研究[J]. *棉花学报*, 2010, 22(2): 104-109
- [12] 付小琼, 杨付新, 刘逢举, 等. 棉花总 DNA 快速提取技术及其在国家棉花区试中的应用[C]//中国棉花学会 2011 年年会论文汇编, 2011: 124-127
- [13] 张春嘉. 中亚的棉花种植业[J]. *俄罗斯中亚东欧市场*, 2004(1): 36-39
- [14] 赵战胜, 喻树迅, 范术丽, 等. 北疆早熟陆地棉品种的遗传多样性分析[J]. *棉花学报*, 2012, 24(6): 473-480