

BOLETÍN PARA EL SECTOR ALGODONERO

1ª EDICIÓN ESPECIAL – MARZO 2016

C
O
O
R
D
A
I
L
N
G
A
O
C
D
I
Ó
N
N
D
E

ÍNDICE TEMÁTICO

DESARROLLO DE POBLACIONES DE MAPEO GENÉTICO AVANZADO EN EL CULTIVO DEL ALGODÓN

MINISTRO DE
AGROINDUSTRIA

DR. RICARDO
BURYAILE

SECRETARIO DE
AGRICULTURA,
GANADERÍA Y
PESCA

ING. P. A. RICARDO
NEGRI

SUBSECRETARIO
DE AGRICULTURA

ING. AGR. LUÍS M.
URRIZA

ÁREA ALGODÓN

COORDINACIÓN

ING. AGR. SILVIA N.
CORDOBA

AUXILIARES
TÉCNICOS

DIEGO C. DI CECCO

FELIPE CUESTA

MARCOS E. CURA



Ministerio de Agroindustria
Presidencia de la Nación





DESARROLLO DE POBLACIONES DE MAPEO GENÉTICO AVANZADO EN EL CULTIVO DEL ALGODÓN

Corresponde a *THE ICAC RECORDER*, Comité Consultivo Internacional del Algodón.
Volumen XXXIII, Nº 3, septiembre 2015.

Por Dharminder Pathak y Dharminder Bhatia, Departamento de Genética y Selección de Plantas, Universidad Agrícola del Punjab, Ludhiana, Punjab, India

La mayoría de los rasgos que son de interés para los seleccionadores del algodón, tales como rendimiento, calidad de la fibra, tolerancia al estrés, y otros, son caracteres complejos controlados por un gran número de *loci* de rasgos cuantitativos (QTL, por sus siglas en inglés) e influidos por el medio ambiente. Los métodos convencionales de selección han logrado grandes adelantos en el mejoramiento de los rendimientos y la calidad de la fibra en el algodón. Sin embargo, las características de mayor interés, sobre todo las que manifiestan una variación continua, se pueden aprovechar con mayor eficacia cuando sus factores genéticos implícitos pueden determinarse con precisión en cuanto a su efecto y dirección. Ese conocimiento ha avanzado en gran medida a través del desarrollo de varios tipos de marcadores basados en el ADN y programas de computación para el análisis de los QTL. Los métodos convencionales de introgresión interespecífica en el algodón han estado tradicionalmente limitados por una serie de impedimentos que comprenden:

- Relaciones antagónicas complejas entre rasgos importantes;
- Diferencias citogenéticas entre especies debido a diferentes niveles de ploidía, afinidad meiótica y diferencias cromosómicas estructurales, incluidas las translocaciones e inversiones;
- Los “efectos del arrastre de ligamiento” que conducen a cualidades agronómicas deficientes;
- Bajas tasas de recombinación;
- Pérdida del material genético foráneo en las primeras generaciones;
- Esterilidad de los híbridos;
- Interacciones genéticas complejas, tales como los complejos Muller-Dobzhansky, y
- Segregación distorsionada (Endrizzi *et al.*, 1985). Esas limitaciones se suelen encontrar en cruces de *G. hirsutum* con especies diploides, pero la mayoría de ellas también son válidas para los cruces con otras especies alotetraploides del algodón.

Las poblaciones de mapeo genético convencional, tales como las derivadas de F_2 , por retrocruzamiento, líneas consanguíneas recombinantes (RIL, por sus siglas en inglés) y dobles haploides (DH), se han utilizado ampliamente en el algodón para el mapeo de los genes principales y los *loci* de rasgos cuantitativos (QTL). Todas estas poblaciones de mapeo son más fáciles de generar, pero tienen una u otra de las limitaciones antes enumeradas. Las poblaciones de mapeo F_2 y de retrocruzamiento son las más sencillas, pero no son idóneas para el mapeo de los QTL ya que no se pueden replicar sobre ambientes completos y los datos de plantas únicas no son fiables. Por otro lado, las líneas consanguíneas recombinantes y los dobles haploides son poblaciones inmortales que sí se pueden replicar a lo largo de locaciones y de años. Sin embargo, ambas poblaciones sufren de limitados eventos de recombinación y todo análisis de mapeo que se haga con esas poblaciones podrá verse comprometido por los efectos enmascaradores de los principales QTL y por las interacciones epistáticas de múltiples QTL. Las poblaciones de mapeo genético avanzado, incluidas las derivadas de líneas de retrocruzamiento avanzado AB-QTL, líneas



consanguíneas por retrocruzamiento (BIL, por sus siglas en inglés), líneas entrecruzadas de avanzada (AIL, por sus siglas en inglés), líneas casi isogénicas (NIL, por sus siglas en inglés), líneas de sustitución cromosómica (CSL, por sus siglas en inglés), genotipos de alto rendimiento (CSSL), líneas de generación avanzada por entrecruzamiento multi-parental (MAGIC, por sus siglas en inglés), paneles de asociación, y poblaciones de mapeo asociativo anidado (NAM, por sus siglas en inglés), abordan potencialmente las limitaciones de las poblaciones de mapeo convencionales y son capaces de introducir un cambio paradigmático en la identificación de los QTL de importancia agronómica e industrial para el algodón. A continuación se presenta una breve descripción de cada una de las poblaciones de mapeo genético avanzado.

Análisis de Retrocruzamiento Avanzado de los QTL

Ese método, propuesto por Tanksley y Nelson (1996), tiene como finalidad combinar los diferentes pasos para el descubrimiento de los QTL en el germoplasma silvestre inadaptado y transferirlos juntos a líneas élite. De lo contrario, en cualquier programa típico de selección genética, el primer paso sería el de identificar los QTL de especies emparentadas, ya sean formas silvestres o locales. El segundo paso sería transferir los QTL identificados en la primera fase a un trasfondo genético élite, pero este paso dilata el tiempo requerido para desarrollar un cultivar. En su artículo, Tanksley y Nelson sugieren, además, que es preciso introducir alelos nuevos y positivos en las variedades élite para que se pueda ampliar la base genética de los cultivos y aumentar la tasa de mejoramiento genético. En esta estrategia, una línea que sería una línea o variedad élite se cruza con la especie silvestre, o con un donante inadaptado, para generar una línea híbrida F_1 que posteriormente se retrocruza con el padre receptor (línea o variedad élite) para desarrollar una población BC_1F_1 . Esa población BC_1F_1 se somete a una selección visual para deshacerse de las

plantas con defectos como esterilidad, susceptibilidad a los patógenos, dehiscencia, etc. Seguidamente, las plantas seleccionadas se cruzan con el padre recurrente para generar una población BC_2F_1 . A pesar de que los progenitores se someten a análisis polimórfico con el empleo de marcadores moleculares, el análisis de los QTL no se realiza en la población BC_2F_1 , sino que se pospone hasta la generación BC_2 o BC_3 . Algunas de las ventajas de las poblaciones de retrocruzamiento avanzado sobre las poblaciones convencionales, en lo que al análisis de los QTL se refiere, incluyen la alta frecuencia de alelos deseables y la recuperación temprana de líneas casi isogénicas-QTL.

Líneas consanguíneas por retrocruzamiento

A pesar de la reconocida importancia de desarrollar poblaciones de líneas consanguíneas recombinantes a partir de cruces interespecíficos de algodón, lo cierto es que las incompatibilidades interespecíficas han dificultado el uso exitoso de las poblaciones derivadas de líneas consanguíneas por retrocruzamiento para realizar el mapeo de los marcadores y los QTL. El uso de líneas consanguíneas por retrocruzamiento fue una herramienta útil para mapear genes e introducir estos en los trasfondos genéticos de las especies cultivadas. Las líneas consanguíneas por retrocruzamiento se derivan de cruzar una especie emparentada o silvestre con una especie cultivada y retrocruzarla varias veces con progenitores cultivados después del cruzamiento inicial, seleccionando al mismo tiempo el rasgo objetivo en cada generación. A los fines del análisis genético, las ventajas de usar líneas consanguíneas retrocruzadas abarcan:

i) Poder trabajar con líneas que comparten un alto grado de similitudes genéticas y morfológicas, lo cual permite llegar a estimaciones más precisas de los rasgos cuantitativos;



ii) Tener la oportunidad de estudiar las interacciones entre el medio ambiente y los QTL de manera más precisa; y

iii) Tener la posibilidad de aprovechar las líneas consanguíneas por retrocruzamiento de una manera relativamente rápida y directa para la selección de plantas a nivel comercial. Las líneas consanguíneas por retrocruzamiento se han generado para el mapeo de los QTL que influyen en los rasgos de rendimiento y calidad de la fibra a partir de un cruzamiento de *G. hirsutum* x *G. barbadense* a través de dos generaciones de retrocruzamiento utilizando el *G. hirsutum* como padre recurrente seguido de cuatro generaciones de autofecundación (Yu *et al.*, 2013).

Líneas casi isogénicas

Un tipo alternativo de población inmortal experimental, uno que suele utilizarse frecuentemente con especies vegetales, está compuesto por conjuntos de líneas de introgresión, o líneas casi isogénicas, obtenidas por retrocruzamientos y genotipados repetidos. A diferencia de las líneas consanguíneas por retrocruzamiento, las líneas casi isogénicas pueden diferir en un número limitado de loci. La comparación de las líneas casi isogénicas con líneas consanguíneas recombinantes demostró que en las poblaciones derivadas de líneas casi isogénicas se podían detectar los QTL de efectos menores con más precisión que en las poblaciones de líneas consanguíneas recombinantes, a pesar de que la resolución de su localización fuera inferior. En una serie de estudios se han desarrollado líneas casi isogénicas que pueden aprovecharse para un mapeo mucho más fino de los QTL que se han identificado en las líneas consanguíneas recombinantes. Sin embargo, el desarrollo de líneas casi isogénicas para todo el genoma puede ser más útil en términos del poder de detección de los QTL. En términos generales, cuando se intenta aumentar el poder de mapeo de las líneas consanguíneas recombinantes, el tamaño de la población resulta más importante que el número de replicaciones; mientras que para las líneas casi isogénicas, es

absolutamente imprescindible contar con varias replicaciones (Keurentjes *et al.*, 2007).

Líneas Entrecruzadas de Avanzada (AIL)

Las líneas entrecruzadas de avanzada son poblaciones experimentales que pueden proporcionar estimaciones mucho más precisas de las ubicaciones de los QTL en los mapas que las poblaciones de mapeo genético convencional. Una línea entrecruzada de avanzada se produce mediante el entrecruzamiento aleatorio, aunque secuencial, de una población que se originó inicialmente de un cruzamiento entre dos líneas consanguíneas o alguna variante de éstas. Esto proporciona una probabilidad de recombinación cada vez mayor entre dos loci cualesquiera. En consecuencia, se extiende la longitud genética del genoma completo y los QTL se pueden identificar con una precisión mucho mayor que con una población convencional derivada de líneas consanguíneas recombinantes (Darvasi y Sorrel, 1995). Las líneas entrecruzadas de avanzada derivadas de cruzamientos entre líneas consanguíneas conocidas también pueden resultar un recurso útil para el mapeo genético fino. Sin embargo, se necesita tiempo adicional para generar un conjunto nuevo de consanguíneos después del interapareamiento.

Líneas de sustitución cromosómica

Una línea de sustitución cromosómica (CSL, por sus siglas en inglés) es aquella en la cual se sustituye un cromosoma único tomado de un genotipo donante dentro del genoma de un genotipo receptor mediante el uso de una cepa aneuploide idónea. Para desarrollar una línea CSL, primeramente se cruza el genotipo donante disómico, como padre, con la cepa monosómica receptora. La progenie monosómica tendrá solo una copia del cromosoma monosómico originario del genotipo donante. El cromosoma donante monosómico no tiene pareja homóloga con la que aparearse; por lo tanto, no tiene posibilidad alguna de recombinarse. Seguidamente, el receptor monosómico se



cruza repetidas veces con líneas F₁ monosómicas como la progenitora recurrente. El proceso de retrocruzamiento luego continúa hasta restablecer el trasfondo del receptor al nivel deseado para producir una línea de sustitución monosómica. La línea de sustitución monosómica se autofecunda para obtener líneas de sustitución disómicas. Las CSL resultarán muy útiles en el estudio del efecto de un cromosoma donante sobre el trasfondo del padre receptor, sobre todo en los esfuerzos por lograr una progenie resistente a las enfermedades. Se desarrollaron CSL de *G. barbadense* a partir de cepas de TM-1 citogenético y se evaluaron para determinar diversos rasgos agronómicos y de calidad de la fibra (Stelly *et al.*, 2005).

Líneas de sustitución de segmentos cromosómicos (CSSL)

Las líneas de sustitución de segmentos cromosómicos (CSSL, por sus siglas en inglés) son líneas de introgresión que tienen una pequeña porción del genoma introducido de otra línea o especie y un conjunto de líneas rodea el(los) cromosoma(s) completo(s). Esas líneas se desarrollan a partir de cruzamientos tanto intraespecíficos como interespecíficos con una serie de retrocruzamientos y se utilizan marcadores de ADN para identificar las líneas individuales. Las CSSL son poblaciones de mapeo poderosas de los QTL que se han utilizado para dilucidar la base molecular de los rasgos de interés, especialmente de especies silvestres (Ali *et al.*, 2010). Una de las principales limitantes de las líneas consanguíneas por retrocruzamiento/CSSL es que las introgresiones no-identificadas de pequeños segmentos cromosómicos indeseados, los cuales no han sido etiquetados con marcadores, producen algunas veces ruido experimental que dificulta aún más la detección de los efectos de los QTL en regiones determinadas del cromosoma. Sin embargo, este problema es más severo en las líneas consanguíneas por retrocruzamiento que en las CSSL. Además, puede resultar difícil detectar las

diferencias fenotípicas generadas por una combinación de dos o más alelos donantes en diferentes regiones cromosómicas. En este caso, es posible mejorar la resolución de mapeo de los respectivos QTLs mediante mapeo fino para desarrollar líneas casi isogénicas empleando líneas consanguíneas de retrocruzamiento/CSSL como materiales de base (Fukuoka *et al.*, 2010). Los programas de computación para el genotipado gráfico, tales como el GGT (van Berloo, 2008) o CSSLs Finder (<http://mapdisto.free.fr/CSSLFinder>), son muy útiles para el desarrollo de las CSSL. La CSSL experimenta un proceso de genotipado de alto rendimiento mediante la resecuenciación del genoma completo, combinando de esta manera las ventajas de un mapa físico de ultra alta calidad con un mapeo de alta precisión para producir CSSL que se pueden denominar como “CSSL genotipadas de alto rendimiento”.

Paneles de asociación

En los últimos dos decenios, la disponibilidad de abundantes marcadores moleculares ha hecho posible etiquetar los QTL que llevan genes funcionales por medio de un proceso de rutina conocido como mapeo de ligamiento basado en la familia. A través de este método, un gran número de QTL relacionados con la calidad de la fibra, el rendimiento y sus componentes, así como con el estrés biótico, incluida la resistencia a los nemátodos, a la marchitez por *Verticillium* y por *Fusarium*, se han identificado y reportado en el algodón. Sin embargo, de todos los QTL reportados, solo se logró confirmar unos cuantos en estudios subsiguientes para aplicarlos en programas de selección genética. Esto pudiera atribuirse al uso de QTL específicos para una población, y de una cantidad limitada de eventos de recombinación para generar las poblaciones experimentales que se utilizaron en el mapeo de ligamiento, con lo que se dificulta mapear los QTL con alta resolución. Dado su potencial para explotar todos los eventos de recombinación que se han producido en la historia evolutiva de las poblaciones naturales, el mapeo



asociativo (AM, por sus siglas en inglés) basado en el desequilibrio del ligamiento (DL) se ha convertido en un poderoso método que podría utilizarse con muchas especies vegetales, incluido el algodón, para hacer la disección de rasgos complejos e identificar variaciones causales con solo efectos discretos sobre los rasgos objetivos. Con esa finalidad, los paneles de asociación se tratan como poblaciones de mapeo abiertas que emplean una muestra de individuos tomada de las colecciones de germoplasma o de una población natural. Se utilizó un panel de asociación de 356 líneas de germoplasma de algodón *upland* chino para identificar las asociaciones marcador-rasgo para los rasgos de calidad de la fibra. Se identificó un total de 59 asociaciones significativas entre 41 marcadores SSR y 5 rasgos de calidad de la fibra (Mei *et al.*, 2014). Entre las principales limitantes implícitas en el uso de paneles de asociación se encuentran la estratificación de las poblaciones y una distribución desigual de alelos dentro de una población, lo cual resulta en la aparición de asociaciones falsas y no funcionales (Knowler *et al.*, 1988).

Poblaciones de mapeo asociativo anidado

Se puede desarrollar una población de mapeo asociativo anidado (NAM, por sus siglas en inglés) reuniendo una cantidad igual de progenies resultante de un gran número de cruzamientos con un solo padre en común. El concepto de las NAM, tal como se emplean ahora en el maíz, con un diseño de referencia de 25 familias con 200 líneas consanguíneas recombinantes por familia, pudiera ser una estrategia aun más poderosa para la disección de las bases genéticas de los rasgos cuantitativos en especies como el algodón que tienen un escaso desequilibrio de ligamiento. Los cruzamientos controlados en las NAM reducen los efectos de interferencia de la estructura de la población que se observan en los paneles de asociación, mientras que el elevado número de progenies derivadas de los cruzamientos permite mapear familias con un poder estadístico

considerable para capturar las mejores características del mapeo de ligamiento y asociativo a través del análisis conjunto de ligamiento-asociación (Yu *et al.*, 2008). El proceso general, como se demuestra en McMullen *et al.* (2009), involucra:

- Selección de diversos fundadores a partir de los cuales se desarrolla un número igual de poblaciones de mapeo;
- Genotipado denso de las líneas fundadoras con el uso de enfoques de resecuenciación o de los marcadores moleculares disponibles;
- Genotipado de un número menor de marcadores de etiquetado sobre los fundadores y su progenie para definir la herencia de segmentos cromosómicos y para proyectar la información de los marcadores de alta densidad desde los fundadores hasta la progenie;
- Genotipado de progenies para identificar varios rasgos complejos;
- Análisis asociativo del genoma completo para relacionar los rasgos fenotípicos con los marcadores de alta densidad proyectados de la progenie. Cuando se compara con las poblaciones de mapeo convencionales de ligamiento, las NAM tienen como objetivo crear una población de mapeo integral diseñada específicamente para un *escaneo* del genoma completo de alta potencia para la detección de los QTL con efectos diferentes. Una de las mayores limitantes de las poblaciones de NAM es el alto número de cruzamientos que se debe realizar para generar la población, así como el hecho de que las interacciones de los QTL con el trasfondo genético no se pueden examinar porque uno de los progenitores es común para todas las subpoblaciones componentes.

Población de generación avanzada por entrecruzamiento multi-parental (MAGIC)

La población de generación avanzada por entrecruzamiento entre múltiples padres (MAGIC, por sus siglas en inglés)



constituye un nuevo tipo de diseño experimental complejo que, en términos de potencia, diversidad y resolución, se ubica en algún punto entre los diseños biparentales y los diseños de mapeo asociativo. Las poblaciones MAGIC se pueden crear mediante el cruzamiento de múltiples fundadores consanguíneos durante el curso de varias generaciones antes de crear las líneas consanguíneas, con lo que se produce una población diversa cuyos genomas son mosaicos de escala fina de contribuciones de todos los fundadores. Al igual que en las poblaciones biparentales, la variación alélica en las poblaciones MAGIC también está limitada por el número de fundadores, pero con un polimorfismo muy superior. Si bien es cierto que para la población MAGIC se requiere una mayor inversión inicial en capacidades y tiempo comparado con una población biparental, también es cierto que con una cuidadosa selección de los fundadores se hace más fácil generalizar sus resultados en una gama mayor de aplicaciones de selección genética y garantizar su pertinencia como un panel de recursos genéticos a largo plazo. (Huang *et al.*, 2015). Para generar una población MAGIC, se deben seleccionar líneas fundadoras para la diversidad genotípica y seguidamente manejarlas cuidadosamente para garantizar que su diversidad fenotípica produzca un material de recursos prácticos. Es cierto que un número mayor de conjuntos de fundadores podría facilitar el conocimiento biológico de una amplia gama de rasgos. Sin embargo, las líneas de fundadores seleccionadas sobre la base de su pertinencia a un programa de selección genética diseñado para rasgos específicos pudieran resultar en una población MAGIC capaz de convertirse rápidamente en líneas superiores de selección genética. Cuando se comienza con un número n de líneas de fundadores, éstas se deben entrecruzar durante $n/2$ generaciones hasta que se combinen todos los fundadores en proporciones iguales. Una vez realizado el entrecruzamiento, se pueden derivar de ellas las líneas consanguíneas recombinantes por medio de la

autopolinización (Rakshit *et al.*, 2012). Para aumentar la cantidad de eventos de recombinación en la población, las plantas F_1 resultantes de los cruzamientos de pares obtenidos en la primera generación se pueden entrecruzar de manera aleatoria y secuencial, tal y como se explicó para las poblaciones de líneas entrecruzadas de avanzada. Ya se han creado poblaciones MAGIC de *Arabidopsis thaliana*, trigo, y arroz, y están en proceso para garbanzos y varios otros cultivos. La mayor limitante de esta herramienta es que, con el aumento del número de fundadores, los ciclos de entrecruzamiento también aumentan proporcionalmente. Otra limitante de ese tipo de población es que pueden exhibir una amplia segregación de los rasgos fenológicos, tales como la madurez y la altura de la planta. La segregación basada en esos rasgos puede influir en el desempeño general de rasgos complejos que pueden conducir a la identificación de falsos QTL.

Conclusiones

En el algodón se han creado y aprovechado poblaciones de mapeo genético convencional para el etiquetado de genes/ QTL de importancia económica. Esas poblaciones son fáciles de generar, pero conllevan varias limitantes. Por eso, se ha hecho necesario desarrollar poblaciones de mapeo genético avanzado, tales como: las derivadas de líneas de retrocruzamiento avanzado AB-QTL, líneas consanguíneas por retrocruzamiento (BIL), líneas entrecruzadas de avanzada (AIL), líneas casi isogénicas (NIL), líneas de sustitución cromosómica (CSL), genotipado de alto rendimiento, líneas de generación avanzada por entrecruzamiento entre múltiples padres (MAGIC, por sus siglas en inglés), paneles de asociación, así como poblaciones de *mapeo asociativo anidado* (NAM) para los fines del mapeo de genes/QTL en el algodón. Las limitaciones de las poblaciones de mapeo genético convencional no afectan las poblaciones antes mencionadas. También es necesario extraer alelos positivos de las especies tetraploides de *Gossypium* relacionadas, así como de germoplasma de algodón



inadaptado, para diferentes rasgos económicos. Entre los rasgos que merecen especial atención están: la eficiencia en el uso de nutrientes (nitrógeno) y del agua; la tolerancia a la sequía y la salinidad; la resistencia de la fibra, así como la resistencia al virus del encrespamiento de la hoja del algodón.

Referencias

Ali, M. L., Sanchez, P. L., Yu, Si-bin, Lorieux, M. and Eizenga, G. C. 2010. Chromosome segment substitution lines: A powerful tool for the introgression of valuable genes from *Oryza wild species* into cultivated rice (*O. sativa*). *Rice* 3: 218-234.

Darvasi, A. and Soller, M. 1995. Advanced intercross lines, an experimental population for fine genetic mapping. *Genetics* 141: 1199-1207.

Endrizzi, J. E., Turcotte, E. L. and Kohel, R. J. 1985. Genetics, cytology, and evolution of *Gossypium*. *Adv. Genet.*, 23: 271-375.

Fukuoka, S., Nonoue, Y. and Yano, M. 2010. Germplasm enhancement by developing advanced plant materials from diverse rice accessions. *Breeding Science* 60: 509-517.

Huang, B. E., Verbyla, K. L., Verbyla, A. P., Raghavan, C., Singh, V. K., Gaur, P., Leung, H., Varshney, R. K. and Cavanagh, C. R. 2015. MAGIC populations in crops: current status and future prospects. *Theor. Appl. Genet.* 128: 999-1017.

Keurentjes, J.J.B., Bentsink, L., Alonso-Blanco, C., Hanhart, C.J., De Vries H.B., Effgen, S., Vreugdenhil, D. and Koornneef, M. 2007. Development of a near-isogenic line population of *Arabidopsis thaliana* and comparison of mapping power with a recombinant inbred line population. *Genetics*. 175: 891-905.

Knowler, W.C., Williams, R.C., Pettitt, D. J. and Steinberg, A.G. 1988. Gm (3;5,13,14) and type 2 diabetes mellitus: an association in American Indians with genetic admixture. *Am J Hum Genet* 43: 520-526.

McMullen, M. D., Kresovich, S., Villeda, H. S., Bradbury, P. J., Li, H. et al. 2009. Genetic properties of maize nested association mapping population. *Science* 325:737-740.

Mei H., Z. Xiefei, G. Wangzhen, C. Caiping and Z. Tianzhen. 2013. Exploitation of Chinese Upland cotton cultivar germplasm resources to mine favorable QTL alleles using association mapping. *Intech* (<http://dx.doi.org/10.5772/58587>).

Rakshit, S., Rakshit, A. and Patil J.V. 2012. Multiparent intercross populations in analysis of quantitative traits. *J Genet.* 91: 111-117.

Stelly, D. M., Saha, S., Raska, D. A., Jenkins, J. N., McCarty Jr. J. C. and Gutierrez, O. A. 2005. Registration of 17 germplasm lines of upland cotton (*Gossypium hirsutum*) cotton, each with a different pair of *G. barbadense* chromosomes or chromosome arms substituted for the respective *G. hirsutum* chromosome or chromosome arms. *Crop Sci.* 45: 2663-2665.

Tanksley, S.D. and Nelson, J.C. 1996. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. *Theor. Appl. Genet.* 92:191-203.

van Berloo R. 2008. GGT 2.0: versatile software for visualization and analysis of genetic data. *J Hered.* 99: 232-236.

Yu, J., Holland, J.B., McMullen, M.D., et al. 2008. Genetic design and statistical power of nested association mapping in maize. *Genetics*. 178: 539-551.

Yu, J., Zhang, K., Li, S., Yu, S., Zhai, H., Wu, M., Li, X., Fan, S., Song, M., Yang, D., Li, Y. and Zhang, J. 2013. Mapping quantitative trait loci for lint yield and fiber quality across environments in a *Gossypium hirsutum* x *Gossypium barbadense* backcross inbred line population *Theor. Appl. Genet.* 126: 275-287.